

The Potential of Indigenous Lactic Acid Bacteria *Lactobacillus Plantarum* Dad 13 in Ice Cream as Probiotic Food

Wulandani, B.R.D^{1*}, Kisworo, D¹, Bulkaini¹, Yulianto, W¹, Haryanto¹

¹Laboratorium Pengolahan Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia;

Article History

Received : October 21th, 2022

Revised : November 20th, 2022

Accepted : December 10th, 2022

*Corresponding Author:

Wulandani, B.R.D.

Laboratorium Pengolahan Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Mataram, Mataram, Indonesia; Email:

baiq.rani@unram.ac.id

Abstract: Worldwide demand for functional food will continue to increase rapidly due to increasing public awareness about the impact of food on health. One example of functional food is milk-based food which contains probiotic bacteria such as yogurt, cheese, and ice cream. Among probiotic dairy products, ice cream is the ideal matrix delivery of probiotic ingredients to the human body. This study aimed to find the potential of *L. plantarum* dad 13 in ice cream as a probiotic food through the growth pattern of the resulting lactic acid bacteria and to obtain the best incubation time and aging time for the physicochemical properties of the ice cream produced. The experimental design in this study used a Randomized Block Design (RBD), which was arranged in a factorial manner with 2 factors. The first factor is the length of incubation time which consists of 3 levels, namely 0, 5, and 10 hours; and the second factor is the length of aging which consists of 3 levels, namely 24, 48, and 72 hours. The results showed that the viability of lactic acid bacteria in ice cream with the addition of lactic acid bacteria *L. plantarum* dad 13 was more influenced by the pH value during the aging process, and there was an interaction between the incubation time and the aging time on the viability of the lactic acid bacteria *L. plantarum* dad 13 in ice cream, as well as the antioxidant activities, produced.

Keywords: antioxidant activities; goat milk; ice cream; lactic acid bacteria; *Lactobacillus plantarum* dad 13.

Pendahuluan

Permintaan akan pangan fungsional diseluruh dunia terus meningkat pesat karena meningkatnya kesadaran masyarakat tentang dampak makanan terhadap kesehatan (Halsted, 2003). Salah satu contoh pangan fungsional adalah pangan yang berbasis susu dan mengandung bakteri probiotik seperti yoghurt, keju (Afiati et al., 2014) dan es krim (Cota dan Stanila, 2013). Salah satu produk susu probiotik, es krim adalah matriks yang ideal untuk pengiriman organisme probiotik ke tubuh manusia (Mohammadi et al., 2011). Penelitian mengenai pemanfaatan probiotik didalam es krim telah dilakukan, diantaranya adalah Ambri et al., (2009) mengenai pemanfaatan bakteri asam laktat yang berasal dari dadih. Selain itu, pemanfaatan bakteri asam laktat *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus acidophilus*

(Bahow et al., 2016) dan *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rahnosus*, *Lactobacillus curvatus*, *Leuconostoc mesenteroides* dan *Propionibacterium shermanii* (El-Shafei et al., 2018) untuk meningkatkan karakteristik dan nilai fungsional es krim.

Strain bakteri asam laktat yang telah berhasil diisolasi dari hasil fermentasi susu kerbau (dadih) dan merupakan isolat lokal adalah *Lactobacillus plantarum* dad 13. Strain ini relatif stabil pada pH 3,0 selama 3 jam (Utami et al., 2009). Selanjutnya secara in vitro menunjukkan bahwa strain ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *E. coli* (Sumaryati et al., 2009). Sementara itu, suplementasi *L. plantarum* dad 13 sebagai starter bagi pembuatan yogurt mampu menghasilkan yogurt dengan kandungan laktosa yang lebih rendah jika dibandingkan dengan yogurt tanpa suplementasi *L. plantarum* dad 13 (Harmayani et al., 2003).

Selain itu, strainnya mampu menurunkan resiko diare dan radikal bebas saat di suplementasi kedalam yogurt dengan ekstrak ubi ungu (Tari *et al.*, 2016). Pemanfaatan *L. plantarum* dad 13 dalam proses pembuatan keju menunjukkan bahwa *L. plantarum* dad 13 dapat digunakan sebagai kultur dalam proses pembuatan keju (Meidistria *et al.*, 2020).

Bakteri asam laktat *indigenous L. plantarum* dad 13 memiliki potensi dalam proses pembuatan yogurt dan keju sebagai pangan probiotik. Namun demikian, potensinya sebagai pangan probiotik di dalam es krim belum dilakukan. Oleh karena itu, penelitian tentang potensi bakteri asam laktat *indigenous L. plantarum* dad 13 di dalam es krim dengan modifikasi proses pembuatan es krim probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan potensi *L. plantarum* dad 13 di dalam es krim sebagai pangan probiotik melalui pola pertumbuhan bakteri asam laktat yang dihasilkan serta memperoleh waktu inkubasi dan waktu aging terbaik bagi sifat fisikokimia es krim yang dihasilkan.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juli hingga Oktober 2022 di Laboratorium Mikrobiologi Pangan Fakultas Teknologi Pangan dan teknik pertanian Universitas Mataram.

Alat dan bahan

Bahan digunakan untuk pembuatan es krim adalah: Susu kambing diperoleh di sekitar kota Mataram, Nusa Tenggara Barat, susu skim, mentega putih (shortening), sukrosa (gula pasir), kuning telur, dan Carboxymethyl Cellulose Sodium (Na-CMC) dan *Lactobacillus plantarum* dad 13 diperoleh dari Food and Nutrition Culture Collection atau FNCC di Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gajah Mada. Bahan-bahan yang digunakan untuk perhitungan TTA (Total Titratable Acid) adalah 0.1N Natrium hidroksida (NaOH), 0.1% phenolphthalein. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kimia (total gula) adalah: Anthrone, Asam sulfat, Aquades, natrium oksalat, CaCO₃, fruktosa, glukosa, Pb-asetat dan sampel es krim. Bahan yang di gunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah ahan yang

digunakan dalam Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) radical inhibition assay (adalah: 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) dan Ethanol (C₂H₅OH atau C₂H₆O).

Peralatan untuk Inokulasi dan perbanyakan starter bakteri asam laktat: *Autoklaf*, lemari es, botol (berwarna gelap), tabung reaksi, inkubator, wadah plastik, *water bath*, *centrifuge*, *freezer*, cawan petri, gelas piala, labu ukur, pH meter, dan tabung reaksi. Peralatan untuk pembuatan es ktm adalah blender, inkubator, Ice maker, lemari es dan *freezer*. Peralatan yang digunakan untuk analisis kimia (total gula) adalah : Corong kecil, gelas kimia, gelas ukur, labu ukur 25 ml, pipet volume, penangas air, kertas whatman no. 2, kuvet, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1601), tabung reaksi (pyrex), timbangan analitik. Peralatan untuk uji aktivitas antioksidan adalah pektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 160).

Metode penelitian

Metode Perbanyakan Starter Kultur Bakteri Asam Laktat

Perbanyakan starter kultur bakteri asam laktat dilakukan berdasarkan prosedur kerja yang terdapat didalam panduan persiapan perbanyakan starter kultur BAL oleh Laboratorium Mikrobiologi- Pusat Studi Pangan dan Gizi- Universitas Gajah Mada (Wulandani *et al.*, 2017). Tahapan perbanyakan starter yaitu menyiapkan 5 ml medium MRS broth steril sebanyak 1 tabung, selanjutnya adalah melakukan inokulasi kedalam tabung yang telah berisi medium broth dengan biakan tegak *Lactobacillus plantarum* dad 13. Isolat kemudian diinkubasi pada suhu 36°C selama 24 jam. Pembuatan kultur starter, masing-masing 0.1 ml biakan tersebut kemudian diinokulasikan ke dalam 5 ml susu skim steril. Selanjutnya adalah melakukan Inkubasi pada suhu 43°C selama 7-8 jam atau 36°C selama 24 jam.

Metode pembuatan es krim

Campuran es krim (ICM) yang telah ditambahkan starter *L. plantarum* dad 13 dilakukan analisis total BAL dan total gula. Proses pembuatan es krim probiotik (modifikasi Hekmat and McMahan, 1992) meliputi sebagai berikut: Penimbangan berat masing-masing bahan yang akan digunakan, mentega putih 10% (b/v), susu skim 11% (b/v), kuning telur 0,1%

(b/v), sukrosa 15% (b/v), dan Na-CMC 0,3% (b/v). Adapun proses pembuatan es krim adalah: penimbangan secara aseptis starter *L. plantarum* dad 13 yang akan digunakan sebanyak 5% (b/v). Melakukan pencampuran semua bahan kering seperti gula pasir, susu skim, Na-CMC sampai rata, kemudian bahan kering yang tercampur rata dicampur dengan susu UHT dan kuning telur. Setelah semua bahan tercampur rata, mentega putih dimasukkan dan dilakukan pemanasan sampai mentega mencair dan tercampur rata sehingga dihasilkan adonan campuran es krim.

Proses pasteurisasi adonan kemudian dilakukan sampai mencapai suhu 80°C selama 3 detik dan kompor dimatikan. Proses homogenisasi dilakukan pada adonan selama 5 menit dengan menggunakan mixer kecepatan sedang, kemudian adonan didinginkan sampai mencapai suhu 37°C. Setelah suhu adonan 37°C, masukkan starter *L. plantarum* dad 13 secara aseptis dan dilanjutkan proses homogenisasi selama 2 menit dengan pengadukan secara perlahan. Selanjutnya dilakukan diinkubasi pada suhu 37°C sesuai perlakuan (0 jam, 5 jam dan 10 jam). Kemudian dilakukan aging pada suhu $\pm 10^\circ\text{C}$ selama waktu tertentu sesuai perlakuan (24 jam, 48 jam dan 72 jam). Tahap selanjutnya adalah tahap pembuihan dengan menggunakan Ice Cream Maker selama 30 menit. Selanjutnya adalah pembekuan dan pengerasan dilakukan dalam freezer selama 24 jam.

Uji Kuantitatif (Anthrone-Sulfat) untuk uji total gula

Uji total gula dilakukan pada panduan metode AOAC (1997). Penentuan OT dilakukan dengan menambahkan 1,0 mL larutan standar glukosa konsentrasi 0,06 mg/mL dengan 5 mL pereaksi anthrone di dalam lemari asam. Kemudian tutup tabung dan gojok larutan agar tercampur rata. Larutan kemudian dipanaskan di atas waterbath dengan suhu 100°C selama 12 menit, yang dibaca pada lamda 630 nm selama 1 jam. Selanjutnya adalah penentuan panjang gelombang absorbansi maksimum dilakukan

dengan menambahkan 1 mL larutan standar glukosa konsentrasi 0,06 mg/mL dengan 5 mL pereaksi anthrone di dalam lemari asam. Kemudian tutup tabung dan gojok larutan agar tercampur rata.

Larutan kemudian dipanaskan di atas waterbath dengan suhu 100°C selama 12 menit, tunggu hingga OT yang diperoleh sebelumnya, baca absorbansi rentang panjang gelombang 580 – 680 nm. Penentuan kurva baku dilakukan dengan menambahkan 1,0 mL larutan standar glukosa konsentrasi 0 (lar. blanko); 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1; 0,12 (mg/mL) dengan 5 mL pereaksi anthrone di dalam lemari asam. Kemudian tutup tabung dan gojok larutan agar tercampur rata. Larutan kemudian dipanaskan di atas waterbath dengan suhu 100°C selama 12 menit, setelah itu didinginkan dan ditunggu hingga OT yang didapat sebelumnya. Larutan dibaca serapannya di spektrofotometer visible pada panjang gelombang maks yang didapat (623,8 nm).

Pengukuran nilai pH dan TTA

Proses pengukuran nilai pH dan TTA menggunakan acuan Wulandani *et al.*, (2018). Perubahan pH dilakukan dilakukan setiap waktu inkubasi (jam ke-0, 5 dan 10) serta setiap waktu aging (Jam ke 24, 48 dan 72). Sampel (3 ml) dicampurkan dengan 3 ml dH₂O untuk pengukuran pH, sedangkan untuk perhitungan TTA (Total Titratable Acid) selama proses aging es krim ditentukan dengan titrasi menggunakan 0.1N NaOH, yaitu dengan cara: Sebanyak 1 ml es krim dimasukkan kedalam tabung Erlenmeyer yang telah terisi 9 ml dH₂O. 3–5 tetes 0.1% phenolphthalein ditambahkan sebagai pH indikator. NaOH (0.1 N) dititrasi kedalam larutan dan larutan dicampur seluruhnya. Proses diulang hingga terjadi perubahan indikator menjadi warna merah jambu yang konstan. Setelah 1 ml 0.1 NaOH dinetralisasi dengan 0.009 g asam, jumlah asam yang dihasilkan selama aging dapat ditentukan dengan rumus di bawah ini.

$$\text{Persentase asam laktat} = \text{faktor dilusi (10)} * V \text{ NaOH} * 0.1 \text{ N} * 0.009 * 100\%.$$

Penentuan aktivitas antioksidan

Metode penentuan aktivitas antioksidan menggunakan 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) radical inhibition assay melibatkan

reaksi antioksidan dengan DPPH yang stabil dalam 95% ethanol (Wulandani *et al.*, 2018). Ekstrak sampel (250 μl) ditambahkan kedalam 3.8 mL 60 mmol/L DPPH (Sigma-Adrich,

Germany)/L methanol 95%. Penurunan absorbansi dimonitor pada 517 nm hingga pembacaan konstan diperoleh. Asam gallat digunakan sebagai kontrol untuk sampel jus

blewah Hasil pembacaan konstan untuk sampel) digunakan untuk menghitung % penghambatan oksidasi DPPH (Apostolidis *et al.*, 2007).

$$\text{Persentase penghambatan DPPH} = \frac{A.\text{kontrol } 517 - A.\text{ekstrak } 517}{A.\text{kontrol } 517} \times 100$$

A adalah absorbansi kontrol (DPPH dan ethanol) sedangkan B adalah absorbansi sampel (DPPH, ethanol dan sampel).

viabilitas bakteri asam laktat semakin menurun dengan semakin lamanya waktu inkubasi meskipun tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$).

Hasil dan Pembahasan

Viabilitas bakteri asam laktat pada es krim dengan penambahan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dad 13

Kelangsungan hidup starter kultur pada matrik pangan adalah tergantung pada beberapa faktor, seperti: strain yang digunakan, interaksi antara mikroorganisme terpilih, *acidity* produk yang dihasilkan dan diproduksi hydrogen peroksida (Shah, 2008). Hasil perhitungan sidik ragam menunjukkan bahwa lama waktu inkubasi tidak dipengaruhi oleh lama waktu aging terhadap viabilitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dad 13 didalam es krim. Nilai

Hasil perhitungan sidik ragam juga menunjukkan bahwa lama waktu aging dipengaruhi oleh lama waktu inkubasi terhadap viabilitas bakteri asam laktat, terlihat pada Tabel 1. Waktu aging pada jam ke-24 menghasilkan viabilitas bakteri asam laktat yang lebih rendah dibandingkan dengan waktu aging jam ke-48 dan memberikan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan waktu aging jam ke-72 yang tidak memberikan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) bahkan menunjukkan penurunan viabilitas dibandingkan waktu aging jam ke-48, meskipun nilai viabilitas bakteri asam laktat tetap pada 10^9 cfu/ml.

Tabel 1. Nilai Viabilitas Bakteri Asam Laktat (log cfu/ml) pada es krim dengan penambahan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dad 13 (cfu/mL)

Lama inkubasi (Jam)	Lama Aging (Jam)			Rerata
	24	48	72	
0	9.8027	9.9980	9.7538	9,773±0,180 ^a
	9.3512	9.8987	9.8173	
	9.6941	9.7913	9.8495	
5	9.4058	9.5441	9.7865	9,652±0,211 ^a
	9.7774	9.8854	9.3997	
	9.5205	9.9009	9.6486	
10	8.5570	9.8217	9.1312	9,522±0,470 ^a
	9.6434	9.5043	9.6705	
	9.6141	9.9197	9.8381	
Rerata	9,485±0,381 ^a	9,807±0,171 ^b	9,655±0,241 ^{ab}	

Keterangan: ^{abc} Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Hasil analisis Tabel 1 menunjukkan bahwa viabilitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dad 13 pada es krim lebih di pengaruhi oleh lama waktu aging. Viabilitas bakteri asam laktat akan menunjukkan fase stasioner (fase diam) dengan sedikit pertumbuhan, tetapi mengalami kehilangan viabilitas sel yang cepat jika disimpan pada suhu di bawah minus 20°C (Naidu

et al., 1999). Secara umum probiotik ditambahkan kepada susu yang difermentasi dan disimpan pada suhu 5-10 °C. Produk tersebut kemungkinan lebih rentan terhadap hilangnya viabilitas kultur daripada es krim, karena suhu penyimpanan yang lebih rendah dari yang terakhir dan mengakibatkan cedera sel karena pembekuan.

Selama proses aging berlangsung (suhu - 20°C) kondisi fisikokimia dan kandungan nutrisi didalam susu kambing masih tersedia cukup bagi pertumbuhan bakteri asam laktat. Pertumbuhan pada mikrobial merupakan reaksi utama terhadap lingkungan fisikokimia (Shuler dan Kargi, 1992). Bakteri asam laktat membutuhkan mineral dan vitamin untuk pertumbuhannya (sebagai katalis didalam reaksi enzimatik). Kemudian, memiliki efek penting bagi kelangsungan hidup bakteri asam laktat.

Susu kambing diketahui mengandung vitamin (thiamin, riboflavin, niasin, asam pantotenat, asam askorbat, dan asam folat) dan

mineral (sodium, potassium, kalsium, magnesium, phosphor, iron, copper, zinc dan mangan). Aktivitas pertumbuhan bakteri asam laktat juga dipengaruhi oleh perubahan nilai pH. Nilai pH es krim yang dihasilkan adalah berkisar diantara 5,003 hingga 5,860. Nilai pH memberikan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) pada jam ke-10 inkubasi dibandingkan dengan waktu inkubasi jam ke-0 dan jam ke-5. Lama waktu aging memiliki interaksi terhadap lama waktu inkubasi dan menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) untuk masing-masing waktu aging, seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai pH pada es krim dengan penambahan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dad 13

Lama inkubasi (Jam)	Lama Aging (Jam)			Rerata
	24	48	72	
0	5,930	5,935	5,710	5,860±0,108 ^a
	5,940	5,925	5,715	
	5,955	5,920	5,735	
5	5,855	5,715	6,000	5,859±0,094 ^a
	5,860	5,790	5,925	
	5,895	5,745	5,945	
10	5,445	5,160	4,515	5,003±0,382 ^b
	5,415	4,925	4,550	
	5,440	4,940	4,640	
Rerata	5,748±0,239 ^a	5,562±0,428 ^b	5,415±0,644 ^c	

Keterangan: ^{abc} Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Penurunan pH terus terjadi selama waktu inkubasi maupun waktu aging. Hal ini kemungkinan karena proses fermentasi terus berlanjut oleh starter bakteri asam laktat yang biasanya akan sangat menurunkan pH fungsional es krim selama proses inkubasi maupun aging. Hasil pH yang dicapai pada penelitian ini adalah sesuai dengan pendapat (Vardar and Öksüz, 2007) bahwa peningkatan kepekaan mikroorganisme probiotik terhadap nilai pH yang rendah (4,0 - 4,5) menyebabkan penerimaan sensorik terhadap es krim dengan penambahan bakteri probiotik akan sangat rendah karena es krim secara konvensional tidak dicirikan sebagai bahan pangan dengan tingkat keasaman yang tinggi. Salah satu cara yang dilakukan adalah dengan menghentikan fermentasi pada kisaran nilai pH 5,0 hingga 5,5. Hal ini menunjukkan bahwa pembuatan es krim dengan penambahan bakteri asam laktat *L. plantarum* dad 13 memiliki lama waktu inkubasi

tidak melebihi waktu 10 jam, dimana pada jam ke-10 inkubasi rata-rata pH es krim telah mencapai nilai 5,003.

Bakteri asam laktat diketahui memiliki enzim β -D-galaktosidase yang menghidrolisis laktosa didalam sel menjadi D-glukosa dimetabolisme melalui jalur glikolisis, katabolisme galaktosa melalui jalur Leloir dan jalur Tagatosa, serta sebagian galaktosa diekskresi keluar sel. Fermentasi laktosa tersebut mempunyai hasil utama berupa asam laktat. Salah satu sifat penting bakteri asam laktat adalah kemampuannya mendegradasi karbohidrat melalui fermentasi (Rotar *et al.*, 2015). Selama proses fermentasi berlangsung, bakteri asam laktat masih memiliki cukup karbohidrat untuk mensintesis asam laktat.

Aktivitas bakteri probiotik menurun karena selain dengan pertumbuhannya yang semakin cepat, maka akan semakin banyak gula reduksi yang dimanfaatkan untuk

pertumbuhannya maupun untuk membentuk asam laktat, sehingga kadar gula reduksinya semakin menurun. Perubahan laktosa menjadi asam laktat, asetaldehid, diasetil dan asam format yang menyebabkan peningkatan asam selama fermentasi. Pembebasan asam laktat mencerminkan aktivitas metabolik yang tinggi pada bakteri asam laktat (Kim *et al.*, 1993).

Asam-asam organik (asam laktat, asam sitrat, asam formiat, asam asetat, dan asam butirat) secara linier terkait dengan akumulasi TTA (Total Titratable Acid) pada es krim dengan bakteri asam laktat. Terdapat interaksi antara waktu inkubasi dengan lama waktu aging terhadap nilai TTA yang dihasilkan, seperti yang terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai TTA pada es krim dengan penambahan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dad 13

Lama inkubasi (Jam)	Lama Aging (Jam)			Rerata
	24	48	72	
0	0.1238	0.1463	0.2025	0,154±0,043 ^a
	0.1013	0.1238	0.2025	
	0.1125	0.1463	0.2250	
5	0.1238	0.1688	0.3150	0,219±0,104 ^b
	0.1013	0.2138	0.3600	
	0.1125	0.2250	0.3488	
10	0.3038	0.5288	0.5738	0,474±0,121 ^c
	0.3375	0.5400	0.5625	
	0.3375	0.5513	0.5288	
Rerata	0.184±0,108 ^a	0.294±0,188 ^b	0.369±0,152 ^c	

Keterangan: ^{abc} Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P < 0,05)

Nilai TTA menunjukkan peningkatan selama waktu inkubasi maupun selama waktu aging. Dan menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05) untuk masing masing waktu inkubasi maupun waktu aging. Penurunan jumlah bakteri asam laktat selama peningkatan waktu inkubasi maupun waktu aging akibat akumulasi asam-asam organik. Susu kambing terfermentasi oleh bakteri asam laktat diketahui mengandung asam kaproat, kaprilat dan kaprat dan laurat (Legowo

et al., 2006). Proses perpanjangan fermentasi (inkubasi) maupun waktu penyimpanan (aging) mengakibatkan akumulasi asam diasetik (*diacetic acid*), asetaldehid, asam format dan asam laktat (Joung *et al.*, 2016). Bakteri asam laktat diketahui memiliki kemampuan untuk menghasilkan substansi inhibitor yaitu diasetil, asetaldehid, asam format, ethanol dan hidrogen peroksida (Vuyst and Vandamme, 1994).

Tabel 4. Perubahan nilai total gula es krim akibat pertumbuhan bakteri asam laktat pada es krim dengan penambahan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dad 13

Lama inkubasi (Jam)	Lama Aging (Jam)			Rerata
	24	48	72	
0	0.1044	0.1032	0.1021	0,103±0,001 ^a
	0.1019	0.1030	0.1014	
	0.1039	0.1030	0.1016	
5	0.1008	0.1030	0.1022	0,101±0,001 ^b
	0.1003	0.1013	0.1019	
	0.0995	0.1024	0.1019	
10	0.1019	0.1033	0.0989	0,101±0,02 ^b
	0.1019	0.1033	0.0981	
	0.1024	0.0993	0.0981	
Rerata	0.102±0,002 ^a	0.102±0,001 ^a	0.101±0,002 ^b	

Keterangan: ^{abc} Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata (P < 0,05)

Hasil penelitian pertumbuhan BAL juga dapat dilihat dari konsumsi gula oleh bakteri asam laktat. Hasil perhitungan sidik ragam diketahui bahwa nilai total gula menunjukkan sedikit penurunan dengan semakin lamanya waktu inkubasi maupun semakin meningkatnya waktu aging. Pada jam ke-0 inkubasi, nilai total gula adalah 0,103 dan menunjukkan sedikit penurunan pada jam ke 10 waktu fermentasi, yaitu 0,101 yang menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Demikian pula pada lama waktu aging yang menunjukkan sedikit penurunan nilai total gula pada jam ke- 72 jika dibandingkan dengan jam ke-24 dan menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$). Hal ini sejalan dengan nilai pH yang dihasilkan, baik selama waktu inkubasi maupun waktu aging pada masing-masing perlakuan.

Prinsip utama pembuatan asam laktat dengan fermentasi adalah pemecahan laktosa menjadi bentuk monosakarida (karbohidrat yang tidak dapat dihidrolisis menjadi bentuk yang lebih sederhana) (Budiyanto, 2002). Monosakarida dibantu oleh aktivitas enzim yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat diubah menjadi asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan dengan cara tersebut akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya, sehingga menimbulkan rasa asam.

Aktivitas antioksidan pada es krim dengan penambahan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dad 13

Prinsip dasar dari antioksidan dalam menunda oksidasi molekul lain dengan menghambat inisiasi atau propagasi reaksi berantai oksidasi oleh radikal bebas (Namiki, 1990). Pada produk susu fermentasi, adanya strain kultur bakteri asam laktat mampu mendegradasi komponen utama susu seperti protein, karbohidrat dan lipid menjadi berbagai bentuk seperti asam- asam amino, peptida-peptida, asam-asam organik, asam-asam lemak bebas dan sekuen peptida yang salah satu fungsinya adalah meningkatkan aktivitas antioksidan (Gjorgievski *et al.*, 2013).

Hasil perhitungan sidik ragam, diketahui bahwa terdapat interaksi antara lama waktu inkubasi dan lama waktu aging terhadap aktivitas antioksidan pada es krim dengan penambahan bakteri asam laktat *L. plantarum* dad 13, seperti yang terlihat pada Tabel 6. Aktivitas antioksidan pada suatu bahan sangat dipengaruhi oleh adanya senyawa fenolik didalam suatu bahan. Kandungan senyawa fenolik didalam susu kambing terkait dengan asam-asam amino yang dimilikinya. Hal ini sesuai dengan pendapat Damin *et al.*, (2009) bahwa nilai total kandungan senyawa fenolik pada produk susu fermentasi dicerminkan dengan senyawa fenolik yang terkait dengan pemecahan protein susu. Asam amino tyrosin misalnya, memiliki rantai samping fenolik yang menimbulkan pembacaan adanya senyawa fenolik (Shah, 2000).

Tabel 6. Nilai aktivitas antioksidan pada es krim dengan penambahan bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dad 13 (%)

Lama inkubasi (Jam)	Lama Aging (Jam)			Rerata
	24	48	72	
0	63.9658	66.0080	67.0442	65,649±1,386 ^a
	63.7566	66.0593	67.0442	
	63.9648	66.0070	66.9918	
5	66.5286	66.2167	66.4758	66,384±0,121 ^b
	66.4240	66.2686	66.4235	
	66.4245	66.2686	66.4235	
10	66.4763	66.5789	66.8923	66,649±0,191 ^c
	66.5276	66.5271	66.8923	
	66.4240	66.5271	66.8923	
Rerata	65,509±1,338 ^a	66,242±0,220 ^b	66,773±0,282 ^c	

Keterangan: ^{abc} Superskrip yang berbeda pada baris dan kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Aktivitas antioksidan pada produk susu fermentasi juga berasal dari bakteri asam laktat yang digunakan. Kappa (κ)-kasein yang merupakan bagian peptida bioaktif pada susu memiliki kemampuan sebagai *radical scavenging* (Kudoh *et al.*, 2001). Selain itu, memiliki juga aktivitas antioksidan yang tinggi menggunakan radikal DPPH pada susu yang difermentasi menggunakan bakteri asam laktat *Lactobacillus delbrueckii* ssp *bulgaricus* (Osuntoki and Korie, 2010). Hasil penelitian Marya *et al.*, (2017) kombinasi *L. plantarum* Dad 13, *L. lactis* dan *S. cerevisiae* memiliki aktivitas antioksidan terbaik.

Hasil yang diperoleh didalam penelitian ini, terlihat bahwa aktivitas antioksidan saat proses inkubasi menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) untuk masing-masing waktu inkubasi. Selain itu, memberikan aktivitas antioksidan sebesar $65,649 \pm 1,38$ dan terdapat sedikit peningkatan pada akhir waktu inkubasi, yaitu sebesar $66,649 \pm 0,19$. Hal ini juga terjadi pada waktu aging menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) untuk masing-masing waktu aging, yaitu $65,509 \pm 1,338$ (pada awal waktu aging) dan $66,773 \pm 0,28$ (pada akhir waktu aging). Hasil yang diperoleh sejalan dengan Monajjemi *et al.*, (2012) dan Virtanen *et al.*, (2007) bahwa nilai aktivitas antiosidan pada hidrolisat protein susu yang berasal dari susu skim yang difermentasi menggunakan bakteri asam laktat menunjukkan peningkatan dengan semakin meningkatnya waktu fermentasi. Peneliti lainnya menjelaskan bahwa waktu fermentasi yang semakin lama akan menghasilkan aktivitas antioksidan yang semakin tinggi (Chang *et al.*, 2007)

Kesimpulan

Viabilitas bakteri asam laktat pada es krim dengan penambahan bakteri asam laktat *L. plantarum* dad 13 lebih dipengaruhi oleh nilai pH selama proses aging berlangsung, dan terdapat interaksi antara lama waktu inkubasi dan lama waktu aging terhadap viabilitas bakteri asam laktat *L. plantarum* dad 13 didalam es krim, demikian pula terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada lembaga penelitian dan pengabdian kepada

masyarakat PNPB Universitas Mataram yang telah memfasilitasi dalam pendanaan penelitian ini.

Referensi

- Afiati, F., Yopi, & Rarah R.A.M. (2014). Pemanfaatan Bakteri Probiotik Indigenus dalam Pembuatan Keju Lunak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 25(1): 7-15.
- Ambri, K., Kusnadi, J., & Putri, W.D.R., (2009). Studi Pertumbuhan Bakteri asam Laktat (BAL) dari Dadih dalam Es Krim Sebagai Pangan Probiotik. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 10(1): 1-9.
- AOAC. (1997). Official Methods of Analysis. 15th Edition. Arlington, Virginia.
- Badan Standarisasi Nasional (BSN). SNI 01-3713-1995. Es Krim. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Bahow, G., Yelnetty, A., Tamasoleng, M., & Pontoh, W.J.H., (2016). Karakteristik Es Krim Menggunakan Starter Bakteri Probiotik *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus acidophilus*. *Jurnal Zootek ("Zootek" Journal)*. 36(1): 69 –76.
- Budiyanto, M.A.K. (2002). Mikrobiologi Terapan. Malang. Malang: UMM Press
- Chang, S.K.C., Xu, B.J., & Yuan, S.H. (2007). Comparative Analyses of Phenolic Composition, Antioxidant Capacity, and Color of Cool Season Legumes and Other Selected Food Legumes. *Journal of Food Science*, 72(2): 167-177.
- Cota, A., & Stanila, A. (2013). Study on Probiotic Ice Cream. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*. 70(1): 38-44.
- Damin, M. R. *et al.* (2009) 'Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt', *LWT - Food Science and Technology*, 42(10), pp. 1744–1750. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.019>.
- El- Shafei, K., Jihan, M.K., El-Sayed, H.S., Ibrahim, A., Assem, F. M., Badawy, H., & Sharaf, O. M. (2018). Preparation and evaluation of functional fermented ice

- cream containing low calorie sugars produced by lactic acid bacteria. *Current Science International*. 07: 47-59.
- Gjorgievski, N. *et al.* (2013) 'Determination of The Antioxidant Activity in Yogurt', *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 8 (December 2015), pp. 88–91.
- Halsted C. H. (2003). Dietary supplements and functional foods: 2 sides of a coin? *The American journal of clinical nutrition*, 77(4 Suppl), 1001S–1007S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.4.1001S>
- Harmayani E., Utami, T., Rahayu, E.S., & Kasmianti (2003). Production of Low Lactose Yogurt Using Indigenous Lactic Acid Bacteria. *Proceeding International Conference on Functional and Health Foods: Market, Technology and Health Benefit*. T-05, 48-56.
- Joung, J.Y., Lee, J.Y., Ha, Y.S., Shin, Y.K., Kim, Y., Kim, S.H., & Oh, N.S. (2016). Enhanced Microbial, Functional and Sensory Properties of Herbal Yogurt Fermented with Korean Traditional Plant Extracts. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36 (1): 90-99.
- Kim, W. J. (1993) 'Bacteriocins of lactic acid bacteria: Their potentials as food biopreservative', *Food Reviews International*. Taylor & Francis, 9(2), pp. 299–313. doi: 10.1080/87559129309540961.
- Kudoh, Y., S. Matsuda, K. Igoshi, & T. Oki (2001). Antioxidative peptide from milk fermented with *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* IFO13953. *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi* 48:44–55.
- Legowo A.M., Santosa U, Adnan M, Al-Baarril AN, Nurwantoro I, Sabhara F, & Daniyati H. (2006). Profil asam lemak yoghurt susu sapi dan susu kambing. Bandung: Graha Ilmu
- Marya, D. T. *et al.* (2017) 'Characterization and antioxidant activity of fermented milk produced with a starter combination', *Pakistan Journal of Nutrition*, 16(6), pp. 451–456. doi: 10.3923/pjn.2017.451.456.
- Meidistria, T., Sembiring, R.L., Rahayu, E.S., Haedar, N., & Dwyana, Z. (2020). Survival of *Lactobacillus plantarum* dad 13 in probiotic cheese making. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 575 (2020) 012020
- Mohammadi, R., Mortazavian, A.M., Khosrokhavar, R., & Gomes da Cruz, A. (2011). Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties. *Ann Microbiol*. 61: 411–424.
- Monajjemi, M. *et al.* (2012) 'Nano study of antioxidant activities of fermented soy whey prepared with lactic acid bacteria and kefir', *African journal of microbiology research*, 6, pp. 426–430. doi: 10.5897/AJMR11.1249.
- Naidu, A. S., Bidlack, W. R. & Clemens, R. A. (1999) 'Probiotic Spectra of Lactic Acid Bacteria (LAB)', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Taylor & Francis, 39(1), pp. 13–126. doi: 10.1080/10408699991279187.
- Namiki, M. (1990) 'Antioxidants/antimutagens in food', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Taylor & Francis, 29(4), pp. 273–300. doi: 10.1080/10408399009527528.
- Osuntoki, A. & Korie, I. (2010) 'Antioxidant Activity of Whey from Milk Fermented with *Lactobacillus* Species Isolated from Nigerian Fermented Foods', *Food Technology and Biotechnology*, 48, pp. 505–511.
- Rotar, A. *et al.* (2015) 'Effect of Goji Berries and Honey on Lactic Acid Bacteria Viability and Shelf Life Stability of Yoghurt', *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. doi: 10.15835/nbha4319814.
- Shah, N. P. (2000) 'Effects of milk-derived bioactives: an overview', *British Journal of Nutrition*. 2007/03/09. Cambridge University Press, 84(S1), pp. 3–10. doi: DOI: 10.1017/S000711450000218X.
- Shuler, M. L & F. Kargi (1992). *Bioprocess Engineering: basic Concepts*. Prentice Hall. Englewood-Clifts, New Jersey
- Sumaryati, B.T., Utami, T., & Suparmo (2009). The effects of *Escherichia coli* Infection and *Lactobacillus* sp. Dad 13 to Wistar rats fecal microbiota. *Agritech*, 29 (1): 165-170.
- Tari, A.I.N., Handayani, C.B., & Sudarmi (2016). Potensi Probiotik Indigenous *Lactobacillus plantarum* Dad 13 pada

- Yogurt dengan Suplementasi Ekstrak Ubi Jalar Ungu untuk Penurun Diare dan Radikal Bebas. *Agritech*, 36(1): 7-14.
- Utami, T., Kasmianti, Harmayani, E., & Rahayu, E.S. (2009). Influence of Bile on Lactobacilli Viability and ability to reduce Lactose in MRSB broth. *Prosiding seminar "Lactic acid bacteria and culture collection, Yogyakarta, 88-94. ISBN: 978-979-19546-0-0.*
- Vardar, N. & Öksüz, Ö. (2007) 'Artisan strawberry ice cream made with supplementation of Lactococci or Lactobacillus acidophilus', *Italian Journal of Food Science*, 19, pp. 403–412.
- Virtanen, T., Pihlanto, A., Akkanen, S., & Korhonen, H. (2007). Development of Antioxidant Activity in Milk Whey During Fermentation with Lactic Acid Bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 102:106-115.
- VUYST, L. DE & VANDAMME, E. J. (1994) *Lactic Acid Bacteria and Bacteriocins, Lactic Acid Bacteria.*
- Wulandani, B. R. D. *et al.* (2017) 'Aktivitas Antioksidan dan Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitor oleh Yogurt dengan Ekstrak Daun Ficus glomerata Roxb Antioxidant activity and Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitor of Yogurt with Ficus glomerata Roxb Leaf Extract', *Agritech*, 37(3), pp. 246–255.
- Wulandani, B. R. D. *et al.* (2018) 'Potency of yogurt as angiotensin converting enzyme inhibitor with addition of Ficus glomerata Roxb fruit extract', *International Food Research Journal*, 25(3), pp. 1153–1158