

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi, Kedudukan Taksonomi dan Kondisi Gizi Labu Kuning (*Cucurbita moschata*)

Labu kuning (Gambar 1) merupakan suatu jenis tanaman sayuran menjalar dari famili *Cucurbitaceae*, yang tergolong dalam jenis tanaman semusim yang setelah berbuah akan langsung mati. Batang labu kuning menjalar cukup kuat, bercabang banyak, berbulu agak tajam, dengan panjang batang yang mencapai 5 - 10 m. Daun labu kuning berwarna hijau keabu-abuan, lebar dengan garis tengah mencapai 20 cm, menyirip, ujung agak runcing, tulang daun tampak jelas, berbulu agak halus dan agak lembek sehingga bila terkena sinar matahari akan menjadi layu. Letak daun labu kuning ini berselang - seling antar batang dengan panjang tangkai daun 15 - 20 cm (Krissetiana, 1995).



Gambar 1. Labu Kuning (*Cucurbita moschata*)
(Sumber: dokumentasi pribadi, 2016)

Menurut Gardjito (2006), labu kuning muda berwarna hijau, sedangkan buah yang lebih tua berwarna kuning pucat. Bobot buah labu kuning mencapai 3-5 kg, rasa daging buah agak manis, kulit yang sangat tebal dan keras sehingga lebih awet dibanding buah-buah lainnya. Buah labu kuning yang sudah dipanen bertahan hingga mencapai 6 bulan atau lebih tergantung pada penyimpanannya. Kendala dalam pemanfaatan buah labu kuning pada skala rumah tangga yaitu pengolahan buah labu kuning yang besar tidak dapat dilakukan sekaligus. Hal ini menimbulkan kerugian karena buah yang sudah dibelah mudah rusak (membusuk) apabila tidak segera diolah. Menurut Rukmana (1997), kedudukan taksonomi tumbuhan labu adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Cucurbitales
Familia : Cucurbitaceae
Genus : *Cucurbita*
Spesies : *Cucurbita moschata* Duch

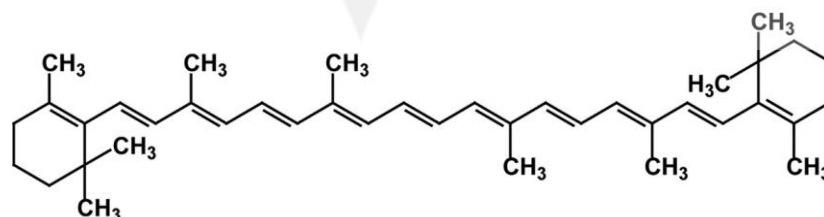
Labu kuning juga dikenal kaya akan karotenoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Betakaroten merupakan salah satu jenis karotenoid, disamping mempunyai aktivitas biologis sebagai provitamin-A, juga dapat berperan sebagai antioksidan yang efektif pada konsentrasi oksigen rendah (Sinaga, 2011). Kandungan betakaroten pada labu kuning sebesar 1,18 mg/100g (Kandlakunta dkk., 2008). Kandungan gizi dari buah labu kuning dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Gizi Buah Labu Kuning per 100 gram Bahan

No	Kandungan Gizi	Kadar/Satuan
1.	Kalori	29,00 kal
2.	Protein	1,10 g
3.	Lemak	0,30 g
4.	Hidrat arang	6,60 g
5.	Kalsium	45,00 mg
6.	Fosfor	64,00 m
7.	Zat besi	1,40 mg
8.	Vitamin A	180,00 SI
9.	Vitamin B ₁	0,08 mg
10.	Vitamin C	52,00 g
11.	Air	91,20 g
12.	BOD	77,00%

(Sumber: Departemen Kesehatan RI, 1996)

Betakaroten (Gambar 2) merupakan salah satu provitamin A yang berperan sebagai antioksidan dengan cara memperlambat fase inisiasi radikal bebas. Pemberian betakaroten dalam jumlah banyak dapat memenuhi kebutuhan vitamin A dan selebihnya tetap sebagai betakaroten yang berfungsi sebagai antioksidan (Silalahi, 2006). Senyawa karotenoid mudah teroksidasi terutama pada suhu tinggi yang disebabkan oleh adanya sejumlah ikatan rangkap dalam struktur molekulnya (Kandlakunta dkk., 2008). Laporan Moscha (1997) menunjukkan bahwa proses *simmering* (teknik memasak makanan dalam cairan panas untuk mencegah kerusakan bahan pangan) selama 15-60 menit tidak akan berpengaruh terhadap kandungan beta karoten pada sayuran (Astawan dan Andreas, 2008).



Gambar 2. Struktur Umum Betakaroten (Astawan dan Andreas, 2008)

Daging buah labu kuning memiliki komponen bioaktif seperti polisakarida, protein, peptida, *paraaminobenzoic acid*, komponen fenol dan sterol (Kuhlmann, 1999). Buah labu kuning tidak mengandung saponin, tannin steroid dan triterpenoid, namun mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid (Adlhani, 2014). Senyawa flavonoid termasuk dalam senyawa fenolik alam yang mempunyai bioaktivitas sebagai obat dan berpotensi sebagai antioksidan yang sangat baik untuk pencegahan kanker (Waji dan Sugrani, 2009). Kandungan total fenolik dalam labu kuning sebesar 93 µg GAE/g (Zdunic dkk., 2016).

B. Senyawa Antioksidan dan Manfaatnya Bagi Kesehatan

Antioksidan adalah senyawa-senyawa yang mampu menghilangkan, membersihkan, menahan pembentukan ataupun memadamkan efek spesies oksigen reaktif (Lautan, 1997). Antioksidan dalam bahan makanan dapat berasal dari kelompok yang terdiri atas satu atau lebih komponen pangan, substansi yang dibentuk dari reaksi selama pengolahan atau dari bahan tambahan pangan yang khusus diisolasi dari sumber-sumber alami dan ditambahkan ke dalam bahan makanan. Adanya antioksidan alami maupun sintetis dapat menghambat oksidasi lipid, mencegah kerusakan, perubahan dan degradasi komponen organik dalam bahan makanan sehingga dapat memperpanjang umur simpan (Rohdiana, 2001).

Fungsi utama antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya

proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi. Lipid peroksidasi merupakan salah satu faktor yang cukup berperan dalam kerusakan selama dalam penyimpanan dan pengolahan makanan (Hernani dan Raharjo, 2006).

Antioksidan alami merupakan antioksidan yang diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alami atau terbentuk dari reaksi-reaksi kimia selama proses pengolahan. Antioksidan alami dapat diperoleh dari beragam sumber bahan pangan, seperti sayur-sayuran, buah-buahan, rempah-rempah, dan lain-lain. Contoh dari antioksidan alami adalah vitamin C, vitamin E dan β -karoten (Santoso, 2005).

Antioksidan dibagi menjadi tiga berdasarkan mekanisme kerjanya. Antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas sebelum sempat bereaksi, contoh dari antioksidan primer yaitu enzim superoksida dismutase yang dipengaruhi oleh mineral seperti mangan, seng, tembaga, selenium yang harus terdapat pada makanan. Antioksidan sekunder bekerja dengan cara menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas, contohnya vitamin E, vitamin C, dan β -karoten yang dapat diperoleh dari buah-buahan. Sedangkan antioksidan tersier bekerja dengan cara memperbaiki sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas, contohnya enzim metionin sulfoksidan yang dapat memperbaiki DNA penderita kanker (Kumalaningsih, 2007).

C. Minuman Sinbiotik Sebagai Produk Pangan Fungsional

Sinbiotik merupakan kombinasi antara probiotik dan prebiotik (Gourbeyre dkk., 2010). Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang ditambahkan pada suatu produk dalam jumlah tertentu dan dapat menyehatkan inangnya. Spesies *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* merupakan mikroorganisme yang biasa digunakan sebagai probiotik dalam produk fermentasi (World Gastroenterology Organisation, 2008). Prebiotik merupakan komponen makanan yang tidak dapat dicerna dan mempunyai pengaruh baik terhadap inang dengan memicu aktivitas pertumbuhan selektif bakteri penghuni kolon (Roberfroid, 2005).

Minuman sinbiotik yaitu minuman yang mengandung prebiotik dan probiotik. Mekanisme kerja prebiotik dan probiotik dalam meningkatkan daya tahan usus antara lain dengan cara mengubah lingkungan saluran usus baik pH ataupun kadar oksigennya, berkompetisi dengan bakteri jahat hingga mengurangi kesempatan untuk bakteri jahat berkembang biak. Kombinasi yang baik antara prebiotik dan probiotik dapat meningkatkan jumlah probiotik yang mampu bertahan hidup dalam saluran pencernaan dengan melakukan fermentasi terhadap substrat (Collins dan Gibson, 1999).

Sejauh ini minuman sinbiotik belum memiliki SNI, akan tetapi minuman sinbiotik dapat disejajarkan dengan minuman susu fermentasi. Syarat mutu minuman susu fermentasi berperisa menurut SNI 7552 : 2009 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Syarat Mutu Minuman Susu Fermentasi Berperisa.

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
			Tanpa Perlakuan Panas Setelah Fermentasi (Tanpa Lemak)
1	Keadaan		
1.1	Penampakan	-	Cair
1.2	Bau	-	Normal / khas
1.3	Rasa	-	Asam / khas
1.4	Homogenitas	-	Homogen
2	Lemak (b/b)	%	Maks 0,5
3	Padatan susu tanpa Lemak	%	Min 3,0
4	Protein (Nx6,38) (b/b)	%	Min 1,0
5	Abu (b/b)	%	Maks 1,0
6	Keasaman tertitrasi (dihitung sebagai asam laktat) (b/b)	%	0,2 s.d 0,9
7	Cemaran logam		
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks 0,02
7.2	Merkuri (Hg)	mg/kg	Maks 0,03
8	Cemaran Arsen (As)	mg/kg	Maks 0,1
9	Cemaran mikrobial		
9.1	Bakteri coliform	APM/ml	Maks 10
9.2	<i>Salmonella</i> sp./25 MI	-	Negatif
9.3	<i>Listeria monocytogenes</i> /25 ml	-	Negatif
10	Kultur starter	Koloni/ml	Min 1 x 10 ⁶

(Sumber : SNI 7552 : 2009)

Menurut Adams (2009), probiotik dapat memproduksi bakteriosin untuk melawan patogen yang bersifat selektif hanya terhadap beberapa strain patogen. Probiotik juga memproduksi asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida dan beberapa antimikrobia. Probiotik juga menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun dan metabolisme

host, seperti vitamin B (Asam Pantotenat), pyridoksin, niasin, asam folat, kobalamin, dan biotin serta antioksidan penting seperti vitamin K.

D. Probiotik Penghasil Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) yaitu jenis bakteri yang mampu memetabolisme laktosa untuk menghasilkan asam laktat. Bakteri asam laktat memegang peranan penting dalam proses fermentasi. Fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat ini disebut fermentasi asam laktat. Fermentasi asam laktat pada umumnya terjadi dalam kondisi kekurangan (anaerobik fakultatif) atau tanpa oksigen sama sekali (obligat anaerob). Berdasarkan produk hasil akhir metabolismenya, bakteri asam laktat dikelompokkan menjadi BAL homofermentatif dan heterofermentatif. BAL homofermentatif memproduksi asam laktat sebagai hasil utama fermentasinya, sedangkan BAL heterofermentatif menghasilkan asam laktat, karbondioksida, dan senyawa diasetil (Surono, 2004).

Aplikasi BAL dalam produk makanan dan minuman sudah cukup banyak dilakukan, terutama pada produk-produk pangan fungsional. Tujuan penggunaan BAL ini pada umumnya adalah untuk menambah nilai fungsional produk yaitu fungsi perlawanan terhadap bakteri patogen dalam saluran pencernaan (probiotik). Pertumbuhan BAL dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya ialah keberadaan oksigen, kandungan air bebas (a_w), komposisi kimia dan ketersediaan substrat pada media pertumbuhan, total padatan, temperatur lingkungan pertumbuhan, dan keberadaan mikroba patogen awal (Surono, 2004). Jumlah minimal strain probiotik yang ada dalam produk

makanan adalah sebesar 10^6 CFU/g atau jumlah strain probiotik yang harus dikonsumsi setiap hari sekitar 10^8 CFU/g, dengan tujuan untuk mengimbangi kemungkinan penurunan jumlah bakteri probiotik pada saat berada dalam jalur pencernaan (Shah, 2000).

Beberapa persyaratan yang diperlukan untuk menjadikan strain bakteri asam laktat sebagai agensia probiotik adalah bahwa strain tersebut merupakan mikroflora alami jalur pencernaan manusia, tumbuh dan tetap hidup pada makanan sebelum dikonsumsi, tetap hidup walaupun melewati jalur pencernaan, memiliki resistensi terhadap asam lambung, beberapa antibiotik, terhadap lisosim, dapat tumbuh pada intestin dan memiliki kemampuan menempel pada sel epitel intestin manusia, memberi efek yang menguntungkan pada usus, memproduksi asam dalam jumlah besar dan cepat, mampu menghasilkan komponen antimikrobia lain di samping asam (bakteriosin, hidrogen peroksida, diasetil dan reuterin) yang efektif menghambat bakteri lain yang tidak dikehendaki, khususnya bakteri patogen (Surono, 2004).

E. Deskripsi *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei termasuk ke dalam kategori bakteri asam laktat homofermentatif yaitu memecah glukosa terutama menjadi asam laktat kira-kira 90%. Kemampuan ini lebih tinggi dibandingkan dengan jenis bakteri asam laktat heterofermentatif yang hanya dapat memecah glukosa menjadi asam laktat kurang dari 90%. Selain itu *L. casei* dapat menghasilkan sejumlah kecil

asam sitrat, asam malat, asam asetat, asam suksinat, asetaldehid, diasetil, dan asetoin yang berperan dalam pembentukan flavor (Varnam dan Sutherland, 1994).

Lactobacillus casei merupakan bakteri Gram-positif, anaerobik fakultatif, katalase negatif, heterofermentatif fakultatif, tidak membentuk spora, berbentuk batang dan dapat diisolasi dari berbagai habitat seperti daging, susu, produk olahan susu, makanan atau minuman asam dan limbah (Saxelin, 1991). *Lactobacillus casei* aktif pada pH rendah dan menghasilkan asam laktat dalam jumlah banyak. Media isolat yang digunakan yaitu media dMRS agar, sedangkan media *preculture* dan pertumbuhan bakteri uji yaitu media MRS Broth (Hardianingsih dkk., 2006). Koloni pada media agar biasanya 2-5 mm, cembung, *entire*, buram dan tanpa pigmen. Tumbuh optimum pada suhu 30-40°C (de Fuguirodo dan Splittoesser, 1980).

Lactobacillus casei disebut probiotik karena mempunyai manfaat bagi kesehatan diantaranya mendukung respon sistem imun, mendukung kesehatan sel dan meningkatkan bakteri menyehatkan di dalam usus, memodifikasi potensi aktivitas bakteri berbahaya seperti glukoronidase dan nitroreduktase dan meningkatkan kesehatan manusia (Takeshi, 2003). Menurut Morotomi (1996), pada tahun 1930 *Lactobacillus casei* Shirota strain diisolasi dari saluran pencernaan manusia dan selanjutnya dimanfaatkan dalam pembuatan susu fermentasi. Menurut Holt dkk. (1994), kedudukan taksonomi *L. casei* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Family	: Lactobacillaceae
Genus	: Lactobacillus
Spesies	: <i>Lactobacillus casei</i>

F. Inulin Sebagai Prebiotik

Prebiotik atau disebut dengan *nondigestible food ingredient* merupakan senyawa yang menguntungkan manusia dengan menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas sejumlah kecil bakteri di kolon (Sudarmo, 2003). Menurut Eamonn (2006), prebiotik tidak tercerna tetapi dapat difermentasikan sebagai energi dan substrat metabolisme sehingga bakteri dalam kolon dapat tumbuh dan berkembang. Syarat bahan pangan bisa dikatakan memiliki potensial sebagai prebiotik yaitu apabila memiliki kandungan inulin tipe fruktan dan fruktooligosakarida. Brownawell dkk. (2012) menambahkan bahwa suatu pangan dapat dikatakan sebagai prebiotik ketika resisten terhadap keasaman lambung, hidrolisis oleh enzim dan absorpsi di saluran pencernaan mamalia, dapat difermentasi oleh mikroflora usus, selektif merangsang pertumbuhan atau aktivitas bakteri di usus yang dihubungkan dengan kesehatan dan keadaan yang lebih baik.

Labu kuning atau waluh mengandung inulin dan serat pangan yang sangat dibutuhkan untuk pemeliharaan kesehatan (Ramadhani dan Izzati, 2012). Inulin merupakan komponen bahan pangan yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan fungsional karena memiliki kandungan serat yang tinggi (Kaur

dan Gupta, 2002). Kadar serat labu kuning sebesar 1,16% (Bhat dan Bhat, 2013).

Inulin termasuk dalam golongan *non-digestible* karbohidrat yang dapat menjadi sumber karbohidrat bagi bakteri yang menguntungkan dalam saluran pencernaan (Crittenden, 1999). Inulin dapat bertahan di saluran pencernaan atas yang kemudian difermentasi di usus besar, bermanfaat untuk memperbaiki dan melindungi usus, mengurangi risiko penyakit di saluran cerna di usus (Roberfroid, 2007). Hasil fermentasi inulin oleh bakteri asam laktat dengan menghasilkan asam laktat serta asam-asam lemak rantai pendek seperti asetat, butirat, propionat (Rosa, 2010).

Inulin dapat memberikan keuntungan yang kompetitif pada spesifik mikroflora asli usus pencernaan seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* yang dapat menyebabkan terusirnya bakteri patogen dari pencernaan melalui kompetisi langsung terhadap nutrisi (Willard dkk., 2000). Mekanisme yang mungkin terjadi yaitu penurunan pH karena dihasilkannya sekresi bakteriosin, stimulasi imun dan asam lemak rantai pendek. Asam lemak rantai pendek tersebut dapat dipakai sebagai sumber energi oleh tubuh (Surono, 2004). Pembentukan asam laktat dan asam lemak rantai pendek atau *short chain fatty acids* (SCFA) dapat menurunkan pH kolon yang dapat menaikkan pertumbuhan *Lactobacillus* dan *Bifidobacteria* dan menurunkan aktivitas enzim-enzim bakterial yang terlibat pada sintesa produk yang bersifat karsinogen dan toksik di dalam usus, serta menurunkan pertumbuhan bakteri patogen. SCFA

mensupai lebih dari 50% kebutuhan energi harian jaringan kolon dan mempengaruhi metabolisme kolon (Azhar, 2009).

G. Kaitan Aktivitas Antioksidan dan Fermentasi

Meningkatnya aktivitas antioksidan disebabkan oleh semakin banyaknya fenolik bebas yang dihasilkan dari proses fermentasi. Semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya (Bhanja dkk., 2008). Besarnya peningkatan sifat-sifat antioksidan pada produk fermentasi tergantung dari mikroorganisme yang digunakan serta kondisi fermentasi itu sendiri (Berghofer dkk., 1998).

Peningkatan aktivitas antioksidan dapat terjadi karena adanya aktivitas bakteri asam laktat dalam medium. Selama fermentasi dihasilkan senyawa – senyawa yang dapat menaikkan dan menstabilkan aktivitas antioksidan seperti asam laktat, asam asetat, asam sitrat, asam suksinat, asam malat, asetaldehid, diasetil dan asetoin. Semakin lama waktu fermentasi semakin banyak senyawa fenol dan flavonoid yang terbebaskan akibat hidrolisis gula oleh enzim bakteri asam laktat (Retnowati dan Kusnadi, 2014).

H. Hipotesis

1. Variasi waktu fermentasi menyebabkan perbedaan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan dan kualitas (sifat fisik, kimia, mikrobiologis dan organoleptik) minuman sinbiotik labu kuning.
2. Perlakuan lama fermentasi selama 48 jam akan menghasilkan minuman sinbiotik labu kuning dengan aktivitas antioksidan dan kualitas terbaik.