

## KARAKTERISTIK DADIH PROBIOTIK MENGGUNAKAN KOMBINASI *LACTOBACILLUS CASEI*, *LACTOBACILLUS PLANTARUM*, DAN *BIFIDOBACTERIUM LONGUM* SELAMA PENYIMPANAN

(Characteristics of Probiotic Dadih using *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, and *Bifidobacterium longum* During Storage)

Sri Usmiati<sup>1\*</sup> dan Juniawati<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Jl. Tentara Pelajar No. 12 Kampus Penelitian Cimanggu-Bogor

\* Alamat korespondensi: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Jl. Tentara Pelajar No. 12 Kampus Penelitian Cimanggu-Bogor.

### ABSTRACT

*Some test results hedonic by ordinary people who consume the dadih in West Sumatra in 2009 on dadih made from cow's milk using *Lactobacillus casei* culture couldn't be accepted because it was still too acidic than dadih from buffalo milk. One solution to reduce the sour taste is to combine the bacterial culture *L. casei* with other lactic acid bacteria that produce flavor relatively low acidity. The study aimed to determine the characteristics of probiotic dadih using a combination starter *L. casei*, *L. plantarum* and *B. longum* during storage at room temperature (ambient) and cold temperature. The study was designed using randomized block design with 6x3 factorial patterns of three groups as replication. Treatment A (combination of probiotic bacteria) that *L. casei* (A1), *B. longum* (A2), *L. plantarum* (A3), *L. casei*: *L. plantarum* 1:5 (A4), *L. casei*: *B. longum* 1:5 (A5) and *L. casei*: *L. plantarum*: *B. longum* 1:4:1 (A6), and factor B (storage conditions), namely: (B1) room temperature (27°C), and (B2) cold temperature (4-10°C). The results showed that viability and the total lactic acid bacteria in all formulas of cow's milk dadih during storage at room temperature and cold temperature of more than 10<sup>6</sup> cfu/ml which could be categorized as a probiotic products. The combination of C1L5 (*L. casei*: *B. longum* 1: 5) has the lowest acidity value and excellence in character color, flavor, and was generally preferred by the panelists. In terms of flavor and texture characteristics of cow's milk dadih with a combination of C1L5 had a level of hedonic as with other formulas.*

**Keywords:** dadih, cows milk, probiotic, storage

### PENDAHULUAN

Dadih adalah golongan susu fermentasi seperti yoghurt dan kefir yang berasal dari Sumatera Barat. Dadih merupakan produk dari susu kerbau yang difermentasikan secara alami dalam wadah bambu pada suhu kamar selama 24-48 jam dengan dengan atau tanpa penutup daun pisang (Sirait, 1993; Sugitha, 1995). Belum adanya standar pembuatan dadih menyebabkan kualitas dadih yang diperoleh berbeda-beda warna, aroma, dan rasa pada masing-masing pengolah. Pengolahan melalui proses fermentasi yang lebih terkendali dengan menggunakan starter bakteri asam laktat tanpa melibatkan bakteri patogen diharapkan dapat meningkatkan kualitas dadih yang dihasilkan.

Komposisi gizi dadih bervariasi yaitu kadar air (82,10%), kadar protein (6,99%), kadar lemak (8,08%), keasaman (130,5<sup>o</sup>D) dan

pH (4,99). Secara umum komposisi dadih mempunyai kandungan lemak dan protein tinggi, dengan kadar protein rata-rata 6,75% (Yudoamijoyo *et al.*, 1983). Namun produk dadih kurang dikenal secara luas di Indonesia karena adanya keterbatasan susu kerbau sebagai bahan baku pembuatan dadih yang mengakibatkan terbatasnya produksi dadih dan mahalnya harga dadih. Untuk itu perlu adanya substitusi bahan baku dadih menggunakan susu sapi yang ketersediaannya retailif cukup berlimpah di beberapa wilayah Indonesia.

Pembuatan dadih dari susu sapi menggunakan starter *L. casei* yang termasuk golongan bakteri homofermentatif yang menghasilkan asam laktat pada proses metabolisme, belum bisa diterima karena rasanya yang masih terlalu asam dibandingkan dadih dari susu kerbau. Oleh karena itu salah satu cara untuk mereduksi rasa asam tersebut adalah dengan mengkombinasikan bakteri *L.*

*casei* dengan bakteri lain yang menghasilkan citarasa keasaman yang relatif lebih rendah, misalnya dari golongan bakteri heterofermentatif seperti *L. plantarum* dan *B. longum*. Kombinasi starter ini selain meningkatkan cita rasanya, diharapkan dapat memberi nilai tambah terhadap dadih sebagai pangan fungsional (*functional food*) probiotik yang berguna bagi kesehatan.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui karakteristik dadih probiotik menggunakan kombinasi starter *L. casei*, *L. plantarum* dan *B. longum* selama penyimpanan pada suhu ruang dan suhu dingin.

## MATERI DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan adalah susu segar (Peternakan Darul Falah Bogor), skim (Kota Jaya®), *Carboxymethyl Cellulose* (CMC), starter *Lactobacillus casei* (hasil isolasi dari dadih susu kerbau Kabupaten Sijunjung, Sumatera Barat), *Lactobacillus plantarum*, dan *Bifidobacterium longum* (koleksi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen). Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis meliputi *de Man Rogosa and Sharpe* (MRS) agar (Pronadisa), MRS Broth (Pronadisa), akuades, bile salt (Oxoid), Sodium Sitrat (Sigma), Ribosa (Sigma), Lithium Klorida (Merck), Sodium Propionat (Sigma), NaOH 0,1 N, NaCl 0,85%, HCl 5M dan indikator Phenoptalen (PP). Jenis kemasan yang digunakan adalah *cup* plastik *Polypropylen* (PP) ukuran 50 ml dan 120 ml.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi panci *stainless steel*, termometer, pH meter (Eutech), lemari es, inkubator (Orbital), *vortex* (Scientific), *autoclave* (Hirayama), *Quebec Colony Counter* (Hellige), *rheometer* (Brookfield), timbangan analitik (Precisa), peralatan untuk pengujian organoleptik, kemasan *cup* plastik jenis *polypropylene* (pp), serta peralatan gelas untuk analisis.

### Metode

Penelitian dilaksanakan dalam dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Tujuan penelitian pendahuluan adalah untuk: (i) mendapatkan waktu awal pertumbuhan eksponensial *L. plantarum*, *L. casei*, dan *B. longum* melalui pembuatan kurva pertumbuhan, (ii) waktu fermentasi dadih, (iii) persentase kultur kerja,

serta (iv) perbandingan inokulum yang akan digunakan dalam penelitian utama. Sebelum penelitian utama dilakukan tahap-tahap kegiatan sebagai berikut :

- (i) **Aktivasi inokulum.** Isolat BAL (*L. casei*, *L. plantarum*, dan *B. longum*) yang telah dibiakkan pada agar miring MRS diambil sebanyak 1 ose dan dimurnikan dengan metode goresan kuadran, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Biakan murni yang diperoleh dari metode kuadran ditumbuhkan pada 5 ml MRSB steril dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pembuatan inokulum aktif dilakukan sebanyak dua kali untuk tiap isolat BAL.
- (ii) **Perbanyak kultur BAL.** Perbanyak kultur dilakukan dengan menginokulasi sebanyak 30% kultur aktif. Sebanyak 3 ml kultur aktif BAL diinokulasikan secara aseptis pada 7 ml media MRSB steril kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam menjadi kultur induk.
- (iii) **Pembuatan kultur kerja BAL pada media susu.** Kultur induk diinokulasikan sebanyak 3% ke dalam MRSB steril menjadi kultur *intermediate*. Setelah diinokulasikan secara aseptis, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian 3% kultur *intermediate* diinokulasi ke dalam media susu steril dan diinkubasi selama waktu masing-masing BAL memulai fase eksponensial (logaritmik) pada suhu 37°C.
- (iv) **Penggunaan persentase kultur kerja.** Penggunaan persentase starter BAL dilakukan dengan membuat dadih sapi yang ditambah masing-masing starter tunggal BAL sebanyak 1% dan 3% ke dalam susu sapi yang telah diupkan 50% (*toning*) serta ditambah 3% susu skim dan 0,1 % CMC.
- (v) **Proses fermentasi.** Fermentasi dilakukan dalam kemasan *cup* plastik sebanyak 50 ml dan difermentasi pada suhu ruang (27-30°C). Pada jam ke-44, 46, dan 48 selama fermentasi (mengacu pada waktu pembuatan dadih tradisional selama 2 hari) dilakukan pengamatan fisik dan uji viskositas. Hal tersebut dilakukan untuk memperoleh persentase starter BAL dan waktu yang tepat untuk memanen dadih (tidak terjadi *wheyng off* atau *over fermentation*). Pengamatan fisik dilakukan terhadap sensori warna, bentuk dan *mouthfeel* dadih. Penentuan waktu fermentasi dadih dilakukan dengan memilih lama fermentasi dadih selama 44 jam, 46 jam, dan 48 jam. Parameter

pemilihan persentase starter dan penentuan waktu pemanenan dadih didasarkan pada viskositas dadih jam ke-44, ke-46, dan ke-48.

- (vi) **Pembuatan kurva pertumbuhan.** Parameter uji total BAL, pH dan TAT diuji dengan menginokulasi 3% kultur *intermediate* BAL ke dalam susu sapi steril. Ketiga parameter diamati mulai jam ke-0 yaitu saat awal kultur induk diinokulasi ke dalam susu sapi steril, selanjutnya disampling tiap jam selama 14 jam. Uji total BAL dilakukan untuk mengetahui pertumbuhan BAL tiap jam selama 14 jam. Pola pertumbuhan BAL dapat diketahui dari kurva pertumbuhan dengan memplotkan waktu fermentasi (jam) terhadap log jumlah BAL. Pembuatan kurva pertumbuhan bertujuan untuk mendapatkan waktu BAL sesaat akan melakukan pertumbuhan eksponensial. Waktu mulai pertumbuhan eksponensial merupakan waktu yang optimal untuk mencampur lebih dari 2 kultur dalam membuat dadih.
- (vii) **Penentuan perbandingan kombinasi starter.** Penentuan perbandingan dilakukan dengan *trial error* dengan perbandingan *B. longum* atau *L. plantarum* lebih tinggi dibanding *L. casei* (dimulai dari perbandingan *L. casei* dengan BAL lainnya pada penelitian Suprihanto, 2009) yang menyatakan bahwa *L. casei* dan *B. longum* dengan perbandingan 1:2 masih mempunyai pH yang rendah dan TAT yang tinggi serta rasa yang masih asam, sehingga untuk mendapatkan rasa produk yang relatif tidak terlalu asam (sesuai minat masyarakat Sumbang atas rasa dadih susu kerbau) perlu ditambah BAL heterofermentatif agar produksi metabolit tidak hanya asam, tetapi juga komponen flavor. Pengamatan dilakukan terhadap pH dan TAT serta preferensi terhadap rasa asam oleh panelis yang sering mengkonsumsi dadih.

### Penelitian Utama

Penelitian utama merupakan aplikasi pembuatan produk menggunakan starter dengan persentase dan perbandingan terpilih pada penelitian pendahuluan. Bahan baku yang digunakan adalah susu sapi segar yang pasteurisasi dan diuapkan 50% dari volume awal, yang ditambah 3% susu skim yang dihomogenkan dengan 0,01% CMC. Starter BAL yang digunakan adalah BAL pada kondisi awal

fase eksponensial hasil (dari pembuatan kurva pertumbuhan yaitu titik awal BAL mengalami pertumbuhan eksponensial). Starter kombinasi BAL untuk mengurangi rasa asam produk digunakan perbandingan yang terpilih dari kegiatan sebelumnya. Dadih sapi difermentasi dalam *cup* PP pada suhu ruang selama waktu hasil penelitian pendahuluan. Produk kemudian diamati pada suhu ruang (27°C) selama 7 hari dan selama 21 hari pada suhu dingin (4°C). Lama penyimpanan ditentukan berdasarkan hasil penelitian Suprihanto (2009).

Pengujian parameter meliputi pH, TAT, viskositas, total BAL, jumlah koloni *L. casei*, *B. longum*, dan *L. plantarum*, serta uji probiotik (ketahanan BAL terhadap pH rendah dan garam empedu). Pengujian pada suhu ruang dilakukan pada hari ke-0, ke-4, dan ke-7, sedangkan pada suhu dingin pada hari ke-0, ke-14, dan ke-21. Uji organoleptik (hedonik) terhadap sensori rasa, aroma, warna, tekstur, dan penerimaan umum dilakukan terhadap 3 sampel dadih. Sebanyak 25 orang panelis semi terlatih melakukan penilaian kesukaan terhadap sampel berdasarkan skala hedonik: (1) tidak suka; (2) agak tidak suka, (3) biasa, (4) agak suka, dan (5) suka.

### Rancangan Percobaan

Perlakuan dalam penelitian utama adalah jenis kombinasi starter (Faktor A) dan lama penyimpanan (Faktor B). Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial 6x3 dengan tiga kali ulangan sebagai kelompok. Perlakuan A yaitu *L. casei* (A1), *B. longum* (A2), *L. plantarum* (A3), *L. casei* : *L. plantarum* 1:5 (A4), *L. casei* : *B. longum* 1:5 (A5) dan *L. casei* : *L. plantarum*:*B. longum* 1:4:1 dengan lama penyimpanan (B) yaitu : (B1) suhu ruang (27°C), (B2) suhu dingin (4-10°C). Data hasil penelitian dianalisis dengan ANOVA-Balanced ANOVA. Adanya perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ ), dilanjutkan dengan uji Duncan dengan tingkat kepercayaan 95% (Steel dan Torrie, 1993).

Model rancangan percobaan yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$Y_{ik} = \mu + R_k + A_i + B_j + AB_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

- $Y_{ik}$  = Peubah respon karena pengaruh perlakuan kombinasi starter (A)  
 $\mu$  = Pengaruh rata-rata

- $R_k$  = Pengaruh kelompok ke-k (K1, K2, K3)
- $A_i$  = Pengaruh jenis kombinasi starter ke-i (A1, A2, A3)
- $B_j$  = Pengaruh jenis lama penyimpanan ke-i (B1, B2, B3)
- $AB_{ij}$  = Pengaruh interaksi taraf ke-i faktor A dan taraf ke-j faktor B
- $\epsilon_{ijk}$  = Galat percobaan perlakuan kombinasi starter ke-i pada dan lama penyimpanan ke-j pada kelompok ke-k

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Penelitian Pendahuluan**

**a. Jumlah populasi starter BAL**

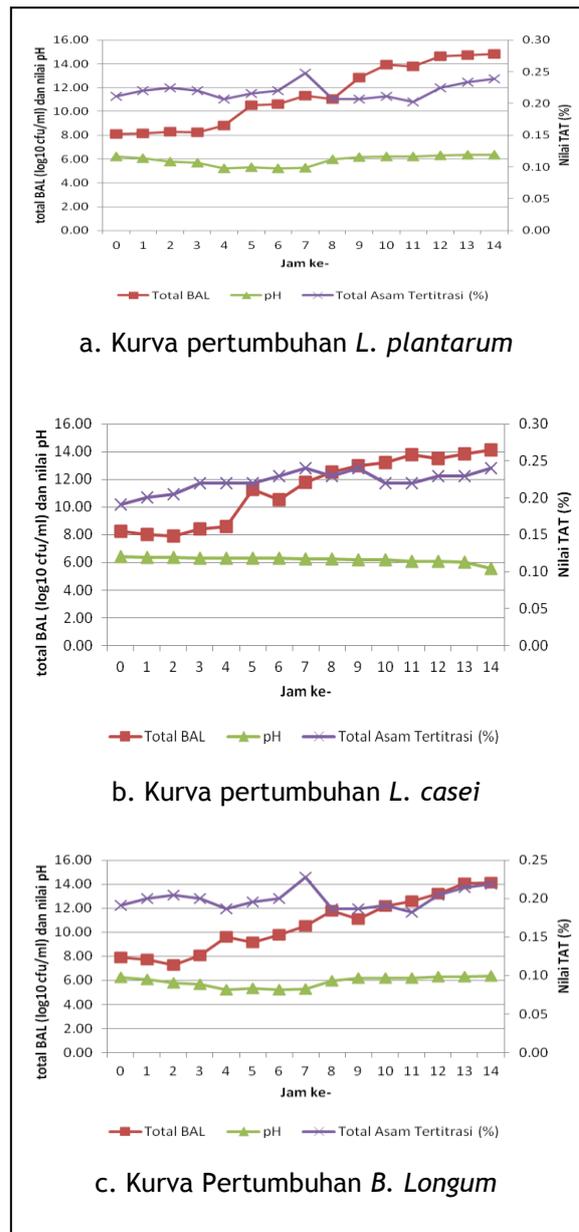
Menurut Overby (1988), jumlah populasi BAL untuk starter dalam pembuatan dadih susu sapi berkisar  $5 \times 10^8 - 1 \times 10^9$  cfu/ml. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah populasi bakteri pada kultur kerja berkisar  $6,1 \times 10^8 - 1,1 \times 10^9$  cfu/ml (*L.casei*  $1,1 \times 10^9$  cfu/ml, *L. plantarum*  $8,2 \times 10^8$  cfu/ml, *B. longum*  $6,1 \times 10^8$  cfu/ml). Jumlah tersebut telah memenuhi syarat dalam pembuatan dadih susu sapi.

**b. Konsentrasi starter dan lama waktu pembuatan dadih**

Penggunaan konsentrasi starter 3% memiliki nilai TAT yang sesuai dengan SNI berkisar 0,5-2%. Nilai viskositas dadih jam ke-44 hingga ke-48 menunjukkan kecenderungan yang terus meningkat, namun setelah lebih dari 48 jam terjadi sineresis karena terbentuknya metabolit sekunder proses fermentasi, sehingga untuk ketiga bakteri starter ditentukan bahwa lama fermentasi adalah 48 jam.

**c. Kurva pertumbuhan bakteri asam laktat**

Berdasarkan kurva pertumbuhan (Gambar 1) diketahui bahwa waktu awal fase pertumbuhan logaritmik/eksponensial, sehingga masing-masing bakteri starter mempunyai fase yang sama pada awal fermentasi. Pada jam ke-0, jumlah populasi masing-masing BAL berkisar  $10^7 - 10^8$  cfu/ml. Tiga sampai empat jam pertama inkubasi, ketiga BAL dalam keadaan adaptasi, setelah itu mulai fase logaritmik. Fase adaptasi *L. plantarum* dan *L. casei* adalah 4 jam, sedangkan *B. longum* selama 3 jam.



Gambar 1. Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat yang Digunakan dalam Pembuatan Dadih

**d. Perbandingan Kombinasi Starter**

*Lactobacillus plantarum* dan *B. longum* merupakan BAL bersifat heterofermentatif yang dapat dikombinasikan dengan *L. casei* rasa asam pada dadih susu sapi dapat dikurangi. Kombinasi yang terpilih untuk pembuatan dadih adalah *L. casei* : *B. longum* (1:5), *L. casei* : *L. plantarum* (1: 5), dan *L. casei* : *L. plantarum* : *B. longum* (1:4:1). Kombinasi BAL ini memiliki tingkat keasaman yang cukup rendah dan secara organoleptik dapat diterima oleh panelis.

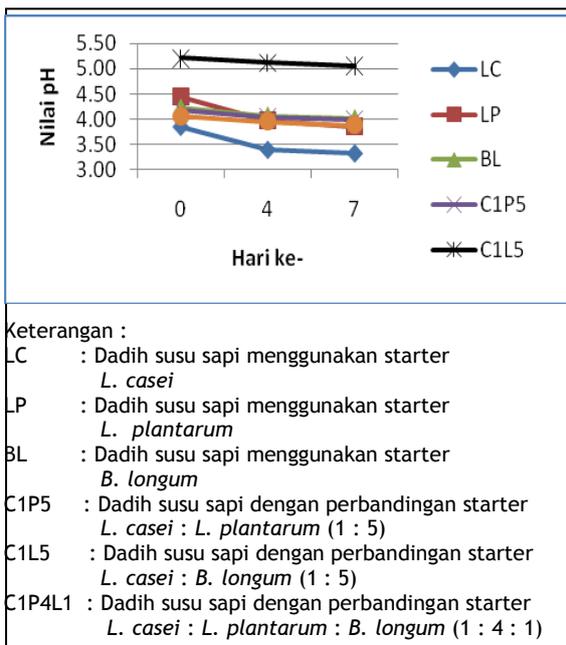
**Penelitian utama**

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, dadih susu sapi dibuat dengan menggunakan starter 3%, lama fermentasi 48 jam pada kondisi suhu ruang (27-30°C).

**1. Nilai pH**

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa formula starter BAL dan lama simpan di suhu ruang nyata ( $p \leq 0,05$ ) mempengaruhi nilai pH, dan kedua faktor saling berinteraksi. Nilai pH dengan formula starter *L. casei* : *B. longum* 1:5 (C1L5) menunjukkan nilai pH tertinggi (5,21).

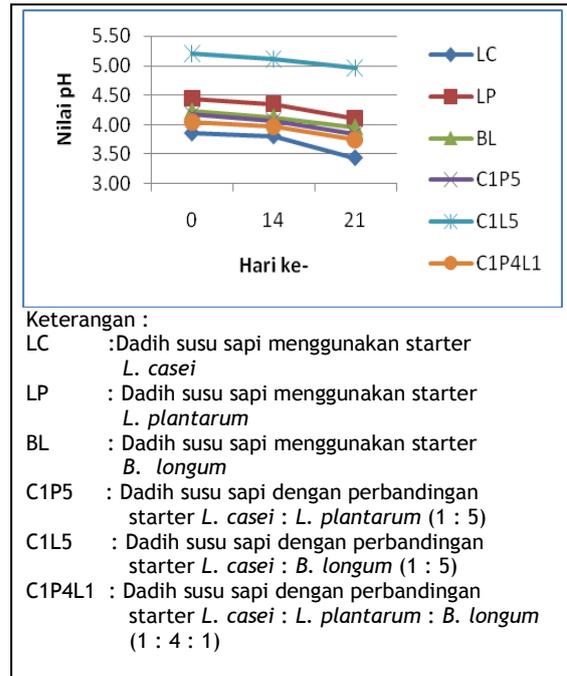
Berdasarkan Gambar 2, nilai pH tertinggi (5,21) dadih susu sapi pada suhu ruang diperoleh pada hari ke-0 dengan formula C1L5, sedangkan yang terendah (3,33) diperoleh pada hari ke-7 dengan formula *L. casei* (LC). Keasaman dadih meningkat seiring lama simpan karena jumlah bakteri perombak laktosa semakin banyak sehingga asam laktat yang terbentuk maksimal dan menyebabkan rasa dadih menjadi asam. Menurut Sayuti (1993), banyaknya bakteri perombak laktosa dan lama fermentasi berengaruh terhadap tingkat keasaman dadih.



Gambar 2. Nilai pH dadih susu sapi pada suhu ruang (± 27°C)

Pada penyimpanan di suhu dingin, sidik ragam menunjukkan bahwa formula starter BAL dan lama simpan nyata ( $P \leq 0,05$ ) mempengaruhi nilai pH, dan kedua faktor

berinteraksi. Dadih dengan formula C1L5 memiliki nilai pH tertinggi (5,21).



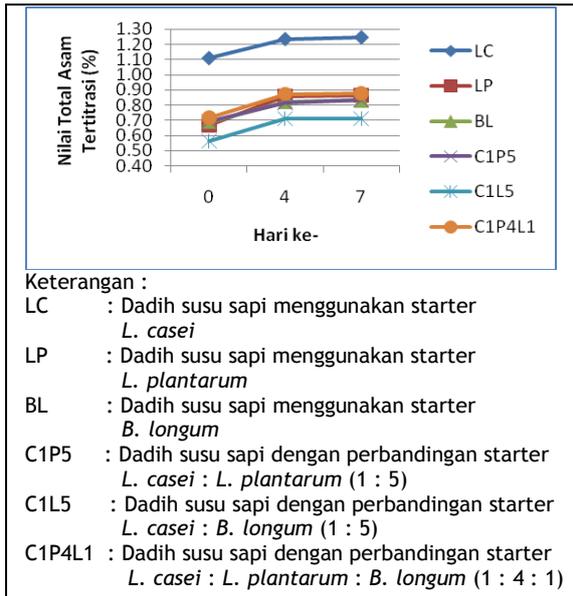
Gambar 3. Nilai pH dadih susu sapi pada suhu dingin (± 4°C)

Berdasarkan Gambar 3, nilai pH tertinggi (5,21) pada penyimpanan dadih susu sapi di suhu dingin diperoleh pada hari ke-0 dengan formula C1L5, sedangkan yang terendah (3,44) diperoleh pada hari ke-21 dengan formula LC. Penurunan nilai pH dadih susu sapi pada penyimpanan di suhu ruang relatif lebih cepat karena suhu lingkungan (27-30°C) masih mendukung aktivitas metabolisme dan pertumbuhan optimal bakteri. Menurut Widodo (2003), aktivitas BAL cenderung lebih cepat pada suhu ruang dibandingkan suhu rendah. Timbulnya asam laktat menyebabkan turunnya pH susu (Hadiwiyoto, 1994).

**2. Total Asam Tertitrasi**

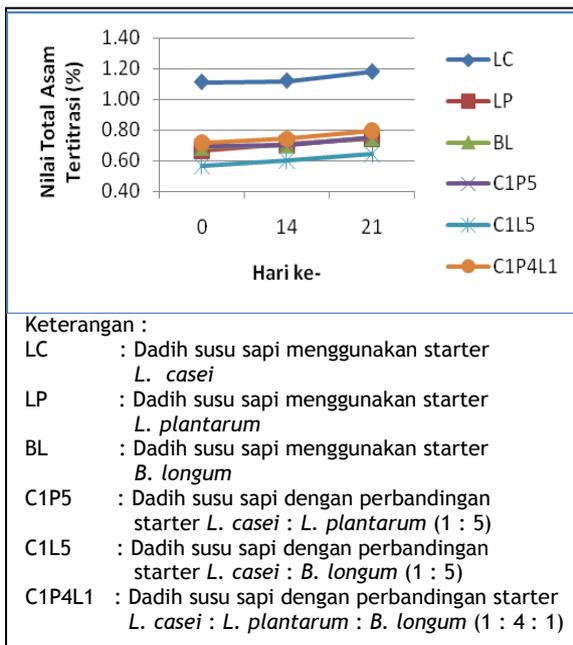
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama simpan dan formula starter BAL pada penyimpanan di suhu ruang nyata ( $P \leq 0,05$ ) mempengaruhi nilai TAT, dan kedua faktor saling berinteraksi. Nilai TAT dengan formula starter LC dan C1L5 berbeda dengan formula lainnya.

Berdasarkan Gambar 4, nilai TAT dadih susu sapi semakin meningkat selama penyimpanan 7 hari. Nilai TAT dadih susu sapi tertinggi (1,25%) pada penyimpanan di suhu ruang diperoleh pada hari ke-7 menggunakan



Gambar 4. Nilai TAT dadih susu sapi pada suhu ruang (± 27°C)

formula LC, sedangkan terendah (0,52%) terdapat pada hari ke-0 dengan formula C1L5. Hasil nilai TAT berbanding terbalik dengan nilai pH. Produksi asam laktat oleh BAL menyebabkan keasaman dadih susu sapi meningkat selama penyimpanan yang ditunjukkan oleh rendahnya nilai pH.



Gambar 5. Nilai TAT dadih susu sapi pada suhu dingin (± 4°C)

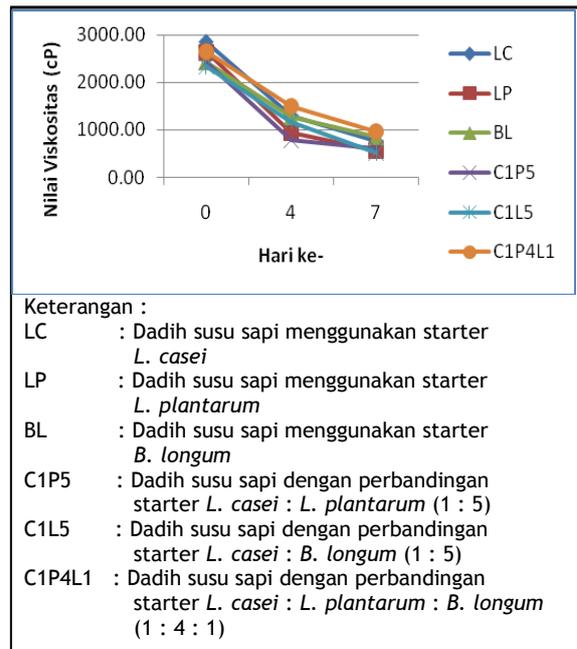
Pada penyimpanan di suhu dingin, sidik ragam menunjukkan bahwa formula starter BAL dan lama simpan nyata ( $P \leq 0,05$ ) mempengaruhi nilai TAT, dan kedua faktor

tidak berinteraksi. Berdasarkan Gambar 5, nilai TAT dadih susu sapi makin meningkat selama penyimpanan. Nilai TAT dadih susu sapi terendah (0,56%) pada penyimpanan di suhu dingin diperoleh pada hari ke-0 dengan formula starter C1L5, sedangkan nilai TAT tertinggi (1,18%) diperoleh pada hari ke-21 dengan formula LC.

Aktivitas BAL tidak dihambat pada suhu ruang sehingga kenaikan produksi asam lebih cepat dibanding pada penyimpanan di suhu dingin. Suhu ruang (27°C-30°C) merupakan suhu yang mendekati optimal untuk aktivitas dan pertumbuhan BAL yang rata-rata mempunyai suhu pertumbuhan optimal pada 37°C (Fardiaz, 1989). Pada suhu ruang aktivitas BAL cenderung lebih cepat dibandingkan pada suhu dingin (Widodo, 1993).

### 3. Viskositas

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa formula starter BAL dan lama simpan di suhu ruang nyata ( $P \leq 0,05$ ) mempengaruhi viskositas, dan kedua faktor saling berinteraksi. Viskositas dadih susu sapi dengan formula starter *L. plantarum* (LP) pada hari ke-0 berbeda dengan formula lainnya.

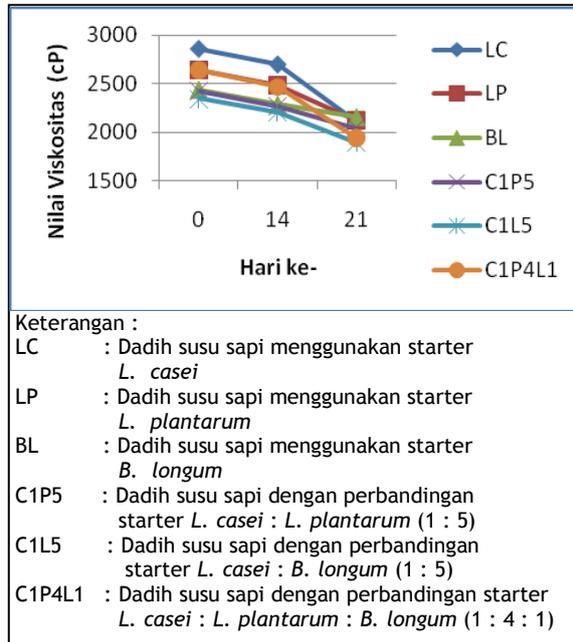


Gambar 6. Nilai Viskositas dadih susu sapi pada suhu ruang (± 27°C)

Berdasarkan Gambar 6, nilai viskositas dadih susu sapi terendah (523 cP) diperoleh pada penyimpanan di suhu ruang hari ke-7 dengan formula C1L5, sedangkan tertinggi

(2855 cP) pada penyimpanan suhu ruang pada hari ke-0 dengan formula LC.

Pada penyimpanan di suhu dingin, hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan dan formula starter BAL berpengaruh nyata ( $P \leq 0,05$ ) terhadap nilai viskositas dadih susu sapi dan kedua faktor tersebut saling berinteraksi. Nilai viskositas dadih susu sapi dengan formula LC pada hari ke-0 adalah tertinggi (2855 cP).



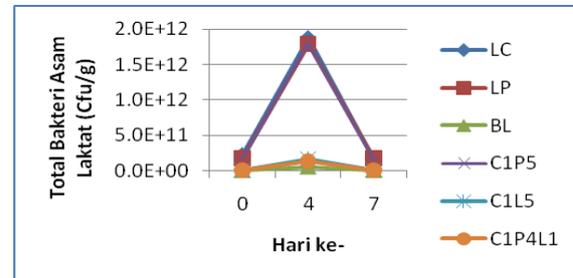
Gambar 7. Nilai Viskositas dadih susu sapi pada suhu dingin ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ )

Berdasarkan Gambar 7, nilai viskositas dadih susu sapi terendah (1894 cP) pada penyimpanan di suhu dingin diperoleh dengan formula C1L5 pada hari ke-21, sedangkan tertinggi (2855 cP) diperoleh dengan formula LC pada hari ke-0. Penurunan viskositas disebabkan oleh lama simpan yang mengakibatkan berkurangnya penggunaan substrat untuk fermentasi, sehingga kemungkinan menyebabkan terbentuknya whey sebagai reaksi lanjut dari metabolit utama menjadi senyawa sekunder (Tamime and Robinson, 1999). Penurunan viskositas produk pada penyimpanan di suhu dingin tidak secepat di suhu ruang. Hal ini kemungkinan disebabkan aktivitas fermentasi oleh mikroba di suhu dingin tidak secepat di suhu ruang sehingga proses lanjut tersebut mungkin berjalan lebih lambat.

#### 4. Total bakteri asam laktat

Total BAL dalam dadih susu sapi selama penyimpanan suhu ruang mempunyai

nilai yang bervariasi (Gambar 8). Total BAL berkisar  $3,2 \times 10^9$  cfu/g sampai  $1,9 \times 10^{12}$  cfu/g. Total BAL dadih susu sapi tertinggi mencapai  $1,9 \times 10^{12}$  cfu/g terdapat pada dadih susu sapi dengan formula LC pada penyimpanan hari ke-7, sedangkan terendah terdapat pada dadih susu sapi dengan formula BL pada penyimpanan hari ke-7 sebesar  $3,2 \times 10^9$  cfu/g.



Keterangan :

LC : Dadih susu sapi menggunakan starter *L. casei*

LP : Dadih susu sapi menggunakan starter *L. plantarum*

BL : Dadih susu sapi menggunakan starter *B. longum*

C1P5 : Dadih susu sapi dengan perbandingan starter *L. casei* : *L. plantarum* (1 : 5)

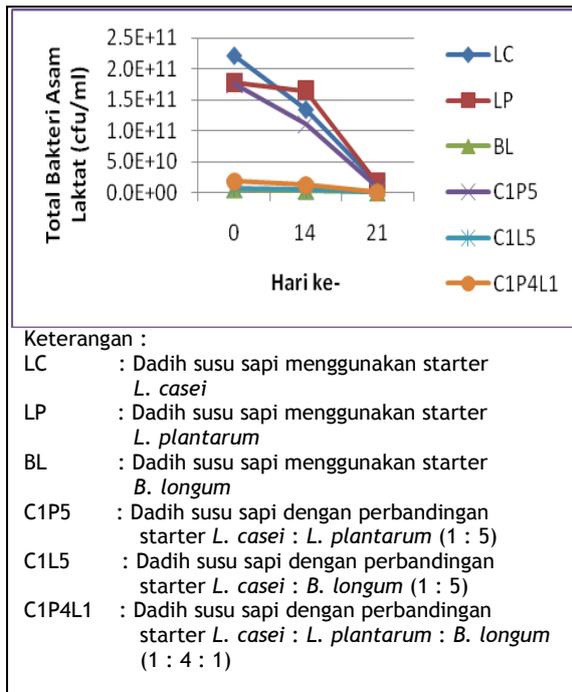
C1L5 : Dadih susu sapi dengan perbandingan starter *L. casei* : *B. longum* (1 : 5)

C1P4L1 : Dadih susu sapi dengan perbandingan starter *L. casei* : *L. plantarum* : *B. longum* (1 : 4 : 1)

Gambar 8. Nilai Total BAL dadih susu sapi pada suhu ruang ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$ )

Berdasarkan Gambar 8, total BAL pada penyimpanan selama 0-4 hari mengalami kenaikan, namun pada hari ke-7 mulai menurun. Tampaknya sel bakteri mengalami lisis sehingga saat ditumbuhkan pada media MRSA jumlah yang dapat dihitung lebih sedikit seiring dengan lama simpan. Menurut Sunarlim dan Usmiati (2006), pada waktu tertentu jumlah substrat dalam bahan baku susu tersedia cukup banyak untuk difermentasi sehingga bakteri aktif memperbanyak diri. Semakin lama jumlah tersebut makin berkurang sehingga bakteri relatif tidak aktif memperbanyak diri dan bakteri sudah melewati fase logaritmiknya.

Pada penyimpanan di suhu dingin, hasil sidik ragam menunjukkan bahwa formula starter BAL nyata ( $P \leq 0,05$ ) mempengaruhi jumlah BAL, dan lama simpan dengan formula starter BAL saling berinteraksi. Total BAL dalam dadih susu sapi dengan starter LC pada hari ke-21 adalah tertinggi ( $1,5 \times 10^{10}$  cfu/g).



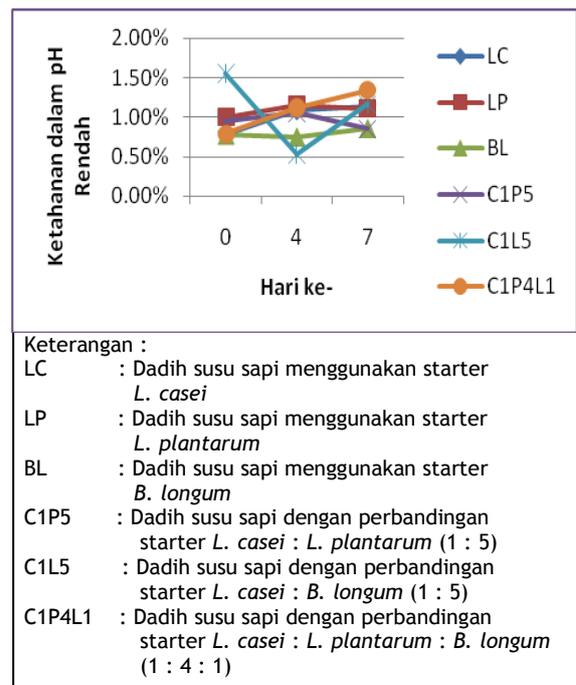
Gambar 9. Nilai Total BAL dadih susu sapi pada suhu dingin ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ )

Berdasarkan Gambar 9, tampak bahwa total BAL dadih susu sapi menurun pada penyimpanan 21 hari. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh aktivitas mikroba terhambat pada kondisi suhu rendah sehingga pertumbuhan BAL menjadi tidak optimal. Menurut Buckle *et al.* (2007), faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba antara lain suplai gizi, suhu, air, dan ketersediaan oksigen. Faktor lain adalah sel bakteri kemungkinan lisis akibat lingkungan yang makin asam seiring dengan lama simpan.

### 5. Ketahanan bakteri asam laktat terhadap pH rendah

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama simpan dan formula starter BAL pada penyimpanan di suhu ruang nyata ( $P \leq 0,05$ ) mempengaruhi ketahanan BAL terhadap pH rendah, dan kedua faktor saling berinteraksi. Formula starter C1L5 pada hari ke-0 menghasilkan ketahanan BAL terhadap pH rendah yang tertinggi (1,56%).

Berdasarkan Gambar 10, ketahanan BAL terhadap pH rendah pada dadih susu sapi penyimpanan di suhu ruang tertinggi (1,56%) diperoleh dengan formula C1L5 pada hari ke-0, sedangkan terendah (0,53%) diperoleh dengan formula C1L5 pada hari ke-4. Total BAL terendah ( $3,9 \times 10^8$  cfu/g) pada dadih yang disimpan di suhu ruang diperoleh dengan star-

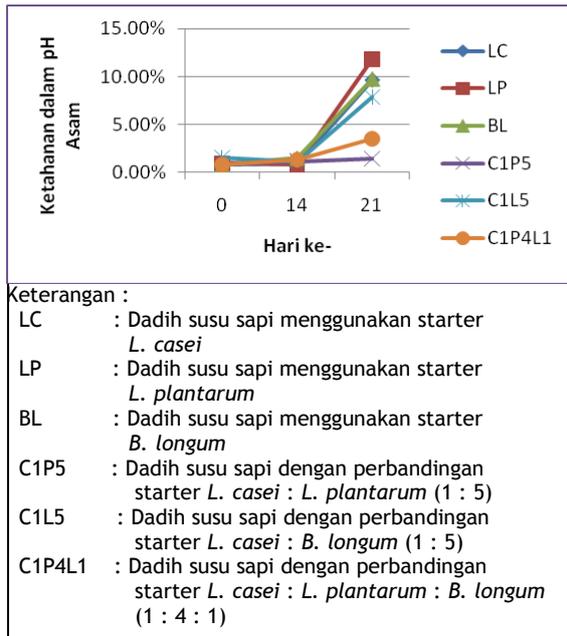


Gambar 10. Nilai ketahanan BAL terhadap pH rendah pada suhu ruang ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$ )

ter C1L5 pada hari ke-0, sedangkan total BAL tertinggi ( $1,6 \times 10^{11}$  cfu/g) diperoleh dengan formula LC pada hari ke-4. Kisaran total BAL setelah ditumbuhkan dalam MRSB pH 3 adalah  $3,1 \times 10^6$  hingga  $1,8 \times 10^9$  cfu/g. Total BAL terendah terdapat pada dadih susu sapi dengan formula starter *B. longum* (BL) pada penyimpanan hari ke-0, sedangkan tertinggi pada dadih susu sapi dengan formula LP pada penyimpanan hari ke-4.

Pada penyimpanan di suhu dingin, analisis ragam menunjukkan bahwa lama simpan dan formula starter BAL nyata ( $P \leq 0,05$ ) mempengaruhi nilai ketahanan BAL terhadap pH rendah, dan kedua faktor saling berinteraksi. Dadih susu sapi menggunakan formula starter LC pada penyimpanan hari ke-21 dan BL pada penyimpanan hari ke-21 mempunyai nilai ketahanan terhadap pH rendah yang berbeda dibanding formula lainnya.

Berdasarkan Gambar 11, ketahanan BAL terhadap pH rendah pada penyimpanan suhu dingin dadih susu sapi yang tertinggi (11,84%) diperoleh dengan formula LP pada penyimpanan hari ke-21, sedangkan yang terendah (0,77%) diperoleh dengan formula BL pada penyimpanan hari ke-0. Total BAL terendah ( $3,9 \times 10^8$  cfu/g) pada dadih susu sapi pada penyimpanan di suhu dingin diperoleh dengan formula C1L5 pada penyimpanan hari ke-0, sedangkan tertinggi ( $1,7 \times 10^{10}$  cfu/g)



Gambar 11. Nilai Ketahanan BAL terhadap pH rendah pada suhu dingin ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ )

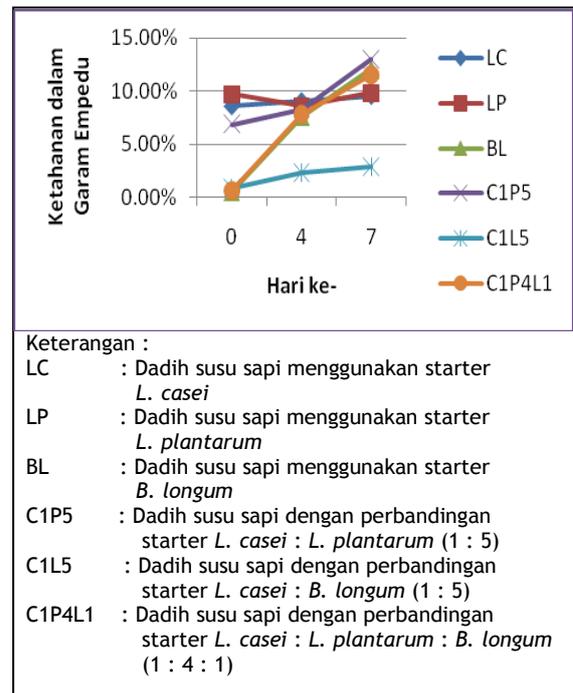
diperoleh dari formula LP pada penyimpanan hari ke-14. Total BAL terendah setelah ditumbuhkan pada MRSB pH 3 didapatkan pada dadih susu sapi dengan formula starter BL pada penyimpanan hari ke-0, sedangkan tertinggi pada dadih susu sapi dengan formula starter LP pada penyimpanan hari ke-21.

Menurut Bouhnick yang dikutip oleh Chaterist *et al.* (1998) jumlah (viabilitas) mikroorganisme setelah melalui saluran pencernaan adalah sekitar  $10^6 - 10^7$  cfu/g, sedangkan jumlah minimal mikroorganisme probiotik dalam bioproduk untuk dapat memberikan manfaat kesehatan adalah minimal  $10^6$  cfu/g produk. Berdasarkan hasil uji ketahanan BAL terhadap pH rendah, maka dadih susu sapi dalam penelitian ini telah memenuhi syarat produk probiotik. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa BAL terutama *Lactobacillus casei* (Hardiningsih, 2006), *L. plantarum* (de Vries *et al.*, 2006), dan *B. longum* (Zavaglia *et al.*, 1998) dapat hidup pada keadaan pH rendah saluran pencernaan.

### 6. Ketahanan bakteri asam laktat terhadap garam empedu

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama simpan dan formula starter BAL pada penyimpanan di suhu ruang nyata ( $P < 0,05$ ) mempengaruhi nilai ketahanan BAL terhadap garam empedu, dan kedua faktor saling berinteraksi. Berdasarkan Gambar 12,

ketahanan BAL terhadap garam empedu dadih susu sapi pada penyimpanan di suhu ruang tertinggi (13,01%) dengan formula C1P5 pada hari ke-0, sedangkan terendah (0,56%) diperoleh dari formula BL hari ke-0.

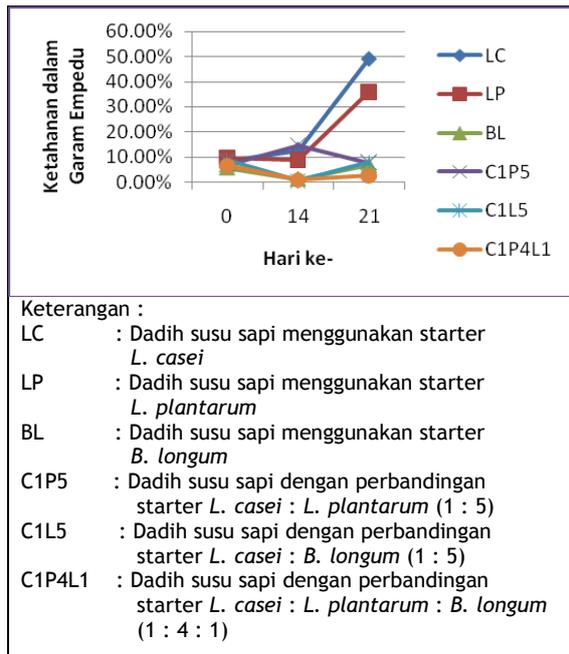


Gambar 12. Nilai ketahanan BAL terhadap garam empedu pada suhu ruang

Total BAL terendah ( $3,2 \times 10^9$  cfu/g) pada dadih yang disimpan pada suhu ruang diperoleh dengan formula starter BL pada penyimpanan hari ke-7, sedangkan tertinggi ( $1,9 \times 10^{12}$  cfu/g) diperoleh dengan formula LC pada penyimpanan hari ke-4. Kisaran total BAL setelah ditumbuhkan pada MRSB ditambah 0,3% garam empedu (*bile salts*) adalah  $3,2 \times 10^7$  sampai  $1,7 \times 10^{11}$  cfu/g.

Pada penyimpanan di suhu dingin, hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama simpan dan formula starter BAL nyata ( $P < 0,05$ ) mempengaruhi nilai ketahanan BAL terhadap garam empedu, dan kedua faktor saling berinteraksi. Dadih susu sapi dengan starter LC pada penyimpanan hari ke-21 memiliki ketahanan terhadap garam empedu tertinggi (49,51%).

Berdasarkan Gambar 13, ketahanan BAL terhadap garam empedu dadih susu sapi pada penyimpanan di suhu dingin tertinggi (49,15%) diperoleh dengan formula starter LC pada hari ke-21, sedangkan terendah (0,45%) diperoleh dari formula BL pada hari ke-14. Total BAL terendah ( $3,1 \times 10^8$  cfu/g) pada dadih



Gambar 13. Nilai Ketahanan BAL terhadap garam empedu pada suhu dingin

yang disimpan pada suhu dingin terdapat pada dadih dengan formula C1L5 pada penyimpanan hari ke-21, sedangkan tertinggi ( $2,2 \times 10^{11}$  cfu/g) diperoleh dengan formula LC pada penyimpanan hari ke-0. Total BAL terendah pada MRSA ditambah 0,3% *bile salts* diperoleh pada dadih dengan formula BL pada penyimpanan hari ke-14, sedangkan tertinggi pada dadih susu sapi dengan formula LC pada penyimpanan hari ke-14.

Konsentrasi garam empedu 0,3 % merupakan konsentrasi yang kritikal untuk menyeleksi isolat yang resisten terhadap garam empedu (Jacobson *et al.*, 1999). Kisaran jumlah total BAL dadih susu sapi setelah ditumbuhkan pada media MRSA ditambah 0,3% *bile salts* pada penelitian ini mempunyai jumlah yang cukup sebagai syarat produk probiotik menurut de Vries *et al.* (2006) yaitu  $10^6$ - $10^8$  cfu/g.

## 7. Uji Organoleptik

Hasil uji hedonik terhadap warna, aroma, rasa, tekstur, dan penerimaan umum disajikan pada Tabel 1.

### a. Warna

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa formula starter BAL berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap tingkat kesukaan panelis terhadap warna dadih susu sapi. Dadih dengan

starter C1L5 memiliki memiliki nilai kesukaan tertinggi (4 = suka).

### b. Aroma

Sidik ragam menunjukkan bahwa formula starter BAL tidak mempengaruhi tingkat kesukaan panelis terhadap aroma dadih susu sapi. Nilai tingkat kesukaan panelis terhadap aroma dadih susu sapi pada semua formula starter adalah 3 (biasa).

### c. Rasa

Berdasarkan analisis ragam, formula starter BAL nyata ( $P < 0,05$ ) mempengaruhi tingkat kesukaan panelis terhadap rasa dadih susu sapi. Dadih dengan formula starter C1L5 memiliki nilai kesukaan tertinggi (4 = suka).

### d. Tekstur

Analisis ragam menunjukkan bahwa formula starter BAL tidak mempengaruhi tingkat kesukaan panelis terhadap tekstur dadih susu sapi. Tingkat kesukaan panelis terhadap tekstur dadih susu sapi pada semua formula starter adalah 3 (biasa).

### e. Penerimaan umum

Berdasarkan analisis ragam, formula starter nyata ( $P < 0,05$ ) mempengaruhi tingkat kesukaan panelis terhadap penerimaan umum dadih susu sapi. Dadih susu sapi dengan formula starter BAL C1L5 memiliki tingkat kesukaan tertinggi (4 = suka).

Tabel 1. Nilai modus organoleptik dadih susu sapi probiotik

Parameter	Skor		
	347	169	151
Warna	3 <sup>(b)</sup>	4 <sup>(a)</sup>	3 <sup>(b)</sup>
Aroma	4 <sup>(a)</sup>	3 <sup>(a)</sup>	4 <sup>(a)</sup>
Rasa	2 <sup>(a)</sup>	4 <sup>(a)</sup>	2 <sup>(b)</sup>
Tekstur	4 <sup>(a)</sup>	4 <sup>(a)</sup>	4 <sup>(a)</sup>
Penerimaan umum	3 <sup>(ab)</sup>	4 <sup>(a)</sup>	3 <sup>(b)</sup>

Keterangan :

Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ).

347 : *L. casei* : *L. plantarum* 1:5 (C1P5)

169 : *L. casei* : *B. longum* 1:5 (C1L5)

151 : *L. casei* : *L. plantarum* : *B. Longum* 1:4:1 (C1P4L1)

## KESIMPULAN

Viabilitas bakteri asam laktat dalam dadih susu sapi yang disimpan pada suhu ruang dan suhu dingin dapat dipertahankan lebih dari  $1 \times 10^6$  cfu/g pada uji ketahanan terhadap pH asam dan garam empedu, sehingga telah

memenuhi syarat sebagai produk probiotik. Dadih susu sapi dengan starter *L. casei* : *B. longum* 1:5 (C1L5) memiliki rasa asam yang relatif rendah dengan keunggulan pada karakter warna, rasa, yang secara umum diminati oleh panelis.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Budi Setiawan, STP (alumnus Fakultas Teknologi Pertanian, Departemen Teknologi Industri Pertanian, Institut Pertanian Bogor) atas bantuannya dalam pelaksanaan penelitian ini, serta dan Drs. Purwoko, Msi (Dosen pada Fakultas Teknologi Pertanian, Departemen Teknologi Industri Pertanian, Institut Pertanian Bogor) atas segala bimbingannya.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Buckle KA, Edwards RA, Fleet GH, & Wotton M. 2007. Ilmu Pangan. Terjemahan Purnomo dan Adiono. UI-Press. Jakarta.
- Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, & Collins J.K. 1998. Development and application of in-vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. *Journal of Applied Bacteriology.*, 84: 759-768.
- De Vries MC, Vaughan EE, Michiel Kleerebezem, & Willem M. de Vos. 2006. *Lactobacillus plantarum*-survival, functional and potential probiotic properties in human intestinal tract. *International Dairy Journal* 16: 1018-1028.
- Fardiaz S. 1989. Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Hadiwiyoto S. 1994. Teknik Uji Mutu Susu dan Hasil Olahannya. Edisi kedua. Liberty, Yogyakarta
- Hardiningsih R, Napitupulu RNF, & Yulinery T. 2005. Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat *Lactobacillus* pada pH Rendah. *Biodiversitas* Vol. 7 No. 1: 15-17.
- Jacobson CN, Nielsen VR, Hayford AE, Moller PL, Michaelsen KF, Erregaard AP, Sandstrom 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 human. *Applied And Environmental Microbiology.* 65: 4949-4956
- Overby AJ. 1988. Microbial Culture for Milk Processing. *In: Meat Science, Milk Science and Technology.* Elsevier Science Publisher B. V. New York.
- Sayuti K. 1993. Mempelajari Mutu Dadih pada Lama Penyimpanan dan Jenis Bambu yang Berbeda. Skripsi. Fakultas Pertanian. UNAND. Padang.
- Sirait CH. 1993. Pengolahan Susu Tradisional untuk Perkembangan Agroindustri Persusuan di Pedesaan. Laporan Hasil Penelitian. Balai Penelitian Ternak. Ciawi, Bogor.
- Steel RGD & Torrie JH. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika. Cetakan ketiga. PT Gramedia. Jakarta.
- Sugitha IM. 1995. Dadih Makanan Tradisional Minang: Manfaat dan Khasiatnya. *Dalam Widyakarya Nasional Khasiat Makanan Tradisional.* Kantor Menteri Negara Urusan Pangan RI, Jakarta. Hal 532 - 540.
- Sunarlim R, & Usmiati S. 2006. Sifat Morfologi dan Sensori Dadih Susu Sapi yang di Fermentasi Menggunakan *Lcatobacillus plantarum* dalam Kemasan yang Berbeda. *Buletin Peternakan.* Vol. 30 (4).
- Suprihanto AJ. 2009. Pengaruh Jenis BAL Terhadap Kualitas Dadih Susu Probiotik Selama Penyimpanan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Tamime AY & Robinson RK. 1999. *Yoghurt Science and Technology.* CRC Press., Washington DC.
- Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu.* Cetakan Pertama. Lacticia Press, Yogyakarta.

Yudoamijoyo RM, Zoelfikar T, Herastuti SR, Tomomatsu A, Matsuyama A & Hosono A. 1983. Chemical and microbiological aspect of dadih in Indonesia. *Japanese J. of Dairy and Food Science*, 32 (1), 1-10.

Zavaglia AG, Kociubinski G, Perez P, & De Antoni G. 1998. Isolation and characterization of *Bifidobacterium* strains for probiotic formulation. *Journal Food Protect.* 61(7): 865-873