

Pengaruh Lama Inkubasi *Soyghurt* Menggunakan Inokulan dengan Penambahan *Bifidobacterium* sp. Terhadap Daya Hambat *Bacillus cereus*

Ika Fitriani¹⁾, Dyah Fitri Kusharyati¹⁾, dan P. Maria Hendrati¹⁾

¹⁾Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman
Jl. Dr. Soeparman 63, Purwokerto, 53122
*email : dfitri.k@gmail.com

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) are used in the making of soyghurt such *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, and *Bifidobacterium* sp. with optimum growth temperature at 36° - 37° C and the incubation time ranges from 1-2 days. LAB is known able to produce bacteriocins that can inhibit pathogenic bacteria in the digestive tract such as *Bacillus cereus*. The purpose of this study was to determine the ratio of LAB on soyghurt on inhibition of *B. cereus*, determine the length of incubation soyghurt with the addition of *Bifidobacterium* sp. on the growth of *B. cereus*, and determine the effect of LAB concentrations and longer incubation at soyghurt on the growth of *B. cereus*. The results show a comparison of LAB (*L. bulgaricus* : *S. thermophilus* : *Bifidobacterium* sp.) 1: 1: 1 (K1) on soyghurt able to inhibit *B. cereus*. Long incubation soyghurt with the addition of *Bifidobacterium* sp. optimal at 24 hour on the growth of *B. cereus*. LAB concentration with a long incubation at soyghurt not able to increase the growth inhibitory *B.cereus*.

Keywords : *Bifidobacterium* sp., comparison, incubation time, soyghurt, fermentation temperature.

Pendahuluan

Soyghurt adalah susu kedelai yang difermentasi oleh bakteri probiotik, karena susu kedelai diketahui memiliki sumber prebiotik alami (Winarno, 1993). Pembuatan *soyghurt* yang baik ditentukan melalui masa fermentasi susu kedelai oleh bakteri asam laktat (BAL). Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi diantaranya suhu, dan lama inkubasi (Winarno, 1980). Lama inkubasi dalam fermentasi *soyghurt* berperan penting dalam berhasil atau tidaknya suatu *soyghurt* terbentuk karena BAL yang terdapat dalam yoghurt memerlukan waktu yang berbeda-beda untuk tumbuh.

Hal baru yang digunakan untuk memperoleh manfaat kesehatan dari organisme probiotik adalah dengan menambahkan strain bakteri lain seperti *Bifidobacterium*, selain dua kultur starter yang biasa digunakan yaitu *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. *Bifidobacterium* memiliki bentuk batang, bersifat anaerob,

Gram positif, tidak berspora, heterofermentatif, dansuhu optimal pertumbuhan 36-37°C. *Bifidobacterium* tidak tumbuh pada pH diatas 8,0 atau dibawah 4,5. *Bifidobacterium* memproduksi asam asetat dan asam laktat (Nakazawa & Hosono, 1988). Bakteri Asam Laktat memiliki syarat sebagai probiotik menurut *Food and Agriculture Organization* (2001), menunjukkan bahwa salah satunya adalah harus mempunyai aktivitas antimikroba dengan memproduksi substansi penghambat seperti asam laktat dan senyawa peptida antimikroba yang bernama bakteriosin. Bakteri patogen yang merugikan dalam pencemaran makanan dan saluran pencernaan salah satunya ialah *Bacillus cereus*.

Pertumbuhan *B. cereus* perlu dihambat bila jumlahnya melebihi 10⁶ cfu/gram makanan, jumlah ini dinyatakan sebagai dosis infeksiif dan dapat berisiko terhadap kesehatan (Badan Standarisasi

Nasional, 2009). Penelitian mengenai pengaruh *soyghurt* menggunakan inokulan yang ditambah dengan

Metode Penelitian

Rancangan percobaan

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial. Faktor pertama yaitu lama inkubasi *soyghurt* yang diberi penambahan *Bifidobacterium* sp. pada suhu 37°C dan faktor kedua adalah perbandingan konsentrasi *Bifidobacterium* sp. pada *soyghurt*. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Cara kerja

1. Pembuatan suspensi biakan *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* dan *Bifidobacterium* sp. (Oxoid, 1980)

Hasil peremajaan *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, dan *Bifidobacterium* sp. masing-masing diinokulasikan pada media MRS Broth sebanyak 1 ose secara terpisah dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-2 hari hingga terbentuk kekeruhan pada media. Kultur murni pada media *deMann Rogosa Sharpe Broth* (MRSB) inilah yang akan digunakan dalam tahapan pembuatan starter *soyghurt*.

2. Pembuatan starter *S. thermophilus* (Koroleva, 1991)

Proses pembuatan starter *S. thermophilus* sebanyak 8,5 g susu bubuk skim, 10 g sukrosa, 0,1 g ekstrak ragi, dan akuades 100 mL disterilisasi dengan autoklaf kemudian ditambah dengan 1% *S. thermophilus* yang telah diukur OD \pm 0,5 (λ = 600 nm) dan dinamakan media tumbuh baru (Media A). Setelah itu diinkubasi selama 12 jam dengan suhu 37°C dan kultur tersebut disebut kultur induk. Proses selanjutnya membuat *feed starter* yaitu dengan cara menambahkan 3 mL kultur induk ke dalam media tumbuh baru (Media B) sebanyak 97 mL kemudian diinkubasi selama 6 jam dengan suhu 37°C sampai terkoagulasi. Kultur ini selanjutnya akan dijadikan *bulk starter* yaitu dengan cara menambahkan 3 mL *feed starter* ke dalam media tumbuh baru (Media C) sebanyak 97 mL

Bifidobacterium sp. terhadap pertumbuhan *B. cereus* saat ini belum dilakukan.

selanjutnya diinkubasi selama 8 jam pada suhu 37°C.

3. Pembuatan starter *L. bulgaricus* dan *Bifidobacterium* sp. (Koroleva, 1991)

Proses pembuatan starter yaitu 8,5 g susu bubuk skim dan 100 mL akuades dicampur lalu sterilisasi menggunakan *autoklaf*, kemudian ditambah dengan 1% *L. bulgaricus* dan *Bifidobacterium* sp. yang telah diukur OD \pm 0,5 (λ = 600nm) dan dinamakan media tumbuh baru (Media A). Kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C dan kultur tersebut disebut kultur induk. Proses selanjutnya membuat *feed starter* yaitu dengan cara menambahkan 3 mL kultur induk ke dalam media tumbuh baru (Media B) sebanyak 97 mL kemudian diinkubasi selama 29 jam dengan suhu 37°C sampai terkoagulasi. Kultur ini yang selanjutnya akan dijadikan *bulk starter* yaitu dengan cara menambahkan 3 mL *feed starter* ke dalam media tumbuh baru (Media C) sebanyak 97 mL lalu diinkubasi selama 9 jam yang bersuhu 37°C.

4. *Soyghurt* standar (modifikasi Bagiastra, 1984)

Susu kedelai yang telah disiapkan dalam botol bening, ditambahkan dengan susu skim 5% dan sukrosa sebanyak 5% dilarutkan hingga volume akhir 1000 mL, diaduk sampai larut. Kemudian dipasteurisasi pada suhu 80-90°C selama 30 menit dan dilakukan pendinginan sampai suhu 45°C. Selanjutnya diinokulasi dengan starter yoghurt sebanyak 3 mL dengan perbandingan *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* sebanyak 1:1. Kemudian di kocok beberapa kali, lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 24 Jam (K_0).

5. *Soyghurt* dengan penambahan *Bifidobacterium* sp. pada berbagai konsentrasi

Perlakuan K_1 dan K_2 dilakukan pekerjaan yang sama seperti pembuatan *soyghurt* standar hanya :

- a. Penambahan 3 mL total starter, dengan perbandingan *S. Thermophilla* : *L. bulgaricus* : *Bifidobacterium* sp.

sebanyak 1 : 1 : 1 diinokulasikan ke dalam susu kedelai (K₁).

- b. Penambahan 3 mL total starter, dengan perbandingan S.

Thermophilus : *L. bulgaricus* :

Bifidobacterium sp. sebanyak 1 : 1 : 2 diinokulasikan ke dalam susu kedelai (K₂).

Kemudian ketiga produk *soyghurt* dengan berbagai konsentrasi tersebut dikocok beberapakali, lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 1 X 24 jam.

6. Pengujian aktivitas antimikroba produk *soyghurt* yang ditambah kultur *Bifidobacterium* sp. pada *B. cereus*

Sebelum uji hambat, kultur *B. cereus* diregenerasi dalam 100 mL *Nutrient Broth* (NB) steril pada *Erlenmeyer* 200 mL. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator bergoyang (*shaker incubator*) dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam.

7. Daya hambat *soyghurt* *Bifidobacterium* sp. terhadap *B. cereus* (Uji difusi) (modifikasi Yang et al., 1992 dan Biswas et al., 1991)

Masing-masing *soyghurt* standar dan *soyghurt* yang diberi penambahan *Bifidobacterium* sp. diambil 4,5 mL. *Soyghurt* disentrifuge dengan kecepatan 13.000 rpm selama 15 menit. Masing-masing supernatan diukur pH, sampai pH-nya 6,5. Kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit. Sebanyak 0,1 mL suspensi *B. cereus* diinokulasikan pada medium *Nutrient Agar* (NA) (*spread plate*) kemudian diratakan. Selanjutnya 0,2 µl dari supernatan *B. cereus* diteteskan di atas kertas cakram steril dengan diameter 6 mm, diinkubasi

selama 24 jam pada suhu 37°C, ada tidaknya penghambatan ditandai dengan terbentuknya daerah bening pada bekas tetes (spot) supernatan. Pengamatan uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan mengukur diameter daerah hambat (DDH) pertumbuhan bakteri yang terbentuk di sekitar kertas cakram dengan penggaris.

8. Pengukuran kadar asam laktat *soyghurt* (AOAC, 1995)

Soyghurt standar dan *soyghurt* yang diberi penambahan *Bifidobacterium* sp. telah siap, maka masing-masing kadar asam laktat yang terkandung dihitung setiap 4 jam sekali selama 1 x 24 jam. Sampel diambil sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu *Erlenmeyer* lalu ditambahkan 90 mL akuades untuk dititrasi dengan NaOH 0,1 N. Indikator yang digunakan adalah *phenolphthalein* 1% sebanyak 3 tetes dengan perubahan warna dari tak berwarna menjadi merah muda. Menurut syarat mutu yoghurt pada SNI 01-2981-1992, jumlah asam laktat adalah 0,5-2%.

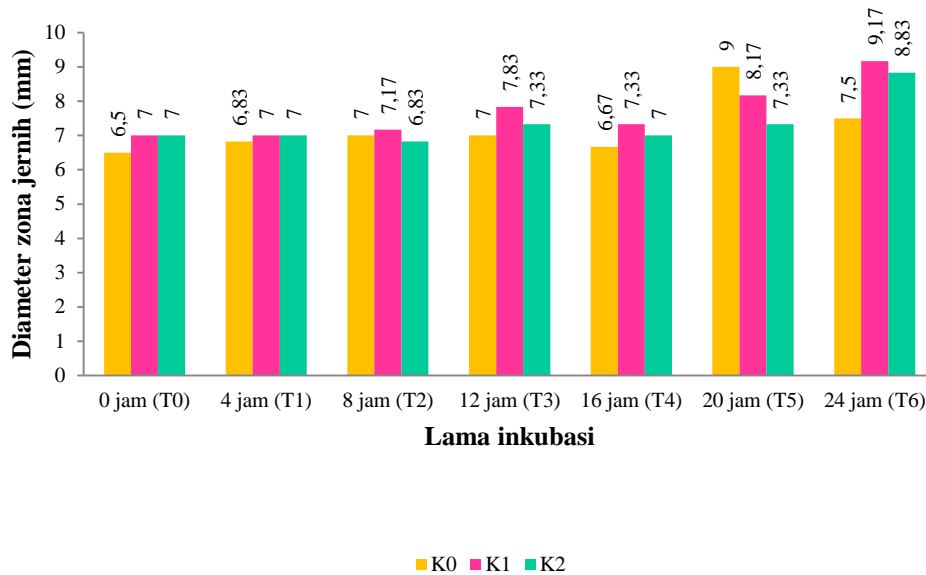
9. Uji Organoleptik (Soekarto, 1985)

Pengujian organoleptik *soyghurt* *S. thermophilus* : *L. bulgaricus* : *Bifidobacterium* sp. (1:1:0, 1:1:1, 1:1:2) dilakukan dengan uji mutu hedonik kepada 10 panelis. Masing-masing *soyghurt* dimasukan ke dalam wadah dan diberi label, lalu diambil satu sendok. *Soyghurt* yang diberi perlakuan diuji mutu hedonik terhadap tingkat keasaman, kesukaan, aroma, dan warna, kemudian para panelis diberi lembar penilaian

Hasil dan Pembahasan

Lama inkubasi *soyghurt* menggunakan inokulan dengan penambahan *Bifidobacterium* sp. menunjukkan penghambatan yang berbeda-beda terhadap *Bacillus cereus*, yang ditandai dengan terbentuknya zona jernih. Zona jernih rata-rata terbesar pada perlakuan konsentrasi 1:1:1 (*L. bulgaricus*

: *S. thermophilus* : *Bifidobacterium* sp.) dan lama inkubasi 24 jam (K1T6) yaitu sebesar 9,17 mm, sedangkan rata-rata zona jernih terkecil pada perlakuan konsentrasi 1:1:0 (*L. bulgaricus* : *S. thermophilus* : *Bifidobacterium* sp.) pada lama inkubasi 0 jam (K0T0) yaitu sebesar 6,5 mm.



Gambar 1. Histogram rata-rata diameter zona jernih yang terbentuk pada berbagai lama inkubasi dan konsentrasi.

Berdasarkan Gambar 1. dapat dilihat bahwa rata-rata zona jernih terbesar pada lama inkubasi 24 jam dilihat dari perbandingan konsentrasi *L. bulgaricus* : *S. thermophilus* : *Bifidobacterium* sp. berturut-turut 1:1:0 (K0); 1:1:1 (K1); dan 1:1:2 (K2) sebesar 7,5 mm, 9,17 mm. dan 8,83 mm. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa dengan adanya penambahan *Bifidobacterium* sp. mampu menghasilkan daya hambat lebih besar terhadap *B. cereus* pada lama inkubasi 24 jam. Hal ini sesuai dengan Gunawan et al. (2014) dalam penelitiannya menyatakan lama inkubasi dan jumlah konsentrasi starter mempengaruhi aktivitas antibakteri soyghurt terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* selama penyimpanan 30 hari. Lama inkubasi 20 jam (T5) pada perbandingan *L. bulgaricus* : *S. thermophilus* (1:1) menunjukkan diameter zona jernih terbesar yaitu 9 mm. Menurut Suryono et al. (2005) bahwa kultur *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* dapat membentuk koagulan dengan baik setelah inkubasi 20 jam suhu 37°C dan *L. bulgaricus* akan tumbuh lebih dahulu untuk mempersiapkan lingkungan yang baik untuk perkembangan *S. thermophilus*.

Menurut Kusumaningrum (2011) fase lag pertumbuhan bakteri probiotik masih sangat rendah, dikarenakan pada fase ini bakteri probiotik masih menyesuaikan dengan lingkungannya yang baru yaitu substrat tempat tumbuhnya. Kecepatan fase lag dipengaruhi oleh substrat karena substrat mempengaruhi kemampuan bakteri probiotik dalam fermentasi sustrat untuk pertumbuhannya. Semakin kompleks senyawa maka lebih membutuhkan waktu yang lama untuk dihidrolisis. Hal tersebut tidak sesuai dengan hasil penelitian, dimana pada lama inkubasi 0 jam sudah terbentuk zona jernih yang menandakan adanya aktifitas dari bakteri probiotik. Zona jernih yang terbentuk memiliki ukuran 6,5 – 7 mm dengan diameter kertas cakram sebesar 6 mm. Kemungkinan hasil tidak valid karena adanya kesalahan dalam pengamatan.

Hasil tersebut dinyatakan juga dengan hasil analisis ragam (Uji F) dengan tingkat ketelitian 99% dan 95% untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap diameter zona jernih yang terbentuk. Hasil Uji F dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis ragam lama inkubasi dan konsentrasi terhadap diameter zona hambat yang terbentuk.

SV	DB	JK	KT	F Hit	F. Tab	
					0.05	0.01
P	20	350.952	17.548	2.1158*	1.83	2.34
K	2	23.095	11.548	13.923	3.22	5.15
T	6	238.175	39.696	4.7863**	2.32	3.27
KXT	12	89.683	0.7474	0.9011	1.99	2.64
G	42	348.333	0.8294		SD =	0.911
Total	62	699.286			KK =	12299%

Keterangan :

* : Berbeda nyata

** : Berbeda sangat nyata

K : Perlakuan Konsentrasi

T : Perlakuan Lama inkubasi

Berdasarkan Tabel 1. secara statistik dapat diketahui bahwa perlakuan lama inkubasi berbeda sangat nyata, sedangkan untuk konsentrasi penambahan *Bifidobacterium* sp. dan interaksi antar konsentrasi dengan lama inkubasi berbeda tidak nyata. Hal tersebut mengindikasikan bahwa lama inkubasi sangat berpengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk, sedangkan konsentrasi dan interaksi antara konsentrasi dan lama inkubasi tidak berpengaruh terhadap diameter zona hambat.

Hasil di atas berbeda dengan hasil pengamatan yang menunjukkan bahwa perbandingan BAL (*L. bulgaricus* : *S. thermophilus* : *Bifidobacterium* sp. 1:1:1) mampu menghambat *B. cereus*. Perlakuan konsentrasi optimum yang menghasilkan diameter rata-rata zona jernih terbesar terhadap *B. cereus* yaitu *L. bulgaricus* : *S. thermophilus* : *Bifidobacterium* sp. 1:1:1 (K1). Hasil tersebut sesuai hipotesis pertama penambahan BAL dengan perbandingan *L. bulgaricus* : *S. thermophilus* : *Bifidobacterium* sp. sebesar (1:1:1) pada *soyghurt* mampu meningkatkan daya hambat pertumbuhan *B. cereus*. Fardiaz (1992) juga menyatakan, bahwa kemampuan suatu zat antimikroba dalam menghambat

pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh beberapa faktor, misalnya waktu penyimpanan, suhu lingkungan, sifat-sifat mikroba (jenis, umur, dan keadaan mikroba), sifat-sifat fisik dan kimia makanan, termasuk kadar air, pH, serta jenis dan jumlah senyawa di dalamnya.

Lama inkubasi 24 jam (T6) adalah yang terbaik untuk ketiga jenis isolat dalam menghambat pertumbuhan *B. cereus* yaitu sebesar 9,17 mm. Hal ini sebanding dengan penelitian Gunawan et al. (2014) bahwa lama penyimpanan *soyghurt* dengan starter *Bifidobacterium* BBIV, *L. bulgaricus*, dan *S. thermophilus* dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* yang terbaik yaitu 30 hari dengan rata-rata diameter zona jernih yang terbentuk sebesar 11,4 mm. Terbentuknya asam laktat oleh BAL dapat menyebabkan penurunan pH sehingga pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif yang tidak tahan pH rendah akan terhambat (Fardiaz, 1992).

Hasil uji beda nyata jujur menunjukkan perlakuan lama inkubasi berpengaruh terhadap daya hambat *B. cereus*. Rata-rata diameter zona jernih yang terbentuk berturut-turut dari yang terbesar hingga terkecil berdasarkan lama inkubasi yaitu T6, T5, T3, T2, T4, T1, T0 ditunjukkan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Beda Nyata (BNJ) perlakuan lama inkubasi soyghurt selama 24 jam.

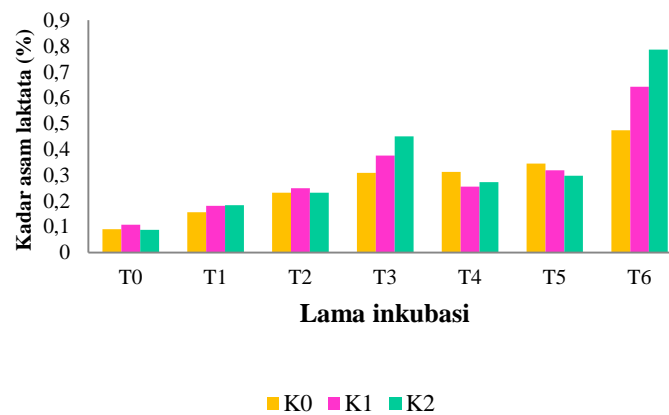
Perlakuan	Diameter zona jernih (mm)
T6	8,50 ± 1,41 a
T5	8,17 ± 1,39 ab
T3	7,39 ± 0,89 abc
T2	7,00 ± 0,50 bc
T4	7,00 ± 0,43 bc
T1	6,94 ± 0,53 bc
T0	6,83 ± 0,56 c

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama berbeda tidak nyata pada BNJ 5%

Soyghurt dengan perlakuan lama inkubasi selama 0 jam (T0) menghasilkan diameter zona hambat terkecil dibandingkan dengan yang lainnya yaitu 6,83 mm. Hal ini dikarenakan starter yang diinokulasikan kedalam susu kedelaimasih beradaptasi dengan media tumbuhnya. Judoamidjojo et al. (1992), menyatakan bahwa mikroorganisme perlu mengetahui makromolekul media saat dipindah-pindah dari lingkungan satu ke

lingkungan lain, dalam waktu ini massa sel dapat berubah tanpa mengubah jumlah sel. Kerja starter (*L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, dan *Bifidobacterium* sp.) yang masih beradaptasi menjadi tidak maksimal untuk menghambat pertumbuhan *B. cereus*.

Soyghurt dengan perlakuan lama inkubasi 24 jam (T6) menghasilkan diameter zona hambat terbesar yaitu 8,50 mm. Hasil ini sesuai dengan hipotesis ke dua yang menyatakan bahwa pertumbuhan *Bifidobacterium* sp. pada soyghurt akan optimal dengan lama inkubasi 24 jam dalam menghambat *B. cereus*. Menurut Daud et al. (2009) jumlah koloni bakteri *B. bifidum* dalam media yang mengandung oligosakarida paling tinggi dicapai pada 24 jam masa inkubasi. Menurut Khoiriyah et al (2014) lama inkubasi 24 jam *Lactobacillus* sp. RED₄ merupakan waktu optimum menghasilkan antimikroba dalam menghambat *B. cereus*, hal ini disebabkan resistensi bakteri tersebut.



Gambar 2. Histogram kadar asam laktat pada berbagai lama inkubasi dan konsentrasi.

Hasil uji kadar asam laktat soyghurt dengan penambahan *Bifidobacterium* sp. dan lama inkubasi 0 jam sebesar 0,087-0,108%. Lama inkubasi 0 jam BAL masih mengalami fase lag (fase adaptasi) dimana seharusnya belum menghasilkan asam laktat. Kadar asam laktat tertinggi yaitu pada konsentrasi *L. bulgaricus* : *S. thermophilus* : *Bifidobacterium* sp. 1:1:2 (K2) dan lama inkubasi 24 jam (T6) sebesar 0,786%. Keasaman yoghurt produksi Indonesia menurut Standar

Industri Indonesia (SII-07 17-1990) berkisar 0,5 sampai 2% asam laktat (Suryono et al., 2005).

Gunawan et al. (2014) menyatakan bahwa kadar asam laktat soyghurt yang dihasilkan selama 30 hari penyimpanan meningkat menjadi 0,4-1,4%, besarnya kandungan asam laktat yang dihasilkan diduga juga menghambat pertumbuhan bakteri yang ada di dalam soyghurt. Semakin lama waktu inkubasi pH semakin kecil, penurunan pH yang terjadi

diakibatkan oleh peningkatan kadar asam organik yang diduga sebagai asam laktat dan asam asetat (Khoiriyah et al., 2014). Menurut Syahniar (2009) penurunan pH BAL disebabkan oleh adanya asam-asam organik yang terbentuk selama pertumbuhan dan merupakan senyawa metabolit primer yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Menurut Mourad et al. (2005) BAL mampu menghasilkan metabolit primer yang memiliki sifat antimikroba. Senyawa tersebut dapat berupa asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin.

Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL juga mempengaruhi hasil organoleptik dari *soyghurt*. Hasil uji organoleptik dilakukan dengan uji kesukaan (hedonik) terhadap 10 panelis berdasarkan citarasa yang meliputi rasa, kesukaan, aroma, dan warna. Panelis mencoba *soyghurt* dengan konsentrasi penambahan *Bifidobacterium* sp. K0 (1:1:0), K1 (1:1:1), dan K2 (1:1:2) setiap perlakuan lama inkubasi yaitu 0 jam (T0), 4 jam (T1), 8 jam (T2), 12 jam (T3), 16 jam (T4), 20 jam (T5), 24 jam (T6). Hasil uji hedonik tingkat keasaman rata-rata

tertinggi yaitu T6K2 sebesar 2,50 yaitu rasa asam. Hasil uji hedonik kesukaan pada T0K0 sebesar 2,87 rasa disukai oleh panelis. Hasil uji hedonik aroma yaitu T6K2 sebesar 1,57 yaitu aroma agak tajam. Hasil uji hedonik warna T5K2 pada 2,40 yaitu *soyghurt* berwarna putih kekuningan. *Soyghurt* dengan konsentrasi *L. bulgaricus* : *S. thermophilus* : *Bifidobacterium* sp. 1:1:0 (K0) dan lama inkubasi jam ke-0 (T0) yang memiliki tekstur juga disukai paling banyak dari panelis karena pada saat itu bentuk susu kedelai belum memisah dan rasanya masih manis. Hal ini sesuai dengan pernyataan Suryono et al. (2005) penggunaan *Bifidobacteria* dalam campuran bersama bakteri kultur yoghurt berpengaruh meningkatkan keasaman dan kekentalan. Thiel T. (1999) menyatakan aroma dan rasa *soyghurt* dipengaruhi oleh asam laktat yang diproduksi oleh *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*. *L. bulgaricus* memberikan aroma yang khas pada *soyghurt* sedangkan *S. thermophilus* menghasilkan rasa asam.

Simpulan dan Saran

Simpulan

Berdasarkan uraian hasil dan pembahasan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Perbandingan BAL pada *soyghurt* dengan perbandingan *L. bulgaricus*:*S. thermophilus* : *Bifidobacterium* sp. 1:1:1 (K1) mampu menghambat *B. cereus*.
2. Lama inkubasi *soyghurt* dengan penambahan *Bifidobacterium* sp.

optimal pada 24 jam terhadap pertumbuhan *B. cereus*.

3. Konsentrasi BAL dengan lama inkubasi pada *soyghurt* tidak mampu meningkatkan daya hambat pertumbuhan *B. cereus*.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang dapat diajukan yaitu : penggunaan metode uji selain menggunakan kertas cakram (uji difusi) dapat dilakukan dengan spektrofotometer (Uji turbidimetri) untuk mengkonfirmasi hasil secara kuantitatif.

Daftar Pustaka

- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemist. Washington : AOAC Int.
- Bagiastra, I. G. 1984. Mempelajari Mutu Dan Stabilitas Minuman Botol Yoghurt Kedelai. *Skripsi*. Fakultas

Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Badan Standar Nasional. 2009. Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan: Standar Nasional Indonesia (SNI) 7388.

- Biswas, S. R., Purbita Ray, M. C. Johnson and B. Ray. 1991. Influence of Growth Conditions on

- the Production of a Bacteriocin, Pediocin Ach, by *Pediococcus acidilactici* H. Applied Environmental Microbiology 57(4):1265.
- Daud, M. Wiranda, G. P., Komang, G. W. dan Agus, S. 2009. Pengujian Secara *In Vitro* Oligosakarida dari Ekstrak Tepung Buah Rumbia (*Metroxylon sago Rottb.*) sebagai Sumber Prebiotik. Agripet. Institut Pertanian Bogor. Vol.9 No.2.
- [FAO]. Food and Agriculture Organization. 2001. Health and Nutritional Properties Of Probiotic In Food Including Powder Milk With Live Lactic Bacteria.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. Jakarta: PT Gramedia.
- Gunawan, B. A., D. Fitri, dan M. Hendrati. 2014. Pengaruh Penambahan *Bifidobacterium* BBIV dan Lama Inkubasi pada *Soyghurt* Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*. Skripsi. Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto.
- Judoamidjojo, M., Abdul, A. D., Endang, G. S. 1992. Teknologi Fermentasi. Rajawali Pers.
- Khoiriyah, H., Puji, A., Afghani, J. 2014. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Terhadap Aktivitas Bacteriosin *Lactobacillus* sp. RED₄. *JKK*. Vol (3)1. Hlm 7-12. ISSN 2303-1077.
- Koroleva, N. S. 1991. Product Prepared with Lactic Acid Bacteria and Yeast. Dalam : Robinson RK, editor. Therapeutic Properties of Fermented Milks. London: Elsevier Applied Science.
- Kusumaningrum, A.P. 2011. Kajian Total Bakteri Probiotik dan Aktivitas Antioksidan Yoghurt Tempe dengan Variasi Substrat. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Mourad, K., Halima, Z. K., and Nour-Eddine, K. 2005. Detection and Activity of Plantaricin OL 15 a Bacteriocin Produced by *Lactobacillus plantarum* OL 15 Isolated from Algerian Fermented Olive, *Grasasy Aceites* 56 (3): 192-197.
- Nakazawa, Y. dan A. Hasono. 1988. Function of Fermented Milk : Challenges for The Health Science. Elsevier Applied Science Publisher, London.
- Oxoid. 1980. The Oxoid Manual of Culture Media, Ingredients, and Other Laboratory Services. Edisi ke-5. Basingtoke : Oxoid.
- Soekarto ST. 1985. Penilaian Organoleptik Untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian. Bharatara Karya Aksara. Jakarta.
- Suryono, Sudono, A., Sudarwanto, M., dan Apriyantono, A. 2005. Studi Pengaruh Penggunaan *Bifidobacteria* terhadap Flavor Yoghurt. *Jurnal teknologi dan Industri Pangan*. Vol.XVI No.1
- Syahniar, T. 2009. Produksi dan Karakterisasi Bacteriosin asal *Lactobacillus plantarum* 1A5 serta Aktivitas Antimikrobanya Terhadap Bakteri Patogen. Departemen Ilmu Produksi dan teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan IPB. Skripsi. Bogor
- Winarno, F.G. Srikandi, F. Dedi, F. 1980. Pengantar Teknologi Pangan. Jakarta: Gramedia Pustaka. Hal : 63:65.
- Winarno. 1993. Pangan (Gizi, Teknologi dan Konsumen). Jakarta: Gramedia Pustaka.
- Yang, R., M.C. Jhonson and B Ray. 1992. Novel Mvthod to Extract Large Amounts of Bacteriocin from Lactic Acid Bacteria. *Applied Environmental Microbiology* 58(10): 3355-3359