

## VIABILITAS DAN STABILITAS *Lactobacillus Plantarum* Mut7 FNCC 250 YANG DISUPLEMENTASIKAN DALAM SARI BUAH PEPAYA-NANAS SELAMA PENYIMPANAN

[Viability and Stability of *Lactobacillus Plantarum* Mut 7 FNCC 250 Supplemented in Papaya-Pineapple Juice During Storage)

Sri Hartati,<sup>1)</sup> Eni Harmayani,<sup>2)</sup> Endang S. Rahayu,<sup>2)</sup> dan Tyas Utami<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Program Pasca Sarjana (S2), Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

<sup>2)</sup> Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Sosio Yustisia Bulaksumur, Jogjakarta 55281

Diterima 23 September 2002/Disetujui 23 Juni 2003

### ABSTRACT

*Lactobacillus plantarum* Mut7 FNCC 250 is an indigenous bacterium isolated from fermented food ("gatot") and a potential agent to reduce cholesterol. Study the on application of the bacterium as probiotic agent to food stuff is needed. The purpose of the study was to prepare formula of papaya-pineapple juice as probiotic carrier and to study the viability and capability of *Lactobacillus plantarum* Mut7 FNCC 250 to assimilate cholesterol during three months storage. Fruits juice was prepared with different formula and organoleptically tested. Selected juice formula was supplemented with *Lactobacillus plantarum* Mut7 FNCC 250 and stored in cool room (4-5 °C). During three month storage, the value of pH the product, cell viability and ability to assimilate cholesterol were evaluated. The result indicated that acceptable formula was papaya juice added with 25 % pineapple. Viability of *Lactobacillus plantarum* Mut7 FNCC 250 supplemented in papaya- pineapple juice was stable (decrease of < 1 log cycle), while the pH of the juice decreased after 3 month storage. The ability of *Lactobacillus plantarum* Mut7 FNCC 250 to assimilate cholesterol was stable within 2 months storage, but decreased after 3 months.

Key words : Viability, sta. *Lactobacillus plantarum*, probiotic, papaya-pineapple juice

### PENDAHULUAN

Kecenderungan meningkatnya penyakit-penyakit degeneratif seperti diabetes melitus, kardiovaskuler, kanker, stroke, darah tinggi, membuka peluang dikembangkannya makanan/minuman yang menyehatkan. Makanan/minuman fungsional dikembangkan sedemikian rupa disamping untuk tujuan memperbaiki fungsi-fungsi fisiologis agar dapat melindungi tubuh dari penyakit-penyakit tersebut juga dapat dikonsumsi sebagaimana layaknya makanan sehari-hari.

Fenomena penggunaan laktobasili sebagai penunjang kesehatan tubuh manusia sebetulnya telah lama dikenal yaitu sejak tahun 1907 ketika Eli Metchnikoff menyajikan hipotesisnya bahwa memasukkan laktobasili lewat konsumsi susu-asam dapat digunakan untuk terapi intestin sehingga memperpanjang usia. Dewasa ini di berbagai negara seperti Jepang, Korea, Amerika dan Eropa mulai dikembangkan produk-produk yang mengandung probiotik sebagai makanan/minuman kesehatan. Fuller

(1989) mendefinisikan probiotik sebagai makanan yang mengandung mikrobia hidup yang mempunyai efek menguntungkan pada inang (*host*) untuk memperbaiki keseimbangan mikrobia intestinal.

Pengembangan minuman kesehatan yang mengandung probiotik dari bahan non susu belum banyak dikembangkan. Baru pada tahun 1994 di Swedia produk makanan probiotik dari bahan non susu (*non-milk*) dipasarkan. Produk tersebut adalah *L. plantarum* sebagai probiotik yang dicampur dalam minuman buah-buahan (*fruit drink*). (Molin, 2001).

Salah satu alternatif produk probiotik yang bisa dikembangkan adalah sari buah pepaya yang tersuplementasi laktobasili. Sebagai minuman sari buah, aroma pepaya tidak terlalu disukai konsumen oleh karena itu diperlukan penambahan buah lain yang memiliki aroma kuat yaitu nanas. Pepaya disamping mempunyai kandungan gizi cukup tinggi yang meliputi vitamin C, vitamin A (total karotenoid 3,7 mg/100 g – 4,2 mg/100 g) (Chan, 1979), kalsium, dan fosfor juga tidak memiliki zat

berbahaya bagi laktobasili. Pepaya juga buah tropis yang ada sepanjang tahun, mudah didapat dan murah.

Mikroba probiotik harus memiliki stabilitas dan viabilitas yang cukup tinggi pada makanan pembawanya (*probiotic adjunct*) artinya bahwa jumlah bakteri probiotik yang hidup pada makanan pembawanya (*carrier*) harus cukup tinggi, dan selama proses pembuatan dan penyimpanan makanan ini sifat-sifat yang dimiliki serta potensinya oleh bakteri probiotik yang terkait dengan kesehatan tubuh harus tetap terjaga (Blanchette, 1996). Vinderola (1999), menyatakan viabilitas bifidobacteria dan *L. acidophilus* sebagai probiotik hanya mengalami penurunan  $< 1$  log selama penyimpanan 60 hari dalam produk keju. Viabilitas bifidobacteria dan bakteri asam laktat sebagai probiotik dalam susu dan yogurt yang disimpan pada suhu dingin 4°C (*refrigerated*) masih di atas  $10^6$  CFU/ml hingga tanggal kadaluwarsanya (Han-Seung Shin et al., 2000).

Tujuan penelitian ini adalah membuat formulasi sari buah pepaya-nanas yang akan disuplementasi *Lactobacillus plantarum* Mut7 FNCC 250 dan mempelajari viabilitas dan stabilitas kemampuan mengasimilasi kolesterol selama penyimpanan. Dengan penelitian ini diharapkan akan didapatkan suatu minuman sari buah pepaya-nanas yang mengandung probiotik yang berpotensi menurunkan kolesterol.

## METODOLOGI

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pepaya (*Carica papaya*) jenis Thailand yang masak optimum, nanas (*Ananas comosus*) jenis lokal yang masak optimum diperoleh di pasar Demangan Jogjakarta. *Lactobacillus plantarum* Mut7 FNCC 250 yang diisolasi dari makanan tradisional "gatot" diperoleh dari Food and Nutrition Cultur Collection (FNCC) laboratorium Mikrobiologi Pusat Studi Pangan dan Gizi, UGM, Jogjakarta.

### Formulasi sari buah pepaya-nanas

Formulasi dilakukan dengan membuat sari buah pepaya yang divariasikan penambahan nanas 0, 25 dan 50 %. Pembuatan sari buah pepaya-nanas dilakukan dengan membersihkan pepaya dan nanas dari kotoran, dikupas, timbang, blanching 80 °C, 5 menit, diblender dengan ditambah air 1 : 1 (terhadap berat bahan), disaring, ditambah gula pasir 5 %, disterilisasi 115 °C, 10 menit. Selanjutnya dilakukan uji organoleptik (uji kesukaan) terhadap sari buah tersebut.

### Persiapan kultur dan suplementasi

Sebanyak 1 ml kultur *Lactobacillus plantarum* Mut7 FNCC 250 ditumbuhkan pada 9 ml MRS broth yang

diperkaya ekstrak tomat 20 % diinkubasi 37 °C, 18 jam kemudian disentrifugasi 3500 rpm, 15 menit. Pelet basah ditambah 5 ml pepton water 0,1 % disentrifugasi 3500 rpm, 10 menit. Lima mililiter sari buah steril secara aseptis dimasukkan ke dalam tabung yang mengandung pelet basah kemudian dikocok (dengan vortek) dan dimasukkan ke dalam 25 ml sari buah steril selanjutnya disimpan pada ruang dingin 4-5 °C selama 3 bulan dan dilakukan pengamatan meliputi pH bahan, viabilitas sel dengan metode agar tuang dan stabilitas kemampuan mengasimilasi kolesterol (Gilliland, 1994 dengan sedikit modifikasi).

### Pengujian kemampuan mengasimilasi kolesterol

*Lactobacillus plantarum* Mut7 FNCC 250 yang tersuplementasi dalam sari buah pepaya-nanas, sebanyak 1 % kultur diinokulasi ke dalam 10 ml media MRS yang disuplementasi dengan 0,2 % sodium thioglycollate, 0,3 % oxgall dan kolesterol (0.1 g/100mg) kemudian diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Sebagai kontrol media yang ditambah dengan 1 % sari buah tanpa kultur. Setelah inkubasi disentrifugasi 3500 rpm selama 30 menit untuk mendapatkan supernatan. Selanjutnya dilakukan analisis jumlah kolesterol pada supernatan masing-masing kultur dan kontrol dengan metode O-phthalaldehyde dari Rudel and Morris (1973) dalam Smith, M., et al., (1991). Perbedaan jumlah kolesterol antara kontrol dengan supernatan kultur merupakan kolesterol yang diasimilasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Formulasi untuk meningkatkan daya terima terhadap aroma sari buah pepaya dilakukan dengan penambahan buah lain yang mempunyai aroma kuat yaitu nanas. Dari ketiga variasi formula sari buah yang diujikan pada 30 panelis menunjukkan bahwa formula yang terpilih adalah sari buah pepaya yang ditambah 25 % (b/b) nanas. Tabel 1 menunjukkan bahwa warna dan rasa ketiga formula tidak berbeda nyata secara signifikan ( $P \leq 0,05$ ), tetapi untuk aroma, perbedaan diperoleh pada formula sari buah yang tidak ditambah nanas dan dengan penambahan nanas. Sedangkan untuk sari buah pepaya dengan penambahan 25 % dan 50 % tidak memberikan perbedaan yang nyata ( $P \leq 0,05$ ). Dipilih formula sari buah yang ditambah 25 % nanas karena penambahan yang lebih sedikit tetapi aroma yang diperoleh tidak berbeda dengan yang ditambah 50 % nanas.

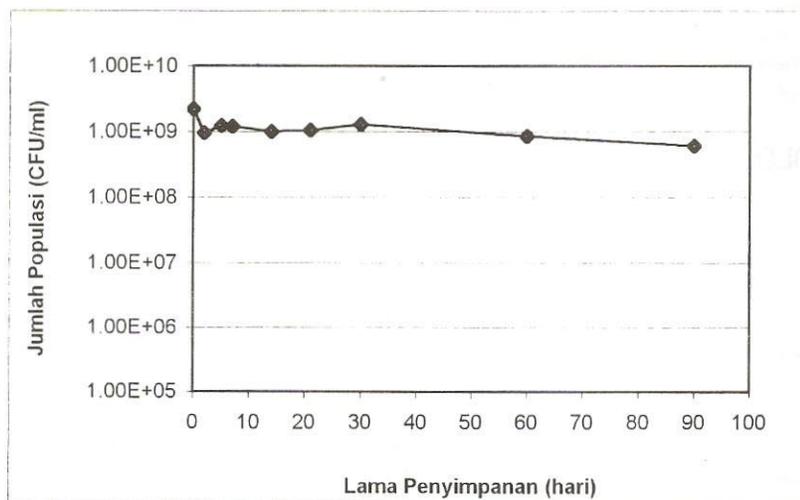
Tabel 1. Hasil Uji Sensoris Sari Buah Pepaya yang divariasikan penambahan nanas

Penambahan Nanas	Warna	Rasa	Aroma
0 %	5,7 <sup>a</sup>	4,7 <sup>a</sup>	4,17 <sup>a</sup>
25 %	5,58 <sup>a</sup>	5,33 <sup>a</sup>	5,1 <sup>b</sup>
50 %	5,04 <sup>a</sup>	5,38 <sup>a</sup>	5,67 <sup>b</sup>

(P ≤ 0,05)

Keterangan : Nilai 1 sangat tidak disukai  
Nilai 7 sangat disukai

Dari hasil pengamatan sari buah pepaya-nanas yang disuplementasi dengan *Lactobacillus plantarum* Mut7 FNCC 250 terhadap viabilitas sel menunjukkan bahwa selama 3 bulan penyimpanan, viabilitas sel stabil. Populasi awal isolat tersebut (pada hari ke 0) adalah  $2,2 \times 10^9$  CFU/ml, setelah 3 bulan penyimpanan populasi sel menjadi  $6,2 \times 10^8$  CFU/ml (turun < 1 log cycle) seperti tampak pada Gambar 1. Hal ini hampir sama dengan penelitian Vinderola (1999) viabilitas dari kombinasi bifidobacterium dan *L. acidophilus* sebagai agensia probiotik dalam produk keju mengalami penurunan < 1 log selama 60 hari penyimpanan.

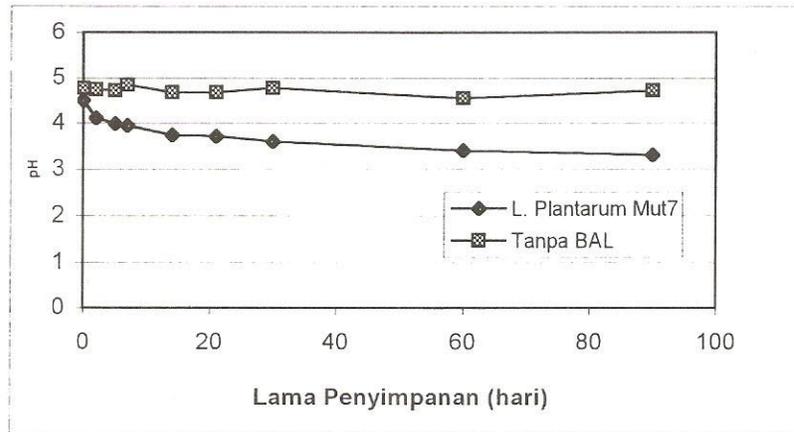
Gambar 1. Grafik Viabilitas *L. plantarum* Mut7 FNCC 250 yang tersuplementasi dalam sari buah pepaya-nanas selama 3 bulan penyimpanan 4 °C

Viabilitas yang cukup stabil selama penyimpanan dari *Lactobacillus plantarum* Mut7 FNCC 250 yang disuplementasikan dalam sari buah pepaya-nanas membuktikan bahwa sari buah pepaya-nanas sesuai dengan lingkungan hidup isolat tersebut. Hal ini juga didukung dengan kondisi penyimpanan dingin (4°C) yang menyebabkan isolat tersebut tidak mengalami pertumbuhan pesat sehingga nutrisi masih cukup tersedia selama penyimpanan. Masih cukup tinggi jumlah populasi selama penyimpanan ( $6,2 \times 10^8$  CFU/ml) menunjukkan

bahwa *Lactobacillus plantarum* Mut 7 FNCC 250 memenuhi jumlah populasi sebagai agensia probiotik.

Stanton et al., (2001) mengemukakan bahwa di Jepang standar yang dikembangkan oleh *Fermented Milks and Lactic Acid Bacteria Beverages Association* menetapkan bahwa produk yang mengandung  $\geq 10^7$  bifidobacteria/g atau per mL dipertimbangkan sebagai makanan probiotik (a probiotic food). Sementara Gomes et al., (1999) menyatakan bahwa untuk menunjukkan klaim keuntungan bagi nutrisi dan kesehatan yang dipunyai bakteri probiotik harus viable dan berada dalam jumlah yang tinggi pada saat dikonsumsi. Selanjutnya mereka harus tetap hidup di bagian akhir saluran gastrointestinal. Untuk alasan tersebut produk atau probiotik adjunct (pembawa probiotik) harus mengandung tidak kurang  $10^6$  CFU/ml bakteri probiotik pada saat dikonsumsi (Blanchette et al., 1996).

Dari kenyataan masih cukup tinggi jumlah populasi menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* Mut 7 FNCC 250 yang tersuplementasi dalam sari buah pepaya-nanas selama penyimpanan dingin (4°C) mampu bertahan hidup dengan tetap melakukan aktivitas metabolisme dengan memanfaatkan nutrisi yang terdapat dalam sari buah pepaya-nanas. Hal ini dapat terlihat dari data pengukuran pH bahan seperti terlihat pada Gambar 2.

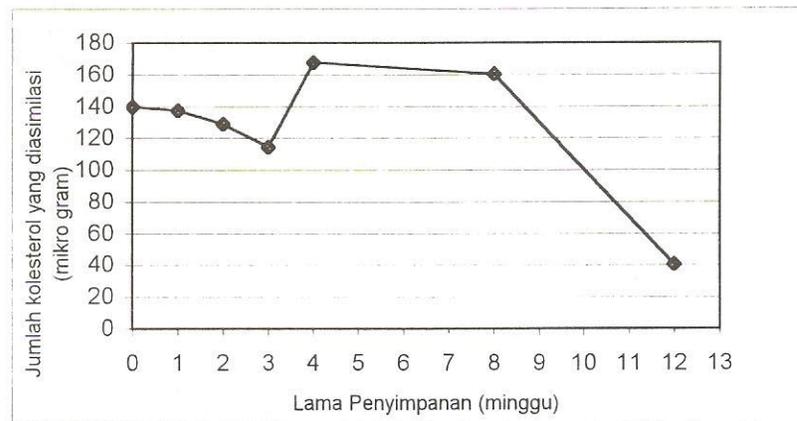


Gambar 2. Nilai pH sari buah pepaya-nanas yang tersuplementasi *L. plantarum* Mut7 FNCC 250 selama penyimpanan 4 °C

Dari Gambar 2 terlihat bahwa terjadi penurunan pH sari buah yaitu dari 4,45 turun menjadi 3,22 setelah 3 bulan penyimpanan 4°C. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Molin (2001), yang mensuplementasikan oatmeal terfermentasi dengan *L. plantarum* 299v dalam minuman buah-buahan (*fruit drink*), mengakibatkan pH produk akhir relatif rendah. Lebih lanjut dikatakan bahwa banyak strain *L. plantarum* beradaptasi dengan baik tidak hanya pada sistem makanan sereal tetapi juga pada lingkungan buah dimana mereka tetap aktif dalam pH yang rendah setelah penyimpanan yang lama.

Kemampuan mengasimilasi kolesterol dari *L. plantarum* Mut7 FNCC 250 yang tersuplementasi dalam sari buah pepaya-nanas selama penyimpanan 3 bulan pada 4 °C relatif stabil sampai penyimpanan 2 bulan. Namun mengalami penurunan pada bulan ke 3. Hal ini terlihat seperti tampak pada Gambar 3.

Penurunan kolesterol oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) diduga terjadi secara langsung dengan mekanisme asimilasi kolesterol atau secara tidak langsung dengan mekanisme dekonjugasi garam empedu. Pada mekanisme asimilasi kolesterol, BAL akan mengambil atau menabsorb kolesterol micelle yang ada pada lumen usus. Selanjutnya kolesterol yang diambil berinkorporasi pada membran seluler bakteri, sehingga bakteri lebih tahan terhadap lisis (Gililiand et al., 1985; Noh et al., 1997).



Gambar 3. Jumlah kolesterol yang diasimilasi oleh *L. plantarum* Mut7 FNCC 250 yang tersuplementasi dalam sari buah pepaya-nanas selama penyimpanan 3 bulan, 4 °C.

Dari Gambar 3 terlihat bahwa sampai dengan 2 bulan penyimpanan potensi kemampuan mengasimilasi kolesterol relatif stabil yaitu sebesar 160,38 mikrogram/ml sari buah tetapi kemampuan tersebut turun pada bulan ke 3 menjadi 40,57 mikrogram/ml sari buah. Turunnya kemampuan mengasimilasi kolesterol tersebut diduga karena pada bulan ke 3 pH bahan sangat rendah. Namun demikian diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui fenomena ini. Kemampuan *L. plantarum* dalam menurunkan kolesterol pada manusia juga diamati oleh Bukowska (1998) dalam Molin (2001).

Salah satu syarat sebagai bakteri probiotik, bakteri harus memiliki stabilitas yang tetap terjaga akan potensi sifat-sifat yang terkait dengan kesehatan tubuh dalam hal ini kemampuan mengasimilasi kolesterol, maka *L. plantarum* Mut7 FNCC 250 sebaiknya dikonsumsi sebelum umur simpan produk maksimal 2 bulan (8 minggu).

### KESIMPULAN

Hasil formulasi sari buah pepaya -nanas yang dapat diterima oleh konsumen adalah sari buah pepaya yang ditambah 25 % nanas. Viabilitas *L. plantarum* Mut7 FNCC 250 yang tersuplementasi dalam sari buah pepaya-nanas relatif stabil selama 3 bulan penyimpanan pada suhu 4°C, diikuti dengan turunnya pH bahan. Potensi kemampuan asimilasi kolesterol dari *L. plantarum* Mut7 FNCC 250 stabil sampai 2 bulan penyimpanan tetapi turun pada bulan ke 3 selama penyimpanan.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dibiayai melalui Pengkajian dan Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (Hibah Bersaing IX, Th. Ke-2) Ditjen Dikti. Untuk itu diucapkan terimakasih.

### DAFTAR PUSTAKA

- Blanchette, L, D. Roy, G. Belanger and S.F. Gauthier, 1996.** Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. *J. Dairy Sci.* 79 : 8-15
- Buck, L. M. dan S.E. Gilliland, 1994.** Comparison of Freshly isolated of *Lactobacillus acidophilus* of human intestinal origin for ability to assimilate cholesterol during growth. *J. Dairy Sci.* 77 : 2925-2933.
- Chan Jr, Harvey T., 1979.** The chemistry and biochemistry of papaya. In Inglett G. & Charalambous G., *Tropical foods: Chemistry and Nutrition*, Vol. 1. Academic Press New York, San Fransico, London.
- Fardiaz, Srikandi, Rachman Cahyono dan Harsi D. Kusumaningrum, 1996.** Produksi dan aktivitas antibakteri minuman sehat kaya vitamin B12 Hasil Fermentasi Laktat dari Sari Wortel. *J. Ilmu dan Tekn. Pangan*, Vol 1 hal 25-30.
- Fuller, R. 1984.** Probiotics in Man and Animal. *J. Appl. Bacteriol.* 66: 365-378
- Gilliland, S.E., Nelson, C.R. and Maxwell, C., 1985.** Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 49 : 377 – 381.
- Gomes M. P. Ana and Malcata Xavier F., 1999.** Bifidobacterium spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technology and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *J. Trends in Food Sci & Tech.* 10 : 139: 157.
- Koh T.H. and Melton D., 1994.** Analysis of papaya cell wall polysaccharides. *Asean Food J.* Vol. 9 No. 3 : 101-106
- Molin, Goran, 2001.** Probiotic in foods not containing milk or milk constituents with special reference to *Lactobacillus plantarum* 299v. *Am.J. Clin Nutr* : 73 (suppl): 380s-5s
- Nakasawa, Y., and A. Hosono, ed. 1992.** Functions of fermented milk challenges for the health science. Elsevier Applied Science, London, England.
- Nighwonger, B.D., M. M. Brashesrs, and Gilliland, 1996.** Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk product during refrigerated storage. *J. Dairy Sci.* 79: 212-219.
- Ngatirah, 2000.** Seleksi bakteri asam laktat sebagai probiotik yang berpotensi menurunkan kolesterol. Thesis S-2. Program Pasca Sarjana, UGM, Yogyakarta.
- Noh, D.O., S.H. Kim and S.E. Gilliland, 1997.** Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4321. *J. Dairy Sci.* 80 (12) : 3107 – 3113.
- Rudel, L.L., dan M. D. Morris, 1973.** Determination of Cholesterol using O-phtaladehyde. *J. lipid Res.* 14 : 364
- Salmine, S., and A.V. Wright, eds. 1998.** Lactic acid bacteria. Microbiology and Functional Aspects. Marcel Dekker Inc., New York.
- Shin, Han-Seung, Jong-Hwa Zee, James J. Pestha, and Zeynep Ustunal, 2000.** Viability of bifidobacterium in commercial dairy products during refrigerated

- storage, J. of Food Procetion, vol 63. No. 3 : 327 – 331.
- Santon, C., G. Gardiner, H. Meehan, K. Collins, G. Fitz Gerald, P.B. Lynch and R.P. Ross, 2001.** Market potensial for probiotics. The am. J. Clin. Nut (suppl) Vol 73 (2) p. 471S.
- Surono, Ingrid S. 1997.** Prospek bakteri probiotik dalam inudstri makanan fungsional. Prosiding Seminar Tekn. Pangan. Hal 169-176.
- Vinderola C.G., Prosellow., Ghiberto D., and Reinheimer J.A, 1999.** Viability of probiotic (bifidobacterium, *Lactobacillus acidophillus* and *Lactobacillus casei*) and non probiotic microflora in argentinian Fresco Cheese. J. Dairy Sci. 83: 1905-1911.
- Wood, B.JB., ed. 1992.** **The lactic acid bacteria in health and Disease.** Lesevier applied science London, England.