

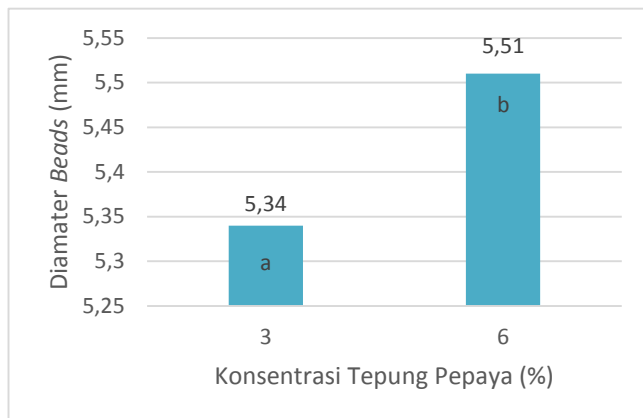
## BAB V PEMBAHASAN

Penggunaan tepung pepaya sebagai prebiotik selain sebagai bahan makanan bagi bakteri probiotik juga dapat memberikan pengaruh terhadap matriks *beads* yang dihasilkan. Pengaruh perlakuan konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan dapat dilihat melalui perubahan fisik yang terjadi pada *beads* seperti perubahan ukuran diameter *beads* dan perubahan tekstur *beads* yang meliputi *hardness*, *cohesiveness*, dan *springiness*. Sifat matriks *beads* tersebut dapat berubah selama penyimpanan sehingga mempengaruhi kemampuan pemerangkapan sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051. Viabilitas sel probiotik dalam produk diinginkan berjumlah minimal  $10^6$  cfu/gram untuk dapat memberikan dampak yang menguntungkan bagi kesehatan (Shah, 2001). Oleh karena itu dalam penelitian ini juga dilakukan *pengujian* viabilitas sel terimobil yang bertujuan selain untuk memastikan syarat jumlah sel yang memenuhi juga untuk mengetahui perubahan jumlah sel di dalam *beads* selama penyimpanan hingga hari ke-28 dalam produk susu cair pada suhu 4-5°C.

### **5.1. Diameter Beads**

Besarnya diameter *beads* dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti tipe alginat yang digunakan, konsentrasi alginat yang akan berpengaruh pada viskositas larutan, jarak antara *syringe* dengan permukaan, serta diameter *syringe* yang digunakan (Smidsrod dan Skajak-Braek, 1990). Hasil pengujian Anova pada  $\alpha = 5\%$  (Lampiran D.2.) menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh interaksi konsentrasi tepung pepaya dengan lama penyimpanan, namun ada pengaruh masing-masing faktor konsentrasi tepung pepaya dan faktor lama penyimpanan terhadap diameter *beads*. Pengujian DMRT (pada  $\alpha = 5\%$ ) terhadap diameter *beads* dapat dilihat pada Lampiran D.3., sedangkan grafik

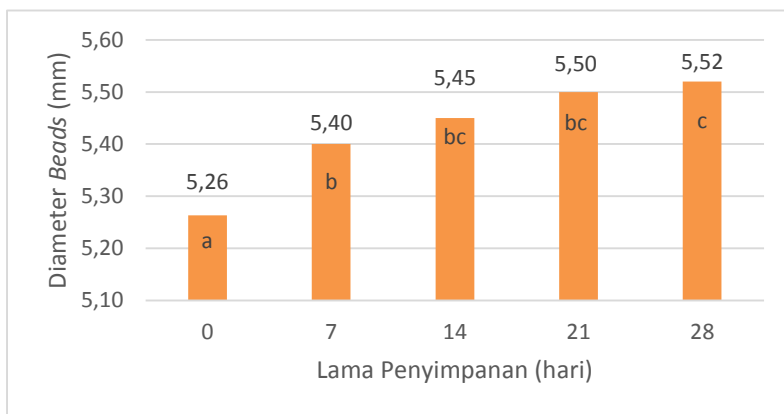
pengaruh konsentrasi tepung pepaya terhadap diameter *beads* ditunjukkan pada Gambar 5.1. dan grafik pengaruh lama penyimpanan terhadap diameter *beads* pada Gambar 5.2.



Gambar 5.1. Pengaruh Konsentrasi Tepung Pepaya terhadap Diameter *Beads*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tepung pepaya dengan konsentrasi 6% menghasilkan diameter *beads* yang lebih besar dibandingkan yang menggunakan tepung pepaya dengan konsentrasi 3%. Tepung pepaya mengkal mengandung serat larut sebesar 1,92% dan serat tidak larut sebesar 13,82% (Widyastuti *et al.*, 2006). Salah satu serat tidak larut dalam tepung pepaya yaitu selulosa memiliki sifat tidak dapat larut dalam air tetapi mampu mengikat air sehingga membentuk lapisan yang terpisah dengan alginat dan mengakibatkan peningkatan ukuran diameter *beads*. Selain itu, semakin tinggi konsentrasi tepung pepaya maka jumlah serat dan total padatan juga semakin tinggi sehingga dapat meningkatkan viskositas larutan. Viskositas larutan yang semakin meningkat menyebabkan gaya tarik-menarik antar partikel menjadi semakin besar (Palupi *et al.*, 2014). Hal ini menyebabkan tetesan yang terbentuk juga lebih besar sehingga meningkatkan ukuran diameter *beads*. Hasil pengujian *hardness* dan *cohesiveness* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi tepung pepaya maka *hardness* dan

*cohesiveness* semakin rendah sedangkan diameter *beads* semakin besar. Konsentrasi tepung pepaya yang semakin besar menyebabkan kompetisi pemerangkapan air dengan Na alginat sehingga mengganggu sistem pembentukan gel yang menyebabkan gel yang terbentuk menjadi mudah mengalami deformasi atau *hardness* turun (Gambar 5.3.) dan kurang kompak atau *cohesiveness* turun (Gambar 5.4.).



Gambar 5.2. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Diameter *Beads*

Peningkatan diameter *beads* yang terjadi selama penyimpanan seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5.2. dapat disebabkan oleh adanya penyerapan *carrier*. Hal tersebut terjadi sebab *beads* yang diamati perubahan ukuran diameternya telah terlebih dahulu disimpan dalam *carrier* berupa susu. Hal ini didukung oleh Rokka dan Rantamäki (2010) yang mengungkapkan bahwa matriks gel alginat memiliki daya elastisitas yang cukup tinggi sehingga memungkinkan terjadinya pengembangan *beads* yang terkait dengan imbibisi (penyerapan cairan) dan menyebabkan pelonggaran matriks gel dan pembesaran ukuran diameter *beads*.

Hal lain yang menyebabkan peningkatan ukuran diameter *beads* adalah pertumbuhan sel *Lacobacillus acidophilus* FNCC 0051 yang terjadi

selama penyimpanan. Data yang menunjukkan peningkatan jumlah sel terimobil dapat dilihat pada Lampiran F.2. Klikenberg *et al.* (2001) menjelaskan bahwa hal tersebut dapat disebabkan bakteri yang diimmobilisasi dalam matriks gel alginat dikelilingi oleh jaringan gel yang membatasi gerak bakteri, sehingga pada saat terjadi pertumbuhan maka bakteri akan menekan gel yang menyebabkan pelonggaran matriks gel dan peningkatan diameter *beads*. Sel bakteri yang dijerat dalam *beads* juga menghasilkan metabolit berupa asam laktat yang kemudian terakumulasi seiring dengan bertambahnya lama penyimpanan. Hasil metabolit tersebut dapat mempengaruhi matriks *beads* yang mengarah pada perubahan ukuran diameter yang semakin besar. Adrianto *et al.* (2011) menjelaskan bahwa senyawa metabolit asam laktat yang dihasilkan *Lactobacillus* merupakan senyawa pengkelat yang menyebabkan terlepasnya ikatan antara  $\text{Ca}^{2+}$  dengan alginat sehingga terjadi pelonggaran matriks *beads* yang dapat memperbesar ukuran diameter *beads* serta meningkatkan laju difusi cairan ke dalam *beads*.

## **5.2. Tekstur *Beads***

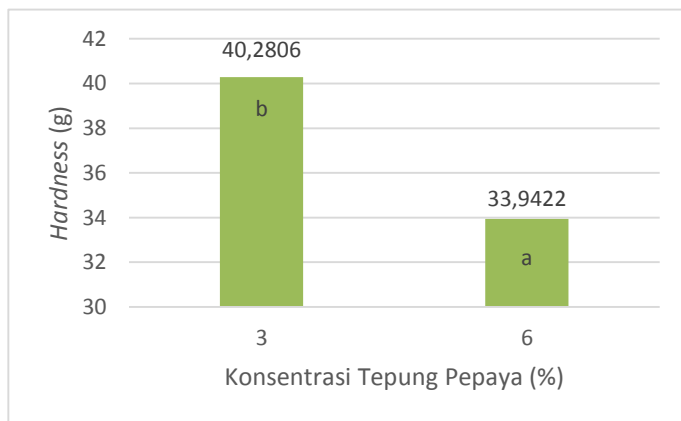
Pengujian tekstur *beads* pada penelitian ini menggunakan alat *Stable Micro Systems Texturometer* model TA-XT Plus. Karakter tekstur yang diukur pada penelitian ini adalah *hardness*, *springiness* dan *cohesiveness*. Tekstur *beads* dapat dipengaruhi oleh jenis dan komposisi biopolimer yang digunakan. Biopolimer yang digunakan dalam penelitian ini adalah Na alginat dan tepung pepaya. Konsentrasi Na alginat dibuat sama untuk setiap perlakuan yaitu 1,5%, sedangkan konsentrasi tepung pepaya yang merupakan faktor/perlakuan menggunakan konsentrasi 3% dan 6%.

### **5.2.1. *Hardness***

*Hardness* dinyatakan sebagai besarnya gaya yang diberikan hingga terjadi perubahan bentuk (deformasi) pada sampel. Rosenthal (1999) menyatakan bahwa nilai *hardness* ditunjukkan oleh nilai puncak setelah

sampel ditekan untuk pertama kalinya. Semakin tinggi nilai *hardness* maka semakin besar gaya (g) yang dibutuhkan untuk menekan sampel sehingga semakin keras pula sampel tersebut. Pengukuran *hardness* yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan terhadap *hardness beads* yang memerangkap sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051.

Kisaran *hardness beads* dari berbagai kombinasi perlakuan adalah 29,2376 g hingga 48,5756 g. Berdasarkan hasil uji Anova pada  $\alpha = 5\%$  (Lampiran E.1.1.) interaksi antara konsentrasi tepung pepaya dengan lama penyimpanan serta faktor lama penyimpanan tidak memberikan perbedaan nyata terhadap *hardness beads*, sedangkan faktor konsentrasi tepung pepaya berpengaruh nyata. Grafik hubungan perlakuan konsentrasi tepung pepaya terhadap *hardness beads* dapat dilihat pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3. Pengaruh Konsentrasi Tepung Pepaya terhadap *Hardness Beads*

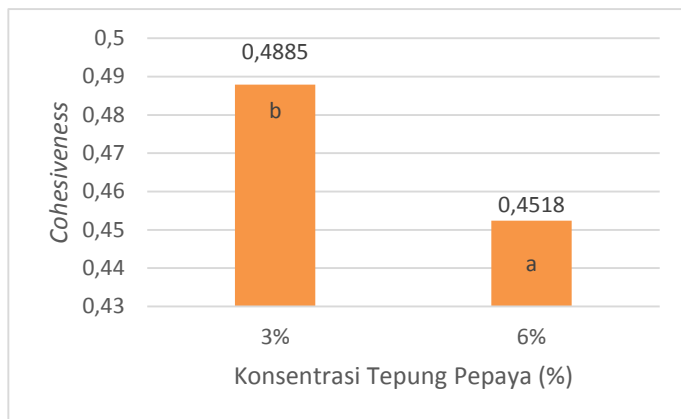
Gambar 5.3. menunjukkan bahwa *hardness beads* yang terbentuk semakin menurun seiring dengan bertambahnya konsentrasi tepung pepaya. Semakin bertambahnya konsentrasi tepung pepaya maka kemampuannya untuk menyerap air lebih banyak karena tepung pepaya mengandung serat

tidak larut seperti selulosa yang mampu menyerap air sehingga terjadi kompetisi antara tepung pepaya dengan alginat. Hal tersebut mengganggu sistem pembentukan gel sehingga *beads* mudah mengalami deformasi oleh gaya yang kecil. Zhang and Luo (2011) juga mengungkapkan bahwa penambahan selulosa dalam pembuatan *beads* menggunakan gel alginat dapat menyebabkan terbentuknya jaringan fisik baru dengan pori yang lebih besar akibat interaksi kuat antara gugus karboksil pada alginat dengan gugus hidroksil pada selulosa. *Beads* yang berpori-pori besar akan tidak tahan terhadap deformasi sehingga menyebabkan penurunan *hardness*.

### 5.2.2. *Cohesiveness*

*Cohesiveness* adalah salah satu karakter tekstur yang menggambarkan hubungan kekuatan atau kekompakan antar bahan yang saling berinteraksi (DeMan, 1985). Semakin tinggi nilai yang diperoleh berarti semakin kompak *beads* tersebut. Rosenthal (1999) mengungkapkan bahwa *cohesiveness* adalah kemampuan produk untuk menahan tekanan kedua setelah dilakukan penekanan pertama. Nilai *cohesiveness* dapat ditentukan dengan cara membandingkan rasio luas area di bawah dua puncak yang diperoleh dari hasil pengujian tekstur. Contoh perhitungan ada pada Lampiran G.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *cohesiveness beads* berkisar antara 0,3800 hingga 0,5211. Berdasarkan hasil uji Anova pada  $\alpha = 5\%$  (Lampiran E.2.), pengaruh interaksi antara konsentrasi tepung pepaya dengan lama penyimpanan serta pengaruh faktor lama penyimpanan tidak memberikan *cohesiveness beads* berbeda yang nyata, tetapi faktor konsentrasi tepung pepaya berpengaruh nyata. Grafik pengaruh konsentrasi tepung pepaya yang digunakan terhadap *cohesiveness beads* dapat dilihat pada Gambar 5.4.



Gambar 5.4. Pengaruh Konsentrasi Tepung Pepaya terhadap *Cohesiveness Beads*

Gambar 5.4. menunjukkan bahwa *beads* dengan perlakuan konsentrasi tepung pepaya 3% memiliki nilai *cohesiveness* lebih tinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi tepung pepaya 6%. Menurut Widyastuti *et al.* (2006), tepung pepaya mengandung komponen berupa serat larut (pektin) sebesar 1,92% dan serat tidak larut (selulosa dan hemiselulosa) sebesar 13,82%. Pektin yang terdapat dalam tepung pepaya merupakan pektin metoksil rendah (*Low Methoxyl Pectin*) yaitu pektin yang memiliki sebagian gugus karboksil bebas dan tidak teresterkan sehingga dapat membentuk gel tanpa gula dan asam (Suyanti *et al.*, 2012). Pektin metoksil rendah dengan adanya ion divalen seperti Ca atau Mg dapat membentuk gel. Penelitian yang telah dilakukan oleh Audebrand *et al.* (2003) menunjukkan bahwa pencampuran antara pektin dan alginat dalam suatu sistem gel menggunakan Ca mengakibatkan pembentukan struktur yang tidak seragam akibat terjadinya pemisahan ikatan antara Ca dengan alginat sehingga menyebabkan penurunan *cohesiveness beads*.

Tepung pepaya juga didominasi oleh serat tidak larut yang mampu memerangkap air, terbukti dengan diameter yang semakin besar dengan semakin banyaknya tepung pepaya yang ditambahkan. Gel yang terbentuk juga semakin lemah karena komponen serat tidak larut semakin meningkat dan mengganggu kestabilan gel dengan melonggarkan ikatan dalam sistem gel Ca-alginat akibat sifatnya yang tidak larut. Konsentrasi tepung pepaya yang tinggi menyebabkan terjadinya kompetisi pemerangkapan air antara Na alginat dan tepung pepaya dalam memerangkap air sehingga mengganggu pembentukan gel. Na alginat memerlukan air dalam pembentukan gel, namun jika air yang tersedia juga diserap oleh komponen selulosa pada tepung pepaya yang tidak bisa membentuk gel, maka dapat menyebabkan sedikitnya matriks gel yang terbentuk serta struktur beads kurang menyatu. Hal inilah yang menyebabkan penurunan *cohesiveness beads*.

### 5.3. *Springiness*

*Springiness* adalah kemampuan suatu produk pangan untuk kembali seperti semula setelah diberi tekanan (Rosenthal, 1999). Semakin besar *springiness* maka beads yang terbentuk semakin elastis. Pengukuran *springiness* pada beads yang terbentuk bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan terhadap *springiness beads* yang menjerat sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *springiness beads* berkisar antara 0,8398 hingga 0,9889. Hasil Anova pada  $\alpha = 5\%$  (Lampiran E.3.1.) menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh konsentrasi tepung pepaya maupun lama penyimpanan serta interaksi antara konsentrasi tepung pepaya dan lama penyimpanan terhadap *springiness beads*. Hasil pengukuran *springiness* pada berbagai kombinasi perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.1. sedangkan contoh perhitungan ada pada Lampiran G.



Tabel 5.1. Rata-rata *Springiness Beads*

Perlakuan		Rata-rata $\pm$ SD
Konsentrasi Tepung Pepaya	Lama Penyimpanan	
3%	0 hari	0,9104 $\pm$ 0,0350
3%	7 hari	0,9490 $\pm$ 0,0450
3%	14 hari	0,9326 $\pm$ 0,0085
3%	21 hari	0,9331 $\pm$ 0,0014
3%	28 hari	0,9591 $\pm$ 0,0202
6%	0 hari	0,9276 $\pm$ 0,0475
6%	7 hari	0,8866 $\pm$ 0,0410
6%	14 hari	0,9191 $\pm$ 0,0455
6%	21 hari	0,9032 $\pm$ 0,0517
6%	28 hari	0,9465 $\pm$ 0,0352

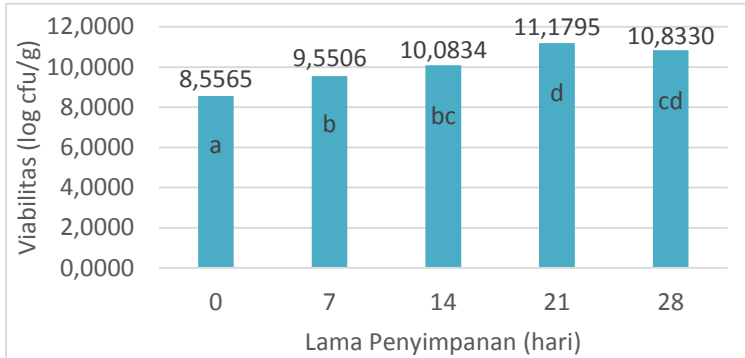
Tepung pepaya mengandung serat larut yaitu pektin yang mampu membentuk gel dengan adanya Ca, namun serat tidak larut seperti selulosa yang juga terkandung dalam pepaya dapat mengganggu sistem gel karena dapat melonggarkan ikatan dalam sistem gel Ca-alginat sehingga gel menjadi kurang elastis. Kedua hal tersebut menyebabkan penambahan tepung pepaya pada konsentrasi 3% dan 6% menjadi tidak terlalu nampak pengaruhnya terhadap *springiness beads*. Demikian juga lama penyimpanan tidak secara nyata berakibat pada *springiness beads* sebab selama penyimpanan difusi cairan dari media susu tidak berakibat pada pembentukan gel yang elastis, terlihat dari nilai *hardness*, *cohesiveness*, maupun *springiness beads* pada 0, 7, 14, 21, dan 28 hari yang cenderung sama atau tidak berbeda nyata.

### 5.3. Viabilitas Bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 Terimobil

Pengujian viabilitas sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 terimobil dilakukan dengan metode ALT (Angka Lempeng Total) yang dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni hidup yang ditumbuhkan

pada media agar. Rata-rata hasil perhitungan ALT kultur starter *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 yang digunakan yaitu 11,5158 log cfu/mL seperti yang tercantum dalam Lampiran F.1., sedangkan jumlah sel hidup yang terimobil di dalam matriks *beads* pada berbagai konsentrasi tepung pepaya yang diamati pada penyimpanan hari ke-0, hari ke-7, hari ke-14, hari ke-21 dan hari ke-28 pada suhu 4-5°C adalah berkisar antara 8,6021 – 11,5474 log cfu/gram *beads* (Lampiran F.2.). Jumlah sel hidup terimobil tersebut menunjukkan bahwa viabilitas bakteri probiotik dalam *beads* masih memenuhi persyaratan jumlah sel minimal yang diperlukan untuk dapat memberikan dampak kesehatan bagi tubuh, yaitu minimal  $10^6$  cfu/gram (Shah, 2001).

Berdasarkan hasil uji Anova pada  $\alpha = 5\%$  (Lampiran F.3.) interaksi antara konsentrasi tepung pepaya dengan lama penyimpanan serta faktor konsentrasi tepung pepaya tidak berpengaruh nyata terhadap viabilitas *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051, namun faktor lama penyimpanan memberikan pengaruh yang nyata. Hasil uji DMRT pada  $\alpha = 5\%$  terhadap viabilitas bakteri tersebut dapat dilihat pada Lampiran F4. Grafik pengaruh lama penyimpanan terhadap viabilitas bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dapat dilihat pada Gambar 5.5. Selama penyimpanan terjadi peningkatan jumlah sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 namun ada kecenderungan menurun pada hari ke-28 walaupun nilainya tidak berbeda nyata dengan jumlah sel terimobil pada hari ke-21. Pada perlakuan lama penyimpanan hari ke-0, jumlah sel terimobil berkisar antara 8,0792 - 9,0414 log cfu/gram sedangkan jumlah sel terimobil pada perlakuan lama penyimpanan hari ke-28 berkisar antara 10,2553 - 11,1761 log cfu/gram (Lampiran F.3.).



Gambar 5.5. Pengaruh Lama Penyimpanan terhadap Viabilitas *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 Terimobil

Penyimpanan produk dalam penelitian ini dilakukan pada suhu rendah yang berkisar 4-5°C (suhu refrigerator). Menurut Banwart (1981), suhu optimal untuk pertumbuhan *Lactobacillus* adalah antara 30-40°C dan kisaran suhu untuk ketahanan *Lactobacillus* adalah 5-53°C, oleh karena itu suhu 4-5°C yang digunakan selama penyimpanan masih memungkinkan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 untuk bertahan hidup. Selain suhu, kondisi lingkungan lainnya seperti pH juga masih sesuai untuk pertumbuhan bakteri tersebut. *Beads* yang memerangkap sel bakteri probiotik disimpan dalam *carrier* berupa susu. Susu mengandung laktosa sebagai substrat utama untuk proses fermentasi bakteri asam laktat (Mayra-Makinen and Bigret, 1998) sehingga memungkinkan bakteri tersebut untuk hidup. Menurut Muchtadi dan Sugiyono (1992), susu juga memiliki pH sekitar 6,5-6,6 yang berada pada kisaran pH optimal untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Sardjono dan Wibowo (1988) juga mengungkapkan bahwa pH optimal untuk pertumbuhan bakteri asam laktat adalah antara 5,6-6,5 dan kisaran pH untuk ketahanan sel *Lactobacillus sp.* adalah 3,8-7,2. Kondisi yang optimal tersebut masih memungkinkan bakteri untuk dapat terus tumbuh dan melakukan metabolisme walaupun lebih lambat (Ray, 2001). Selain itu

adanya pertumbuhan bakteri dapat menekan gel yang menyebabkan pelonggaran matriks sehingga diameter *beads* meningkat. Hal ini sejalan dengan hasil pengukuran diameter yang menunjukkan bahwa dengan semakin lamanya penyimpanan jumlah sel terimobil semakin meningkat yang juga diiringi dengan peningkatan ukuran diameter *beads*.

Viabilitas sel terimobil pada hari ke-28 mulai menunjukkan kecenderungan penurunan meskipun nilainya tidak berbeda nyata dengan hari ke-21. Kecenderungan penurunan jumlah sel tersebut dapat disebabkan oleh adanya akumulasi hasil metabolisme berupa asam laktat yang dihasilkan bakteri. Asam laktat merupakan golongan asam lemah namun senyawa ini dapat bertindak sebagai agen pengkelat, oleh karena itu kehadiran asam laktat dapat menyebabkan terlepasnya ikatan antara  $\text{Ca}^{2+}$  dengan alginat sehingga sebagian sel keluar (*release*) dari *beads* ke media penyimpanan. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Christiane *et al.* (2016) yang menunjukkan bahwa jumlah sel bebas yang berada dalam *carrier* semakin meningkat selama penyimpanan. Hasil metabolit asam laktat yang dihasilkan bakteri *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 tergolong ke dalam asam lemah. Pada kondisi pH rendah, asam lemah (HA) pada medium berada dalam keadaan terdisosiasi dan akan masuk ke dalam membran sel. HA selanjutnya akan terurai menjadi ion-ion  $\text{H}^+$  dan  $\text{A}^-$ . Peningkatan jumlah ion  $\text{H}^+$  sangat mengganggu keseimbangan elektrolit bakteri terimobil. Bakteri akan berusaha mengeluarkan  $\text{H}^+$  sehingga ia kehilangan banyak energi (ATP) yang menyebabkan sistem metabolisme selnya terganggu (Priyanto, 1988). Hal tersebut menyebabkan pertumbuhan mikroba dapat terhenti dan akhirnya mengarah pada kematian sel yang ditandai dengan turunnya viabilitas sel terimobil. Selain itu, sel yang masih berada dalam *matriks* juga menjadi lebih mudah terpapar dengan lingkungan yang tidak optimal akibat kondisi matriks yang sudah semakin longgar.