

PERTUMBUHAN *L. CASEI* PADA BERBAGAI LAMA FERMENTASI MINUMAN SINBIOTIK DARI EKSTRAK CINCAU HIJAU (*PREMNA OBLONGIFOLIA MERR*)

L. CASEI GROWTH ON VARIOUS FERMENTATION TIME SINBIOTIC BEVERAGE OF GREEN CINCAU EXTRACT (PREMNA OBLONGIFOLIA MERR)

Suharyono¹⁾, Samsul Rizal¹⁾, Fibra Nurainy¹⁾, Muhamad Kurniadi²⁾

¹⁾ Dosen Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Jl.Ir.Sumantri Brojonegoro No.1 Bandar Lampung 35145

²⁾ Peneliti UPT.Balai Pengembangan Proses dan Teknologi LIPI, Desa Gading, Playen Gunungkidul, Yogyakarta, Tlp.0274392570, email :HM_KUR@yahoo.com

ABSTRACT

The objective of this research was to get optimal fermentation time in creating of sinbiotic beverage from green cincau leave extract in such a way that high total content of lactic acid bacteria will be obtained. The design which was utilized to conduct this research was Completely Randomized Design. The experiment was arranged in three times repetition with single factor i.e fermentation duration which consist of 7 stage i.e 0 hour as a control, 8, 16, 24, 32, 40, and 48 hours at temperature of 37°C. The result of obtained observation then was examined its homogeneity with Bartlett test and growing data with Tuckey test, then the data were analyzed its heterogeneity to know the presence of difference between 1% and 5% of Less Significant Differential. The result showed that the appropriate and optimal duration of fermentation to produce sinbiotic beverage of green cincau leaves extract was 16 hours with product characteristic possess highest total amount of LAB at $1,78 \times 10^{10}$ CFU/ml with pH 3,40 and acid total 3.30%.

Keywords : Extract of green cincau leave, Fermentation, *Lactobacillus casei*, Sinbiotic beverage

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan waktu fermentasi optimal dalam pembuatan minuman sinbiotik dari ekstrak cincau hijau sehingga didapat total kandungan bakteri asam laktat. Rancangan percobaan dalam penelitian ini adalah rancangan kelompok acak lengkap. Penelitian disusun dalam tiga kali pengulangan dengan satu faktor lama fermentasi yang terdiri dari 7 tahap yaitu 0 sebagai kontrol, 8, 16, 24, 32, 40, dan 48 jam pada suhu 37°C. Hasil pengamatan kemudian diuji dengan Uji Bartlett dan dengan Uji Tuckey, untuk mengetahui adanya perbedaan antara 1% dan 5% dari perbedaan yang kurang signifikan. Hasilnya menunjukkan bahwa lama fermentasi optimal untuk menghasilkan minuman sinbiotik cincau hijau ekstrak daun adalah 16 jam dengan karakteristik produk memiliki jumlah tertinggi di BAL $1,78 \times 10^{10}$ CFU / ml dengan pH 3,40 dan total asam 3,30%.

Kata kunci: ekstrak daun cincau hijau, fermentasi, *Lactobacillus casei*. minuman sinbiotik

PENDAHULUAN

Cincau merupakan bahan makanan tradisional yang telah lama dikenal masyarakat dan digunakan sebagai isi minuman segar. Cincau disenangi karena mempunyai rasa khas, segar dan dingin serta harganya murah. Menurut Nurdin,dkk. (2006), berdasarkan pengujian *in vitro* dan *in vivo* Komponen Pembentuk Gel (KPG) cincau berpotensi sebagai prebiotik dan mampu meningkatkan total BAL. Hal ini dikarenakan KPG cincau hijau memiliki sifat laksatif dan sekaligus mampu meningkatkan densitas bakteri asam laktat (BAL) digesta tikus percobaan.

Salah satu bentuk pengembangan produk olahan dari daun cincau hijau yaitu dengan memanfaatkannya sebagai substrat

dalam pembuatan minuman sinbiotik. Untuk membuat suatu produk sinbiotik diperlukan kandungan substrat (prebiotik) yang mampu menjaga kelangsungan hidup dan pertumbuhan bakteri yang menguntungkan bagi inangnya (probiotik). Apabila suatu minuman mengandung kombinasi dari keduanya dan bersifat sinergis maka minuman tersebut disebut sebagai minuman sinbiotik (Anonim, 2008).

Proses fermentasi dapat berlangsung dengan baik dengan adanya inokulum sebagai starter dan media fermentasi yang menyediakan nutrient untuk pertumbuhan bakteri (prebiotik), bahan pembentuk sel, dan biosintesis produk metabolisme. Jenis bakteri asam laktat (BAL) dan substrat yang digunakan merupakan faktor yang penting untuk memperoleh minuman fermentasi

laktat yang berkualitas. Selain itu, penetapan lama fermentasi juga akan berpengaruh terhadap sifat organoleptik minuman fermentasi laktat yang dihasilkan. Lama fermentasi akan mempengaruhi karakteristik minuman fermentasi yang dihasilkan karena adanya perbedaan total asam yang dihasilkan oleh BAL dan akan berimbas pada menurunnya pH produk dan rasa yang dihasilkan. Waktu fermentasi yang terlalu lama menghasilkan minuman sinbiotik dengan pH yang rendah, hal ini disebabkan produksi asam laktat oleh bakteri asam laktat terus berlangsung sehingga kandungan total asam meningkat dan pertumbuhan bakteri asam laktat juga meningkat (Trivalianza, 2004). Akibat pH yang terlalu rendah maka rasa minuman sinbiotik menjadi terlalu asam sehingga dapat menurunkan penerimaan konsumen dan kemampuan untuk tumbuh (viabilitas) sel bakteri probiotik. Sehingga nantinya dapat mengurangi efektifitas konsumsi minuman sinbiotik. Bila waktu fermentasi terlalu singkat maka pH masih stabil, total asam masih rendah, dan pertumbuhan bakteri asam laktat juga rendah (Trivalianza, 2004).

Hasil penelitian Nurainy dan Samsu (2007), menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak cincau hijau terbaik yang dapat difermentasi oleh *Lactobacillus casei* adalah 0,5% dengan lama fermentasi 48 jam. Sedangkan untuk konsentrasi susu skim dan sukrosa terbaik masing-masing 2% (Suharyono dkk., 2009). Penelitian lebih lanjut untuk menentukan lama fermentasi yang optimum bagi *Lactobacillus casei* masih diperlukan agar menghasilkan minuman sinbiotik dari ekstrak daun cincau hijau dengan karakteristik terbaik yang ditunjukkan oleh kadar serat pangan yang tinggi dan total BAL yang tinggi yaitu $\geq 1 \times 10^7$ koloni/ml atau setara dengan jumlah total BAL minuman prebiotik pada umumnya.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cincau dari tanaman cincau pohon (*Premna oblongifolia*

Merr) yang dipetik mulai dari daun ke 5 ke arah pangkal. Daun cincau hijau ini diperoleh dari THP Universitas Lampung Bandar Lampung. Inokulum kultur murni *Lactobacillus casei* diperoleh dari Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Enzim untuk analisis kadar serat seperti enzim α -amilase, pepsin dan pankreatin. Bahan kimia yang digunakan seperti asam sitrat, buffer fosfat, MRS Broth dan MRS Agar untuk pertumbuhan kultur, NaCl 0,85%, etanol, NaOH 0,1 N, air destilat, indikator phenolphthalein dan bahan analisis kimia lainnya.

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan dua digit (Mettler PJ 3000), timbangan 4 digit (OHAUS, Explorer Pro), blender (Phillips), inkubator (Memmert), pH meter (Hanna Instruments 8424), autoklaf (Wise Clave, Daihan Scientific), stirrer (VWR Hotplate/Stirrer), waterbath (Polyscience Waterbath), microwave (Panasonic), oven (Heraeus dan Phillips Harris Ltd), furnace (Thermolyne 1500), colony counter (Stuart Scientific), baskom plastik, kain saring (Hero), wadah botol, spatula, pisau stainless steel, aluminium foil, erlenmeyer, dan alat-alat gelas untuk analisis kimia dan mikrobiologi.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL). Percobaan disusun 3 kali ulangan dengan faktor tunggal yaitu lama fermentasi yang terdiri dari 7 taraf yaitu 0 jam sebagai kontrol, 8, 16, 24, 32, 40, dan 48 jam pada suhu 37°C.

Data hasil pengamatan yang diperoleh diuji kesamaan ragamnya dengan uji Bartlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey, kemudian data dianalisis sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan. Data selanjutnya dianalisis lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf nyata 1% dan 5%.

Pelaksanaan Penelitian

1. Ekstraksi daun cincau hijau

1.1. Pembuatan bubuk daun cincau

Pembuatan bubuk daun cincau dilakukan dengan menggunakan metode Nurdin,dkk. (2004). Daun cincau yang digunakan adalah daun cincau yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, yaitu 5 ruas dari pucuk cabang dahan cincau. Daun cincau yang diperoleh kemudian dicuci hingga bersih dan tangkai daunnya dibuang. Daun cincau yang telah dibersihkan kemudian dipotong menjadi ukuran sekitar 3 cm x 1,5 cm. Daun tersebut lalu dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Daun cincau dianggap kering bila daun terasa renyah bila diremas. Daun cincau yang telah kering kemudian dihancurkan dengan menggunakan blender hingga menjadi bubuk.

1.2. Proses ekstraksi bubuk daun cincau

Sebanyak 25 gram bubuk daun cincau hijau dicampurkan dengan air panas (suhu $\pm 100^{\circ}\text{C}$) sebanyak 500 ml. Air yang akan digunakan sebelumnya ditambahkan asam sitrat 0,1% (b/v). Kemudian dilakukan pencampuran dengan stirrer "VWR Hot Plate" dengan kecepatan penuh selama 15 menit untuk membantu proses ekstraksi. Campuran tersebut disaring dengan menggunakan kain saring dengan merk "Hero" sambil dilakukan peremasan hingga diperoleh cairan kental ekstrak daun cincau. Cairan ekstrak daun cincau tersebut dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 48 jam. Hasil pengeringan tersebut kemudian dihancurkan dengan menggunakan blender hingga tingkat kehalusan tertentu. Diagram alir proses ekstraksi bubuk daun cincau hijau dapat dilihat pada **Gambar 1**.

2. Persiapan starter

Persiapan starter dilakukan dengan memodifikasi metode Trivalianza (2004). Kultur bakteri yang akan digunakan (*Lactobacillus casei*) dipindahkan dari kultur

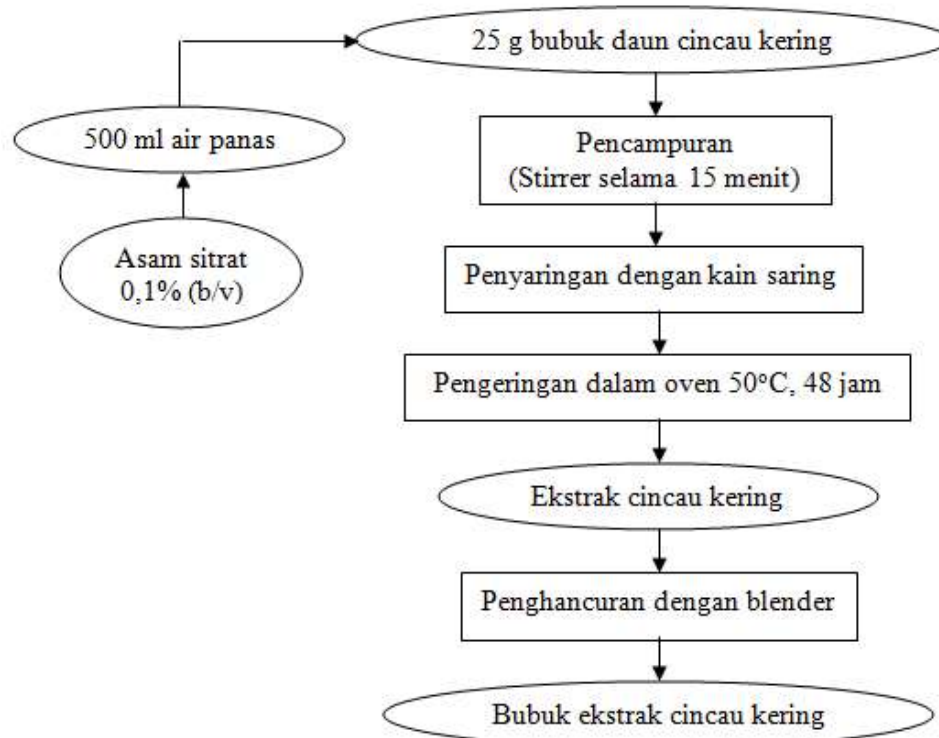
stok ke dalam tabung reaksi berisi media MRS Broth steril, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian sebanyak 1-2 ose kultur *Lactobacillus casei* diinokulasikan ke dalam media yang mengandung susu skim steril (0,5 gram susu skim dalam 10 ml aquadest, disterilisasi pada suhu 121° C selama 15 menit), selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Kultur yang dihasilkan disebut sebagai kultur induk.

Selanjutnya dari kultur induk diinokulasikan ke media yang mengandung susu skim steril yaitu sebanyak 4% (v/v) (0,4 ml kultur induk ditambahkan ke dalam 9,6 ml media susu skim) dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C sehingga dihasilkan kultur antara. Kultur antara diinokulasikan sebanyak 4% (v/v) (4 ml kultur antara ditambahkan ke dalam 96 ml media susu skim) ke dalam media yang mengandung susu skim steril dengan penambahan sukrosa 3% (b/v), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk mendapatkan kultur kerja.

Pada proses pembuatan minuman sinbiotik ekstrak daun cincau hijau, kultur kerja sebanyak 4% (v/v) (4 ml kultur kerja ditambahkan ke dalam 96 ml media) akan digunakan sebagai starter atau inokulum. Kultur induk disimpan di dalam lemari pendingin (suhu kurang dari 10°C) dan setiap seminggu diperbaharui kembali dengan cara mengambil 1 sampai 2 ose starter induk kemudian dimasukkan susu skim yang telah disterilisasikan. Untuk penyimpanan kultur dilakukan pada media MRS Agar dengan menggunakan metode tusuk, karena bakteri bersifat mikroaerofilik.

3. Pembuatan minuman sinbiotik ekstrak daun cincau hijau

Proses pembuatan minuman sinbiotik dari ekstrak cincau hijau diterapkan dengan menggunakan metode Suharyono dkk., (2009). Sebanyak 2%(b/v) susu skim dan 2%(b/v) sukrosa ditambahkan aquades hingga volumenya menjadi 100 ml, selanjutnya dilakukan penambahan ekstrak cincau hijau sebanyak 0,5% (b/v), kemudian campuran ini diaduk hingga rata menggunakan stirrer selama 2 menit. Campuran ini dipasteurisasi pada



Gambar 1. Diagram Alir Pembuatan Bubuk Ekstrak Daun Cincau
Sumber : Nurdin, dkk. (2004)

suhu 80-85°C selama 15 menit, kemudian didinginkan hingga suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan inokulasi kultur kerja *Lactobacillus casei* sebanyak 4% (v/v) dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 0, 8, 16, 24, 32, 40, dan 48 jam. Diagram alir proses pembuatan minuman sinbiotik ekstrak daun cincau hijau dapat dilihat pada **Gambar 2**.

Analisis

1. Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Sebanyak 1 ml sampel diencerkan dengan 9 ml larutan garam fisiologis steril. Dari campuran tersebut diperoleh pengenceran 10^{-1} . Campuran kemudian dihomogenkan dan diambil 1 ml larutan dari tabung pertama dan dimasukkan kedalam tabung reaksi kedua yang juga berisi 9 ml larutan garam fisiologis sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} dan seterusnya sampai diperoleh pengenceran yang diinginkan. Dari pengenceran yang dikehendaki diambil dengan pipet 1 ml sampel lalu dimasukkan ke dalam cawan petri steril, lalu ditambahkan kira-kira 10-15 ml media MRS Agar steril. Cawan yang telah berisi media dan sampel

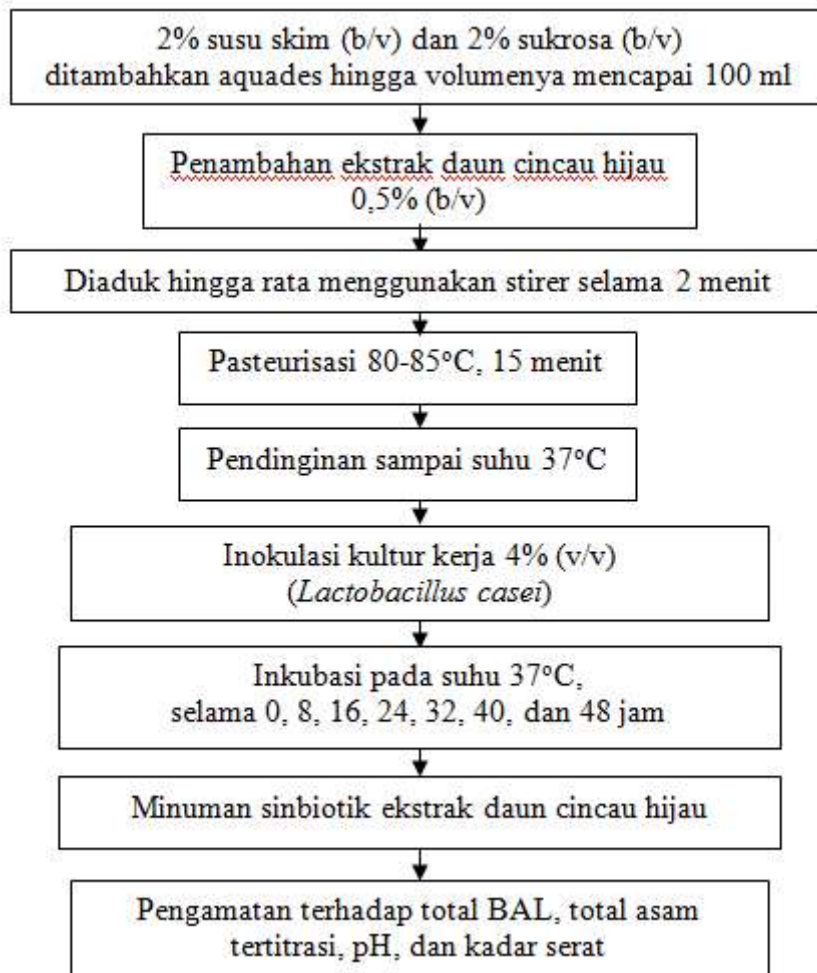
ini diratakan dengan cara menggerakkan secara vertikal membentuk angka 8 dan biarkan sampai membeku, kemudian cawan diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam dan dihitung koloni yang tumbuh dengan menggunakan alat penghitung koloni (*colony counter*). Total koloni yang terhitung harus memenuhi standar “*International Commission Microbiology Food*” (ICMF) yaitu antara 30 sampai dengan 300 koloni per cawan petri (Fardiaz, 1987).

Total BAL (CFU/ml)

$$= \text{Jumlah koloni terhitung} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

2. Total Asam Tertitrasi

Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan 9 ml air destilat. Campuran tersebut kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N. Untuk mengamati perubahan warna dari tidak berwarna menjadi merah muda digunakan phenolphthalein sebagai indikator titik akhir titrasi.



Gambar 2. Diagram Alir Pembuatan Minuman Sinbiotik Ekstrak Daun Cincau Hijau (Sumber : Suharyono dkk., 2009)

Total asam tertitrasi ditentukan sebagai asam laktat dengan persamaan :

$$\text{Total asam tertitrasi (\% b/v)} = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times 90 \times 0,1}{\text{Volume sampel (ml)}} \times 100\%$$

Keterangan : N = Normalitas larutan NaOH

3. Derajat Keasaman (pH)

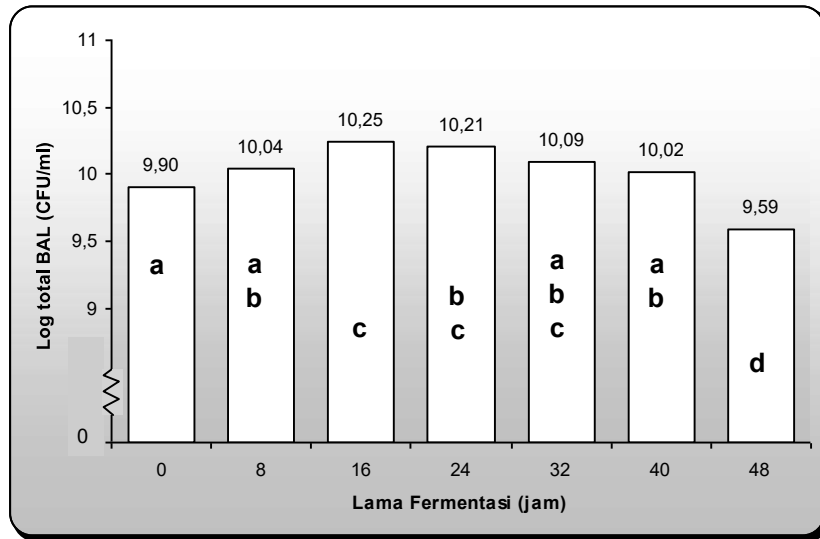
Nilai pH ditentukan dengan menggunakan pH meter. Sebelum dilakukan pengukuran, pH meter harus dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan buffer 7,0 dan 4,0. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap larutan sampel dengan mencelupkan elektrodanya ke dalam larutan sampel dan dibiarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Bakteri Asam Laktat Minuman Sinbiotik Ekstrak Daun Cincau Hijau

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh sangat nyata terhadap total bakteri asam laktat (BAL) minuman sinbiotik ekstrak daun cincau hijau. Log total BAL tertinggi dihasilkan oleh minuman sinbiotik yang difermentasi selama 16 jam, yaitu sebesar 10,25. Berdasarkan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%, nilai ini tidak berbeda nyata dengan minuman sinbiotik yang difermentasi selama 24 dan 32 jam.

Pertumbuhan merupakan salah satu ciri atau sifat mikroorganisme yang penting dalam fermentasi. Pertambahan jumlah *Lactobacillus casei* dapat didefinisikan sebagai pertumbuhan. Selama fermentasi 0 hingga 8 jam terjadi peningkatan jumlah sel



Gambar 3. Log Total BAL Minuman Sinbiotik Ekstrak Daun Cincau Hijau yang Difermentasi selama 0 hingga 48 jam

Keterangan : Nilai tengah yang diikuti dengan huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda menurut uji BNT 5% = 0,187

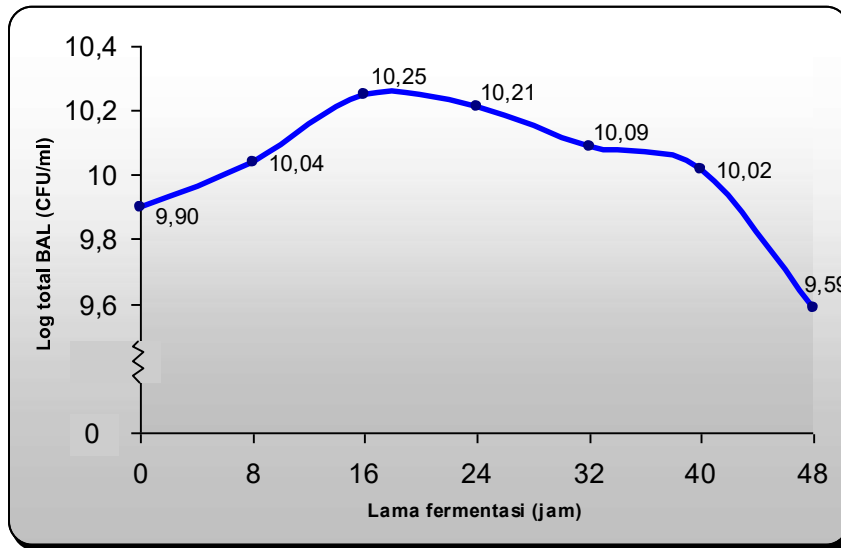
bakteri asam laktat, dari $8,29 \times 10^9$ CFU/ml menjadi $1,09 \times 10^{10}$ CFU/ml atau sebesar 0,1 log total bakteri (**Gambar 3**). Pertambahan jumlah mikroba tidak terjadi secara signifikan, diduga bakteri asam laktat berada dalam fase lag atau pertumbuhan awal. Fase ini berlangsung segera setelah inokulasi pada media nutrisi dan merupakan periode adaptasi.

Jika mikroba dipindahkan ke dalam suatu media, mula-mula akan mengalami fase adaptasi untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan sekitarnya yang baru. Lamanya fase adaptasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya media dan lingkungan pertumbuhan serta jumlah inokulum awal. Media dan lingkungan pertumbuhan sama seperti media dan lingkungan sebelumnya, mungkin tidak diperlukan waktu adaptasi. Begitu pula dengan jumlah inokulum, semakin tinggi jumlah awal sel maka fase adaptasi akan berlangsung singkat (Marniza dan S.Rizal, 2004).

Setelah fase adaptasi sel, yaitu terjadi perubahan-perubahan yang diperlukan, sel beranjak ke fase pertumbuhan lambat. Pada fase ini bakteri asam laktat akan mulai membelah dengan kecepatan rendah karena baru mulai menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan dan media yang baru. Pertambahan jumlah *Lactobacillus casei*

dapat pula terjadi sangat cepat, tanpa melewati fase lag, diduga berhubungan dengan kondisi lingkungan dan media pertumbuhan yang sama seperti media dan lingkungan sebelumnya, sehingga dimungkinkan tidak perlu waktu adaptasi. Namun berdasarkan hasil penelitian, pertambahan jumlah bakteri asam laktat pada fermentasi ke 0 menuju 8 jam berjalan lambat, hal ini mungkin disebabkan sel masih berada dalam fase adaptasi dan tingkat pertumbuhannya belum optimal.

Peningkatan jumlah sel bakteri terus berlanjut hingga waktu fermentasi 16 jam, yaitu nilai log total BAL menjadi 10,25. Pada fermentasi 8 hingga 16 jam, sel berada dalam fase logaritmik yaitu fase dimana bakteri asam laktat membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Fase logaritmik merupakan periode pertumbuhan seimbang atau status mantap dengan laju pertumbuhan spesifik konstan (Judoamidjojo, dkk., 1990). Dalam seluruh proses fermentasi, komposisi kimia media mengalami perubahan karena nutrisi akan dikonsumsi dan zat-zat metabolit akan diproduksi, sehingga lingkungan berada dalam suatu status yang mantap. Menurut Caldwell (1994), sel akan membelah diri dengan laju yang konstan, massa sel bertambah dan pertumbuhan sel berada



Gambar 4. Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Minuman Sinbiotik Ekstrak Daun Cincou Hijau selama Fermentasi 0 hingga 48 jam

dalam keadaan seimbang pada fase pertumbuhan logaritmik.

Pada waktu fermentasi 24 jam pertumbuhan sel bakteri mulai menurun, namun nilainya relatif konstan dan tidak terlalu signifikan (**Gambar 4**). Pada waktu fermentasi ini jumlah log total sel bakteri asam laktat sebanyak 10,21. Jumlah sel yang relatif konstan ini menunjukkan bahwa sel bakteri berada dalam fase pertumbuhan tetap (statis). Menurut Judoamidjojo,dkk. (1990), fase stasioner akan terjadi bila semua sel berhenti membelah diri atau bila sel hidup dan sel mati mencapai keseimbangan. Pada fase ini jumlah populasi yang relatif konstan karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati.

Penurunan laju pertumbuhan kembali terjadi pada waktu fermentasi 32 hingga 40 jam, namun nilai penurunan log total bakteri asam laktat cukup signifikan dari 10,21 pada waktu fermentasi 24 jam menjadi 10,02. Menurunnya jumlah sel bakteri ini menunjukkan sel telah memasuki fase menuju kematian. Pada fase ini jumlah sel yang hidup lebih sedikit dibandingkan dengan sel yang mati, hal ini diduga disebabkan oleh nutrisi yang telah sangat berkurang dan kondisi lingkungan yang kurang mendukung untuk bertahan hidup.

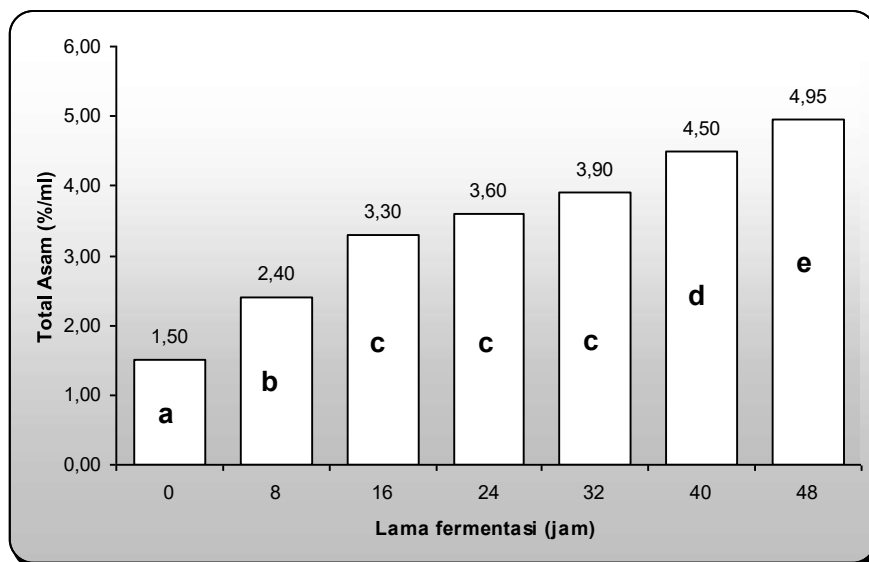
Fase kematian terjadi setelah waktu fermentasi ke-40 jam. Hal ini diketahui dari penurunan log total bakteri asam laktat. Jumlah log total sel bakteri yang masih

bertahan hidup pada waktu fermentasi 48 jam yaitu 9,59. Penurunan jumlah populasi mikroba ini dapat disebabkan oleh telah habisnya nutrisi di dalam media dan energi cadangan di dalam sel telah habis. Selain itu hasil-hasil metabolisme mikroba itu sendiri kemungkinan beracun, sehingga dapat menjadi penyebab kematian sel. Menurut Caldwell (1994), jumlah sel yang mati lebih banyak sehingga terjadi penurunan jumlah populasi mikroba.

Total Asam Titrasi Minuman Sinbiotik Ekstrak Daun Cincou Hijau

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh sangat nyata terhadap total asam minuman sinbiotik ekstrak daun cincou hijau. Minuman sinbiotik ekstrak daun cincou hijau yang difermentasi selama 48 jam menghasilkan nilai total asam tertinggi, yaitu 4,95 %/ml. Berdasarkan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%, nilai tersebut menunjukkan perbedaan yang nyata dengan nilai total asam lainnya (**Gambar 5**).

Dari **Gambar 5**, terlihat bahwa pada 0 jam, jumlah total asam yang terhitung sangat kecil yaitu 1,50%. Asam yang terdapat di dalam minuman sinbiotik ini diduga berasal dari asam sitrat yang tersisa pada ekstrak daun cincou hijau, karena pada proses pembuatan bubuk ekstrak daun cincou ditambahkan asam sitrat yang berfungsi sebagai penghambat terbentuknya gel dari



Gambar 5. Nilai Perubahan Total Asam Minuman Sinbiotik Ekstrak Daun Cincau Hijau yang Difermentasi selama 0 hingga 48 jam

Keterangan : Nilai tengah yang diikuti dengan huruf yang sama dinyatakan tidak berbeda menurut uji BNT 5% = 0,688

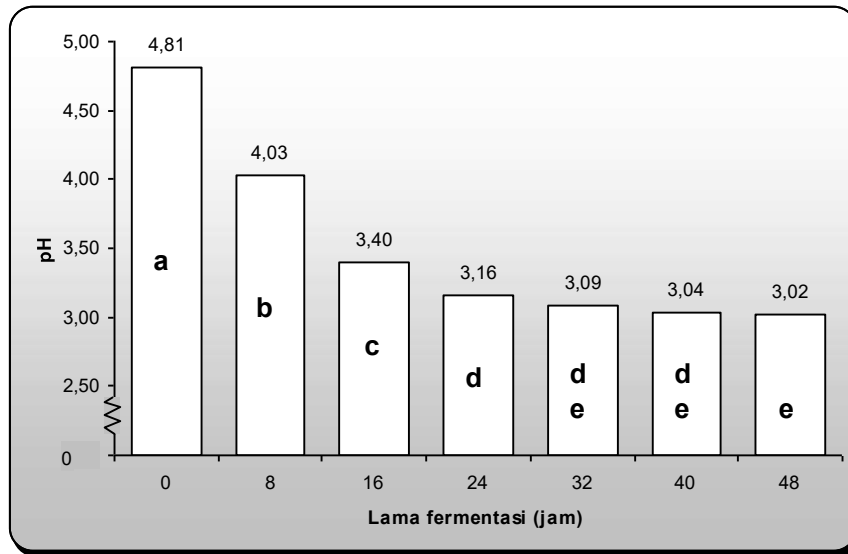
ekstrak daun cincau sehingga seluruh serbuk daun cincau hijau dapat terlarut. Selain itu asam sitrat digunakan untuk membantu proses pemecahan pektin dari dinding sel serbuk daun cincau hijau.

Pada fermentasi ke 16 jam, jumlah total asam yang terhitung sebesar 3,30%. Jumlah ini meningkat dari perlakuan sebelumnya, diduga *Lactobacillus casei* telah melakukan proses fermentasi terhadap substrat ekstrak daun cincau hijau dan menghasilkan asam laktat sebagai produk fermentasinya. Jumlah total asam pada lama fermentasi 16 jam tidak berbeda nyata dengan lama fermentasi 24 dan 32 jam yaitu sebesar 3,60 dan 3,90%. Dalam penelitian ini, laju peningkatan total asam tidak selalu berbanding lurus dengan peningkatan jumlah sel bakteri asam laktat. Walaupun *Lactobacillus casei* telah memasuki fase stasioner, namun pada fase ini, jumlah total asam yang terdapat dalam minuman sinbiotik terus meningkat. Menurut Judoamidjojo,dkk. (1990), selama fase pertumbuhan logaritmik akan dihasilkan asam laktat yang merupakan metabolit primer. Setelah sel memasuki fase stasioner, laju pertumbuhannya menurun karena substrat berkurang dan juga penumpukan metabolit primer. Penumpukan asam laktat dapat mengaktifkan enzim-enzim yang memetabolisir asam laktat lebih lanjut

menjadi asam-asam lemak rantai pendek seperti asetat, propionat, dan butirat.

Selama proses fermentasi, komposisi kimia media mengalami perubahan sebagai akibat penggunaan nutrisi oleh bakteri asam laktat dan produksi zat-zat metabolit. Asam laktat yang terbentuk merupakan metabolit primer dari proses fermentasi ini. Pada fase stasioner, massa sel total mungkin konstan tetapi banyaknya sel hidup cenderung menurun, proses metabolisme mungkin saja masih berlangsung dan terjadi penimbunan produk (metabolit primer dan sekunder) dalam media. Dengan demikian, meskipun terjadinya penurunan jumlah sel bakteri, namun jumlah asam sebagai produk metabolitnya tetap tinggi.

Menurut Judoamidjojo,dkk. (1990), sintesis metabolit sekunder dimulai pada saat habisnya beberapa zat gizi di dalam medium pertumbuhan bakteri asam laktat. Keterbatasan zat gizi tersebut menyebabkan terakumulasinya inducer enzim metabolit sekunder dan terlepasnya gen-gen yang dapat memicu sintesis metabolit sekunder. Biosintesis metabolit sekunder berkaitan dengan terjadinya induksi enzim yang berasal dari hasil metabolisme sel sendiri. Beberapa zat yang diduga sebagai metabolit sekunder adalah asam-asam lemak rantai pendek seperti asam asetat, propionat dan butirat serta beberapa senyawa antibakteri.

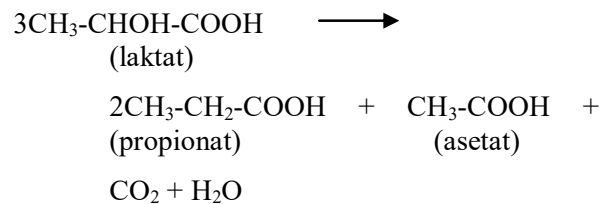


Gambar 6. Nilai Perubahan pH Minuman Sinbiotik Ekstrak Daun Cincau Hijau yang Difermentasi selama 0 hingga 48 jam

Menurut Nur (2005), asam-asam organik yang terbentuk dari hasil fermentasi merupakan hasil hidrolisis substrat (dalam hal ini ekstrak cincau hijau) dan akibat aktivitas bakteri. Bakteri *Lactobacillus casei* mempunyai sifat heterofermentatif yang akan memfermentasi monosakarida (glukosa) menjadi senyawa-senyawa dengan struktur lebih sederhana (asam laktat sebagai produk utama, dan sejumlah kecil asam asetat, butirat, propionat, CO₂, dan beberapa produk akhir lainnya).

Total asam yang dihitung dalam minuman sinbiotik ini sebagian besar merupakan asam laktat dan sebagian kecil merupakan asam-asam lemak rantai pendek seperti asam asetat, propionat, dan butirat. Akan tetapi, persentase asam propionat dan butirat lebih sedikit dibandingkan dengan asam asetat, karena asam propionat dan butirat akan terurai lebih lanjut menjadi asam asetat. Hal ini karena struktur yang dimiliki oleh asam asetat lebih sederhana jika dibandingkan dengan struktur asam propionat dan butirat. Asam asetat hanya memiliki dua atom karbon sehingga berat molekulnya akan lebih rendah dibandingkan dengan asam propionat yang memiliki tiga atom karbon dan asam butirat yang memiliki empat atom karbon (Anonim, 2007). Reduksi asam laktat menjadi asam propionat terjadi melalui alur metil malonil KoA. Pembentukan asam propionat dari asam

laktat berlangsung menurut persamaan reaksi sebagai berikut :



Derajat Keasaman (pH) Minuman Sinbiotik Ekstrak Daun Cincau Hijau

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh sangat nyata terhadap pH minuman sinbiotik ekstrak daun cincau hijau (**Tabel 1**). Minuman sinbiotik ekstrak daun cincau hijau yang difermentasi selama 48 jam menghasilkan nilai derajat keasaman (pH) terendah, yaitu 3,02 akan tetapi nilai tersebut tidak berbeda nyata dengan pH minuman sinbiotik ekstrak daun cincau hijau yang difermentasi selama 32 dan 40 jam (**Gambar 6**).

Selama masa fermentasi 0 hingga 48 jam, jumlah asam yang terbentuk semakin banyak. Peningkatan jumlah asam laktat akan mempengaruhi pH lingkungan. Semakin tinggi jumlah asam laktat dalam lingkungan, maka potensi menurunnya pH lingkungan juga semakin besar sehingga pH produk yang dihasilkan menurun. Pada lama fermentasi 0 dan 8 jam, nilai pH yang dihitung pada pH-meter adalah 4,81 dan 4,03. Pada pH 4, asam

Tabel 1. Total Asam, pH, serta Persentase Perubahan Jumlah Asam dan pH Minuman Sinbiotik Ekstrak Cincou selama Fermentasi 0 hingga 48 jam.

Lama Fermentasi (jam)	Total Asam (%/ml)	Persentase Perubahan Jumlah Asam	pH	Persentase Perubahan Nilai pH
0	1,50	60	4,81	16,23
8	2,40		4,03	
16	3,30	37,5	3,40	15,48
24	3,60		3,16	
32	3,90	9,09	3,09	7,05
40	4,50	8,33	3,04	2,32
48	4,95	15,38	3,02	1,72
		10		0,55

laktat mudah mengalami disosiasi sehingga menghasilkan H^+ dalam jumlah banyak. Pada pengukuran pH-meter, ion H^+ inilah yang akan terukur. Oleh karena itu, semakin banyak jumlah asam laktat maka semakin besar pula ion H^+ yang terukur, sehingga pH semakin rendah.

Penguraian substrat dan senyawa pektin oleh bakteri asam laktat akan menghasilkan energi untuk aktivitas bakteri asam laktat, serta menghasilkan senyawa-senyawa lain termasuk asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan oleh *Lactobacillus casei* tersebut akan tersekresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam produk fermentasi. Dengan meningkatnya jumlah asam yang disekresikan tersebut, maka keasaman produk sinbiotik akan meningkat, dan peningkatan akumulasi asam ini akan menyebabkan terjadinya penurunan pH (Misgiyarta dan Widowati, 2003).

Dalam penelitian ini, laju penurunan pH berbanding lurus dengan laju peningkatan total asam. Semakin lama waktu fermentasi maka total asam akan meningkat, maka derajat keasaman (pH) minuman sinbiotik akan semakin menurun. Penurunan pH ini disebabkan oleh penumpukan asam-asam organik sebagai hasil dari proses fermentasi. Asam organik terbentuk akibat terjadinya pemecahan polimer pektin menjadi monomer yang lebih sederhana oleh bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat akan menghidrolisis serat (pektin) pada ekstrak

cincou hijau yang berupa karbohidrat kompleks menjadi monosakarida, dan selanjutnya monosakarida tersebut akan difermentasi menjadi senyawa-senyawa dengan struktur yang lebih sederhana, termasuk asam laktat.

Dari **Tabel 1** diketahui bahwa persentase peningkatan total asam tidak sebanding dengan persentase penurunan pH. Pada fermentasi 32, 40, dan 48 jam nilai pH produk tidak berbeda nyata, hal ini disebabkan oleh kemampuan mikroba untuk merombak senyawa-senyawa organik sudah menurun. Bakteri asam laktat telah memasuki fase kematian, dengan demikian penurunan pH tidak akan terjadi secara signifikan. Penurunan pH tetap terjadi sebagai akibat terakumulasinya total asam, namun sebagian besar bukan lagi berupa asam yang esensial (asam laktat) melainkan asam-asam lemah rantai pendek seperti asam asetat, propionat dan butirat yang merupakan hasil hidrolisis asam laktat.

Akibat metabolisme sel bakteri asam laktat akan dihasilkan senyawa lain termasuk asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat akan tersekresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam cairan fermentasi. Dengan meningkatnya jumlah asam yang diekskresikan oleh bakteri asam laktat karena proses akumulasi asam dalam substrat, maka akan meningkatkan keasaman produk. Peningkatan akumulasi

asam dalam produk ini dapat diketahui dengan penurunan pH.

Selama masa fermentasi, jumlah asam yang terbentuk semakin meningkat. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin memicu terbentuknya asam dengan struktur yang lebih sederhana, yang memiliki rantai terpendek. Terbentuknya asam-asam lemah seperti asam asetat, propionat, dan butirat ini disebabkan oleh hidrolisis asam laktat. Asam asetat, propionat, dan butirat cenderung memiliki kekuatan yang hampir sama karena memiliki nilai pKa masing-masing yaitu 4,76 untuk asam asetat, 4,82 untuk asam propionat, dan 4,87 untuk asam butirat sedangkan asam laktat bersifat sedikit lebih kuat dengan nilai pKa 3,85 (Anonim,2007). Sebagian besar asam organik yang merupakan asam lemah, tidak mengalami ionisasi secara sempurna, bahkan terkadang sebagian besar asam berada dalam larutan sebagai molekul yang tidak terionisasi.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terdapat lama fermentasi yang optimal untuk menghasilkan minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau dengan total bakteri asam laktat (BAL) dan serat pangan yang tinggi yaitu 16 jam. Jumlah total BAL tertinggi sebesar $1,78 \times 10^{10}$ CFU/ml, memiliki nilai pH 3,40 dan total asam 3,30%.

Saran

Perlu optimasi lebih lanjut terhadap sifat organoleptik minuman sinbiotik ekstrak cincau hijau agar dapat diterima konsumen.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 2007. Keasaman dari Asam Organik. <http://www.chemistry.org> diakses 5 Oktober 2007.

Anonim. 2008. Pelopor Probiotik di Indonesia - PT Yakult Indonesia Persada. <http://www.yakult.co.id/profil.html> diakses 12 Februari 2008

Caldwell, D.R. 1994. Microbial Physiology and Metabolism. Wm.C. Brown Publishers.

Nurainy, F dan Samsu U.2007. Optimasi Produksi Minuman sinbiotik dari ekstrak Cincau Hijau (*Premna oblongifolia*).Laporan Penelitian Dosen Muda. LP Unila. Bandar Lampung

Judoamidjojo, M., A.A. Darwis, dan E.G. Sa'id. 1990. Teknologi Fermentasi. Rajawali Pers. Jakarta

Marniza dan S. Rizal. 2004. Teknologi Fermentasi (Buku Ajar). TPSDP Universitas Lampung. Bandar Lampung

Misgiyarta dan Sri Widowati. 2003. Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenus (Prosiding Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman). Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Yogyakarta

Nur, H.S. 2005.Pembentukan Asam Organik oleh Isolat Bakteri Asam Laktat pada Media Daging Buah Durian (*Durio ziberthinus* Murr). J.Bioscientiae. Vol.2(1). Hal. 1-10

Nurdin,S.U., A.S.Zuidar, dan R.Krisnawati. 2004. Pengaruh Konsentrasi Asam Sitrat terhadap Rendemen dan Sifat Serat Pangan dari Daun Cincau Pohon (*Premna oblongifolia* Merr.). Prosiding Seminar Nasional dan Kongres PATPI. Jakarta, 17-18 Desember 2004

Nurdin,S.U., S. Rizal, dan Suharyono. 2006. Potensi Komponen Pembentuk Gel Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr.) sebagai Serat Pangan dibandingkan dengan Inulin dan Selulosa. Prosiding Seminar Nasional PATPI, 2-3 Agustus 2006. Yogyakarta.

Suharyono, Samsul R. dan Fibra N. 2009. Karakteristik Minuman Sinbiotik dari Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Premna Oblongifolia* Merr) dengan Konsentrasi Sukrosa dan Susu Skim yang Berbeda. Prosiding Seminar Nasional Sains MIPA dan Aplikasinya.

Tgl 16-17 November. Fakultas MIPA
Unila. Bandar Lampung.

Teknologi Hasil Pertanian. Universitas
Lampung. Bandar Lampung

Trivalianza, O. 2004. Pengaruh Penambahan
Gum Xanthan terhadap Karakteristik
Minuman Laktat Sari Kulit Nanas yang
Difermentasi oleh *L. Casei* Selama
Penyimpanan. Skripsi. Jurusan