

ARTIKEL ILMIAH

**TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT PERMEN PROBIOTIK SIRSAK
GUNUNG (*Annona montana* Macf.)**

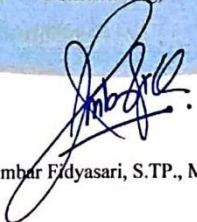


EKA PUTRI MELINDA SODIKIN

NIM 18.022

Telah diperiksa dan disetujui untuk dipublikasikan

Pembimbing,


Ambar Fidyasari, S.TP., MP.

**TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT PERMEN PROBIOTIK SIRSAK
GUNUNG (*Annona montana* Macf.)**

**TOTAL LACTIC ACID BACTERIA MOUNTAIN SOURSOP (*Annona
montana* Macf.) PROBIOTIC CANDY**

Eka Putri Melinda Sodikin, Ambar Fidyasari
Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

ABSTRAK

Buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) termasuk dalam famili *Annonaceae* yang mengandung senyawa metabolit sekunder terpenoid dan termasuk antioksidan kuat. Pemanfaatan buah sirsak gunung masih sangat rendah karena rasa buah yang hambar serta untuk meningkatkan *acceptability* dari minuman probiotik maka diinovasi dalam bentuk lain, salah satunya adalah permen probiotik. Hasil penelitian minuman probiotik buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) didapatkan total BAL yaitu 10^8 CFU/mL. Bakteri asam laktat adalah bakteri yang memiliki kontribusi yang besar dalam dunia pangan. Peranan BAL adalah mampu mengatur keseimbangan flora yang ada didalam usus. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui total bakteri asam laktat (BAL) permen probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.). Penelitian ini dilakukan secara eksperimen dan data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Perhitungan BAL menggunakan metode *total plate count* (TPC). Penelitian ini dimulai dari pembuatan minuman probiotik, pembuatan permen probiotik dan perhitungan total bakteri asam laktat (BAL). Hasil penelitian didapatkan total bakteri asam laktat (BAL) permen probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) adalah $6,4 \times 10^2$ CFU/gram. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa permen probiotik belum memenuhi standar produk probiotik.

Kata kunci : Buah Sirsak Gunung, *Lactobacillus casei*, Minuman Probiotik, Permen Probiotik, Total Bakteri Asam Laktat

ABSTRACT

Mountain soursop fruit (Annona montana Macf.) belongs to the Annonaceae family which contains terpenoid secondary metabolites and is a strong antioxidant. The utilization of mountain soursop fruit is still very low because of the bland taste of the fruit and to increase the acceptability of probiotic drinks, it is innovated in other forms, one of which is probiotic candy. The results of the research on the probiotic drink of mountain soursop fruit (Annona montana Macf.) obtained a total LAB of 10^8 CFU/mL. Lactic acid bacteria are bacteria that have a major contribution in the food world. The role of LAB is to be able to regulate the balance of flora in the intestine. The study aims to determine the total lactic acid bacteria (LAB) in mountain soursop (Annona montana Macf.) probiotic candy. This research was conducted experimentally and the data obtained were analyzed descriptively. The calculation of LAB used the total plate count (TPC) method. This research commenced by making probiotic drinks, making probiotic candy, and calculating the total lactic acid bacteria (LAB). The results showed that the total lactic acid bacteria (LAB) of mountain soursop (Annona montana Macf.) probiotic candy was 6.4×10^2 CFU/gram. The conclusion of this study is that probiotic candy does not meet the standards of probiotic products.

Keywords: Mountain Soursop, Lactobacillus casei, Probiotic Candy, Total Lactic Acid Bacteria

PENDAHULUAN

Buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) memiliki kulit buah berwarna hijau tua saat masih muda dan berwarna kuning saat masak, berbentuk bulat tidak beraturan, memiliki diameter 10 cm dengan daging buah yang berwarna kuning, beraroma harum (Dahana *and* Warisno, 2013). Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) juga mengandung senyawa metabolit sekunder terpenoid dan termasuk dalam antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} 61,93 ppm (Wulandari *and* Fidyasari, 2017). Buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) termasuk ke dalam famili *Annonaceae*. Menurut Hanifah (2015) tanaman dengan famili tersebut memiliki senyawa metabolit sekunder acetogenin. *Annonaceous* acetogenin telah diketahui memiliki khasiat yaitu anti tumor, antiparasit, pestisida, antiprotozoa, anthelmintik, dan antimikroba. *Annonaceous* acetogenin merupakan suatu kelompok fitokimia yang mengandung poliketida (Fatmawati *et al.*, 2018). Pemanfaatan

buah sirsak gunung masih rendah dikarenakan buah tersebut memiliki rasa yang hambar, dan masam ketika dikonsumsi sebagai buah segar. Sehingga diperlukan upaya untuk meningkatkan penerimaan buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) di kalangan masyarakat, salah satunya diolah menjadi minuman probiotik.

Minuman probiotik adalah minuman hasil fermentasi yang berasal dari buah sirsak gunung dan mengandung bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat selain biasanya digunakan sebagai pangan fungsional juga sering digunakan sebagai pengawet alami dari suatu produk pangan fermentasi (Ibrahim *et al.*, 2017). Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Putri (2017) menyatakan bahwa minuman probiotik dari sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) didapatkan jumlah total BAL yaitu 10^8 CFU/mL. Standar jumlah BAL produk probiotik berdasarkan SNI 2981 tahun 2009 adalah $\geq 10^7$ CFU/gram. Minuman probiotik dari sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) telah terbukti tidak bersifat toksik, sehingga aman dikonsumsi dan

memiliki berbagai manfaat bagi tubuh (Fidyasari *et al.*, 2020). BAL yang digunakan dalam produk minuman probiotik yaitu *Lactobacillus casei*. Menurut Fardiaz *et al.* (1996) dalam (Rizal *et al.*, 2016), penggunaan *Lactobacillus casei* mampu menghambat pertumbuhan bakteri bakteri patogen penyebab infeksi saluran pencernaan seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *V. cholerae*, dan *V. Parahaemolyticus*. Selain itu penggunaan *Lactobacillus casei* mampu menunjukkan ketahanan yang baik terhadap asam, dan total BAL yang tinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Sunaryanto *et al* (2014) *Lactobacillus casei* mampu bertahan hidup sampai dengan pH 2 dan mampu bertahan hidup dalam media dengan kandungan garam empedu sampai dengan 15%. Untuk meningkatkan *acceptability* dari minuman probiotik tersebut maka perlu diinovasi dalam bentuk lain salah satunya adalah permen.

Permen Probiotik adalah produk pengembangan dari minuman probiotik guna mencegah prevalensi

terhadap penyakit saluran pencernaan (Desfita *et al.*, 2020). Permen Probiotik adalah hasil dari minuman probiotik yang diformulasikan dari buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) dengan penambahan gula dan gelatin sehingga membentuk permen lunak. Alasan dibuat permen lunak karena produk tersebut relatif mudah dibuat dan banyak disenangi, dapat disajikan dalam berbagai bentuk warna, mempunyai tekstur yang kenyal, dan elastis sehingga banyak digemari dan menarik untuk dikonsumsi seluruh lapisan masyarakat terutama dikonsumsi oleh anak-anak (Sukardono, 2003 dalam Novianingsih, 2018). Pada pembuatan *soft candy* ini ditambahkan gula yaitu sukrosa. Menurut Buckle *et al* (2010), sukrosa berfungsi sebagai pemanis memperbaiki konsistensi, juga bersifat mengawetkan karena gula mampu mengikat air. Maka sangat tepat ada produk praktis yang dapat mengatur saluran pencernaan seperti *soft candy* dan memiliki cita rasa yang manis dapat dijadikan daya tarik konsumen. Dengan dibuat permen maka perlu dihitung kembali total bakteri asam

laktat yaitu *Lactobacillus casei* yang ada pada permen probiotik *Annona montana* Macf.

Melalui latar belakang diatas maka perlu dilakukan pengujian menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) untuk mengetahui total bakteri asam laktat (BAL) permen probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.).

METODE PENELITIAN

Perhitungan total bakteri asam laktat (BAL) permen probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) menggunakan metode penelitian ekperimental dan data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

Alat dan Bahan

Alat. Panci, blender (Miyako), pengaduk, kain saring, termometer, autoclave (American Tipe 75X), timbangan analitik (Ohaus), kompor, incubator (Memmert IN30), gelas ukur, erlenmeyer, pengaduk, wadah, oven, cawan petri, tabung reaksi, jarum ose, pipet volume, pipet tetes, kapas, kertas coklat dan alat penunjang lainnya.

Bahan. buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) yang

diperoleh dari jalan Prambatan – Gunungsari Batu, media MRSA, strain *Lactobacillus casei* dari produk komersial (yakult), buah *Annona montana* Macf, aquadest, glukosa, dan bahan penunjang lainnya.

Tahap Penelitian

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

Langkah selanjutnya setelah didapatkan permen probiotik dilakukan pengujian berupa

organoleptis, nilai pH dan perhitungan total bakteri asam laktat (BAL). Pengujian organoleptis menggunakan panca indera manusia, antara lain yaitu aroma (penciuman), rasa (pengecap), dan warna (penglihatan). Pengujian nilai pH menggunakan alat pH meter. Perhitungan total bakteri asam laktat (BAL) dilakukan dengan menghitung koloni yang tumbuh pada media *Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA).

Sebanyak 1gram sampel permen probiotik dimasukkan kedalam 9mL aquadest steril dihomogenkan, dari campuran tersebut diperoleh pengenceran 10^{-1} . Diambil 1mL dari pengenceran tabung reaksi 10^{-1} dan dimasukkan kedalam tabung reaksi berikutnya sampai diperoleh pengenceran 10^{-3} Diambil 1mL dari setiap pengenceran dimasukkan dalam cawan petri (pencawanan dilakukan duplo), kemudian ditambahkan ± 10 mL media MRSA steril. Campuran dihomogenkan dengan cara cawan petri digerakkan membentuk angka delapan. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama

24jam. Perhitungan total bakteri asam laktat dilakukan dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Total koloni yang terhitung harus memenuhi *Standar Plate Count* (SPC) yaitu antara 30 sampai 300 koloni per cawan petri.

HASIL PENELITIAN

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Maret 2021 di dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

Dibawah ini terdapat Tabel 4.1 yang menunjukkan karakteristik permen probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.).

Tabel 4.1 Karakteristik Permen

| Probiotik | | |
|------------------|-------------|--------------|
| Warna | Rasa | Aroma |
| Kuning pucat | Manis | Khas Sirsak |

Dibawah ini terdapat Tabel 4.2 yang menunjukkan nilai pH permen probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.).

Tabel 4.2 Nilai pH Permen Probiotik

| Nilai pH |
|-----------------|
| 5,9 |

Dibawah ini terdapat Tabel 4.3 yang menunjukkan total bakteri asam laktat (BAL) permen probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.).

Tabel 4.3 Hasil Perhitungan BAL Permen Probiotik

| Sampel | Jumlah Koloni (CFU/gram) |
|------------------|----------------------------|
| Permen Probiotik | $6,4 \times 10^2$ CFU/gram |

PEMBAHASAN

Hasil permen probiotik sirsak gunung yang dihasilkan berwarna kuning pucat, rasa manis dan beraroma khas sirsak, dengan total bakteri asam laktat $6,4 \times 10^2$ CFU/gram. Permen probiotik yang dihasilkan tersebut belum memenuhi standar produk probiotik berdasarkan SNI 2981 tahun 2009 dimana jumlah BAL yang dipersyaratkan adalah $\geq 10^7$ CFU/gram.

Nilai pH yang didapatkan pada permen probiotik sebesar 5,9 sedangkan nilai pH minuman probiotik sebesar 3,6. Perbedaan nilai pH tersebut menunjukkan bahwa terjadi penurunan total asam laktat. Hal tersebut kemungkinan menjadi

salah satu alasan juga total bakteri asam laktat pada permen probiotik mengalami penurunan. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram-positif yang mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Bakteri asam laktat (BAL) hidup di saluran pencernaan. Menurut Hartono (2003), nilai pH tidak selalu berbanding terbalik dengan total asam tertitiasi (kadar asam laktat). Hal tersebut sejalan dengan penelitian Sadler dan Murphy (2003) dimana terdapat perbedaan asam yang terukur menggunakan pH meter dan metode titrasi. Asam yang terukur dari pH meter adalah konsentrasi ion-ion H⁺ yang menunjukkan jumlah asam terdisosiasi. Pada pembuatan permen probiotik ditambahkan sukrosa yang cukup banyak sehingga dapat mengubah tekanan osmotik dan menurunkan *water activity* sehingga bakteri mengalami lisis dan pH produk meningkat. Peningkatan pH pada produk akan mempengaruhi total bakteri asam laktat (BAL).

Pada proses pembuatan permen probiotik *Annona montana* Macf. dilakukan penambahan hasil

minuman probiotik pada suhu 80°C, tujuannya untuk mempertahankan tekstur permen agar tetap baik. Proses *mixing* dilakukan pada suhu diatas 100°C berfungsi membuat larutan menjadi lewat jenuh (*supersaturated*) sampai tingkat yang ditentukan dimana proses kristalisasi membentuk ukuran kristal yang diinginkan. Suhu berhubungan dengan daya larut gula dalam pembuatan permen. Karamelisasi sukrosa akan terjadi apabila suhunya telah melampaui titik leburnya, dimana titik lebur sukrosa sebesar 160°C (Harahap, 2010). Ketika pada suhu 80°C dilakukan penambahan hasil minuman probiotik maka kondisi ini dapat mempertahankan tekstur dari permen, tetapi hal tersebut menyebabkan terjadinya penurunan total bakteri asam laktat. Hal tersebut didukung oleh (Harun *et al.*, 2013) yang menyatakan BAL akan tumbuh lebih banyak pada kondisi optimum apabila tidak maka akan menyebabkan penurunan jumlah bakteri. Menurut Leisner *et al*, 2002 menyatakan bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri asam laktat

adalah suhu. Kebanyakan bakteri dalam kultur laktat mempunyai suhu optimum 30°C. Suhu juga memiliki peranan penting dalam mempengaruhi viabilitas, tanpa adanya suhu yang tepat bagi suatu mikroorganismenya tentunya jumlahnya akan menurun.

Pada penelitian ini proses pembuatan permen probiotik dilakukan dengan penambahan sukrosa yang cukup banyak. Dimana sukrosa berfungsi untuk proses kristalisasi pada pemuatan permen. Selain itu gula atau sukrosa diperlukan untuk menghasilkan rasa manis dan keawetan pada daya simpannya, sehingga sisi positifnya bahwa hampir semua jenis permen merupakan sumber energi (kalori). Selain itu penambahan sukrosa dalam pembuatan permen dapat menjadi sumber nutrisi untuk pertumbuhan BAL. Hal tersebut sependapat dengan Badel *et al.*, (2011), sukrosa sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan mikroorganismenya yang merupakan sumber karbon terbaik untuk fermentasi berbagai jenis bakteri *Lactobacilli*. Akan tetapi terdapat dampak negatif juga dalam

penambahan sukrosa yang cukup banyak yaitu mempengaruhi pertumbuhan BAL yang menyebabkan total bakteri asam laktat menurun. Hal ini sejalan dengan penelitian Rusma dkk., (2016) sampel menggunakan kultur campuran *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* justru memiliki jumlah sel hidup di bawah standar minimal yaitu $7,63 \times 10^3$ CFU/mL dengan penambahan sukrosa berlebih. Rendahnya viabilitas BAL pada sampel tersebut kemungkinan disebabkan pertumbuhan inhibitor yakni kandungan glukosa yang tinggi pada produk. Dimana kondisi substrat dengan kandungan glukosa yang berlebihan (>12%) menjadikan lingkungan terlalu pekat sehingga menyebabkan mikroorganisme mengalami plasmolisis sel yang akhirnya berakibat terhambatnya perkembangbiakan BAL (Hidayat *et al.*, 2013)

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan total bakteri asam laktat (BAL) permen probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) adalah $6,4 \times 10^2$ CFU/gram sehingga dapat

disimpulkan belum memenuhi standar produk probiotik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam proses penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

- Badel S, Bernardi T, Michaud P. New perspectives for Lactobacilli exopolysaccharides. *Biotechnol Adv.* 2011;29(1):54–66.
- Badan Standardisasi Nasional. Yogurt. Standar Nasional Indonesia. 2009. (SNI 2981-2009).
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet dan M. Wootton. (2010). Ilmu Pangan. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Dahana, K., Warisno, 2012. *Daun Sirsak Langkah Alternative Menggempur Penyakit*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Desfita, S., Sari, W., Pato, U., 2020. Susu Fermentasi Kedelai Dan Madu Potensi Untuk Meningkatkan Kesehatan Tulang Wanita Menopause. Deepublish.
- Fatmawati, D., Suparmi, S., Yusuf, I.,

- Isradji, I., 2018. Selektivitas Antikanker Ekstrak Daun Sirsak (*Annona montana*) Pada Lini Sel Kanker Payudara. *BIO-SITE Biol. Dan Sains Terapan*. 4, 78–83.
- Fidyasari, A., Raharjo, S.J., Setyowati, M., 2020. *UJI TOKSISITAS AKUT MINUMAN PROBIOTIK SIRSAK GUNUNG (Annona montana Macf.)*
- Hanifah, N.Z., 2015. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Metabol Daun Annona muricata L Terhadap Larva Artemia salina Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Skripsi. Fak. Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Harahap. 2010. Pengaruh Perbandingan Konsentrasi Sukrosa dengan Sirup Glukosa dan Lama Pemasakan Terhadap Mutu Kembang Gula. Skripsi .Universitas Sumatra Utara.
- Hartono, M. 2003. Pembuatan Yoghurt Sinbiotik dengan Menggunakan Kultur Campuran *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, dan *Lactobacillus casei* galur Shirota. Naskah Skripsi S.1. Fakultas Teknologi Pertanian. Intitut Pertanian Bogor, Bogor.
- Harun, N., Rahmayuni, dan Y. E. Sitepu. 2013. Penambahan gula kelapa dan lama fermentasi terhadap kualitas susu fermentasi kacang merah (*Phaesolus vulgaris L.*). *Ejournal* 12(2): 9-14.
- Hidayat, I.R., Kusrahayu, K., Mulyani, S., 2013. Total Bakteri Asam Laktat, Nilai pH Dan Sifat Organoleptik Drink Yoghurt Dari Susu Sapi Yang Diperkaya Dengan Ekstrak Buah Mangga. *Anim. Agric. J.* 2, 160–167.
- Ibrahim, A., Fridayanti, A. and Delvia, F. (2017) ‘Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari buah mangga (*Mangifera indica L.*)’, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), pp. 159–163.

- Leisner, J.J., M. Vancanneyt, K. Lefebvre, K. Vandemeulebroecke, B. Hoste, N.E. Vilalta, G. Rusul, and J. Swings. 2002. *Lactobacillus durianis sp.nov., isolated from an acid-fermented condiment (tempoyak) in Malaysia. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 52: 927-931.
- Novianingsih, G.A., 2018. PENGARUH PERBANDINGAN GLUKOSA DAN SUKROSA DAN JENIS PENSTABIL TERHADAP KARATERISTIK SOFT CANDY BUAH CAMPOLAY (Pouteria campechiana) (PhD Thesis). Fakultas Teknik Unpas.
- Putri, D.A., 2017. Keefektifan Antidiare Minuman Probiotik Dari Fermentasi Buah Sirsak Gunung (*Annona montana Macf.*) Pada Mencit (*Mus musculus*) Yang Terinfeksi Bakteri *Escherichia coli*. Karya Tulis Ilmiah tidak diterbitkan. Malang: Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.
- Rizal, S., Erna, M., Nurainy, F., Tambunan, A.R., 2016. Karakteristik Probiotik Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas dengan Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat. *J.Kim.Terap.Indonesia*, 1 18, 70.
- Rusma Yulita, Ekawati Purwijantiningsih, Boy Rahardjo Sidharta. 2016. Viabilitas Bakteri Asam Laktat dan Aktivitas Antimikrobia Susu Fermentasi Terhadap *Streptococcus pyogenes, Vibrio cholerae* dan *Candida albicans* *Viability of Lactic Acid Bacteria and Antimicrobial Activity of Fermented Milk against Streptococcus pyogenes, Vibrio cholerae and Candida albicans.* SKRIPSI. Program Studi Teknobiologi Pangan, Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
- Sadler, G.D. dan Murphy, P.A. 2003. pH and Titratable Acidity. Di

dalam: Suzane Nielsen
(Editor). *Food Analysis*. Edisi
Ketiga. Purdue University,
Indiana.

Sunaryanto, R., Martius, E., Marwoto,
B., 2014. Uji Kemampuan
Lactobacillus casei Sebagai
Agensia Probiotik. *Jurnal
Bioteknologi Biosains Indonesia*.
JBBI (1), 9–14.

Wulandari, S., Fidyasari, A., 2017.
*Senyawa Metabolit Sekunder
Dan Aktivitas Antioksidan
Pada Ekstrak Buah Sirsak
Gunung (Annona montana)*.
Karya Tulis Ilmiah tidak
diterbitkan. Malang: Akademi
Farmasi Putera Indonesia
Malang.