

FORMULASI YOGHURT PROBIOTIK KARBONASI DAN POTENSI SIFAT FUNGSIONALNYA

Functional properties of carbonated probiotic yogurt

Burton, E. ¹, I.I. Arief², E. Taufik²

¹Sekolah Pascasarjana, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Institut Pertanian Bogor¹

²Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor,
email : boerton91@yahoo.co.id

ABSTRACT

It is well known that yoghurt is one of the fermented milk products. The addition of carbondioxide into yoghurt is an inovation for development of new product. The purpose of this researchs was to formulate and produce carbonated probiotic yoghurt also evaluate its functional properties. This research was divided into three step including formulation, evaluation of carbonated probiotic yoghurt during 18 days of refrigerated storage, and evaluation two best formulation for viability of BAL on gastric's pH and the bile salt's. The results showed that the addition of carbondioxide had no affect significantly on pH, total acid and the viabilities of lactic acid bacteria (LAB) during storage. On hedonic test, it affected significantly on smell, viscosity, and general appearance. Based on the results of organoleptic tests and performance during storage, formulas I and II were selected as two best formulas. On testing of two best formulas on resistance to acid condition, LAB from both formula's were able to survive in the population about $8 \log_{10}$ cfu ml⁻¹. On testing resistance to bile salt, LAB from both formula's were decreasing up to $5.5 \log_{10}$ cfu ml⁻¹. The loss occurred, the two formulas can still be considered as probiotic fermented milk.

Key words: yoghurt, probiotic, carbonated.

PENDAHULUAN

Pangan fungsional merupakan pangan yang secara alamiah mengandung satu atau lebih senyawa yang mempunyai fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan (Badan POM 2005). Yoghurt merupakan salah satu pangan fungsional yang sudah populer di kalangan masyarakat. Hal tersebut sudah dibuktikan secara ilmiah bahwa yoghurt mengandung nutrisi yang baik dan memberikan dampak positif terhadap kesehatan manusia. Konsumsi yoghurt secara teratur dapat menyeimbangkan mikroflora usus. Bakteri yang merugikan dapat ditekan jumlahnya, dan sebaiknya usus akan didominasi oleh bakteri yang menguntungkan (Silvia 2002).

Pengembangan produk yoghurt dengan penambahan bahan-bahan dapat meningkatkan nilai fungsionalnya. Salah satunya dengan penambahan probiotik yang akan menambahkan efek kesehatan dalam saluran pencernaan. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang ketika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup akan memberi manfaat kesehatan bagi penggunaannya. Yoghurt probiotik memiliki beberapa keunggulan seperti mampu menurunkan tekanan darah, dapat meningkatkan kekebalan, dan menurunkan kolesterol tubuh (Silalahi 2006).

Industri minuman selalu berkembang dari masa ke masa. Banyaknya jenis minuman di pasaran membuat konsumen memiliki banyak pilihan. Minuman *soft drink* seperti minuman berkarbonasi lebih banyak dikenal masyarakat pada umumnya dan cukup mendominasi pasar minuman yang ada. Minuman karbonasi memberikan efek segar setelah mengkonsumsinya karena terbentuknya

asam karbonat yang memberikan efek *sparkle*, sehingga memberikan sensasi gigitan (*bite*) saat dikonsumsi. Dalam rangka pengembangan produk, inovasi formulasi pembuatan yoghurt probiotik karbonasi dan evaluasi terhadap sifat fungsionalnya menjadi penting untuk dikaji. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula optimum yoghurt probiotik karbonasi, menguji karakteristik fungsional berdasarkan ketahanannya terhadap pH lambung dan garam empedu, serta mengkaji daya terimanya secara sensori.

MATERI DAN METODE

Pembuatan Yoghurt Probiotik (Tamime dan Robinson 1999)

Susu skim dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 30 menit dalam panci *double wall*. Susu didinginkan dalam wadah hingga suhu 37°C dan diinokulasi starter yoghurt probiotik komersial bubuk (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*) (Yo-MIX™) kedalam susu sebanyak 0.02 g/l susu. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 18 jam. Peubah mutu yoghurt yang diukur adalah pH, total asam tertitrasi dan total bakteri asam laktat (BAL).

Formulasi Pembuatan dan Penyimpanan Yoghurt Probiotik Karbonasi

Komponen yang digunakan pada formulasi ini adalah yoghurt (60% - 80%), air (20% - 40%), dan gas CO₂ (8 g - 16 g). Rancangan formulasi yoghurt karbonasi dapat

dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Rancangan formulasi yoghurt probiotik karbonasi

Formula	Proporsi Formula (per 800ml)		
	Yoghurt	Air	CO ₂
1	640 ml (80%)	160 ml (20%)	8 g
2	640 ml (80%)	160 ml (20%)	16 g
3	480 ml (60%)	320 ml (40%)	8 g
4	480 ml (60%)	320 ml (40%)	16 g

Proses diawali dengan pencampuran yoghurt dan air yang dihomogenisasi pada suhu 4°C. Formulasi yoghurt dimasukkan ke dalam tabung karbonator dalam keadaan dingin dan tertutup. CO₂ diinjeksikan ke dalam tabung karbonator dan didistribusikan ke dalam botol. Yoghurt kemudian disimpan selama 18 hari dan dilakukan penghitungan jumlah BAL setiap 3 hari. Selama penyimpanan, yoghurt dikemas dalam botol khusus untuk minuman karbonasi sebanyak 130 ml dan disimpan dalam suhu 4°C. Respon mutu yoghurt probiotik karbonasi yang diamati adalah pH, viskositas, total asam tertitrisasi dan total BAL. Berdasarkan nilai peubah-peubah yang diamati, kemudian dipilih dua formulasi terbaik untuk uji karakteristik fungsionalnya.

Analisis Sensori Yoghurt Probiotik Karbonasi

Yoghurt probiotik karbonasi selanjutnya diuji hedonik (tingkat kesukaan) terhadap atribut aroma, rasa, kekentalan, keasaman, warna, dan penampilan umum dengan jumlah panelis 30 orang tidak terlatih. Skala skor kesukaan 1-5. Skor 5 = sangat suka, 4 = suka, 3 = netral, 2 = tidak suka, 1 = sangat tidak suka.

Karakteristik Fungsional Yoghurt Probiotik Karbonasi Formula Terpilih

Dari keempat formula yoghurt, hanya dipilih dua formula terbaik yang akan diuji lanjut untuk karakteristik fungsionalnya. Penilaian yang terpilih dilihat dari hasil uji organoleptik dan viabilitas BAL tertinggi setelah proses penyimpanan. Karakteristik fungsional yang diuji yaitu pengukuran ketahanan terhadap pH lambung dan garam empedu (Lin *et al.* 2006). Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali ulangan dan setiap ulangan diuji secara duplo.

Pengujian ketahanan terhadap pH lambung menggunakan 10% yoghurt yang dimasukkan ke dalam PBS (*phosphate buffer saline*) dan diatur keasamannya menggunakan HCl sampai mencapai pH 2. Sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 jam, lalu dilakukan pengenceran pada media BPW (10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵) dan pemupukan untuk penentuan jumlah populasi dengan metode *pour plate*, selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Setelah 48 jam dilakukan perhitungan koloni yang tumbuh.

Uji ketahanan terhadap garam empedu dengan menyesuaikan kadar garam empedu pada saluran pencernaan yaitu dengan menggunakan *bile salt* sebanyak 0.3% *oxgall* b/v dalam media PBS basal dengan pH 7.2 yang telah disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Inokulasi yoghurt pada media PBS lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan

perhitungan koloni yang mampu bertahan pada garam empedu. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali ulangan dengan setiap ulangan duplo.

Rancangan dan Analisis Data (Steel dan Torrie 1997)

Rancangan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan model rancangan sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + P_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

- Y_{ij} : Variabel respon akibat perlakuan formulasi yoghurt ke-i (1, 2, 3, dan 4) dan ulangan ke-j (1, 2 dan 3)
 μ : Nilai rata-rata respon yoghurt
 P_i : Pengaruh perlakuan formulasi yoghurt, air dan CO₂ terhadap respon yoghurt karbonasi
 ε_{ij} : Pengaruh galat percobaan perlakuan formulasi yoghurt, air dan CO₂ pada ulangan ke-j (1, 2 dan 3)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Mikrobiologi dan Kimia Yoghurt Probiotik

Menurut Salminen dan Wright (1998), syarat minimal kultur starter susu fermentasi adalah 8 log₁₀ cfu ml⁻¹. Kultur starter yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan kultur starter komersial (Yo-MIX™) dengan jumlah BAL sebanyak 10.45 log₁₀ cfu ml⁻¹. Yoghurt probiotik yang dibuat dari starter tersebut, digunakan pada pengujian jumlah BAL, nilai pH, dan TAT untuk mengetahui kualitas hasilnya (Tabel 2).

Tabel 2 Jumlah bakteri asam laktat, pH dan total asam tertitrisasi yoghurt dan minuman yoghurt

Sampel	Jumlah		
	BAL (log ₁₀ cfu ml ⁻¹)	pH	TAT (%)
Kultur Starter	10.45		
Yoghurt	8.66 ± 0.25	3.86 ± 0.01	1.34 ± 0.03
Yoghurt + Air 20%	8.37 ± 0.17	3.85 ± 0.01	1.25 ± 0.01
Yoghurt + Air 40%	8.25 ± 0.14	3.88 ± 0.01	1.22 ± 0.01

Keterangan: BAL = Bakteri Asam Laktat; TAT = Total Asam Tertitrisasi

Viabilitas bakteri asam laktat pada yoghurt semakin menurun seiring bertambahnya air yang ditambahkan. Dapat dilihat pada Tabel 2, konsentrasi yoghurt memiliki jumlah BAL sebanyak 8.66 log cfu ml⁻¹. Formula I dan II yoghurt ditambahkan air sebanyak 20% sehingga jumlah BAL berkurang menjadi 8.37 log cfu ml⁻¹. Formula III dan IV yoghurt ditambahkan air sebanyak 40% sehingga jumlah BAL berkurang menjadi 8.25 log cfu ml⁻¹. Penambahan air hingga 40% masih dapat mempertahankan jumlah bakteri asam laktat hingga 8 log cfu ml⁻¹.

Bakteri asam laktat pada yoghurt akan memproduksi asam laktat selama proses fermentasi berlangsung. Asam laktat merupakan hasil utama metabolisme bakteri asam laktat dengan mengubah laktosa menjadi asam laktat dan akan memberikan rasa asam pada yoghurt. Asam laktat menyebabkan menurunnya nilai pH, nilai tersebut ditentukan karena adanya ion H^+ sehingga pH semakin rendah. Proses pengenceran yoghurt dengan penambahan 20% dan 40% air yang memiliki pH netral (pH 7) tidak berpengaruh terhadap nilai pH. Menurut Susilorini dan Sawitri (2009) nilai pH yoghurt berkisar 3.8 – 4.6, dengan demikian pH yoghurt yang dihasilkan masih sesuai standar.

Yoghurt yang ditambahkan air mengalami penurunan TAT, dari 1.34 menjadi 1.22 – 1.25. Penurunan tersebut terjadi karena konsentrasi hidrogen total dalam produk semakin rendah karena penambahan air. Namun demikian nilai TAT pada yoghurt probiotik masih memenuhi nilai standar SNI yoghurt (Badan Standarisasi Nasional 2009) yaitu 0.5% - 2%. Tingginya nilai TAT disebabkan persentase asam terdisosiasi yang dihasilkan dari aktivitas kultur stater. Kultur starter yoghurt probiotik merupakan golongan bakteri homofermentatif yang menghasilkan asam laktat lebih dari 85% sebagai komponen utamanya (Surono 2004).

Karakteristik Mikrobiologi dan Kimia Yoghurt Probiotik Karbonasi

Keempat formula akan dilakukan pengujian jumlah BAL, nilai pH dan nilai TAT. Hasil uji karakteristik mikrobiologi dan kimia pada formula yoghurt karbonasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Jumlah bakteri asam laktat, pH dan total asam tertitiasi minuman yoghurt berkarbonasi

Formula	Jumlah BAL (log ₁₀ cfu ml ⁻¹)	pH	TAT (%)
I	8.23 ± 0.09	3.86 ± 0.01	1.26 ± 0.01
II	8.21 ± 0.10	3.89 ± 0.01	1.29 ± 0.01
III	8.12 ± 0.06	3.82 ± 0.01	1.24 ± 0.01
IV	8.08 ± 0.14	3.85 ± 0.01	1.24 ± 0.01

Keterangan: BAL = Bakteri Asam Laktat; TAT = Total Asam Tertitiasi

Penurunan jumlah bakteri asam laktat pada keempat formula terjadi setelah diinjeksikan gas CO_2 . Yoghurt dengan penambahan air sebanyak 20% memiliki jumlah bakteri asam laktat sebanyak 8.37 log cfu ml⁻¹ (Tabel 2) turun menjadi 8.23 log cfu ml⁻¹ pada formula I dan 8.21 log cfu ml⁻¹ pada formula II. Yoghurt dengan penambahan air sebanyak 40% memiliki jumlah bakteri asam laktat sebanyak 8.25 log cfu ml⁻¹ (Tabel 2) turun menjadi 8.12 log cfu ml⁻¹ pada formula III dan 8.08 log cfu ml⁻¹ pada formula IV. Penurunan ini karena CO_2 memiliki sifat bakteriostatik dan bakterisida, sehingga pada umumnya minuman berkarbonasi memiliki umur simpan yang lebih lama karena CO_2 dapat dijadikan sebagai pengawet. Menurut Mitchell (1981) karbon dioksida dapat menghambat pertumbuhan mikroba aerob. Hal itu disebabkan karbon dioksida membuat suasana lebih anaerob, sedangkan bakteri asam laktat pada yoghurt merupakan bakteri anaerob fakultatif

yaitu bakteri yang melakukan fermentasi dalam kondisi anaerob tetapi dapat juga melakukan fermentasi dalam kondisi aerob. Oleh karena itu penambahan CO_2 meskipun menghasilkan penurunan jumlah BAL, tetapi penurunannya tidak nyata.

Pemberian karbon dioksida pada keempat formula tidak mempengaruhi nilai pH dan nilai TAT. Proses karbonasi yaitu melarutnya CO_2 pada komponen air, yang dapat membentuk asam karbonat (H_2CO_3). Asam karbonat yang terbentuk pada keempat formula tidak berpengaruh terhadap nilai pH. Nilai pH pada yoghurt dengan penambahan air 20% adalah 3.85 (Tabel 2) dan nilai pH setelah penambahan gas CO_2 menjadi 3.86 pada formula I dan 3.89 pada formula II. Nilai pH pada yoghurt dengan penambahan air 40% adalah 3.88 (Tabel 2) setelah penambahan gas CO_2 nilai pH menjadi 3.82 pada formula III dan 3.85 pada formula IV. Sama halnya seperti pada nilai pH, pada yoghurt dengan penambahan air 20% memiliki nilai TAT sebesar 1.25% (Tabel 2) setelah penambahan gas CO_2 nilai TAT menjadi 1.26% pada formula I dan 1.29% pada formula II. Yoghurt dengan penambahan air 40% memiliki nilai TAT sebesar 1.22% (Tabel 2), dan setelah penambahan gas nilai TAT menjadi 1.24% pada formula III dan IV. Hal tersebut terjadi dikarenakan nilai TAT adalah jumlah hidrogen total dalam suatu produk yang terdisosiasi, pada penambahan gas CO_2 tidak menambahkan atau mengurangi jumlah hidrogen yang ada.

Uji Organoleptik Yoghurt Probiotik Karbonasi

Uji hedonik atau uji kesukaan penting pada suatu produk baru, sehingga harus diketahui daya terima konsumen terhadap produk akhir yang dihasilkan. Penilaian dilakukan oleh 30 orang panelis. Hasil penilaian dari uji organoleptik ditampilkan pada Tabel 4.

Aroma.

Aroma yoghurt karbonasi menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P > 0.01$) antara formula II dan formula IV dengan formula I dan III (Tabel 4). Panelis lebih menyukai formula II dan formula IV dibanding kedua formula lainnya. Hal ini disebabkan pada formula II dan formula IV memiliki bau khas yoghurt yang lebih tajam karena penambahan 16 gram CO_2 yang mempertajam aroma yoghurt. Menurut Woodrof dan Philips (1981), komponen CO_2 memberikan kesan yang lebih tajam pada produk.

Rasa.

Rasa merupakan parameter yang penting dari suatu produk, karena akan sangat menentukan penerimaan konsumen terhadap suatu produk. Uji hedonik dari keempat formula yoghurt yang diujikan menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata ($P < 0.05$) (Tabel 4). Perbedaan penambahan air dan gas CO_2 tidak berpengaruh terhadap rasa dari yoghurt karbonasi yang dihasilkan. Penilaian rasa pada keempat formula menunjukkan bahwa panelis netral terhadap rasa yoghurt karbonasi. Beberapa faktor yang mempengaruhi penilaian rasa pada produk ini adalah rasa asam dari produk fermentasi dan efek *sparkle* dari penambahan CO_2 .

Tabel 4 Uji Hedonik (tingkat kesukaan) panelis terhadap produk

Parameter	Formulasi			
	I1	II1	III1	IV1
Aroma	3.13 ± 0.90B	4.27 ± 0.69A	3.07 ± 0.98B	4.03 ± 0.76A
Rasa	3.43 ± 0.94	3.30 ± 0.79	3.00 ± 0.74	3.03 ± 0.93
Kekentalan	3.23 ± 0.86B	3.97 ± 0.72A	3.07 ± 0.83B	3.07 ± 0.69B
Keasaman	3.17 ± 0.87B	4.03 ± 0.72A	3.20 ± 0.85B	3.07 ± 0.91B
Warna	3.73 ± 0.69	3.70 ± 0.53	3.70 ± 0.53	3.57 ± 0.63
Penampilan Umum	3.37 ± 0.81B	4.20 ± 0.61A	3.33 ± 0.84B	3.27 ± 0.87B

1Superskrip huruf besar yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0.01$)

Kekentalan.

Kekentalan atau viskositas merupakan salah satu sifat fisik yang terdapat pada semua produk jenis cairan, seperti yoghurt. Viskositas yoghurt karbonasi memiliki perbedaan yang sangat nyata ($P > 0.01$) antara formula II dengan formula I, III, dan IV. Dapat disimpulkan bahwa panelis lebih menyukai yoghurt dengan penambahan air 20% dan 16 g gas CO_2 . Pembentukan kekentalan yoghurt melalui proses fermentasi oleh bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat sehingga nilai pH pada yoghurt menurun. Kondisi asam menyebabkan berpisahannya fraksi β -, κ -, $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - kasein pada misel sehingga terjadi koagulasi pada kasein misel yang disebabkan oleh kalsium (Tamime dan Robinson 1999).

Keasaman.

Keasaman merupakan salah satu kriteria penilaian pada uji hedonik penelitian ini. Keasaman keempat formula menunjukkan ada perbedaan yang sangat nyata ($P > 0.01$) antara formula II dengan formula I, III, dan IV (Tabel 4). Nilai pH yang dihasilkan pada keempat formula cukup rendah ($pH \pm 3.80$), sedangkan nilai pH yang dibutuhkan agar keasaman produk dapat diterima dan disukai oleh masyarakat adalah sebesar 4.6 dengan total asm tertirasi 0.7% (Usmiati 1998)

Warna.

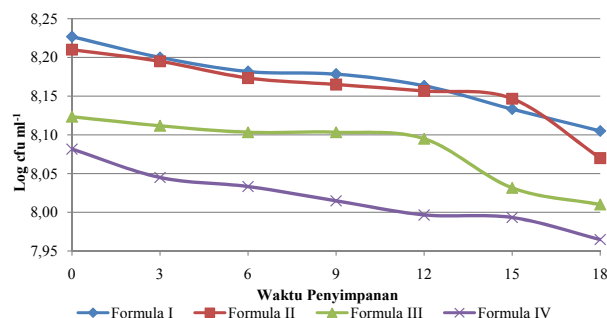
Warna yoghurt karbonasi menunjukkan tidak berbeda nyata ($P < 0.05$) untuk semua formulasi. Hal ini dikarenakan produk yang diuji tidak ditambahkan pewarna, sehingga warna yang dihasilkan merupakan warna putih susu. Indikator warna pada suatu produk sangat penting karena konsumen saat memilih suatu produk, konsumen akan melihat suatu produk secara visual produk tersebut sebelum memutuskan untuk membeli. Pemilihan warna pada suatu produk harus *eye catching* dan berhubungan dengan jenis produknya.

Penampilan Umum.

Penampilan umum merupakan kesan pertama kali terhadap suatu produk yang konsumen lihat. Pentingnya memperhatikan penampilan umum suatu produk karena akan berpengaruh terhadap tingkat penerimaan dari konsumen terhadap suatu produk. Penampilan umum yoghurt karbonasi menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P > 0.01$) antara formula II dengan formula I, III, dan IV (Tabel 4). Penampilan umum suatu produk ditentukan oleh beberapa hal, seperti kekentalan dan warna dari suatu produk.

Viabilitas BAL pada Yoghurt Probiotik Karbonasi Selama Penyimpanan

Penyimpanan merupakan salah satu tahap penting yang menentukan efektivitas bakteri asam laktat pada produk fermentasi dari setelah dibuat hingga ke tangan konsumen. Setelah yoghurt karbonasi dibuat, harus segera disimpan pada suhu rendah dengan tujuan menghentikan aktivitas metabolisme bakteri asam laktat memfermentasi laktosa, menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri kontaminan, serta meminimalisasi reaksi biokimia yang dapat mengubah karakteristik yoghurt. Suhu penyimpanan yoghurt yang direkomendasikan berkisar $1^\circ C - 10^\circ C$ untuk menjamin kualitasnya (Tamime dan Robinson 1999). Hasil pengujian viabilitas selama penyimpanan diperlihatkan pada Gambar 1.



Gambar 1 Total bakteri asam laktat selama penyimpanan suhu dingin

Berdasarkan hasil yang diperoleh, total BAL pada keempat formula cenderung menurun selama penyimpanan tetapi jumlah bakteri asam laktat masih diatas $7 \log_{10} \text{ cfu ml}^{-1}$ selama 18 hari penyimpanan pada suhu $4^\circ C$. Jumlah bakteri asam laktat keempat formula sudah memenuhi persyaratan probiotik FAO/WHO (2002) yang ditetapkan minimum $6 \log_{10} - 8 \log_{10} \text{ cfu ml}^{-1}$.

Karakteristik Fungsional Formula Yoghurt Karbonasi

Hasil data viabilitas bakteri asam laktat selama penyimpanan dingin pada hari ke-18 jumlah tertinggi terdapat pada formula I dengan jumlah $8.11 \pm 0.27 \log_{10} \text{ cfu ml}^{-1}$ lalu diikuti formula II dengan jumlah $8.07 \pm 0.17 \log_{10} \text{ cfu ml}^{-1}$. Pada uji hedonik menunjukkan bahwa formula terbaik pada formula II. Berdasarkan hasil tersebut maka formula I dan formula II akan dilakukan pengujian terhadap potensi sifat fungsionalnya berupa ketahanan terhadap pH lambung dan garam empedu.

Pengukuran Ketahanan BAL Terhadap pH Lambung.

Bakteri probiotik merupakan bakteri yang masih aktif pada kondisi asam lambung (Salminen *et al.* 2004). Stress pertama yang terjadi pada sel bakteri yang memasuki saluran pencernaan adalah terpapar pada asam lambung. Pada kondisi pH rendah, terjadi penurunan pertumbuhan BAL serta memungkinkan terjadi kerusakan asam dan menurunnya viabilitasnya jika sel bakteri berada pada kondisi pH rendah. Surono (2004) mengatakan bahwa pH lambung dalam keadaan istirahat sangat rendah yaitu sekitar 2, dan waktu yang diperlukan mulai saat bakteri masuk sampai keluar lambung adalah sekitar 90 menit (Berrada *et al.* 1991). Pengujian dilakukan pada pH 2 dengan waktu yang digunakan selama 180 menit. Hal ini disebabkan bakteri untuk mencapai usus halus memerlukan waktu dan selama perjalanan menuju usus halus pH pencernaan masih berada pada kondisi yang asam. Hasil perhitungan populasi BAL terhadap ketahanan pada kondisi pH 2 dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 Populasi BAL pada kondisi pH 2

Kondisi	Formula (log ₁₀ ml-1)	
	I	II
Populasi Awal	8.18 ± 0.08	8.17 ± 0.07
pH 2	8.07 ± 0.26	8.09 ± 0.39

Hasil penelitian menunjukkan bahwa formula terpilih mampu bertahan pada pH lambung dengan total BAL sebesar 8.07 ± 0.26 log₁₀ cfu ml⁻¹ pada formula I dan 8.09 ± 0.39 log₁₀ cfu ml⁻¹ pada formula II. Yoghurt yang digunakan mengandung bakteri probiotik yang mampu bertahan pada pH lambung. Menurut Jacobsen *et al.* (1999) semua bakteri yang berhasil bertahan pada kondisi pH rendah, maka bakteri tersebut dinyatakan bersifat tahan/resisten terhadap asam.

Pengukuran Ketahanan BAL Terhadap Garam Empedu.

Bakteri asam laktat yang dikatakan bakteri probiotik apabila mampu bertahan dan tumbuh pada saluran pencernaan terutama ketika BAL memasuki bagian atas saluran usus yaitu tempat garam empedu disekresikan di dalam usus (Salminen *et al.* 2004). Asam empedu yang terbentuk dalam hati dan disalurkan ke usus melalui usus dua belas jari. Asam empedu mengandung padatan seperti garam empedu, yang terdapat garam Na dan segmen empedu seperti bilirubin glukuronida, sulfa steroid dan senyawa racun lainnya serta mengandung sejumlah lipid seperti fosfolipid dan kolesterol. Semua mikroba yang berhasil hidup setelah ditumbuhkan dalam MRSA yang ditambah 0.3% *ox gall*, dinyatakan bersifat tahan terhadap garam empedu. Hasil perhitungan populasi BAL terhadap ketahanan pada kondisi garam empedu dapat dilihat pada Tabel 6.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan terhadap garam empedu pada formula I terjadi penurunan yang nyata (P>0.05) menurunkan jumlah BAL sampai 5.45 ± 0.78 log₁₀ cfu ml⁻¹ dan sangat nyata (P>0.01) menurunkan jumlah BAL pada formula II hingga mencapai 5.59 ± 0.67 log₁₀ cfu ml⁻¹. Pada penelitian Vinderola (2003) menunjukkan hasil yang sama, yaitu terjadi penurunan populasi BAL pada yoghurt probiotik mencapai 5.1 log₁₀ cfu ml⁻¹ pada

kondisi 0.3% *bile salt*. Jumlah minimal probiotik yang dapat memberikan pengaruh terhadap kesehatan masih kontroversial, tetapi beberapa peneliti menyebutkan pada dosis terapi minimum 5 log₁₀ sel hidup setiap mililiter produk (Shah 2007). Penurunan jumlah koloni mencapai 2.5 log cfu ml⁻¹ hal ini disebabkan konsentrasi garam empedu yang digunakan sebesar 0.3% merupakan konsentrasi yang kritis, nilai yang cukup tinggi untuk melakukan seleksi terhadap isolat yang resisten terhadap garam empedu (Zavaglia *et al.* 1998).

Tabel 6 Populasi BAL pada kondisi Garam Empedu

Kondisi	Formula (log ₁₀ ml-1)	
	I*	II**
Populasi Awal	8.18 ± 0.08a	8.17 ± 0.07A
Garam Empedu	5.45 ± 0.78b	5.59 ± 0.67B

*Huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P>0.05)

**Huruf besar yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata (P>0.01)

Surono (2004) juga menambahkan bahwa lapisan peptidoglikan yang dimiliki oleh bakteri Gram positif juga mempengaruhi ketahanan bakteri terhadap garam empedu. Bakteri Gram negatif yang memiliki dinding sel tipis akan lebih mudah mengalami lisis dan mengakibatkan kematian apabila terkena garam empedu, sedangkan bakteri Gram positif yang memiliki dinding sel lebih tebal dapat mempertahankan hidupnya dan tidak mengalami lisis apabila terkena garam empedu.

KESIMPULAN

Penambahan air hingga 40% dan CO₂ sebanyak 16 g pada yoghurt masih dapat mempertahankan jumlah bakteri asam laktat pada 8 log₁₀ cfu ml⁻¹. Berdasarkan uji organoleptik dan jumlah bakteri asam laktat selama penyimpanan maka terpilih formula I dan II. Bakteri asam laktat pada kedua formula resisten pada kondisi asam, tetapi pada kondisi garam empedu terjadi penurunan jumlah BAL.

DAFTAR PUSTAKA

- BPOM.** 2005. Keputusan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomer: 005.05.1.0421 tentang pembentukan tim mitra bestari pangan fungsional. Badan Pengawas Obat dan Makanan, Jakarta.
- Berrada N, Lemeland JF, Laroche G, Thouvenot P & Piaia M.** 1991. *Bifidobacterium* from fermented milks: survival during gastric transit. *J. Dairy Sci.* 74:409–413.
- BSN.** 2009. Yoghurt. SNI 01-2981-2009. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta
- FAO/WHO.** 2002. *Guidelines for The Evaluation of Probiotics in Food.* Ontario, London
- Jacobsen CN, Nielsen VR, Hayford AE, Moller PL, Michaelsen KF, Paerregaard A, Sandstro B, Tvede M & Jakobsen M.** 1999. Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus*

- spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:4949-4956.
- Lin WH, Hwang CF, Chen LW & Tsen HY.** 2006. Viable counts, characteristic evaluation for commercial lactic acid bacteria products. *J. Food Microbiol.* 23:74-81.
- Mitchell, A. J.** 1981. *Carbonation and Filling*. Di Dalam Houghton, H. W (Ed). *Development in Soft Drink Technology*. Science Publisher, New Jersey
- Nighswonger BD, Brashears MM, Gilliland SE.** 1996. Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk Product during refrigerated storage. *J Dairy Sci.* 79:212-219.
- Rohadi.** 2013. Umur simpan, aktivitas antioksidan dan keamanan minuman madu galohgor. skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Salminen S, Wright AV.** 1998. *Lactic Acid Bacteria*. Marcell Dekker Inc., New York
- Salminen S, Wright AV & Ouwehand A.** 2004. *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*. 3rd Edition. Revised and Expanded. Marcell Dekker Inc., New York
- Shah NP.** 2007. Functional cultures and health benefits. *J Dairy Sci.* 17: 1262-1277
- Silalahi J.** 2006. *Makanan Fungsional*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Silvia.** 2002. *Pembuatan Yogurt Kedelai (Soygurt) dengan Menggunakan Kultur Campuran Bifidobacterium Bifidum dan Streptococcus Thermophilus*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Steel RGD, Torrie JH.** 1995. *Prinsip dan Prosedur Statistik*. Edisi ke-2. Terjemahan B. Sumantri. PT. Gramedia, Jakarta
- Surono IS.** 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Tri Cipta Karya, Jakarta
- Susilorini TE, Sawitri ME.** 2009. *Produk Olahan Susu*. Penebar Swadaya, Bogor
- Tamime AY, Robinson RK.** 1999. *Yogurt: Science and Technology*. Ed ke-2. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge
- Usmiati S.** 1998. Pengaruh penggunaan starter kombinasi berbagai jenis bakteri dan khamir terhadap sifat fisikokimia dan sensori kefi. Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Woodrof JG, Phillips GF.** 1981. *Beverages: Carbonated and non-carbonated*. The Avi Publishing Co. Inc., Connecticut
- Zavaglia AG, Kociubinski G, Perez P, Antoni GD.** 1998. Isolation and characterization of *Bifidobacterium* strains for probiotic formulation. *J Food Protect.* 7: 865-873