

Pengembangan Yoghurt Berisi *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* dan Viabilitasnya Selama Penyimpanan

Development of Yoghurt Containing *Lactobacillus rhamnosus* and *Pediococcus pentosaceus* and their Viability during Storage

Lilis Nuraida^{1,2}, Qamariyah Nurdin² dan Antung Sima Firliyanti^{1,2}

¹Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology Center (SEAFast Center),
LPPM, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

Abstract. *Yoghurt is a common vehicle to deliver probiotic bacteria. Compatibility between probiotics species is important for their survival during fermentation of yoghurt with multi probiotic bacteria. The aim of the research was to assess combination of Lactobacillus rhamnosus R23 and Pediococcus pentosaceus A38 in developing yoghurt. L. rhamnosus R23 and P. pentosaceus A38 isolated from breast milk were used as a single culture or in combination. Fermentation was carried out for 48 hrs at 37°C. Effect of inulin on the growth of those lactic acid bacteria was also evaluated. Sugar was added in formulation of yoghurt to improve its taste. L. rhamnosus R23 grew well on skim milk while P. pentosaceus A38 did not sufficiently acidified the milk. L. rhamnosus was detrimental to Pediococcus when they were used as combined starter cultures. Reasonable number of Pediococcus in yoghurt containing Lactobacillus and Pediococcus was reached by mixing yoghurt after fermentation by each bacteria separately. Addition of 15% sucrose gave the most preferred yoghurt. During 32 days of refrigerated storage, all yoghurt still maintained high number of viable LAB (>8 log CFU/ml) with Pediococcus count of >6 log CFU/ml. During storage, pH value also declined but it was still above 4. Yoghurt containing L. rhamnosus and P. pentosaceus with different functional properties could be developed by fermenting the milk separately prior to mixing. Refrigerated storage of mixed yoghurt could retain the number of lactic acid bacteria for 32 days.*

Keywords: Breast milk, yoghurt, lactic acid bacteria, *L. rhamnosus*, *P. pentosaceus*, probiotic.

Abstrak. Yoghurt merupakan produk yang umum digunakan sebagai pembawa bakteri probiotik. Kompatibilitas antar species perlu diperhatikan dalam yoghurt yang berisi beberapa jenis bakteri probiotik. Penelitian ini mengkaji kombinasi *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 dalam pembuatan yoghurt. *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 asal ASI digunakan untuk mengembangkan susu fermentasi sebagai kultur tunggal dan kultur campuran. Fermentasi dilakukan pada suhu 37°C selama 48 jam. Pengaruh inulin terhadap pertumbuhan BAL juga dievaluasi. Penambahan gula dilakukan dalam formulasi yoghurt untuk memperbaiki rasa. *P. pentosaceus* A38 tidak dapat mengasamkan susu dengan baik. *L. rhamnosus* menghambat pertumbuhan *Pediococcus* ketika digunakan sebagai kultur starter campuran. Jumlah *Pediococcus* dalam yoghurt berisi *Lactobacillus* dan *Pediococcus* dapat ditingkatkan dengan mencampurkan yoghurt yang difermentasi oleh masing-masing bakteri secara terpisah. Penambahan gula 15% menghasilkan yoghurt yang lebih disukai. Selama 32 hari penyimpanan pada suhu dingin, semua yoghurt masih mengandung BAL di atas 8 log CFU/ml, dengan jumlah *Pediococcus* di atas 6 log CFU/ml. Selama penyimpanan pH menurun tetapi masih di atas 4. Yoghurt yang berisi campuran *L. rhamnosus* dan *Pediococcus* dapat dibuat, namun susu harus difermentasi oleh masing-masing bakteri secara terpisah. Penyimpanan dingin dapat mempertahankan jumlah BAL selama 32 hari.

Kata kunci: ASI, bakteri asam laktat, *L. rhamnosus*, *P. pentosaceus*, probiotik, yoghurt

Aplikasi Praktis: Hasil penelitian ini memberikan informasi mengenai strategi pengembangan produk sejenis yoghurt yang berisi lebih dari satu jenis bakteri probiotik yaitu *L. rhamnosus* dan *P. pentosaceus* yang memiliki sifat fungsional berbeda namun tidak kompatibel. Pembuatan yoghurt yang berisi kedua bakteri tersebut dapat dilakukan dengan cara mencampurkan yoghurt yang telah difermentasi oleh masing-masing bakteri. Metode ini dapat menghasilkan yoghurt yang mengandung bakteri probiotik dalam jumlah yang cukup sampai dengan 32 hari penyimpanan pada suhu dingin.

PENDAHULUAN

Susu fermentasi terutama yoghurt dan produk sejenisnya merupakan produk yang paling banyak digunakan sebagai pembawa mikroorganisme probiotik. Probiotik adalah mikroorganisme hidup pada pangan yang jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup dapat memberikan manfaat bagi kesehatan inangnya (FAO/WHO, 2002). Mikroorganisme yang umum digunakan sebagai probiotik terutama bakteri asam laktat (BAL) dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Berbagai persyaratan harus dipenuhi oleh mikroorganismenya untuk dapat dikelompokkan sebagai probiotik, antara lain toleransi terhadap asam lambung dan empedu, mampu bertahan dalam saluran pencernaan, mampu menempel pada permukaan usus dan memiliki sifat antimikroba terhadap bakteri patogen (FAO/WHO, 2002). Berbagai hasil penelitian telah membuktikan bahwa probiotik dapat mencegah atau menyembuhkan diare yang diakibatkan oleh infeksi patogen, virus maupun diare yang disebabkan oleh konsumsi antibiotik (de Vrese dan Marteau, 2007; Zanini *et al.* 2007; Nuraida *et al.* 2012). Kemampuan probiotik untuk mencegah atau mengobati diare merupakan fungsi probiotik yang paling banyak diaplikasikan (Reid *et al.* 2003; de Vrese dan Marteau, 2007). Sifat fungsional lainnya dari probiotik adalah kemampuan menurunkan kolesterol (Liong and Shah, 2005, Nuraida *et al.* 2011a), anti infeksi oleh bakteri patogen (Ballongue, 2004, Mikeksaar *et al.* 2004) dan meningkatkan sistem imun (Drakes *et al.* 2004, Diaz-Ropero *et al.* 2007, Kotani *et al.* 2010).

L. rhamnosus dan *Pediococcus pentosaceus* (Nuraida *et al.* 2011b dan 2012b) yang diisolasi dari ASI ibu menyusui di Bogor memiliki potensi sebagai bakteri probiotik. *L. rhamnosus* R23 menunjukkan kemampuan untuk mencegah diare yang disebabkan karena infeksi *Enteropathogenic E. coli* (EPEC) dibandingkan dengan *L. rhamnosus* lainnya yang diisolasi dari ASI (Nuraida *et al.* 2012a). *P. pentosaceus* A38 yang juga diisolasi dari ASI memiliki kemampuan untuk menurunkan kolesterol dengan mekanisme asimilasi dan dekonjugasi garam empedu (Nuraida *et al.* 2011a).

Yoghurt merupakan produk fermentasi susu yang secara konvensional menggunakan *Lactobacillus delbrueckii* subs *bulgaricus* dan *Streptococcus salivarius* subs *thermophilus* sebagai starter. Namun, kedua bakteri tersebut tidak dapat bertahan melewati saluran pencernaan manusia sehingga tidak dapat digolongkan ke dalam probiotik (Agrawal, 2005). Sebaliknya kondisi untuk fermentasi yoghurt belum tentu sesuai dengan kondisi untuk pertumbuhan bakteri probiotik. Pengembangan produk fermentasi yang berisi bakteri probiotik dapat dilakukan dengan menggunakan bakteri probiotik sebagai kultur starter (Tamime *et al.* 2007). Yoghurt probiotik dengan berbagai kultur probiotik, baik tunggal maupun campuran atau dikombinasikan dengan kultur starter yoghurt konvensional telah dikembangkan (Lourens-Hattingh dan Viljoen, 2001). Dalam pengembangan

yoghurt probiotik, viabilitas selama fermentasi dan selama penyimpanan menjadi isu utama (Mortazavian *et al.* 2007; Bandiera *et al.* 2013), karena untuk memberikan manfaat kesehatan, bakteri probiotik harus berada dalam produk minimum 10^6 CFU/g (Tamime *et al.* 2007). Pengembangan produk probiotik yang dibuat dengan menggunakan lebih dari satu kultur dengan sifat fungsional yang berbeda, perlu mempertimbangkan kompatibilitas kultur (Tamime *et al.* 2007). *L. rhamnosus*, *B. animalis* dan kultur starter yoghurt menghambat *L. acidophilus* ketika ditumbuhkan bersama-sama (Saccaro *et al.* 2009). *L. acidophilus* merupakan kultur yang paling terhambat ketika ditumbuhkan bersama-sama dengan BAL lainnya dalam fermentasi susu (Vinderola *et al.* 2002). Oleh karena itu interaksi antar strain atau species probiotik perlu dievaluasi untuk menjamim jumlah yang cukup. *L. rhamnosus* yang diisolasi dari ASI dapat digunakan sebagai kultur starter tunggal sementara *P. pentosaceus* harus digunakan bersama-sama dengan *S. thermophilus* (Nuraida *et al.* 2012b). Interaksi *L. rhamnosus* dan *P. pentosaceus* dalam memfermentasi yoghurt penting untuk diketahui untuk mengembangkan produk probiotik multikultur berisi isolat lokal.

Penggunaan probiotik pada produk pangan fungsional seringkali disertai dengan penambahan prebiotik. Hal ini dilakukan untuk mendukung pertumbuhan bakteri probiotik yang digunakan dan sekaligus memperoleh manfaat dari prebiotik yang ditambahkan. Prebiotik didefinisikan sebagai bahan pangan yang tidak dapat dicerna (oleh manusia) dan memiliki manfaat yang menguntungkan dengan menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas beberapa bakteri yang terdapat pada usus sehingga dapat meningkatkan kesehatan inang (Kolida dan Gibson; 2007, Roberfroid, 2007). Inulin, fruktooligosakarida (FOS), galaktooligosakarida (GOS) merupakan oligosakarida yang telah terbukti berfungsi sebagai prebiotik (Roberfroid, 2007). Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan yoghurt menggunakan BAL kandidat probiotik, *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 yang diisolasi dari ASI, baik sebagai kultur starter tunggal maupun kultur campuran, dengan penambahan inulin serta mengevaluasi viabilitasnya selama penyimpanan dingin. Kedua bakteri kandidat probiotik tersebut memiliki sifat fungsional yang berbeda, masing-masing dapat mencegah diare (Nuraida *et al.* 2012a) dan menurunkan kolesterol (Nuraida *et al.* 2011a).

METODE PENELITIAN

Kultur

Lactobacillus rhamnosus R23 dan *Pediococcus pentosaceus* A38 yang diisolasi dari Air Susu Ibu (ASI) diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi SEAFast Center IPB.

Fermentasi Yoghurt dengan kultur starter tunggal dan campuran

Yoghurt dibuat dalam dua jenis yaitu yoghurt yang difermentasi dengan kultur campuran *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 (Yog Lac+Ped) dan yoghurt yang difermentasi dengan menggunakan kultur tunggal. Susu skim (Sunlac™ yang diperoleh dari Supermarket di Bogor) 12% yang telah direkonstitusi (12%) dipasteurisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 100°C selama 30 menit. Untuk susu yang difermentasi oleh *P. pentosaceus*, ditambahkan sukrosa sebanyak 3% (Nuraida *et al.* 2011b). Setelah itu, didinginkan dan diinokulasikan dengan masing 2% *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 (kedua kultur ditumbuhkan pada media yang sama pada suhu 37°C selama 48 jam) dengan rasio Lac:Ped 1:0, 1:1, 1:2 dan 0:1. Rasio 1:0 dan 0:1 masing-masing merupakan yoghurt kultur tunggal *L. rhamnosus* dan *P. pentosaceus*. Fermentasi dilakukan pada suhu 37°C selama 48 jam. Analisis dilakukan terhadap pH, total asam (AOAC, 1994), total BAL pada media MRSA (Oxoid™), jumlah *Pediococcus* pada media MRSA yang ditambahkan antibiotik nystatin (50,000 U/l) dan ampicillin (1 mg/l) (Dabour *et al.* 2009), dan uji organoleptik berdasarkan kesukaan terhadap rasa, tekstur, aroma dan keseluruhan dengan menggunakan 69 panelis dan skala penilaian 1-7. Nilai 1, sangat tidak suka, 2 tidak suka, 3 agak tidak suka, 4 netral/biasa, dan 5 agak suka, 6 suka, dan 7 sangat suka. Perhitungan jumlah BAL dan *Pediococcus* dilakukan berdasarkan BAM-FDA (Maturin dan Peeler, 2001).

Pengaruh penambahan inulin terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat

Masing-masing kultur *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 ditumbuhkan pada susu skim yang telah direkonstitusi (12%) dengan penambahan inulin (Fibruline^R Instant) 5%. Untuk *P. pentosaceus* ditambahkan sukrosa sebesar 3%. Kondisi fermentasi dilakukan sama dengan fermentasi yoghurt kultur tunggal. Analisis dilakukan terhadap total BAL pada media MRSA.

Formulasi Yoghurt

Perbandingan Yoghurt *Lactobacillus* dan *Pediococcus*. Formulasi yoghurt dilakukan dengan membuat yoghurt campuran (Yog Lac+Yog Ped) yaitu dengan mencampurkan dua jenis yoghurt yang masing-masing difermentasi oleh *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38. Kondisi fermentasi sama seperti fermentasi yoghurt kultur tunggal. Kedua yoghurt kultur tunggal kemudian dicampurkan dengan rasio Yog Lac:Yog Ped 1:1, 1:2, dan 2:1. Campuran yoghurt dihomogenisasi menggunakan homogenizer selama 3 menit. Analisis organoleptik dilakukan berdasarkan uji kesukaan terhadap rasa, tekstur, aroma dan keseluruhan dengan menggunakan 69 panelis dengan skala penilaian 1-7 seperti di atas.

Pengaruh penambahan gula pasir. Penambahan gula pasir sebesar 10 dan 15% dilakukan terhadap cam-

puran yoghurt kultur tunggal (Yog Lac+Yog Ped) dengan dan tanpa penambahan inulin. Penambahan gula pasir dilakukan setelah proses fermentasi, dengan menambahkan sirup gula pasir (5 kali konsentrasi akhir pada yoghurt). Penambahan larutan gula dilakukan sebelum homogenisasi. Analisis organoleptik dilakukan terhadap rasa, aroma, tekstur, dan *overall* (keseluruhan) dengan menggunakan 70 panelis dengan skala penilaian 1-7 seperti di atas.

Viabilitas *Lactobacillus* dan *Pediococcus* selama penyimpanan

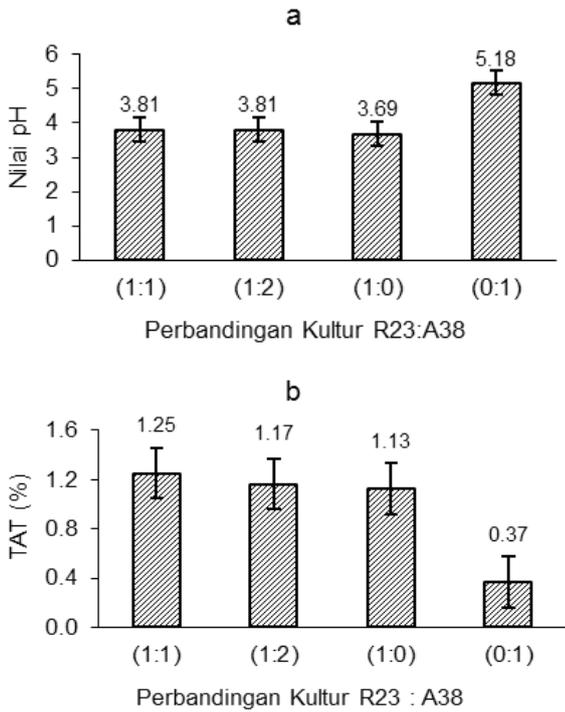
Campuran yoghurt (Yog Lac+Yog Ped) dengan rasio 1:2, dengan atau tanpa penambahan gula dan inulin disimpan pada lemari pendingin dengan suhu <10 °C selama 32 hari. Analisis total BAL, jumlah *Pediococcus* dan pH dilakukan setiap 4 hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fermentasi Yoghurt dengan kultur tunggal dan campuran

Nilai pH dan total asam yoghurt yang difermentasi oleh kultur campuran *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 (rasio Yog Lac+Ped 1:1 dan 1:2) maupun tunggal (Yog Lac 1:0 atau Yog Ped 0:1) disajikan pada Gambar 1. Nilai pH yoghurt yang berisi *L. rhamnosus* di bawah 4 (pH 3.68-3.82), sementara nilai pH yoghurt kultur tunggal *P. pentosaceus* A38 (rasio 0:1) di atas 5. Nilai pH semua yoghurt yang dibuat dengan *L. rhamnosus* berada di bawah pH yoghurt konvensional yaitu 4.4-4.5 (Fadela *et al.* 2009; Sarocca *et al.* 2009) yang mengindikasikan yoghurt *L. rhamnosus* lebih asam dari yoghurt konvensional. Hasil penelitian terdahulu menggunakan *P. pentosaceus* A16, menunjukkan bakteri ini tidak dapat membentuk asam dengan baik pada susu, sebaliknya *L. rhamnosus* R21 dapat digunakan sebagai kultur starter tunggal (Nuraida *et al.* 2012b). Total asam (Gambar 1) yoghurt kultur campuran dengan rasio Lac:Ped 1:1 dan 1:2, serta yoghurt kultur tunggal *L. rhamnosus* R23 (1:0) memenuhi standar SNI yoghurt (BSN, 2009) yang berkisar antara 0,5-2% (b/b), namun tidak ada standar pH dalam SNI yoghurt. Yoghurt *P. pentosaceus* A38 (0:1) memiliki nilai total asam yang lebih rendah dari standar SNI. Hal ini kemungkinan karena lemahnya aktivitas β-galaktosidase dan berbagai enzim untuk metabolisme susu pada *P. pentosaceus* (Tzanetakis dan Litopoulou-Tzanetaki 1989).

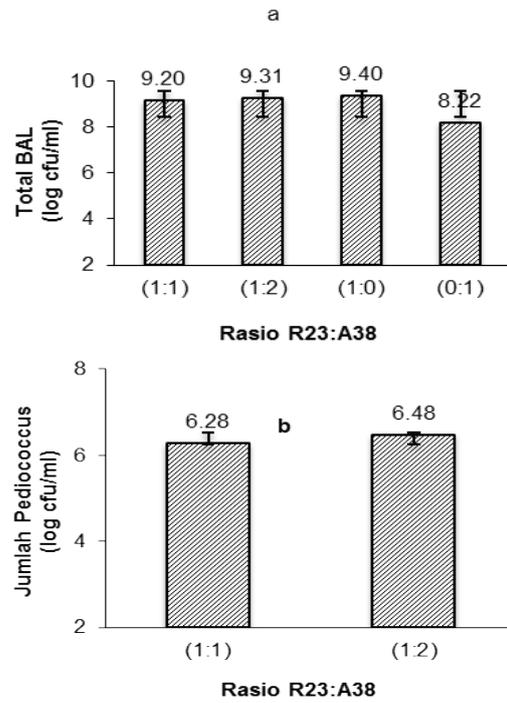
Total BAL dan total *Pediococcus* yoghurt kultur campuran (rasio Lac:Ped 1:1 dan 1:2) maupun tunggal (Yog Lac 1:0 atau Yog Ped 0:1) setelah fermentasi disajikan pada Gambar 2. Total BAL tertinggi dicapai pada yoghurt *L. rhamnosus* R23 (1:0) (9,38 log CFU/ml). Nilai ini tidak berbeda jauh dengan yoghurt kultur campuran dengan rasio Lac:Ped 1:2 dan 1:1. Sedangkan total BAL paling rendah diperoleh pada yoghurt *P. pentosaceus* A38, walaupun masih diatas 8 log CFU/ml. Pada yoghurt yang difermentasi dengan kultur campuran, jumlah *Pediococ-*



Gambar 1. Nilai pH (a) dan total asam (b) yoghurt yang difermentasi menggunakan kultur campuran *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 dengan rasio Lac: Ped 1:1, 1:2, 1:0, dan 0:1 pada suhu 37°C selama 48 jam

cus lebih rendah, yaitu 6,38 log CFU/ml (rasio kultur Lac: Ped 1:1) dan 6,49 log CFU/ml (rasio kultur Lac:Ped 1:2) dibandingkan dengan pada yoghurt kultur tunggal. Lebih rendahnya jumlah *Pediococcus* menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan *P. pentosaceus* oleh *L. rhamnosus*. Interaksi antar bakteri probiotik dapat menjadi penghambat pertumbuhan salah satu probiotik (Tamime *et al.* 2007). Jumlah bakteri probiotik setelah fermentasi tergantung pada jenis bakteri yang bersama-sama berada pada saat fermentasi. Starter komersial *L. acidophilus* terhambat pertumbuhannya oleh starter komersial *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Dave dan Shah, 1996), sementara *L. acidophilus* terhambat oleh *L. rhamnosus*, *B. animalis* dan starter yoghurt konvensional (Saccaro *et al.* 2009). Penelitian Nuraida *et al.* (2011b) menunjukkan bahwa *P. pentosaceus* (A16) asal ASI mempunyai karakteristik yang tidak tahan asam sedangkan *L. rhamnosus* (R21) yang juga asal ASI diduga mempunyai ketahanan terhadap asam yang lebih baik serta kemampuan proteolitik dan peptidase yang tinggi.

Hasil pengujian organoleptik untuk yoghurt yang dibuat dengan beberapa perbandingan kultur *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 dapat dilihat pada Gambar 3. Rasa yoghurt kultur campuran yang difermentasi dengan kultur *L. rhamnosus* R23 dengan porsi lebih banyak, lebih disukai jika dibandingkan dengan *P. pentosaceus* A38. Citarasa yoghurt dihasilkan dari komponen seperti asam laktat, asam asetat, asetaldehida, aseton, diasetil yang diperoleh dari aktivitas kultur yoghurt yang memfermentasi laktosa. Nilai pH yang lebih rendah pada Yog Lac menunjukkan *L. rhamnosus* R23 lebih cepat dan efektif dalam

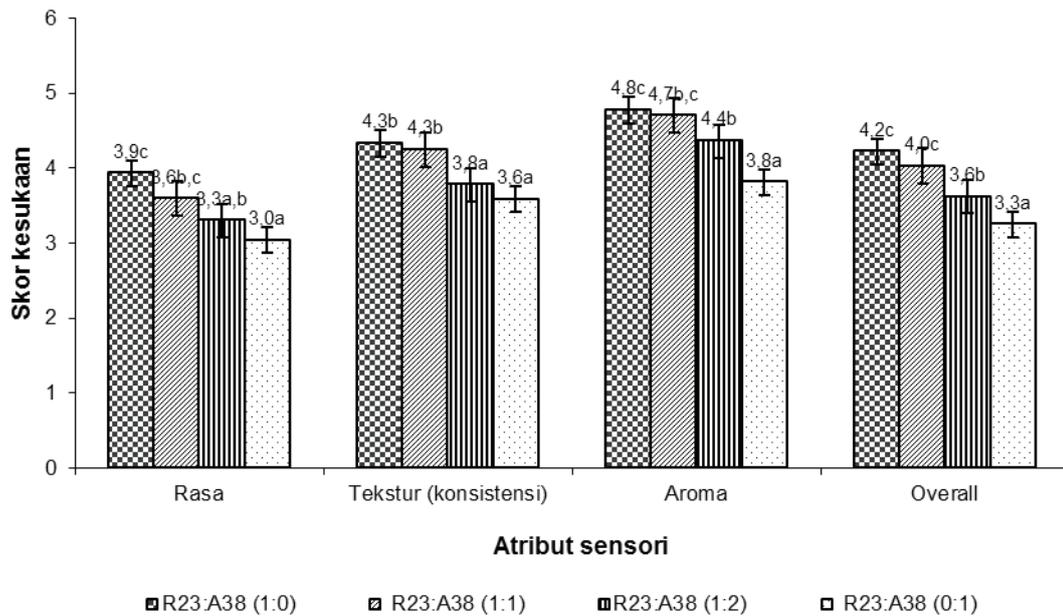


Gambar 2. Total BAL (a) dan total *Pediococcus* (b) pada yoghurt yang difermentasi pada suhu 37°C selama 48 jam menggunakan kultur campuran *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 dengan rasio Lac:Ped 1:1, 1:2, 1:0, dan 0:1 (Total *Pediococcus* dihitung hanya pada yoghurt dengan kultur starter campuran).

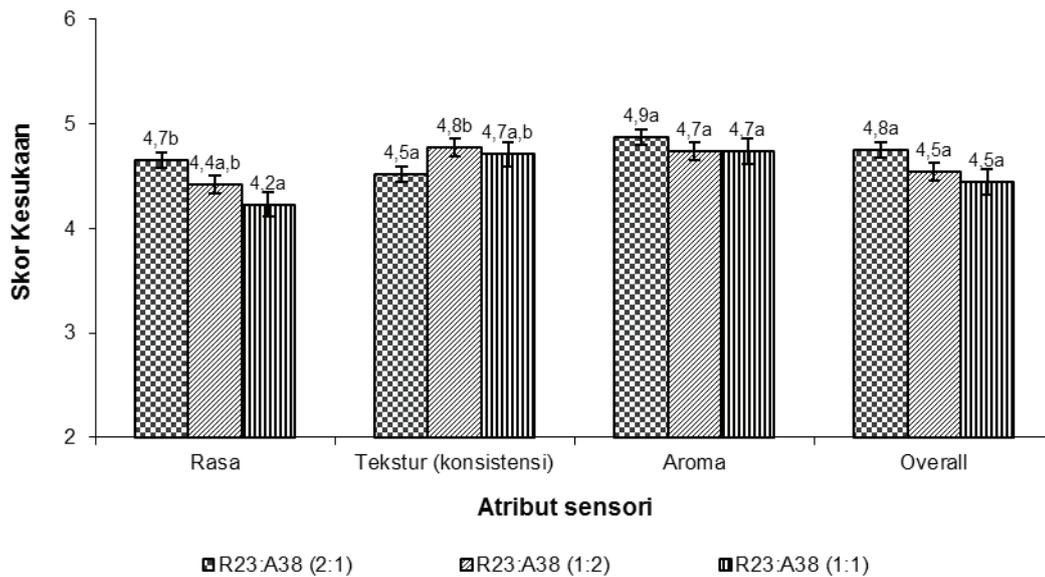
proses fermentasi laktosa jika dibandingkan dengan *P. pentosaceus* A38, sehingga cita rasa yang terbentuk pada yoghurt *P. pentosaceus* A38 kurang. Rasa, aroma, tekstur dan overall yoghurt kultur tunggal *L. rhamnosus* R23 (1:0) paling disukai panelis, namun tidak berbeda nyata dengan yoghurt kultur campuran rasio Lac:Ped 1:1 namun berbeda nyata dengan yoghurt kultur campuran rasio Lac:Ped 1:2. Penambahan kultur *P. pentosaceus* A38 yang lebih banyak, menurunkan tingkat kesukaan panelis terhadap yoghurt. Berdasarkan penilaian organoleptik, yoghurt kultur campuran dapat dibuat dengan menggunakan rasio kultur Lac:Ped 1:1. Namun dengan penggunaan kultur campuran sebagai starter, kultur *Pediococcus* terhambat pertumbuhannya selama fermentasi sehingga jumlahnya dalam produk hanya 10⁶ CFU/ml. Peningkatan jumlah *Pediococcus* dapat dilakukan dengan mencampurkan yoghurt kultur tunggal masing-masing bakteri, sehingga tidak mengalami pertumbuhan yang dapat menyebabkan terhambatnya salah satu kultur.

Tabel 1. Pengaruh penambahan inulin 5% terhadap pertumbuhan *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 di dalam yoghurt yang difermentasi pada suhu 37°C selama 48 jam

Kultur starter	Inulin 5%	Jumlah BAL (log CFU/ml)
<i>L. rhamnosus</i> R23	√	9,49±0,13
	-	9,47±0,04
<i>P. pentosaceus</i> A38	√	7,96±0,23
	-	7,58±0,25



Gambar 3. Hasil uji organoleptik yoghurt yang difermentasi pada suhu 37°C selama 48 jam menggunakan kultur campuran *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 dengan rasio Lac:Ped 1:0, 1:1, 1:2, dan 0:1



Gambar 4. Hasil uji organoleptik yoghurt campuran dengan rasio Yog Lac:Yog Ped 2:1, 1:2, dan 1:1

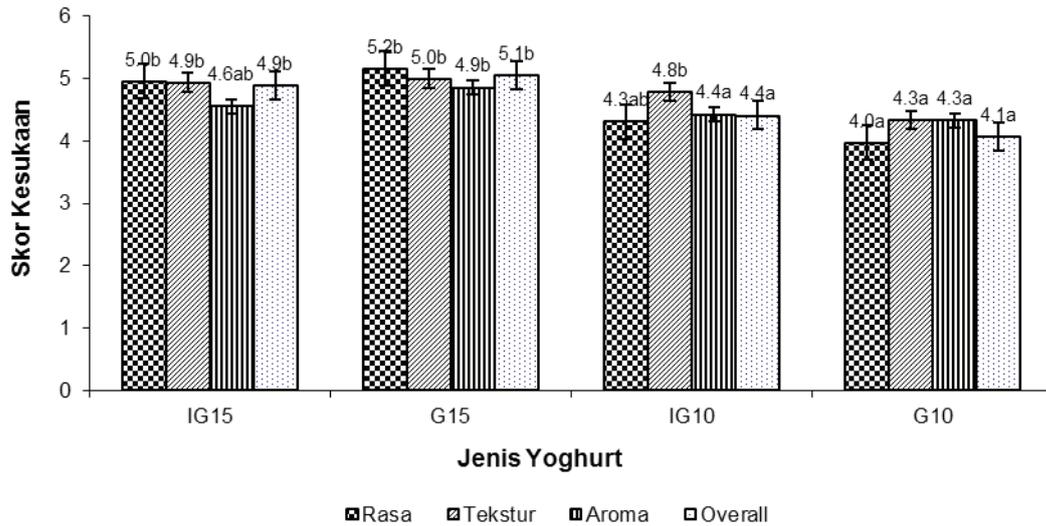
Pengaruh penambahan inulin terhadap jumlah bakteri asam laktat

Penambahan inulin terhadap susu skim sebelum fermentasi oleh *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38 tidak berpengaruh terhadap jumlah BAL dalam yoghurt kultur tunggal (Tabel 1). Inulin merupakan oligosakarida yang sulit untuk difermentasi sehingga BAL lebih memilih sumber karbon lain seperti laktosa untuk mendukung pertumbuhannya pada susu. Inulin digolongkan sebagai prebiotik karena tidak terserap pada saluran pencernaan bagian atas dan dapat mendukung pertumbuhan bakteri probiotik pada kolon (Roberfroid, 2007). Karena inulin

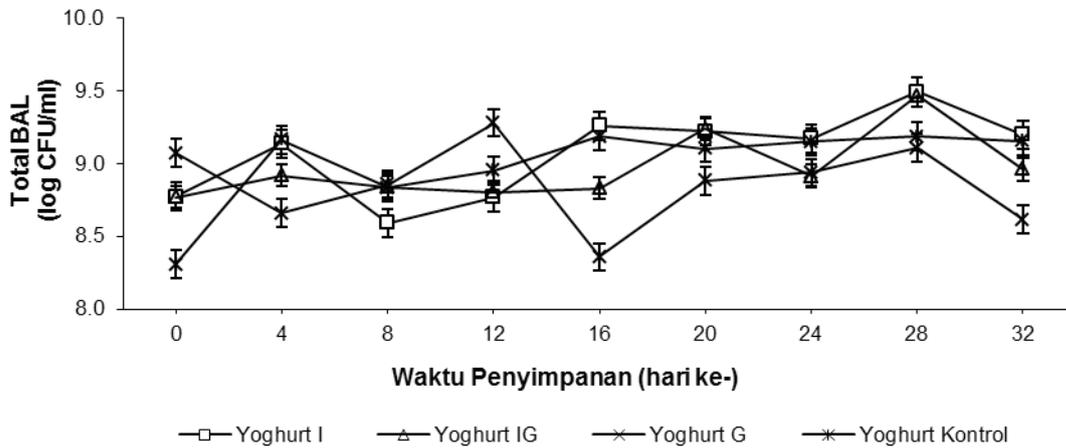
masih tersedia dalam jumlah cukup pada yoghurt, maka setelah yoghurt dikonsumsi diharapkan inulin dapat menunjang pertumbuhan bakteri probiotik dengan memanfaatkannya sebagai sumber karbon di dalam usus setelah sumber karbon lainnya telah habis (Nuraida *et al.* 2011c).

Formulasi Yoghurt yang Mengandung *L. rhamnosus* dan *P. pentosaceus*

Penentuan rasio yoghurt L. rhamnosus dan yoghurt P. Pentosaceus. Seperti disampaikan di atas bahwa jumlah *Pediococcus* pada yoghurt yang difermentasi de-



Gambar 5. Hasil uji organoleptik yoghurt campuran dengan rasio Yog Lac:Yog Ped 1: dengan penambahan gula



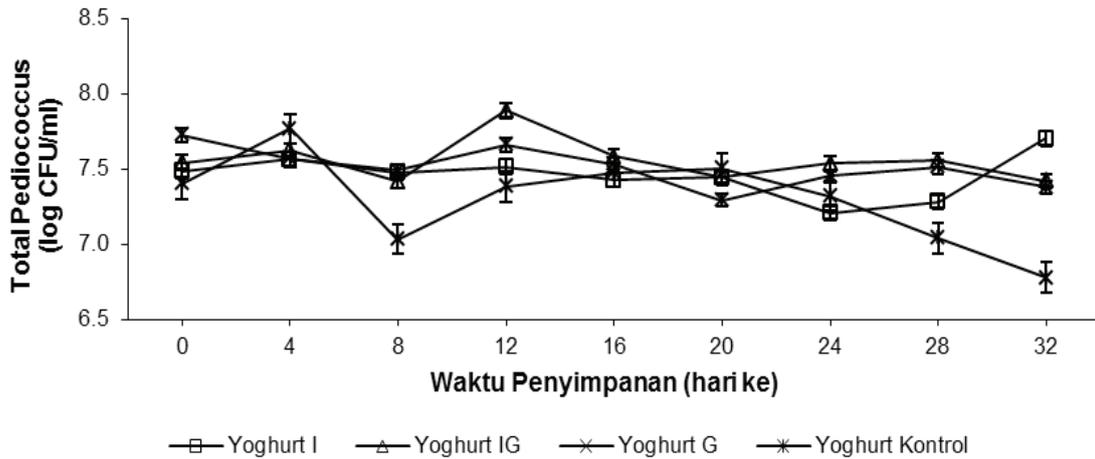
Gambar 6. Perubahan jumlah bakteri asam laktat selama penyimpanan yoghurt campuran Yog Lac+Yog Ped pada suhu dingin

ngan kultur campuran jauh lebih rendah dibandingkan dengan yoghurt kultur tunggal. Untuk mengatasi hal tersebut maka formulasi yoghurt dilakukan dengan mencampurkan yoghurt *L. rhamnosus* R23 (Yog Lac) dan yoghurt *P. pentosaceus* A38 (Yog Ped) dengan berbagai rasio 1:2, 1:1 dan 2:1. Yoghurt campuran yang paling disukai adalah yoghurt campuran dengan rasio Yog Lac:Yog Ped 2:1 (Gambar 4), namun tidak berbeda nyata dengan rasio Yog Lac: Yog Ped 1:2. Yoghurt campuran dengan rasio Yog Lac: Yog Ped 1:2 paling disukai oleh panelis namun tidak berbeda nyata dengan yoghurt rasio 1:1. Penambahan yoghurt *P. pentosaceus* A38 menghasilkan tekstur yang lebih disukai oleh panelis. Aroma dan penilaian keseluruhan yoghurt campuran Yog Lac+Yog Ped tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar rasio yang digunakan (Gambar 4).

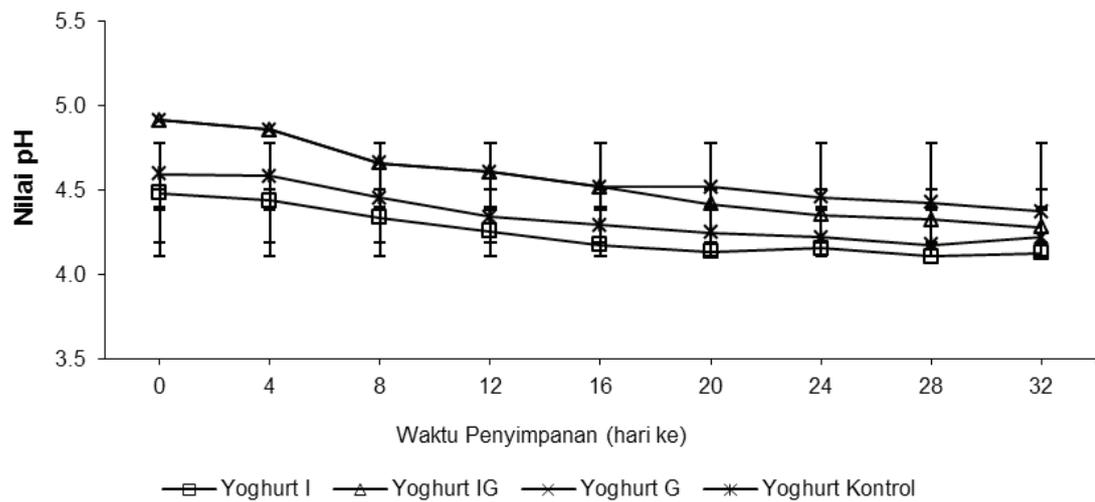
Dibandingkan dengan penggunaan kultur campuran sebagai starter, pembuatan yoghurt yang mengandung

L. rhamnosus dan *Pediococcus* dengan mencampurkan kedua yoghurt starter tunggal menghasilkan yoghurt dengan sifat organoleptik yang lebih disukai, sehingga memberikan peluang untuk mengembangkan yoghurt yang mengandung *L. rhamnosus* R23 dan *P. pentosaceus* A38. Penambahan yoghurt *Pediococcus* yang lebih banyak (rasio Yog Lac:Yog Ped, 1:2) akan membantu mempertahankan keberadaan *Pediococcus* dalam jumlah tinggi karena kemungkinan *Pediococcus* terhambat oleh *L. rhamnosus* pada saat penyimpanan. Sifat organoleptik secara keseluruhan untuk yoghurt dengan rasio Yog Lac:Yog Ped 1:2, tidak berbeda nyata dengan rasio 1:1 dan 2:1. Pencampuran yoghurt kultur tunggal untuk memperoleh yoghurt berisi multi strain merupakan teknik yang dapat diterapkan jika kultur tersebut tidak kompatibel (Tamim *et al.* 2007).

Pengaruh penambahan gula. Sebagai pemanis yoghurt campuran Yog lac:Yog Ped dengan rasio 1:2,



Gambar 7. Perubahan jumlah *Pediococcus* selama penyimpanan yoghurt campuran Yog Lac+ Yog Ped pada suhu dingin



Gambar 8. Perubahan nilai pH selama penyimpanan yoghurt campuran Yog Lac+Yog Ped pada suhu dingin

ditambahkan sirup gula pasir sehingga konsentrasi gula pada yoghurt sebesar 10% dan 15%. Penambahan gula 15% lebih disukai dibandingkan 10% (Gambar 5). Penambahan flavor atau pemanis ke dalam yoghurt memperbaiki keseimbangan flavor atau mengurangi flavor asetaldehyde untuk meredam keasaman produk (Rashid dan Thakur, 2012). Tekstur yoghurt campuran dengan penambahan inulin lebih disukai dibandingkan dengan yoghurt yang hanya ditambah gula. Namun adanya inulin dan gula pada yoghurt tidak mempengaruhi penilaian terhadap aroma. Berdasarkan penilaian keseluruhan, penambahan gula 15% pada yoghurt lebih disukai daripada penambahan gula 10%. Penambahan inulin tidak mempengaruhi penilaian terhadap sifat organoleptik secara keseluruhan. Secara keseluruhan penambahan gula memperbaiki penerimaan terhadap yoghurt dari kisaran netral menjadi agak suka.

Viabilitas Bakteri Asam Laktat Selama Penyimpanan Dingin

Total bakteri asam laktat (BAL) pada yoghurt campuran dengan dan tanpa penambahan gula atau inulin masih di atas 8 log CFU/ml setelah penyimpanan dingin selama 32 hari (Gambar 6). Hasil ini sebanding dengan viabilitas *L. casei* pada yoghurt yang disimpan pada suhu 4°C selama 21 hari (Bandiera *et al.* 2013) dan lebih tinggi dari *L. acidophilus* pada yoghurt yang berisi *Lactobacillus rhamnosu*LBA and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BL-04 setelah disimpan pada suhu 4 °C selama 21 hari yang jumlahnya kurang dari 5 log CFU/ml) (Saccaro *et al.* 2009). Total BAL relatif stabil selama penyimpanan, sementara total *Pediococcus* mengalami penurunan terutama setelah 20 hari, namun masih di atas 6 log CFU/mL (Gambar 7). Hasil ini konsisten dengan penghambatan *Pediococcus* oleh *L. rhamnosus*

selama fermentasi. Perubahan viabilitas probiotik selama penyimpanan merupakan fungsi dari suhu penyimpanan dan tergantung pada species atau strain yang digunakan (Motrazavian *et al.* 2013). Jumlah BAL dan *Pediococcus* setelah penyimpanan selama 32 hari masih berada pada kisaran 10^6 - 10^8 CFU/ml yang merupakan jumlah yang disarankan berada pada produk untuk memberi manfaat kesehatan (FAO/WHO, 2002; Champagne *et al.* 2011). Viabilitas BAL dan *Pediococcus* selama penyimpanan tidak berbeda antara yoghurt dengan penambahan inulin (I), penambahan inulin dan gula (IG), penambahan gula (G) dan kontrol (Gambar 6 dan 7). Stabilitas bakteri probiotik pada yoghurt komersial bervariasi tergantung pada species probiotik yang digunakan (Micanel *et al.* 1997) dan setelah disimpan banyak produk yang tidak memenuhi jumlah probiotik yang direkomendasikan (Champagne *et al.* 2011).

Nilai pH yoghurt campuran pada saat awal penyimpanan antara 5,03- 4,48, sedikit lebih tinggi dari yoghurt konvensional (4,4-4,5) (Fadela *et al.* 2009; Saccaro *et al.* 2009). Penurunan pH selama penyimpanan (Gambar 8) menunjukkan adanya peningkatan jumlah asam. Hingga akhir masa penyimpanan, keempat jenis yoghurt memiliki nilai pH sekitar 4,1-4,4, dengan pH tertinggi (pH 4,4) pada yoghurt G. Penurunan pH sampai mendekati 4 selama penyimpanan pada suhu 4°C juga terjadi pada yoghurt yang berisi starter konvensional dan *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* serta *B. animalis* (Saccaro *et al.* 2009). Penurunan pH selama penyimpanan dingin mempengaruhi stabilitas probiotik (Micanel *et al.* 1997).

KESIMPULAN

L. rhamnosus R23 menghambat pertumbuhan *P. pentosaceus* A38 selama fermentasi susu, oleh karena itu kedua bakteri tersebut tidak dapat digunakan sebagai kultur starter campuran. Fermentasi yoghurt dengan kultur tunggal yang dilanjutkan dengan pencampuran kedua yoghurt merupakan metode terbaik untuk membuat yoghurt yang berisi kedua bakteri kandidat probiotik tersebut. Penambahan inulin sebagai prebiotik tidak mempengaruhi jumlah BAL. Penambahan gula memperbaiki penerimaan terhadap yoghurt yang berisi *L. rhamnosus* dan *P. pentosaceus*, dengan konsentrasi yang paling disukai sebesar 15%. Penyimpanan pada suhu dingin masih dapat mempertahankan jumlah BAL pada yoghurt yang berisi *L. rhamnosus* dan *P. pentosaceus* untuk memenuhi persyaratan jumlah minimum sebagai probiotik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, R. 2005. Probiotics: An emerging food supplement with health benefits, *Food Biotech.* 19:227-246.
- Ballongue, J. 2004. Bifidobacteria and probiotic action, in Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects, 3rd Edition, Revised and Expanded, eds Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A. Marcel Dekker Inc, New York.
- Bandiera, N.S., Carneiro I., da Silva A.S., Honjaya, E.R., de Santana E.H., Aragon-Alegro L.C, de Souza C.H. 2013. Viability of probiotic *Lactobacillus casei* in yoghurt: defining the best processing step to its addition. *Arch Latinoam Nutr.* 63(1):58-63
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2009. SNI 2981: 2009. Standar Mutu *Yoghurt*. BSN. Jakarta.
- AOAC. 1994. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemistry. AOAC. Int: Washington D.C.
- Champagne, C.P., Ross, R.P., Saarela, M., Hansen, K.F., Ken Flemming Hansen, Charalampopoulos, D. 2011. Review recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. *Inte. J. Food Microbiol.* 149:185-193. doi:10. 1016/j.ijfoodmicro.2011.07.005
- Dave, R.I. dan Shah. N.P. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *Int. Dairy J.* 7:31-41.
- Dabour, N.S., Zihler, A., Kheadr, E., Lacroix, C., Fliss, I. 2009. In vivo study on the effectiveness of *Pediococcus* PA-1 and *Pediococcus acidilactici* UL5 at inhibiting *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol.* 133: 225-233.
- De Vrese M., Marteau, P.R. 2007. Probiotics and prebiotics: effects on diarrhea. *J Nutr* 137: 803S-811S.
- Díaz-Ropero, M.P., Martín, R., Sierra, S., Lara-Villoslada, F., Rodríguez, J.M., Xaus, J., Olivares, M. 2007. Two *Lactobacillus* strains, isolated from breast milk, differently modulate the immune response, *J. Appl. Microbiol.* 102 (2):337-43.
- Drakes, M., Blanchard, T., Czinn, S. 2004. Bacterial probiotic modulation of dendritic cells. *Infection and Immun.* 72 (6):3299-3309.
- Fadela, C. Abderrahim, C. and Ahmed B., 2009. Sensorial and physicochemical characteristics of yoghurt manufactured with ewe's and skim Milk. *World J. Dairy & Food Sci.* 4 (2): 136-140.
- FAO/WHO [Food and Agriculture Organization/World Health Organization] (2002) Guidelines for the evaluation of probiotics in foods, Report of a Joint FAO/WHO Working Group, London, Ontario, Canada, April 30 and May 1 2002.
- Kolida, S., Gibson G. R. 2007. Prebiotic capacity of inulin-type fructans. *J. Nutr.* 137: 2503S-2506S
- Kotani, Y., Shinkai, S., Okamoto, H., Toba, M., Ogawa, K., Yoshida, H., Fukaya, T., Fujiwara, Y., Chaves, P.H.M., Kakumoto, K., Kohda, N. 2010. Oral intake of *Lactobacillus pentosus* strain b240 accelerates salivary immunoglobulin A secretion in the elderly: A randomized, placebo-controlled, double blind trial. *Immunity & Aging.* 7:11
- Lourens-Hattingh, A. dan Viljoen, B.C. 2001. Review: Yogurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.* 11:1-17
- Liong, M.T., Shah, P. 2005. Optimization of cholesterol removal by probiotics in the presence of prebiotics by

- using a response surface method. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(4):1745-1753.
- Maturin, L., J. T. Peeler . 2001. *Bacteriological Analytical Manual: Aerobic Plate Count*. Food and Drug Administration. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm>.
- Mikelsaar, M., Mandar, R., Sepp, E., Annuk, H. 2004. Human lactic acid microflora and its role in the welfare of the host, in *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, 3rd Ed, eds Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A. Marcell Dekker, Inc, New York.
- Micanel N., Hayness, I.N., Playne, M.J. 1997. Viability of probiotic culture in commercial Australian yoghurts. *The Austr. J.Dairy Tech.* 52: 24-27
- Motarzavian, Am. Ehsani, MR., Mousavi, SM., Rezafi, K., Sohrabvandi, S., Reinheimer, J.A. 2013. Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic micro-organisms in yogurt. *Int J. Dairy Tech.* 60(2):123 - 127. DOI:10.1111/j.1471-0307.2007.00306.x
- Nuraida L., Winarti S., Hana, Prangdimurti E. 2011a. Evaluasi *in vitro* terhadap kemampuan isolat bakteri asam laktat asal air susu ibu untuk mengasimilasi kolesterol dan mendekongjugasi garam empedu. *J. Teknol Ind. Pangan.* 22:46-51.
- Nuraida L, Rizka R.B, Nurjanah, S. 2011b. Evaluasi lactobacillus berpotensi sebagai probiotic yang diisolasi dari ASI untuk fermentasi yoghurt. Seminar Peran Teknologi dalam Pengembangan Pangan yang Aman, Bermutu, dan Terjangkau bagi Masyarakat. 15-17 September 2011, Manado, Sulawesi Utara.
- Nuraida, L, Mardiana, N.R., Faridah, D.N., Hana. 2011c. Metabolisme prebiotik oleh kandidar probiotik isolat ASI sebagai dasar pengembangan produk sinbiotik. *J. Teknol Ind. Pangan*, 22 (2): 156:163.
- Nuraida L., Hana. Hartanti A.W, and Prangdimurti, E. 2012a. Evaluasi potensi Lactobacillus yang diisolasi dari air susu ibu untuk mencegah diare karena infeksi E. coli K.1.1. *J. Teknol. Ind. Pangan*, 23:158-165.
- Nuraida,L., Susanti, Palupi, N.S., Hana, Bastomi, R.R., Priscilia, D., Nurjanah,S. 2012b. Evaluation of probiotics properties of lactic acid bacteria isolated from breast milk and their potency as starter culture for yoghurt fermentation. *Int J. Food, Nutr & Public Health*,5:33-60.
- Reid, G., Jass, J., Sebulsky, M.T., McCormick, J.K. 2003. Potential uses of probiotics in clinical practice. *clinical microbiol. Rev* 16: 658-672. DOI: 10.1128/CMR.16.4.658-672.2003.
- Roberfroid, M. 2007. Prebiotics: The Concept Revisited. *J. Nutr.* 137: 830S-837S.
- Saccaro, D.M., Tamime, A., Pilleggi, A.L.O.P.S. dan Oliveira, M. 2009. The viability of three probiotic organisms grown with yoghurt starter cultures during storage for 21 days at 4°C. *Int. J. Dairy Tech.* 62 (3): 397-404. doi: 10.1111/j.1471-0307.2009.00497.x
- Tamime, A.Y., Saarela, M., Sondergaard, K. A., Mistry, V.V., Shah, N.P. 2007. Production and maintenance of viability of probiotic microorganisms in dairy product, in *Probiotic Dairy Product*, ed, Tamime, A.Y., Blackwell Publishing. Pp: 39-72.
- Rashid, A., Thakur, Er.S.N., 2012. Studies on quality parameters of set yoghurt prepared by the addition of honey. *Int J Sci and Res Publ.* 2(9): 1-10.
- Tzanetakis N, Litopoulou-Tzanetaki. 1989. Biochemical activities of *Pediococcus pentosaceus* isolates of dairy origin. *J. Dairy Sci.* 72:859-863
- Vinderola G.C., Mocchuitti, P. and Reinheimer A. J. 2002. Interactions among lactic acid starter and probiotic bacteria used for fermented dairy products. *J. Dairy Scie.* 85:721-729.
- Zanini, K., Marzotto, M., Castellazzi, A., Borsari, A., Del-laglio, F., Torriani, S. 2007. The effects of fermented milks with simple and complex probiotic mixtures on the intestinal microbiota and immune response of healthy adults and children. *Int. Dairy J.* 17: 1332-1343. DOI: 10.1016/j.idairyj.2007.01.017.

JMP03-14-006 - Naskah diterima untuk ditelaah pada 15 Maret 2014. Revisi makalah disetujui untuk dipublikasi pada 10 April 2014. Versi Online: <http://jurnalmutupangan.com/index1.php?view&id=7>