

Skripsi
PENGARUH VARIASI KONSENTRASI SUSU SKIM DAN
TEPUNG GANYONG (*Canna edulis* Ker.) PADA KUALITAS
MINUMAN PROBIOTIK

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar sarjana sains



Oleh :

DEWI ISTIKA

NIM M0408048

JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS SEBELAS MARET

SURAKARTA

2012

commit to user

Halaman Persetujuan Pembimbing

SKRIPSI

**PENGARUH VARIASI KONSENTRASI SUSU SKIM DAN
TEPUNG GANYONG (*Canna edulis* Ker.) PADA KUALITAS
MINUMAN PROBIOTIK**

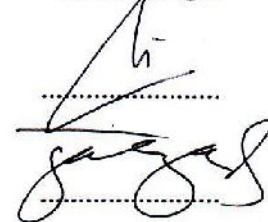
Oleh:
DEWI ISTIKA
NIM. M0408048

Telah disetujui oleh Tim Pembimbing

Pembimbing I : Dr. Artini Pangastuti, M.Si.
NIP. 19750531 200003 2 001

Pembimbing II : Tjahjadi Purwoko, M.Si
NIP. 19701130 200003 1 002

Tanda Tangan



Surakarta, 11 Januari 2012

Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Agung Budiharjo, M.Si.
NIP. 19680823 200003 1 001

PENGESAHAN
SKRIPSI
PENGARUH VARIASI KONSENTRASI SUSU SKIM DAN
TEPUNG GANYONG (*Canna edulis* Ker.) PADA KUALITAS
MINUMAN PROBIOTIK

Oleh
DEWI ISTIKA
NIM. M0408048

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 24 Januari 2012
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Surakarta, Februari 2012

Penguji I

Siti Lusi Arum Sari, M. biotech
NIP. 19760812 2005012 001

Penguji III

Dr. Arini Pangastuti, M.Si.
NIP. 19750531 200003 2 001

Penguji II

Dra. Endang Anggarwulan, M. Si.
NIP. 19500320 197803 2 001

Penguji IV

Tjahjadi Purwoko, M.Si
NIP. 19701130 200003 1 002

Mengesahkan

Dekan
FMIPA UNS



Ir Ari Handono Ramelan, M.Sc., Ph.D.
NIP. 19610223 198601 1 001

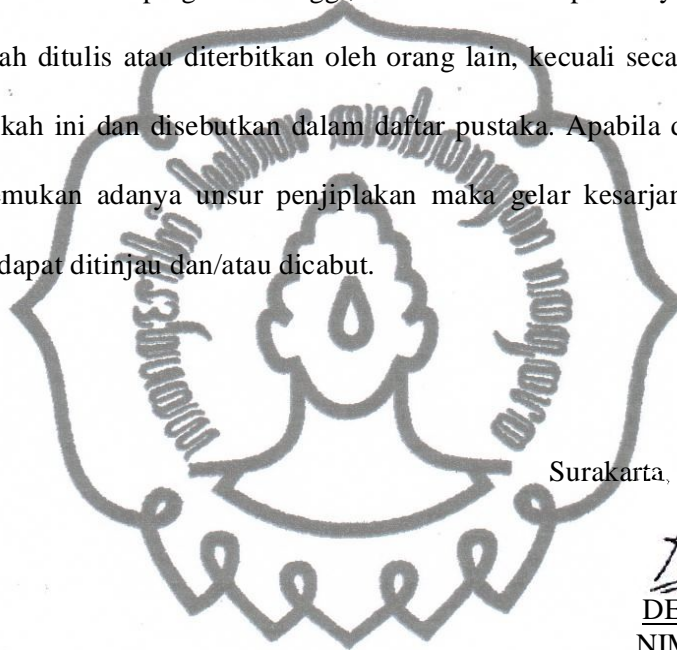
Mengetahui
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Agung Budiharjo, M.Si.
NIP. 19680823 200003 1 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila dikemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau dan/atau dicabut.



Surakarta, 11 Januari 2012


DEWI ISTIKA
NIM M0408048

PENGARUH VARIASI KONSENTRASI SUSU SKIM DAN TEPUNG GANYONG (*Canna edulis* Ker.) PADA MINUMAN PROBIOTIK

DEWI ISTIKA
M0408048

Abstrak

Probiotik adalah bahan pangan tambahan yang mengandung mikroba menguntungkan dalam saluran pencernaan. Ganyong (*Canna edulis* Ker.) merupakan potensi lokal yang belum dimanfaatkan secara optimal. Pengolahan ganyong menjadi minuman probiotik yang lebih memiliki nilai gizi tinggi diharapkan mampu meningkatkan harga jual ganyong yang masih rendah. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi susu skim dan sari tepung ganyong yang tepat untuk pembuatan minuman probiotik berdasar uji organoleptik, jumlah bakteri, derajat keasaman (pH) dan kadar gula reduksi.

Dalam penelitian ini digunakan variasi konsentrasi susu skim dan sari tepung ganyong 2%, 5%, 8%, 10% (b/v). Difermentasikan menggunakan probiotik *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* subsp. *salivarius*. 10%:10% (v/v), diinkubasi selama 96 jam suhu 37°C. Diuji dengan parameter uji organoleptik, keasaman (pH), jumlah bakteri, dan kadar gula reduksi. Data dianalisis dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) dan nonparametrik kendals dilanjutkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5 % untuk mengetahui beda nyata diantara perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi susu skim 10% dan sari tepung ganyong 2% merupakan konsentrasi paling tepat pada formula B2 untuk pembuatan minuman probiotik. Berdasarkan uji organoleptik yang menunjukkan skala diatas 5 (suka), jumlah bakteri asam laktat $20,43 \times 10^6$ cfu/ml, derajat keasaman (pH) 3,5, dan kadar gula reduksi di akhir fermentasi 422,09 mg/ml.

Kata kunci: Probiotik, Ganyong, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*.

EFFECT OF CONCENTRATION VARIATION OF SKIM MILK AND FLOUR
EDIBLE CANNA (*Canna edulis* Ker.) ON PROBIOTIC DRINK

DEWI ISTIKA
M0408048

Abstract

Probiotic is additional foods that contain beneficial microbes in the digestive tract. Edible Canna (*Canna edulis* Ker.) is a local potential which has not been used optimally. Processing Edible Canna becomes probiotic drinks have more high nutritional is expected to increase selling prices Edible Canna are still low. The purpose of this study was to determine the concentration of skim milk and flour Edible Canna the right to manufacture probiotic drinks based on organoleptic tests, the number of bacteria, the degree of acidity (pH) and reducing sugar levels.

This research used a variation of concentration of skim milk and flour Edible Canna 2%, 5%, 8%, 10% (w / v). Fermented using *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* subsp. *salivarius*. 10%: 10% (v / v), incubated for 96 hours at 37 ° C. Tested with the organoleptic test parameters, acidity (pH), the number of bacteria, and reducing sugar levels. Data were analyzed using *analysis of variance* (ANAVA) and nonparametric test kendals followed *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) at 5% level to know the real difference between treatments.

The results showed a concentration of 10% skim milk and flour Edible Canna 2% is the most appropriate concentration of B2 in the formula for the manufacture of probiotic drinks. Based on organoleptic tests that show the scale above 5 (like), the number of lactic acid bacteria is 20.43 x 10⁶ cfu / ml, the degree of acidity (pH) 3.5, and reducing sugar content at the end of fermentation 422.09 mg / ml.

Key words: Probiotics, Edible Canna, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*.

HALAMAN MOTTO

Always be positive thinking (*khusnudhon*)

Dengan orang yang baik pada kita,

Maupun orang yang jahat pada kita,

Sebab berprasangka baik akan mendamaikan segalanya

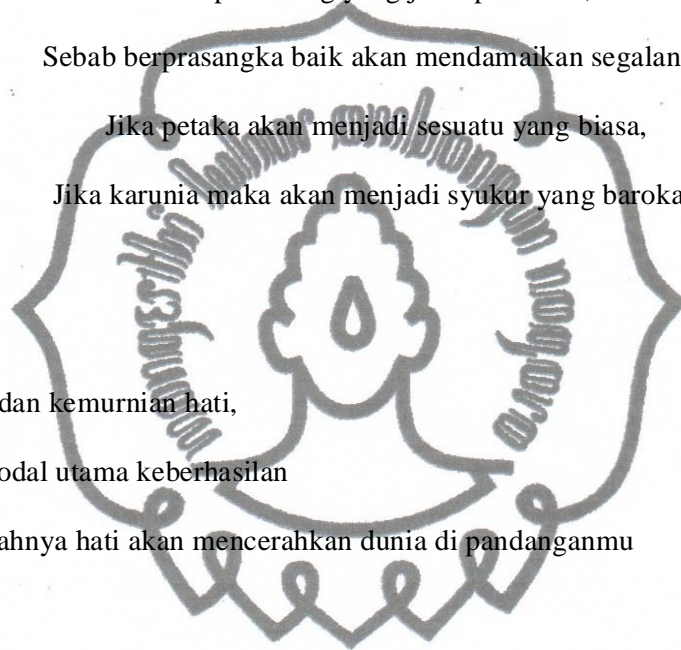
Jika petaka akan menjadi sesuatu yang biasa,

Jika karunia maka akan menjadi syukur yang barokah

Kesucian dan kemurnian hati,

Adalah modal utama keberhasilan

Sebab cerahnya hati akan mencerahkan dunia di pandanganmu



Selalu berusaha dan berusaha,

Selalu bersemangat dan bersemangat,

Dan selalu ingat tujuan akhir hidup adalah kembali pada-NYA

Maka seluruh usaha dan semangat akan berganjar pahala

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya ini kupersembahkan untuk:

Emak dan Bapakku yang selalu ingin aku bahagiakan

Sebab setiap peluhmu untukku adalah pemacu disaat aku terjatuh

Kakakku Intiyah dan kakak iparku M. Imron, serta seluruh keluarga besarku

Tunanganku Tarlotus Yudhanto, ST.,

Yang tak hentinya mendukungku

Sahabatku Citra A.P, Ike F, Ratih, Tiara, April, Desy, Nita

Seluruh Biologi '08, Laboran FMIPA Biologi.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Rabbil'alamin. Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas limpahan nikmat, rahmat, dan hidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah banyak merelakan waktu, pemikiran, serta masukannya dalam mengerjakan skripsi ini, khususnya kepada yang terhormat

1. Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc., (Hons) Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta yang telah memberikan izin penelitian untuk keperluan skripsi.
2. Dr. Agung Budiharjo, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi yang telah memberikan izin selama penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi ini.
3. Dr. Artini Pangastuti, M.Si. dan Tjahjadi Purwoko, M. Si selaku pembimbing I dan pembimbing II yang telah memberikan arahan serta bimbingannya dalam penyelesaian skripsi ini.
4. Siti Lusi Arum Sari, M. Biotech dan Dra. Endang Anggarwulan, M.Si. selaku penguji I dan Penguji II yang telah memberikan masukannya untuk skripsi ini.
5. Segenap Dosen, Laboran, serta Karyawan Jurusan Biologi dan warga FMIPA UNS yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Selanjutnya, semoga skripsi ini dapat memberikan pengetahuan dan bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan.

Surakarta, 11 Januari 2012

Penulis

commit to user

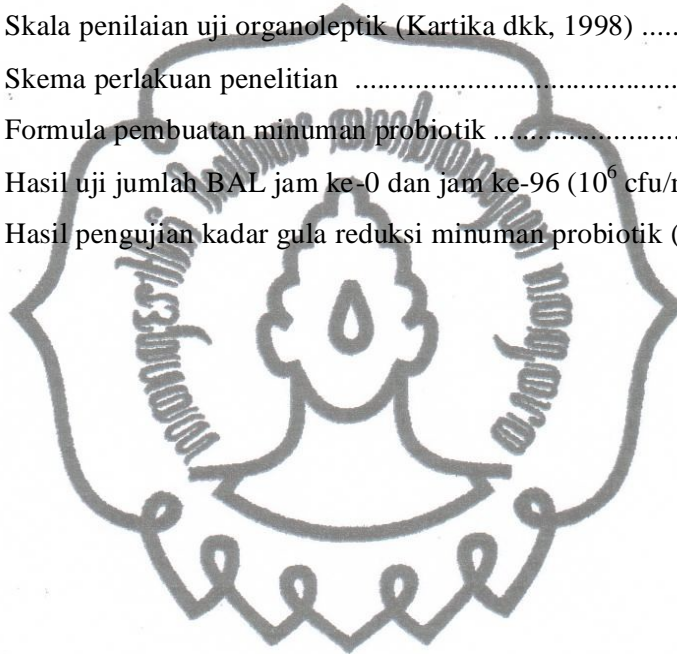
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT	vi
HALAMAN MOTTO.....	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II. DASAR TEORI.....	4
A. Tinjauan Pustaka.....	4
1. Ganyong (<i>Canna edulis</i> Ker.)	4
2. Susu Skim	8
3. Minuman Probiotik	9
4. <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	12
5. <i>Streptococcus thermophilus</i> subsp. <i>salivarius</i>	13
B. Kerangka pemikiran.....	16
BAB III. METODE PENELITIAN.....	17
A. Tempat dan Waktu Penelitian	17

B. Alat	17
C. Bahan.....	18
D. Cara Kerja.....	19
E. Bagan Skema Kerja.....	24
F. Analisis Data.....	25
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
A. Pembuatan Minuman Probiotik	26
B. Uji Organoleptik	30
C. Uji Jumlah Bakteri	38
D. Uji Keasaman (pH) Minuman	43
E. Uji Kadar Gula Reduksi	45
BAB V. KESIMPULAN	49
DAFTAR PUSTAKA.....	50
LAMPIRAN.....	56
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	86

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Kandungan nutrisi ganyong dan tepungnya dalam 100 gram bahan (Lingga dkk, 1986)	7
Tabel 2.2. Komposisi susu bubuk skim (Bucke, 1987)	9
Tabel 3.1. . Formula pembuatan minuman probiotik	21
Tabel 3.2. Skala penilaian uji organoleptik (Kartika dkk, 1998)	12
Tabel 3.3. Skema perlakuan penelitian	22
Tabel 3.4. Formula pembuatan minuman probiotik	24
Tabel 4.1. Hasil uji jumlah BAL jam ke-0 dan jam ke-96 (10^6 cfu/ml)	39
Tabel 4.2. Hasil pengujian kadar gula reduksi minuman probiotik (mg/ml)....	46

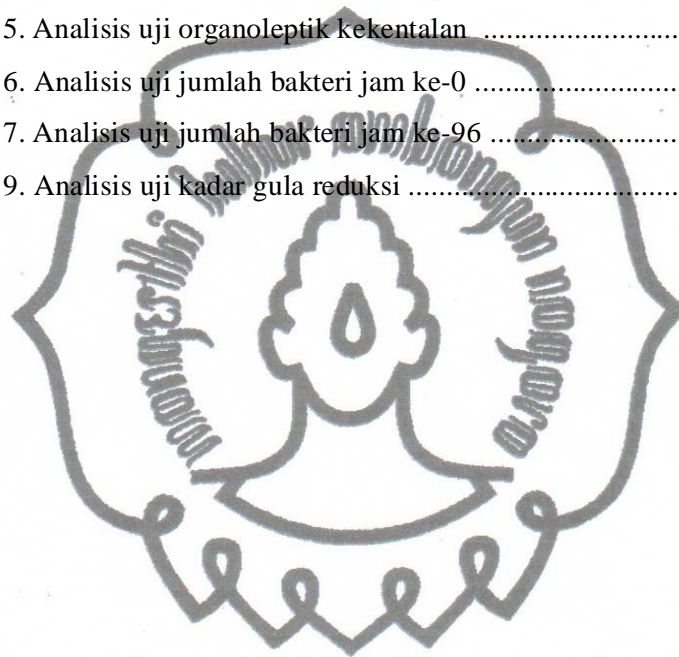


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Morfologi ganyong: (a) habitus; (b) buah; (c) rimpang (Gepts, 2010; Gonzales, 2007; Amstrong, 2000)	6
Gambar 2.2. <i>Lactobacillus.bulgaricus</i> menggunakan mikroskop elektron (Scimat, 2006)	12
Gambar 2.3. <i>Streptococcus thermophilus</i> menggunakan mikroskop elektron (Erkus, 2007)	15
Gambar 2.4. Kerangka berfikir pembuatan minuman probiotik dari Ganyong	16
Gambar 4.1. minuman probiotik kombinasi sari tepung ganyong dengan susu skim dan penambahan glukosa	29
Gambar 4.2. Hasil uji nonparametrik test parameter warna minuman probiotik.....	31
Gambar 4.3. Hasil uji nonparametrik test parameter rasa minuman probiotik.....	32
Gambar 4.4. Hasil uji nonparametrik test parameter aroma minuman probiotik.....	34
Gambar 4.5. Hasil uji nonparametrik test parameter kekentalan minuman probiotik.....	36
Gambar 4.6. Fermentasi asam laktat homofermentatif (Purwoko, 2009).....	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Kuisisioner uji organoleptik	56
Lampiran 2. Analisis uji organoleptik warna	57
Lampiran 3. Analisis uji organoleptik rasa	63
Lampiran 4. Analisis uji organoleptik aroma	69
Lampiran 5. Analisis uji organoleptik kekentalan	75
Lampiran 6. Analisis uji jumlah bakteri jam ke-0	81
Lampiran 7. Analisis uji jumlah bakteri jam ke-96	82
Lampiran 9. Analisis uji kadar gula reduksi	83



DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Kepanjangan
K_2HPO_4	dipotassium hydrogen phosphate
CH_3COONa	sodium acetate trihydrate
$C_6H_{17}N_3O_7$	triamonium citrate
$MgSO_4$	Magnesium sulfat
$MnSO_4$	Manganese Sulfat
MRS	<i>De Man Rogosa and Sharpe</i>
MRSA	<i>De Man Rogosa Sharpe Agar</i>
Na_2SO_3	Natrium sulfit
C_6H_5OH	phenol
NaOH	Natrium hidroksida
$C_4H_4KNaO_6$	Kalium Natrium Tartrat
ml	mililiter
DNS	Dinitrosalicylic acid
EPS	<i>eksopolysakarida</i>
g	gram
mg	miligram
Kg	kilogram
mm	milimeter
m dpl	meter di atas permukaan laut
GRAS	<i>Generally Recognized As Safe Microorganism</i>
Ca	kalsium
ppm	<i>part per milion</i>
mg/ml	miligram per mililiter
b/v	berat per volume
v/v	volume per volume

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Probiotik adalah suatu bahan pangan tambahan yang mengandung mikrobia hidup dan digunakan untuk mengatur keseimbangan mikrobia dalam saluran pencernaan (Revington, 2002). Minuman probiotik termasuk ke dalam pangan fungsional yang memiliki kandungan komponen aktif dan dapat memberikan efek terhadap kesehatan tubuh.

Pembuatan minuman probiotik dalam penelitian ini dilakukan dengan mengkombinasikan variasi konsentrasi sari tepung ganyong dan susu skim. Tanaman ganyong merupakan potensi lokal yang belum dimanfaatkan secara optimal. Pengolahan ganyong menjadi produk olahan yang lebih memiliki nilai gizi tinggi diharapkan mampu meningkatkan harga jual ganyong yang masih rendah. Selain sebagai upaya optimalisasi dalam pemanfaatan ganyong, penggunaan ganyong yang lebih dominan dapat mengurangi biaya produksi sehingga masyarakat dapat mengkonsumsi minuman probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan dengan harga yang lebih murah.

Potensi ganyong di Indonesia cukup tinggi. Kini banyak daerah yang mengembangkan ganyong karena cara budidaya yang mudah. Sentra yang kini dikembangkan untuk ganyong mencakup Jawa Tengah (Klaten, Wonosobo, dan Purworejo), Jawa Timur (Malang dan Pasuruan), Daerah Istimewa Yogyakarta, Jambi, Lampung, dan Jawa Barat (Majalengka, Sumedang, Ciamis, Cianjur,

commit to user

Garut, Lebak, Subang, dan Karawang). Daerah Papua sebenarnya merupakan daerah yang potensial untuk produksi ganyong.

Dalam 100 gram umbi ganyong terkandung nutrisi yakni kalori sebanyak 395 kkal, protein 1 gram, lemak 0,1 gram, karbohidrat 22,6 gram, kalsium 21 mg, fosfor 70 mg, zat besi 20 mg, vitamin B1 0,1 mg, vitamin C 10 mg serta kadar air 75% (Aerastini, 2008). Permasalahan tanaman ganyong adalah harga jual yang rendah, misalnya pada daerah Klaten 1 Kg umbi ganyong dijual seharga Rp.1.500,00. Ketersediannya yang cukup melimpah namun pemasaran yang tidak mendukung menjadikan tanaman ganyong ini jarang diperhatikan dan biasanya dibiarkan tumbuh liar dan bebas di beberapa tempat.

Semakin meningkatnya perhatian masyarakat terhadap pentingnya pengaruh makanan dan minuman terhadap kesehatan, memicu berkembangnya produk-produk pangan yang memiliki fungsi kesehatan terutama produk-produk alami. Keadaan ini sangat berpengaruh terhadap pemasaran produk pangan yang berlabel untuk kesehatan, baik untuk pengobatan dan pencegahan penyakit, minuman berenergi (*energy drink*), serta makanan yang mengandung kultur aktif bakteri (probiotik) (Kusmawati, 2008).

Citarasa dan mutu suatu produk fermentasi seperti minuman probiotik, berkaitan erat dengan proses fermentasi oleh starter yang digunakan. Kultur starter yang umum digunakan dalam pembuatan minuman probiotik sejenis yoghurt adalah kultur campuran dari *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, dan *Streptococcus thermophilus* subsp. *salivarius*. Kedua bakteri ini saling menstimulir pertumbuhan satu dengan yang lainnya dan dapat memberikan *flavor* yang

memuaskan pada kondisi yang optimum (Walstra *et al.*, 1999). Dalam penelitian ini, minuman kesehatan yang dikaji berupa tepung ganyong yang difermentasikan dengan kultur *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* subsp. *salivarius*.

B. Rumusan Masalah

Berapakah konsentrasi susu skim dan sari tepung ganyong (*Canna edulis* Ker.) yang tepat untuk pembuatan minuman probiotik sehingga diperoleh minuman probiotik yang memenuhi standar kualitas berdasar uji organoleptik, jumlah bakteri, derajat keasaman (pH) dan kadar gula reduksi ?

C. Tujuan Penelitian

Menentukan konsentrasi susu skim dan sari tepung ganyong (*Canna edulis* Ker.) yang tepat untuk pembuatan minuman probiotik sehingga diperoleh minuman probiotik yang memenuhi standar kualitas berdasar uji organoleptik, jumlah bakteri, derajat keasaman (pH) dan kadar gula reduksi ?

D. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai minuman probiotik berbahan dasar sari tepung ganyong (*Canna edulis* Ker.).
2. Dapat dikembangkan lebih lanjut untuk industri rumah tangga minuman probiotik dengan kualitas yang baik dengan harga yang murah.
3. Meningkatkan nilai ekonomis ganyong (*Canna edulis* Ker.).

BAB II

DASAR TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Ganyong (*Canna edulis* Ker.)

a. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman ganyong (*Canna edulis* Ker.) adalah sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Cannaceae
Genus	: <i>Canna</i>
Spesies	: <i>Canna edulis</i> Ker.

(Steenis, 2008).

b. Nama Daerah

Di Indonesia ganyong dikenal dengan berbagai nama daerah, diantaranya “buah tasbih, ubi pikul, senitra, ganyal atau ganyol”. Secara ekonomis, ganyong dikenal secara internasional dengan nama ‘*Queensland arrowroot*’ (Rukmana, 2000).

c. Habitat

Ganyong dapat tumbuh baik di berbagai iklim dengan penyebaran curah hujan tahunan 1000-1200 mm. Tanaman tersebut cenderung tumbuh pada daerah yang kering, tetapi bertoleransi pada tempat-tempat basah (bukan

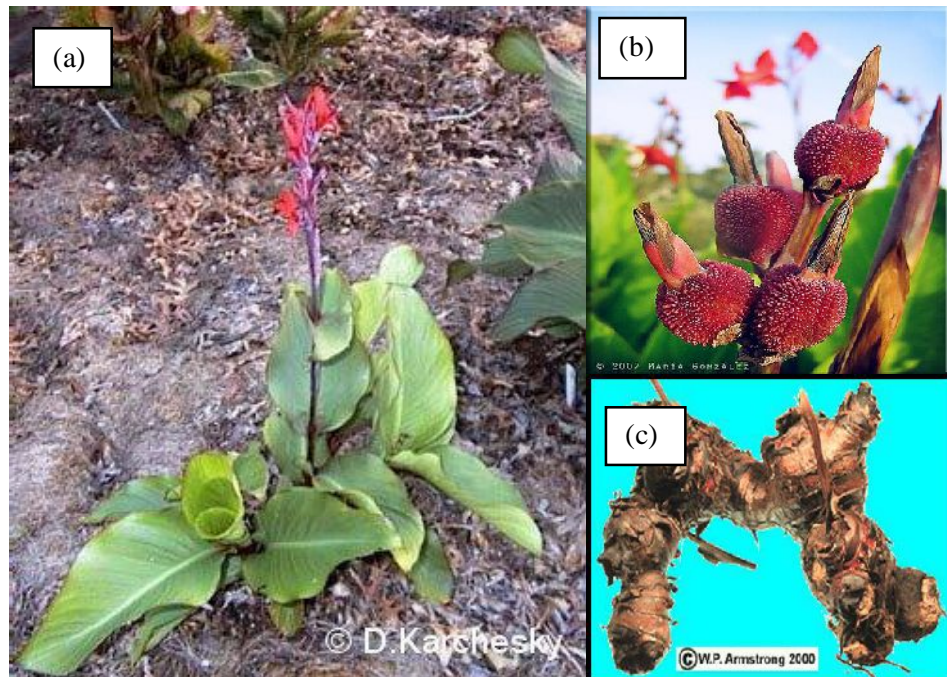
commit to user

tempat yang tergenang air), juga sangat toleransi terhadap naungan. Pertumbuhan normal terjadi pada suhu di atas 10°C, tetapi juga dapat hidup pada suhu tinggi. Tanaman ini tumbuh pada ketinggian 1000-2900 m dpl, tumbuh dengan subur pada banyak tipe tanah, termasuk daerah marginal, tetapi lebih menyukai tanah liat berpasir, kaya akan humus serta bertoleransi pada kisaran pH 4,5–8,0 (Flanch dan Rumawas, 1996).

Ganyong (*Canna edulis*) adalah tanaman herba yang berasal dari Amerika Selatan. Umbi mudanya di Amerika Selatan dimakan sebagai sayuran, dan kadang digunakan sebagai pencuci mulut (Maharani, 2007). Rhizoma atau umbinya bila sudah dewasa dapat dimakan dengan mengolahnya lebih dahulu, atau untuk diambil patinya (Aeriastini, 1989).

d. Morfologi

Ganyong merupakan terna berimpang, tegak. Rimpang bercabang horizontal, dengan buku-buku yang berdaging, tertutup dengan sisik daun, dan serabut akar yang tebal (Gambar 2.1.c).. Batang berdaging, muncul dari rimpang, seringkali berwarna ungu. Daun tersusun secara spiral dengan pelepah besar terbuka, kadang-kadang bertangkai daun pendek, helaian daun bulat telur sempit sampai jorong sempit (Gambar 2.1.a). Perbungaan di ujung ranting, tandan, biasanya sederhana tetapi kadang-kadang bercabang, muncul tunggal atau berpasangan, tidak teratur, bunga biseksual (Gambar 2.1.b). Buah kapsul, membulat telur, merekah, bagian luar dengan duri-duri lunak (Gambar 2.1.c). Biji banyak, bulat, halus dan keras, kehitaman sampai merah tua (Flach dan Rumawas, 1996).



Gambar 2.1. Morfologi ganyong: (a) habitus; (b) buah; (c) rimpang (Gepts, 2010; Gonzales, 2007; Armstrong, 2000).

e. Kultivar

Di Indonesia dikenal dua kultivar ganyong, yaitu ganyong merah dan ganyong putih. Ganyong merah ditandai dengan warna batang, daun dan pelepahnya berwarna merah atau ungu. Jika warna batang, daun dan pelepahnya hijau dengan sisik umbi kecoklatan disebut ganyong putih. Ciri – ciri varietas ganyong merah adalah batang lebih besar dan tinggi, sedikit tahan kena sinar, tidak tahan kekeringan, sulit menghasilkan biji, hasil rhizoma basah lebih besar tapi kadar patinya rendah, rhizoma lazim dimakan segar atau direbus (Lingga dkk., 1986). Ganyong putih batang lebih kecil dan pendek, kurang tahan terhadap sinar matahari tetapi tahan terhadap

kekeringan, selalu menghasilkan biji dan dapat diperbanyak menjadi anakan tanaman, hasil umbi basah lebih kecil tetapi kadar patinya lebih tinggi (Direktorat Budidaya Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, 2009).

f. Nutrisi

Kandungan karbohidrat ganyong cukup tinggi, setara dengan umbi-umbi yang lain. Walaupun masih lebih rendah dari pada singkong, tetapi karbohidrat ganyong lebih tinggi dibanding dengan kentang, begitu juga dengan kandungan mineral, kalsium dan zat besinya (Tabel 1). Salah satu aplikasi penggunaan ganyong adalah untuk produksi pati. Pati ganyong sangat kaya akan karbohidrat (Aerastini, 1989).

Tabel 2.1. Kandungan nutrisi ganyong dan tepungnya dalam 100 gram bahan (Lingga dkk., 1986).

	Air (g)	Protein (g)	Lemak (g)	Karbohidrat (g)	Kalsium (mg)	Fosfor (mg)	Besi (mg)
Ganyong	74	1,0	0,1	22,6	21	70	20
Tepung ganyong	12	0,7	0,2	85,2	8	22	1,5

Tepung ganyong sangat potensial apabila dikembangkan menjadi salah satu bahan makanan pokok. Ini juga akan mendukung program diversifikasi pangan yang sedang digalakkan pemerintah. Selain itu ukuran diameter molekul pati ganyong hampir sama dengan ukuran diameter gula sederhana, sehingga sangat tepat ganyong di gunakan sebagai makanan bagi orang sakit atau dalam keadaan ekstrem (Aerastini, 1989).

g. Manfaat

Ganyong merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat, antara lain: umbi mudanya untuk sayuran, umbi tuanya dapat diperas patinya untuk dibuat tepung, sedangkan daun dan tangkainya dapat digunakan untuk pakan ternak (Rukmana, 2000). Umbi ganyong mengandung karbohidrat yang cukup tinggi sehingga dapat digunakan sebagai bahan dasar untuk produksi glukosa dan fermentasi etanol. Hidrolisis pati dapat dilakukan dengan katalis asam, kombinasi asam dan enzim, serta kombinasi enzim dan enzim (Judoamidjojo *et al.*, 1992). Pati ganyong memiliki kadar karbohidrat 80% dan kadar air 18%. Pati ganyong memiliki warna putih kecoklatan dan tekstur halus. Kadar pati yang tinggi menunjukkan bahwa pati ganyong dapat dijadikan bahan baku untuk pembuatan sirup glukosa (Wulansari, 2004; Putri dan Sukandar, 2008).

2. Susu Skim

Susu merupakan media fermentasi yang serbaguna. Susu mengandung bahan-bahan yang diperlukan oleh setiap organisme yang secara nutrisi membutuhkannya seperti jenis *Lactobacillus*. Namun, susu bukan media yang universal karena mengandung beberapa senyawa bakteriostatik, diantaranya tergolong ringan dan mudah dihancurkan.

Susu skim adalah bagian susu yang tertinggal sesudah krim diambil sebagian atau seluruhnya. Susu skim mengandung semua zat makanan dari susu kecuali lemak dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak, seperti vitamin A, D, E, dan K (Buckle, 1987). Susu skim dapat digunakan oleh orang yang

menginginkan nilai kalori rendah di dalam makanannya, karena susu skim hanya mengandung 55% dari seluruh energi susu. Susu skim dimanfaatkan dalam pembuatan keju dengan lemak rendah dan yoghurt. Susu skim sebaiknya tidak digunakan untuk makanan bayi tanpa adanya pengawasan gizi karena tidak adanya kandungan lemak dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak. Berdasarkan mutunya, susu skim dapat dibedakan atas tiga jenis yaitu, jenis ekstra, standar dan instan.

Tabel 2.2. Komposisi Susu Bubuk Skim (Buckle, 1987).

Nutrisi	Jumlah (%)
Lemak	4.00
Protein	37.40
Lakosa	1.00
Abu	49.20
Air	8.40

3. Minuman Probiotik

Minuman probiotik merupakan minuman yang mengandung mikroorganisme hidup yang mempunyai pengaruh menguntungkan untuk induk semangnya yang menyeimbangkan mikroorganisme usus (Fuller, 1992). Minuman probiotik termasuk ke dalam pangan fungsional yang memiliki kandungan komponen aktif dan dapat memberikan efek terhadap kesehatan tubuh.

Menurut Kusmawati (2008), terdapat tiga fungsi dasar yang harus dipenuhi oleh makanan fungsional, yaitu (1) *sensory* (warna dan penampilan menarik, serta cita rasa yang enak), (2) *nutritional* (bernilai gizi tinggi), dan (3) *physiological* (memberikan pengaruh fisiologis yang menguntungkan bagi tubuh). Beberapa fungsi fisiologis yang diharapkan antara lain, pencegahan timbulnya

bahaya penyakit, meningkatkan daya tahan tubuh, regulasi kondisi ritme fisik tubuh, memperlambat proses penuaan, dan penyehatan kembali dari sakit (*recovery*) (Kusmawati, 2008).

Manfaat penggunaan probiotik bagi manusia antara lain:

1. Untuk mengatasi gangguan apabila pertumbuhan mikroflora berkurang yang disebabkan terapi antibiotik dosis tinggi, stress, terapi radiasi serta pola makan yang tidak teratur.
2. Menurunkan *Lactose intolerant*.
3. Meningkatkan sistem kekebalan tubuh.
4. Menurunkan kolesterol.
5. Meningkatkan absorpsi Ca.
6. Anti kanker.

(Havenaar dan Jos, 1992).

Fuller (1992) menyatakan bahwa bakteri yang digunakan sebagai probiotik adalah bakteri yang termasuk ke dalam golongan GRAS (*Generally Recognized As Safe microorganism*). Mikroorganisme tersebut secara umum telah direkomendasikan sebagai mikroorganisme yang aman digunakan dalam pengolahan pangan, seperti *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum*, dan *B. bifidum*. Syarat sebagai probiotik yaitu merupakan penghuni tetap saluran pencernaan manusia, tumbuh dan tetap hidup dalam makanan sebelum dikonsumsi, tetap hidup walaupun melewati saluran pencernaan, memberikan efek yang menguntungkan pada usus, memproduksi asam dalam jumlah besar, mampu menghasilkan

komponen antimikroba lain disamping asam yang efektif menghambat bakteri bakteri patogen (Salminen dan Wright, 1998; Havenaar dan Jos, 1992).

Untuk pembuatan dapat menggunakan kultur campuran dari *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Bakteri tersebut merupakan bakteri asam laktat yang membutuhkan laktosa untuk pertumbuhannya dan beberapa asam amino, vitamin, dan faktor pertumbuhan lain (Wibowotomo, 1990).

Menurut Lampert (1970), *S. thermophilus* hanya mencapai keasaman 0.8-1.0%, *L. bulgaricus* dapat mencapai keasaman 1,5-2.0%. Bila kedua starter diinokulasikan ke dalam medium fermentasi maka *S. thermophilus* mula-mula akan tumbuh dengan cepat, kemudian pada tingkat keasaman tertentu dimana bakteri tersebut tidak dapat aktif maka *L. bulgaricus* akan tumbuh dengan baik. Disebutkan juga bahwa penggunaan starter campuran akan menghasilkan asam yang lebih banyak dibandingkan dengan penggunaan starter secara sendiri-sendiri.

Umumnya konsentrasi minimal bakteri probiotik yang dibutuhkan untuk dapat menghasilkan efek yang menguntungkan masih belum jelas. Namun standar yang dikeluarkan oleh *Fermented Milk and Lactic Acid Bacteria Beverages Association* di Jepang adalah setiap produk probiotik harus mengandung 10^8 bakteri/ml suspensi bakteri probiotik (Ishibashi dan Shimamura, 1993; Oliveira *et al.*, 2002).

Menurut Wiyono *et al* (1983) dalam Endang (1991) pemakaian stater sangat bervariasi dari 0,5 – 5% dari total volume, tapi kadang – kadang mencapai 20% lebih. Konsentrasi stater yang terlalu sedikit akan mengakibatkan waktu

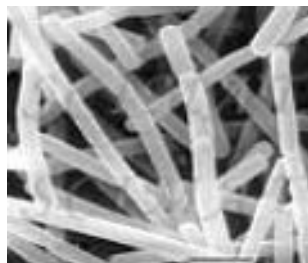
fermentasi lebih lama, produktivitasnya menurun serta memperbesar kemungkinan terjadinya kontaminasi.

4. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Menurut Weiss *et al.* (1984) diacu dalam Malaka (2007) klasifikasinya adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Division	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Lactobacillaceae
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Species	: <i>Lactobacillus delbrueckii</i>
Subspecies	: <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>

Lactobacillus bulgaricus merupakan bakteri gram positif, anaerob fakultatif, homofermentatif, berbentuk batang, tidak berspora, dan bersifat katalase negatif (Gilliland, 1986). Morfologi bakteri *L. bulgaricus* dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2. *Lactobacillus bulgaricus* menggunakan mikroskop elektron (Scimat, 2006).

Menurut Batt dan Pradip (2000) dalam Kusmawati (2008), *Lactobacillus* merupakan golongan bakteri homofermentatif menghasilkan sekitar 90% asam laktat, dengan cara mengubah heksosa menjadi asam laktat melalui jalur *Emden-Meyerhof pathway*. *L. bulgaricus* termasuk jenis bakteri termofilik karena hidup secara optimal pada suhu 45°C. Selain menghasilkan asam laktat, *L. bulgaricus* juga menghasilkan asetaldehid, aseton dan diasetil dalam jumlah yang cukup rendah. *L. bulgaricus* membebaskan asam amino antara lain: valin, histidin, dan glisin yang diperlukan oleh *S. thermophilus*. Dalam bentuk koloni *L. bulgaricus* bersifat asidurik, yaitu mampu hidup pada kondisi asam dengan pH 5.5. Selama proses fermentasi *L. bulgaricus* memberikan rasa asam sedangkan *S. thermophilus* memberikan keasaman dan *flavour* (Frazier dan Westoff, 1978).

Lactobacillus penting untuk kesehatan manusia terutama untuk meningkatkan pencernaan laktosa, khususnya bagi penderita *Lactosa intolerance*. Manusia yang tidak memiliki enzim laktase yang berfungsi menghidrolisis laktosa disebut *Lactosa intolerance*. *Lactobacillus* memiliki enzim laktase, sehingga dapat menghidrolisis laktosa (Gilliland, 1986).

5. *Streptococcus thermophilus* subsp. *salivarius*

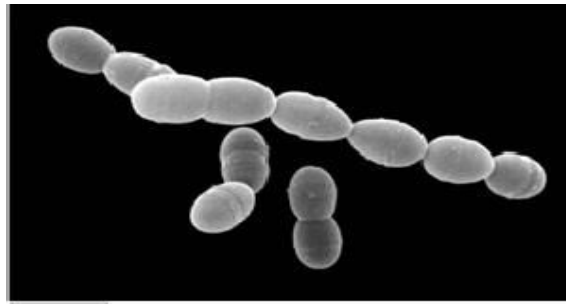
Menurut Farrow dan Collins (1984) klasifikasinya *Streptococcus thermophilus* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Division : Firmicutes
Class : Cocci
Ordo : Streptococcales

Famili : Streptococcaceae
Genus : *Streptococcus*
Species : *Streptococcus salivarius*
Subspecies : *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*

Menurut Batt dan Pradip (2000) dalam Kusmawati (2008), *S. thermophilus* tergolong kedalam jenis bakteri Gram positif yang memiliki sifat metabolisme serupa dengan bakteri homofermentatif. *Streptococcus* dapat hidup di berbagai habitat dan memiliki banyak perbedaan pada sifat fisiologisnya. Seperti bakteri asam laktat yang lain, *S. thermophilus* bukan merupakan bakteri pembentuk spora, bersifat katalase negatif, dan hidup secara anaerobik fakultatif.

Secara mikroskopis, *S. thermophilus* terlihat sebagai sel bulat dengan diameter 0.7-0.9 μm dalam bentuk tunggal atau rantai saat tumbuh dalam suatu media (Gambar 2.3). Suhu optimum bakteri ini adalah 42-45 $^{\circ}\text{C}$. Namun, *S. thermophilus* masih dapat tumbuh pada suhu maksimum 50-52 $^{\circ}\text{C}$. Seperti pada jenis *Streptococcus* yang lain, *S. thermophilus* merupakan bakteri heterotropik yang sensitif, sehingga membutuhkan lingkungan dengan nutrisi yang kompleks serta harus terdapat karbohidrat sederhana sebagai sumber energinya. Seperti *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* merupakan bakteri homofermentatif yang memproduksi sebagian besar asam laktat L(+) (Robinson, 1999).



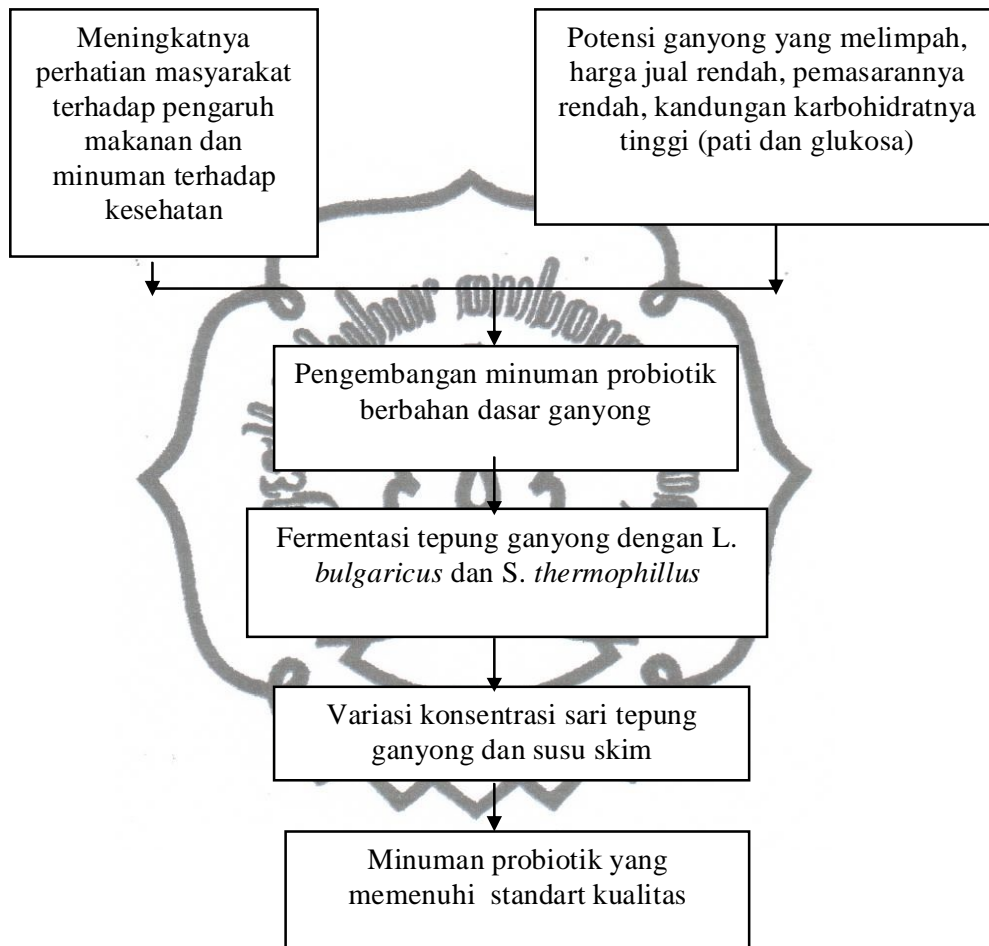
Gambar 2.3. *Streptococcus thermophilus* menggunakan mikroskop elektron (Erkus, 2007).

Streptococcus thermophilus dapat memfermentasi laktosa, sukrosa, glukosa dan fruktosa. *Streptococcus thermophilus* dapat diisolasi dari susu, peralatan pabrik olahan susu dengan pemanasan tinggi, dan pada produk-produk yang dipasteurisasi. *Streptococcus thermophilus* bersimbiosis secara mutualisme dengan *L. bulgaricus* beberapa mensintesis dan melepaskan komponen yang dapat menstimulasi pertumbuhan kedua bakteri. Keberadaan *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* secara bersamaan di dalam susu dapat menyebabkan pertumbuhan keduanya menjadi lebih cepat (Helferich dan Westhoff, 1980).

Komponen yang dihasilkan oleh *S. thermophilus* berupa asam format dan asam laktat yang dapat menurunkan pH sehingga menstimulir pertumbuhan *L. bulgaricus*. Sedangkan *L. bulgaricus* menghasilkan asam amino seperti valin, histidin, dan glisin yang dibutuhkan oleh *S. thermophilus* (Foster, 1957; Helferich dan Westoff, 1980; Tamime dan Deeth, 1979).

B. Kerangka Pemikiran

Alur kerangka pemikiran ditunjukkan gambar berikut ini :



Gambar 2.4. Kerangka berfikir pembuatan minuman probiotik dari ganyong.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta, selama bulan Juni - Oktober 2011.

B. Alat Penelitian

1. Alat-alat untuk pertumbuhan bakteri
Autoklaf, *Laminar Air Flow*, jarum ose, bunsen, mikropipet dan tip steril, *refrigerator*, inkubator, tabung reaksi, erlenmeyer, kapas, kertas *aluminium foil*, gelas ukur dan alat gelas lainnya.
2. Pembuatan tepung
Ember besar, parut, saringan, loyang, kain hitam, dan oven.
3. Pembuatan minuman probiotik
Neraca analitik dengan ketelitian mg, erlemeyer, gelas ukur, gelas beker, *autoclave* dan inkubator.
4. Uji organoleptik
Botol minuman, dan loyang.
5. Perhitungan jumlah bakteri
Colony counter, cawan petri, ose, bunsen, mikropipet dan tip steril, kertas pembungkus, inkubator, dan tabung reaksi.

6. Uji tingkat keasaman pH

PH-meter, tabung reaksi dan gelas beker.

7. Uji kadar gula reduksi

Spektrofotometer, tabung reaksi, gelas beker, pipet tetes, mikropipet dan tip steril, botol hitam, inkubator, *hot plate*, *refrigerator*, dan *magnetic stirrer*.



C. Bahan Penelitian

1. Mikroorganisme

Streptococcus salivarius subsp. *thermophilus*, dan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dalam media agar stab MRSA (*deMan Rogosa Sharpe Agar*) diperoleh dari Laboratorium Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian Sub Lab Bioteknologi Universitas Gajah Mada (UGM). Regenerasi kultur dilakukan satu minggu sekali dan disimpan dalam pendingin bersuhu 4°C.

2. Media pertumbuhan

Pembuatan kultur sediaan menggunakan media 69966 MRS Broth (*De Man Rogosa and Sharpe*). Pembuatan inokulum dilakukan pada agar miring dengan komposisi: peptone 10 g/L, meat extract 8 g/L, yeast extract 4 g/L, D(+)-glucose 20 g/L, K₂HPO₄ 2 g/L, CH₃COONa 0,2 g/L, C₆H₁₇N₃O₇ 2 g/L, MgSO₄ 0,2 g/L, MnSO₄ 0,05 g/L. Dilarutkan dalam akuades dan Tween 80 0,1% (Fluka No.93780).

3. Bahan untuk pembuatan inokulum

MRS Broth, susu skim 10%, dan akuades pH netral.

4. Bahan untuk pembuatan tepung ganyong

Umbi ganyong varietas putih yang sudah tua dan akuades.

5. Bahan untuk pembuatan minuman probiotik

Tepung ganyong dengan konsentrasi 2%; 5%; 8%; 10%, akuades pH netral, susu skim dengan konsentrasi 2%; 5%; 8%; 10%, glukosa 3%, inokulum *Lactobacillus bulgaricus* 10%, dan *Streptococcus thermophilus* 10%.

6. Bahan uji organoleptik

Sampel sebanyak 25 buah masing-masing perlakuan, dan kertas lampiran kuisioner sebanyak 25 lembar.

7. Bahan untuk perhitungan jumlah bakteri

MRS Broth, Tween 80 0,1%, akuades, dan agar 1%.

8. Bahan uji kadar gula reduksi

Reagen DNS dengan komposisi : 1 g NaOH, 18,2 g $C_4H_4KNaO_6$, 0,2 g C_6H_5OH , 0,05 g Na_2SO_3 , 100 ml akuades, dan 1 g dinitrosalisilat (Miller, 1959). Sampel minuman probiotik, larutan standart glukosa dan larutan blanko.

D. Cara Kerja

1. Pembuatan tepung ganyong

Umbi ganyong yang sudah dibersihkan diparut sampai lembut, dan ditambah akuades dengan perbandingan 1/1 (b/v) sambil dilakukan peremasan, diaduk dan kemudian disaring. Endapan hasil saringan dijemur hingga kering. Apabila tidak ada sinar matahari, penjemuran dapat dilakukan di dalam

ruangan, di atas pemanas buatan seperti tungku atau kompor (Putri dan Sukandar, 2008).

2. Pembuatan inokulum

a. Pemeliharaan kultur (Dewanti *et al.*, 2001)

Pemeliharaan kultur dilakukan dengan cara menusukkan kultur pada media MRS *chalk* semi solid menggunakan jarum ose lalu diinkubasi pada suhu 43-45°C selama 1 hari dan disimpan di dalam *refrigerator*. Kultur dapat ditumbuhkan kembali dengan menginokulasi 1 *loop* kultur pada media MRS broth lalu diinkubasi pada suhu 43-45°C selama 1 hari.

b. Pembuatan kultur kerja (Dewanti *et al.*, 2001)

Pembuatan kultur kerja diawali dengan pembuatan kultur induk dengan cara menginokulasi 1% kultur murni ke dalam 50 ml susu skim 10 % steril, lalu diinkubasi pada suhu 43-45°C selama satu hari. Kultur disimpan dalam *refrigerator* suhu 4°C. Kultur kerja dibuat dengan menambahkan 5% kultur induk dalam 50 ml susu skim 10% (b/v) steril dan diinkubasi pada suhu 43-45°C selama satu hari.

3. Pembuatan sari tepung ganyong

Tepung ganyong dengan konsentrasi (b/v): 2%, 5%, 8%, 10% dilarutkan dalam akuades dan diaduk dengan magnetik stirer selama 15 menit, selanjutnya disaring menggunakan kertas whatman.

4. Pembuatan minuman probiotik

Pembuatan minuman probiotik dimulai dengan menyiapkan bahan seperti pada Tabel 3.1 yang dilarutkan dalam aquades.

Tabel 3.1. Formula pembuatan minuman probiotik

Formula	Jumlah yang ditambahkan		
	Sari tepung ganyong	Susu skim	glukosa
A1	10%	2%	3%
A2	10%	5%	3%
A3	10%	8%	3%
A4	10%	10%	3%
B1	0%	10%	3%
B2	2%	10%	3%
B3	5%	10%	3%
B4	8%	10%	3%

Tahap selanjutnya seluruh formula dimasukkan kedalam autoklaf dan di sterilisasi dengan tekanan 1,5 atm, suhu 115°C selama 10 menit. Setelah sterilisasi sampel formula didinginkan pada suhu optimum pertumbuhan bakteri yaitu pada suhu 37°C. Penambahan susu skim dan glukosa pada pembuatan minuman probiotik ini dilakukan agar fermentasi berjalan optimal (Kusmawati, 2008). Setelah campuran tersebut dingin, bakteri *L. bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan perbandingan 10%:10% (v/v), diinokulasikan dan diinkubasi selama 96 jam pada suhu 37°C. Tahap akhir pembuatan minuman probiotik adalah homogenasi yang bertujuan untuk meningkatkan konsistensi atau stabilitas fisik dari produk atau untuk mencegah pemisahan cairan pada produk. Uji ini dilakukan dengan 8 variasi penambahan susu skim dan sari tepung ganyong dengan 2 ulangan. Skema perlakuan penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.

5. Uji organoleptik Metode Hedonik (Kartika dkk, 1998)

Uji organoleptik dilakukan terhadap tiga penilaian yaitu warna, rasa, aroma, dan kekentalan. Pengujian dilakukan terhadap 25 panelis. Skala penilaian dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Skala penilaian uji organoleptik (Kartika dkk., 1998).

No	Nilai	Tingkat Kesukaan
1	6	Sangat suka
2	5	Suka
3	4	Biasa
4	3	Kurang suka
5	2	Tidak suka
6	1	Sangat tidak suka

5. Perhitungan jumlah bakteri

Analisis jumlah sel bakteri viabel dengan metode Standar Plate Count (Hadiwiyoto, 1994) : Cawan petri steril ditandai sesuai dengan pengenceran yang dibuat. Sampel dalam erlemeyer digojog hingga tersuspensi merata. Sampel sebanyak 1 ml diinokulasikan secara aseptis ke dalam 9 ml larutan aquades steril sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} kemudian digojog. Satu ml sampel tersebut diinokulasikan ke dalam 9 ml larutan pepton 0,1% steril sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Untuk pengenceran selanjutnya dilakukan hal yang sama. MRSA yang telah dilarutkan dan steril dituang pada suhu sekitar 45 – 50°C kedalam petri yang telah berisi 1 ml suspensi pada pengenceran yang telah dibuat tersebut diatas secara aseptis. Petridish digoyang secara hati – hati sehingga suspensi tercampur secara merata dengan medium dan dibiarkan padat. Biakan dalam petri dish diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah koloninya dengan *colony counter*.

6. Pengukuran keasaman

Pengukuran derajat keasaman (pH) dilakukan dengan indikator pH 1-14.

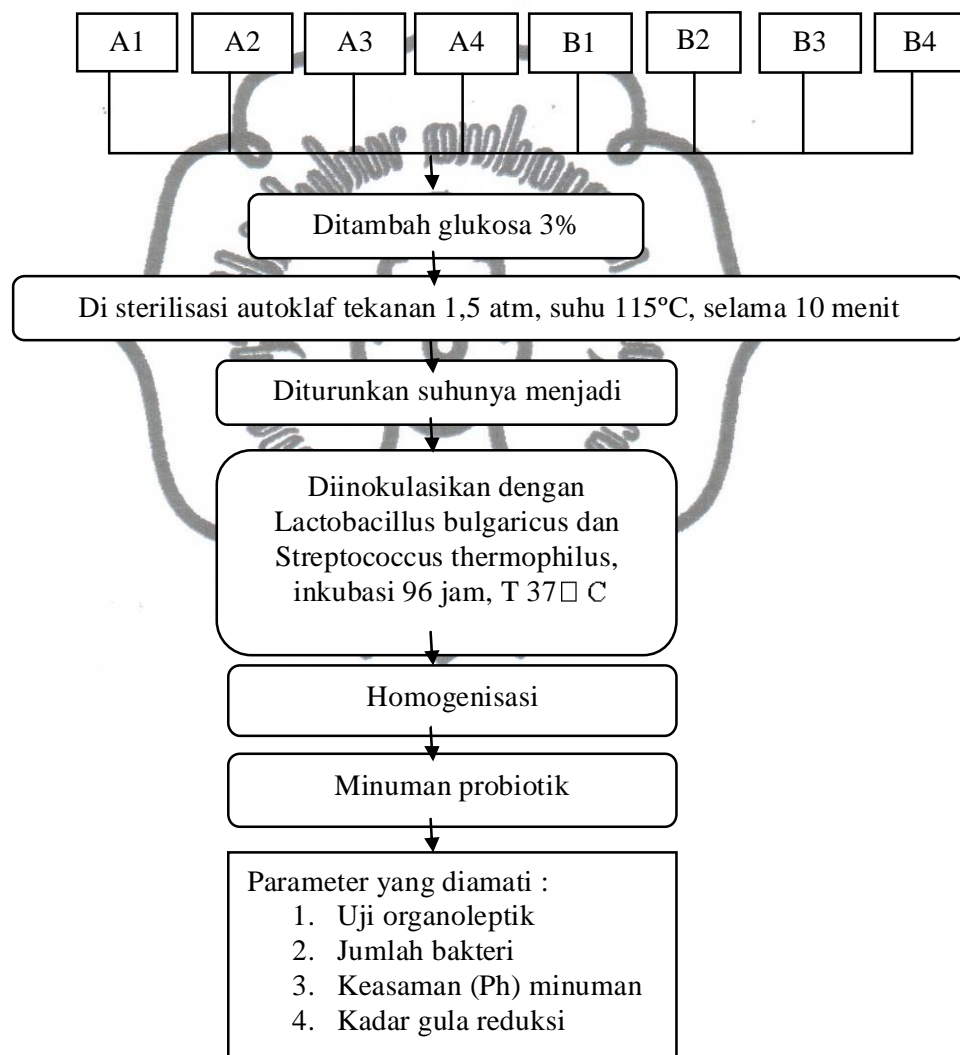
7. Analisis kandungan gula reduksi

Kandungan gula reduksi dianalisis dengan *spektrofotometri* menggunakan Metode DNS (Miller, 1959) sebagai berikut :

- a. Pembuatan reagen DNS (*Dinitrosalicylic acid*) dengan cara : 1 gram NaOH dilarutkan dengan 60 ml akuades. Setelah larut ditambah 18,2 gram $C_4H_4KNaO_6$. Ditambahkan 1 gram asam dinitrosalisilat secara perlahan sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Setelah larut ditambahkan 0,2 gram C_6H_5OH . Ditambah 0,05 gram Na_2SO_3 , setelah larut semua diencerkan hingga 100 ml dengan akuades. Setelah jadi disimpan dalam botol gelap dan diletakkan dilemari es.
- b. Penyiapan kurva standar : Larutan glukosa standart dibuat dengan melarutkan 10 mg glukosa anhidrat dalam 100ml. Larutan glukosa standar diencerkan sehingga diperoleh larutan glukosa dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 mg/100 ml. Dipersiapkan 7 tabung reaksi yang bersih, masing – masing diisi 1 ml larutan glukosa standar. Satu tabung diisi 1 ml akuades sebagai blanko. Selanjutnya ditambahkan 2 ml reagen DNS kemudian di *vortex*, dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Selanjutnya didinginkan pada air yang mengalir. Pembacaan absorbansinya dilakukan *spektrofotometer* 550 nm.
- c. Penentuan gula reduksi pada sampel : Sebanyak 1 ml sampel dimasukan dalam tabung. Selanjutnya ditambahkan 2 ml reagen DNS kemudian di *vortex*, dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Selanjutnya

dinginkan pada air yang mengalir. Pembacaan absorbansinya dilakukan *spektrofotometer* 550 nm.

E. Bagan Skema Kerja



Gambar 3.2. Skema perlakuan penelitian.

Keterangan :

A1: sari tepung ganyong 10% + susu skim 2%

A2: sari tepung ganyong 10% + susu skim 5%

commit to user

A3: sari tepung ganyong 10% + susu skim 8%

A4: sari tepung ganyong 10% + susu skim 10 %

B1: susu skim 10%

B2: susu skim 10% + sari tepung ganyong 2%

B3: susu skim 10% + sari tepung ganyong 5%

B4: susu skim 10% + sari tepung ganyong 8%

F. Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan analisis anova untuk uji jumlah bakteri dan kadar gula reduksi dan statistik non parametrik kendals untuk uji organoleptik dilanjutkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5 % untuk mengetahui beda nyata diantara perlakuan.

BAB. IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pembuatan Minuman Probiotik

Langkah awal yang dilakukan dalam pembuatan minuman probiotik ini adalah menyiapkan kultur kerja seperti yang dijelaskan dalam metodologi. Pembuatan kultur kerja bertujuan untuk menyediakan inokulum dalam volume yang cukup bagi kultur yang lebih besar (Anshori, 1992). Kultur kerja yang digunakan adalah *Streptococcus thermophilus* subsp. *salivarius*, dan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* yang dibiakkan dalam media *MRS Broth*.

Pembuatan minuman probiotik ini merupakan kombinasi dari susu skim dengan sari tepung ganyong dan glukosa. Penambahan susu skim bertujuan untuk meningkatkan total padatan terlarut dan membantu kerja bakteri dalam proses fermentasi. Hal ini dikarenakan kandungan glukosa dari sari tepung ganyong belum diketahui secara jelas. Berdasarkan penelitian Putri dan Iskandar (2008) pati ganyong memiliki kadar karbohidrat 80% dan kadar air 18%, kadar pati yang tinggi menunjukkan bahwa pati ganyong dapat dijadikan bahan baku untuk pembuatan sirup glukosa. Hasil hidrolisis pati ganyong menggunakan katalis HNO_3 7% (v/v) memiliki kadar gula total sebesar 169372,33 ppm sedangkan nilai DE sebesar 28,4 dari sampel 0,1 g pati ganyong. Menurut Koswara (1998) yang dikutip oleh Susanti (2005), glukosa, laktosa, dan sukrosa dapat digunakan sebagai sumber energi bagi bakteri asam laktat agar proses fermentasi berjalan lebih cepat, sedangkan kandungan karbohidrat pada ganyong berupa glukosa yang

commit to user

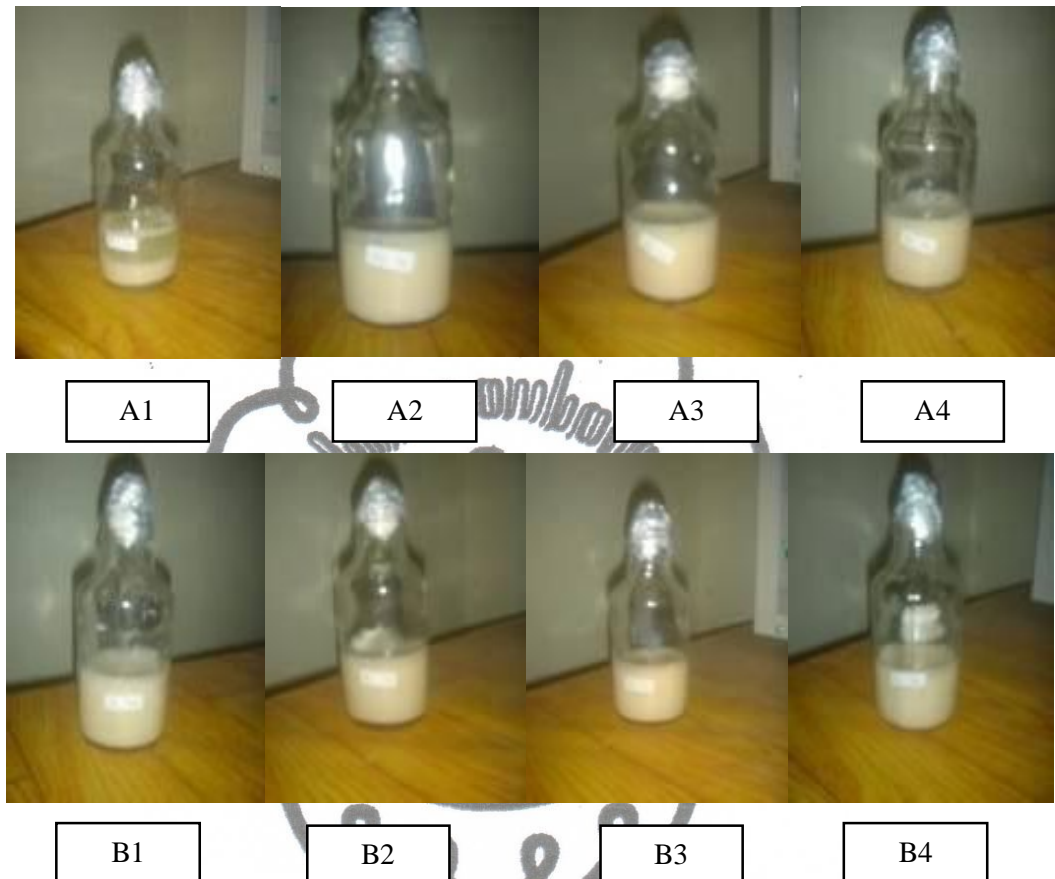
paling banyak. Penambahan susu skim dan gula pasir juga dapat meningkatkan cita rasa produk.

Dalam pembuatan minuman probiotik substrat yang berupa kombinasi sari tepung ganyong, susu skim dan glukosa yang telah dilarutkan disterilisasi dengan autoklaf selama 10 menit dengan suhu 115°C, tekanan 1,5 atm. Alasan penggunaan sterilisasi ini adalah karena uap jenuh yang ada mampu membunuh secara cepat semua bentuk vegetatif mikroorganisme hidup dalam waktu 0,5 menit. Uap jenuh ini mampu menghancurkan spora vegetatif yang tahan terhadap pemanasan tinggi. Sterilisasi ini juga diharapkan agar mengurangi bau yang tidak enak dari sari tepung ganyong. Selain itu, menurut Tamine dan Robinson (1989), terdapat beberapa keuntungan dari proses pemanasan pada pembuatan yogurt, yaitu (a) menginaktivasi mikroorganisme awal yang tidak diinginkan yang dapat bersaing dengan kultur bakteri yang akan digunakan; (b) denaturasi "whey protein" (albumin dan globulin) sehingga dapat meningkatkan viskositas produk; (c) mengurangi jumlah oksigen dalam susu sehingga kultur yang secara normal bersifat mikroaerofilik dapat tumbuh dengan baik; (d) mendenaturasi protein susu dalam batas-batas tertentu agar dapat dimanfaatkan dengan mudah oleh kultur yogurt untuk pertumbuhan.

Selanjutnya semua formula yang telah disterilisasi kemudian dibiarkan mendingin hingga mencapai suhu 37°C. Menurut Helfrich dan Westhoff (1980), tujuan pendinginan susu sebelum dilakukan inokulasi adalah untuk menurunkan suhu susu setelah pemanasan sampai tercapai kondisi optimum bagi pertumbuhan kultur. Setelah pendinginan, dilakukan penambahan kultur kerja sebanyak 20%

(v/v) dengan perbandingan 1:1 antara kedua inokulum. Perbandingan ini adalah rasio paling optimum bagi pertumbuhan bakteri di dalam yogurt yang menggunakan kultur campuran (Walstra *et al.*, 1999). Penggunaan kultur stater campuran beberapa bakteri asam laktat akan menghasilkan nilai organoleptik yang lebih baik daripada dengan kultur tunggal (Helferich dan Westhoff, 1980). Sebab terdapat suatu kesesuaian dan saling menunjang antara satu organisme dengan organisme lainnya.

Minuman probiotik yang telah diberi kultur kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 96 jam. Minuman probiotik yang dihasilkan memiliki karakteristik warna dari putih pucat hingga putih kecoklatan, berasa asam hingga asam sedikit sepat, beraroma khas susu skim bercampur ganyong, dan tekstur yang kental tidak padat hingga kental dan agak padat seperti agar-agar. Penampilan produk minuman probiotik dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Keterangan :

- A1: sari tepung ganyong 10% + susu skim 2%
- A2: sari tepung ganyong 10% + susu skim 5%
- A3: sari tepung ganyong 10% + susu skim 8%
- A4: sari tepung ganyong 10% + susu skim 10 %
- B1: susu skim 10%
- B2: susu skim 10% + sari tepung ganyong 2%
- B3: susu skim 10% + sari tepung ganyong 5%
- B4: susu skim 10% + sari tepung ganyong 8%

Gambar 4.1. Minuman probiotik kombinasi sari tepung ganyong dengan susu skim dan penambahan glukosa.

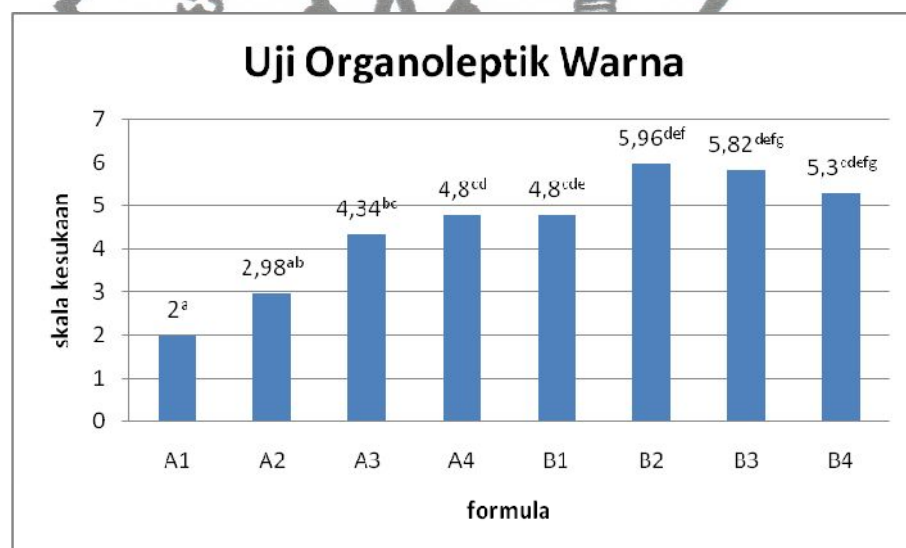
B. Uji Organoleptik

Uji organoleptik yang dipakai merupakan uji kesukaan. Pada dasarnya uji kesukaan merupakan pengujian yang panelisnya mengemukakan respon berupa senang tidaknya terhadap sifat bahan yang diuji. Pada pengujian ini digunakan panelis yang belum terlatih tanpa membandingkan bahan uji dengan sampel standar (Kartika dkk, 1988). Parameter yang diujikan meliputi warna, rasa, aroma dan kekentalan dari minuman probiotik. Uji kesukaan dilakukan terhadap 25 orang panelis.

Warna merupakan atribut yang turut dipertimbangkan panelis secara subyektif untuk menilai mutu organoleptik suatu bahan pangan. Minuman probiotik sari tepung ganyong dengan susu skim dan glukosa berwarna putih pucat hingga putih kecoklatan. Hasil uji hedonik terhadap karakteristik warna dapat dilihat pada Gambar 4.2.

Nilai $T = 55,147 > X^2_{(0,95;2)} = 14,07$ maka H_0 ditolak artinya paling tidak ada satu perlakuan yang mempunyai pengaruh yang berbeda dalam warna minuman (Lampiran 2). Karena H_0 ditolak, maka dilakukan uji lanjut untuk mengetahui perlakuan mana yang mempunyai pengaruh dengan nilai signifikansi $< 0,05$ (berbeda nyata). Parameter warna pada minuman probiotik yang menunjukkan skala suka yaitu B2, B3, dan B4, yang paling tinggi terdapat pada formula B2 dengan nilai $5,96 \pm 0,764$. Warna yang paling disukai adalah formula B2 yang memiliki karakteristik putih kecoklatan, sedangkan yang tidak disukai adalah formula A1 dengan karakteristik putih pucat. Warna putih kecoklatan didapatkan dari 2 hal, yang pertama yaitu konsentrasi susu skim yang lebih

banyak. Susu skim yang mengalami pemanasan pada saat sterilisasi mengalami pencoklatan dikarenakan reaksi *maillard* dengan kimia susu berupa protein, laktosa dan lemak hal ini dikarenakan senyawa ini memiliki karbon. Reaksi pencoklatan nonenzimatis (reaksi *Maillard*) melibatkan senyawa karbonil yang dapat berasal baik dari gula pereduksi atau hasil oksidasi asam askorbat, hidrolisis pati dan oksidasi lipid. Yang kedua adalah konsentrasi sari tepung ganyong, semakin tinggi konsentrasi sari tepung ganyong maka semakin terlihat coklat, seperti yang tampak pada formula A4, B3 dan B4. Formula B2 memiliki kombinasi yang lebih disukai dalam menghasilkan warna.



Keterangan :

A1: sari tepung ganyong 10% + susu skim 2%

A2: sari tepung ganyong 10% + susu skim 5%

A3: sari tepung ganyong 10% + susu skim 8%

A4: sari tepung ganyong 10% + susu skim 10 %

B1: susu skim 10%

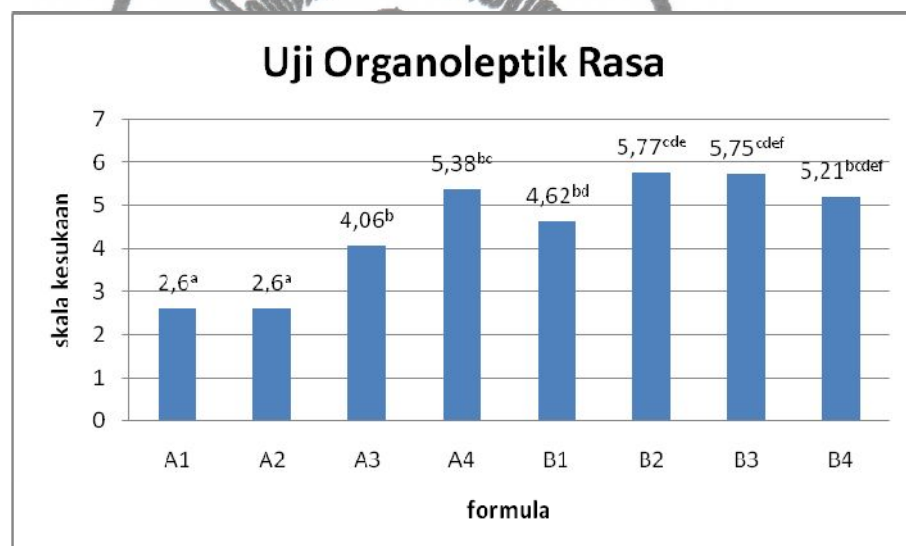
B2: susu skim 10% + sari tepung ganyong 2%

B3: susu skim 10% + sari tepung ganyong 5%

B4: susu skim 10% + sari tepung ganyong 8%

Gambar 4.2. Hasil uji nonparametrik test parameter warna minuman probiotik.

Rasa merupakan parameter paling penting dari suatu produk pangan. Minuman probiotik dalam penelitian ini memiliki rasa sepat, asam-sepat, dan asam. Cecapan merupakan indera yang informasinya memerlukan bukti penunjang dari penciuman, penglihatan, dan sentuhan untuk mengetahui apa yang sedang dikecap oleh mulut (Winarno, 1997). Rasa sepat dihasilkan dari sari tepung ganyong, sedangkan rasa asam dihasilkan dari fermentasi susu skim. Hasil uji terhadap parameter rasa dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Keterangan :

A1: sari tepung ganyong 10% + susu skim 2%

A2: sari tepung ganyong 10% + susu skim 5%

A3: sari tepung ganyong 10% + susu skim 8%

A4: sari tepung ganyong 10% + susu skim 10 %

B1: susu skim 10%

B2: susu skim 10% + sari tepung ganyong 2%

B3: susu skim 10% + sari tepung ganyong 5%

B4: susu skim 10% + sari tepung ganyong 8%

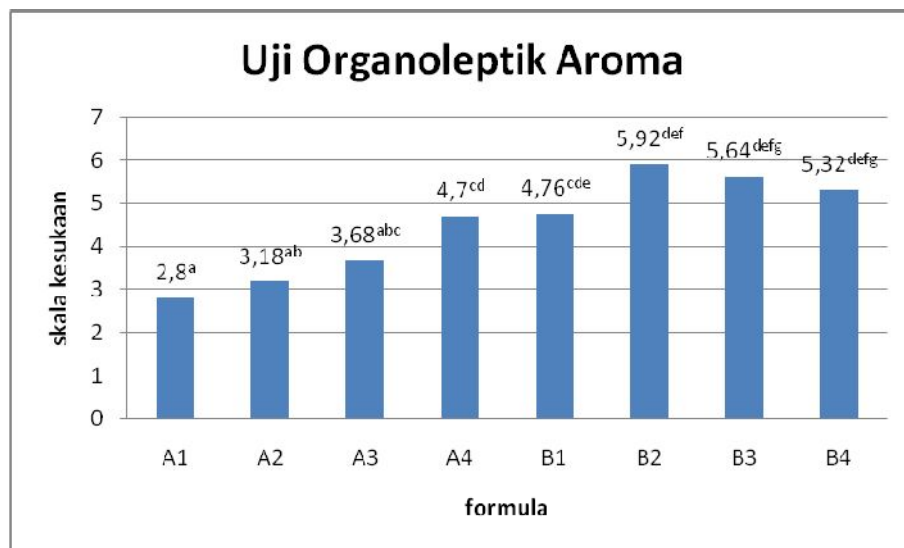
Gambar 4.3. Hasil uji nonparametrik test parameter rasa minuman probiotik.

Nilai $T = 50,767 > X^2_{(0,95;2)} = 14,07$ maka H_0 ditolak artinya paling tidak ada satu perlakuan yang mempunyai pengaruh yang berbeda dalam rasa minuman

commit to user

(Lampiran 3). Karena H_0 ditolak, maka dilakukan uji lanjut untuk mengetahui perlakuan yang mempunyai pengaruh dengan signifikansi $<0,05$ (berbeda nyata). Parameter rasa yang menunjukkan skala suka adalah A4, B2, B3, dan B4, yang paling tinggi adalah formula B2 dengan nilai $5,77 \pm 1,215$. Formula B2 memiliki karakteristik rasa yang khas yaitu asam dengan sedikit sepat. Untuk formula dengan nilai terendah yaitu A1 dan A2 dengan nilai $2,6 \pm 0,637$ menunjukkan tingkat kesukaan pada skala tidak suka. Hal ini dikarenakan rasa yang ditimbulkan oleh konsentrasi sari tepung ganyong yaitu sepat sangat terasa, sehingga menutupi rasa asam, dan rasa asamnya hampir tidak terasa. Formula B1, B3 dan B4 memiliki rasa asam yang sangat dominan, terlebih pada formula B1 disebabkan tidak ada campuran dari sari tepung ganyong. Hal ini juga dipengaruhi oleh rasio perbandingan probiotik yang diberikan adalah sama, seperti yang dikemukakan Bashiti (2010), yogurt yang menggunakan rasio *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* yang sama pada suhu 42° selama 6-8 jam memberikan aspek organoleptik yang lebih baik dibandingkan dengan inokulasi *S. thermophilus* 10% dan *L. bulgaricus* 3%.

Ciri khas aroma minuman probiotik pada penelitian ini adalah perpaduan tepung ganyong dengan aroma susu skim yang menyengat seperti pada minuman probiotik pada umumnya. Hasil uji organoleptik parameter aroma dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Keterangan :

A1: sari tepung ganyong 10% + susu skim 2%

A2: sari tepung ganyong 10% + susu skim 5%

A3: sari tepung ganyong 10% + susu skim 8%

A4: sari tepung ganyong 10% + susu skim 10 %

B1: susu skim 10%

B2: susu skim 10% + sari tepung ganyong 2%

B3: susu skim 10% + sari tepung ganyong 5%

B4: susu skim 10% + sari tepung ganyong 8%

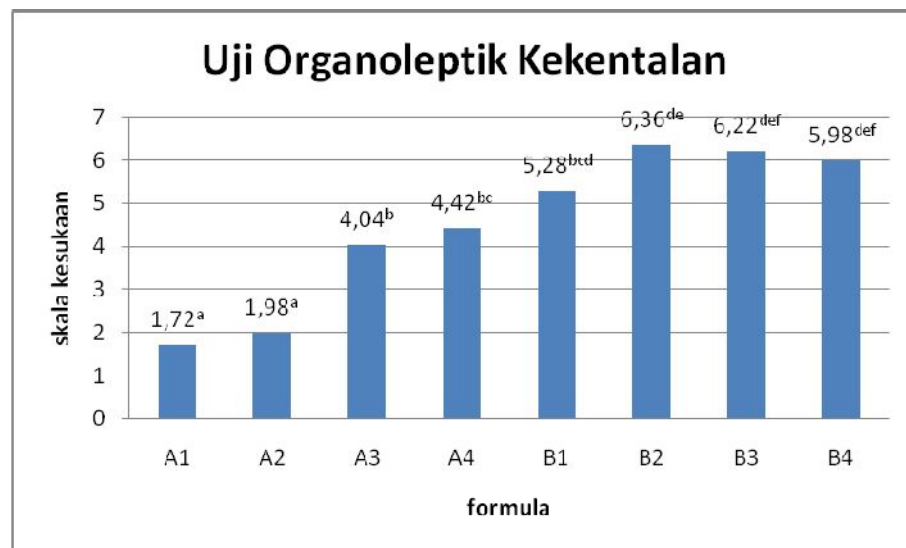
Gambar 4.4. Hasil uji nonparametrik test parameter aroma minuman probiotik.

Nilai $T = 38,705 > X^2_{(0,95;2)} = 14,07$ maka H_0 ditolak artinya paling tidak ada satu perlakuan yang mempunyai pengaruh yang berbeda dalam aroma minuman (Lampiran 4). Karena H_0 ditolak, maka dilakukan uji lanjut untuk mengetahui perlakuan yang mempunyai pengaruh dengan signifikansi $<0,05$ (berbeda nyata). Berdasarkan gambar di atas yang menunjukkan skala suka adalah formula B2, B3, dan B4, nilai tertinggi adalah formula B2 dengan nilai $5,92 \pm 0,810$. Aroma yang dihasilkan pada formula B2 adalah perpaduan aroma sari tepung ganyong yang dipadukan dengan aroma susu skim, sehingga aromanya lebih sedap. Sedangkan untuk aroma formula A1 dengan nilai $2,8 \pm 1,118$

menunjukkan tingkat kesukaan panelis pada skala tidak suka. Formula A1 memiliki nilai terendah lebih didominasi oleh aroma khas tepung ganyong, seperti kita ketahui bahwa aroma dari tepung ganyong yang sangat menyengat kurang enak, dan aroma dari susu skim tertutupi oleh aroma sari tepung ganyong. Formula B1 yang merupakan formula tanpa penambahan sari tepung ganyong memiliki nilai $4,76 \pm 1,025$ menunjukkan tingkat kesukaan panelis pada skala biasa memiliki aroma biasa saja seperti minuman probiotik yang beredar dipasaran yaitu khas aroma susu.

Menurut Kusmawati (2008) parameter aroma sangat terkait dengan parameter rasa. Oleh karena itu seperti pada parameter rasa, susu skim juga dapat mempengaruhi aroma produk. Komponen hasil metabolit seperti asam asetat, asetaldehid, aseton, asetoin, dan diasetil dapat mempengaruhi aroma produk. Semakin banyak susu skim yang digunakan, maka semakin banyak komponen flavor yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, sehingga aromanya akan semakin baik (Helferich dan Westhoff, 1980).

Kekentalan merupakan parameter yang mempengaruhi dari suatu produk. Minuman probiotik pada penelitian ini merupakan jenis produk pangan yang agak kental hingga kental seperti agar-agar, Hasil uji organoleptik terhadap kekentalan dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Keterangan :

A1: sari tepung ganyong 10% + susu skim 2%

A2: sari tepung ganyong 10% + susu skim 5%

A3: sari tepung ganyong 10% + susu skim 8%

A4: sari tepung ganyong 10% + susu skim 10 %

B1: susu skim 10%

B2: susu skim 10% + sari tepung ganyong 2%

B3: susu skim 10% + sari tepung ganyong 5%

B4: susu skim 10% + sari tepung ganyong 8%

Gambar 4.5. Hasil uji nonparametrik test parameter kekentalan minuman probiotik.

Nilai $T = 97,973 > X^2_{(0,95;2)} = 14,07$, maka H_0 ditolak artinya paling tidak ada satu perlakuan yang mempunyai pengaruh yang berbeda dalam kekentalan minuman (Lampiran 5). Kemudian diuji lanjut untuk mengetahui beda nyata diantara perlakuan dengan signifikansi $<0,05$ (berbeda nyata). Nilai yang menunjukkan skala suka adalah formula B1 dan B4, skala sangat suka B2 dan B3. Dengan nilai tertinggi terdapat pada formula B2 yaitu $6,32 \pm 0,898$. Nilai terendah didapatkan pada formula A1 dengan nilai $1,72 \pm 0,651$ yang menunjukkan skala sangat tidak suka, formula ini lebih didominasi oleh sari tepung ganyong 10%.

Untuk formula B1 dengan nilai $5,28 \pm 0,860$ menunjukkan skala suka, formula B1 merupakan formula tanpa penambahan sari tepung ganyong sehingga dapat digunakan sebagai patokan kekentalan yang ditimbulkan oleh susu skim dan sari tepung ganyong.

Penambahan susu skim dapat meningkatkan kekentalan produk karena adanya peningkatan kadar protein sehingga akan menyebabkan peningkatan jumlah koagulum hasil penggunaan protein akibat suasana asam dibawah titik isoelektrik protein susu (Tamine dan Robinson, 1989). Selain itu, menurut Hartono (2003), penggunaan susu skim yang lebih banyak dapat meningkatkan total padatan terlarut, dan dapat memperbaiki tekstur dan viskositas produk. Menurut hasil penelitian Nugraheny (2004), semakin besar konsentrasi gula, maka viskositas yogurt probiotik semakin tinggi sehingga konsistensi produk akhir akan lebih baik.

Dari keempat parameter uji organoleptik yaitu warna, rasa, aroma dan kekentalan yang memiliki nilai tertinggi adalah formula B2, sehingga dapat disimpulkan bahwa formula dengan kombinasi sari tepung ganyong 2%, susu skim 10% dan glukosa 3% merupakan formula yang paling disukai oleh panelis. Dari sisi warna sari tepung ganyong memberikan warna kecoklatan, semakin tinggi konsentrasi semakin coklat warnanya. Begitu juga dengan susu skim yang telah mengalami pemanasan sehingga konsentrasi susu skim 10% ditambah konsentrasi sari tepung ganyong 5% lebih menghasilkan warna yang kusam dan tidak disukai panelis. Dari segi rasa sari tepung ganyong sangat baik jika digunakan sebagai perisa minuman probiotik dengan konsentrasi 2% karena rasa

sepat yang ditimbulkan cukup terasa dan memberikan sensasi tersendiri. Dari sisi aroma dan kekentalan, sari tepung ganyong pada konsentrasi 2% sudah dapat mempengaruhi aroma dan kekentalan dari suatu produk.

C. Uji Jumlah Bakteri

Pada uji jumlah bakteri asam laktat (BAL) dilakukan dua kali uji yaitu jam ke-0 (awal inkubasi) dan jam ke-96 (akhir inkubasi). Selama 96 jam inkubasi cenderung terjadi penurunan jumlah bakteri asam laktat. Penurunan jumlah total BAL dapat disebabkan oleh semakin berkurangnya nutrisi yang ada pada produk. Selain karena berkurangnya jumlah nutrisi dalam minuman probiotik penurunan jumlah BAL dapat pula diakibatkan oleh adanya hasil-hasil metabolisme, seperti asam laktat yang dapat menurunkan pH produk sehingga dapat menghambat pertumbuhan BAL. Menurut Jay (2000), peningkatan derajat keasaman dapat berpengaruh terhadap jumlah mikroba yang terdapat dalam produk. Pertumbuhan *Streptococcus* akan terhambat pada pH 4.2-4.3, sementara *Lactobacillus* akan bertahan sampai kisaran pH 3.5-3.8. selain itu, metabolisme *Streptococcus* juga akan terhambat pada tingkat asam laktat lebih dari 1.0%. Jumlah BAL dari jam ke-0 menuju jam ke-96 cenderung menurun dapat diasumsikan bahwa BAL yang masih bertahan hanya *L. bulgaricus* sebab pada akhir inkubasi pH yang didapatkan adalah 3,5.

Berdasarkan analisis data menggunakan anova didapatkan Perlakuan tidak berpengaruh signifikan pada jumlah bakteri pada jam ke-0. Dilanjutkan dengan uji duncan didapatkan hasil bahwa jumlah bakteri pada masing-masing perlakuan

adalah sama. Hasil uji jam ke-96 memperlihatkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata pada jumlah bakteri di akhir penelitian. Perlakuan B1, B4, B3 dan A2 menghasilkan jumlah BAL yang sedikit di akhir inkubasi. Dengan perlakuan B1, bakteri sudah benar-benar hilang di akhir inkubasi karena telah mengalami fase kematian. Perlakuan A4 menyisakan jumlah bakteri terbanyak di akhir penelitian. Secara statistik, terdapat dua kelompok yang terbentuk untuk jumlah bakteri akhir berdasarkan delapan perlakuan yang diberikan. Di mana perlakuan B2, A1 dan A3 masuk pada kedua kelompok tersebut. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil uji jumlah BAL jam ke-0 dan jam ke 96 (10^6 cfu/ml)

Jam ke-	Formula							
	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4
0	38,4 ^a	681,08 ^a	253,1 ^a	141,3 ^a	66,87 ^a	72,8 ^a	71,93 ^a	212,6 ^a
96	23,9 ^{ab}	13,75 ^a	24,35 ^{ab}	43,48 ^b	0 ^a	20,43 ^{ab}	4,67 ^a	2,03 ^a

Keterangan :

- A1: sari tepung ganyong 10% + susu skim 2%
- A2: sari tepung ganyong 10% + susu skim 5%
- A3: sari tepung ganyong 10% + susu skim 8%
- A4: sari tepung ganyong 10% + susu skim 10 %
- B1: susu skim 10%
- B2: susu skim 10% + sari tepung ganyong 2%
- B3: susu skim 10% + sari tepung ganyong 5%
- B4: susu skim 10% + sari tepung ganyong 8%

Menurut Ray (1996), jumlah bakteri probiotik yang tinggi (10^6 - 10^7 bakteri/ml atau lebih) dalam saluran pencernaan manusia memungkinkan bakteri asam laktat mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Menurut Banerjee, Glenn dan Arun (2009) pengaruh probiotik *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* B-30892 (LDB B-30892) bersifat sitotoksitas terhadap patogen

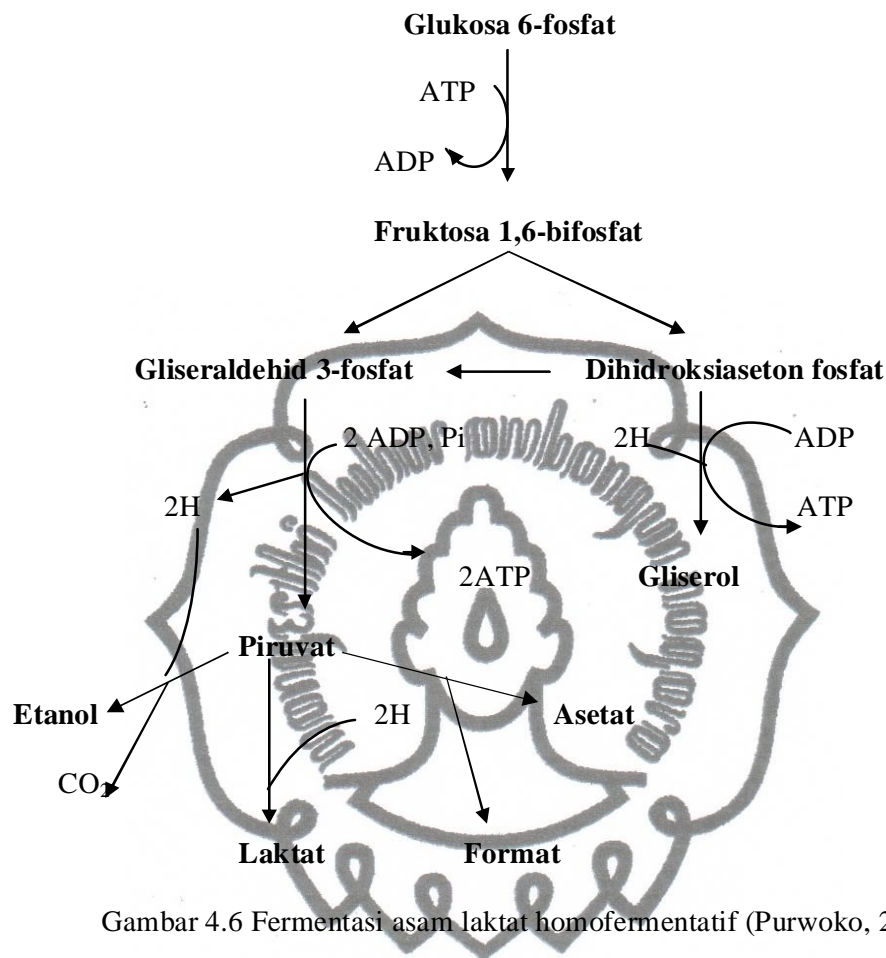
Clostridium difficile dalam sel kolorektal. Mekanisme aksi dari probiotik adalah berkaitan dengan kemampuan mereka untuk bersaing dengan mikroorganisme patogen untuk situs adhesi, memusuhi patogen atau untuk memodulasi host respon kekebalan. Probiotik dapat berguna dalam mencegah dan mengobati infeksi mulut, termasuk karies gigi, penyakit periodontal dan halitosis (Bonifait, Chandad, dan Grenier, 2009). Probiotik aman dan memiliki efek menguntungkan dalam memperpendek durasi dan mengurangi frekuensi tinja pada infeksi diare akut (Allen, *et al.*, 2010).

Berdasarkan pernyataan tersebut maka seluruh formula dalam penelitian dapat digunakan sebagai minuman probiotik karena memiliki jumlah BAL 43,48-2,03 x 10⁶ cfu/ml, selain formula B1. Formula B1 yang tidak ditemukan lagi probiotik pada akhir inkubasi jam ke-96 diasumsikan bahwa sel bakteri telah mengalami fase kematian, akibat habisnya nutrisi serta produk yang dihasilkan selama proses fermentasi. Formula B1 merupakan variasi 10% susu skim, 3% glukosa dan 0% sari tepung ganyong dari hasil ini dapat dikatakan bahwa sari tepung ganyong memiliki peran untuk mempertahankan kemampuan hidup probiotik *L. bulgaricus* dan *S. termophilus*. Sebab pada formula A1 yaitu kandungan susu skim paling sedikit 2%, glukosa 3% dan sari tepung ganyong 10% masih didapatkan probiotik yang hidup.

Pertumbuhan bakteri terdiri dari beberapa fase, yaitu fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase pertumbuhan logaritmik, fase pertumbuhan lambat, fase pertumbuhan tetap (stasioner), dan fase kematian (Fardiaz, 1992). Fase peningkatan jumlah bakteri cukup besar terjadi pada fase pertumbuhan logaritmik,

sedangkan fase penurunan jumlah bakteri terjadi setelah bakteri ini melewati fase pertumbuhan logaritmik. Berdasarkan tabel dapat dikatakan bahwa pada perhitungan BAL pada jam ke-0 merupakan fase adaptasi untuk semua formula. Sedangkan pada perhitungan jumlah BAL jam ke-96 berbeda-beda untuk A4 adalah fase pertumbuhan lambat, sedangkan A1, A3, dan B2 mengalami fase pertumbuhan tetap (stasioner), A2, B1, B3, dan B4 memasuki fase menuju kematian atau kematian. Perbedaan fase dikarenakan perbedaan nutrisi yang tersedia dan hasil fermentasi dari probiotik itu sendiri.

Kematian probiotik dapat disebabkan dari hasil samping fermentasi probiotik yaitu etanol dan gliserol yang bersifat toksik terhadap probiotik. Probiotik *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* merupakan bakteri asam laktat homofermentatif yang mampu mengubah glukosa menjadi asam laktat yang menggunakan glikolisis melalui jalur EMP. Bakteri asam laktat homofermentatif menghasilkan mayoritas asam laktat dengan sedikit produk samping, yaitu gliserol, etanol, asetat, format, dan CO₂ (Purwoko, 2009).



Gambar 4.6 Fermentasi asam laktat homofermentatif (Purwoko, 2009).

Dihasilkannya produk samping yang bersifat toksik dikarenakan sudah banyaknya hasil produk yang berupa asetat, format dan laktat yang dihasilkan oleh probiotik. Sehingga jalur fermentasi selanjutnya mengarah pada etanol dan gliserol yang menghambat pertumbuhan probiotik itu sendiri. Menurut Purwoko (2009), adanya produk samping, karena bakteri asam laktat homofermentatif mempunyai berbagai enzim yang dapat mengubah piruvat menjadi etanol dan CO_2 , asetat dan format serta laktat. Jika piruvat tidak segera diubah menjadi

produk diatas, NADH dipakai untuk mereduksi dihidroksi aseton fosfat menjadi gliserol.

Menurut Purwandari dan Vasiljevic (2010) *S. thermophilus* yang dikulturkan pada media M17 dengan penambahan laktosa dapat memproduksi *eksopolysakarida* (EPS) kapsuler dan kapsul-berurat,yang difermentasi pada suhu 37°C selama 24 jam. susu fermentasi dengan *S. thermophilus* CRL 1190 dan atau EPS yang dapat digunakan dalam makanan fungsional baru sebagai terapi alami alternatif untuk gastritis kronis (Rodriguez, *et al.*, 2010). Penelitian secara *in vitro* *S. thermophilus* dikultur dalam cairan lambung buatan (ditambahkan pepsin) dan dalam cairan duo denum buatan (ditambahkan kompleks enzim) dan media M17, isolat menunjukkan kemampuan menyerap kolesterol serta kemampuan bertahan hidup yang buruk dibandingkan pada media M17 (Ziarno, 2010). *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* yang diberi perlakuan mikroenkapsulasi dapat bertahan dalam kultur lambung (pH 1,5) dan usus (pH 7,2) dengan baik dan dapat berperilaku sebagai probiotik (Vodnar, 2010). Hal tersebut menunjukkan bahwa *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* merupakan probiotik yang mampu bertahan pada usus manusia dan memiliki efek positif terhadap kesehatan.

D. Uji Keasaman (pH) Minuman

Pada uji keasaman minuman probiotik pengukuran keasaman (pH) dilakukan dengan menggunakan kertas indikator pH 0-14 dan dilakukan pada jam ke-0 inkubasi dengan nilai untuk formula A1 yaitu pH 5 engan formula lainnya nilainya 5,5. Setelah pemberian probiotik dan jam ke-96 nilai pH seluruh formula

3,5 sebagai waktu paling akhir inkubasi. Hasil pengamatan pH selama 96 jam inkubasi memperlihatkan adanya kecenderungan penurunan nilai pH atau tingkat keasaman yang semakin meningkat. Hasil data keasaman tidak diuji dengan anova maupun duncan sebab dari hasil yang didapatkan jelas berbeda, pH awal pada jam ke-0 lebih tinggi dari pH akhir jam ke-96 dan nilai dari masing-masing perlakuan formula pada jam yang sama adalah sama.

Menurut Anshori (1992), Fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat dicirikan oleh akumulasi asam-asam organik terutama asam laktat yang diiringi dengan terjadinya penurunan nilai pH. Nilai pH diakhir inkubasi didapatkan untuk semua formula adalah sama yaitu 3,5 hal ini masih masuk dalam standart nilai pH. Nilai pH yang di hasilkan oleh campuran probiotik *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* berkisar 3,95-4,23 (Irkin and Eren, 2008). Nilai pH yang rendah dalam minuman probiotik sangat diharapkan agar mikrobia patogen tidak dapat tumbuh (Kristanti, 2005). Pada pengukuran pH nilai yang terukur adalah konsentrasi ion-ion H^+ yang menunjukkan jumlah asam terdisosiasi yang terukur, sedangkan total asam laktat merupakan pengukuran untuk komponen asam laktat saja (Kusmawati, 2008).

Menurut Lehninger (1997) besar kecilnya nilai pH dipengaruhi oleh konsentrasi ion H^+ . Asam laktat ($CH_3CHOHCOOH$) yang dihasilkan selama proses fermentasi merupakan asam yang mudah terdisosiasi menjadi ion H^+ dan ion ($CH_3CHOHCOO^-$). Wibowo (1989) menyebutkan bahwa konsentrasi ion H^+ yang tinggi akan menurunkan nilai pH sehingga minuman probiotik setelah fermentasi menjadi asam.

Penurunan pH juga berhubungan dengan total asam yang dihasilkan selama proses fermentasi. Puwandhani dan Suladra (2003) menyebutkan bahwa bakteri asam laktat menghasilkan metabolit berupa asam sebagai akibat metabolisme glukosa selama fermentasi. Asam yang dihasilkan semakin meningkat ditandai dengan penurunan nilai pH atau peningkatan keasaman. Menurut Tamime dan Robinson (1989), terjadi pembentukan asam yang lebih cepat pada yoghurt yang mengandung kultur campuran dibandingkan dengan kultur tunggal, sejalan dengan meningkatnya jumlah *S. thermophilus* selama fermentasi. Penurunan pH atau meningkatnya rasa asam pada produk selama fermentasi disebabkan oleh aktivitas bakteri asam laktat yang bekerja memfermentasi gula (sukrosa, glukosa, dan laktosa) menjadi sebagian besar asam laktat dan sejumlah kecil asam lainnya. Komponen yang dihasilkan oleh *S. thermophilus* berupa asam format dan asam laktat yang dapat menurunkan pH sehingga menstimulir pertumbuhan *L. bulgaricus*.

Menurut Petry *et al.* (2000), bahwa *L. bulgaricus* hanya dapat memanfaatkan glukosa sebanyak 2,0 – 3,5 gram/liter dalam *fase eksponensial* dan 8,0 gram/liter pada *fase stasioner*. Penambahan glukosa tidak berpengaruh terhadap asam laktat yang dihasilkan. Adanya akumulasi asam laktat menyebabkan penurunan pH.

E. Hasil uji kadar gula reduksi

Gula reduksi adalah gula yang mempunyai kemampuan untuk mereduksi. Semua monosakarida (glukosa, fruktosa, galaktosa) dan disakarida

(laktosa,maltosa), kecuali sukrosa dan pati (polisakarida), termasuk sebagai gula pereduksi (Lehninger, 1982). Pengujian dilakukan menggunakan metode DNS seperti yang dijelaskan pada metodologi. Setelah didapatkan nilai absorbansi dan diketahui nilai kadar gula reduksi melalui kurva standar (Lampiran. 8.) dengan nilai $y=0,080x + 0,130$, $R^2= 0,965$.

Selanjutnya nilai yang didapatkan dikalikan dengan faktor pengcernanya yaitu lima puluh kali. Nilai yang didapatkan merupakan nilai kadar gula reduksi yang dianalisis menggunakan anova dan uji lanjut DMRT. Hasil pengujian kadar gula reduksi dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil pengujian kadar gula reduksi minuman probiotik (mg/ml).

Jam	Formula							
	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3	B4
0	326,88 ^b	320,84 ^b	438,13 ^c	417,71 ^c	288,34 ^b	194,38 ^a	315,42 ^b	183,13 ^a
96	120 ^a	193,96 ^b	255 ^c	390,21 ^e	315,21 ^d	422,09 ^e	339,17 ^d	335,84 ^d

Keterangan :

- A1: sari tepung ganyong 10% + susu skim 2%
- A2: sari tepung ganyong 10% + susu skim 5%
- A3: sari tepung ganyong 10% + susu skim 8%
- A4: sari tepung ganyong 10% + susu skim 10 %
- B1: susu skim 10%
- B2: susu skim 10% + sari tepung ganyong 2%
- B3: susu skim 10% + sari tepung ganyong 5%
- B4: susu skim 10% + sari tepung ganyong 8%

Berdasarkan analisis data didapatkan bahwa uji kadar gula reduksi jam ke-0 dan 96 dengan tingkat kesalahan 5% tidak beda nyata ($\text{sig}>0,05$). Dari data diatas dapat dilihat bahwa formula yang dikodekan A mengalami penurunan kadar gula reduksi, sedangkan pada formula dengan kode B mengalami kenaikan kadar

gula reduksi. Hal berkaitan dengan jumlah bakteri pada formula kode A yang mengalami sedikit penurunan dibandingkan jumlah bakteri pada formula kode B yang penurunan jumlah bakterinya sangat banyak. Menurut Kristanti (2005), semakin tinggi sel bakteri viabel dalam minuman probiotik maka gula reduksi yang dikonsumsi oleh bakteri juga semakin banyak sehingga kadar gula reduksi semakin turun dan asam yang dihasilkan semakin banyak.

Formula kode A mengandung sari tepung ganyong 10% memiliki nilai kadar gula reduksi awal yang lebih tinggi dibandingkan formula kode B yang mengandung susu skim 10%. Pada akhir fermentasi jam ke-96 formula kode A mengalami penurunan kadar gula reduksi yang cukup banyak kecuali formula A4 yang mengandung 10% sari tepung ganyong dan 10% susu skim mengalami sedikit penurunan. Sedangkan formula kode B mengalami kenaikan kadar gula reduksi di akhir fermentasi. Berdasarkan data yang ada dapat dikatakan bahwa konsentrasi susu skim yang tinggi memicu kenaikan kadar gula reduksi, sedangkan sari tepung ganyong yang tinggi memicu penurunan kadar gula reduksi karena lebih mudah diubah dalam bentuk asam.

Tepung ganyong mengandung karbohidrat yang tinggi, sehingga diasumsikan bahwa dalam sari tepung ganyong terdapat glukosa yang terlarut dalam air, glukosa yang ada dapat digunakan sebagai sumber energi dan nutrisi. Digunakannya probiotik *Lactobacillus bulgaricus* karena termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat (BAL) *homofermentatif* dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat melalui fermentasi 1 mol glukosa menjadi 2 mol asam laktat (Kunaepah, 2008). *Streptococcus thermophilus* merupakan bakteri

heterotropik yang sensitif, sehingga membutuhkan lingkungan dengan nutrisi yang kompleks serta harus terdapat karbohidrat sederhana sebagai sumber energinya (Robinson, 1999). Menurut Kristanti (2005), penambahan susu skim ke dalam media fermentasi merupakan sumber laktosa yang dapat dihidrolisis menjadi glukosa dan galaktosa oleh β -D galaktosidase.



BAB. V

KESIMPULAN

Konsentrasi susu skim 10% dan sari tepung ganyong 2% merupakan konsentrasi paling tepat pada formula B2 untuk pembuatan minuman probiotik. Berdasarkan uji organoleptik yang menunjukkan skala diatas 5 (suka), jumlah bakteri asam laktat $20,43 \times 10^6$ cfu/ml, derajat keasaman (pH) 3,5, dan kadar gula reduksi di akhir fermentasi 422,09 mg/ml.

