

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Susu fermentasi merupakan produk susu yang dihasilkan dari proses fermentasi, dengan bahan baku susu yang sudah diolah dengan atau tanpa penambahan atau modifikasi komposisi susu tersebut dan dengan adanya penurunan pH atau tanpa adanya koagulasi (Chairunnisa dkk., 2006). Yang membedakan masing-masing produk susu fermentasi adalah jenis bakterinya. Sebagai contoh, dalam yogurt terdapat dua jenis bakteri asam laktat yang hidup berdampingan dan bekerja sama: *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Keduanya menghasilkan asam laktat yang menggumpalkan susu menjadi yogurt.

Menurut Putri (2009) produk susu fermentasi yang sudah dikenal di Indonesia antara lain yogurt, susu asam, kefir dan minuman susu fermentasi berperisa. Sampel susu fermentasi yang dipasarkan di wilayah Yogyakarta beserta kandungan bakterinya dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada beberapa sampel susu fermentasi ada yang mencantumkan probiotik pada kemasannya. Probiotik yaitu mikrobial hidup yang memberikan efek positif bagi manusia atau hewan, bisa berkolonisasi sehingga mencapai jumlah optimal selama waktu tertentu dan memperbaiki keseimbangan mikroflora (Chairunnisa dkk., 2006). Menurut Fuller (1989), probiotik yang efektif harus memenuhi beberapa kriteria, yaitu: (1) memberikan efek yang menguntungkan bagi inangnya, (2) tidak patogenik dan tidak toksik, (3) mengandung jumlah besar sel hidup, (4) mampu bertahan dan melakukan kegiatan metabolisme usus, (5) tetap hidup selama waktu penyimpanan dan pada waktu digunakan, (6) mempunyai sifat sensori yang baik dan (7) diisolasi dari inangnya.

Pada beberapa susu fermentasi juga mengandung prebiotik. Prebiotik adalah karbohidrat kompleks yang tidak dapat dicerna oleh saluran pencernaan dan dapat menstimulasi pertumbuhan bakteri menguntungkan dalam usus manusia. Prebiotik secara alami dapat ditemukan pada biji-bijian, sayuran, buah-buahan dan

umbi-umbian. Secara umum prebiotik bermanfaat bagi kesehatan dengan cara memberi nutrisi khusus bagi bakteri yang menguntungkan, sehingga meningkatkan jumlah bakteri yang menguntungkan dan mengurangi jumlah bakteri merugikan di dalam usus manusia (Waspodo, 2002). Menurut Penelitian Purwijantiningsih (2007), pemberian prebiotik pada yogurt dapat meningkatkan viabilitas Bakteria Asam Laktat pada minuman tersebut

Tabel 2. Susu fermentasi yang dipasarkan di daerah Yogyakarta dan jenis bakteri yang menfermentasi

Susu Fermentasi	Jenis bakteri (berdasarkan label kemasan)	Keterangan (berdasarkan label kemasan)
A	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> , <i>L. Casei</i>	probiotik
B	<i>L. casei</i> shirota strain,	probiotik
C	<i>L. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> ,	probiotik
D	<i>L. bulgaricus</i> , <i>Streptococcus</i> . <i>Thermophilus</i>	
E	<i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>	
F	<i>L. acidophilus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i>	
G	<i>B. animalis</i> ,	+ nata de coco
H	<i>L. delbruecii</i> , <i>S. thermophilus</i>	
I	<i>B. animalis</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>Lactococcus</i>	+ potongan Aloe vera
J	<i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>	+ prebiotik inulin
K	<i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>	
L	<i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>	
M	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i>	
N	<i>L. bulgaricus</i>	
O	Tidak mencantumkan	probiotik
P	<i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>	
Q	<i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>B. animalis</i>	
R	<i>L. bulgaricus</i>	

Viabilitas Bakteri Asam Laktat dalam produk susu fermentasi penting artinya mengingat adanya efek menguntungkan dari keberadaan sel tersebut bagi kesehatan. Menurut Salminen & Wright (1993), syarat minuman probiotik mengandung lebih dari 10^8 cfu/ ml dalam keadaan hidup. Kemampuan minuman

susu fermentasi dalam menghambat bakteri patogen enterik berkaitan erat dengan jumlah viabilitas BAL yang terdapat pada minuman susu fermentasi. BAL tersebut akan menghasilkan senyawa-senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen enterik. Viabilitas Bakteri Asam Laktat yang terkandung pada sampel minuman susu fermentasi dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil uji korelasi diketahui bahwa ada pengaruh viabilitas BAL dan pH terhadap zona hambat dengan nilai R bervariasi dari 0,557 – 0,822 (Lampiran 1)

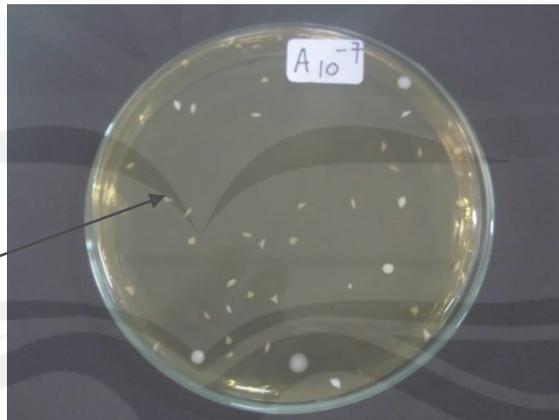
Dua belas sampel susu fermentasi mengandung jumlah BAL yang telah memenuhi standar yang diterapkan, sebanyak 6 sampel tidak memenuhi standar. Bahkan ada satu sampel yang tidak mengandung BAL yang hidup. Hal serupa juga ditunjukkan oleh penelitian yang dilakukan oleh Permana (2013). Dari enam merk minuman susu fermentasi di dipasarkan di kota Malang mengandung kultur BAL hidup sedangkan 2 merk tidak mengandung kultur BAL hidup di dalamnya.

Tabel 3. Viabilitas BAL dan pH susu fermentasi yang dipasarkan di Yogyakarta

Susu Fermentasi	Viabilitas BAL (CFU/mL)	Derajat Keasaman (pH)
A	$4,5 \times 10^8$	3,8
B	$1,2 \times 10^{10}$	3,5
C	$2,55 \times 10^7$	3,9
D	$9,5 \times 10^5$	3,9
E	$8,72 \times 10^9$	3,5
F	$5,7 \times 10^6$	3,9
G	$1,38 \times 10^9$	3,6
H	$1,61 \times 10^9$	3,6
I	$2,34 \times 10^9$	3,4
J	-	4,3
K	$2,67 \times 10^7$	3,9
L	$1,6 \times 10^8$	3,8
M	$1,84 \times 10^8$	3,7
N	$1,69 \times 10^9$	3,4
O	$1,82 \times 10^7$	3,7
P	$3,7 \times 10^8$	3,6
Q	$5,1 \times 10^8$	3,6
R	$5,8 \times 10^8$	3,4

Tidak dijumpainya BAL yang hidup pada sampel susu fermentasi J diduga karena susu tersebut mengalami proses sterilisasi dengan UHT (*Ultra High Temperature*). Jika dilihat kemasannya, sampel J menggunakan kemasan kotak karton. Kemasan tersebut biasanya digunakan untuk kemasan susu UHT. Sampel susu fermentasi lainnya tidak menggunakan kemasan seperti itu tetapi dengan menggunakan botol baik plastik maupun kaca atau cup seperti gelas plastik.

Penelitian Purwijantiningih (2007), viabilitas BAL akan menurun seiring waktu penyimpanan. Sampel-sampel yang digunakan pada penelitian ini semuanya masih dalam keadaan baik (belum kadaluarsa). Sampel-sampel dengan jumlah BAL yang tidak memenuhi standar mungkin disebabkan penyimpanan yang kurang baik. Minuman susu fermentasi sebaiknya disimpan di tempat dingin, ataupun jumlah BAL starter yang tidak memenuhi standar. Koloni BAL yang tumbuh pada medium MRS dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Koloni BAL pada medium MRS agar

Selama berlangsung fermentasi, laktosa dalam susu akan diubah menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat. Laktosa digunakan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan maupun sebagai sumber energi. Laktosa dalam susu ditransfer ke dalam sel oleh enzim permease, kemudian oleh enzim laktase atau phospho-galaktosidase diubah menjadi galaktosa dan glukosa. Glukosa yang terbentuk, selanjutnya oleh bakteri asam laktat

dimetabolisme menjadi asam laktat (Tamime & Deeth, 1989). Dihasilkannya asam laktat sebagai hasil metabolisme gula menyebabkan penurunan pH minuman susu fermentasi. Dari Tabel 3 terlihat pH minuman susu fermentasi berkisar antara 3,4 sampai 4,3

Menurut Oberman (1985) dalam Suseno dkk. (2001), asam-asam lain yang diproduksi oleh bakteri probiotik seperti asam asetat, propionat dan formiat, walaupun diproduksi dalam jumlah sedikit, tetapi mempunyai daya antimikroba yang lebih kuat dibandingkan asam laktat. Asam laktat dan sedikit asam asetat yang terbentuk mempunyai efek penghambat terhadap mikroba patogen, karena selain disebabkan oleh penurunan pH di bawah pH optimum pertumbuhan mikroba patogen, tetapi juga karena adanya molekul asam yang tidak berdisosiasi yang dapat menembus dinding sel dan mengganggu proses metabolisme dan mekanisme genetik sel bakteri patogen.

Menurut De Vuyst dan Vandamme (1994) diacu dalam Jenie (1996) sebagian besar, efek antagonis tersebut disebabkan oleh pembentukan asam laktat dan asam asetat yang berasal dari karbohidrat endogen atau yang ditambahkan dan penurunan pH yang dihasilkan. Akan tetapi, telah diketahui bahwa bakteri probiotik juga menghasilkan senyawa-senyawa lain selain asam laktat dan asetat, diantaranya adalah hidrogen peroksida, diasetil, karbondioksida, bakteriosin dan reuterin.

Kemampuan BAL dalam menanggulangi penyakit infeksi dapat disebabkan karena produk metabolit yang dihasilkannya. BAL menghasilkan senyawa asam laktat, hidrogen peroksida (H_2O_2) dan karbon dioksida (CO_2) serta senyawa peptida antimikroba yang bernama bakteriosin. Dilaporkan bahwa bakteriosin memegang peranan paling penting dalam menanggulangi infeksi (Oakey *et al.*, 2000). Kelebihan senyawa ini dibandingkan senyawa antimikroba lain adalah bekerja secara selektif, aman dan mampu mencegah atau menghambat resistensi (Marshall, 2003).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Suseno dkk. (2000), minuman probiotik nira siwalan dapat menghambat beberapa bakteri patogen yakni *S. typhii*,

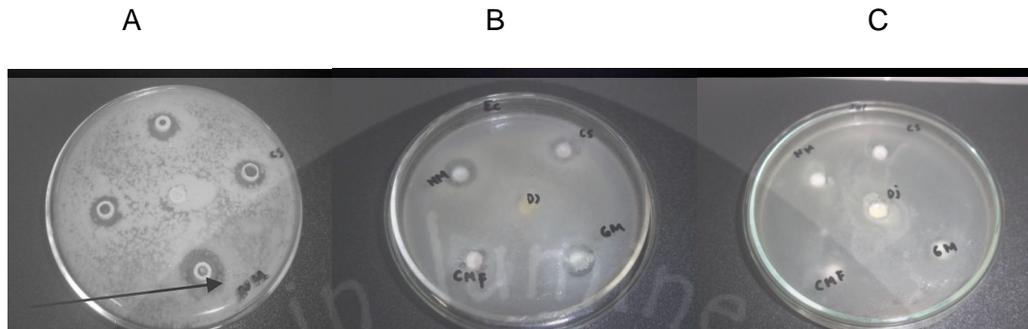
S. aureus dan *E.coli*. Bakteri probiotik bersifat antagonis terhadap bakteri patogen karena selama fermentasi dapat menghasilkan asam-asam organik dan bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen maupun pembusuk. Kemampuan sampel susu fermentasi terhadap bakteri patogen dapat dilihat pada Tabel 4.

Susu fermentasi memiliki kemampuan berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen uji. Penghambatan pertumbuhan ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran (Gambar 2). Aktivitas antibakteri terbesar ditunjukkan oleh sampel S dan terkecil ditunjukkan oleh sampel J. Berdasarkan uji viabilitas BAL diketahui bahwa sampel J tidak mengandung BAL yang hidup dengan pH paling tinggi dibandingkan minuman fermentasi lainnya. Aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* menunjukkan penghambatan pertumbuhan paling baik dibandingkan dua bakteri uji lainnya. Aktivitas antibakteri setiap senyawa berbeda antara satu dengan yang lain.

Tabel 4. Luas zona bening susu fermentasi pada 3 bakteri uji

Sample	Luas Zona Hambat (mm ²)		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	Salmonella
A	6,28	3,14	-
B	12,56	1,57	1,57
C	1,57	-	-
D	1,57	-	-
E	12,56	6,28	3,14
F	3,14	-	-
G	1,57	-	-
H	4,71	-	-
I	9,42	3,14	1,57
J	-	-	-
K	3,14	-	-
L	3,14	3,14	1,57
M	9,42	3,14	1,57
N	12,56	2,35	1,57
O	9,42	1,57	1,57
P	7,85	7,85	1,57
Q	10,99	9,42	3,14
R	14,13	10,99	3,14

Keterangan : - = tidak ada zona bening



Gambar 2. Penghambatan beberapa susu fermentasi terhadap 3 bakteri uji
A = *S. aureus*, B = *E. coli*, C = *Salmonella*

Menurut penelitian Sugitha dkk. (2011), hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa daya hambat isolat BAL terhadap *Staphylococcus aureus* secara umum lebih besar dibanding daya hambat terhadap *Salmonella* dan *E. coli*. Salah satu faktor paling penting yang mempengaruhi aktivitas antibakteri adalah spesies atau strain mikroorganisme yang diuji, strain berbeda mempunyai genotip dan fenotip resistensi yang berbeda pula terhadap bakteri uji.

Hal ini diperjelas oleh Fardiaz (1992) bahwa bakteri Gram negatif lebih resisten terhadap antimikroba dibanding dengan bakteri Gram positif karena bakteri Gram negatif mempunyai beberapa mekanisme resistensi, diantaranya sifat *barrier* permeabilitas alami pada lapisan bagian luarnya yang memperlambat masuknya obat ataupun senyawa anti bakteri, serta mekanisme spesifik resistensi yang menginaktifkan obat dan senyawa antibakteri sehingga mencegah transport senyawa tersebut menembus membran sitoplasma atau mencegah pengikatan pada sisi intraseluler. Menurut Atlas (1996) *Salmonella* dan *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki dua membran sel yaitu *outer membrane* dan *cytoplasmic membrane*, sedangkan *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri Gram positif yang hanya memiliki *cytoplasmic membrane* (Atlas, 1996). Membran sel ini berhubungan dengan mekanisme kerja senyawa antibakteri dalam menghambat bakteri.