

---

**VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) PADA PERMEN PROBIOTIK SIRSAK GUNUNG (*Annona montana* Macf)**

Oleh

Ambar Fidyasari<sup>1)</sup>, Fitri Eka Lestari<sup>2)</sup>, Anggraeni In Oktavia<sup>3)</sup><sup>1,2</sup>Akademi Analis Farmasi Dan Makanan Putra Indonesia Malang<sup>3</sup>Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

Jl. Barito No 5 Malang-56123

Email: [fidyafloss@gmail.com](mailto:fidyafloss@gmail.com)**Abstract**

Mountain soursop (*Annona montana* Macf.) has secondary metabolites i.e. terpenoids and flavonoids which are powerful antioxidants. It is rarely used due to its unpleasant taste. Hence, to increase its economic value, this fruit has been new innovations into probiotic candy. *Lactobacillus* is a probiotic product commonly used, so this study used *Lactobacillus casei*. To meet the probiotic products requirement, the lactic acid bacteria must survive in the gastrointestinal tract and have a good stability and viability during the storage. This study has a purpose to determine the amount of storage stability on the viability of lactic acid bacteria in Mountain soursop (*Annona montana* Macf.) probiotic candy. The research used a descriptive analysis method, where the research results are described according to the data obtained from the total plate number of lactic acid bacteria. Based on the research that has been done, it can be concluded that the total lactic acid bacteria in the mountain soursop probiotic candy (*Annona montana*) on day 3 was  $5.7 \times 10^3$  cfu/mL on day 5 of  $4.8 \times 10^3$  cfu/mL, and on day 7 as much as  $2.6 \times 10^3$  cfu/mL.

**Keywords:** Mountain Soursop, *Lactobacillus casei*, Total Lactic Acid Bacteria, viability, stability.

**PENDAHULUAN**

Seiring berkembangnya jaman, masyarakat sudah menyadari pentingnya kesehatan dengan memanfaatkan kembali bahan-bahan alami yang dipercaya sebagai pengobatan. Salah satu bahan alami yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan adalah buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.). Buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) adalah tanaman dari genus *Annonaceae* yang dapat tumbuh liar pada daerah tropis dan subtropis terutama di Indonesia (Boro, 2017). Menurut Maleta *et al* (2018) buah sirsak gunung mengandung karotenoid yang berfungsi sebagai antioksidan, antikanker, dan membantu kesehatan mata karena memiliki pigmen yang memberikan warna kuning, jingga hingga merah. Menurut Hanifah (2015) tanaman dengan famili *Annonaceae* memiliki senyawa metabolit sekunder acetogenin yang memiliki khasiat yaitu anti tumor, antiparasit, pestisida,

antiprotozoa, antelmintik, dan antimikroba. Namun buah sirsak gunung memiliki rasa yang kurang dapat diterima oleh masyarakat dikarenakan rasanya yang hambar dan masam jika dikonsumsi sebagai buah segar. Sehingga diperlukan upaya yang dapat meningkatkan penerimaan buah sirsak gunung di masyarakat, salah satunya dengan diolah menjadi minuman probiotik.

Minuman probiotik tentunya sudah tidak asing lagi bagi masyarakat Indonesia. Beberapa masyarakat sudah banyak yang mulai mengkonsumsi minuman ataupun makanan yang terdapat label probiotik. Menurut Juwita dan Fidyasari (2018) minuman probiotik ialah minuman yang mengandung agen probiotik dan dibuat melalui proses fermentasi. Salah satu agen probiotik yang digunakan serta mampu menghasilkan asam laktat berasal dari genus *Lactobacillus*. Salah satu bakteri yang akan digunakan pada penelitian ini adalah

*Lactobacillus casei*. *Lactobacillus casei* memiliki kemampuan bertahan dari kondisi asam lambung maupun rendahnya tegangan permukaan cairan empedu sehingga mampu hidup sampai di usus besar (Juwita dan Fidyasari, 2018). *Lactobacillus casei* dapat mengontrol organisme yang dapat menimbulkan efek toksik dalam saluran pencernaan manusia (Boro, 2017). *Lactobacillus casei* juga mampu memproduksi asam laktat serta bakteriosin yang dapat menekan pertumbuhan dan membunuh bakteri patogen dalam usus (Hariati, 2019).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fidyasari *et al* (2019) bakteri asam laktat yang terkandung dalam minuman probiotik dapat memberikan aktivitas antioksidan. Minuman fermentasi juga dapat meningkatkan senyawa flavonoid sebagai sumber antioksidan. Aktivitas bakteri asam laktat yang ada pada produk probiotik ini dapat meningkatkan jumlah flavonoid.

Dengan banyaknya manfaat dari minuman probiotik, maka akan di inovasi menjadi permen probiotik. Permen merupakan olahan produk pangan yang sudah menjadi *fun food* yang disukai oleh semua kalangan. Selain itu di era masa kini hal yang instan menjadi sesuatu yang lazim dan masyarakat lebih memilih sesuatu yang instan tetapi memiliki manfaat yang sama. Permen yang akan dibuat pada penelitian ini adalah permen soft candy menuju hard candy, yang telah di inovasi dan memiliki efek yang menyehatkan yaitu berupa permen probiotik. Menurut Widyaningsih (2011) permen probiotik mampu mencegah prevalensi terhadap penyakit saluran pencernaan. Untuk mengetahui kemampuan kultur bakteri yang bersifat patogen bagi tubuh maka dilakukannya pengujian viabilitas bakteri asam laktat.

Penelitian oleh Pangestu *et al* (2017) viabilitas bakteri asam laktat dipengaruhi oleh kondisi penyimpanan khususnya suhu, pengemasan yang tepat sehingga produk tetap berada pada higroskopis sehingga menghambat laju transmisi uap air dan reaksi oksidasi pada

produk dapat diminimalisasi. Penelitian Yuliana (2012) juga menyatakan bahwa penurunan viabilitas permen probiotik dapat dipengaruhi beberapa faktor seperti faktor lingkungan yang tidak mendukung bagi bakteri untuk bertahan, seperti lama penyimpanan maupun perjalanan di dalam saluran pencernaan yang memiliki pH rendah. Syarat produk dikatakan probiotik adalah bahwa produk tersebut mengandung bakteri probiotik yang masih hidup. Jumlah bakteri yang masih hidup sampai di saluran pencernaan lebih dari  $10^6$  cfu/g atau  $10^6$  cfu/mL (Rizal *et al.*, 2016). Untuk menentukan viabilitas bakteri asam laktat pada permen probiotik adalah dengan dilakukan perhitungan menggunakan perhitungan cawan atau Angka Lempeng Total (ALT) yang akan dilakukan selama 1 minggu agar memiliki stabilitas dan viabilitas yang stabil selama penyimpanan agar pada saat dikonsumsi memiliki efek kesehatan.

Dari latar belakang diatas, maka perlu diuji stabilitas penyimpanan terhadap viabilitas bakteri asam laktat pada permen probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.).

## METODE PENELITIAN

Perhitungan total bakteri asam laktat permen probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) selama penyimpanan menggunakan metode analisis data secara deskriptif. Dimana hasil penelitian dideskripsikan sesuai data yang diperoleh dari angka lempeng total bakteri asam laktat.

### Alat dan Bahan

**Alat.** Timbangan analitik (Ohaus), blender (Miyako), wadah aluminium, pengaduk, termometer, kompor, inkubator (Mommert IN30), erlenmeyer, gelas ukur, corong gelas, cetakan permen, cawan petri, tabung reaksi, oven, autoclave (American Tipe 75X), kertas coklat, bunsen, vortex, kain saring, dan alat penunjang lainnya.

**Bahan.** Buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) yang diperoleh dari jalan Punten, Kecamatan Bumiaji, Kota Batu, Jawa Timur, media MRSA, strain *Lactobacillus casei* dari

produk komersial (yakult), aquadest, glukosa, dan bahan penunjang lainnya.

### Tahap Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan proses pembuatan sari buah sirsak gunung dengan perbandingan 1:2 terhadap air. Kemudian dilakukan proses pembuatan minuman probiotik dengan penambahan strain *Lactobacillus casei* dari produk komersial (yakult) yang diinkubasi selama 24 jam. Setelah didapatkan minuman probiotik, kemudian dilakukan proses pembuatan permen probiotik dengan penambahan gula dan minuman probiotik. Dilakukan proses cooking suhu  $140^{\circ}\text{C}$  hingga terjadi proses kristalisasi dan proses cooling selama 10 menit kemudian dimasukkan dalam cetakan permen (cetakan karet) serta dilakukan pengemasan jika sudah mengeras.

Permen probiotik yang sudah mengeras kemudian dilanjutkan dengan penyimpanan pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$ . Penyimpanan dilakukan selama 7 hari dan analisa mikrobiologi dilakukan pada hari ke 3, 5, dan hari ke- 7. Analisa yang dilakukan adalah Perhitungan total bakteri asam laktat (BAL) dilakukan dengan menghitung koloni yang tumbuh pada media *de Man, Rogosa and Sharpe agar* (MRS).

Sebanyak 1 gram sampel permen probiotik dimasukkan kedalam 9 mL aquadest steril dan dihomogenkan, larutan ini disebut pengenceran pengenceran  $10^{-1}$ , kemudian diambil sampel 1 mL dari pengenceran  $10^{-1}$  untuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi selanjutnya, perlakuan ini dilakukan terus menerus sampai didapatkan pengenceran  $10^{-3}$ . Diambil 1 mL dari tiap pengenceran kemudian di masukkan ke cawan petri (pencawan dilakukan duplo), setelah itu dituangkan medium *de Man, Rogosa and Sharpe agar* (MRS) steril sebanyak  $\pm 10$  mL, lalu digerakkan perlahan dengan membentuk angka delapan serta dibiarkan hingga memadat. Inkubasi dilakukan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam dengan posisi terbalik. Kemudian dilakukan penghitungan jumlah mikroba (CFU/mL) dengan metode pengujian Angka Lempeng Total (ALT).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji Stabilitas Penyimpanan Terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Permen Probiotik Sirsak Gunung (*Annona Montana* Macf.) yang telah diinkubasi selama 48 jam dengan suhu  $37^{\circ}$  pada hari ke 3,5, dan 7 dapat dilihat pada tabel 1

**Tabel 1. Hasil Uji Angka Lempeng Total Stabilitas Permen Probiotik**

Permen probiotik sirsak gunung ( <i>Annona Montana Macf.</i> )	Jumlah koloni terhitung	ALT (Angka Lempeng Total) cfu/mL
Hari ke 3	58 56	$5,7 \times 10^3$
Hari ke 5	388 144	$4,8 \times 10^3$
Hari ke 7	276 198	$2,6 \times 10^3$

### Pembahasan

Pengujian Stabilitas Penyimpanan Terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Permen Probiotik Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.) dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri asam laktat yang dapat bertahan dalam saluran cerna agar dapat dikonsumsi dalam waktu yang cukup lama dan saat dikonsumsi memiliki efek kesehatan.

Stabilitas penyimpanan permen probiotik diamati pada hari ke 3, 5 dan 7 dapat dilihat pada gambar 1



**Gambar 1. Stabilitas penyimpanan permen probiotik pada hari ke 3, 5 7**

Pada gambar diatas dapat dilihat dimana pada hari ke tiga penyimpanan jumlah koloni sebanyak  $5,7 \times 10^3$  cfu/mL. kemudian menurun pada hari ke 5 dimana jumlah koloni sebanyak  $4,8 \times 10^3$  cfu/mL, dan pada hari ke 7 menjadi  $2,6 \times 10^3$  dari hasil diatas dapat dilihat dari trend terjadi penurunan jumlah koloni bakteri asam laktat dengan semakin lama penyimpanan. Penurunan jumlah koloni dapat disebabkan oleh faktor yaitu kondisi fisiologis, suhu penyimpanan, nutrisi yang kurang memenuhi juga kelembaban atau aktivitas air.

Kondisi fisiologis merupakan kondisi dari bakteri, dimana saat pembuatan permen probiotik terdapat penambahan hasil minuman probiotik ke dalam proses setelah terbentuk kristalisasi. Menurut Quinto (2014) kondisi fisiologis bakteri ketika dipreparasi dan terkandung dalam produk itu sendiri merupakan faktor penting dalam ketahanan suatu probiotik. Sehingga penambahan hasil minuman probiotik ke dalam proses pembuatan permen merupakan preparasi yang kurang tepat karena mempengaruhi kondisi fisiologi dari bakteri asam laktat.

Yang kedua suhu penyimpanan dimana suhu optimum probiotik adalah  $37-45^{\circ}\text{C}$ . selama proses pembuatan penggunaan suhu diatas  $45^{\circ}\text{C}$  akan merusak daya tahan hidup dari bakteri. Penggunaan suhu yang lebih tinggi memungkinkan pemaparan pada waktu yang lebih pendek sehingga dapat menurunkan jumlah bakteri yang hidup. Bakteri asam laktat merupakan fastidious organisms, tumbuh dengan baik pada medium kompleks (Moretro *et al.*, 2000). Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri asam laktat sangat dipengaruhi oleh komposisi media pertumbuhan dan faktor lingkungannya. Asam laktat diproduksi sebagai metabolit primer (Moretro *et al.*, 2000), sehingga termasuk *growth-associated product*. Maka produksinya mempunyai hubungan linier dengan laju pertumbuhan

Proses metabolisme sel didukung oleh penyediaan nutrisi yang berasal dari luar sel. proses yang terkait dengan *uptake nutrien*

dengan suhu adalah bahwa molekul-molekul yang berukuran besar harus dihidrolisis terlebih diluar sel. Proses ini dikatalisis oleh enzim ekstraseluler yang aktivitasnya juga dipengaruhi oleh suhu. Selain itu ada banyak protein membrane dan protein dinding sel yang berperan dalam proses *uptake nutrient* yang secara fungsional juga dipengaruhi oleh suhu terutama terkait dengan stabilitas strukturalnya. Selain itu menurut Nedwell (1999) pengaruh suhu terhadap *uptake nutrient* terjadi melalui mekanisme perubahan afinitas mikroorganisme terhadap nutrisi. Perubahan ini terjadi karena pengaruh perubahan suhu terhadap karakteristik lipid penyusun membrane sel, terutama fluiditas membrane, dan sistem energetika transpor aktif yang juga terdapat pada sistem membran sehingga akan menyebabkan gangguan pada transpor aktif dan berakibat terjadinya kematian sel.

Kelembaban dan aktivitas air yang tinggi akan menurunkan daya tahan probiotik, adanya interaksi antara aktivitas air dengan suhu mempengaruhi kehidupan probiotik. Sediaan probiotik dapat memiliki masa simpan yang lama pada bentuk kering ketika kelembabannya rendah dibawah 0,2- 0,3. Pada umumnya aktivitas air yang rendah akan memberikan ketahanan hidup yang baik. Ketahanan probiotik dalam makanan dapat dipertahankan dengan aktivitas air sekitar 0,4-0,7. Menurut Nagarjun (2015) solusi yang dapat diberikan untuk mempertahankan dan meningkatkan ketahanan bakteri terhadap aktivitas air yaitu dengan mikroenkapsulasi. Secara keseluruhan, produk yang dihasilkan belum memenuhi syarat produk yang telah ditetapkan. Syarat produk dikatakan probiotik adalah bahwa produk tersebut mengandung bakteri probiotik yang masih hidup. Jumlah bakteri yang masih hidup sampai di saluran pencernaan lebih dari  $10^6$  cfu/g atau  $10^6$  cfu/mL (Rizal *et al.*, 2016).

## PENUTUP

### Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa total bakteri asam laktat pada permen probiotik sirsak gunung (*Annona montana*) pada hari ke 3 adalah  $5,7 \times 10^3$  cfu/mL pada hari ke 5 sebanyak  $4,8 \times 10^3$  cfu/mL, dan pada hari ke 7 sebanyak  $2,6 \times 10^3$  cfu/mL.

### DAFTAR PUSTAKA

- [1] Boro, I. L., Buckle., & Fidyasari, A. (2017). Mutu Fisik Dan Mikrobiologi Minuman Probiotik Sari Buah Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf) Dengan Penambahan *Lactobacillus casei* (Doctoral dissertation, Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang).
- [2] Fidyasari, A., Hafiz, M., Fitria, N., & Rohmah, U. (2019). Khasiat Sari Buah Sirsak Gunung Dan Minuman Probiotik Buah Sirsak Gunung (*Annona montana*) Untuk Menurunkan Kadar Asam Urat. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 7(3), 49-55.
- [3] Hanifah, Nur Zaki. 2015. "Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metabol Daun *Annona muricata* L Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)." Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, 46.
- [4] Hariati, S. F. (2019). Pengaruh jenis *Lactobacillus* dan konsentrasi glukosa terhadap karakteristik minuman jus fermentasi laktat campuran katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr), Wortel (*Daucus carota* L.) Dan Nenas Madu (*Ananas comosus* L.).
- [5] Juwita, N. F. R., & Fidyasari, A. (2018). Total Asam Dan Antioksidan Minuman Probiotik Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf) Selama Fermentasi (Doctoral dissertation, AKFAR PIM).
- [6] Maleta, H. S., Indrawati, R., Limantara, L., & Brotosudarmo, T. H. P. (2018). Ragam metode ekstraksi karotenoid dari sumber tumbuhan dalam dekade terakhir (telaah literatur). *Jurnal Rekayasa Kimia & Lingkungan*, 13(1), 40-50.
- [7] Moretro, T., I.M. Aasen, I. Storro & L. Axelsson, 2000, Production Of Sakacin P by *Lactobacillus sakei* In A Completely Defined Medium. *J. Appl. Microbiol.* 88:536-545
- [8] Nagarjun, P.A. 2015, Parametric Optimization Of Lactic Acid Production And Its Scale Up Using Free And Immobilized Cells Of *Lactobacillus amylovorus* NRRL B- 4542 , *Int. J. Pure Appl. Biosci.* 3 :159-168,
- [9] Nedwell, D.B. 1999. Effect Of Low Temperature On Microbial Growth: Lowered Affinity For Substrates Limits Growth At Low Temperature. *FEMS Microbiol. Ecol.* 30:101-111,
- [10] Pangestu, R. F., Legowo, A. M., Al-Baarri, A. N. M., & Pramono, Y. B. (2017). Aktivitas antioksidan, pH, viskositas, viabilitas bakteri asam laktat (bal) pada yogurt powder daun kopi dengan jumlah karagenan yang berbeda. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(2).
- [11] Quinto, E.J., P. Jiménez, I. Caro, J. Tejero, J. Mateo & T. Girbés, 2014, Probiotic Lactic Acid Bacteria: A Review. *Food Nutr. Sci.* 5:1765-1775
- [12] Rizal, S., Erna, M., Nurainy, F., & Tambunan, A. R. (2016). Karakteristik probiotik minuman fermentasi laktat sari buah nanas dengan variasi jenis bakteri asam laktat. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia (Indonesian Journal of Applied Chemistry)*, 18(01), 63-71.
- [13] Widiyaningsih, E. N. (2011). Peran probiotik untuk kesehatan. *Jurnal Kesehatan*, 4(1), 14-20.
- [14] Yuliana, N. (2012). Kinetika pertumbuhan bakteri asam laktat isolat T5 yang berasal dari tempoyak. *Jurnal Teknologi & Industri Hasil Pertanian*, 13(2), 108-116.

HALAMAN INI SENGAJA DIKOSONGKAN