

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Susu Fermentasi

Hasil ternak sangat mungkin diolah sebagai produk makanan fungsional, salah satunya adalah susu fermentasi. Berkembangnya bukti ilmiah bahwa susu fermentasi mengandung nutrisi yang baik serta memiliki khasiat bagi kesehatan manusia (Zakaria dkk., 2010). Keistimewaan lain dari susu fermentasi yakni terletak pada umur simpan yang lebih panjang dibanding susu segar, karena bakteri asam laktat (BAL) yang terkandung dalam susu fermentasi dapat mencegah pertumbuhan bakteri patogen. Fermentasi menghasilkan asam laktat dan senyawa lain yang dapat memberi aroma, rasa, dan tekstur yang khas (Gianti dan Evanuraini, 2011).

Menurut Siswanti (2002) susu fermentasi adalah produk yang dihasilkan dari : susu penuh (*full milk*), sebagian (kadar lemak 2%), atau tanpa lemak (*full skim*), dengan bantuan mikrobial spesifik. Dijelaskan pula oleh Chairunnisa dkk. (2006) bahwa susu fermentasi ataupun *fermented milk* merupakan produk susu yang dihasilkan dari proses fermentasi, dengan bahan baku susu yang telah diolah, dengan atau tanpa penambahan atau modifikasi komposisi susu tersebut, dan dengan adanya penurunan pH atau tanpa adanya koagulasi.

Andrianto (2008a) berpendapat pada era moderen ini susu fermentasi lebih dikenal sebagai salah satu minuman probiotik andalan karena mengandung beberapa jenis bakteri menguntungkan bagi manusia sebab proses fermentasi akan menaikkan jumlah bakteri asam laktat (BAL) non-patogen. Susu fermentasi dibedakan ke dalam tiga kategori berdasarkan produk metabolik yaitu fermentasi laktat, fermentasi kapang-laktat, dan fermentasi khamir-laktat, masing-masing diklasifikasikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Produk Susu Fermentasi

Kategori		Produk
Fermentasi laktat	Mesofilik (<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , dan <i>Streptococcus thermophilus</i>)	Butter milk Culture buttermilk Långofil Täetmjolk FilmjÖlk Täfil
	Termofilik (<i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , dan <i>L. acidhopilus</i>)	<i>Yoghurt</i> Labneh Zabadi Chakka Bulgarian buttermil
	Terapeutik (<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>shirota</i>)	Biograde [®] Bifighuri [®] Acidophilus milk ABT ^a BRA ^b Yakult
Fermentasi kapang-laktat		Villi
Fementasi khamir-laktat (<i>Candida kefir</i>)		Kefir Koumiss Acidophilus-yeast milk

Sumber : Coppola dkk. (2008).

Menurut Zakaria (2003) kualitas susu fermentasi ditentukan oleh total solid yang terdapat dalam susu, bahan baku, *starter*, tingginya kadar protein dan sineresis. Penambahan *starter* dan prosentase *starter* yang berbeda serta bahan baku yang berbeda dapat menghasilkan kualitas susu fermentasi yang berbeda dan dapat mengubah nilai nutrisi dan sifat atau tekstur dari susu fermentasi, sedangkan sineresis atau pemisahan *whey* menjadi tidak dikehendaki dalam pembuatan susu fermentasi khususnya *yoghurt* karena dapat menyebabkan koagulan (*curd*) yang terbentuk menjadi tidak stabil atau mudah rusak. Sineresis dapat terjadi karena tingginya suhu penyimpanan, rendahnya total solid dalam susu, ada getaran selama transportasi atau selama penyimpanan (Zakaria, 2009).

B. Produk Susu Fermentasi di Pasaran

Menurut Putri (2009) fermentasi susu merupakan salah satu cara pengawetan dan penganekaragaman pangan yang telah dilakukan sejak zaman dulu. Produk susu fermentasi yang sudah dikenal di Indonesia antara lain *yoghurt*, yakult[®], minuman susu fermentasi berperisa, dan kefir.

1. *Yoghurt*

Menurut Anonim (2009a) *yoghurt* adalah produk yang diperoleh dari fermentasi susu dan atau susu rekonstitusi dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dan atau bakteri asam laktat lain yang sesuai, dengan/atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan. Syarat mutu *yoghurt* sesuai Badan Standarisasi Nasional tahun 2009 untuk jumlah bakteri *starter yoghurt* adalah minimal 10^7 CFU/ml, sedangkan keasaman tertitrasi (sebagai asam laktat) (b/b) berkisar 0,5—2,0%.

2. Yakult[®]

Yakult[®] adalah produk hasil fermentasi bahan baku berupa susu skim (susu tanpa lemak) ditambah bahan-bahan lain yaitu gula, air, dan flavor (aroma) menggunakan bakteri *Lactobacillus casei* subsp. *shirota* (Andrianto, 2008b).

3. Minuman susu fermentasi berperisa

Menurut Anonim (2009b) minuman susu fermentasi berperisa adalah minuman berbahan dasar susu fermentasi yang diberi perisa, dapat ditambahkan bahan pangan lain dengan atau tanpa perlakuan panas, serta dikemas secara kedap. Syarat mutu minuman susu fermentasi berperisa sesuai Badan Standarisasi Nasional tahun 2009 untuk jumlah bakteri *starter* di

dalam susu fermentasi berperisa adalah minimal 10^8 CFU/ml, sedangkan keasaman tertitrasi (dihitung sebagai asam laktat) (b/b) berkisar 0,2—0,9%.

4. Kefir

Kefir adalah produk susu fermentasi yang mempunyai rasa yang spesifik sebagai hasil fermentasi bakteri asam laktat dan khamir yang hidup bersama-sama dan saling menguntungkan. Rasa susu fermentasi (kefir) didominasi oleh asam laktat yang timbul pada proses fermentasi laktosa oleh *starter* (Zakaria, 2009). Sesuai standar yang ditetapkan oleh *Codex Alimentarius Comitte* (2003), jumlah bakteri *starter* kefir adalah minimal 10^4 CFU/ml.

C. Kandungan Mikrobiologis dan Manfaat Susu Fermentasi

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

Menurut Kekkonen dkk. (2007) efek probiotik spesifik untuk tiap galur dan merupakan salah satu alasan pentingnya menentukan genus dan spesies bakteri probiotik ketika menyatakan manfaat kesehatan. Widodo (2002) mengemukakan bahwa yang membedakan masing-masing produk susu fermentasi adalah jenis

bakterinya. Beberapa produk susu fermentasi dan bakteri yang memfermentasikannya disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Produk Susu Fermentasi dan Mikrobia Pembuatnya

Nama susu fermentasi	Mikrobia
<i>Yoghurt</i> , kishk, zabaday	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> dan <i>Streptococcus thermophilus</i>
Kefir	<i>Lc. lactis</i> dan <i>Lactobacillus kefir</i>
Susu asidofilus	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Yakult [®] , susu <i>L. casei</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
Susu bifidus	<i>Bifidobacterium bifidum</i>

Sumber : Widodo (2002).

Apabila mikrobia yang ada dalam susu fermentasi (probiotik) memenuhi kriteria seperti yang dikemukakan oleh Fuller (1989) maka konsumsi susu fermentasi secara rutin akan memberikan manfaat (Andrianto, 2008b) antara lain :

1. Meningkatkan pertumbuhan inang

Peningkatan pertumbuhan terjadi sebagai hasil dari penurunan infeksi subklinis akibat tertekannya pertumbuhan mikrobia penyebab penyakit

2. Memperbaiki penggunaan nutrisi makanan

Hal ini dapat terjadi melalui peningkatan efisiensi proses pencernaan atau peningkatan pencernaan senyawa-senyawa yang awalnya tidak tercerna

3. Meningkatkan kesehatan

Terjadi resistensi inang terhadap penyakit infeksi baik secara langsung melalui mekanisme antagonis maupun melalui status kekebalan. Di dalam tubuh jika terjadi sintesis antara senyawa antioksidan, antibiotik alami, dan berbagai vitamin penting, maka akan dapat meningkatkan kesehatan manusia.

Fermentasi susu dengan bakteri asam laktat terbagi menjadi dua golongan fermentasi yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Beberapa spesies dari *Lactobacillus* misalnya *L. acidophilus* termasuk golongan homofermentatif (Karimah dkk., 2011), sedangkan beberapa *Bifidobacterium* bersifat heterofermentatif, yakni

memfermentasi laktosa dengan hasil akhir fermentasinya menghasilkan asam laktat dan asam asetat rasio 2:3 dan etanol dalam jumlah besar (Charteris dkk., 2002).

Bakteri homofermentatif mampu memproduksi asam laktat dari glukosa sebanyak lebih dari 85—90%, sedangkan bakteri heterofermentatif hanya menghasilkan kira-kira 50% asam laktat dari glukosa (Surono, 2004). Homofermentasi hanya menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir metabolisme glukosa dan dalam proses ini digunakan jalur *Embden-Meyerhoff-Parnas*. Pada proses heterofermentasi asam laktat, karbondioksida dan etanol diproduksi dalam jumlah molar yang seimbang melalui jalur fosfoketolase (Hofvendahl dan Haegerdal, 2000).

D. Senyawa Antimikrobia pada Susu Fermentasi

Parameswari dkk. (2011) mengemukakan bahwa bakteri probiotik yang merupakan BAL menghasilkan senyawa metabolit yang berfungsi sebagai antimikrobia. Senyawa antimikrobia merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikrobia yang bersifat merugikan. Adapun senyawa antimikrobia ini meliputi antibakteri, antifungal, dan antiparasit. Proses fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat memiliki ciri khas yaitu terakumulasinya asam-asam organik yang dihasilkan oleh BAL disertai penurunan nilai pH. Dengan adanya asam laktat menyebabkan penurunan pH sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang optimum pada pH 6—7.

Bakteri asam laktat menghasilkan metabolit yang bersifat antimikrobia, dibagi menjadi dua kelompok yaitu komponen bermassa molekul rendah (<1.000 Da) seperti asam organik dan protein antimikrobia dikenal sebagai bakteriosin (>1.000 Da). Asam organik seperti asam laktat dan asam asetat yang dihasilkan selama proses

fermentasi menghambat mikroorganisme melalui penurunan pH dan beraksi langsung sebagai antimikrobia dalam bentuk yang tidak terdisosiasi (Naidu, 2000).

Menurut Naidu (2000) efektivitas antibakteri dari BAL meningkat bersamaan dengan penurunan pH. Asam laktat yang tidak terdisosiasi bebas menembus membran sel dan masuk ke dalam sitoplasma. Pada kondisi pH tinggi di dalam sitoplasma, asam laktat terdisosiasi menghasilkan proton yang cenderung menurunkan pH sitoplasma. Sel akan berusaha mempertahankan pH internalnya dengan cara menetralkan atau memaksa keluar proton. Usaha ini akan memperlambat pertumbuhan bakteri karena energi pertumbuhan digunakan untuk mengeluarkan proton. Hal ini tidak mungkin bisa dilalui pada kondisi pertumbuhan dan jika terjadi maka sel akan mati.

Brannen dan Davidson (1993) menambahkan mekanisme penghambatan bakteri oleh asam organik berhubungan dengan keseimbangan asam basa, penambahan proton, dan produksi oleh energi sel. Interaksi dengan senyawa kimia akan mengganggu keseimbangan asam basa dan mengakibatkan kerusakan sel, sedangkan ketersediaan ion-ion logam akan mengganggu permeabilitas membran, karena membran kurang permeabel terhadap ion dibandingkan molekul yang tidak bermuatan. Perubahan permeabilitas membran berakibat pada terganggunya transpor nutrisi ke dalam sel dan menyebabkan metabolit internal keluar dari sel.

Lebih lanjut, mekanisme penghambatan pertumbuhan mikrobia oleh senyawa antibakteri dapat berlangsung melalui beberapa cara di bawah ini, seperti yang dikemukakan oleh Widiana (2012) :

1. Mengganggu pembentukan dinding sel, hal ini disebabkan karena terjadinya akumulasi komponen lipofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel.

2. Bereaksi dengan membran sel, beberapa antimikrobia merusak permeabilitas membran, akibatnya terjadi kebocoran materi intraseluler, seperti senyawa phenol yang dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat, serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel.
3. Menghambat aktivitas enzim, efek senyawa antimikrobia dapat menghambat kerja enzim jika antara ikatan kompleks yang menyusun struktur enzim dengan komponen senyawa antimikrobia mempunyai spesifitas yang sama. Penghambatan tersebut dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme sel.
4. Komponen bioaktif dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (RNA dan DNA), menyebabkan terganggunya transfer informasi genetik yang selanjutnya akan menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga terganggunya proses pembelahan sel untuk pembiakan.

Metabolit lainnya yang dihasilkan oleh BAL adalah bakteriosin. Bakteriosin merupakan peptida ekstraseluler bioaktif atau peptida kompleks yang bakterisida atau bakteriostatik melawan spesies lain, terutama bakteri dengan strain yang berdekatan. Sebagian besar bakteriosin dari bakteri Gram positif (BAL) memperlihatkan aktivitas terhadap berbagai spesies Gram positif dalam spektrum luas, sehingga kemungkinan penghambatan terhadap bakteri Gram positif disebabkan oleh bakteriosin. Akan tetapi, bakteriosin juga dapat melawan bakteri dengan strain yang berjauhan dengan bakteri penghasilnya (Oakey dkk., 2000).

Mekanisme kerja bakteriosin yakni molekul bakteriosin melakukan kontak langsung dengan membran sel, sehingga mengganggu potensial membran berupa destabilisasi depolarisasi membran sitoplasma atau merusak permeabilitas membran sel mikrobial dengan membentuk pori pada sel mikrobial sehingga membran sel

akan mengalami kebocoran dan sel tidak mampu bertahan. Terjadinya kebocoran akan menyebabkan terganggunya kestabilan membran sel sehingga pertumbuhan sel mikrobial terhambat dan akhirnya mengalami kematian (Jack dkk, 1995).

Ogunbanwo dkk (2003) mengemukakan bahwa bakteriosin yang dihasilkan BAL memiliki banyak manfaat dalam industri produk susu fermentasi karena selain dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen, juga dapat menghambat pertumbuhan khamir patogen seperti *C. albicans*. Lebih lanjut beberapa mikrobial dalam susu fermentasi (probiotik) yang telah biasa digunakan serta jenis senyawa antimikrobial yang dihasilkannya seperti pada dalam Tabel 3.

Tabel 3. Mikrobial dan Senyawa Antimikrobial yang Dihasilkan

Mikrobial	Senyawa antimikrobial yang dihasilkan
<i>Lactobacillus</i> GG	Antibiotik dengan spektrum luas
<i>L. acidophilus</i>	Acidolin, Acidophilin, <i>Bakteriosin</i> , Lactocidin
<i>L. bulgaricus</i>	Bulgarican
<i>L. plantarum</i>	Lactocin
<i>L. brevis</i>	Lactobrevin
<i>L. reuteri</i>	Reuterin

Sumber : Goldin dan Gorbach (1984).

Pan dkk. (2009) membagi kategori penghambatan antimikrobial berdasarkan zona hambat. Respon hambatan pertumbuhan terhadap mikrobial uji dikatakan lemah jika memiliki luas zona hambat sebesar 0—3 mm². Respon hambatan sedang memiliki luas zona hambat diantara 3—6 mm², dan dikatakan tinggi jika memiliki luas zona hambatan lebih dari 6 mm².

E. Faktor Viabilitas terhadap Bakteri Probiotik

Menurut Setyawati (2014) viabilitas bakteri dinyatakan sebagai kemampuan sel untuk tetap *viabel* setelah mengalami proses pemanasan. Cahyanti (2011) melanjutkan viabilitas yang baik akan menentukan jumlah probiotik yang akan dikonsumsi dan

yang mampu bertahan hidup dalam saluran pencernaan manusia sehingga menimbulkan efek kesehatan. Hal ini diperkirakan berhubungan dengan mekanisme adaptasi probiotik tersebut terhadap kondisi lingkungan pada saat pengolahan susu. Pada penelitian Bozanic dan Tratnick (2001) viabilitas probiotik dalam susu fermentasi dipengaruhi oleh kandungan nutrisi dalam susu.

Beberapa faktor yang memengaruhi viabilitas bakteri probiotik, antara lain:

1. Pilihan bakteri probiotik/kombinasi makanan

Proses fermentasi pada umumnya dilakukan dengan menggunakan kultur murni. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri yang digunakan sebagai *starter* kultur untuk susu fermentasi, berpotensi sebagai antikoolesterol, karena adanya Eksopolisakarida/EPS. BAL mampu bersaing dengan bakteri lain dalam proses fermentasi alami, karena tahan terhadap pH yang tinggi sampai rendah yaitu pada rentang pH 3—8 (Djaafar dkk., 1996). Akan tetapi, bakteri ini juga dinyatakan sebagai bakteri asidofilik, karena memerlukan pH yang relatif rendah (sekitar 5,4—4,6) supaya tumbuh dengan baik.

2. Substrat (medium)

Pada waktu tertentu jumlah substrat dalam susu untuk fermentasi tersedia cukup banyak sehingga bakteri sangat aktif memperbanyak diri, tetapi suatu saat jumlah substrat semakin menurun sehingga bakteri relatif tidak aktif memperbanyak diri (Sunarlim dan Usmiati, 2006).

3. Asam laktat dan asam asetat

Menurut Triyono dkk. (2010) peningkatan kadar asam laktat dapat terjadi dengan peningkatan konsentrasi susu skim yang juga akan meningkatkan laktosa sehingga diikuti dengan meningkatnya jumlah asam

laktat yang dihasilkan. Penguraian laktosa menjadi asam laktat dipengaruhi oleh banyaknya laktosa dan jumlah BAL yang ditambahkan.

4. Waktu dan Suhu Fermentasi

Lama waktu fermentasi dan suhu inkubasi berpengaruh pada pertumbuhan BAL pada susu fermentasi. Suhu fermentasi menentukan jenis mikroba yang dominan selama fermentasi. Contohnya *Lactobacillus bulgaricus* yang termasuk dalam kelompok BAL pada umumnya memiliki suhu pertumbuhan optimum berkisar 10—40°C. Jika konsentrasi asam yang diinginkan telah tercapai, maka suhu diturunkan melalui proses pendinginan pada suhu di bawah 10°C yang berfungsi untuk menghentikan fermentasi atau inaktivasi kultur *starter*. Menurut Abubakar dkk. (2000) bertambahnya lama waktu fermentasi akan meningkatkan kerja dari mikroba dan pada suhu optimum aktifitas metabolisme mikroba meningkat, sehingga pertumbuhannya menjadi lebih cepat dan populasinya meningkat.

5. Suhu penyimpanan

Suhu penyimpanan dapat memengaruhi pertumbuhan bakteri pada umumnya. Suhu yang ekstrim akan menyebabkan enzim-enzim dan fungsi struktur sel, seperti membran sel menjadi inaktif. Menurut Yousef dan Juneja (2003) penurunan suhu dapat menyebabkan penurunan fluiditas lapisan ganda fosfolipid yang menyusun membran sel. Lebih lanjut Sunarlim dan Misgiyarta (2008) menyatakan bahwa suhu penyimpanan rendah dapat menyebabkan terhambatnya kerja enzim laktase atau telah terbentuk asam laktat secara maksimal sehingga tidak terdapat peningkatan total asam tertitrasi dan penurunan pH yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri.

6. Ketersediaan hidrogen peroksida (H_2O_2)

Bakteri asam laktat memiliki kemampuan dalam menekan pertumbuhan mikrobia patogen dengan menghasilkan senyawa H_2O_2 di bawah kondisi pertumbuhan aerob. Semakin besar konsentrasi senyawa H_2O_2 yang dihasilkan semakin besar kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan mikrobia patogen. Bakteri asam laktat secara bersamaan akan menghasilkan senyawa H_2O_2 , asam laktat akan menurunkan pH lingkungan, disamping senyawa lain sebagai penghambat mikrobia patogen (Misgiyarta, 2005).

Hidrogen peroksida memiliki efek bakterisidal yang menyebabkan oksidasi yang kuat pada sel bakteri dan merusak struktur molekul dasar dari protein sel. Pada kondisi tertentu, spora bakteri ditemukan paling resisten terhadap H_2O_2 diikuti dengan bakteri Gram positif, sedangkan bakteri yang paling peka terhadap H_2O_2 adalah bakteri Gram negatif (Ouwenhand dan Vesterlund, 2004).

7. Ketersediaan nutrisi

Hampir semua BAL hanya memperoleh energi dari metabolisme gula sehingga habitat pertumbuhannya hanya terbatas pada lingkungan yang menyediakan cukup gula atau biasa disebut dengan lingkungan yang kaya nutrisi. Oleh sebab itu distribusi BAL sangat bergantung pada ketersediaan nutrisi terutama laktosa, karena bakteri tersebut membutuhkan nutrisi yang sangat banyak untuk melangsungkan hidupnya (Ernawati, 2010).

8. Derajat keasaman

Selama proses fermentasi berlangsung, penurunan pH susu utamanya disebabkan oleh fermentasi asam laktat yang terjadi akibat kerja mikrobia yang mampu mengubah laktosa menjadi asam laktat (Bensmira dan Jiang,

2011). Semakin lama waktu fermentasi, maka asam yang dihasilkan semakin banyak. Asam-asam tersebut dapat berupa asam asetat, asam piruvat dan asam laktat (Muljono dan Daewis, 1990). Menurut Sadler dan Murphy (2003) asam yang terukur oleh alat pH meter adalah konsentrasi ion H^+ yang terlepas (terdisosiasi), sehingga nilai pH tidak mewakili asam yang terdapat pada produk sesungguhnya. Hal tersebut dikarenakan dalam suatu produk susu fermentasi mungkin terdiri dari beberapa asam lemah yang tidak dapat terdisosiasi secara sempurna.

Kemampuan BAL beradaptasi dengan pH berbeda-beda setiap jenisnya. Seperti *Lactobacillus* sp. yang tidak mampu tumbuh pada pH di bawah pH 3 tetapi ada juga BAL yang toleran terhadap pH rendah yaitu pada pH 2 dan pH 3. Kemampuan BAL yang masih dapat tumbuh pada rentang pH tersebut disebabkan pada awal pertumbuhan sel masih mampu melakukan transport aktif pengeluaran proton, sehingga nutrisi masih dapat ditransport, akan tetapi dengan waktu inkubasi berlangsung terus, jumlah pengeluaran proton dan pemasukan proton menjadi tidak seimbang. Proton di dalam medium cukup besar dan keadaan ini terus menekan bakteri untuk bertahan (Surono, 2003).

9. Aras inokulasi *starter*

Menurut Rattray dan O'Connell (2011) jumlah mikroba pada susu fermentasi dipengaruhi oleh aras (dosis) *starter* yang digunakan. Peningkatan aras *starter* akan meningkatkan jumlah mikroba pada susu fermentasi, begitu juga sebaliknya. Hal ini ditegaskan kembali oleh Aritama (2013) penambahan konsentrasi probiotik yang berbeda berpengaruh nyata terhadap viabilitas probiotik awal dan akhir di dalam susu fermentasi. Konsentrasi awal probiotik yang ditambahkan penting dalam menentukan viabilitas awal dan akhir

probiotik dalam susu fermentasi. Semakin tinggi penambahan konsentrasi akan meningkatkan viabilitas probiotik awal di dalam susu fermentasi.

10. Pertumbuhan promotor dan inhibitor

Menurut Hidayat dkk. (2013) ekstrak buah yang mengandung gula dapat menstimulasi serta meningkatkan aktivitas BAL karena bakteri tersebut dapat memanfaatkan glukosa dalam buah untuk pertumbuhannya. Kemampuan terbesar yang dimiliki BAL yakni dapat mendegradasi berbagai jenis gula menjadi berbagai komponen terutama asam laktat. BAL akan memanfaatkan gula dalam susu dan buah untuk difermentasi menjadi asam laktat. Penambahan susu skim meningkatkan kandungan laktosa dalam medium fermentasi sehingga kadar asam laktat yang dihasilkan tergolong tinggi karena penambahan buah dan susu skim meningkatkan ketersediaan gula (karbohidrat) sebagai sumber energi.

Menurut Gianti dan Evanuraini (2011) semakin tinggi kadar gula yang ditambahkan cenderung memengaruhi pH susu fermentasi dan menyebabkan aktivitas *starter* menurun. Karena konsentrasi medium yang pekat menyebabkan mikroorganisme mengalami plasmolisis karena medium menjadi hipertonik dan kandungan air dalam bahan pangan berkurang dan perkembangbiakannya menjadi terhambat akibatnya pembentukan asam laktat semakin menurun. Selain itu gula yang ditambahkan ke dalam bahan pangan dengan konsentrasi tinggi menyebabkan sebagian besar air berkurang sehingga tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan air untuk mikroorganisme.

11. Konsentrasi metabolit

Selama penyimpanan, jumlah BAL campuran *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, dan *L. acidophilus* akan mengalami penurunan jumlah BAL. Hal

ini dikarenakan selain menghasilkan asam laktat, BAL juga menghasilkan metabolit lain seperti hidrogen peroksida yang dalam akumulasi yang besar dapat menghambat BAL tersebut (Suseno dkk., 2000).

Adapun interaksi mikrobial merupakan suatu sistem yang dinamis, yaitu terjadi perubahan yang terus menerus pada populasi mikrobial yang terlibat di dalamnya. Adanya kompetisi untuk mendapatkan nutrisi yang terbatas, kondisi lingkungan yang kurang mendukung, akumulasi metabolit yang kemungkinan beracun akan menginduksi enzim-enzim tertentu untuk bereaksi agar proses metabolisme dapat terus berlangsung merupakan salah satu faktor viabilitas BAL (Lunggani, 2007).

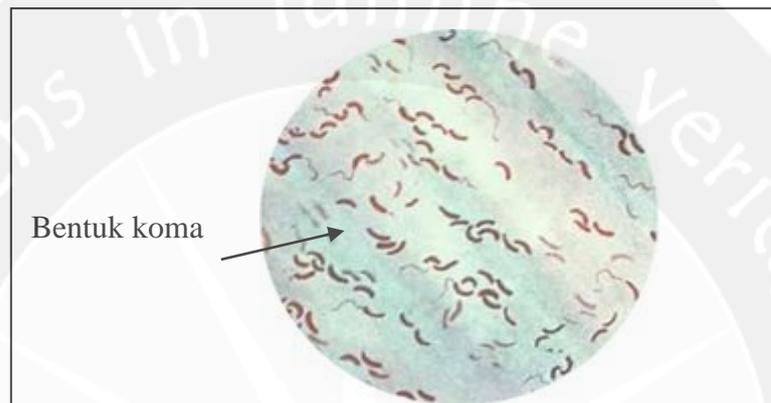
F. Mikrobial sebagai Indikator Uji

Penelitian ini menggunakan tiga jenis mikrobial yaitu *Streptococcus pyogenes* mewakili bakteri Gram positif penyebab infeksi saluran nafas dan radang tenggorokan (Erywiyatno dkk., 2012), *Vibrio cholerae* mewakili bakteri Gram negatif penyebab diare (Lesmana, 2002), dan *Candida albicans* dari golongan khamir yang dapat menginfeksi bagian tubuh seperti mulut, vagina, dan kulit (Kuswadji, 2002).

Ketiga spesies mikrobial tersebut memiliki perbedaan dalam hal struktur penyusun dinding selnya. Menurut Efendi dan Hertiani (2013) dinding sel bakteri Gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tipis dibandingkan bakteri Gram positif, tetapi memiliki lapisan membran luar tambahan yang lebih kompleks sehingga akan lebih sulit menembus dinding sel bakteri Gram negatif daripada Gram positif, sedangkan struktur penyusun dinding pada *C. albicans* tersusun dari polisakarida (mannan, glukosa, kitin), protein dan lipid dengan membran sel di bawahnya yang mengandung sterol.



Menurut Amelia (2005) *Vibrio cholerae* banyak ditemui di permukaan air yang terkontaminasi dengan feses yang mengandung bakteri tersebut, sehingga penularan penyakit ini dapat melalui air, makanan dan sanitasi yang buruk. Bakteri ini termasuk bakteri Gram negatif, bersifat fakultatif anaerob, berbentuk batang bengkok seperti koma (Gambar 2) dengan ukuran panjang 2—4 μm .



Gambar 2. Bentuk sel koma dan Gram negatif *V. cholerae* secara Mikroskopis
Sumber : National Institute of General Medical Science (2010).

Salah satu ciri khas *V. cholerae* adalah tumbuh pada pH yang tinggi yaitu sekitar 8,5—9,5. Seseorang yang memiliki asam lambung yang normal memerlukan menelan sebanyak 10^{10} koloni atau lebih *V. cholerae* dalam air agar dapat menginfeksi, sebab bakteri ini sangat peka terhadap suasana asam (Amelia, 2005).

Berikut ini adalah kedudukan taksonomi *V. cholerae* (Bauman, 2007) :

Kerajaan	: Bakteri
Filum	: Protobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Vibrionales
Famili	: Vibrionaceae
Genus	: <i>Vibrio</i>
Spesies	: <i>Vibrio cholerae</i>

Khamir *C. albicans* merupakan salah satu khamir opportunistik dari anggota flora normal yang ada di selaput mukosa saluran pencernaan (24%) dan mukosa vagina (11%) (Brown dkk., 2005), akan tetapi jika keberadaannya berlebih maka menjadi salah satu penyebab munculnya sariawan, vulva-vaginitis, dan lesi pada kulit



bentuk khamir dan filamen berperan dalam proses infeksi ke tubuh inang. Kedudukan taksonomi *C. albicans* (Maharani, 2012) sebagai berikut:

Kerajaan	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Kelas	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Famili	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

G. Metode Pengujian Aktivitas Antimikrobia

Pengujian aktivitas antimikrobia dilakukan untuk mengetahui aktivitas antimikrobia dari suatu zat uji (Rostinawati, 2009). Penentuan kepekaan mikrobia terhadap antimikrobia dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain metode dilusi yaitu menggunakan antimikrobia dengan kadar yang menurun secara bertahap. Senyawa antimikrobia diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi mikrobia uji dalam medium cair. Metode ini digunakan untuk mengetahui kadar hambat minimal (KHM) atau *minimal inhibitory concentration* (MIC) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) atau *minimal bactericidal concentration* (MBC) (Dewi, 2010). Metode lain seperti difusi agar dapat dilakukan melalui beberapa teknik (Madigan dkk., 2003), yaitu :

1. Teknik cakram kertas

Medium agar dalam petridish diinokulasi dengan mikrobia uji. Sejumlah zat uji ditambahkan pada cakram kertas, lalu cakram-cakram tersebut diletakkan pada permukaan agar. Setelah diinkubasi beberapa lama, zat uji berdifusi dari cakram kertas ke dalam agar. Semakin jauh jarak difusi dari kertas saring, semakin kecil pula konsentrasi zat uji tersebut, jika terdapat aktivitas anti-

mikrobia pada zat uji, maka pada medium agar tersebut akan terlihat zona inhibisi di sekeliling kertas cakram. Diameter zona inhibisi ini sebanding dengan konsentrasi, kelarutan, koefisien difusi, dan efektivitas antimikrobia dari zat uji.

2. Teknik silinder

Pada teknik ini, silinder gelas diletakkan pada permukaan agar padat yang telah diinokulasi mikrobia uji. Zat uji dimasukkan ke dalam silinder, kemudian diinkubasi. Aktivitas antimikrobia terlihat sebagai daerah hambat atau zona bening di sekeliling silinder.

3. Teknik perforasi

Pada teknik perforasi, perforator digunakan untuk membuat lubang-lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji, lalu zat uji dimasukkan ke dalam lubang-lubang tersebut. Aktivitas antimikrobia dapat terlihat sebagai daerah hambat atau zona bening yang terbentuk di sekeliling lubang. Teknik ini juga dikenal dengan teknik sumuran.

Adapun teknik menggunakan cakram kertas (*disk diffusion*) digunakan untuk bakteri dengan sifat aerobik yang tumbuh di permukaan medium, sementara teknik perforasi digunakan untuk bakteri bersifat anaerobik yang tumbuh di dasar agar (Klancnik dkk., 2010). Metode menggunakan turbidimetri merupakan metode yang cepat, murah, serta mudah dilakukan, tetapi memiliki sensitifitas yang rendah. Pada metode ini semua sel terdeteksi baik yang hidup maupun yang mati dan hanya terdeteksi pada bagian atas (tersuspensi) sehingga memerlukan kalibrasi yang mengkorelasikan kekeruhan dengan sel hidup yang ditumbuhkan pada medium agar (Dalgaard dan Koutsoumanis, 2001).

H. Pusat Perbelanjaan sebagai Tempat Pemasaran Produk

Pada kondisi sekarang ini dengan adanya tuntutan waktu yang semakin sempit serta bergesernya budaya maka waktu yang tersedia untuk mencari barang untuk kebutuhan sehari-hari juga berubah. Untuk pemenuhan kebutuhan konsumen akan diekspresikan dengan pembelian suatu produk. Di dalam memilih tempat berbelanja biasanya pembeli menghendaki tempat yang tidak jauh dari tempat tinggal, cukup strategis untuk dilalui dan mudah dicapai serta tempat parkir yang luas dan aman (Sudayana, 2011).

Dewasa ini, pusat perbelanjaan banyak didirikan di kota-kota besar untuk melayani pembeli. Di Kota Yogyakarta diantaranya juga banyak berdiri berbagai pusat perbelanjaan baik di Jalan Solo atau Jalan Urip Sumoharjo sebagai salah satu pusat perbelanjaan terbesar di Yogyakarta maupun Jalan Malioboro yang merupakan daerah “jantung” kota (Sudayana, 2011). Pusat perbelanjaan (*mall, plaza/shopping center*) merupakan suatu arena penjualan berbagai jenis komoditi yang terletak dalam satu gedung perbelanjaan. Pada pusat perbelanjaan terdapat *departement store, supermarket*, dan toko-toko lain dengan berbagai macam produk, contohnya *Galeria mall* (Soliha, 2008).