

PENGARUH PERBEDAAN JUMLAH SANTAN DAN LAMA PENYIMPANAN BEKU TERHADAP VIABILITAS *Lactobacillus acidophilus* DALAM ES KRIM NABATI PROBIOTIK

Srianata¹, Netty Kusumawati¹ dan Widyastuti Effendi²

¹ Staf Pengajar Tetap Program Studi Ilmu & Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Unika Widya Mandala Surabaya

² Alumni Program Studi Ilmu & Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Unika Widya Mandala Surabaya

Abstract

Ice cream is one of dairy-based frozen desserts which has a huge potency to be developed into a probiotic product. Cells viability is the main concern in formulation and processing of probiotic ice cream. Freezing and frozen storage are critical for cell viability. Recently, considerable interest has been shown in non-dairy ice cream which is suitable for vegetarians and people who are lactose intolerant. Usually, the non-dairy ice cream uses soymilk combined with coconut milk to increase fat and total solid. The objective of this research is to study the effect of coconut milk level (50 g/500 g and 160 g/500 g) and frozen storage time (0;7;14;21; and 28 days) on viability of *Lactobacillus acidophilus* in non-dairy probiotic ice cream.

The coconut milk level of 50 g/500 g produced the non-dairy ice cream with total fat of 3.78% (mellofreeze), total solid of 25.37% and overrun of 8.26%, while its level of 160 g/500 g produced non-dairy ice cream with total fat of 9.52% (mellorine), total solid of 34.53% and overrun of 42.84%. The differences of coconut milk level and frozen storage times significantly affected the viability of *Lactobacillus acidophilus*. The coconut milk level of 50 g/500 g and 160 g/500 g produced ice cream with the cell viability of 10.22 log cfu/ml and 11.12 log cfu/ml, respectively. The *Lactobacillus acidophilus* viability decreased significantly after 7 days, but not for further storages. At the end of storage (28 days), the viable cells were 8 to 9 log cfu/ml, which complied with the probiotic prerequisite.

Keywords : probiotic, coconut milk, viability, *Lactobacillus acidophilus*

PENDAHULUAN

Produk probiotik merupakan produk yang mengandung mikroflora hidup, umumnya golongan bakteri asam laktat, yang memiliki kemampuan menjaga keseimbangan mikroflora dalam usus. Bakteri probiotik memiliki kemampuan untuk menghambat bakteri-bakteri yang tidak menguntungkan dalam usus sehingga keseimbangan mikroflora dalam usus dapat dijaga. Jika usus mengandung bakteri yang tidak menguntungkan dalam jumlah berlebih, maka sistem pencernaan akan terganggu. Hal ini dapat berakibat pada terganggunya proses pencernaan makanan, penyerapan zat gizi, menurunnya kekebalan tubuh, meningkatnya proses penuaan, mendorong terjadinya kanker kolon, infeksi, diare, konstipasi,

kolitis dan *lactose intolerance* (French, 2006). Di sisi lain, bakteri yang menguntungkan dapat berkurang jumlahnya akibat konsumsi antibiotik, infeksi dan faktor gaya hidup yang kurang baik misalnya stres, pola konsumsi pangan olahan yang berlebih dan kurang serat (French, 2006). Hal ini mendorong terjadinya peningkatan konsumsi produk-produk probiotik. Saat ini konsumen semakin selektif dalam memutuskan produk pangan yang akan dikonsumsi. Produk pangan fungsional semakin diminati konsumen dan diramalkan akan menjadi tren utama industri pangan sampai 5-10 tahun ke depan. Menurut ramalan Euro Monitor International, penjualan produk pangan fungsional dan fortifikasi (functional and fortified foods) dari tahun 2004 ke 2009 akan

mengalami peningkatan sebesar 29% dan 36%, masing-masing di Australasia dan Amerika Utara (Haryadi, 2006).

Produk probiotik yang telah banyak dikembangkan adalah produk berbasis susu. Es krim, salah satu *frozen dessert* yang banyak digemari, merupakan produk olahan susu yang potensial untuk dikembangkan menjadi makanan probiotik. Akhir-akhir ini telah dikembangkan es krim dari bahan nabati yang dimaksudkan untuk menghasilkan produk yang dapat dikonsumsi oleh para vegetarian dan konsumen yang alergi terhadap produk susu. Sebagai pengganti susu sapi dapat digunakan susu kedelai, serta ditambahkan santan untuk meningkatkan kadar lemak es krim. Penggunaan jumlah santan yang berbeda akan menghasilkan kadar lemak yang berbeda pada es krim nabati yang dihasilkan. Berdasarkan kadar lemaknya, es krim nabati dapat dibagi menjadi 2 macam yaitu *mellorine* (6-10%) dan *mellofreeze* (3-5%) (Marshall & Arbuckle, 1996).

Hal yang harus diperhatikan dalam es krim probiotik adalah ketahanan hidup (viabilitas) sel bakteri probiotik terhadap pembekuan karena dalam pembuatan es krim terdapat proses pembekuan dan penyimpanan beku. Berdasarkan penelitian Hekmat & McMahon (1992), viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dalam es krim hewani selama penyimpanan beku suhu -29°C selama 17 minggu, menurun dari $1,5 \times 10^8$ cfu/ml menjadi 4×10^6 cfu/ml. Viabilitas bakteri terhadap pembekuan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu faktor yang berasal dari sel mikroorganisme (faktor intrinsik) dan lingkungan (faktor ekstrinsik). Menurut Hong & Marshall (2001), beberapa padatan dalam es krim bersifat *cryoprotective* dan lemak susu dapat meningkatkan viabilitas bakteri asam laktat selama pembekuan. Namun, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hong & Marshall (2001) dan Haynes & Playne (2002), tidak ada perbedaan nyata antara viabilitas bakteri dalam es krim dengan kandungan lemak yang tinggi dan es krim dengan kandungan lemak yang rendah. Dengan demikian penggantian susu sapi dengan

susu kedelai dan penambahan santan mungkin berdampak pada viabilitas *Lactobacillus acidophilus*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan jumlah santan dan lama penyimpanan beku terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan untuk pembuatan es krim nabati meliputi susu kedelai (Mr. Bean) sukrosa (Gulaku), *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) *food grade*, santan cair (Cocomas kemasan tetrapak), glukosa (PT Sorini Corporation, Tbk.) dan tepung maizena (Honig). Kultur bakteri probiotik yang digunakan adalah *Lactobacillus acidophilus* FNCC 116 yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, Indonesia.

Persiapan Massa Sel Bakteri Probiotik

Sebanyak 0,5 ml kultur ditumbuhkan dalam 49,5 ml media MRS broth, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 4200 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dengan cara dekantasi, massa selnya dicuci dengan 50 ml larutan NaCl 0,85%, divortex dan disentrifugasi pada kecepatan dan waktu yang sama dengan sebelumnya. Supernatan dibuang, massa selnya ditambah dengan 50 ml akuades steril, lalu divortex. Suspensi yang diperoleh diukur kekeruhannya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm dan diatur sampai diperoleh nilai OD (*Optical Density*) 2,3 (setara dengan 5×10^{19} cfu/ml).

Pembuatan Es Krim Nabati Probiotik

Es krim dibuat berdasarkan formula yang ditunjukkan pada Tabel 1. Es krim dibedakan menjadi 2 jenis yaitu *mellorine* (kadar lemak 3-5%) dan *mellofreeze* (kadar lemak 6-10%), yang berbeda pada jumlah santan yang digunakan.

Tabel 1. Formula Es Krim Nabati

Bahan Penyusun	<i>Mellorine</i>	<i>Mellofreeze</i>
Susu kedelai (g)	244	244
Sukrosa (g)	55	55
Glukosa (g)	30	30
Santan (g)	160	50
CMC (g)	1	1
Maizena (g)	5	5
Air steril (g)	5	5
Air pengencer santan	-	110
TOTAL (g)	500	500

Bahan-bahan tersebut dicampur sampai merata, kemudian dipasteurisasi pada suhu 65°C selama 30 menit dan dihomogenisasi dengan kecepatan 13.500 rpm selama 5 menit. Selanjutnya campuran tersebut didinginkan dalam refrigerator suhu 5°C selama 2 jam. Sebanyak 5 g massa sel *Lactobacillus acidophilus* dimasukkan ke dalam campuran tersebut, lalu dimasukkan ke dalam *ice cream maker* selama 60 menit dan dilakukan pengemasan dalam *cup* masing-masing berisi 25 g es krim. Es krim tersebut dimasukkan ke dalam freezer -15°C selama 24 jam, kemudian disimpan lebih lanjut sampai 28 hari pada suhu -20°C. Pengambilan sampel secara acak sebanyak 3 cup es krim untuk analisa kadar lemak (AOAC 905.02), total padatan terlarut (Rangana, 1977) dan *overrun* (Hadiwiyoto, 1983), dilakukan sebelum es krim dimasukkan ke dalam freezer. Analisa dilakukan 3 kali ulangan.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 2 faktor yaitu jumlah santan dan lama penyimpanan beku, dengan 3 kali ulangan percobaan. Pengambilan sampel untuk uji viabilitas sel dilakukan secara acak, masing-masing sebanyak 3 cup es krim untuk masing-masing kombinasi perlakuan.

Uji Viabilitas Sel

Bakteri yang bertahan hidup dalam es krim diuji dengan metode Angka Lempeng Total pada media MRS Agar, suhu inkubasi 37°C selama 48 jam. Pengujian dilakukan pada hari ke-0 penyimpanan (setelah pembekuan 24 jam) dan setelah penyimpanan beku selama 7, 14, 21 dan 28 hari. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan dinyatakan sebagai log cfu/ml. Ciri-ciri koloni *Lactobacillus acidophilus* adalah bentuk bulat, ukuran sekitar 1 mm, tekstur opaque, halus dan basah, kenaikan permukaan melengkung, warna putih sampai coklat muda dan tepi utuh.

Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisa secara statistik menggunakan Anova (*Analysis of Varians*) untuk mengetahui adanya pengaruh dari perbedaan jumlah santan dan waktu penyimpanan beku terhadap viabilitas sel bakteri. Apabila dari hasil analisa data tersebut menunjukkan adanya pengaruh yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji beda jarak nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test/DMRT*) dengan $\alpha=5\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perbedaan jumlah santan yang digunakan pada pembuatan es krim nabati probiotik, menghasilkan es krim nabati jenis *mellorine* dan *mellofreeze*, yang berbeda pada kadar lemak, total padatan dan *overrun* (ditunjukkan pada Tabel 2.). Lemak merupakan komponen penting dalam es krim yang berperan dalam pembentukan emulsi campuran es krim (Marsahll & Arbuckle, 1996). Partikel lemak tersebar di seluruh bagian es krim dan menghasilkan tekstur lembut pada es krim. Santan mengandung lemak 26,21% sehingga es krim *mellorine* mengandung lemak lebih tinggi (9,52%) dibandingkan *mellofreeze* (3,78%) karena pada *mellorine* digunakan santan dalam jumlah lebih besar.

Tabel 2. Perbedaan Kadar lemak, Total padatan dan *Overrun* dari Es Krim Nabati Probiotik Akibat Perbedaan Jumlah Santan yang Digunakan

Sifat	Santan 160 g (<i>mellorine</i>)	Santan 50 g (<i>mellofreeze</i>)
Kadar Lemak (%)	9,52	3,78
Total Padatan (%)	34,53	25,37
<i>Overrun</i> (%)	42,84	8,26

Total padatan pada santan tersusun atas lemak dan non-lemak. Padatan non-lemak terdiri dari protein, karbohidrat dan garam mineral. Protein berperan pada pembentukan emulsi dan membantu menstabilkan *foam* (Hui, 1992). Protein dapat menurunkan tegangan permukaan antara sel udara dan fase cair yang melingkupinya sehingga penggabungan sel-sel udara dapat dihambat. Selain itu, protein dan karbohidrat mampu mengikat air bebas dalam campuran sehingga dapat meningkatkan kekentalan campuran, peningkatan kekentalan ini dapat meningkatkan kestabilan *foam*. Perbedaan total padatan ini mengakibatkan perbedaan *overrun* es krim yang dihasilkan. Semakin banyak jumlah santan, semakin banyak pula kandungan total padatan es krim. Selama *churning*, total padatan yang lebih tinggi akan memerangkap udara dalam jumlah yang lebih besar. Pada penggunaan santan 160 g menghasilkan *overrun* 42,84%, sedangkan penggunaan 50 g menghasilkan *overrun* 8,26%.

Pengaruh Jumlah Santan Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

Tabel 3 menunjukkan pengaruh jumlah santan terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dalam es krim nabati probiotik.

Tabel 3. Pengaruh Jumlah Santan Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

Jumlah Santan	Jumlah Sel Bakteri (log cfu/ml)
160 g (<i>mellorine</i>)	10,22 ^a
50 g (<i>mellofreeze</i>)	11,12 ^b

Keterangan: notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata

Viabilitas bakteri dalam *mellorine* (11,2 log cfu/ml) lebih tinggi dibandingkan dengan *mellofreeze* (10,22 log cfu/ml). *Overrun* yang lebih tinggi menyebabkan kerusakan sel yang lebih parah selama pembekuan. Hal ini terjadi karena oksigen yang terperangkap pada adonan es krim semakin banyak. Oksigen dapat bereaksi dengan flavoprotein dari sel, membentuk H₂O₂ dan radikal bebas (O₂*), yang bersifat toksik terhadap sel. Hong & Marshall (2001) juga memperoleh hasil penelitian serupa yang menunjukkan bahwa viabilitas *Streptococcus thermophilus* lebih tinggi pada es krim dengan *overrun* 50%, dibandingkan pada es krim dengan *overrun* 100%. Dengan demikian, hasil penelitian ini mendukung pernyataan Hong dan Marshall (2001) bahwa beberapa padatan dalam es krim bersifat *cryoprotective* dan lemak susu dapat meningkatkan viabilitas bakteri asam laktat selama pembekuan.

Pengaruh Lama Penyimpanan Beku Terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus*

Lama penyimpanan beku berpengaruh terhadap viabilitas bakteri dalam es krim nabati probiotik. Semakin lama waktu penyimpanan, viabilitas sel cenderung menurun (Tabel 4).

Tabel 4. Pengaruh Lama Penyimpanan Beku Terhadap Viabilitas *L. acidophilus*

Lama Penyimpanan Beku (hari)	Jumlah Santan	
	160 g (<i>mellorine</i>)	50 g (<i>mellofreeze</i>)
0	10,39 ^a	11,25 ^a
7	8,89 ^b	9,61 ^b
14	9,29 ^b	9,24 ^b
21	8,58 ^b	8,68 ^b
28	8,81 ^b	8,97 ^b

Keterangan: notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata

Penurunan viabilitas sel yang nyata terjadi pada penyimpanan beku 0 hari ke penyimpanan beku selama 7 hari, sedangkan setelah 7 hari tidak terjadi penurunan viabilitas sel secara nyata.

Jumlah awal sel *L. acidophilus* yang dimasukkan ke dalam campuran es krim ± 17 log cfu/ml sebanyak 1%, sehingga terdapat 15 log cfu/ml dalam campuran es krim. Data tersebut menunjukkan bahwa pada hari ke-0 (setelah proses pembekuan) terjadi penurunan jumlah sel yang besar baik pada es krim dengan 160 g santan (*mellorine*) maupun es krim dengan 50 g santan (*mellofreeze*). Pada pengamatan penyimpanan 0 hari (setelah es krim mengalami pembekuan selama 20 jam), jumlah sel bakteri dalam es krim 10,5 log cfu/ml, yang berarti mengalami penurunan sebanyak 4,5 log cfu/ml. Penurunan tersebut disebabkan adanya proses pengadukan yang disertai dengan pembekuan dalam ice cream maker (*churning*) dan pembekuan dalam freezer. Haynes & Playne (2002) menyatakan bahwa pembekuan awal dan churning memberikan efek yang paling besar terhadap penurunan viabilitas sel probiotik. Selama berada di dalam ice cream maker, terjadi pengadukan yang dapat menyebabkan kerusakan fisik pada sel bakteri dan terjadi peningkatan paparan terhadap oksigen. Pembekuan yang terjadi pada pada es krim nabati probiotik ini

adalah pembekuan lambat menggunakan alat freezer sehingga banyak sel bakteri yang mati. Frazier (1992) mengatakan bahwa bakteri mati dengan cepat pada kisaran suhu -1°C sampai -5°C . Semakin cepat bahan pangan melewati suhu kritis, maka semakin sedikit sel bakteri yang mati. Pembekuan menyebabkan luka pada sel bakteri karena terjadi pembentukan kristal es yang berukuran besar. Selain itu, pembentukan kristal es selama proses pembekuan menyebabkan pemekatan *solute* yang bersifat toksis bagi sel bakteri.

Selama penyimpanan beku 7 sampai 28 hari, penurunan jumlah sel bakteri tidak nyata. Hal tersebut disebabkan pembentukan kristal es sudah berhenti sehingga kondisi sel bakteri dalam es krim lebih stabil. Menurut Marshall & Arbuckle (1996), dalam proses pembekuan es krim, terjadi pengkristalan air yang mengakibatkan peningkatan konsentrasi bahan-bahan tidak larut sehingga titik beku terus menurun hingga tidak ada lagi kristal es yang terbentuk. Frazier (1992) menyatakan bahwa waktu yang dibutuhkan untuk mencapai suhu -15°C sampai -29°C pada pembekuan lambat adalah 3 sampai 72 jam. Hasil penelitian Hekmat dan McMahan (1992) yang menggunakan *Lactobacillus acidophilus* dalam es krim hewani, menunjukkan bahwa penyimpanan beku pada suhu -29°C selama 17 minggu menyebabkan penurunan viabilitas dari $1,5 \times 10^8$ cfu/ml menjadi $4,0 \times 10^6$ cfu/ml.

KESIMPULAN

Perbedaan jumlah santan dan lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* dalam es krim nabati probiotik. Pada penambahan santan 50 g, viabilitas *Lactobacillus acidophilus* sebesar 10,22 log cfu/ml, sedangkan pada penambahan 160 g menghasilkan viabilitas 11,12 log cfu/ml. Penurunan viabilitas sel yang nyata terjadi pada penyimpanan beku 0 hari ke penyimpanan beku selama 7 hari, sedangkan

setelah 7 hari tidak terjadi penurunan viabilitas sel secara nyata. Jumlah sel setelah penyimpanan es krim selama 28 hari sebesar 8-9 log cfu/ml sehingga masih memenuhi syarat sebagai produk probiotik dan menunjukkan bahwa produk probiotik ini memiliki potensi untuk dikembangkan secara komersial mengingat viabilitas sel probiotik yang tidak berubah selama penyimpanan beku.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan kesempatan dan dana penelitian melalui Program Penelitian Kolaborasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arbuckle, W.S. 1977. *Ice Cream* 3rd ed. Westport, Connecticut. The AVI Publishing Company, Inc.
- Arbuckle, W.S. 1986. *Ice Cream* 4th ed. New York: Chapman & Hall Publishing.
- Frazier, W.C. 1992. *Food Microbiology*. New York: Mc Graw-Hill Book Company, Inc.
- French, S. 2006. *Probiotics: A Viable Market?* Downloaded at <http://www.naturalproductsinsider.com/articles/681feat06.html>
- Hadiwiyoto, S. 1983. *Hasil-hasil Olahan Susu, Ikan, Daging dan Telur*. Yogyakarta: Liberty.
- Haryadi, P. 2006. *Pangan Fungsional Indonesia*. Foodreview Indonesia, 1(4), 8-10.
- Haynes, I.N. & M.J. Playne. 2002. *Survival of Probiotic Cultures in Low Fat Ice Cream*. Aust. J. Dairy Technol. 57, 10-14.
- Hekmat, S. & D.J. Mc Mahon. 1992. *Survival of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum in Ice Cream for Use as a Probiotic Food*. J. Dairy Sci 75:415-1422.
- Hong, S.H. & R.T. Marshall. 2001. *Natural Exopolysaccharides Enhance Survival of Lactic Acid Bacteria in Frozen Dairy Desserts*. J. Dairy Sci. 84:1367-1374.
- Hui, Y.H. 1992. *Ice Cream and Frozen Dessert in Encyclopedia of Food Science and Technology*. Canada: John Willey and Sons, Inc.
- Marshall, R.T. & Arbuckle, W.S. 1996. *Ice Cream* 5th ed. USA: Chapman & Hall Publishing.
- Shah, N.P. 2001. *Functional Foods from Probiotics and Prebiotics*. Food Technology Vol. 55, No. 11, November 2001.