

JURNAL

**VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (*Lactobacillus plantarum* Dad 13)
DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN YOGHURT DENGAN PENAMBAHAN
JUS DELIMA MERAH (*Punica granatum L*)**



Oleh :

**Jihan Fadhilah
B1D019120**

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM
2023**

JURNAL

**VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (*Lactobacillus plantarum* Dad 13)
DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN YOGHURT DENGAN PENAMBAHAN
JUS DELIMA MERAH (*Punica granatum* L)**


PUBLIKASI ILMIAH

Oleh :

**Jihan Fadhilah
B1D019120**

Menyetujui :

Pembimbing Utama



**Dr. Baiq Rani Dewi Wulandani, S.Pt, M.Si
NIP. 19780323 200312 2003**

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS MATARAM
MATARAM
2023**

**VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (*Lactobacillus plantarum* Dad 13)
DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN YOGHURT DENGAN PENAMBAHAN
JUS DELIMA MERAH (*Punica granatum* L)**

ABSTRAK

Penelitian ini mengkaji tentang viabilitas bakteri asam laktat (*L.plantarum* Dad 13) dan aktivitas antioksidan yoghurt dengan penambahan jus delima merah (*Punica granatum* L). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan jus delima pada yoghurt yang difermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum* Dad 13 terhadap viabilitas BAL dan aktivitas antioksidannya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan jus delima merah dengan konsentrasi berbeda tidak memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P>0,05$) terhadap viabilitas probiotik BAL pada penyimpanan suhu 4°C di lemari pendingin hari ke 0,7,14 dan 21. Kemudian penambahan jus delima dengan konsentrasi berbeda menunjukkan beda nyata ($P<0,05$) terhadap pH yoghurt pada penyimpanan hari ke 0,7 dan 14, sedangkan hasil uji di hari ke-21 tidak menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($P>0,05$). Pada hasil uji TTA (*Total Titratable Acidity*) penambahan jus delima tidak menunjukkan beda nyata ($P>0,05$) di penyimpanan hari ke 0 dan 7, sedangkan di penyimpanan ke 14 dan 21 menunjukkan hasil beda nyata ($p<0,05$). Aktivitas antioksidan pada yoghurt yang ditambahkan jus delima dengan konsentrasi berbeda dan diuji menggunakan nilai IC_{50} menunjukkan hasil beda nyata ($p<0,05$) di setiap penyimpanan hari ke 0,7, 14 dan 21. Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan konsentrasi di bawah 18% dengan maksimal penyimpanan 14 hari, sehingga mendapatkan yoghurt dengan manfaat dan kualitas yang memenuhi standar.

Kata kunci: *Yoghurt, Delima merah (Punica granatum L), Lactobacillus plantarum Dad 13, Viabilitas BAL, Aktivitas antioksidan*

***VIABILITY OF LACTIC ACID BACTERIA (Lactobacillus plantarum Dad 13)
AND ANTIOXIDANT ACTIVITY YOGURT WITH THE ADDITION OF RED
POMEGRANATE JUICE (Punica granatum L)***

ABSTRACT

This research examined the viability of lactic acid bacteria and the antioxidant activity of yogurt with the addition of red pomegranate juice. This research aims to determine the effect of adding red pomegranate juice to yogurt fermented using *Lactobacillus plantarum* Dad 13 on the viability of lactic acid bacteria and antioxidant activity. The results showed that the addition of red pomegranate juice with different concentrations had no significant effect ($P > 0,05$) on the viability of lactic acid bacteria at a storage temperature 4°C in the refrigerator on days 0, 7, 14, and 21. The addition of pomegranate juice with different concentrations showed a significant difference ($P < 0,05$) in the degree of acidity of the yogurt on storage days 0, 7, and 14, while the test results on day 21 showed no significant difference ($P > 0,05$). The results of the total titratable acidity test, the addition of pomegranate juice had no significant difference ($P > 0,05$) on storage days 0 and 7, while storage 14 and 21 showed a significant difference ($P < 0,05$). Antioxidant activity in yogurt added to pomegranate juice with different concentrations and tested using IC_{50} value showed significantly different results ($P < 0,05$) at each 0, 7, 14, and 21 days of storage. In the future research, it is recommended to use concentration below 18% with a maximum of 14-day storage. So we can get yogurt with benefits and quality that meets standards.

Key words: *Yogurt, Pomegranate (Punica granatum L), Lactobacillus plantarum Dad 13, Viability of lactic acid bacteria, Antioxidant activity*

PENDAHULUAN

Yoghurt umumnya dibuat dengan menggunakan dua jenis BAL yaitu *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* sebagai starter. Kedua BAL yang digunakan dalam pembuatan yoghurt ini tidak bisa hidup dalam lingkungan yang keasamannya sangat tinggi. Beberapa jenis BAL lainnya ada yang dapat bertahan dalam lingkungan dengan keasaman tinggi salah satunya adalah probiotik. *Lactobacillus plantarum* Dad 13 merupakan salah satu probiotik lokal yang telah berhasil di isolasi dari hasil fermentasi susu kerbau (dadih) dan dapat dimanfaatkan sebagai starter dalam pembuatan susu fermentasi. Strain ini relatif stabil pada pH 3,0 selama 3 jam (Utami dkk., 2009). Peningkatan sifat fungsional yoghurt dapat dilakukan dengan menambahkan ekstrak atau jus buah. salah satu buah yang memberikan efek fungsional pada yoghurt adalah buah delima merah (*Punica granatum L*). Pada penelitian yang dilakukan oleh (Golmakani dkk., 2021) penambahan konsentrasi 13% dan 17% buah delima merah pada yoghurt, aktivitas antioksidan meningkat seiring dengan nilai IC₅₀ yang menurun 2,2-2,6 dan 3,0-3,3 dibanding perlakuan kontrol. Penambahan jus delima tidak berpengaruh pada jumlah *L. bulgaricus*, tetapi berpengaruh terhadap jumlah *S. thermophilus* yang menurun secara signifikan. Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa penambahan jus delima merah (*Punica granatum L*) dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan tidak berpengaruh pada bakteri strain *Lactobacillus*. Maka dilakukan penelitian tentang viabilitas bakteri asam laktat dan aktivitas antioksidan yoghurt yang difermentasi menggunakan probiotik *Lactobacillus Plantarum* Dad 13 dengan penambahan

jus buah delima merah (*Punica granatum L*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas bakteri asam laktat dan aktivitas antioksidan pada yoghurt yang difermentasi menggunakan probiotik *L. plantarum* Dad 13 dengan penambahan jus delima merah (*Punica granatum L*).

MATERI DAN METODE

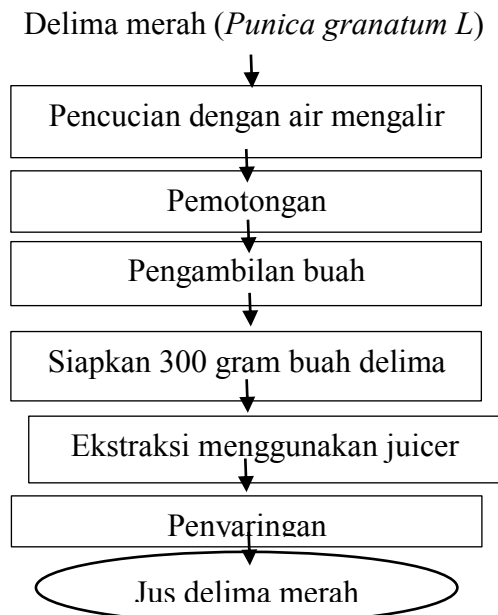
Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 18 Maret-18 April 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Pangan Fakultas Teknologi Pangan dan Agroindustri Universitas Mataram

Prosedur Kerja

Pembuatan Delima Merah

Pembuatan Jus Buah Delima (Ramadhani dan Suharyanto, 2020)



Gambar 1. Diagram alir pembuatan jus delima merah

Persiapan dan Perbanyakan Starter

Persiapan dan Perbanyakan Starter

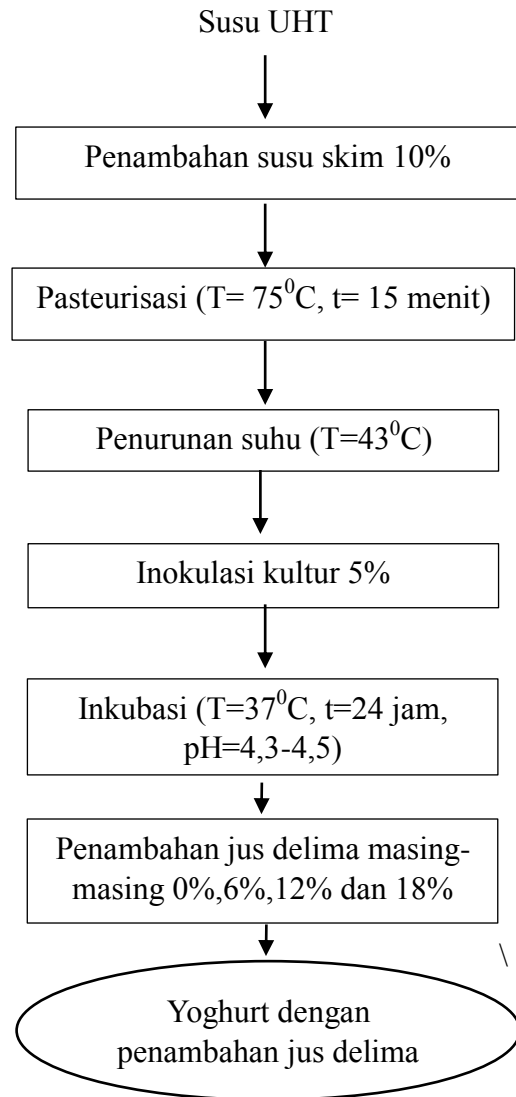
(Nizori dkk., 2008)

a. Pencampuran

Sebanyak 20% susu skim dicampurkan dengan 100 ml susu UHT kemudian diaduk sampai homogen. Penggunaan susu skim dan susu UHT pada pembuatan kultur induk karena bahan tersebut merupakan media optimum untuk pertumbuhan BAL.

- b. Pasteurisasi
Campuran susu skim dan susu UHT dipasteurisasi pada suhu 75°C selama 15 menit untuk mengurangi kontaminasi mikroorganisme
- c. Pendinginan
Dilakukan pendinginan atau penurunan suhu hingga mencapai 43°C dengan tujuan untuk memberikan suhu yang optimum untuk pertumbuhan BAL
- d. Inokulasi
Dinokulasikan kultur murni *Lactobacillus plantarum* Dad 13 sebanyak 5% ke dalam campuran susu skim dan susu UHT
- e. Inkubasi
Dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Proses inkubasi bertujuan untuk menumbuhkan kultur mikroba pada fase logaritmik.

Pembuatan Yoghurt



Gambar 2. Diagram alir pembuatan yoghurt

Uji Viabilitas Bakteri Asam Laktat

Pengujian kemampuan tumbuh pada garam dilakukan berdasarkan modifikasi Sunaryanto, (2014) dan Herawati (2016), sebagai berikut:

- a) Dipipet masing-masing sampel *yoghurt* sebanyak 1 ml diencerkan hingga pengenceran 10^{-8} .

- b) Dipipet 1 ml sampel dari pengenceran 10^{-8} kemudian diinokulasikan pada media MRSB steril yang mengandung garam empedu sebesar 1% (b/v)
- c) Kultur kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam
- d) Pada jam ke-0 dan ke-4 dilakukan perhitungan jumlah sel menggunakan metode *Total Plate Count* dengan medium MRSA secara *pour plate*.
- e) Dilakukan inkubasi selama 48 jam suhu 37°C
- f) Viabilitas dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Survival rate (\%)} = \frac{\text{Log N/Log N}_0 \times 100}{100}$$

Uji Derajat Keasaman (pH) dan Total Titratable Acidity (TTA)

Sampel (3 ml) dicampur dengan 3 ml dH_2O untuk pengukuran pH, sedangkan untuk perhitungan TTA selama proses penyimpanan yoghurt ditentukan dengan titrasi menggunakan NaOH 0,1N yaitu dengan cara : 1 ml yoghurt dimasukkan ke dalam 9 tabung Erlenmeyer yang diisi dengan 9 ml dH_2O . 3-5 tetes fenolftalein 0,1% kemudian ditambahkan sebagai indikator pH. NaOH (0,1 N) dititrasi ke dalam larutan dan larutan tercampur sempurna.

The amount of acid produced during storage could be determined by:

$$\begin{aligned} \% \text{ lactic acid} &= \text{dilution factor (10)} \\ &\times V_{\text{NaOH}} \times 0,1\text{N} \\ &\times 0,009 \times 100\% \end{aligned}$$

Uji Aktivitas Antioksidan

Metode pengujian aktivitas antioksidan menurut (Molyneux, 2004). Sebanyak 2 mL ekstrak yoghurt ditambahkan dengan 2 mL DPPH 0,1 μm . Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit di tempat

gelap, serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang 517 nm. Methanol digunakan sebagai blangko. Nilai persentasi inhibisi dihitung dengan rumus berikut:

$$\begin{aligned} \text{DPPH Inhibition percentage} \\ &= \frac{\text{Abs control 517} - \text{Abs extract 517}}{\text{Abs control 517}} \\ &\times 100 \end{aligned}$$

Korelasi antara setiap konsentrasi dan persentase penangkapan radikal bebas diplot dan nilai IC_{50} ditentukan menggunakan persamaan regresi linier $y=\mathbf{ax+b}$, dimana y adalah %inhibisi yang bernilai 50 dan x adalah konsentrasi sampel yang akan ditentukan nilai IC_{50} nya.

Analisis Data

Penelitian percobaan di Laboratorium dirancang berdasarkan rancangan acak lengkap (RAL) dengan dengan percobaan satu faktor yaitu faktor A terdiri dari 4 taraf perlakuan penambahan jus delima. Data hasil analisis keragaman (*Analysis of Variance*) pada taraf nyata 5% dengan menggunakan *SPSS*. Jika terdapat perlakuan yang berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjut menggunakan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) untuk setiap perlakuan (0%,6%,12% dan 18%) (Gomez dan Gomez, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Viabilitas Bakteri Asam Laktat

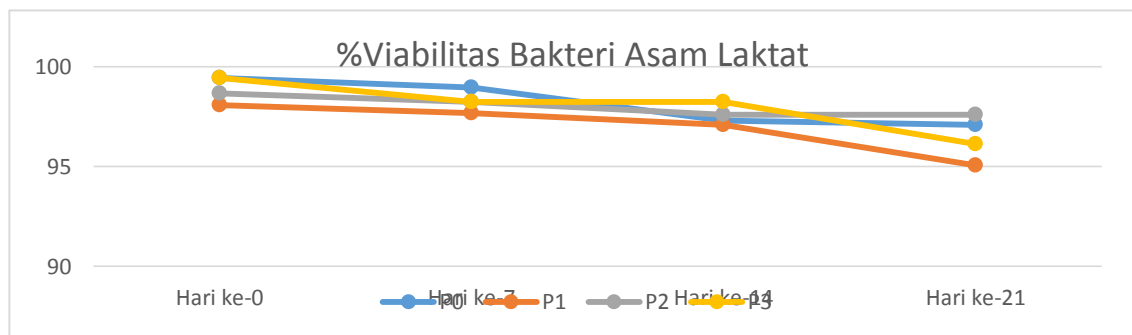
Viabilitas probiotik *L. plantarum* *Dad 13* pada media *oxgall* tidak berbeda nyata ($P>0,05$) hal ini menunjukkan probiotik *L. plantarum* *Dad 13* dapat bertahan pada media yang mengandung *oxgall*. Penambahan

jus delima pada yoghurt tidak memberikan dampak penurunan pada viabilitas probiotik *L.plantarum* Dad 13 Hasil viabilitas probiotik BAL

Tabel 1. Viabilitas Probiotik BAL (*L.Plantarum* Dad 13)

Perlakuan	Viabilitas probiotik BAL (<i>L.Plantarum</i> Dad 13)%			
	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
P0	99,43 ^a	98,96 ^a	97,30 ^a	97,07 ^a
P1	98,06 ^a	97,67 ^a	97,07 ^a	95,05 ^a
P2	98,66 ^a	98,24 ^a	97,6 ^a	97,58 ^a
P3	99,43 ^a	98,24 ^a	98,22 ^a	96,13 ^a

Keterangan: - Data merupakan nilai purata dari 3 ulangan
 - Angka-angka yang diikuti oleh huruf-huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada taraf 5%



Gambar 3. Viabilitas Probiotik BAL selama penyimpanan

Derajat Keasaman (pH) dan *Total Titratable Acidity* (TTA)

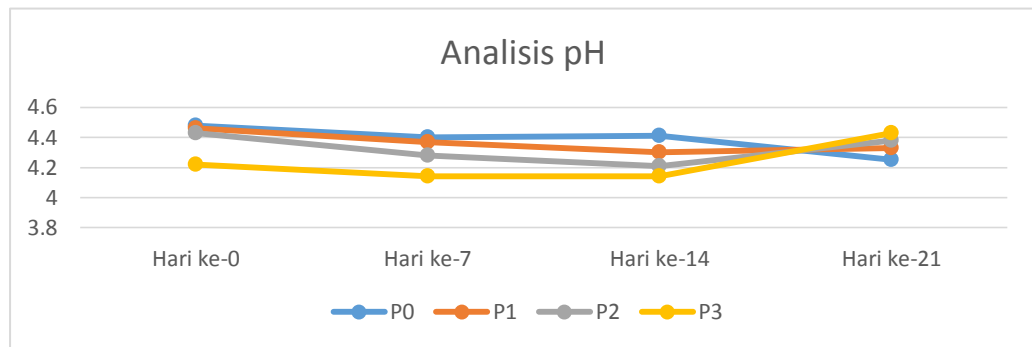
Tabel 2. Hasil Derajat Keasaman (pH)

Perlakuan	Derajat Keasaman (pH)			
	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
P0	4,48±0,05 ^b	4,40±0,04 ^b	4,41±0,12 ^b	4,25 ±0,12 ^a
P1	4,46 ±0,05 ^b	4,37 ±0,07 ^b	4,30 ±0,08 ^{a b}	4,33 ±0,05 ^a
P2	4,43 ±0,05 ^b	4,28±0,09 ^b	4,21 ±0,02 ^a	4,38 ±0,15 ^a
P3	4,22±0,03 ^a	4,14 ±0,02 ^a	4,14 ±0,05 ^a	4,43±0,01 ^a

Keterangan: - Data merupakan nilai purata dari 3 ulangan
 - Angka-angka yang diikuti oleh huruf-huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada taraf 5%

(Tabel 2) menunjukkan bahwa pada setiap perlakuan nilai Derajat Keasaman (pH) menurun seiring meningkatnya konsentrasi jus delima. Pada penyimpanan hari ke-0, P0, P1 dan P2 pH yoghurt tidak ada perubahan yang signifikan secara berturut-turut, 4,48, 4,46 dan 4,43. Sedangkan pada P3 terjadi penurunan signifikan dengan pH mencapai 4,22. Setelah dilakukan penyimpanan selama 21 hari, didapatkan perbedaan pada pH perlakuan kontrol dengan perlakuan yang ditambahkan jus delima.

Perubahan pH yoghurt dapat dilihat dari Gambar 4.



Gambar 4. Analisis derajat keasaman (pH)

Hasil pengujian total asam yoghurt jus delima merah dapat dilihat pada (Tabel 5). Terjadinya penurunan pH yoghurt seiring dengan peningkatan total asam yoghurt jus delima, semakin tinggi kadar total asam yoghurt jus delima merah maka pH akan semakin rendah.

Tabel 1. Hasil TTA (*Total Titratable Acidity*)

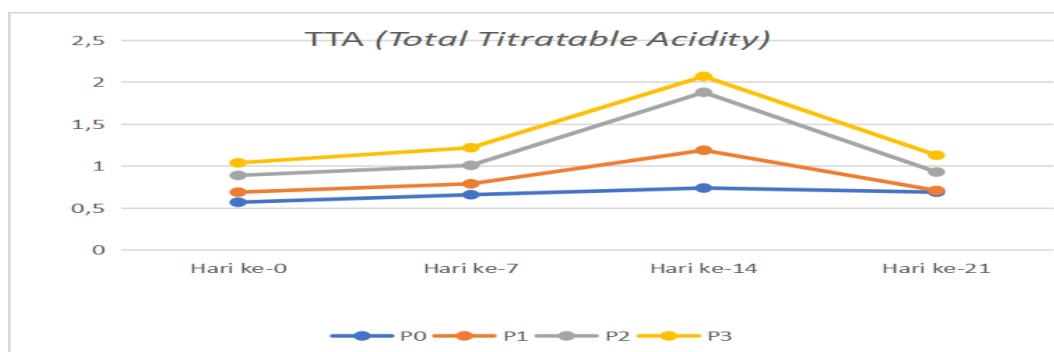
Perlakuan	TTA (<i>Total Titratable Acidity</i>) (%)			
	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
P0	0,57±0,05 ^a	0,66 ±0,05 ^a	0,74±0,22 ^a	0,69 ±0,14 ^a
P1	0,69 ±0,05 ^a	0,79 ±0,29 ^a	1,19±0,14 ^b	0,71±0,05 ^a
P2	0,89 ±0,07 ^a	1,01 ±0,03 ^a	1,88±0,14 ^c	1,13±0,03 ^a
P3	1,04 ±0,40 ^a	1,22±0,03 ^a	2,07±0,07 ^c	0,93 ±0,12 ^{a b}

Keterangan: - Data merupakan nilai purata dari 3 ulangan

- Angka-angka yang diikuti oleh huruf-huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada taraf 5%

Berdasarkan dari hasil uji TTA (*Total Titratable Acidity*) menunjukkan bahwa tidak terdapat beda nyata ($P > 0.05$) antara perlakuan

dan penyimpanan pada hari ke- 0 dan 7. Sedangkan pada hari ke-14 dan 21 hasil uji TTA menunjukkan beda nyata ($P < 0,05$).



Gambar 5. Analisis TTA (*Total Titratable Acidity*)

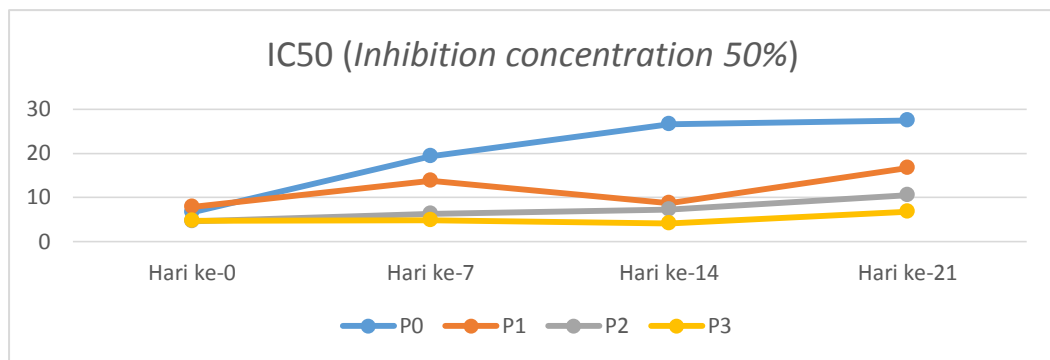
Aktivitas Antioksidan

Tabel 2. Analisis aktivitas antioksidan (IC_{50})

Perlakuan	Analisis aktivitas antioksidan (IC_{50}) (ppm)			
	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21
P0	6,61±0,02 ^c	19,29 ±0,15 ^d	26,55±0,73 ^c	27,42 ±0,54 ^d
P1	7,82±0,002 ^d	13,76±0,205 ^c	8,73 ±0,014 ^b	16,69 ±0,26 ^c
P2	4,64±0,024 ^a	6,22±0,035 ^b	7,29 ±0,014 ^b	10,51±0,13 ^b
P3	4,71±0,002 ^b	4,8±0,028 ^a	4,14 ±0,02 ^a	6.79±0,049 ^a

Keterangan: - Data merupakan nilai purata dari 2 ulangan

- Angka-angka yang diikuti oleh huruf-huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada taraf 5%



Gambar 6. Grafik Antioksidan

Hasil yang diperoleh selama proses fermentasi aktivitas antioksidan menunjukkan hasil beda nyata ($P < 0,05$), IC_{50} lebih rendah pada perlakuan yoghurt yang ditambahkan jus delima dibandingkan dengan yoghurt kontrol. Pada penyimpanan hari ke-0 di dalam lemari pendingin dengan suhu 4°C nilai IC_{50} P0 6,61ppm, meningkat di P1 7,82ppm kemudian menurun secara signifikan di P2 dan P3 secara berturut 4,64 ppm dan 4,71 ppm.

Pembahasan

Viabilitas Bakteri Asam Laktat

Viabilitas probiotik merupakan kemampuan suatu bakteri untuk bertahan hidup pada saluran pencernaan yang terdiri dari cairan asam dan garam empedu. Kultur

probiotik harus memiliki viabilitas yang tinggi sehingga pada saat dikonsumsi dapat memberikan manfaat dan berdampak baik bagi kesehatan (Yogeswara, 2014). Sampel yoghurt delima merah dikontakkan langsung dengan *oxgall* sebagai tiruan garam empedu (*bile salt*). Data pada (Tabel 1) menunjukkan bahwa penambahan jus delima merah (*Punica granatum L*), penyimpanan hari ke-0 viabilitas yoghurt perlakuan P1 mengalami penurunan menjadi 98,06% dibandingkan perlakuan kontrol P0 yaitu 99,43%, kemudian viabilitas meningkat pada P2 dan P3 secara berturut-turut 98,66% dan 99,43%. Setelah dilakukan penyimpanan hingga 21 hari, dapat dilihat pada (Gambar 3) menunjukkan hasil bahwa semakin lama penyimpanan berbanding lurus dengan penurunan viabilitas probiotik

L.plantarum Dad 13 di setiap perlakuan. Penurunan viabilitas yang terjadi seiring penyimpanan tidak menunjukkan hasil yang signifikan dan cenderung stabil 90%.

Penurunan viabilitas yang tidak signifikan dan cenderung stabil, sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Simbolon, dkk (2016) menyatakan bahwa viabilitas BAL *L.plantarum 1 RN2-53* dan *L.plantarum 1 RN2-12112* dapat bertahan pada media yang mengandung oxgall dan memiliki viabilitas masing-masing 99,71% dan 97,10%. Selain itu penelitian yang dilakukan oleh Utami, dkk (2020) menunjukkan bahwa viabilitas *L.plantarum Dad 13* pada susu fermentasi relatif stabil pada angka 10^7 CFU/mL selama 42 hari waktu penyimpanan. Kemudian penambahan jus delima merah (*Punica granatum L*) dengan konsentrasi berbeda juga tidak memberikan efek yang nyata pada viabilitas probiotik BAL, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Golmakani, dkk (2021) tentang penambahan jus delima pada yoghurt yang difermentasi menggunakan dua starter jenis *L.bulgaricus* dan *S.termophilus* menyatakan bahwa penambahan jus delima tidak berpengaruh nyata pada penurunan viabilitas *L.bulgaricus*, namun sebaliknya berpengaruh nyata pada penurunan *S.termophilus*.

Toleransi BAL terhadap garam empedu disebabkan oleh peranan polisakarida sebagai salah satu komponen penyusun dinding sel bakteri Gram positif. Beberapa genus *lactobacillus* memiliki *enzyme bile salt hydrolase* dengan aktivitas untuk menghidrolisis garam empedu. Enzim ini berfungsi untuk mengubah kemampuan fisik dan kimia yang dimiliki oleh garam empedu sehingga

tidak bersifat racun bagi bakteri asam laktat. Hal ini menyebabkan beberapa isolat bakteri asam laktat seperti *lactobacillus* tahan terhadap garam empedu (Astuti dan Rahmawati, 2010). Berdasarkan hasil uji viabilitas probiotik BAL dapat dikatakan bahwa penambahan jus delima pada yoghurt yang difermentasi menggunakan probiotik *L. plantarum Dad 13* dapat bertahan hingga 4 jam inkubasi tanpa penurunan viabilitas koloni yang signifikan pada media yang mengandung oxgall. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa viabilitas BAL yoghurt dengan penambahan jus delima pada seluruh perlakuan memiliki viabilitas yang tinggi dan tahan terhadap garam empedu (bile salt).

Derajat Keasaman (pH) dan Total Titratable Acidity (TTA)

Derajat Keasaman (pH) menunjukkan tingkat keasaman atau kebasaaan yang dimiliki suatu bahan pangan. Nilai pH merupakan salah satu faktor penting dalam pembuatan yoghurt karena dapat memberikan kondisi lingkungan yang optimum bagi pertumbuhan BAL. Selama proses fermentasi berlangsung, BAL akan memproduksi asam laktat, asam asetat, dan asam sitrat yang dapat menyebabkan pH produk menurun (Rasbawati, dkk 2019).

Nilai pH P0 mengalami penurunan hingga penyimpanan hari ke-21. Hal ini disebabkan karena adanya gula dan protein di dalam susu yang menjadi substrat untuk bakteri asam laktat pada proses fermentasi. Perubahan laktosa menjadi asam laktat, asetaldehid, diasetil dan asam format yang menyebabkan peningkatan asam selama fermentasi. Sedangkan pada perlakuan yoghurt yang ditambahkan jus delima P1, P2 dan P3 mengalami

penurunan pH hingga hari ke 14 dan meningkat pada hari ke 21. Selain bakteri asam laktat, senyawa dalam delima juga memengaruhi tingkat keasaman pada yoghurt. Jus buah delima merah mengandung 85% air, 15% bahan kering yang terdiri dari gula, asam organik, pektin, antosianin, polifenol, vitamin dan mineral (Gumienna, dkk 2016).

Peningkatan derajat keasaman (pH) sampel P1, P2 dan P3 pada penyimpanan hari ke-21 mengindikasikan adanya kerusakan pada yoghurt yang ditambahkan jus delima merah. Penyimpanan pada suhu dingin berpengaruh terhadap perkembangan dan aktivitas bakteri, sehingga pada saat inokulasi akan mengalami rehidrasi dan segera aktif kembali. Selama penyimpanan bakteri telah melewati fase stasioner, mengakibatkan jumlah bakteri berkurang dan kemampuan membentuk asam laktat menurun sehingga mengakibatkan kenaikan pH. Selain itu, penyimpanan yoghurt pada suhu 4°C, bakteri asam laktat masih bekerja untuk melakukan fermentasi meskipun tidak maksimal, tetapi hal ini menyebabkan kandungan polifenol pada jus delima berkurang. Polifenol merupakan salah satu kandungan jus delima merah yang berkontribusi dalam penurunan pH. Kandungan polifenol akan berkurang selama waktu fermentasi terus berlangsung sehingga akan terjadi peningkatan pH pada akhir fermentasi (Gummienna, dkk., 2016).

Kadar total asam tertinggi (TTA) ditunjukkan pada perlakuan P3 di penyimpanan hari ke-14 yaitu 2,07%. Yoghurt yang dapat dikategorikan baik yang memiliki kandungan kadar asam yaitu 0,5% - 2,0% (BSN, 2009). Berdasarkan hasil penelitian Oktavia, dkk (2015),

peningkatan kadar total asam berkaitan dengan jumlah bakteri asam laktat dalam yoghurt. Selama masa penyimpanan terjadi, asam laktat yang dihasilkan pada yoghurt akan menurunkan pH media yoghurt tersebut sehingga jumlah bakteri asam laktat dalam yoghurt semakin menurun yang diakibatkan dari penurunan bakteri asam laktat tersebut maka aktivitas bakteri asam laktat dalam memecah laktosa menjadi asam laktat juga menurun. Hal inilah yang mengakibatkan peningkatan total asam pada penyimpanan hanya sedikit.

Berdasarkan penjelasan di atas dapat disimpulkan bahwa Derajat Keasaman (pH) dan *Total Titratable Acidity* (TTA) yoghurt P0, P1 dan P2 normal hingga penyimpanan ke-14 dan mengalami kerusakan dengan indikasi kenaikan pH pada hari ke-21. Kemudian perlakuan P3 memiliki pH dan TTA normal hingga hari penyimpanan ke-7, setelah penyimpanan ke-14 pH turun drastis dan TTA tidak memenuhi standar yoghurt dan pada penyimpanan hari ke-21 yoghurt mengalami kerusakan dengan indikasi yang sama pada sampel P0, P1 dan P2.

Aktivitas Antioksidan

Pada produk susu fermentasi seperti yoghurt, keberadaan starter kultur bakteri asam laktat dapat mendegradasi komponen utama susu seperti protein, karbohidrat dan lipid menjadi berbagai bentuk asam amino, peptida, asam organik dan asam lemak bebas. Salah satu hasil degradasi seperti peptida memiliki kontribusi dalam meningkatkan aktivitas antioksidan pada proses fermentasi susu (Gjorgievski, dkk 2014). Parameter yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan yoghurt

pada penelitian ini adalah IC₅₀ (*inhibition concentration* 50%), nilai ini menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menetralkan radikal sebesar 50%. Aktivitas antioksidan (IC₅₀) yoghurt P0, P1 dan P2 dan P3 menunjukkan perbedaan nyata (signifikan) ($P < 0,05$) di setiap perlakuan.

Peningkatan IC₅₀ pada setiap perlakuan P1, P2 dan P3 sejalan dengan hasil dari penelitian yang dilakukan oleh Golmakani, dkk (2021) tentang penambahan jus delima pada yoghurt, tercatat pada akhir masa penyimpanan, diantara sampel yoghurt set, terjadi peningkatan IC₅₀ kontrol, 13% jus delima, dan 17% jus delima masing-masing dari 0,101 hingga 0,161 mg/ml. Penurunan nilai IC₅₀ mengindikasikan aktivitas antioksidan yang cenderung meningkat. Sumber antioksidan tertinggi adalah jus delima merah. kontribusi senyawa fenolik jus delima merah dapat bertindak sebagai antioksidan dengan kemampuannya menyumbangkan hidrogen atau elektron, dengan menghentikan reaksi berantai, atau dengan mengkelat ion logam transisi. Selama masa penyimpanan, IC₅₀ dari semua sampel yogurt meningkat secara signifikan sebagai akibat dari degradasi antosianin (Oliveira dkk., 2015).

Selain jus delima, sumber antioksidan dalam yoghurt ini juga berasal dari hasil fermentasi susu dengan starter kultur *L.plantarum* Dad 13 Hal ini mengindikasikan adanya perubahan struktur senyawa fenolik selama proses fermentasi oleh bakteri asam laktat yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Serta adanya interaksi senyawa jus delima yang memengaruhi peningkatan aktivitas antioksidan pada yoghurt. Mekanisme pengaruh fermentasi terhadap aktivitas oksidatif pada yogurt kontrol P0

adanya peptida dengan sifat antioksidan atau asam amino pada saat fermentasi oleh bakteri asam laktat yang terus berlangsung maksimal pada hari pertama penyimpanan di lemari es (Wulandani, dkk.,2020). sedangkan penurunan aktivitas antioksidan pada akhir penyimpanan hari ke-21 disebabkan oleh penurunan senyawa fenolik pada yoghurt. Kandungan polifenol akan berkurang selama waktu fermentasi terus berlangsung sehingga akan terjadi peningkatan pH pada akhir fermentasi (Gummiena, dkk., 2016).

Berdasarkan data tersebut dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan yoghurt meningkat seiring dengan tingkat konsentrasi jus delima merah pada yoghurt yang meningkat dan akan aktivitas antioksidan yoghurt dengan penambahan jus delima akan menurun pada penyimpanan hari ke-21 atau akhir masa penyimpanan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Viabilitas BAL yoghurt dengan penambahan jus delima pada seluruh perlakuan dalam penelitian ini tergolong memenuhi standar yang berlaku dan seluruh perlakuan dapat dikatakan menghasilkan viabilitas yang baik. Kemudian pH turun drastis dan TTA tidak memenuhi standar yoghurt dan pada penyimpanan hari ke-21 yoghurt mengalami kerusakan dengan indikasi yang sama pada sampel 0 (0% jus delima), P1(6% jus delima) dan P2(12% jus delima). Aktivitas antioksidan semakin tinggi berbanding lurus dengan konsentrasi jus delima yang diberikan dibandingkan dengan perlakuan kontrol (P0) dan akan menurun seiring waktu penyimpanan. Saran untuk penelitian ini kedepannya adalah penggunaan jus delima merah (*Punica granatum L*) perlu diperhatikan untuk tidak menggunakan

konsentrasi yang tinggi. Disarankan untuk menggunakan konsentrasi di bawah 18% sehingga mendapatkan yoghurt dengan manfaat dan kualitas yang memenuhi standar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Program Studi S1 Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Mataram atas izin pelaksanaan penelitian ini. Para Dosen, staf, dan teknisi Laboratorium Teknologi Pengolahan Hasil Ternak (TPHT) atas bantuan dan bimbingan dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Apridani, E. (2020) 'Viabilitas *Lactobacillus Plantarum* 1 Yang Diisolasi Dari Susu Kedelai Terfermentasi Spontan Terhadap Asam Klorida Dan Garam Empedu', Pp. 1–8.
- Astuti dan Rahmawati. 2010. Asimilasi kolesterol dan dekonjugasi garam empedu oleh bakteri asam laktat dari limbah kotoran ayam secara in vitro. Prossiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA. Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Fao Publications Catalogue 2022* (2022) *Fao Publications Catalogue 2022*. Doi: 10.4060/Cc2323en.
- Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., & Kader, A. A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(10), 4581–4589. <https://doi.org/10.1021/jf000404a>
- Gjorgievski, N., Tomovska, J., Dimitrovska, G., Makarijojovski, B., Shariati, M.A., 2014. Determination of the antioxidant activity in yogurt. *Journal of Hygienic Engineering and Design*:88-92.
- Golmakani, M. T. Eskandari, Mohammad Hadi & Kooshesh, Somayyeh & Pishan, Mahboobeh (2021) 'Investigation Of The Effects Of Pomegranate Juice Addition On Physicochemical, Microbiological, And Functional Properties Of Set And Stirred Yogurts', *Food Science And Nutrition*, 9(12), Pp. 6662–6671. Doi: 10.1002/Fsn3.2615.
- Gomez, K. A. And Gomez, A. A. (2010) *Prosedur Statistik Untuk Penelitian Pertanian*. 2nd Edn. Philippines.
- Gumienna, M., Szwengiel, A. and Górna, B., 2016. Bioactive components of pomegranate fruit and their transformation by fermentation processes. *European Food Research and Technology*, 242, pp.631-640.
- Herawati, E., dan P. Aditiawati, 2016. Uji Ketahanan dan pH Asam dan Garam Empedu pada Bakteri Indegenus Buah Kawista (*Feronia Imonia*) sebagai Kandidat Bakteri Probiotik. *Prosiding Semhas Hayati IV Universitas Nusantara PGRI Kediri*. 13-17.

- Kaur, R., Kaur, G., Rima, Mishra, S.K., Panwar, H., Mishra, K.K., & Brar, G.S. (2017). Yogurt: A Nature's Wonder for Mankind.
- Molyneux, P., 2004, The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakar Journal Science and Technology (SJST)*, 26(2), 211-21
- Nizori, A., Suwita, V., Surhain, Mursalin, Melisa, Sunarti, T., & Warsiki, E. (2008) 'Pembuatan Soyghurt Sinbiotik Sebagai Makanan Fungsional Dengan Penambahan Kultur Campuran Streptococcus Thermophilus, Lactobacillus Bulgaricus Dan Lactobacillus Acidophilus', *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 18(1), Pp. 28–33.
- Oktaviaa, H.M, Kusumawatia, N. dan Kuswardania, I. 2015. Pengaruh Lama Penyimpanan Selama Distribusi Dan Pemasaran Terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laktat Dan Tingkat Keasaman Pada Yogurt Murbei Hitam (*Morus Nigra L.*). Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Indonesia.
- Oliveira, A., Alexandre, E. M., Coelho, M., Lopes, C., Almeida, D. P., & Pintado, M. (2015). Incorporation of strawberries preparation in yo- ghurt: Impact on phytochemicals and milk proteins. *Food Chemistry*, 171, 370–378.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.107>
- Ramadhani, A. D. And Suharyanto (2020) 'Penetapan Kadar Flavonoid Total Jus Buah Delima (*Punica granatum L .*) Yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis', 6(2), Pp. 192–198.
- Rasbawati, Irmayani, I.D. Novieta dan Nurmiati, 2019. Karakteristik Organoleptik dan Nilai pH *Yoghurt* dengan Penambahan Sari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*.7(1) :41-46.
- Simbolon, D. Iusvina, Yusmarini, & Ali, A. (2016). Viabilitas *Lactobacillus plantarum* 1 yang diisolasi dari industri pengolahan pati sagu terhadap garam empedu. *JOM Faperta*, 3(1), 1–6.
- Sunaryanto, R., E. Martius, dan B. Murwoto, 2014. Uji Kemampuan *Lactobacillus casei* sebagai Agensia Probiotik. *Jurnal Bioteknologi Biosains Indonesia*. 1(1) : 9-14.
- Utami, Tyas and Kasmianti, Kasmianti and Harmayani, Eni and Rahayu, Endang Sutriswati (2009) *Influence Of Bile On Lactobacilli Viability And Ability To Reduce Lactose In Mrsl Broth*. In: 1st Seminar Lactic Acid Bacteria and Culture Collection Conference : Their Role in Food, Health, Industry and The Important of Management of Culture Collection, 16-17 January 2009, Yogyakarta.
- Utami, T., Cindarbhum, A., Khuangga, M. C., Rahayu, E. S., Cahyanto, M. N., Nurfiyanti, S., &

Zulaichah, E. (2020). Preparation of Indigenous Lactic Acid Bacteria Starter Cultures for Large Scale Production of Fermented Milk. Digital Press Life Sciences, 2, 00010.
<https://doi.org/10.29037/digitalpress.22327>

Wulandani.B. R. D. , Djoko Kisworo, Bulkaini, Muhammad Yasin,

Chusnul Chotimah M. R., Ahmad Fudholi. (2020). Antioxidant Activities and Viability of Lactic Acid Bacteria in Yogurt Made from Buffalo Milk with Addition of Blewah (*Cucumis melo* L Var. *reticulatus*Naudin) Juice. *International Journal of Advanced Science and Technology*, 29(04), 4788