

# PENGARUH SUPLEMENTASI TEPUNG TERIGU TERHADAP PERTUMBUHAN DAN LAJU PENGASAMAN PROBIOTIK *Lactobacillus acidophilus*

## EFFECT OF THE WHEAT FLOUR SUPPLEMENTATION ON PROBIOTIC *Lactobacillus acidophilus* GROWTH AND ACIDIFICATION RATE

Elmy Mariana <sup>1\*)</sup> dan Hilda Susanti <sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh - 23111, Indonesia

<sup>2)</sup> Fakultas Peternakan, Universitas Andalas, Kampus Limau Manis, Padang- 25136, Indonesia

<sup>\*)</sup>email: elmy\_mariana2002@yahoo.com

### ABSTRACT

*This study aimed to determine the effect of the addition of wheat flour as a potential prebiotic on growth and acidification rate of probiotic Lactobacillus acidophilus (L. acidophilus) in fermented milk. The study was conducted by adding the flour with concentrations 1, 3 and 5% in the fermentation medium with 15% skim milk. Observed growth parameters including the total number of probiotic bacteria, decreasing pH and increasing acidity during the fermentation process. The results showed that the addition of wheat flour speed up the fermentation time, accelerate the process of decline in pH, increasing the acidity and increase the total number of probiotic bacteria. This study shows that wheat flour supplemented in fermented milk could enhance the growth characteristics of probiotics L. acidophilus.*

**Keywords:** probiotics, *L. acidophilus*, growth, wheat flour

### PENDAHULUAN

*Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) merupakan salah satu strain bakteri asam laktat yang telah banyak dimanfaatkan sebagai probiotik (Holzaspfel dan Schillinger, 2001; Hattingh dan Viljoen, 2001). Kemampuan *L. acidophilus* untuk tumbuh di dalam sistem pencernaan dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik dan memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam sistem pencernaan sehingga dapat dimanfaatkan untuk menjaga kesehatan tubuh (Gaon *et al.*, 2002; Sanders dan Klaenhammert, 2001). Potensi ini menyebabkan *L. acidophilus* digunakan sebagai probiotik (Hattingh dan Viljoen, 2001; Mortazavian dan Sohrabvandi, 2006; Sanders dan Klaenhammert, 2001.).

Bakteri yang berpotensi sebagai probiotik banyak digunakan pada proses pembuatan makanan fungsional berbasis susu, salah satunya adalah susu probiotik (Li *et al.*, 2012). Namun demikian viabilitas probiotik selama proses fermentasi, penyimpanan dan dalam sistem pencernaan menghadapi beberapa kendala diantaranya keberadaan pH yang rendah, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, bahan beracun, kondisi anaerob, garam empedu (*bile salt*), dan kompetisi dengan bakteri lain. Untuk mengatasi kendala tersebut dan untuk meningkatkan viabilitas probiotik dilakukan penambahan prebiotik (Li *et al.*, 2012; Ouwehand, *et al.*, 2001; Shah, 2000; Shah, 2001).

Prebiotik merupakan bahan pangan yang mampu memacu pertumbuhan probiotik karena sifat spesifiknya

yang tidak terserap dan terhidrolisis pada sistem pencernaan bagian atas atau saluran gastrointestinal, dapat menstimulasi pertumbuhan bakteri yang menguntungkan dan secara selektif dapat menghambat pertumbuhan patogen (Gaon *et al.*, 2002; Shah, 2001). Salah satu bahan pangan yang diduga dapat berperan sebagai prebiotik adalah tepung terigu. Kemampuan ini didasarkan pada kandungan serat kasar, selulosa, maltosa dan *Soluble Dietary Fiber* (SDF) pada tepung terigu secara berturut-turut adalah 0,45-0,65%; 2,05-2,30%; 0,69-0,87% dan 7,56-7,62%. Menurut Nines (1999) kandungan serat kasar khususnya SDF merupakan komponen penciri utama bahan prebiotik. SDF, *Resistant starch*, pentosan dan oligosakarida merupakan bahan makanan yang tidak terdigesti dalam saluran pencernaan atas sehingga dapat dimanfaatkan oleh beberapa bakteri probiotik (Gaon *et al.*, 2002; Shah, 2001; Vlieg *et al.*, 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi tepung terigu sebagai prebiotik. Dengan penelitian ini diharapkan diketahui pengaruh suplementasi tepung terigu terhadap pertumbuhan probiotik, penurunan pH dan tingkat keasaman selama fermentasi.

### METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Lactobacillus acidophilus* NFCC 0051, susu bubuk skim, tepung terigu, MRS *broth* (Oxoid),

agar MRS (Oxoid), *bromocresol purple*, akuades, *buffer* pencuci, larutan resuspensi sel dan bahan kimia untuk analisis keasaman setara asam laktat. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sentrifus, inkubator, autoklaf, *laminar air flow*, mikroskop, dan peralatan mikrobiologi lain.

## B. Prosedur Penelitian

### 1. Penyiapan Kultur Starter Probiotik

Penyiapan kultur starter *L. acidophilus* menggunakan metode dari Ouwehand *et al.* (2001). Penumbuhan dilakukan pada medium MRS broth dengan pH 6,7. Preparat kemudian diinkubasi dalam kondisi mikroaerobik selama 24 jam dengan suhu 37°C. Bakteri yang tumbuh dipanen dengan cara sentrifugasi 3000 rpm selama 20 menit. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang dan sel yang tertinggal dicuci dengan *buffer* pencuci ( 8,6 g NaCl; 0,025 mg MgSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O dalam 1 liter *buffer* fosfat pH 7). Resuspensi sel dilakukan dengan menambahkan 10 ml larutan resuspensi (8,5 g NaCl; 0,3 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,6 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 0,1g *bactopepton* dalam 1 liter *buffer* fosfat pH 7 steril) kemudian dihomogenkan (Ouwehand *et al.*, 2001). Biomassa sel yang telah diresuspensi ini digunakan untuk uji kemampuan fermentasi karbohidrat dan analisis pertumbuhan sel.

### 2. Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui kemampuan *L. acidophilus* dalam memfermentasi sumber karbohidrat yang berupa tepung terigu. Pengujian dilakukan dengan cara menumbuhkan *L. acidophilus* dalam larutan steril tepung terigu 1, 3 dan 5% yang ditambah indikator *Bromocresol purple* 0,1% dalam kondisi mikroaerobik selama 48 jam pada suhu 37°C.

### 3. Pertumbuhan Bakteri

Pada analisis pertumbuhan bakteri, *L. acidophilus* ditumbuhkan pada larutan susu bubuk skim dengan konsentrasi 15% dengan suplementasi tepung terigu sebesar 1, 3 dan 5%. Pada medium fermentasi ditambahkan 3 tetes *Bromocresol purple* 0,1% sebagai indikator pertumbuhan bakteri asam laktat. Parameter pertumbuhan yang diamati adalah perubahan warna medium, penurunan pH, peningkatan keasaman setara asam laktat dan jumlah total bakteri probiotik. Pengukuran penurunan pH dilakukan dengan pH meter. Pengukuran keasaman setara asam laktat menggunakan metode *Mann Acid Test*. Penghitungan jumlah bakteri probiotik dilakukan dengan metode *pour*

*plate* menggunakan medium agar M-MRS.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Uji Pendahuluan

Analisis pendahuluan dilakukan untuk mendapatkan gambaran awal potensi prebiotik dari tepung terigu. Dari hasil uji pendahuluan diketahui bahwa *L. acidophilus* dapat memfermentasi tepung terigu sebagai sumber energinya. Berdasarkan tipe fermentasinya, *L. acidophilus* diklasifikasikan sebagai bakteri homofermentatif. Tipe homofermentatif menggunakan jalur heksosa difosfat dan menghasilkan asam laktat dari glukosa (Salovaara, 1998; Tamime, 1990).

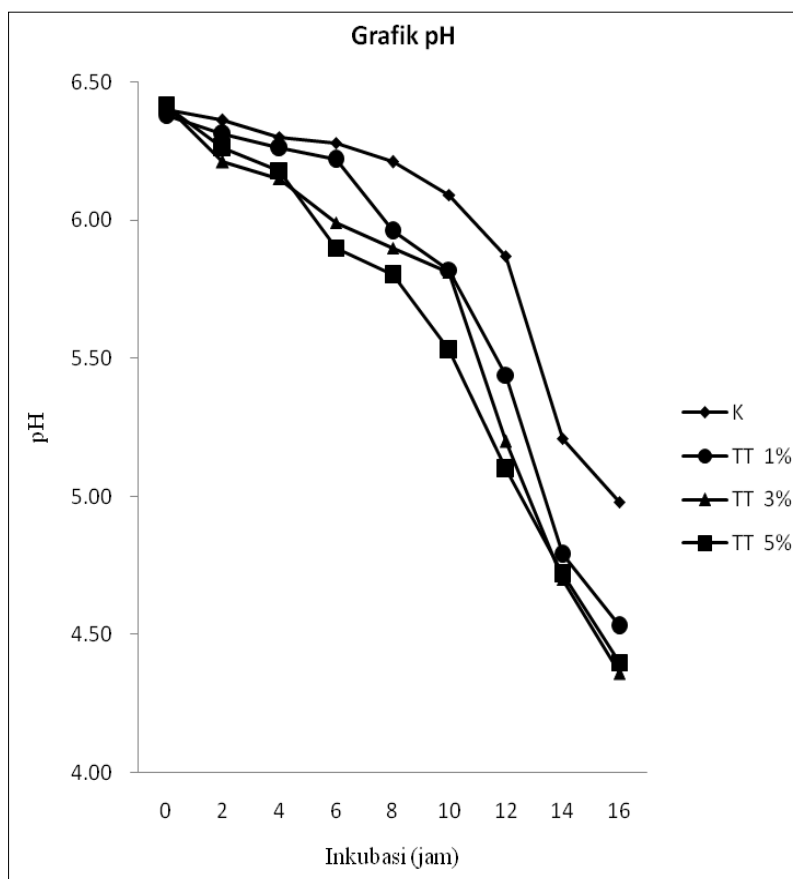
Terjadinya proses fermentasi ditandai dengan adanya perubahan warna medium dari ungu menjadi kuning. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning merupakan tanda terbentuknya asam dalam medium sebagai akibat aktivitas metabolisme karbohidrat oleh bakteri. Hasil uji pendahuluan memberikan gambaran awal potensi tepung terigu sebagai prebiotik. Hal ini bisa dilihat dari kandungan bahan yang terkait karakter prebiotik seperti kadar serat kasar, selulosa, fruktosa, maltosa dan SDF dalam tepung terigu. Kandungan serat kasar, selulosa, maltosa dan SDF tepung terigu secara berturut-turut adalah 0,45-0,65%; 2,05-2,30%; 0,69-0,87% dan 7,56-7,62%. Menurut Holzaspfel dan Schillinger (2001) dan Niness (1999), kandungan serat kasar khususnya SDF merupakan komponen penciri utama bahan prebiotik. Kandungan SDF sebesar 0.5% mampu meningkatkan viabilitas probiotik. Kandungan bahan prebiotik yang cukup tinggi khususnya SDF pada tepung terigu ini mengindikasikan bahwa tepung terigu memiliki potensi yang tinggi sebagai prebiotik.

### B. Bilangan Asam (mg KOH/ gram)

Parameter yang digunakan sebagai pengukur tingkat pertumbuhan probiotik meliputi perubahan warna medium fermentasi, perubahan nilai pH, keasaman setara asam laktat dan total bakteri probiotik.

### C. Nilai pH

Penurunan pH merupakan salah satu indikator dari pertumbuhan bakteri (Salle, 1982). Bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat dalam jumlah besar selama proses metabolismenya sehingga peningkatan konsentrasi asam laktat dalam medium dan menyebabkan penurunan pH (Saccaro *et al.*, 2012; Salle, 1982). Penurunan nilai pH pada uji pertumbuhan *L. acidophilus* selama proses fermentasi terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik penurunan pH pada fermentasi susu dengan suplementasi tepung terigu 1, 3 dan 5%.

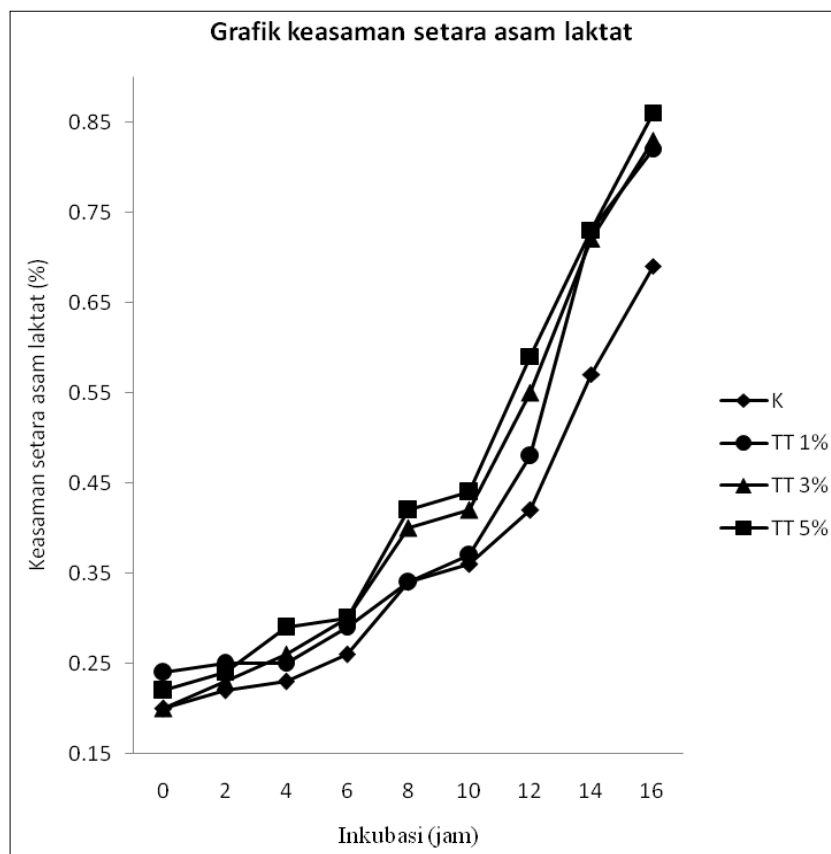
Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa selama proses inkubasi terjadi penurunan nilai pH medium. Penurunan nilai pH baik pada kontrol maupun medium susu dengan suplementasi tepung terigu sebesar 1, 3 dan 5% menunjukkan adanya aktifitas pertumbuhan bakteri probiotik *L. acidophilus*. Penurunan pH menunjukkan adanya proses fermentasi selama waktu inkubasi. Suplementasi tepung terigu dengan kadar yang lebih tinggi tidak dapat mempercepat proses penurunan pH pada medium fermentasi. Hal ini disebabkan karena kandungan protein terlarut dalam medium fermentasi memberikan pengaruh sebagai *buffer capacity* (Saccaro *et al.*, 2012; Shafiee *et al.*, 2010). Penurunan pH tercepat terjadi pada 8 sampai 10 jam pertama. Hal ini disebabkan karena pertumbuhan bakteri dalam fase eksponensial. Selama fase eksponensial bakteri mengalami pembelahan sel dengan kecepatan maksimal. Kebutuhan energi pada fase ini cukup tinggi sehingga banyak laktosa dan sumber karbohidrat lain yang difermentasi (Salle, 1982; Shafiee *et al.*, 2010). Pemecahan laktosa dan sumber karbohidrat lain ini menghasilkan asam terutama asam laktat. Terbentuknya asam laktat pada proses fermentasi menyebabkan susu menjadi asam dan mengalami penurunan pH (Salle, 1982; Tamime *et al.*, 2005).

#### D. Keasaman Setara Asam Laktat

Peningkatan keasaman setara asam laktat selama proses fermentasi menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri (Tamime *et al.*, 2005; Tamime, 1990). Karakteristik peningkatan keasaman setara asam laktat selama proses fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan keasaman setara asam laktat selama proses fermentasi berlangsung. Hal ini disebabkan karena dalam metabolismenya, *L. acidophilus* menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir (Korbekandi *et al.*, 2009). Peningkatan keasaman setara asam laktat berada dalam kisaran 0,20 sampai 0,98%. Suplementasi tepung terigu sebesar 1, 3 dan 5% dapat mempercepat peningkatan keasaman setara asam laktat pada fermentasi dengan menggunakan *L. acidophilus*.

Peningkatan konsentrasi tepung terigu yang disuplementasikan pada susu skim berbanding lurus dengan peningkatan keasaman setara asam laktat selama inkubasi. Hal ini disebabkan karena suplementasi tepung terigu pada susu meningkatkan kandungan karbohidrat dan protein. Tamime (1990)



Gambar 2. Grafik peningkatan keasaman setara asam laktat pada fermentasi susu dengan suplementasi tepung terigu 1, 3 dan 5%.

menyatakan bahwa tingginya produksi asam laktat berhubungan dengan tingginya kadar laktosa dan juga berhubungan dengan naiknya konsentrasi nutrisi bakteri. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian dari Santo *et al.* (2012) dan Shafiee *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa konsentrasi bahan kering dalam fermentasi berbanding lurus dengan kecepatan dan konsentrasi asam yang terbentuk pada proses fermentasi susu. Konsentrasi laktosa dapat menurun karena adanya hidrolisis laktosa oleh laktase dan diubah menjadi glukosa dan galaktosa seiring dengan proses pembentukan asam laktat dalam medium fermentasi susu (Santo *et al.*, 2012; Shafiee *et al.*, 2010). Kecepatan terbentuknya asam laktat tergantung pada jumlah bakteri yang berada dalam susu, semakin banyak jumlah bakteri dalam susu maka semakin cepat akumulasi asam laktat yang terbentuk (Santo *et al.*, 2012; Mortazavian dan Sohrabvandi, 2006).

#### E. Jumlah Total Bakteri *L. acidophilus*

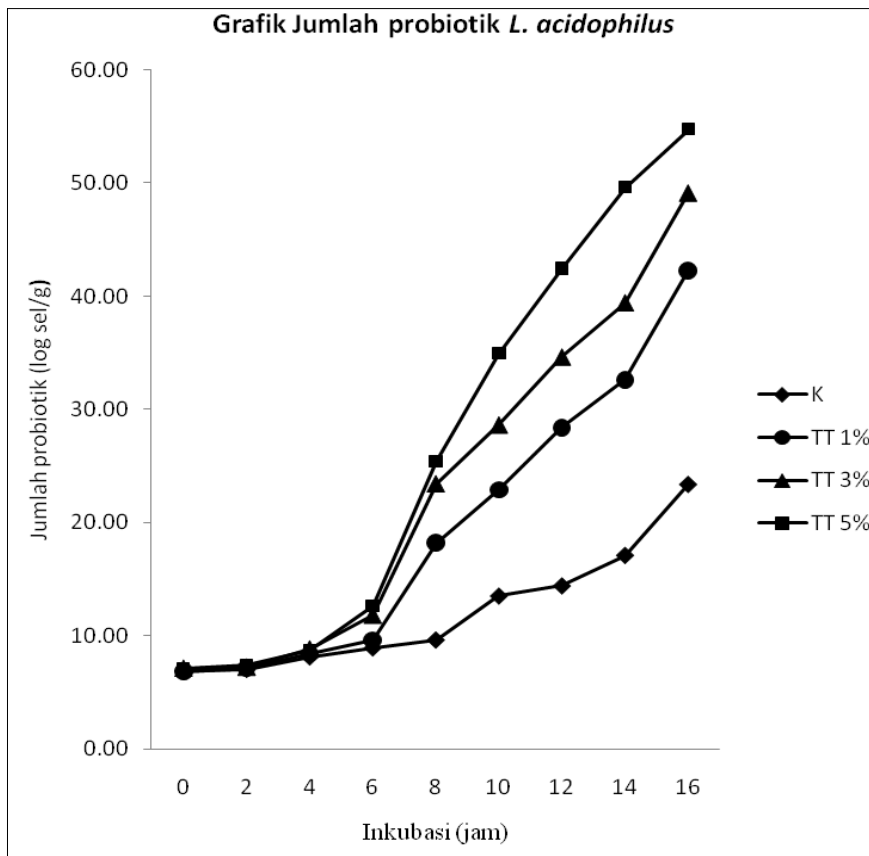
Selama proses fermentasi terjadi peningkatan jumlah bakteri. Peningkatan jumlah bakteri probiotik *L. acidophilus* ditunjukkan oleh Gambar 3. Suplementasi tepung terigu sebesar 1, 3 dan 5% dapat memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah bakteri pada

fermentasi dengan menggunakan *L. acidophilus*.

Rerata peningkatan jumlah sel paling cepat terjadi pada inkubasi jam ke 8 sampai jam ke 16. hal ini menunjukkan bahwa pada waktu inkubasi tersebut pertumbuhan sel terjadi secara optimal atau bakteri berada pada fase eksponensial. Pada fase eksponensial pertumbuhan bakteri berjalan sangat cepat sesuai dengan persamaan garis linear jika pada fase ini kecukupan nutrisi untuk pertumbuhan terpenuhi (Salle, 1982).

Pada suplementasi tepung terigu dengan konsentrasi yang lebih tinggi menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel bakteri. Hal ini disebabkan karena pada suplementasi tepung terigu pada konsentrasi yang tinggi ketersediaan sumber karbon dan sumber nitrogen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tersedia lebih banyak (Salle, 1982; Shah, 2001).

Suplementasi tepung terigu juga meningkatkan kandungan serat kasar, selulosa, fruktosa, maltosa dan SDF dalam medium yang dibutuhkan untuk pertumbuhan probiotik (Niness, 1999; Salovaara, 1998). Disamping itu suplementasi tepung terigu dengan kadar yang lebih tinggi menyebabkan kestabilan pH pada



Gambar 3. Grafik peningkatan jumlah bakteri probiotik *L. acidophilus* pada fermentasi susu dengan suplementasi tepung terigu 1, 3 dan 5%.

medium fermentasi sehingga proses penurunan pH lebih lambat. Hal ini sesuai dengan pendapat Salovaara (1998) yang menyatakan bahwa protein dan beberapa mineral memiliki kemampuan *buffer capacity* yang tinggi. Pada kondisi pH yang stabil pertumbuhan bakteri asam laktat lebih optimal karena terhindar dari adanya *acidity shock* (Santo *et al.*, 2012).

### KESIMPULAN

Hasil analisis pertumbuhan probiotik *L. acidophilus* pada fermentasi dengan medium susu skim 15% menunjukkan bahwa disuplementasi dengan tepung terigu memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri tersebut. Suplementasi tepung terigu tidak menyebabkan perbedaan penurunan nilai pH tetapi berpengaruh pada keasaman setara asam laktat dan jumlah total bakteri probiotik. Ini menunjukkan bahwa tepung terigu yang disuplementasikan pada fermentasi susu dapat meningkatkan karakteristik pertumbuhan probiotik *L. acidophilus*.

### DAFTAR PUSTAKA

- Gaon, D., C. Garmendia, N. O. Murrielo, A. D. C. Games, A. Cerchio, R. Quintas, S. N. Gonzalez dan G. Oliver, 2002. Effect of Lactobacillus Strains (*L. Casei* and *L. Acidophilus* Strains Cerela) on Bacterial Over Growth-Related Chronic Diarrhea. *Medicina* 62: 159-163.
- Hattingh, A. L. V. L. dan B. Viljoen, 2001. Yoghurt as a Probiotic Carrier Food. *International Dairy Journal* 11: 1-17.
- Holzaspfel, W. H. dan U. Schillinger, 2001. Introduction to Pre- and Probiotics. *Food Research International* 35: 109-16.
- Korbekandi, H., A. M. Mortazavian dan S. Irvani, 2009. Technology and Stability of Probiotic in Fermented Milks. In: Shah N (ed). *Probiotic and Prebiotic Foods: Technology, Stability and Benefits to The Human Health*. Blackwell Publishing Ltd. UK.

- Li, S., H. Walsh, S. Gokavi dan M. Guo, 2012. Interactions between *Lactobacillus acidophilus* Strains and The Starter Cultures, *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* During Fermentation of Goats' Milk. *African Journal of Biotechnology* 11(51): 11271-11279.
- Mortazavian, A. M. dan S. Sohrabvandi, 2006. Probiotics and Food Probiotic Products; Based on Dairy Probiotic Products. In: Mortazavian AM (ed). *Technological Aspects of Probiotic Fermented Milk Products*. Eta Publication: Iran.
- Niness, K. 1999. Breakfast Foods and The Health Benefits of Inulin and Oligofructose. *Cereal Foods Worlds* 43(1):79-81.
- Ouwehand, A. C., S. Tolkkö dan S. Saminen, 2001. The Effect of Digestive Enzymes on The Adhesion of Probiotic Bacteria In Vitro. *Journal of Food Science* 66: 856-859.
- Saccaro, D. M., C. Y. Hirota, A.Y. Tamime dan M. N. de Oliveira, 2012. Evaluation of Different Selective Media for Enumeration of Probiotic Micro-Organisms in Combination with Yogurt Starter Cultures in Fermented Milk. *African Journal of Microbiology Research* 6(10): 2239-2245
- Salle, A. J., 1982. *Fundamental Principles of Bacteriology* 5<sup>ed</sup>. Mc Grawhil Book Co. Inc., New York.
- Salovaara, H., 1998. *Lactic Acid Bacteria in Cereal Based Products*. Mc Grawhil Book Co. Inc., New York.
- Sanders, M. E. Dan T. R. Klaenhammert, 2001. Invited Review: The Scientific Basic of *Lactobacillus acidophilus* NFCM Functional as Probiotic. *Journal Dairy Science* 84: 319-331.
- Santo, A. P. D. E., N. S. Cartolano, T. F. Silva, F. A. S. M. Soares, L. A. Gioielli, P. Perego, A. Converti dan M. N. Oliveira, 2012. Fibers from Fruit by-Products Enhance Probiotic Viability and Fatty Acid Profile and Increase CLA Content in Yoghurts. *International Journal of Food Microbiology* 154: 135-144.
- Shafiee, G., M. Mortazavian, M. A. Mohammadifar, M. R. Koushki, A. Mohammadi dan R. Mohammadi, 2010. Combined Effects of Dry Matter Content, Incubation Temperature and Final pH of Fermentation on Biochemical and Microbiological Characteristics of Probiotic Fermented Milk. *African Journal of Microbiology Research* 4(12): 1265-1274.
- Shah, N. P., 2000. Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. *Journal of Dairy Science* 83: 894-907.
- Shah, N.P., 2001. Functional Foods from Probiotics and Prebiotics. *Food Technology* 55: 46-53.
- Tamime, A. Y., M. Saarela, A. K. Sondergaard, V. V. Mistry dan N. P. Shah, 2005. Production and Maintenance of Viability Probiotics Microorganism in Dairy Products. In: Tamime, A. Y. (ed). *Probiotic Dairy Products*. Blackwell Publishing Ltd: UK.
- Tamime, A. Y., 1990. Microbiology of Starter Cultures. Dalam: R. K. Robinson. *Dairy Microbiology* vol 2. Elsevier Applied Science, New York.
- Vlieg, J. E. T. V. H., P. Veiga, C. Zhang, M. Derrien dan L. Zhao, 2011. Impact of Microbial Transformation of Food on Health— from Fermented Foods to Fermentation in the Gastro-Intestinal Tract, *Curr Opin Biotechnol*.