

AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINUMAN PROBIOTIK SARI KURMA (*Phoenix dactilyfera L.*) MENGGUNAKAN *Lactobacillus plantarum* DAN *Lactobacillus casei*

Antibacterial Activity of Probiotic Date Fruit (Phoenix dactilyfera L.) Beverages Using Lactobacillus plantarum and Lactobacillus casei

Khusnul Khotimah^{1*}, Joni Kusnadi¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: chz_snd@rocketmail.com

ABSTRAK

Buah kurma kaya akan gula alami yang bisa digunakan sebagai sumber karbon dalam minuman probiotik. Pembuatan minuman probiotik sari kurma memerlukan peran *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* untuk melakukan fermentasi sehingga dihasilkan metabolit-metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan proporsi buah:air dan konsentrasi susu skim yang memaksimalkan aktivitas antibakteri minuman probiotik sari kurma. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor. Faktor I adalah proporsi buah:air (1:5, 1:6, 1:7) dan faktor II adalah konsentrasi susu skim (6%, 8%, 10%). Hasil perlakuan terbaik yaitu proporsi buah:air 1:5 dan susu skim 8% dengan nilai total BAL 11.94 log CFU/ml; pH 3.80; total asam 1.69%; penurunan total gula 4.66%; aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus cereus* 5.13 cm², *Staphylococcus aureus* 6.27 cm², *Escherichia coli* 2 cm², *Salmonella typhimurium* 2.45 cm².

Kata kunci : Antibakteri, Fermentasi, Kurma, Minuman Probiotik

ABSTRACT

Date fruits are rich in sugar which can be utilized as carbon source of probiotic beverages. The probiotics used in this research are Lactobacillus plantarum and Lactobacillus casei which can produce metabolites to inhibit the growth of pathogen bacteria. This research was aimed for determining ratio of fruits : water and skim milk concentration which resulted in the maximum antibacterial activity of probiotic drink's. Randomized Block Design was used in this experiment with two factors, fruit : water proportion (1:5, 1:6, 1:7) as factor I and skim milk concentration (6%, 8%, 10%) as factor II. The best treatment was ratio fruit : water, 1:5 and 8% skim milk which resulted in total LAB 11.94 log CFU/mL; pH 3.80; total acid 1.69%; sugar reduction 4.66%; antibacterial activity towards Bacillus cereus 5.13 cm², Staphylococcus aureus 6.27 cm², Escherichia coli 2.00 cm², Salmonella typhimurium 2.45 cm².

Keyword : Antibacterial, Dates, Fermentation, Probiotic Drink

PENDAHULUAN

Minuman probiotik adalah minuman yang mengandung sejumlah bakteri hidup yang bermanfaat dan menjaga keseimbangan mikroflora alami di dalam saluran pencernaan manusia [1]. Minuman probiotik merupakan salah satu contoh makanan fungsional. Saat ini banyak dikembangkan pembuatan minuman probiotik dari sari buah yang bersifat *low fat* dan mengandung serat pangan yang bermanfaat bagi sistem pencernaan.

Buah Kurma (*Phoenix dactylifera L.*) merupakan salah satu komoditi pertanian yang penting di Afrika Utara, Timur Tengah, dan negara – negara Asia [2]. Buah kurma kering mengandung gula sekitar 80%, yang meliputi glukosa, fruktosa dan juga sukrosa. Sisanya terdiri dari produk mineral termasuk tembaga, besi, magnesium dan asam folat. Kurma kaya dengan serat, vitamin dan merupakan sumber kalium yang sangat baik [3]. Pembuatan minuman probiotik dari sari buah kurma merupakan suatu inovasi produk baru karena belum terdapat di pasaran.

Dalam minuman probiotik, tentunya membutuhkan peran dari bakteri probiotik yang mana bakteri tersebut akan menghasilkan metabolit yang bermanfaat bagi kesehatan bagi yang mengkonsumsinya. Minuman probiotik sari buah kurma dalam penelitian ini menggunakan bakteri probiotik *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei*. Bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* telah banyak digunakan dalam pembuatan minuman probiotik dan tidak menghasilkan toksin dalam metabolitnya [1].

Bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* mampu menghasilkan senyawa organik dan hidrogen peroksida yang bersifat antibakteri. Senyawa antibakteri adalah senyawa kimiawi atau biologis yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri patogen [4]. Bakteri patogen yang banyak mengkontaminasi makanan dan menyebabkan penyakit misalnya *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhimurium*. Bakteri patogen menyebabkan bahaya karena memiliki kemampuan menginfeksi, menimbulkan penyakit dan merusak kualitas bahan pangan [4].

Bakteri asam laktat membutuhkan sumber nutrisi untuk pertumbuhannya. Buah kurma kaya akan gula, yang mana nantinya akan digunakan sebagai sumber karbon (C) bagi bakteri asam laktat untuk tumbuh. Sumber karbon dalam kurma terlalu tinggi dan perlu diencerkan dengan perbandingan air tertentu. Kandungan gula pada bioproduk yang melebihi 15% akan meningkatkan tekanan osmosis pada medium substrat dan menghambat pertumbuhan bagi mikroorganisme asam laktat [5]. Dalam pembuatan minuman sari kurma probiotik ditambahkan susu skim. Penambahan susu skim bertujuan untuk menambah kandungan *solid non fat* pada produk dan sebagai sumber protein (N) serta memperbaiki tekstur pada produk akhir [6]. Dengan adanya sumber karbon dan nitrogen tersebut, diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri asam laktat sehingga dapat mempengaruhi aktivitas antibakterinya.

Namun belum diketahui pengenceran kurma dengan air (perbandingan buah kurma dengan air) serta penambahan proporsi susu skim yang tepat untuk mendapatkan aktivitas antibakteri oleh *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* yang maksimal pada minuman probiotik sari kurma. Sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh perbandingan buah kurma dengan air dan penambahan susu skim terhadap aktivitas antibakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* pada minuman probiotik sari kurma.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Buah kurma *Lulu* kering, kultur *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Studi dan Pangan Universitas Gajahmada, serta susu skim. Sedangkan bahan yang digunakan untuk analisis kimia adalah analisis pH: larutan buffer pH 4 & 7; analisis total gula: anthrone, CaCO₃, Pb-asetat, Na-oksalat; analisis total asam: NaOH, Indikator PP, asam oksalat. Sedangkan bahan yang digunakan untuk analisis mikrobiologis adalah analisis total BAL: MRS Agar merk Merck, MRS Broth merk Merck, alkohol 70%, aquades steril; analisis aktivitas antibakteri: media NA (*Nutrien Agar*) merk Merck, media *Nutrien Broth* merk Merck, alkohol 70%, bakteri patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya.

Alat

Alat yang digunakan pada proses pembuatan dan analisis minuman fermentasi sari buah kurma adalah *glassware* (Iwaki Pyrex), kompor listrik (Maspion S-300 220V), autoklaf (HL-36 AE Hiramaya, Jepang), kulkas (Polytron), inkubator (Binder DB53, Jerman), *Laminar Air Flow*, rak tabung reaksi, timbangan digital (Denver Instrumen M-310), bunsen, jarum ose, spatula besi, vortex, bola hisap, sendok, wadah plastik, panci, termometer, mikropipet (finnpipette, labsystem) dan tip, pH meter (model PHS-3C), spektrofotometer (Unico, uv-2100 *Spechtrophotometer*), kuvet, *colony counter*, pipet tetes, corong, *borer*, jangka sorong, kapas, karet dan kertas payung.

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor. Faktor I adalah proporsi buah kurma:air (1:5, 1:6, 1:7) dan faktor II adalah konsentrasi susu skim (6%, 8%, 10%). Masing – masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

Tahapan Penelitian

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yang harus dilakukan, yaitu tahapan pertama adalah pembuatan stok kultur agar miring *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei*, pembuatan medium sari buah kurma, pembuatan kultur starter cair *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei*, dan dilanjutkan proses akhir yaitu pembuatan minuman probiotik sari buah kurma.

Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode analisis keragaman (ANOVA) dan pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode Zeleny.

Prosedur Analisis

1. Analisis Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Sampel diambil 1 ml, dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril (pengenceran 10^{-1}). Diambil 1 ml larutan dari pengenceran 10^{-1} , dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades steril (pengenceran 10^{-2}), begitu seterusnya sampai pengenceran 10^{-10} . Diambil 1 ml dari 3 pengenceran terakhir yaitu pengenceran 10^{-8} , 10^{-9} dan 10^{-10} dan dituang dalam cawan petri steril, lalu dituangi media MRSA steril (hangat) sampai dasar cawan tertutup media. Setelah media memadat, diinkubasi suhu 37°C selama 48 jam. Dicatat pertumbuhan koloni pada setiap cawan yang mengandung koloni dan dihitung angka TPC dalam 1 ml dengan mengalikan jumlah koloni rata – rata dengan faktor pengenceran yang digunakan dengan satuan *colony forming unit/ml*.

2. Analisis pH

Sampel yang telah dihomogenkan (medium fermentasi) diambil sekitar 30 ml dan ditempatkan dalam *beaker glass* 50 ml. Sebelum digunakan, pH meter dikalibrasi menggunakan buffer pH 7 dan 4 lalu dibersihkan dengan aquades selanjutnya dilakukan pengukuran pH sampel. Setiap kali akan mengukur pH sampel yang lain, sebelumnya pH meter dibersihkan dengan aquades.

3. Analisis Total Asam

10 gram sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas, selanjutnya dihomogenkan dan disaring. Filtrat diambil 10 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Ditambahkan 2-3 tetes indikator pp. Dititrasi dengan larutan 0,1 N NaOH sampai warna larutan berubah menjadi merah muda dan warna tersebut tidak berubah kembali selama 30 detik. Pada akhir titrasi dihitung jumlah NaOH yang digunakan. Kemudian untuk mengetahui nilai total asam produk menggunakan perhitungan sebagai berikut : Total asam (%) = $((V \times N \times P \times BE \text{ asam}) / (\text{berat sampel} \times 1000)) \times 100\%$.

4. Analisis Total Gula

Sampel ditimbang sebanyak 5 gram kemudian ditambahkan aquades 100 ml dan CaCO₃, lalu dididihkan diatas kompor selama 30 menit dan didinginkan cepat. Kemudian ditambahkan Na-oksalat dan Pb-asetat, disaring dengan kertas saring dan dilakukan pengenceran sesuai yang diinginkan. Sampel diambil 1 ml kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan cepat 5 ml pereaksi Anthrone ke dalam masing – masing tabung reaksi. Tabung reaksi ditutup dan dikocok. Dipanaskan dengan air mendidih selama 12 menit. Dinginkan dengan cepat menggunakan air mengalir. Dipindahkan ke dalam kuvet dan dibaca absorbansinya pada $\lambda = 630 \text{ nm}$. Total gula diperoleh dari persamaan $y = ax + b$, kemudian dimasukkan dalam rumus Total Gula (%) = $((X \times \text{pengenceran}) / \text{berat sampel (mg)}) \times 100\%$.

5. Analisis Aktivitas Antibakteri

Dimasukkan bakteri indikator sebanyak 40 μL ke dalam *petridish* steril, dituangkan 25 mL NA steril hangat, dan dibiarkan memadat selama 15 menit. Kemudian Dibuat sumuran dengan diameter 8 mm. Dituang ke dalam sumuran sebanyak 100 μL sampel, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diamati adanya penghambatan (zona bening) dan diukur diameter penghambatannya dengan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Analisis Minuman Probiotik Sari Buah Kurma Sebelum Fermentasi

Sebelum dilakukannya proses fermentasi dalam pembuatan minuman probiotik sari kurma, dilakukan analisis awal terlebih dahulu. Analisis awal dilakukan setelah penambahan starter bakteri probiotik *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei*. Hasil rerata analisis awal untuk parameter total bakteri asam laktat (BAL), pH, total asam dan total gula pada minuman probiotik sari kurma dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata Hasil Analisis Awal Sebelum Fermentasi

Perlakuan		Total BAL (log cfu/ml)	pH	Total Asam (%)	Total Gula (%)
Perbandingan Kurma : Air	Konsentrasi Susu Skim (%) (b/v)				
1:5	6	7.37	5.48	0.33	13.36
	8	7.46	5.56	0.30	14.16
	10	7.28	5.64	0.27	15.03
1:6	6	7.28	5.59	0.30	12.82
	8	7.23	5.68	0.27	13.20
	10	7.37	5.69	0.27	14.68
1:7	6	7.18	5.75	0.27	12.00
	8	7.34	5.80	0.21	12.69
	10	7.31	5.81	0.21	13.75

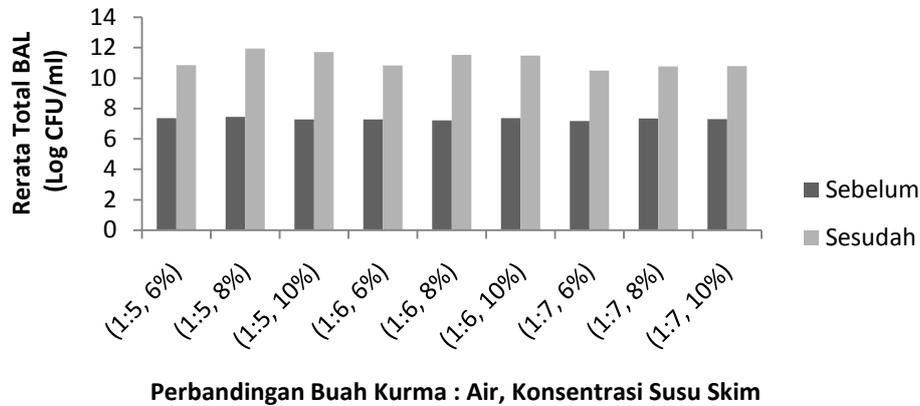
Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa total BAL awal produk minuman probiotik sari buah kurma setelah ditambahkan susu skim dan diinokulasi kultur starter *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* berkisar antara 7.18 – 7.46. Nilai pH berkisar antara 5.48 – 5.81. Total asam berkisar antara 0.21 – 0.33. Total gula berkisar antara 12.00 – 15.03. Sedangkan untuk analisis awal aktivitas antibakteri tidak menghasilkan zona bening pada semua perlakuan.

2. Analisis Minuman Probiotik Sari Buah Kurma Setelah Fermentasi

Analisis Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Analisis total BAL minuma probiotik sari buah kurma dilakukan untuk mengetahui perubahan total BAL setelah fermentasi. Jumlah total BAL mengalami peningkatan setelah

dilakukan proses fermentasi yaitu mencapai 10.49 log cfu/ml hingga 11.94 log cfu/ml. Pengaruh perlakuan perbandingan buah kurma : air dan konsentrasi susu skim terhadap nilai total BAL minuman probiotik sari buah kurma sebelum dan setelah dilakukannya proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengaruh Perbandingan Buah Kurma : Air dan Konsentrasi Susu Skim terhadap Rerata Total BAL Minuman Probiotik Sari Kurma

Dari Gambar 1, dapat dilihat bahwa setelah dilakukan proses fermentasi jumlah total BAL mengalami peningkatan. Semakin rendah pengenceran dan semakin tinggi konsentrasi susu skim yang diberikan jumlah total BAL semakin meningkat. Hal ini dikarenakan, bakteri asam laktat memanfaatkan gula pada sari kurma sebagai sumber karbon dan susu skim sebagai sumber nitrogen untuk melakukan pertumbuhan. Bakteri asam laktat memanfaatkan gula sebagai sumber energi, pertumbuhan dan menghasilkan metabolit berupa asam laktat selama proses fermentasi [7]. Selain itu adanya laktosa pada susu, jumlah bakteri pada starter, suhu dan waktu inkubasi sangat berpengaruh terhadap kecepatan tumbuh bakteri asam laktat [8]. Nutrisi bagi mikroba berfungsi sebagai sumber energi untuk pertumbuhan, membentuk sel dan biosintesis produk-produk metabolit.

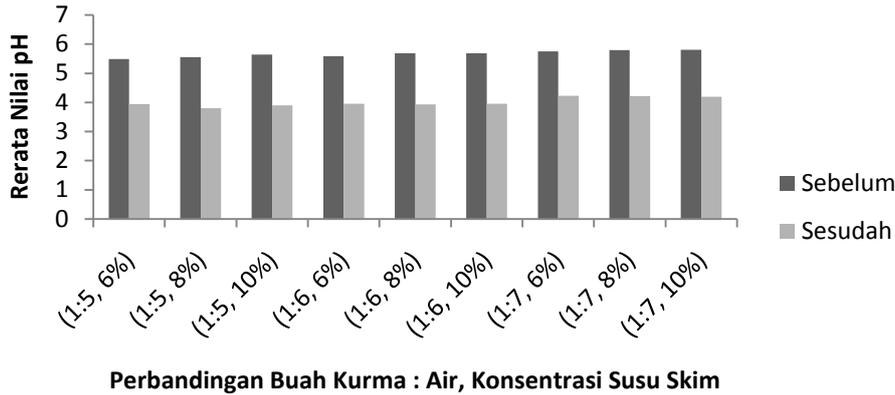
Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan buah kurma : air dan konsentrasi susu skim memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap nilai total BAL. Pada interaksi antar perlakuan tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap nilai total BAL.

Analisis pH

Analisis pH dilakukan pada awal yaitu sebelum fermentasi dan setelah fermentasi dengan tujuan untuk mengetahui besarnya penurunan nilai pH pada minuman probiotik sari kurma. Pengaruh perlakuan perbandingan buah:air dan konsentrasi susu skim terhadap nilai pH sebelum dan setelah dilakukannya proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.

Dari Gambar 2 dapat diketahui hasil rerata pH minuman probiotik sari buah kurma setelah dilakukan proses fermentasi berkisar antara 3.80 – 4.23, dimana nilai rerata pH terendah ada pada produk dengan perbandingan buah:air 1:5 dan konsentrasi susu skim 8% sedangkan nilai rerata pH tertinggi ada pada produk minuman probiotik sari buah kurma dengan perbandingan buah:air 1:7 dan konsentrasi susu skim 6%.

Semakin rendah pengenceran dan semakin tinggi konsentrasi susu skim, maka nilai pH akan mengalami penurunan, karena semakin banyak nutrisi dalam media, maka BAL akan tumbuh semakin banyak dan menyebabkan nilai pH semakin menurun. Penurunan derajat keasaman (pH) disebabkan oleh ion H^+ yang berasal dari perombakan senyawa asam hasil metabolisme bakteri asam laktat. Asam laktat akan terdisosiasi menghasilkan H^+ dan $CH_3CHOHCOO^-$, sehingga semakin tinggi asam laktat yang dihasilkan, memungkinkan tingginya ion H^+ yang terbebaskan dalam medium [9]. Asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi dapat meningkatkan cita rasa dan meningkatkan keasaman atau menurunkan pHnya [10].

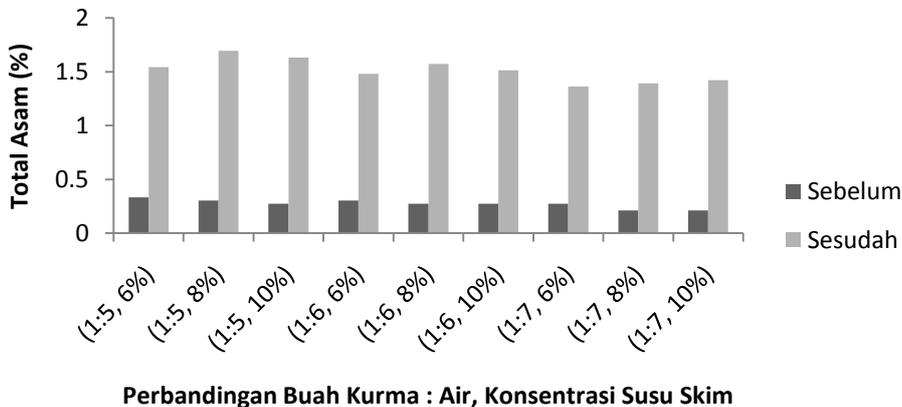


Gambar 2. Pengaruh Perbandingan Buah Kurma : Air dan Konsentrasi Susu Skim terhadap Rerata Nilai pH Minuman Probiotik Sari Kurma

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan buah kurma : air dan konsentrasi susu skim berpengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap nilai pH, dan keduanya menunjukkan adanya interaksi yang berbeda nyata terhadap nilai pH.

Analisis Total Asam

Dari hasil penelitian, rerata total asam sebelum fermentasi berkisar antara 0.21% hingga 0.33%. Sedangkan nilai rerata total asam setelah fermentasi berkisar antara 1.36% hingga 1.69%. Nilai total asam tertinggi setelah proses fermentasi, terdapat pada perbandingan buah:air 1:5 dan konsentrasi susu skim 8%, sedangkan nilai total asam terendah terdapat pada perbandingan buah:air 1:7 dan konsentrasi susu skim 6%. Pengaruh perlakuan perbandingan buah kurma : air dan konsentrasi susu skim terhadap rerata total asam minuman probiotik sari buah kurma sebelum dan setelah dilakukannya proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh Perbandingan Buah Kurma : Air dan Konsentrasi Susu Skim terhadap Rerata Total Asam Minuman Probiotik Sari Kurma

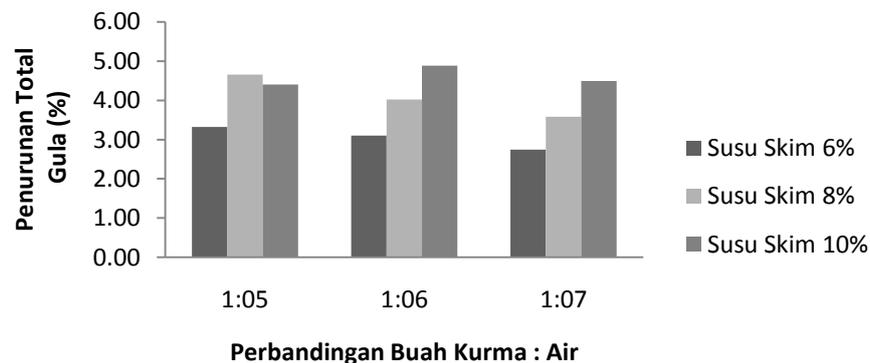
Dari Gambar 3 terlihat bahwa perbandingan buah kurma : air dan konsentrasi susu skim memberikan pengaruh terhadap nilai total asam. Semakin rendah pengenceran dan semakin tinggi konsentrasi susu skim, maka nilai total asamnya akan meningkat. Total asam yang dihitung diasumsikan sebagai jumlah total asam laktat yang merupakan hasil metabolit dari bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* akibat sumber nutrisi yang tersedia dalam minuman probiotik sari kurma. Semakin banyak nutrisi yang terkandung dalam suatu produk probiotik maka akan meningkatkan pertumbuhan bakteri asam laktat. Dengan adanya aktivitas bakteri asam laktat dalam merombak nutrisi yang ada pada buah

kurma dan susu skim menjadi asam laktat dapat menyebabkan terjadinya peningkatan nilai total asam. Laktosa dan sukrosa akan dihidrolisis oleh bakteri asam laktat dengan hasil berupa piruvat dan akan diubah menjadi asam laktat oleh enzim laktat dehidrogenase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut [11].

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan buah kurma : air dan konsentrasi susu skim memberikan pengaruh nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap nilai total asam. Pada interaksi antar perlakuan tidak berpengaruh nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap nilai total asam.

Analisis Total Gula

Gula yang masih terkandung dalam produk minuman probiotik sari kurma dapat dilihat dengan analisis total gula. Sehingga analisis total gula yang dilakukan pada produk akhir bertujuan untuk mengetahui perubahan jumlah total gula yang terdapat pada minuman probiotik sari kurma setelah proses fermentasi berlangsung. Grafik penurunan total gula setelah dilakukannya proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengaruh Perbandingan Buah Kurma : Air dan Konsentrasi Susu Skim terhadap Penurunan Total Gula Minuman Probiotik Sari Kurma

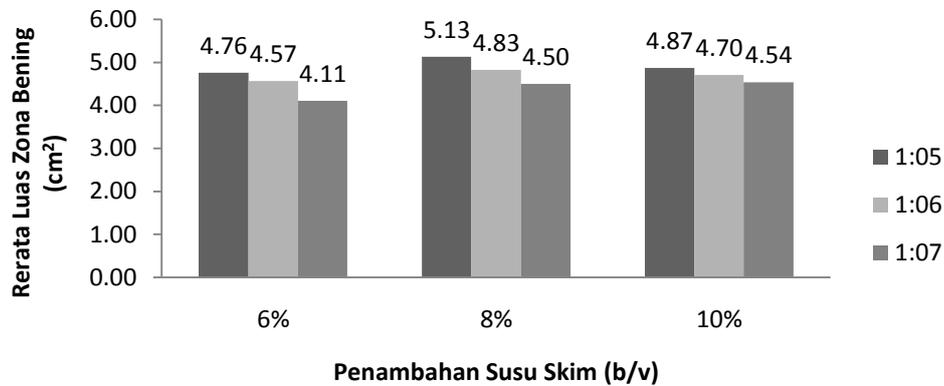
Dari Gambar 4 dapat dilihat bahwa penurunan total gula terbesar terdapat pada perlakuan perbandingan buah:air 1:6 dengan penambahan susu skim 10%, yaitu 4.88%. Sedangkan penurunan terkecil terdapat pada perbandingan 1:7 dengan konsentrasi susu skim 6%, yaitu 2.74%. Diduga penurunan ini disebabkan adanya pemanfaatan sumber nutrisi pada sari kurma dan susu skim sebagai sumber energi oleh bakteri asam laktat. Hal tersebut berkaitan erat dengan perubahan jumlah total bakteri asam laktat. Semakin banyak sel bakteri asam laktat yang terbentuk, maka sumber gula akan semakin banyak digunakan untuk metabolisme sel [7]. Namun selama proses fermentasi bakteri asam laktat mempunyai batasan optimal untuk dapat menggunakan gula sebagai sumber energi dan karbon sehingga tidak semua gula yang ditambahkan diubah menjadi asam laktat. Gula sisa yang terbentuk akan dihitung sebagai total gula setelah proses fermentasi berlangsung.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi susu skim memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap penurunan total gula. Pada perlakuan perbandingan buah:air tidak memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0.05$) serta interaksi antar perlakuan tidak berpengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap penurunan total gula.

Aktivitas Antibakteri terhadap *Bacillus cereus*

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan mengukur zona bening dari minuman probiotik sari kurma setelah fermentasi terhadap bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat pada Gambar 5. Dari Gambar 5 dapat dilihat bahwa semakin rendah pengenceran dan semakin tinggi konsentrasi susu skim, maka luas zona bening yang terbentuk semakin besar. Zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh jumlah dan kinerja bakteri probiotik yaitu dengan menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen melalui produksi substansi antibakteri seperti asam laktat, asam asetat, asetaldehida, hidrogen peroksida dan bakteriosin [12]. Semakin banyak BAL yang tumbuh di dalam substrat, tentunya akan semakin banyak

produksi asam laktat yang dihasilkan. Jika total asam semakin meningkat, maka bakteri patogen akan semakin terhambat pertumbuhannya, akibatnya luas zona bening yang terbentuk juga semakin besar.

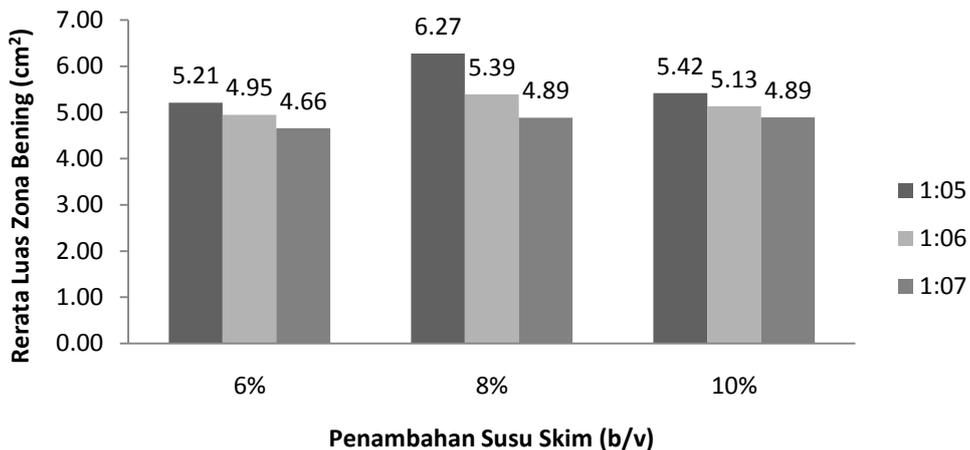


Gambar 5. Rerata Luas Zona Bening Analisis Aktivitas Antibakteri Produk Minuman Probiotik Sari Kurma dengan Perlakuan Perbandingan Buah Kurma : Air dan Konsentrasi Susu Skim terhadap Bakteri *Bacillus cereus*

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan buah:air dan konsentrasi susu skim memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap peningkatan luas zona bening dengan bakteri indikator *Bacillus cereus*. Pada interaksi antar perlakuan tidak berpengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap peningkatan luas zona bening dengan bakteri indikator *Bacillus cereus*.

Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan mengukur zona bening dari minuman probiotik sari kurma setelah difermentasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Rerata Luas Zona Bening Analisis Aktivitas Antibakteri Produk Minuman Probiotik Sari Kurma dengan Perlakuan Perbandingan Buah Kurma : Air dan Konsentrasi Susu Skim terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

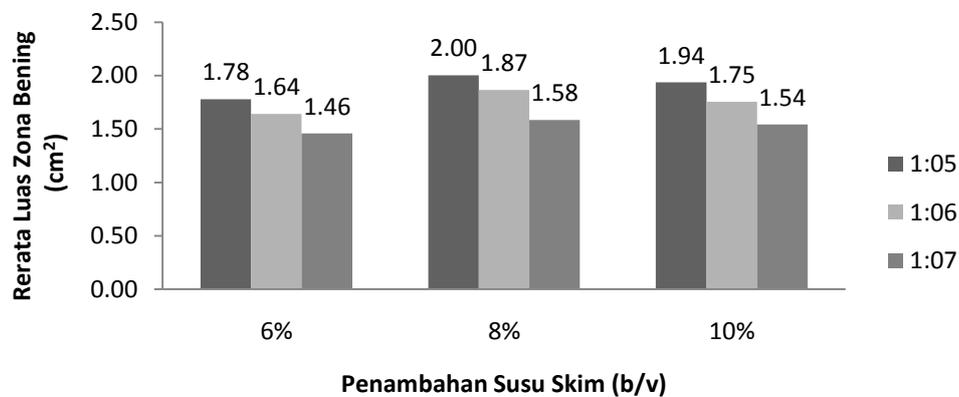
Dari Gambar 6 dapat dilihat bahwa semakin rendah pengenceran dan semakin tinggi konsentrasi susu skim, maka luas zona bening yang terbentuk semakin besar. Zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh bakteri asam laktat yang memproduksi asam laktat, asam – asam organik lain, hidrogen peroksida, dan diasetil serta senyawa – senyawa lain yang bersifat antibakteri [13]. Asam laktat merupakan hasil metabolit utama fermentasi oleh BAL.

Pada pH rendah, sejumlah asam laktat berada dalam bentuk tidak terdisosiasi [13]. Pada pH intraseluler yang tinggi, asam laktat akan berdisosiasi dan menghasilkan ion H⁺. Proton yang berlebihan dapat mengganggu fungsi metabolik yang penting [14]. Selain menghasilkan metabolit berupa asam – asam organik, bakteri probiotik *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* juga menghasilkan senyawa bakteriosin yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan dari bakteri lain [15].

Hasil analisis raga menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan buah:air memberikan pengaruh tidak nyata ($\alpha=0.05$) terhadap peningkatan luas zona bening dengan bakteri indikator *Staphylococcus aureus*. Pada perlakuan konsentrasi susu skim dan interaksi antar perlakuan juga tidak berpengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap peningkatan luas zona bening dengan bakteri indikator *Staphylococcus aureus*.

Aktivitas Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan mengukur zona bening dari minuman probiotik sari kurma setelah difermentasi terhadap bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Rerata Luas Zona Bening Analisis Aktivitas Antibakteri Produk Minuman Probiotik Sari Kurma dengan Perlakuan Perbandingan Buah Kurma : Air dan Konsentrasi Susu Skim terhadap Bakteri *Escherichia coli*

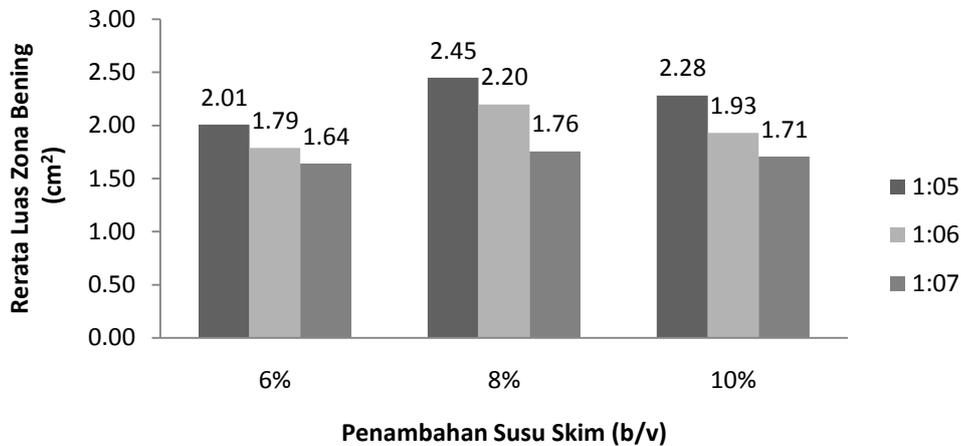
Dari Gambar 7 dapat dilihat bahwa semakin rendah pengenceran dan semakin tinggi konsentrasi susu skim, maka luas zona bening yang terbentuk semakin besar. Zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh jumlah dan kinerja bakteri probiotik yaitu dengan menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen melalui produksi substansi antibakteri seperti asam laktat, asam asetat, asetaldehida, hidrogen peroksida dan bakteriosin [12]. Semakin banyak BAL yang tumbuh di dalam substrat, tentunya akan semakin banyak produksi asam laktat yang dihasilkan. Jika total asam semakin meningkat, maka bakteri patogen akan semakin terhambat pertumbuhannya, akibatnya luas zona bening yang terbentuk juga semakin besar.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan buah:air dan konsentrasi susu skim memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap peningkatan luas zona bening dengan bakteri indikator *Escherichia coli*. Pada interaksi antar perlakuan tidak berpengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap peningkatan luas zona bening dengan bakteri indikator *Escherichia coli*.

Aktivitas Antibakteri terhadap *Salmonella typhimurium*

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dengan mengukur zona bening dari minuman probiotik sari kurma setelah difermentasi terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* dapat dilihat pada Gambar 8. Dari Gambar 8 dapat dilihat bahwa semakin rendah pengenceran dan semakin tinggi konsentrasi susu skim, maka luas zona bening yang terbentuk semakin besar, karena dengan semakin banyaknya nutrisi maka BAL akan semakin banyak yang

tumbuh. Zona bening yang terbentuk dipengaruhi oleh jumlah dan kinerja bakteri probiotik yaitu dengan menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen melalui produksi substansi antibakteri seperti asam laktat, asam asetat, asetaldehida, hidrogen peroksida dan bakteriosin [12].



Gambar 8. Rerata Luas Zona Bening Analisis Aktivitas Antibakteri Produk Minuman Probiotik Sari Kurma dengan Perlakuan Perbandingan Buah Kurma : Air dan Konsentrasi Susu Skim terhadap Bakteri *Salmonella typhimurium*

Asam laktat merupakan hasil metabolit utama fermentasi oleh BAL. Pada pH rendah, sejumlah asam laktat berada dalam bentuk tidak terdisosiasi [13]. Pada pH intraseluler yang tinggi, asam laktat akan berdisosiasi dan menghasilkan ion H⁺. Proton yang berlebihan dapat mengganggu fungsi metabolik yang penting [14]. Selain menghasilkan metabolit berupa asam – asam organik, bakteri probiotik *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* juga menghasilkan senyawa bakteriosin yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan dari bakteri lain [15].

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan perbandingan buah:air dan konsentrasi susu skim memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap peningkatan luas zona bening dengan bakteri indikator *Salmonella typhimurium*. Pada interaksi antar perlakuan tidak berpengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap peningkatan luas zona bening dengan bakteri indikator *Salmonella typhimurium*.

2. Pemilihan Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik untuk hasil penelitian ini ditentukan dengan menggunakan metode Zeleny yang dilakukan pada produk akhir minuman probiotik sari buah kurma, dimana parameternya meliputi parameter kimia dan mikrobiologi. Minuman probiotik sari buah kurma terbaik dengan perbandingan buah:air 1:5 dan konsentrasi susu skim 8%. Pada perlakuan ini minuman probiotik sari buah kurma memiliki total BAL sebesar 11.94 log cfu/ml; pH 3.80; total asam 1.69 %; selisih total gula 4.66 %; luas zona aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator *Bacillus cereus* sebesar 5.13 cm²; luas zona aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator *Staphylococcus aureus* sebesar 6.27 cm²; luas zona aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator *Escherichia coli* sebesar 2 cm²; dan luas zona aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator *Salmonella typhimurium* sebesar 2.45 cm².

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada perlakuan perbandingan buah kurma : air (1:5, 1:6, dan 1:7) berpengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap total BAL, total asam, aktivitas antibakteri pada bakteri indikator *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium*. Perlakuan konsentrasi susu skim (6%, 8%, dan 10%) berpengaruh nyata

($\alpha=0.05$) terhadap total BAL, total asam, penurunan total gula, aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium*. Kedua perlakuan terjadi interaksi dan memberikan pengaruh nyata ($\alpha=0.05$) terhadap nilai pH. Pemberian perlakuan perbandingan buah kurma : air dan konsentrasi skim yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri pada bakteri indikator *Staphylococcus aureus*.

Perlakuan terbaik yang diperoleh yaitu minuman probiotik sari buah kurma dengan perbandingan buah:air 1:5 dan konsentrasi susu skim 8% yang memiliki total BAL sebesar 11.94 log cfu/ml; pH 3.80; total asam 1.69 %; selisih total gula 4.66 %; luas zona aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator *Bacillus cereus* sebesar 5.13 cm²; luas zona aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator *Staphylococcus aureus* sebesar 6.27 cm²; luas zona aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator *Escherichia coli* sebesar 2 cm²; dan luas zona aktivitas antibakteri terhadap bakteri indikator *Salmonella typhimurium* sebesar 2.45 cm²..

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Prangdimurti, E. 2001. Minuman Fermentasi asam laktat. <https://plus.google.com/100070004133669822233/posts/BXYLKtnfLg>. Tanggal akses: 30/03/2013
- 2) Khan, M.N., Sarwar, A., Wahab, F. And Haleem, R. 2008. Physico-chemical characterization of date varieties using multivariate analysis. *Journal of Science and Food Agriculture* 88: 1051-1059
- 3) Al-Hooti, S.N, J.S Sidhu, H. Qabazard. 1995. Studies on the Physicochemical Characteristics of Date Fruits of Five UAE Cultivars at Different Stages of Maturity. *Arab Gulf J Scient Res* 13(3): 553-569
- 4) Fardiaz, S. 2000. Riset Mikrobiologi Pangan untuk Peningkatan Keamanan Pangan di Indonesia. Yayasan Srikandi untuk Keamanan Pangan
- 5) Sudarmadji, S., B. Haryadi, dan Suhardi. 1997. Prosedur Analisis Untuk Bahan Makanan dan Hasil Pertanian. Penerbit Liberty. Yogyakarta
- 6) Anita. 2012. Studi Pembuatan Minuman Probiotik Sari Buah Pir (*Pyrus L.*) Varietas Ya-Lie dengan Isolat *Lactobacillus plantarum B2* (Kajian Konsentrasi Susu skim dan Sukrosa). Skripsi. Jurusan THP. FTP. Universitas Brawijaya. Malang
- 7) Salminen, S., S. Gorbach, Y. Lee dan Y. Benno. 2004. Human Studies On Probiotics: What is beneficially proven today? Di dalam Salminen, S., A. Von Wright dan A. Ouwehand (eds). *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker, New York. Hal 515-530
- 8) Rahman A., S.. Fardiaz, W.P. Rahayu, Suliatari dan C.C.Nurwitri. 1992. Teknologi Fermentasi Susu. PAU IPB. Bogor
- 9) Hartoto, M. 2003. Pembuatan *Yoghurt* Sinbiotik dengan Menggunakan Kultur Campuran *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, dan *Lactobacillus casei* galur *shirota*. Skripsi FATETA. Bogor
- 10) Winarno., F.G. 2002. Flavor Bagi Industri Pangan. Embrio Press. Bogor
- 11) Koswara, S. S. 1992. Modern Food Microbiology. Chap Man and Hall. New York.
- 12) Suskovic, J. 2001. Role of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in Synbiotic Effect. *Journal of Food Technology and Biotechnology* 39: 227-235
- 13) Yang, Z. 2000. Antimicrobial Compounds and Extracellular Polysaccharides Produced By Lactic Acid Bacteria : Structure and Properties. Department of Food Technology University of Helsinki
- 14) Naidu, A.S dan R.A. Clemens. 2000. Natural Food Antimicrobial Systems. CRC Press, LCC
- 15) Cleveland, J., J. T. Montville, I. F. Nes dan M. L. Chikindas. 2001. Bacteriosin: Safe, Natural Antimicrobials for Food Preservation. *International J. Food Microbiol* 71: 1-20