
**PENGARUH NISBAH C/N CAMPURAN LIMBAH *MILK TEA* DAN *MOLASSES*
TERHADAP JUMLAH BAKTERI ASAM LAKTAT, pH, PERUBAHAN FISIK
WARNA, DAN AROMA PADA PROBIOTIK**

**EFFECT OF C/N RATIO MIXED OF MILK TEA WASTE AND MOLASSES ON
AMOUNT LACTIC ACID BACTERIA, pH, PHYSICAL CHANGES COLOR, AND
AROMA IN PROBIOTICS**

Received : May 30th 2020

Accepted : Jul 2nd 2020

Abdul Karim¹
D. Zamzam Badruzzaman¹
Wowon Juanda¹
Yuli Astuti Hidayati*¹

¹Fakultas Peternakan,
Universitas Padjadjaran,
Sumedang.

*Korespondensi:
Yuli Astuti Hidayati

Departemen Teknologi Hasil
Peternakan
Fakultas Peternakan
Universitas Padjadjaran.

Jalan Raya Bandung-
Sumedang KM 21 Jatinangor,
Sumedang. 45363.

e-mail:
yuli.astuti@unpad.ac.id

Abstract. The objective of the research is to identify the effect of various C/N ratio mixed of milk tea waste and molasses on amount of lactic acid bacteria, pH, physical changes color and aroma in probiotics. The material used in this research are milk tea waste and molasses, fermented in anaerobic. The research method uses a Completely Randomized Design (CRD) by 3 treatments, which are P1 = C/N ratio 25, P2 = C/N ratio 30, P3 = C/N ratio 35, with 6 repetitions. The measured parameters are amount of lactic acid bacteria, the pH and physical changes color and aroma. The data were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA) method based of Tukey Test. The results of this research showed that there is a significant effect ($P < 0,05$) between a various of C/N ratio on amount of lactic acid bacteria, pH levels and physical changes color and aroma in the results of fermentation (probiotics). The best respond is on the C/N ratio 30, so it can produced high amount of lactic acid bacteria with an average of $2,06 \times 10^9$ CFU/mL, an average pH of 3,75 and physical changes in color and aroma.

Keywords: C/N ratio, milk tea waste, lactic acid bacteria, liquid probiotics, pH, physical changes.

Sitasi:

Karim, A., Badruzzaman, D. Z., Juanda, W., & Hidayati, Y. A. (2020). Pengaruh Nisbah C/N Campuran Limbah *Milk Tea* dan *Molasses* terhadap Jumlah Bakteri Asam Laktat, pH, Perubahan Fisik Warna, dan Aroma Pada Probiotik. *Jurnal teknologi Hasil Peternakan*, 1(2):47-54.

PENDAHULUAN

Probiotik merupakan bakteri hidup pada jumlah tertentu, jika diberikan pada inang dapat memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan (Hill *et al.*, 2014). Probiotik dapat merubah ekosistem mikroba pencernaan dan meningkatkan keseimbangan mikroflora usus serta mampu bertahan hidup dalam keasaman lambung sehingga dapat menempati usus, dan berpengaruh terhadap kesehatan dan kinerja inang (Samsul *et al.*, 2016).

Pemberian probiotik pada ternak dapat melalui air minum, dicampurkan ke dalam pakan atau dapat juga digunakan terlebih dahulu pada bahan pakan agar dapat meningkatkan kualitas kandungan nutrisi pada pakan tersebut. Penambahan probiotik pada *complete feed* yang diberikan pada sapi perah, mampu meningkatkan konsumsi bahan kering dan meningkatkan kandungan protein dalam susu. Menurut Nabil *et al.* (2019) penambahan probiotik menurunkan angka *Feed Conversion Ratio* (FCR) sebesar 1,95 pada ayam petelur yang diinfeksi *Eschericia coli*. Sedangkan menurut Huda *et al.* (2019) pemberian probiotik pada ayam petelur berpengaruh terhadap konsumsi pakan, *Hen Day Production* dan berat telur.

Probiotik dapat dibuat dari bahan organik dengan proses fermentasi. Salah satu bahan organik yang dapat digunakan sebagai bahan pembuatan probiotik adalah limbah *milk tea*. *Milk tea* merupakan minuman olahan berbahan baku susu dan teh, yang dikemas dalam botol dan berbentuk cair. Produk

milk tea yang sudah melewati umur simpan atau kadaluarsa disebut limbah *milk tea*. Limbah *milk tea* mengandung bahan organik (sumber protein) dan sejumlah bakteri, *milk tea* yang disimpan selama 1 minggu mengandung 135 CFU/mL dan 66×10^3 CFU/mL pada penyimpanan 5 minggu (Yoga & Setya, 2016). Jenis bakteri yang dapat digunakan sebagai probiotik adalah bakteri asam laktat (Trisna, 2012).

Proses fermentasi membutuhkan nisbah C/N tertentu, fermentasi yang diperlukan dalam pembuatan probiotik adalah fermentasi anaerob fakultatif. Nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan dan perbanyakan sel dicerminkan dalam bentuk nisbah C/N. Nutrisi utama yang dibutuhkan oleh BAL adalah sumber karbon dan nitrogen (Azizah *et al.* 2012). Karbon (C) diperlukan sebagai sumber energi dan bahan pembentuk asam laktat, sedangkan nitrogen digunakan sebagai bahan pembentuk biomassa sel. Nilai optimum nisbah C/N berkisar 25 sampai 30. Limbah *milk tea* merupakan sumber protein, mengandung C sebesar 3,31% dan N sebesar 0,32%.

Nisbah C/N pada limbah *milk tea* sebesar 10,34. Untuk memenuhi nisbah C/N yang dibutuhkan dalam proses fermentasi pembuatan probiotik maka perlu ditambahkan sumber C dalam bentuk cair yaitu *molasses*. *Molasses* mengandung sukrosa, glukosa, fruktosa dan rafinosa dalam jumlah yang besar serta sejumlah bahan organik non gula (Valli *et al.*, 2012). *Molasses* memiliki kandungan C sebesar

58,5% dan N sebesar 0,9%. Nisbah C/N pada *molasses* sebesar 52,65 (Kusuma *et al.*, 2017).

Penambahan *molasses* pada proses fermentasi dapat meningkatkan nisbah C/N yang berfungsi sebagai nutrisi bagi pertumbuhan bakteri, sehingga proses pertumbuhan dan perkembangan bakteri terjadi dengan sempurna. Nurlaela *et al.* (2016) menyatakan media *whey* tahu dengan penambahan 5% glukosa + 1% amonium sulfat menghasilkan bakteri asam laktat sejumlah sel 6.5×10^8 CFU/mL dan jumlah BAL yang rendah (3.32×10^8 CFU/mL) pada media *whey* tahu disebabkan karena sedikitnya sumber karbon yang terkandung dalam media, sehingga sedikit pula kandungan gula yang difermentasikan oleh bakteri. Hasil penelitian Subagiyo *et al.* (2016) penambahan glukosa memberikan efek meningkatkan kepadatan sel bakteri asam laktat. Menurut Yeni *et al.* (2016) Berdasarkan variasi rasio C/N yang digunakan berpengaruh terhadap jumlah BAL, dan didapatkan rasio C/N optimum dalam proses fermentasi dengan menggunakan stater tertentu.

Standar Nasional Indonesia SNI 7552:2009. Syarat dari suatu produk dikatakan probiotik apabila produk tersebut mengandung total bakteri asam laktat yang masih hidup pada saat dikonsumsi $\geq 10^6$ CFU/mL. Bakteri Asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri yang telah banyak digunakan sebagai probiotik (Margiono *et al.*, 2017). Hasil penelitian Rizal *et al.* (2016) menunjukkan bahwa probiotik dengan starter *Lactobacillus casei*, meng-

andung bakteri asam laktat sejumlah $1,1 \times 10^{10}$ CFU/mL. Pada proses fermentasi, bakteri asam laktat akan memanfaatkan karbohidrat untuk dirubah menjadi asam laktat, sehingga terjadi penurunan nilai pH dan peningkatan keasaman (Djaafar & Rahayu, 2006).

Proses fermentasi akan merubah kandungan kimia, kandungan biologi, dan bentuk fisik dari substrat yang difermentasi. Tujuan dari penelitian ini untuk memanfaatkan limbah *milk tea* sebagai probiotik untuk ternak, dengan menganalisis pengaruh berbagai nisbah C/N campuran limbah *milk tea* dengan *molasses* terhadap jumlah bakteri asam laktat, pH, perubahan fisik warna dan aroma pada hasil fermentasi.

MATERI DAN METODE

Bahan penelitian yang digunakan terdiri dari limbah *milk tea*, *molasses*, MRS (deMan Rogosa Sharpe) Agar, NaCl fisiologis, aquadest, dan alkohol. Penelitian yang dilakukan menggunakan metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Percobaan terdiri dari tiga perlakuan dan diulang sebanyak enam kali. Bahan probiotik terdiri dari campuran limbah *milk tea* dan *molasses*.

Metode pembuatan yang digunakan adalah fermentasi anaerobik fakultatif. Perlakuan nisbah C/N yang diberikan terdiri atas: $P_1 = 25$; $P_2 = 30$; $P_3 = 35$. Peubah yang diamati adalah jumlah bakteri asam laktat, pH, perubahan fisik yakni warna dan aroma hasil fermentasi. Data dianalisis dengan sidik ragam dan uji Tukey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Jumlah bakteri asam laktat.

Nilai rata-rata jumlah bakteri asam laktat dalam hasil fermentasi anaerob fakultatif (probiotik) campuran limbah *milk tea* dan *molasses* pada berbagai nisbah C/N disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1, rata-rata jumlah bakteri asam laktat yang di-peroleh antara $1,13-2,06 \times 10^9$ CFU/mL, jumlah bakteri asam laktat yang diha-silkan memenuhi persyaratan sebagai probiotik, hal ini sesuai dengan SNI 7552-2009 yang mempersyaratkan jum-lah bakteri asam laktat dalam probiotik $> 1 \times 10^6$ CFU/mL.

Hasil analisis ragam untuk mengetahui pengaruh berbagai nisbah C/N campuran limbah *milk tea* dan *molasses* terhadap jumlah bakteri asam laktat pada probiotik, menunjukkan nisbah C/N memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap jumlah bakteri asam laktat. Hal ini di-duga *molasses* merupakan sumber kar-bon (C) dan dapat meningkatkan nis-bah C/N.

Tabel 1. Rata-rata Jumlah Bakteri Asam Laktat, pH, serta perubahan fisik warna dan aroma dalam hasil fermentasi anaerob fakultatif (probiotik) campuran limbah *milk tea* dan *molasses* pada berbagai nisbah C/N.

Perlakuan	Jumlah BAL ($\times 10^9$ CFU/mL)	pH	Perubahan Fisik	
			Warna	Aroma
P1	$1,13 \pm 0,57^b$	$3,66 \pm 0,01$	Coklat kekuningan	Fermentasi menyengat
P2	$2,06 \pm 0,21^a$	$3,75 \pm 0,02$	Coklat muda	Fermentasi
P3	$1,685 \pm 0,21^b$	$3,81 \pm 0,01$	Coklat tua	Fermentasi sedikit menyengat

Keterangan :

P1 : Limbah *Milk tea* 88,5% + *molasses* 11,5% dengan nisbah C/N 25

P2 : Limbah *Milk tea* 83,4% + *molasses* 16,6% dengan nisbah C/N 30

P3 : Limbah *Milk tea* 75,2% + *molasses* 24,8% dengan nisbah C/N 35

Sejalan dengan pendapat Valli *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa *molasses* mengandung sukrosa, glu-kosa, fruktosa dan rafinosa dalam jum-lah yang besar serta sejumlah bahan organik non gula dan menyatakan bah-wa *molasses* memiliki kandungan C sebesar 58,5% dan N sebesar 0,9%, nisbah C/N pada *molasses* sebesar 52,65, sehingga dapat meningkatkan nisbah C/N.

Penambahan *molasses* sebagai sumber energi dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri asam laktat. Hal ini sejalan dengan pendapat Subagiyo *et al.* (2016) dan Safitri *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa penambahan glu-kosa memberikan efek peningkatan ke-padatan sel bakteri asam laktat.

Untuk mengetahui tingkat per-bedaan antar perlakuan pada nisbah C/N dilakukan Uji Tukey. Hasil uji Tukey pada Tabel 1 menunjukkan bah-wa P2 menghasilkan jumlah bakteri asam laktat $2,06 \times 10^9$ CFU/mL yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dari P1 ($1,13 \times 10^9$ CFU/mL) dan P3 ($1,72 \times 10^9$ CFU/mL).

Campuran limbah *milk tea* dan *molasses* dengan nisbah C/N 30 menghasilkan jumlah bakteri asam laktat tertinggi, yaitu sebesar $2,06 \times 10^9$ CFU/mL. Hal ini diduga nisbah C/N 30 merupakan nisbah C/N yang optimum dalam mengfermentasi campuran limbah *milk tea* dan *molasses* untuk menghasilkan probiotik dengan jumlah bakteri asam laktat tertinggi. Sejalan dengan Menurut Yeni *et al.* (2016) berdasarkan variasi nisbah C/N yang digunakan berpengaruh terhadap jumlah BAL dan didapatkan nisbah C/N optimum dalam proses fermentasi dengan menggunakan stater tertentu.

2. pH

Nilai rata-rata pH dalam hasil fermentasi anaerob fakultatif campuran limbah *milk tea* dan *molasses* pada berbagai nisbah C/N disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1, rata-rata nilai pH antara 3,65-3,81 dan hasil analisis ragam untuk mengetahui pengaruh berbagai nisbah C/N campuran limbah *milk tea* dan *molasses* terhadap nilai pH pada probiotik, menunjukkan bahwa nisbah C/N memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap nilai pH. Hal ini seiring dengan pertumbuhan dan aktifitas dari bakteri asam laktat yang memproduksi asam laktat, sehingga dapat menurunkan pH dalam suatu produk fermentasi. Hal ini sejalan dengan pendapat Djaafar & Rahayu (2006) yang menyatakan bahwa selama proses fermentasi, bakteri asam laktat akan memanfaatkan karbohidrat untuk dirubah menjadi asam

laktat, sehingga terjadi penurunan nilai pH dan peningkatan keasaman. Menurut Nurul *et al.* (2018), penambahan konsentrasi bakteri asam laktat memberikan pengaruh berbeda terhadap sifat kimia (pH dan kadar asam laktat) mayones probiotik.

3. Perubahan fisik (warna dan aroma).

Limbah *milk tea* memiliki karakteristik fisik berupa cairan berwarna putih kehijauan dengan aroma khas susu yang telah basi, kemudian setelah ditambahkan *molasses* kedalam limbah *milk tea* terjadi perubahan warna menjadi coklat muda dan selanjutnya terjadi perubahan warna dan aroma setelah proses fermentasi selesai. Perubahan warna dan aroma setiap perlakuan disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan tabel 1, terjadi perubahan warna dan aroma yang berbeda antar perlakuan.

Proses fermentasi akan merubah kandungan kimia, kandungan biologis, dan bentuk fisik dari substrat yang difermentasi. Hal tersebut dipengaruhi oleh beberapa hal, diantaranya komposisi limbah *milk tea* dan *molasses* (nisbah C/N) yang berbeda dan aktivitas mikroorganisme yang berada, sehingga hasil dari aktivitas mikroorganisme tersebut mempengaruhi perubahan fisik berupa warna dan aroma. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Diko *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa pakan yang diberi probiotik dengan lama penyimpanan 21 hari terjadi perubahan pada keadaan fisik pakan yakni tekstur pakan yang hancur dengan warna putih kehitaman dan aroma pakan yang

berbau tengik. Penelitian Purkan *et al.* (2017) melaporkan bahwa bau pakan ampas tahu yang dicampur dengan probiotik *Lactobacillus Bulgaricus* yang umumnya berbau tidak sedap, namun selama fermentasi, pakan ampas tahu tidak berbau sehingga ramah lingkungan.

KESIMPULAN

Nisbah C/N 30 campuran limbah *milk tea* dan *molasses* menghasilkan jumlah bakteri asam laktat tertinggi sebesar $2,06 \times 10^9$ CFU/mL dengan pH 3,75 dan terjadi perubahan fisik hasil fermentasi (probiotik) menjadi warna coklat muda dan aroma fermentasi. Pemanfaatan limbah *milk tea* menjadi probiotik dapat dilakukan melalui proses fermentasi campuran limbah *milk tea* dan *molasses* dengan nis-bah C/N 30.

DAFTAR PUSTAKA

Azizah, A.N., Baarri, S., & Mulyani, S. (2012). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi *bioethanol* dari *whey* dengan substitusi kulit nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(2): 72-77.

Badan Standarisasi Nasional. Standar Nasional Indonesia SNI 7552: 2009. Jakarta.

Diko, K.H., Ade, D. S., Mirna, F. (2016), Pengaruh Perbedaan Lama Waktu Penyimpanan Pakan Berprobiotik Terhadap Kualitas

Pakan. *Jurnal Akuakultur Rawa Indonesia*, 4(2):117-127.

Djaafar, T.F. & Rahayu, E.S. (2006). Karakteristik yogurt dengan inokulum *Lactobacillus* yang diisolasi dari makanan fermentasi tradisional. *Jurnal Agros*, 8(1): 73-80.

Hill, C., Francisco, G., Gregor, R., Glenn R. G., Daniel J. M., Bruno, P., Lorenzo, M., Roberto, B. C., Harry J. F., Seppo, S., Philip, C. C., & Mary, E.S. (2014). *The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic*. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11(8):506–514.

Huda, K., Lokapirnasari, W.P., Soeharsono, Hidanah, S., N. Harijani, & Kurnijasanti, R. (2019). Pengaruh Pemberian Probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* terhadap Produksi Ayam Petelur yang Diinfeksi *Escherichia coli*. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 14(2): 154-160.

Kusuma, A.G., Istirokhatun, & T., Purwono. (2017). Pengaruh Penambahan Urin Sapi dan Molasses Terhadap Kandungan C Organik dan Nitrogen Total Dalam Pengolahan Limbah Padat Isi Rumen RPH Dengan Pengom-

- posan Aerobik. *Jurnal Teknik Lingkungan*, Vol 6, No.1.
- Margiono, S., Triyanto, T, Setiawan, F., Setyati, W.A., & Pramesti, R. (2017). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Intestinal Udang Panaeid Tipe Liar Terhadap Bakteri Vibrio. *Jurnal Kelautan Tropis*, 20(1):7- 15.
- Nabil, F. N., Widya, P.L., Mohammad A. A., Koesnoto S., Sri,H., & Sarmanu. (2019). Efek Penggunaan Probiotik *Lactobacillus Casei* Dan *Bifidobacterium Sp* Terhadap Angka Konversi Pakan Dan Konsumsi Pakan Pada Ayam Petelur Yang Diinfeksi *Escherichia Coli*. *Jurnal Riset dan Konseptual*. 4(2):167-173.
- Nurul, A.U., Suradi,K & Gumilar, J. (2018). Pengaruh Konsentrasi Bakteri Asam Laktat *L. Plantarum* dan *L. Casei* Terhadap Mutu Mikrobiologi dan Kimia Mayones Probiotik. *Jurnal Ilmu Ternak*, 18(2): 79-85.
- Nurlaela, S., Titi, C.S., & Anja, M. (2016). Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Pedococcus pentosaceus* Menggunakan Substrat Whey Tahu. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 2(2): 31-38.
- Purkan, P., Nur, N. L., & Sri, S. (2017). *Lactobacillus Bulgaricus* Sebagai Probiotik Guna Peningkatan Kualitas Ampas Tahu Untuk Pakan Cacing Tanah. *Jurnal Kimia Riset*, 2(1):1-9.
- Samsul, R., Maria, E., Fibra, N., & Artha R.T. (2016). Karakteristik Probiotik Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas dengan Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(1):63-71.
- Subagiyo, Sebastian, M., & Triyanto. (2016). Pengaruh Penambahan Berbagai Jenis Sumber Karbon, Nitrogen Dan Fosfor Pada *Medium deMan, Rogosa and Sharpe* (MRS) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Terpilih Yang Diisolasi Dari Intestinum Udang Panaeid. *Jurnal Kelautan Tropis*, 18(3):127–132.
- Trisna, W.N. (2012). Identifikasi Molekuler dan Pengaruh Pemberian Probiotik Bakteri Asam Laktat (BAL) Asal Dadih dari Kabupaten Sijunjung Terhadap Kadar Kolesterol Daging Pada Itik Pitalah Sumber Daya Genetik Sumatra Barat. *Artikel Ilmiah Peternakan*. Universitas Andalas.
- Valli, V., Gomez-Caravaca, A.M., DiNunzio, M., Danesi, F., Caboni, M. F., and Bordoni, A. (2012). Sugar Cane and Sugar Beet Molasses, Antioxidant-rich Alternatives to Refined Sugar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(51):12508-12515.

Yeni, Anja, M. & Titi, C. S. (2016). Penggunaan Substrat *Whey* Tahu Untuk Produksi Biomassa Oleh *Pediococcus Pentosaceus* E.12-22. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 26(3):284-293.

Yoga, P., & Setya, B.M.A. (2016). Perlakuan Panas Mendidih Pada Pembuatan *Milk-Tea* Dalam Kemasan (Kajian Pada Industri Skala Kecil). *Jurnal Pangan dan Gizi*. 7(13):111.