

# Karakteristik Dadih Susu Sapi yang Menggunakan Starter Bakteri Probiotik

SRI USMIATI, W. BROTO dan H. SETIYANTO

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian  
Jl. Tentara Pelajar No. 12, Bogor 16114

(Diterima Dewan Redaksi 9 Maret 2011)

## ABSTRACT

USMIATI, S., W. BROTO and H. SETIYANTO. 2011. Characteristic of cow milk dadih using starter of probiotic of lactic acid bacteria. *JITV* 16(2): 140-152.

Dadiah is an original dairy product from West Sumatera processed traditionally. It is a spontaneous fermentation of buffalo milk at room temperature for 48 hours in a bamboo tube, has no standard of processing and quality. Dadiah is potentially to be developed into probiotic products (functional food) that can be enjoyed by the public widely. Development of cow's milk dadiah is necessary since buffalo milk is available only in certain area. Product and characteristic information of cow milk dadiah using probiotic of lactic acid bacteria starter has not been known. The research objective was to determine the characteristics of cow milk dadiah that used starter of probiotic lactic acid bacteria during storage at room temperature (27°C) and cold temperature (4°C). The study was designed using a factorial randomized block design pattern 12x3 at room temperature and 12x4 at cold temperatures, with the number of repetition of 3 times. Treatment consisted of: (i) starter formula (A) using a single bacterium or a combination of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium longum*, and (ii) storage time (B). Observed parameters included pH value, titrable acidity, the total plate count, and in-vitro probiotic testing (bacterial resistance to bile salts and low pH) of cow milk dadiah. The results showed that *L. acidophilus* early exponential phase was at the hour 3<sup>rd</sup>, *L. casei* at the hour 4<sup>th</sup> and *B. longum* on the 3<sup>rd</sup> of which is used as the optimum time of mixing two or more bacteria in the manufacture of cow milk dadiah. The volume of starter used was 3% with time fermentation of 48 hours at room temperature (27-30°C). Cow milk dadiah that was stored for 7 days at room temperature (27-30°C) and for 21 days at cold temperatures (4-10°C) was able to maintain viability of bacteria to bile salts and low pH at 10<sup>10</sup>-10<sup>12</sup> cfu/ml with percentage resistance varied. The cow milk dadiah using a combination starter of *B. longum* with other probiotics on the composition of 1:1 had a resistance to bile salts which were relatively constant after the dadiah was kept for 21 days at cold temperature. Cow milk dadiah with a starter of probiotic bacteria still qualify as a probiotic product with good quality that stored up to 4 days at room temperature and 21 days in cold temperatures.

**Key Words:** Dadiah, Probiotic, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium longum*

## ABSTRAK

USMIATI, S., W. BROTO dan H. SETIYANTO. 2011. Karakteristik dadih susu sapi yang menggunakan starter bakteri probiotik. *JITV* 16(2): 140-152.

Dadiah merupakan produk olahan susu asli dari daerah Sumatera Barat yang diolah secara tradisional, yaitu fermentasi spontan susu kerbau pada suhu ruang selama 48 jam dalam tabung bambu, belum memiliki standar proses pengolahan dan mutu. Dadiah cukup potensial untuk dikembangkan menjadi produk probiotik (pangan fungsional) agar dapat dinikmati oleh masyarakat luas. Pengembangan dadiah dengan menggunakan susu sapi perlu dilakukan mengingat ketersediaan susu kerbau yang makin berkurang. Informasi produk dan karakteristik dadiah sapi menggunakan starter bakteri asam laktat probiotik belum banyak diketahui. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui karakteristik dadiah susu sapi yang menggunakan formula starter bakteri asam laktat probiotik selama penyimpanan pada suhu ruang (27°C) dan suhu dingin (4°C). Penelitian dirancang menggunakan Rancangan Acak Kelompok pola faktorial 12 x 3 pada suhu ruang dan 12 x 4 pada suhu dingin, dengan jumlah ulangan 3 kali. Perlakuan terdiri atas: (i) formula starter (A) menggunakan bakteri tunggal atau kombinasi dari *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* dan *Bifidobacterium longum*, dan (ii) lama penyimpanan (B). Parameter yang diamati meliputi nilai pH, total asam tertitrasi, jumlah total bakteri dan uji probiotik (ketahanan bakteri terhadap garam empedu dan pH rendah secara *in-vitro*) terhadap dadiah susu sapi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa awal fase eksponensial *Lactobacillus acidophilus* adalah pada jam ke-3, *Lactobacillus casei* pada jam ke-4 dan *Bifidobacterium longum* pada jam ke-3 yang digunakan sebagai waktu optimum mencampur dua atau lebih bakteri tersebut dalam pembuatan dadiah susu sapi. Volume starter yang digunakan adalah 3% dengan lama fermentasi 48 jam pada suhu ruang (27-30°C). Dadiah susu sapi yang disimpan selama 7 hari pada suhu ruang (27-30°C) dan selama 21 hari pada suhu dingin (4-10°C) mampu mempertahankan viabilitas bakteri terhadap garam empedu dan pH rendah sebesar 10<sup>10</sup>-10<sup>12</sup> cfu/ml dengan persentase ketahanan yang bervariasi. Dadiah menggunakan starter kombinasi *B. longum* dengan probiotik lainnya pada komposisi 1:1 memiliki ketahanan terhadap garam empedu yang relatif konstan setelah dadiah disimpan 21 hari disuhu dingin. Dadiah susu sapi dengan starter bakteri probiotik memenuhi syarat sebagai produk probiotik dengan mutu yang masih baik pada penyimpanan hingga 4 hari di suhu ruang dan hingga 21 hari di suhu dingin.

**Kata Kunci:** Dadiah, Probiotik, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium longum*

## PENDAHULUAN

Dadiah merupakan susu fermentasi asli dari daerah Sumatera Barat berwarna putih dengan konsistensi agak kental menyerupai tahu. Dadiah secara tradisional dibuat dari susu kerbau yang ditempatkan dalam bambu dan ditutup dengan daun pisang yang dilayukan, dan dibiarkan terfermentasi secara alamiah pada suhu ruang selama 48 jam (SUGITHA, 1995). Fermentasi terjadi dengan mengandalkan mikroba yang ada di alam atau tanpa menggunakan *starter* tambahan (RAHMAN *et al.*, 1992). Mikroba yang diisolasi dari dadiah diperkirakan berasal dari daun pisang sebagai penutup, susu kerbau, dan bambu pada saat disiapkan (NAIOLA, 1995).

Dadiah yang berkualitas baik adalah berwarna putih, konsistensi menyerupai *yoghurt* dan mempunyai aroma khas susu asam. Komposisi nutrisi dadiah yaitu memiliki kadar air (82,10%), protein (6,99%), lemak (8,08%), keasaman (130,5<sup>o</sup>D) dan pH 4,99.

Produksi dadiah di Sumatera Barat dilakukan secara tradisional dan belum memiliki standar proses pengolahan dan mutu, sehingga untuk mendapatkan mutu yang konsisten perlu didukung standar teknologi pengolahan dan produk. Pengembangan dadiah dengan mengganti susu kerbau sebagai bahan baku utama perlu dilakukan mengingat ketersediaan susu kerbau saat ini semakin berkurang. Susu sapi yang ketersediaannya di Indonesia cukup banyak daripada susu kerbau merupakan alternatif bahan baku yang dapat digunakan. Konsekuensinya, proses pengolahan dadiah perlu dimodifikasi untuk menghasilkan dadiah susu sapi dengan karakteristik mirip dengan dadiah susu kerbau.

Dadiah cukup potensial untuk dikembangkan menjadi produk probiotik sebagai pangan fungsional agar dapat dinikmati oleh masyarakat luas. Probiotik merupakan mikroba hidup yang menempel pada dinding usus, bersifat menguntungkan bagi kesehatan inangnya (SALMINEN *et al.*, 1999) atau suplemen makanan yang mengandung kultur murni atau campuran dari mikroba hidup yang menguntungkan bagi inang dengan menjaga keseimbangan mikroba *indigenous* dalam saluran pencernaan (HULL *et al.*, 1992).

Bakteri asam laktat dengan aktivitas probiotik berperan mengatur ekosistem saluran pencernaan. Jumlah sel bakteri hidup yang harus terdapat dalam produk probiotik dan dapat memberi manfaat kesehatan umumnya berkisar  $10^6$ - $10^8$  cfu/g (TANNOCK, 1999), atau  $10^7$ - $10^8$  cfu/g produk (CHARTERIST *et al.*, 1998). Jumlah mikroba probiotik setelah melalui saluran pencernaan sekitar  $10^6$  -  $10^7$  cfu/g mukosa (BOUHNİK, 1993).

Beberapa bakteri asam laktat terutama *genus Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*, merupakan kultur probiotik yang ada dalam suplemen nutrisi, produk farmasi dan pangan fungsional (PIANO *et al.*, 2006), dan telah terbukti memiliki efek menguntungkan pada

kesehatan manusia (BERNETT *et al.*, 1993). Aktivitas probiotik terbagi atas tiga aspek, yaitu nutrisi, fisiologis dan efek antimikroba (NAIDU dan CLEMENS, 2000). Aspek nutrisi berupa penyediaan enzim (*lactase*) untuk membantu metabolisme komponen makanan, sintesis beberapa jenis vitamin (K, folat, piridoksin, pantotenat, biotin dan riboflavin) dan menghilangkan racun dari metabolit komponen makanan dalam usus. Aspek fisiologis meliputi kemampuan menjaga keseimbangan komposisi mikroflora usus dan menstimulasi sistem kekebalan usus. Aspek efek antimikroba meliputi kemampuan untuk meningkatkan ketahanan terhadap pengaruh negatif mikroba patogen.

Beberapa syarat mikroba sebagai probiotik antara lain stabil terhadap pH rendah asam lambung dan garam empedu (SALMINEN *et al.*, 1998). Waktu yang diperlukan saat bakteri mulai masuk sampai keluar dari lambung sekitar 90 menit, maka kultur digolongkan probiotik bila mampu bertahan dalam kondisi asam lambung selama sedikitnya 90 menit (BERRADA *et al.*, 1991 dalam CHOU dan WEIMER, 1999). Mikroba yang berhasil hidup setelah ditumbuhkan dalam MRSA+0,3% oxgal, dinyatakan bersifat tahan terhadap garam empedu (ZAVAGLIA *et al.*, 1998; JACOBSEN *et al.*, 1999).

Permasalahan utama aplikasi bakteri probiotik dalam pangan adalah laju pertumbuhannya yang lambat, serta sifat sensori/*flavour* produk yang dihasilkan kurang baik (JENIE, 2003). Salah satu cara untuk mengatasinya adalah penggunaan kultur *starter* campuran.

Informasi mengenai produk dan karakteristik dadiah berbahan baku susu sapi menggunakan kultur bakteri asam laktat probiotik sebagai *starter* belum banyak dilaporkan. Penelitian pembuatan dadiah susu sapi yang difermentasi menggunakan bakteri probiotik dan pengemasan menggunakan *cup* plastik bertujuan agar produk dapat dengan mudah terdistribusi secara luas dan lebih tahan lama. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui karakteristik dadiah susu sapi yang menggunakan formula *starter* bakteri probiotik selama penyimpanan pada suhu ruang (27-30<sup>o</sup>C) dan suhu dingin (4-10<sup>o</sup>C).

## MATERI DAN METODE

### Persiapan starter

Sebanyak 10% kultur *Lactobacillus casei* (diisolasi dari dadiah yang dibuat di Kabupaten Sijunjung, Sumatera Barat), *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium longum* BF1 (koleksi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian) masing-masing diperbanyak dalam media cair steril *deMan Rogosa Sharpe Broth* (OXOID) yang ditambah 0,1% *Yeast Extract* (OXOID), kemudian diinkubasi

pada suhu 37°C selama 24 jam (sampai tampak keruh). Kultur tersebut digunakan sebagai kultur stok. Satu persen kultur stok dipropagasi dalam MRSB dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sama dengan sebelumnya menjadi kultur *intermediate*. Pembuatan kultur kerja dilakukan menggunakan media susu sapi steril dengan 3% inokulan dari kultur *intermediate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (susu menggumpal).

#### Persiapan bahan baku pembuatan dadih

Susu sapi (dari peternakan Pesantren Darul Falah, Ciampea-Bogor) diupkan/*toning* (pemekatan susu hingga ¼ bagian dari volume awal) pada suhu 60-73°C. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan total padatan susu (total padatan susu sapi segar 10,98%) dan mematikan mikroba patogen yang mungkin ada di dalamnya. Media ini dihomogenisasi dan ditambah 1% CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) yang telah dilarutkan dengan air hangat, dan 3% susu skim yang telah dilarutkan dengan susu sapi. Seluruh proses tersebut adalah untuk meningkatkan kekentalan media susu sapi agar menyerupai kekentalan susu kerbau (total padatan 23,5%). Total padatan media susu menjadi 16,95%.

#### Penentuan awal fase eksponensial bakteri starter dari kurva pertumbuhan

Tujuan tahap ini adalah untuk mengetahui waktu awal bakteri memasuki fase eksponensial melalui kurva pertumbuhan (*plotting* antara jumlah bakteri, pH dan total asam tertitrasi terhadap waktu fermentasi). Sebanyak 1% kultur kerja dimasukkan ke dalam susu sapi steril, di-*sampling* tiap satu jam selama 12 jam dipupuk pada media *deMan Rogosa Sharpe Agar* (OXOID) dan diinkubasi dalam jar/wadah anaerobik pada suhu 37°C selama 24 jam. Waktu sebelum memasuki fase eksponensial adalah waktu optimum untuk mencampur dua atau lebih kultur dalam pembuatan dadih susu sapi. Penghitungan total mikroba dan pengukuran total asam tertitrasi dilakukan dengan metode sebagai berikut.

#### Pengamatan total plate count (metode FARDIAZ, 1989)

Sebanyak 1 ml sampel yang telah diinokulasi satu jenis mikroba dimasukkan ke dalam 9 ml larutan NaCl 0,85%, dihomogenkan menggunakan vortex, sehingga diperoleh pengenceran 10<sup>-1</sup>. Selanjutnya pengenceran dibuat hingga 10<sup>-8</sup> menggunakan 9 ml larutan NaCl 0,85%. Pupukan dilakukan menggunakan media MRSA dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37°C dengan posisi terbalik. Koloni mikroba yang

tumbuh setelah 48 jam diamati dengan *colony counter* dan dihitung dengan rumus:

Jumlah sel/ml = rata-rata koloni X 1/faktor pengenceran

#### Pengukuran TAT (AOAC, 1995)

Sebanyak 10 ml sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambah tiga tetes indikator fenolftalen 1%. Sampel kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N yang telah distandardisasi asam oksalat. Titrasi dihentikan setelah berwarna merah muda.

$$\text{Total asam laktat (\%)} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times 90 \times 100}{V \text{ sampel} \times 1000}$$

#### Penentuan lama fermentasi dan persentase starter dadih susu sapi

Dadiah dipanen saat susu menggumpal optimum dan tidak terjadi *wheyng off* atau *syneresis*. Susu sapi yang telah dipekatkan diinokulasi masing-masing BAL probiotik dan difermentasi pada suhu ruang (27-30°C), kemudian setiap 2 jam diamati warna, kenampakan koagulan, *mouthfeel* dan viskositas selama 42-48 jam. Untuk mengetahui jumlah starter efektif dalam pembuatan dadih susu sapi, diuji menggunakan 1 dan 3% kultur tunggal setiap BAL ke dalam susu sapi yang telah dipekatkan. Pengujian viskositas dilakukan dengan metode AOAC (1995) menggunakan Rheometer. Spindel (#05, 100 rpm) dicelupkan ke dalam 100 ml sampel dalam wadah sampai tanda tera, dibiarkan berputar selama 1 menit. Angka yang muncul pada layar setelah spindel berputar selama 1 menit dicatat sebagai nilai viskositas.

#### Karakteristik dadih susu sapi dan uji kemampuan probiotik

Sebanyak 50 ml susu sapi yang telah dipekatkan masing-masing difermentasi dalam *cup* plastik polipropilen (PP) pada suhu ruang selama waktu fermentasi dan persentase starter BAL hasil kegiatan sebelumnya dengan perlakuan berbagai formula starter sesuai rancangan penelitian. Kondisi pencampuran dua atau lebih bakteri dalam pembuatan dadih dilakukan berdasarkan hasil tahap sebelumnya. Penelitian dirancang menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial 12 x 3 pada suhu ruang dan 12 x 4 pada suhu dingin. Faktor perlakuan meliputi formula starter (A) terdiri atas dua belas formula (A1-A12) yaitu kombinasi *L. acidophilus* dengan *L. casei*; *B. longum*, dan *L. casei* dengan *B. longum* pada tiga perbandingan (1:1, 1:2 dan 2:1), serta kultur tunggal dari masing-masing mikroba tersebut. Faktor kedua adalah lama simpan (B) yang terdiri atas tiga tingkat (B1 = 0 hari,

B2 = 4 hari dan B3=7 hari) pada penyimpanan dadih di suhu ruang (27-30°C), dan empat tingkat (B1= 0 hari, B2 = 7 hari, B3 = 14 hari, dan B4 = 21 hari) pada penyimpanan dadih di suhu dingin (4-10°C).

Dadiah susu sapi yang disimpan pada suhu ruang (27-30°C) selama 7 hari dan suhu dingin (4-10°C) selama 21 hari diamati atas nilai pH, total asam tertitrasi, total populasi bakteri, serta ketahanan terhadap pH rendah dan garam empedu dengan prosedur sebagai berikut.

#### **Pengukuran ketahanan terhadap garam empedu (modifikasi KLAENHAMMER dan KLEEMAN dalam SUSANTI *et al.*, 2007)**

Sebanyak 1 g sampel dimasukkan ke dalam 9 ml NaCl 0,85%. Setelah dilakukan pengenceran berseri, suspensi kultur pada tingkat pengenceran  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  dan  $10^{-9}$  dilakukan pada MRSA+0,3% garam empedu/*bile salts* (PRONADISA) dan pada MRSA kontrol dalam cawan petri, dengan metode tuang lalu diinkubasi pada 37°C selama 24-48 jam dan populasi dihitung menggunakan *colony counter*.

Perhitungan dilakukan dengan rumus:

$$\% R \text{ bile} = \% \text{ MRSA} + 0,3\% \text{ bile}$$

Penurunan jumlah sel akibat *bile* = log K – log P

Keterangan :

% MRSA = % Jumlah sel yang hidup pada MRSA

log K = log Kontrol

log P = log Perlakuan

#### **Pengukuran ketahanan terhadap pH rendah (modifikasi ZAVAGLIA *et al.*, 1998)**

Sebanyak 1 g dadih disuspensi dalam 10 ml MRSB yang diatur keasamannya menggunakan HCl sampai tercapai pH  $\geq 3$  untuk uji ketahanan pH rendah dan pH 7 untuk kontrol, kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Suspensi kultur dibuat pengenceran  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  dan  $10^{-9}$ . Pada setiap pengenceran diambil 1 ml secara aseptik dan dipupuk pada media MRSA + 0,1% tripton kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter*.

Perhitungan dilakukan dengan rumus:

$$\% R \text{ pH} = \% \text{ sel yang hidup setelah inkubasi 1 jam pada pH3}$$

Penurunan jumlah sel akibat pH rendah = log K – log P

Data yang terkumpul dari seluruh parameter pengamatan diuji statistik dengan sidik ragam. Jika menghasilkan perbedaan nyata, maka diuji Duncan pada taraf 5%.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Awal fase eksponensial bakteri starter dadih susu sapi probiotik**

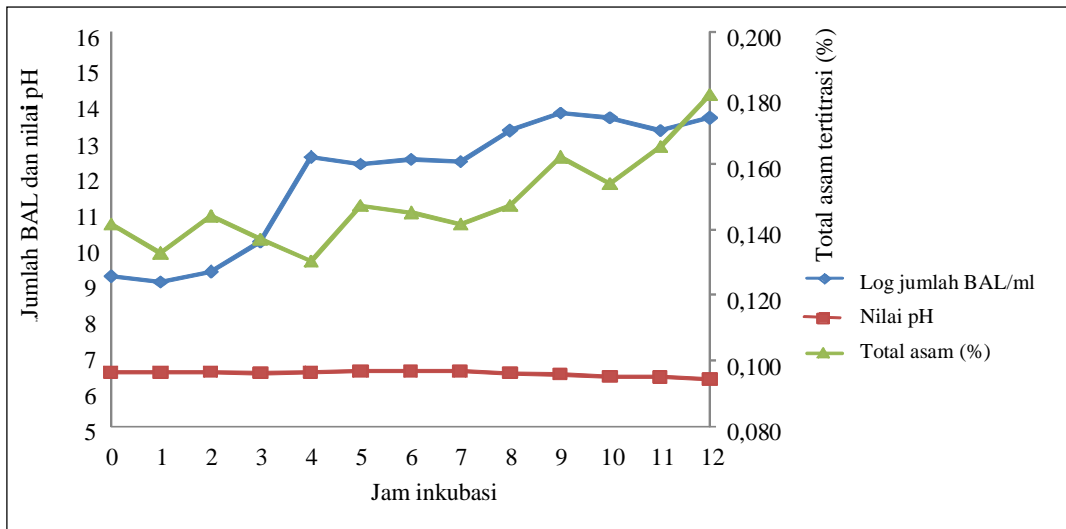
Kurva pertumbuhan *L. acidophilus*, *L. casei* dan *B. longum* dibuat untuk mendapatkan waktu awal memasuki fase eksponensial masing-masing bakteri. Waktu tersebut digunakan untuk mencampur dua atau lebih bakteri *starter* dalam kultur kerja untuk membuat dadih susu sapi. Pada kondisi tersebut masing-masing bakteri memiliki kondisi yang sama (sesaat sebelum fase eksponensial). Saat itu waktu adaptasi kembali bakteri saat dicampurkan sebagai *starter* dalam membuat dadih susu sapi lebih singkat, sehingga aktivitas metabolisme bakteri diharapkan relatif bersamaan untuk mengurangi dominasi salah satu jenis bakteri. Kurva pertumbuhan bakteri *starter* disajikan pada Gambar 1, 2 dan 3.

Berdasarkan kurva pertumbuhan, awal fase eksponensial *L. acidophilus* adalah jam ke-3, *L. casei* pada jam ke-4, dan *B. longum* pada jam ke-3. Selama pertumbuhan, suatu jenis bakteri melakukan perbanyakan sel dengan membelah diri menjadi dua, kemudian masing-masing membelah lagi menjadi dua sehingga jumlah tiap generasi menjadi dua kali populasi sebelumnya. Berdasarkan Gambar 1, 2 dan 3 pada titik fase eksponensial (ditunjukkan oleh garis logaritmik sebelum memasuki fase stasioner) populasi tertinggi adalah *L. acidophilus* (10 log cfu/ml), diikuti oleh *L. casei* (9 log cfu/ml), dan *B. longum* (8 log cfu/ml). Pertumbuhan bakteri tersebut secara optimal memanfaatkan laktosa susu untuk aktivitas metabolisme dan memperbanyak diri. Perbedaan waktu dalam mencapai fase eksponensial kemungkinan terjadi karena adanya perbedaan daya adaptasi dari masing-masing bakteri.

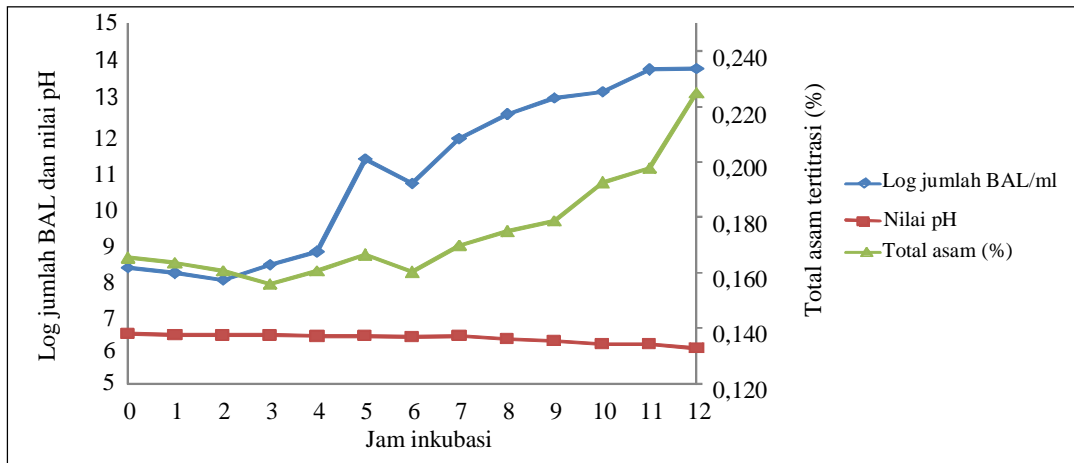
### **Penentuan lama fermentasi dan persentase starter**

Waktu untuk memanen dadih susu sapi yang optimum (tidak terjadi *wheying off*) dan persentase *starter* yang selanjutnya digunakan untuk pembuatan dadih susu sapi ditampilkan pada Gambar 4. Penentuannya adalah berdasarkan nilai viskositas dadih susu sapi menggunakan *starter* BAL tunggal.

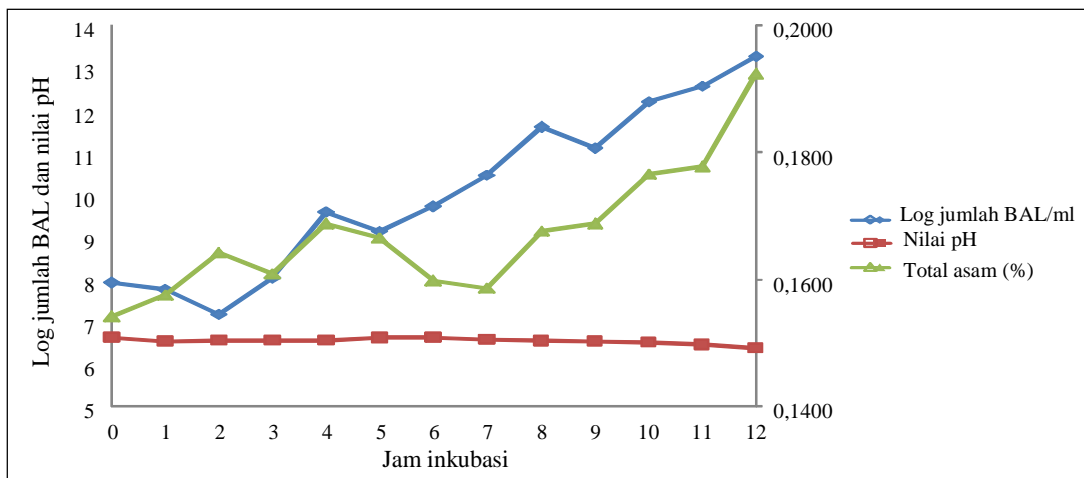
Berdasarkan Gambar 4, viskositas dadih susu sapi menggunakan 3% *starter* lebih tinggi dibandingkan dengan 1%. Viskositas dadih susu sapi yang difermentasi oleh *starter* tunggal selama 42-48 jam cenderung meningkat (Tabel 1). Pembuatan dadih susu sapi selanjutnya menggunakan 3% *starter* dengan lama fermentasi 48 jam.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* pada suhu 37°C secara anaerob



Gambar 2. Kurva pertumbuhan *Lactobacillus casei* pada suhu 37°C secara anaerob



Gambar 3. Kurva pertumbuhan *Bifidobacterium longum* pada suhu 37°C secara anaerob

**Tabel 1.** Nilai viskositas dadih susu sapi menggunakan starter tunggal *L. casei*, *L. acidophilus* dan *B. longum* 1 dan 3%

Jam ke-	Bakteri asam laktat					
	<i>L. casei</i>		<i>L. acidophilus</i>		<i>B. longum</i>	
	1%	3%	1%	3%	1%	3%
Viskositas (cP)						
42	400,0	680,0	653,3	773,3	453,3	613,3
44	640,0	760,0	666,7	826,7	520,0	560,0
46	480,0	706,7	1.026,7	1.386,7	1.226,7	1.320,0
48	466,7	933,3	973,3	1.320,0	1.253,3	1.280,0

### Karakteristik dadih susu sapi probiotik pada penyimpanan suhu ruang dan suhu dingin

#### Nilai pH

Nilai pH dadih susu sapi merupakan pengukuran tingkat keasaman hasil metabolisme bakteri *starter* yang mengubah laktosa menjadi asam laktat. Gambar 5 adalah perkembangan nilai pH dadih susu sapi yang disimpan 7 hari pada suhu ruang dan 21 hari pada suhu dingin.

Gambar 5 menunjukkan terjadinya penurunan nilai pH dadih susu sapi dari seluruh penggunaan formula *starter* selama penyimpanan pada suhu ruang dan suhu dingin. Laktosa dan kasein merupakan komponen susu yang berperan sebagai sumber karbon dan energi akan diubah oleh bakteri menjadi asam laktat, sehingga keasaman produk meningkat (nilai pH turun).

Berdasarkan sidik ragam diketahui bahwa nilai pH dipengaruhi oleh interaksi antara formula *starter* dengan lama penyimpanan dadih susu sapi pada suhu ruang ( $P \leq 0,05$ ). Tabel 2 menunjukkan pengaruh interaksi perlakuan terhadap nilai pH dadih susu sapi selama penyimpanan pada suhu ruang.

Berdasarkan Tabel 2, pada hari ke-0 di suhu ruang, nilai pH dadih susu sapi yang paling mendekati nilai pH dadih susu kerbau (4,10) adalah menggunakan formula BAL tunggal A12 (*B. longum*) sebesar 4,24 dan A11 (*L. casei*) sebesar 4,29. Pada hari ke-7, nilai pH dadih susu sapi yang paling mendekati pH dadih susu kerbau adalah dengan formula A11 (3,85), sedangkan formula A12 sebesar 3,65 (mengalami penurunan pH lebih banyak dibandingkan dengan pH awal 4,24) hampir serupa dengan nilai pH A2 (LA:LC=1:2) dan A6 (LA:BL=2:1) yaitu 3,64. Berdasarkan nilai pH, dadih susu sapi dengan formula A11 relatif paling stabil menghasilkan nilai pH yang mendekati nilai pH dadih susu kerbau. Gambar 5a adalah grafik perkembangan nilai pH dadih susu sapi yang disimpan pada suhu ruang.

Seluruh perlakuan mempengaruhi aktivitas bakteri *starter* dalam memproduksi asam laktat. Penurunan nilai pH dadih susu sapi pada penyimpanan di suhu ruang relatif lebih cepat karena suhu lingkungan (27-30°C) masih mendukung aktivitas metabolisme bakteri. *Bifidobacterium longum* merupakan bakteri yang memfermentasi secara anaerob menghasilkan produk metabolit utama asam laktat dan asam asetat (TAMIME, 2005). Menurut RAHMAN *et al.* (1992), bakteri yang berperan dalam fermentasi susu adalah BAL yaitu beberapa spesies *Lactobacillus* dan *Streptococcus* dengan memproduksi asam laktat. Menurut HADIWIYOTO (1994), asam laktat menyebabkan penurunan nilai pH. Jika pH susu mencapai titik isoelektrik protein susu, maka protein akan menggumpal membentuk *curd* (dadih).

Nilai pH dadih susu sapi yang disimpan pada suhu dingin selama 14 hari memiliki fenomena yang serupa dengan penyimpanan pada suhu ruang (Gambar 5b), semakin lama produk disimpan, nilai pH semakin turun. Pada penyimpanan setelah 14 hari beberapa nilai pH dadih susu sapi dengan formula tertentu naik. Hal ini karena susu fermentasi yang disimpan semakin lama mengakibatkan reaksi lanjut yang dapat mengubah metabolit utama fermentasi dan menghasilkan *whey* yang memungkinkan terjadinya kenaikan nilai pH dadih susu sapi.

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa nilai pH dipengaruhi oleh interaksi perlakuan formula *starter* dengan lama penyimpanan dadih susu sapi pada suhu dingin ( $P \leq 0,05$ ). Pengaruh interaksi perlakuan tersebut terhadap nilai pH dadih susu sapi selama penyimpanan pada suhu dingin disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan bahwa pH dadih susu sapi yang mendekati pH dadih susu kerbau pada awal penyimpanan (0 hari) adalah menggunakan formula A12 (BL) dengan pH 4,24 diikuti oleh dadih dengan *starter* A11 (LC) dengan pH 4,29. Pada penyimpanan dingin hari ke-7, hampir seluruh dadih susu sapi memiliki pH yang mendekati nilai pH dadih susu kerbau pada kisaran 4,11-4,20 yaitu pada penggunaan

formula A2, A3, A5, A6, A7, A8, A9 dan A10. Setelah disimpan selama 14 hari, nilai pH dadih susu sapi menurun kembali dengan nilai pH yang masih menyerupai dadih susu kerbau khususnya pada penggunaan formula A4 (LA:BL = 1:1) sebesar 4,14 dan formula A11 (LC) sebesar 4,05.

Berdasarkan Tabel 3 tampak bahwa selama penyimpanan pada suhu dingin penggunaan formula A11 menghasilkan nilai pH yang relatif konstan daripada formula A4 yaitu mendekati nilai pH dadih susu kerbau sejak 0 hingga 21 hari. Dibandingkan dengan nilai pH dadih susu sapi pada penyimpanan

**Tabel 2.** Nilai pH dadih susu sapi selama penyimpanan pada suhu ruang pada setiap perlakuan formula

Formula starter	Lama penyimpanan		
	0 hari	4 hari	7 hari
A1	4,51 <sup>n</sup>	3,78 <sup>efgh</sup>	3,67 <sup>abc</sup>
A2	4,51 <sup>n</sup>	3,75 <sup>cdef</sup>	3,64 <sup>a</sup>
A3	4,63 <sup>o</sup>	3,78 <sup>efgh</sup>	3,68 <sup>abcd</sup>
A4	4,47 <sup>mn</sup>	3,77 <sup>efgh</sup>	3,67 <sup>ab</sup>
A5	4,45 <sup>mn</sup>	3,78 <sup>efgh</sup>	3,70 <sup>abcde</sup>
A6	4,46 <sup>mn</sup>	3,77 <sup>efgh</sup>	3,64 <sup>a</sup>
A7	4,40 <sup>lm</sup>	3,81 <sup>efgh</sup>	3,79 <sup>efgh</sup>
A8	4,38 <sup>kl</sup>	3,81 <sup>efgh</sup>	3,77 <sup>efgh</sup>
A9	4,43 <sup>lm</sup>	3,83 <sup>gh</sup>	3,77 <sup>efgh</sup>
A10	4,32 <sup>jk</sup>	3,84 <sup>h</sup>	3,73 <sup>bcdef</sup>
A11	4,29 <sup>ij</sup>	3,85 <sup>h</sup>	3,85 <sup>defg</sup>
A12	4,24 <sup>i</sup>	3,75 <sup>defg</sup>	3,65 <sup>a</sup>

A1 = *L. acidophilus* (LA); *L. casei* (LC); A2 = LA:LC = 1:2; A3 = LA:LC = 2:1; A4 = *L. acidophilus* : *B. longum* = 1:1; A5 = LA:BL = 1:2; A6 = LA:BL = 2:1; A7 = LC:BL = 1:1; A8 = LC:BL = 1:2; A9 = LC:BL = 2:1; A10 = LA; A11 = LC; dan A12 = BL

**Tabel 3.** Nilai pH dadih susu sapi selama penyimpanan pada suhu dingin pada setiap perlakuan formula

Formula starter	Lama penyimpanan			
	0 hari	7 hari	14 hari	21 hari
A1	4,51 <sup>f</sup>	4,23 <sup>lmn</sup>	4,04 <sup>bcdefg</sup>	3,97 <sup>abcd</sup>
A2	4,51 <sup>qr</sup>	4,19 <sup>kl</sup>	4,06 <sup>defgh</sup>	3,95 <sup>abc</sup>
A3	4,63 <sup>s</sup>	4,18 <sup>ijkl</sup>	4,08 <sup>efghij</sup>	3,99 <sup>abcde</sup>
A4	4,47 <sup>qr</sup>	4,22 <sup>klm</sup>	4,08 <sup>efghi</sup>	4,14 <sup>ghijkl</sup>
A5	4,45 <sup>qr</sup>	4,12 <sup>ghijk</sup>	4,04 <sup>cdefg</sup>	4,00 <sup>abcde</sup>
A6	4,46 <sup>qr</sup>	4,18 <sup>ijkl</sup>	4,01 <sup>abcdef</sup>	4,01 <sup>abcdef</sup>
A7	4,40 <sup>pq</sup>	4,16 <sup>hijkl</sup>	3,98 <sup>abcde</sup>	4,00 <sup>abcde</sup>
A8	4,38 <sup>opq</sup>	4,16 <sup>hijkl</sup>	4,03 <sup>bcdefg</sup>	4,00 <sup>abcde</sup>
A9	4,43 <sup>qr</sup>	4,17 <sup>ijkl</sup>	4,00 <sup>abcde</sup>	4,01 <sup>abcdef</sup>
A10	4,32 <sup>nop</sup>	4,11 <sup>fghijk</sup>	3,99 <sup>abcde</sup>	4,00 <sup>abcde</sup>
A11	4,29 <sup>mno</sup>	4,20 <sup>klm</sup>	4,07 <sup>defghi</sup>	4,05 <sup>cdefg</sup>
A12	4,24 <sup>lmn</sup>	4,04 <sup>bcdefg</sup>	3,93 <sup>ab</sup>	3,92 <sup>a</sup>

A1 = *L. acidophilus* (LA); *L. casei* (LC); A2 = LA:LC = 1:2; A3 = LA:LC = 2:1; A4 = *L. acidophilus* : *B. longum* = 1:1; A5 = LA:BL = 1:2; A6 = LA:BL = 2:1; A7 = LC:BL = 1:1; A8 = LC:BL = 1:2; A9 = LC:BL = 2:1; A10 = LA; A11 = LC; dan A12 = BL

pada suhu ruang, maka penurunan pH selama penyimpanan pada suhu dingin relatif lebih kecil. Hal ini karena aktivitas metabolisme BAL pada suhu dingin kurang optimal, diantaranya ditunjukkan oleh rendahnya penurunan nilai pH. Menurut WIDODO (2003), aktivitas BAL cenderung lebih cepat pada suhu ruang dibandingkan dengan suhu rendah. *Lactobacillus casei* tumbuh pada kisaran suhu 15-41°C (optimum 37°C), *L. acidophilus* pada 37-45°C (ROBINSON dan TAMIME, 1990), dan *Bifidobacterium* sp. pada 37-41°C (HOLT *et al.*, 1994).

### Total asam tertitrasi

Total asam tertitrasi (TAT) dadih susu sapi merupakan jumlah asam laktat hasil fermentasi bakteri *starter*. Total asam tertitrasi dadih susu sapi pada penyimpanan di suhu ruang dan suhu dingin disajikan pada Gambar 6. Nilai TAT dadih susu sapi selama penyimpanan pada suhu ruang dan suhu dingin cenderung semakin meningkat (Gambar 6), kecuali pada penyimpanan pada suhu dingin lebih dari 14 hari nilai TAT dadih susu sapi kembali menurun.

Nilai TAT berbanding terbalik dengan nilai pH. Produksi asam laktat oleh BAL menyebabkan peningkatan keasaman dadih susu sapi selama penyimpanan. Sama halnya dengan fenomena penurunan nilai pH, kenaikan nilai TAT dadih susu sapi selama penyimpanan pada suhu ruang relatif lebih cepat karena suhu lingkungan masih mendukung aktivitas metabolisme BAL.

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa nilai TAT dadih susu sapi dipengaruhi oleh interaksi antara perlakuan formula *starter* dengan lama penyimpanan pada suhu ruang dan suhu dingin ( $P \leq 0,05$ ). Tabel 4 menunjukkan pengaruh interaksi antara perlakuan formula *starter* dan lama simpan terhadap nilai TAT dadih susu sapi pada suhu dingin.

Berdasarkan nilai pH, dadih susu sapi pada penyimpanan di suhu dingin hari ke-0 yang mendekati nilai pH dadih susu kerbau adalah menggunakan formula A12 (BL) sebesar 4,24 dan formula A11 (LC) sebesar 4,29 dengan nilai TAT berturut-turut sebesar 0,109 dan 0,106% (Tabel 4). Nilai TAT dadih susu sapi meningkat pada hari ke-7 dan ke-14, namun menurun kembali pada hari ke-21. Produksi asam laktat pada susu fermentasi meningkat dari 1,28% menjadi 1,46% pada penyimpanan selama 7-24 hari pada suhu 5°C (DUITSCHAVAER *et al.*, 1987). Tampak bahwa nilai TAT dadih susu sapi dengan formula A12 relatif stabil sejak penyimpanan 0 hingga 21 hari (dari 0,109% menjadi 0,110%). Nilai TAT 0,109% pada hari ke-21 juga dicapai oleh dadih susu sapi dengan formula A7 (LC:BL=1:1) dan A9 (LC:BL=2:1).

Peningkatan atau penurunan nilai TAT dadih susu

sapi terjadi karena intensitas dan banyaknya perubahan laktosa menjadi asam laktat akibat aktivitas BAL. Produk yang disimpan lama masih menunjukkan aktivitas fermentasi menghasilkan asam laktat sehingga nilai TAT yang semakin tinggi suatu saat dapat terjadi reaksi metabolisme lebih lanjut yang memungkinkan terjadinya perubahan asam laktat menjadi senyawa sekunder misalnya reaksi lanjut asam asetat menjadi alkohol sehingga tidak terukur sebagai nilai asam tertitrasi lagi. Hal ini menyebabkan penurunan kembali nilai TAT dadih susu sapi pada hari ke-21.

### Populasi bakteri asam laktat

Aktivitas fermentasi pada susu sapi oleh *starter* BAL ditunjukkan oleh adanya pertambahan jumlah populasinya. Jumlah populasi BAL dalam dadih susu sapi disajikan pada Gambar 7.

Jumlah populasi BAL dalam dadih susu sapi yang disimpan pada suhu ruang dan suhu dingin sangat bervariasi dan fluktuatif (Gambar 7). Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa formula *starter* dan lama penyimpanan nyata ( $P \leq 0,05$ ) saling berinteraksi mempengaruhi jumlah populasi BAL dalam dadih susu sapi yang disimpan di suhu ruang (Tabel 5).

Pada suhu dingin, formula *starter* dan lama penyimpanan dadih susu sapi berpengaruh nyata ( $P \leq 0,05$ ) terhadap jumlah BAL, dan kedua faktor tidak saling berinteraksi. Berdasarkan Gambar 7b, tampak bahwa populasi BAL cenderung menurun pada hari ke-14 dan ke-21 namun jumlah populasi BAL tersebut masih berkisar pada  $10^{10}$ - $10^{11}$  cfu/ml dari total BAL semula berkisar antara  $10^{10}$ - $10^{12}$  cfu/ml.

Berdasarkan Tabel 5, dengan mengacu pada nilai pH dan TAT, dadih susu sapi dengan formula A12 (BL) pada hari ke-0 memiliki populasi BAL  $3,83 \times 10^{12}$  cfu/ml dan formula A11 (LC) memiliki populasi  $2,15 \times 10^{12}$  cfu/ml. Pada hari ke-4 nilai log populasi dengan formula A11 masih tetap, sedangkan formula A12 menurun 1 siklus log. Setelah 7 hari, jumlah populasi BAL dalam produk dengan formula A12 dan A11 turun sebanyak 1 siklus log dibandingkan dengan hari ke-4. Jumlah populasi BAL dalam dadih susu sapi yang bertambah selama 7 hari yaitu dengan formula A4 (LA:BL=1:1) dari  $4,25 \times 10^{10}$  cfu/ml menjadi  $3,20 \times 10^{11}$  cfu/ml dan formula A6 (LA:BL=2:1) dari  $2,60 \times 10^{11}$  cfu/ml menjadi  $2,80 \times 10^{12}$  cfu/ml. Beberapa dadih susu sapi lainnya memiliki populasi BAL yang relatif tetap. Walaupun jumlah populasi BAL dalam dadih susu sapi dengan formula A11 dan A12 menurun namun pada penyimpanan di suhu ruang masih menunjukkan viabilitas bakteri *starter* yang baik. Populasi BAL dalam dadih susu sapi yang disimpan pada suhu ruang berfluktuasi untuk semua formula *starter* seiring dengan lama simpan (Gambar 7). Jumlah bakteri dalam dadih



**Tabel 4.** Nilai TAT (%) dadih susu sapi selama penyimpanan pada suhu dingin pada setiap formula starter

Formula starter	Lama penyimpanan			
	0 hari	7 hari	14 hari	21 hari
A1	0,105 <sup>abc</sup>	0,123 <sup>hijklm</sup>	0,140 <sup>nopq</sup>	0,130 <sup>klmno</sup>
A2	0,103 <sup>a</sup>	0,133 <sup>lmnop</sup>	0,141 <sup>pq</sup>	0,127 <sup>ijklmn</sup>
A3	0,100 <sup>a</sup>	0,127 <sup>ijklmn</sup>	0,140 <sup>opq</sup>	0,118 <sup>efghij</sup>
A4	0,109 <sup>abcde</sup>	0,123 <sup>hijklm</sup>	0,126 <sup>ijklmn</sup>	0,117 <sup>efghij</sup>
A5	0,105 <sup>abc</sup>	0,123 <sup>hijklm</sup>	0,126 <sup>ijklmn</sup>	0,117 <sup>defghij</sup>
A6	0,104 <sup>ab</sup>	0,127 <sup>ijklmn</sup>	0,144 <sup>q</sup>	0,116 <sup>cdefghi</sup>
A7	0,103 <sup>ab</sup>	0,125 <sup>ijklmn</sup>	0,134 <sup>mnpq</sup>	0,109 <sup>abcdef</sup>
A8	0,102 <sup>a</sup>	0,122 <sup>hijklm</sup>	0,132 <sup>lmnop</sup>	0,111 <sup>abcdefg</sup>
A9	0,104 <sup>ab</sup>	0,120 <sup>ghijkl</sup>	0,131 <sup>lmnop</sup>	0,109 <sup>abcdef</sup>
A10	0,104 <sup>ab</sup>	0,121 <sup>ghijkl</sup>	0,119 <sup>efghijk</sup>	0,108 <sup>abcde</sup>
A11	0,106 <sup>abcd</sup>	0,114 <sup>bdefgh</sup>	0,123 <sup>hijklm</sup>	0,102 <sup>a</sup>
A12	0,109 <sup>abcdef</sup>	0,124 <sup>hijklmn</sup>	0,141 <sup>pq</sup>	0,110 <sup>abcdefg</sup>

A1 = *L. acidophilus* (LA); *L. casei* (LC); A2 = LA:LC = 1:2; A3 = LA:LC = 2:1; A4 = *L. acidophilus* : *B. longum* = 1:1; A5 = LA:BL = 1:2; A6 = LA:BL = 2:1; A7 = LC:BL = 1:1; A8 = LC:BL = 1:2; A9 = LC:BL = 2:1; A10 = LA; A11 = LC; dan A12 = BL

**Tabel 5.** Populasi BAL (cfu/ml) dalam dadih susu sapi selama penyimpanan pada suhu ruang pada setiap formula starter

Formula starter	Lama simpan		
	0 hari	4 hari	7 hari
A1	3,10x10 <sup>12de</sup>	1,20x10 <sup>11a</sup>	3,55x10 <sup>11a</sup>
A2	2,18x10 <sup>11a</sup>	2,60x10 <sup>11a</sup>	5,15x10 <sup>10a</sup>
A3	2,90x10 <sup>11a</sup>	2,67x10 <sup>11a</sup>	5,15x10 <sup>11a</sup>
A4	4,25x10 <sup>10a</sup>	3,80x10 <sup>11a</sup>	3,20x10 <sup>11a</sup>
A5	2,75x10 <sup>11a</sup>	2,75x10 <sup>11a</sup>	6,50x10 <sup>10a</sup>
A6	2,60x10 <sup>11a</sup>	5,00x10 <sup>11a</sup>	2,80x10 <sup>12bcde</sup>
A7	1,60x10 <sup>11a</sup>	3,05x10 <sup>11a</sup>	6,60x10 <sup>11a</sup>
A8	2,75x10 <sup>11a</sup>	3,45x10 <sup>11a</sup>	3,20x10 <sup>11a</sup>
A9	5,95x10 <sup>11a</sup>	3,08x10 <sup>12cde</sup>	2,05x10 <sup>10a</sup>
A10	1,04x10 <sup>12abc</sup>	3,15x10 <sup>12cde</sup>	1,33x10 <sup>12abcd</sup>
A11	2,15x10 <sup>12abcde</sup>	1,80x10 <sup>12abcde</sup>	7,65x10 <sup>11ab</sup>
A12	3,83x10 <sup>12e</sup>	4,25x10 <sup>11a</sup>	3,45x10 <sup>10a</sup>

A1 = *L. acidophilus* (LA); *L. casei* (LC); A2 = LA:LC = 1:2; A3 = LA:LC = 2:1; A4 = *L. acidophilus* : *B. longum* = 1:1; A5 = LA:BL = 1:2; A6 = LA:BL = 2:1; A7 = LC:BL = 1:1; A8 = LC:BL = 1:2; A9 = LC:BL = 2:1; A10 = LA; A11 = LC; dan A12 = BL

susu sapi antara lain dipengaruhi oleh ketersediaan substrat dalam media untuk pertumbuhannya. Menurut BUCKLE (1985), faktor utama yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba diantaranya zat gizi, suhu, air dan oksigen (khusus untuk mikroba aerob). Pada waktu tertentu jumlah substrat dalam susu untuk fermentasi

tersedia cukup banyak sehingga bakteri sangat aktif memperbanyak diri, namun suatu saat jumlah substrat semakin menurun sehingga bakteri relatif tidak aktif memperbanyak diri dan bakteri sudah melewati fase logaritmik (SUNARLIM dan USMIATI, 2006). Tampaknya sel bakteri mengalami lisis selama disimpan sehingga

saat dihitung jumlah bakteri lebih sedikit. Selain itu kemungkinan juga telah diproduksi antimikroba dari bakteri pada konsentrasi tertentu saling melisis mikroba produsernya.

### Ketahanan bakteri *starter* terhadap garam empedu

Sekresi pankreas mengandung sekumpulan enzim pencernaan lipolitik yang aktif oleh aktivitas permukaan empedu. Kombinasi tersebut bakterisidal bagi mikroba dalam tubuh, kecuali beberapa genus penghuni usus yang tahan terhadap empedu (HILL, 1995). Media MRSA+0,3% *bile salt* menciptakan kondisi menyerupai saluran pencernaan yang mengandung cairan empedu sebagai senyawa aktif permukaan yang dapat menembus dan bereaksi dengan sisi membran sitoplasma sel bersifat lipofilik sehingga merubah dan merusak struktur membran sel. Sifat aktif permukaan empedu mengaktifkan enzim lipolitik dari pankreas. Kebocoran besar materi intraseluler dari bakteri menyebabkan selnya lisis (HILL, 1995). Menurut JACOBSEN *et al.* (1999), konsentrasi 0,3% *bile salt* merupakan konsentrasi kritis, representatif untuk menyeleksi bakteri yang tahan garam empedu. Persentase ketahanan terhadap garam empedu bakteri dalam dadih susu sapi selama penyimpanan pada suhu ruang dan dingin disajikan pada Gambar 8.

Pada pengujian 0,3% *bile salt*, populasi BAL dalam dadih susu sapi dari semua perlakuan formula *starter* selama penyimpanan pada suhu ruang dan suhu dingin menurun secara variatif dan fluktuatif. Berdasarkan sidik ragam, formula *starter* dan lama penyimpanan pada suhu ruang berpengaruh ( $P \leq 0,05$ ) secara terpisah terhadap ketahanan bakteri *starter* dalam garam empedu.

Selama penyimpanan pada suhu ruang, ketahanan BAL dalam dadih susu sapi terhadap garam empedu semakin menurun dengan populasi  $10^{10}$ - $10^{12}$  cfu/ml. Viabilitas mikroba setelah melalui saluran pencernaan berkisar  $10^6$ - $10^7$  cfu/g (BOUHNİK, 1993), sedangkan jumlah minimal mikroba probiotik awal dalam bioproduk agar bermanfaat untuk kesehatan adalah  $10^7$ - $10^8$  cfu/g produk (CHARTERIST *et al.*, 1998). Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah bakteri *starter* dalam dadih susu sapi yang disimpan di suhu ruang telah memenuhi syarat produk probiotik. Mikroba probiotik harus hidup, aktif dan dengan konsentrasi minimum  $10^6$  cfu/g produk (VINDEROLA *et al.*, 2000).

Ketahanan BAL terhadap garam empedu pada dadih susu sapi yang disimpan di suhu ruang cenderung menurun selama penyimpanan. Derajat toleransi terhadap empedu merupakan karakteristik penting bagi BAL yang mempengaruhi aktivitasnya dalam saluran pencernaan (GILLILAND, 1986), kemampuan probiotik tersebut antara lain menghambat pertumbuhan bakteri

patogen *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. (JACOBSEN *et al.*, 1999) dengan adanya produksi asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin atau kompetisi dalam kemampuan menempel di epitel sel usus inang. Berdasarkan sidik ragam, interaksi antara formula *starter* dengan lama simpan mempengaruhi ( $P \leq 0,05$ ) ketahanan BAL dadih susu sapi dalam larutan garam empedu selama penyimpanan pada suhu dingin. Tabel 6 menunjukkan pengaruh interaksi perlakuan terhadap ketahanan bakteri dalam dadih susu sapi terhadap garam empedu selama penyimpanan di suhu dingin.

Berdasarkan data dalam Tabel 6 tampak bahwa ketahanan bakteri dadih susu sapi dalam garam empedu selama penyimpanan 21 hari pada suhu dingin memiliki pola yang sangat fluktuatif pada seluruh formula *starter*. Ketahanan bakteri *starter* dadih susu sapi dalam garam empedu dengan formula A12 (BL) sebesar 38,31% pada hari ke-21, sedangkan dengan formula A11 (LC) sebesar 48,24% pada hari ke-14, namun pada lama simpan sebelumnya sangat rendah (0,20% pada hari ke-0 dan 0,62% pada hari ke-14). Ketahanan bakteri dadih susu sapi dalam garam empedu yang relatif stabil dari 0-21 hari diperlihatkan oleh perlakuan formula A1 (LA:LC=1:1) dari 16,44% menjadi 44,10%, formula A4 (LA:BL=1:1) dari 21,03% menjadi 22,55% (hari ke-7 sebesar 90,25%), dan formula A7 (LC:BL = 1:1) dari 32,74% menjadi 32,67% (hari ke-14 sebesar 87,62%). Bakteri dalam dadih susu sapi yang disimpan pada suhu dingin memiliki ketahanan terhadap garam empedu sehingga memenuhi syarat sebagai produk probiotik.

Beberapa *Lactobacillus* mempunyai enzim yang dapat menghidrolisis garam empedu (*bile salt hydrolase*/BSH) (SMET *et al.*, 1995). Enzim ini mengubah kemampuan fisika-kimia garam empedu sehingga tidak bersifat racun bagi BAL. Kematian/lisis sel bakteri oleh tingginya konsentrasi garam empedu dikarenakan aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase terhadap garam empedu meningkat sehingga permeabilitas membran sel meningkat dan menyebabkan materi intraseluler banyak yang keluar dari sel (NGATIRAH *et al.*, 2000; KUSUMAWATI, 2002).

### Ketahanan bakteri *starter* terhadap pH rendah

Bakteri probiotik selain tahan terhadap garam empedu juga tahan terhadap pH rendah saluran pencernaan (SALMINEN *et al.*, 1998). Umumnya BAL tumbuh lambat bahkan kehilangan viabilitasnya pada kondisi pH rendah. Asam laktat dapat menghambat pertumbuhan mikroba sebagai efek *negative feed back* (KOROLEVA, 1991). Toleransi bakteri terhadap lingkungan asam bervariasi tergantung galur.

**Tabel 6.** Ketahanan bakteri dadih susu sapi dalam garam empedu (%) selama penyimpanan pada suhu dingin pada setiap formula *starter*

Formula <i>starter</i>	Lama penyimpanan			
	0 hari	7 hari	14 hari	21 hari
A1	16,44 <sup>abcd</sup>	4,22 <sup>ab</sup>	42,24 <sup>abcd</sup>	44,10 <sup>abcd</sup>
A2	15,93 <sup>abcd</sup>	0,73 <sup>a</sup>	0,34 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>
A3	3,69 <sup>a</sup>	10,22 <sup>abcd</sup>	4,07 <sup>ab</sup>	9,60 <sup>abcd</sup>
A4	21,03 <sup>abcd</sup>	90,25 <sup>e</sup>	20,45 <sup>abcd</sup>	22,55 <sup>abcd</sup>
A5	51,33 <sup>d</sup>	38,45 <sup>abcd</sup>	33,00 <sup>abcd</sup>	2,02 <sup>a</sup>
A6	28,44 <sup>abcd</sup>	49,32 <sup>cd</sup>	9,57 <sup>abcd</sup>	19,92 <sup>abcd</sup>
A7	32,74 <sup>abcd</sup>	24,78 <sup>abcd</sup>	87,62 <sup>e</sup>	32,67 <sup>abcd</sup>
A8	14,46 <sup>abcd</sup>	16,39 <sup>abcd</sup>	1,98 <sup>a</sup>	29,59 <sup>abcd</sup>
A9	12,67 <sup>abcd</sup>	17,72 <sup>abcd</sup>	2,53 <sup>a</sup>	24,44 <sup>abcd</sup>
A10	6,93 <sup>abc</sup>	0,11 <sup>a</sup>	9,35 <sup>abcd</sup>	1,87 <sup>a</sup>
A11	0,20 <sup>a</sup>	0,62 <sup>a</sup>	48,24 <sup>bcd</sup>	0,34 <sup>a</sup>
A12	1,04 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>	2,89 <sup>a</sup>	38,31 <sup>abcd</sup>

A1 = *L. acidophilus* (LA) : *L. casei* (LC) ; A2 = LA:LC = 1:2; A3 = LA:LC = 2:1; A4 = *L. acidophilus* : *B. longum* = 1:1; A5 = LA:BL = 1:2; A6 = LA:BL = 2:1; A7 = LC:BL = 1:1; A8 = LC:BL = 1:2; A9 = LC:BL = 2:1; A10 = LA; A11 = LC; dan A12 = BL

Ketahanan BAL dalam dadih susu sapi terhadap pH rendah pada penyimpanan di suhu ruang dan suhu dingin.

Fenomena nilai ketahanan bakteri dalam dadih susu sapi terhadap pH rendah sangat variatif dan fluktuatif selama 7 dan 21 hari penyimpanan seperti halnya ketahanan terhadap garam empedu. Berdasarkan sidik ragam, formula *starter* dan lama penyimpanan dadih susu sapi di suhu ruang dan suhu dingin tidak mempengaruhi ketahanan BAL dalam dadih susu sapi terhadap pH rendah.

Penurunan pH media MRSB sebagai media pertumbuhan BAL menggunakan asam klorida (HCl) bertujuan untuk menciptakan kondisi asam menyerupai kondisi dalam lambung yang mengandung HCl (MEUTIA, 2003). Asam klorida merupakan asam kuat yang mudah terdisosiasi menghasilkan proton yang dapat menurunkan pH media di luar sel, jadi tidak mempengaruhi secara langsung terhadap membran sel. Lambung memiliki pH normal sekitar 3-4 (SILALAH, 2009). Umumnya jumlah bakteri dalam dadih susu sapi dengan seluruh formula *starter* pada penyimpanan suhu ruang dan suhu dingin mengalami penurunan ketika ditumbuhkan pada MRSB pH 3 selama 1 jam dan diinkubasi pada suhu 37°C. NGATIRAH *et al.* (2000) melaporkan bahwa 2 isolat klinis BAL yang diinkubasi pada pH 2 selama 24 jam menurun sebesar 3,8 dan 4,5

siklus log, sedangkan pada pH 3 menurun sebesar 1-2 siklus log, artinya semakin rendah pH maka penurunan jumlah bakteri semakin besar.

Berdasarkan pengujian ketahanan BAL terhadap pH rendah, bakteri *starter* dalam dadih susu sapi dinyatakan dapat melewati saluran lambung. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *Lactobacillus* termasuk bakteri yang paling tahan terhadap kondisi asam (KASHKET, 1987). ZAVAGLIA *et al.* (1998) melaporkan bahwa 11 dari 25 isolat klinis *Bifidobacteria* yang terpapar pada pH 3 selama 1 jam dapat bertahan hidup dengan ketahanan lebih dari 1%. Galur streptokoki kurang tahan terhadap asam, ketika pH eksternal < 3,0 maka ion magnesium keluar dari dalam sel (BENDER *et al.*, 1987). Perbedaan ketahanan dan derajat toleransi terhadap pH asam saat terjadi kerusakan membran sel oleh asam bervariasi pada tiap mikroba. Umumnya jumlah mikroba menurun jika ditumbuhkan pada MRSB pH 3. Kondisi yang sangat asam mengakibatkan kerusakan membran sel dan komponen intraseluler keluar sehingga menyebabkan kematian (HUTKINS dan NANNEN, 1993). Toleransi bakteri terhadap pH asam dikarenakan bakteri mampu mempertahankan pH sitoplasma lebih alkalis dibandingkan dengan pH ekstraseluler. Oleh karena itu, bakteri yang tahan asam lebih tahan terhadap kerusakan membran sel akibat rendahnya pH ekstraseluler.

## KESIMPULAN

Awal fase eksponensial *Lactobacillus acidophilus* adalah pada jam ke-3, *Lactobacillus casei* pada jam ke-4 dan *Bifidobacterium longum* pada jam ke-3 yang digunakan sebagai waktu optimum mencampur dua atau lebih bakteri tersebut dalam pembuatan dadih susu sapi. Volume starter yang digunakan adalah 3% dengan lama fermentasi 48 jam pada suhu ruang (27-30°C). Dadih susu sapi yang disimpan selama 7 hari pada suhu ruang (27-30°C) dan selama 21 hari pada suhu dingin (4-10°C) mampu mempertahankan viabilitas bakteri terhadap garam empedu dan pH rendah sebesar  $10^{10}$ - $10^{12}$  cfu/ml dengan persentase ketahanan yang bervariasi. Dadih menggunakan starter kombinasi *B. longum* dengan probiotik lainnya pada komposisi 1:1 memiliki ketahanan terhadap garam empedu yang relatif konstan setelah dadih disimpan 21 hari pada suhu dingin. Dadih susu sapi dengan starter bakteri probiotik memenuhi syarat sebagai produk probiotik dengan mutu yang masih baik pada penyimpanan hingga 4 hari di suhu ruang dan hingga 21 hari pada suhu dingin.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Agung Joko Suprihanto, STP, dan Dr. Tatit K. Bunasor, MSc, Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1995. Official Method of Analysis. The Association of Official Analytical Chemist. AOAC Intl. Washington DC.
- BENDER, G.R. and R.E. MARQUIS. 1987. Membrane ATPases and acid tolerance of *Actinomyces viscosus* and *Lactobacillus casei*. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 2124-2128.
- BERNET, M.F, D. BRASSART, J.R. NEESER and A.L. SERVIN. 1993. Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 4121-4128.
- BOUHNİK, Y. 1993. Lait. 73: 241-247. In: Ingredient selection criteria for probiotic microorganism in functional dairy food. CHARTERIS, W.P., P.M. KELLY, L. MORELLI dan J.K. COLLINS. 1998. *Int. J. Dairy Tech.* 51: 123-135.
- BUCKLE, K.A., R.A. EDWARDS. G.H. FLEET and D.M. WOOTTON. 1985. Ilmu Pangan. Terjemahan: PURNOMO, H. dan ADIONO. UI Press, Jakarta. hlm. 365.
- CHARTERIS, W.P., P.M. KELLY, L. MORELLI and J.K. COLLINS. 1998. Ingredient selection criteria for probiotic microorganism in functional dairy food. *Int. J. Dairy Tech.* 51: 123-135.
- CHOU, L.Z. and B. WEIMER. 1999. Isolation and characterization of acid and bile-tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* 82: 23-31.
- DUITSCHAVAEER, C. L., N. KEMP and D. EMMONS. 1987. Pure culture formulation and procedure for the production of kefir. *Milchwissenschaft (abstr.)* 42: 80-82.
- FARDIAZ, S. 1989. Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- GILLILAND, S.E. 1986. Role of starter culture bacteria in food preservation. In: Bacterial Starter Cultures for Food. GILLILAND, S.E. (Ed.). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida. pp. 41-56.
- HADIWIYOTO, S. 1994. Teknik Uji Mutu Susu dan Hasil Olahannya. Edisi kedua. Liberty, Yogyakarta.
- HILL, M.J. 1995. Role of gut bacteria in human toxicology and pharmacology. Taylor and Francis, New York. pp. 131-142.
- HOLT, J.G., N.R. KRIEG, P.H.A. SNEATH, J.T. STALEY and S.T. WILLIAMS. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Nin<sup>th</sup> Edition. The Williams and Wilkins Co., Baltimore. pp. 532.
- HULL, R.R. 1992. Probiotic foods: A new opportunity. *Food Aust.* 44: 112-113.
- HUTKINS, E.W. and N.L. NANNEN. 1993. pH Homeostasis in Lactic Acid Bacteria. *J. Dairy Sci.* 76: 2354-2365.
- JACOBSEN, C.N., V.R. NIELSEN, A.E. HAYFORD, P.L. MOLLER, K.F. MICHAELSEN, A.P. ERREGAARD, B. SANDSTORM, M. TVEDE and M. JACOBSEN. 1999. Screening of probiotic activities of forty seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in human. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4949-4956.
- JENIE, B.S.L. 2003. Pangan fungsional penyusun flora usus yang menguntungkan. Pros. Seminar Sehari Keseimbangan Flora Usus Bagi Kesehatan dan Kebugaran. Bogor, 15 Februari 2006. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor. hlm. 47-51.
- KASHKET E.R. 1987. Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic pH and osmotolerance. *FEMS Microbiol. Rev.* 46: 233-244.
- KOROLEVA, N.S. 1991. Products prepared with lactic acid bacteria and yeasts. In: Therapeutics Properties of Fermented Milks. ROBINSON, R.K. (Ed.). Elsevier Applied Science, London and New York. pp. 159-179.

- KUSUMAWATI, N. 2002. Seleksi Bakteri Asam Laktat Indigenus sebagai Galur Probiotik dengan Kemampuan Mempertahankan Keseimbangan Mikroflora Usus Feses dan Mereduksi Kolesterol Serum Darah Tikus. *Tesis*. Program Studi Ilmu Pangan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- KUSWANTO, K.R. dan S. SUDARMADJI. 1989. Mikrobiologi Pangan. PAU, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. pp. 336-337.
- MEUTIA, Y.R. 2003. Evaluasi Potensi Probiotik Isolat Klinis *Lactobacillus* sp. secara *In Vitro* dan *In Vivo*. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- NAIDU, A.S. and R.A. CLEMENS. 2000. Probiotics. *In: Natural Food Antimicrobial Systems*. NAIDU, A.S. (Ed). CRC Press, LLC. pp. 431-462.
- NAIOLA, E. 1995. "Dadiah", Makanan Tradisional Sumatera Barat. *Dalam: Widyakarya Nasional, Khasiat Makanan Tradisional*. Kantor Menteri Negara Urusan Pangan RI, Jakarta. hlm. 537-541.
- NGATIRAH, A., E.S. HARMAYANI dan T. UTAMI. 2000. Seleksi bakteri asam laktat sebagai agensia probiotik yang berpotensi menurunkan kolesterol. *Pros. Seminar Nas. Industri Pangan. PATPI (II): 63-70*.
- PIANO, M.D., L. MORELLIC, G.P. STROZZIB, S. ALLESINA and M. BARBAB. 2006. Probiotics: From research to consumer. *Digest. Liver Dis.* 38 (suppl 2): 5248-5255.
- RAHMAN, A., D. FARDIAZ, W.P. RAHAYU, SULIANTARI dan C.C. NURWITRI. 1992. Teknologi Fermentasi Susu. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- ROBINSON, R.K. and A.Y. TAMIME. 1990. Dairy Microbiology: The Microbiology of Milk Products. Second volume. R.K. ROBINSON (Ed.). Elsevier Applied Science Publishers, London. pp. 291-343.
- SALMINEN, S., A. OUWEHAND, Y. BENO and Y.K. LEE. 1999. Probiotic: How should they be defined. *Trends in Food Science and Technology*.
- SILALAH, H.A. 2009. Sakit Maag dan Solusinya - Beberapa Tips. <http://www.ahlinyalambung.com>. (8 Oktober 2009).
- SMET, I.D., L. VAN HOORDE, M.V. WOESTYNE, H. CHRISTIAENS and W. VERSTRAETE. 1995. Significance of bile salt hydrolytic activities of lactobacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 79: 292-301.
- SUGITHA, I.M. 1995. Dadiah Makanan Tradisional Minang. Manfaat dan Khasiatnya. *Dalam: Widyakarya Nasional Khasiat Makanan Tradisional*. Kantor Menteri Negara Urusan Pangan RI. Jakarta. hlm. 532-540.
- SUNARLIM, R. dan S. USMIATI. 2006. Sifat mikrobiologi dan sensori dadiah susu sapi yang difermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum* dalam kemasan yang berbeda. *Bul. Petern.* 30: 208-216.
- SUSANTI, I, R.W. KUSUMANINGTYAS dan F. ILLANINGTYAS. 2007. Uji sifat probiotik bakteri asam laktat sebagai kandidat bahan pangan fungsional. *J. Teknol. Indust. Pangan* 18: 89-95.
- TANNOCK, G.W. 1999. Probiotic: A Critical Review. Horizon Scientific Press. England. pp. 5-14.
- TAMIME, A.Y. 2005. Probiotic Dairy Products. Blackwell Publishing Ltd. United Kingdom. pp. 39-72.
- TAUFIK, E. 2004. Dadiah susu sapi hasil fermentasi berbagai starter bakteri probiotik yang disimpan pada suhu rendah: karakteristik kimiawi. *Med. Petern.* 27: 88-100.
- VINDEROLA, C.G., N. BAILO and J.A. REINHEIMER. 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinean yoghurts during refrigerated storage. *Food Res. Int.* 33: 97-102.
- WIDODO. 2003. Bioteknologi Industri Susu. Cetakan Pertama. Lacticia Press. Yogyakarta. *Dalam: MARYAM, S.* 2005. Nilai pH, Keasaman, Kadar Karbohidrat dan Sifat Organoleptik Susu Fermentasi dengan "Starter" *Lactobacillus brevis* dan *Lactobacillus casei* pada Perbedaan Lama Inkubasi. *Skripsi*. Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Semarang.
- ZAVAGLIA, A.G., G KOCIUBINSKI, P. PEREZ and G. DE ANTONI. 1998. Isolation and Characterization of *Bifidobacterium* strains for probiotic formulation. *J. Food Protect.* 61: 865-873.