OPTIMASI WAKTU INKUBASI PRODUKSI BAHAN MINUMAN PROBIOTIK DARI UMBI GARUT (*Maranta arundinacea* L.) OLEH *Lactobacillus fermentum* SEBAGAI ANTIHIPERKOLESTEROLEMIA

(Optimization of Incubation Time Production of Probiotic Drink from Arrowroot Tubers by *Lactobacillus fermentum* as Antihypercholesterolemia)

Harry Noviardi, Sitaresmi Yuningtyas, Vira Yuniar

Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor,
Jl. Kumbang No. 23, Bogor, 16151, Indonesia
E-mail: harry.noviardi@gmail.com

Diterima 13 Februari 2020, Revisi akhir 24 April 2020, Disetujui 06 Mei 2020

ABSTRAK. Umbi garut merupakan salah satu tanaman potensial yang memiliki kandungan gizi tinggi sehingga dapat dijadikan sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri *Lactobacillus fermentum* untuk pembuatan minuman probiotik. Fermentasi umbi garut dengan *L. fermentum* tersebut juga diketahui memiliki potensi untuk menurunkan kadar kolesterol. Hal ini disebabkan oleh kemampuan probiotik menyerap sejumlah kolesterol ke dalam sel. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu inkubasi optimum produksi bahan minuman probiotik dari umbi garut yang mempunyai aktivitas antihiperkolesterolemia. Fermentasi umbi garut dilakukan menggunakan kultur *L. fermentum* dengan variasi waktu inkubasi, yaitu 4, 8 dan 12 jam. Hasil fermentasi dievaluasi organoleptik (warna, aroma, tekstur dan rasa), pH, total asam laktat, total bakteri asam laktat dan kadar alkohol. Selain itu, dilakukan juga analisis penurunan kadar kolesterol total secara *in vivo*. Nilai persentase penurunan kadar kolesterol total oleh hasil fermentasi umbi garut dengan variasi waktu inkubasi 4, 8 dan 12 jam secara berturut-turut sebesar 15,14%, 16,96% dan 28,56%. Hasil fermentasi umbi garut dengan nilai persentase penurunan kadar kolesterol total tertinggi adalah waktu inkubasi 12 jam dengan nilai pH 5,25; total asam laktat 1,56%, total bakteri asam laktat $6,4 \times 10^8$ CFU/mL. Nilai total bakteri asam laktat yang diperoleh memenuhi standar untuk produk probiotik. Oleh sebab itu, waktu inkubasi optimum produksi umbi garut probiotik sebagai antihiperkolesterolemia berada pada waktu 12 jam.

Kata kunci: antihiperkolesterolemia, *Lactobacillus fermentum*, probiotik, umbi garut

ABSTRACT. Arrowroot tuber is one of the potential plants that has a high nutritional content so it can be the source of nutrition for the growth of *Lactobacillus fermentum* bacteria for probiotic drink production. Arrowroot fermentation with *L. fermentum* is also known potentially reduce cholesterol level. The probiotics have the ability to absorb a number of cholesterol into cells. This research aimed to determine the optimum incubation time of the production of arrowroot tubers with antihypercholesterolemia activity for probiotic drink. Arrowroot tuber fermentation was carried out using *L. fermentum* culture with varying incubation times of 4, 8 and 12 hours. The fermentation results were evaluated organoleptically (color, aroma, texture and taste), pH, total lactic acid, total lactic acid bacteria and alcohol content. In addition, analysis of total cholesterol levels by *in vivo* were also tested. The decreasing of total cholesterol level by the fermented tuber with incubation time variations of 4, 8 and 12 hours, respectively, by 15.14%, 16.96% and 28.56%. The results showed that the highest reduction percentage of total cholesterol level is 12 hours incubation time with pH value of 5.25, total lactic acid bacteria 6.4×10^8 CFU/mL. The total value of acquired lactic acid bacteria meets the standard for probiotic product. This indicates that the optimum incubation time for the production of probiotic arrowroot tubers as antihypercholesterolemia is 12 hours.

Keywords: antihypercholesterolemic, arrowroot tuber, *Lactobacillus fermentum*, probiotic

1. PENDAHULUAN

Peningkatan kadar kolesterol dapat menyebabkan penyempitan pembuluh darah (aterosklerosis), diketahui sebagai indikator penyakit kardiovaskuler yang menjadi penyebab utama kematian di seluruh dunia (Amin & Abd El-Twab, 2009). Berdasarkan data *World Health Organization*, prevalensi kematian akibat penyakit kardiovaskuler pada tahun 2008 sebanyak 17 juta dan mengalami peningkatan pada tahun 2015 menjadi 20 juta orang meninggal (WHO, 2013). Terjadinya penyakit jantung dan pembuluh darah dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah hiperkolesterolemia, yaitu kondisi dimana kadar kolesterol dalam darah meningkat di atas batas normal. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan di Semarang pada tahun 2007-2008, kadar kolesterol dalam darah >200 mg/dL meningkatkan terjadinya risiko penyakit jantung dan pembuluh darah sebesar 1,8 kali lebih besar dibandingkan dengan kolesterol darah <200 mg/dL (Yani, 2015).

Umbi garut merupakan salah satu tanaman pangan lokal sumber karbohidrat yang memiliki banyak manfaat dan berpotensi dalam menurunkan kolesterol darah. Selain memiliki banyak manfaat, garut juga mudah ditanam. Umbi garut segar mengandung nutrisi yang cukup tinggi sebagai bahan pangan, yaitu pati 19,14-21,7%, protein 1,0-2,2%, air 69-72%, serat 0,6-1,3%, kadar abu 1,3-1,4%, serta sedikit gula (Yuniastuti *et al.*, 2018), serat pangan larut air 9,79-13,7% (Kumalasari *et al.*, 2012). Serat pangan memiliki berbagai macam manfaat untuk kesehatan, meliputi melancarkan pencernaan, mencegah kanker kolon, menurunkan kadar glukosa darah, berfungsi sebagai prebiotik, mengontrol kegemukan dan obesitas serta mengurangi kadar kolesterol dalam darah (Kusharto, 2007).

Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah bakteri yang mampu memfermentasikan gula atau karbohidrat untuk memproduksi asam laktat dalam jumlah besar (Romadhon *et al.*, 2012). BAL merupakan kelompok besar mikroorganisme yang secara fisiologis menghasilkan asam laktat sebagai metabolit utama (Emmawati *et al.*, 2015). Beberapa metabolit aktif yang dihasilkan oleh BAL, yaitu asam laktat, etanol, hidrogen peroksida dan bakteriosin (Ibrahim *et al.*, 2015). BAL termasuk dalam kelompok bakteri baik dan umumnya memenuhi status *Generally Recognized as Safe* (GRAS), yaitu aman bagi manusia (Putri & Kusdiyantini, 2018), sehingga BAL dapat digunakan sebagai agen probiotik. Menurut Naim

(2011), mekanisme penurunan kolesterol oleh BAL yaitu kemampuannya dalam meningkatkan sekresi enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH). Hal ini akan mengakibatkan terjadinya dekonjugasi asam empedu, sehingga zat tersebut menjadi sulit diabsorpsi kembali melalui siklus enterohepatik dan akan lebih banyak asam empedu yang diekskresikan melalui feses. Kondisi ini akan berakibat kebutuhan kolesterol dalam tubuh meningkat karena tubuh menggunakan kolesterol dalam darah untuk menggantikan asam empedu yang hilang dan akibatnya kadar kolesterol dalam darah akan berkurang. Berdasarkan pada siklus biosintesis garam empedu, kolesterol merupakan bahan baku dalam pembentukan garam empedu pada tubuh manusia (Chand *et al.*, 2017).

Waty (2018) menyatakan bahwa hasil fermentasi umbi garut oleh *L. fermentum* 2% memiliki potensi untuk menurunkan kadar kolesterol dengan nilai persentase penurunan 30,36%. Hasil fermentasi umbi garut oleh *L. fermentum* 2% mempunyai nilai pH 3,88; total asam laktat 1,13% dan total bakteri asam laktat $1,6 \times 10^{10}$ CFU/mL. Nilai pH yang diperoleh tidak sesuai dengan nilai pH minimum probiotik berdasarkan SNI, yaitu pH 4-5. Hal ini disebabkan waktu inkubasi dilakukan 12 jam sehingga memasuki fase stasioner maka pH yang didapat terlalu rendah sehingga rasa dari fermentasi umbi garut menjadi lebih asam. Pada fase stasioner didapatkan jumlah metabolit sekunder dan biomassa dengan jumlah yang cukup banyak. Salah satu metabolit yang dihasilkan dari probiotik adalah asam laktat (Emmawati *et al.*, 2015). Keasaman dari probiotik dapat ditentukan dari nilai kandungan asam laktat dan uji organoleptik. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menentukan waktu inkubasi optimal dari produksi umbi garut probiotik sehingga mendapatkan nilai optimum dalam menurunkan kadar kolesterol.

2. METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah umbi garut berumur sekitar kurang lebih 8 bulanyang berasal dari perkebunan Laboratorium Biak sel dan Jaringan Tanaman LIPI-Bogor, kultur murni *L. fermentum*, media *De Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), indikator fenoltalein, Na-CMC, NaOH, asam oksalat, aluminium foil, akuades, alkohol 70%, susu skim *Ultra High Temperature* (UHT) tanpa lemak, tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley*, pakan tikus (BR2 dan jagung), sekam, kuning telur puyuh, dan simvastatin.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf, blender, kulkas, botol asi, pisau, neraca digital, peralatan gelas, pH meter, botol semprot, tisu, *laminar air flow* (LAF), buret, klem, statif, sentrifugator, *Hot plate*, plastik, karet, bunsen, inkubator, spuit, sonde, test strip kolesterol, kolesterolmeter, dan kandang tikus.

Pembuatan Starter Bakteri *Lactobacillus fermentum*

Pada saat pembuatan starter bakteri, dipersiapkan susu skim UHT tanpa lemak sebanyak 100 mL dan 3 mL *L. fermentum* dari stater awal campuran. Kemudian sebanyak 3 mL starter *L. fermentum* dimasukan ke 100 mL susu skim UHT tanpa lemak diinkubasi pada suhu 37°C selama 12 jam (Waty, 2018).

Pembuatan Suspensi Umbi Garut

Pada pembuatan suspensi umbi garut diambil 100 gram umbi garut direbus dengan 400 mL air selama kurang lebih 20 menit. Umbi garut yang sudah matang ditambahkan 300 mL akuades steril lalu dihomogenkan dengan cara dicampurkan selama kurang lebih 3 menit (Waty, 2018).

Fermentasi Umbi Garut

Suspensi umbi garut ditambahkan susu skim UHT tanpa lemak dengan perbandingan 2:1 dengan volume total sebanyak 150 mL. Starter *L. fermentum* sebanyak 2% (v/v) ditambahkan ke dalam media fermentasi umbi garut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 4, 8 dan 12 jam. Sampel hasil fermentasi umbi garut yang diperoleh akan dilakukan uji organoleptik, uji bakteri asam laktat, uji nilai pH, total asam laktat, uji kadar alkohol dan uji aktivitas penurunan kadar

kolesterol (Waty, 2018).

Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan menggunakan metode uji hedonik yang meliputi respon panelis terhadap warna, aroma, tekstur dan rasa. Kriteria penilaian yang digunakan yaitu: sangat suka, agak suka, kurang suka, dengan skala numerik dari 1 sampai 3. Uji organoleptik dilakukan di daerah Bogor terhadap 30 orang panelis dengan kriteria, yaitu bersedia untuk berpartisipasi, sehat dan tidak buta warna. Evaluasi sensorik dilakukan untuk memvalidasi kualitas hasil fermentasi umbi garut yang kualitas sensoriknya layak diterima oleh konsumen (Suryono *et al.*, 2005).

Nilai pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH-meter. Alat pH-meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan bufer untuk pH 4 dan pH 7. Sampel dimasukkan dalam botol corning sama banyak dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan elektroda pH-meter kedalam 10 mL filtrat (Jannah *et al.*, 2014).

Total Asam Laktat

Hasil fermentasi umbi garut diambil sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian diencerkan dengan 10 mL air destilat. Campuran ini ditambahkan indikator PP untuk uji total asam sebanyak 2 hingga 3 tetes. Hasil fermentasi kemudian dititrasasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda. NaOH distandarisasi terlebih dahulu menggunakan asam oksalat (AOAC, 1999).

$$\% \text{ total asam} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times BE \text{ Asam laktat} \times FP \times 100\%}{V \text{ Sampel} \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

Total Bakteri Asam Laktat

Hasil fermentasi umbi garut sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung berisi 9 mL aquades steril (pengenceran 10^{-1}). Pengenceran dilakukan secara berseri (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} dan seterusnya) sampai diperoleh tingkat pengenceran yang dikehendaki. Selanjutnya sebanyak 0,2 mL dari

tingkat pengenceran yang dikehendaki, dipipet ke dalam cawan petri steril kemudian ditambah kurang lebih 10 mL media MRS agar. Selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dan dihitung koloni yang tumbuh. Total bakteri asam laktat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Jannah *et al.*, 2014).

$$\text{Jumlah Koloni } \left(\frac{CFU}{mL}\right) = \frac{\text{Jumlah Koloni Bakteri} \times \text{Volume Sampel (mL)}}{\text{Faktor Sampel}} \dots\dots\dots (2)$$

Kadar Alkohol

Sampel hasil fermentasi umbi garut dimasukkan ke dalam gelas ukur 100 mL,

kemudian alkoholmeter (*Allafrance*) dicelupkan ke dalam gelas ukur yang berisi sampel. Nilai skala persentase kadar alkohol yang terkandung di dalam

sampel hasil fermentasi dibaca dan dicatat sesuai dengan skala persen kadar alkohol yang ditunjukkan oleh alat.

Uji Aktivitas Penurunan Kolesterol Total

Uji aktivitas penurunan kolesterol total sesuai dengan Fahri (2005). Sebanyak 30 tikus yang telah dibagi menjadi 6 kelompok diadaptasi untuk menyesuaikan diri dengan lingkungannya selama hari ke-0 hingga hari ke-7 dengan jagung dan minum. Tikus diukur kadar kolesterol totalnya pada hari ke-7. Sebelum pengukuran kadar kolesterol, tikus dipuaskan selama 12 jam untuk menjaga agar kadar kolesterol total darah stabil. Adapun prosedur pengukuran kolesterolnya, yaitu tikus dipegang dan ekor tikus dicelupkan ke dalam air hangat. Sampel darah pada tikus kemudian diambil melalui ekor tikus dengan cara memotong ujung ekor tikus. Sampel darah diteteskan di strip kolesterol pada kolesterolmeter (*Easy Touch GCU*) dan ditunggu beberapa detik kemudian dibaca kadar kolesterolnya.

Setelah dilakukan proses adaptasi, semua kelompok perlakuan diberi pakan tinggi kolesterol, yaitu larutan kuning telur puyuh sebanyak 1 mL yang mengandung kuning telur puyuh sebanyak 0,0296 gram pada hari ke-8 hingga hari ke-14 selama 7 hari. Setelah tujuh hari dilakukan induksi kuning telur puyuh, maka pada hari ke-15 diukur kadar kolesterol totalnya, kemudian dilanjutkan dengan pemberian akuades sebanyak 1 mL pada kelompok I (kontrol negatif), simvastatin 0,9 mg/kg BB pada kelompok II (kontrol positif), pemberian hasil fermentasi umbi garut umbi garut dengan bakteri *L. fermentum* 2% dengan waktu inkubasi 4 jam secara oral sebanyak 1 mL pada kelompok III, pemberian hasil fermentasi umbi garut dengan bakteri *L. Fermentum* 2% dengan waktu inkubasi 8 jam secara oral sebanyak 1 mL pada kelompok IV, pemberian hasil fermentasi umbi garut dengan bakteri *L. fermentum* 2% dengan waktu inkubasi 12 jam secara oral

sebanyak 1 mL pada kelompok V, dan pemberian suspensi umbi garut yang tidak di fermentasi secara oral sebanyak 1 mL pada kelompok VI. Pemberian dilakukan dengan cara disonde setiap hari sekali pada siang hari karena tikus merupakan hewan tipe nokturnal (aktif di malam hari), sehingga aktivitas enzim HMG-CoA reduktase pada tikus berada pada puncaknya pada periode tidak aktif (siang hari). Pemberian perlakuan dilakukan pada hari ke-15 hingga hari ke-21 selama 7 hari berturut-turut, kemudian pada hari ke-22 diukur dan dicatat kadar kolesterol totalnya.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Starter yang digunakan pada penelitian ini adalah *L. fermentum* (Lf). Fitriyani (2010) menyatakan suhu optimum pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (BAL) adalah 37°C. *L. Fermentum* merupakan BAL bersifat heterofermentatif yang dapat menghasilkan asam laktat dan etanol dari proses fermentasi karbohidrat. Asam laktat yang terbentuk pada proses fermentasi sebagian besar diubah menjadi asam asetat, asam propionat dan butirir melalui jalur asetil-KoA (Novia, 2012). Berdasarkan Faridah *et al.* (2017), inkubasi pada selang waktu setiap 4 jam akan dihasilkan produk hasil fermentasi dengan nilai populasi BAL, total asam laktat, serta pH yang berbeda. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan waktu inkubasi selama 4, 8 dan 12 jam pada suhu 37°C.

Uji organoleptik hasil fermentasi umbi garut baik pada rasa, aroma, tekstur dan warna menunjukkan adanya perubahan sifat organoleptik bila dibandingkan dengan suspensi umbi garut sebelum fermentasi (Tabel 1). Susu yang dicampurkan pada suspensi umbi garut membuat suspensi umbi garut putih keruh (Gambar 1). Terdapat perubahan warna dari warna putih kehijauan pada suspensi umbi garut sebelum fermentasi dan setelah proses fermentasi menjadi warna putih kekuningan. Hal ini disebabkan oleh adanya aktivitas pembentukan produk fermentasi yang dihasilkan *L. fermentum* terutama produk asam laktat dan asam asetat (Octavia, 2018).

Tabel 1. Hasil uji organoleptik fermentasi umbi garut

Sampel	Rasa	Aroma	Tekstur	Warna
Suspensi umbi garut	Sedikit manis	Khas umbi garut	Agak padat	Putih kehijauan
Hasil fermentasi umbi garut	Masam	Khas asam	Cairan kental	Putih kekuningan

Gambar 1. (a) Suspensi umbi garut, (b) Hasil fermentasi umbi garut

Selain perubahan warna, fermentasi umbi garut juga menyebabkan perubahan aroma. Umbi garut sebelum fermentasi memiliki aroma khas umbi dan setelah dilakukan proses fermentasi aroma umbi garut menjadi aroma khas asam. Perubahan aroma ini disebabkan adanya aktivitas BAL dalam keadaan anaerob. BAL menggunakan energi dari glukosa umbi garut. Dalam keadaan anaerob, glukosa dari suspensi umbi garut akan diuraikan menjadi asam piruvat yang selanjutnya diuraikan menjadi asam laktat, asam asetat, etanol, CO₂ dan sejumlah bahan organik yang mudah menguap seperti alkohol, asetaldehida, ester, dan lain-lain. Ester yang diperoleh dari hasil mekanisme glikolisis ini menyebabkan perubahan aroma pada suspensi umbi garut (Octavia, 2018).

Octavia (2018) menyatakan bahwa perubahan rasa pada fermentasi umbi garut disebabkan oleh penambahan susu dan adanya aktivitas BAL selama proses fermentasi. Susu memiliki kandungan protein dan laktosa yang

tinggi. Protein dalam susu akan diuraikan oleh bakteri *L. fermentum* selama proses fermentasi berlangsung, menghasilkan peptida dan asam amino yang berpengaruh terhadap rasa. Rasa dari umbi garut yang sebelum difermentasi adalah agak manis menjadi rasa masam setelah mengalami proses fermentasi. Rasa masam yang terbentuk karena adanya produk asam laktat dan asam asetat yang terbentuk dari fermentasi laktosa oleh bakteri *L. fermentum* (Octavia, 2018).

Tabel 2 menunjukkan bahwa rasa kesukaan panelis terhadap hasil fermentasi umbi garut berkisar antara 1,40 (kurang suka)– 1,53 (kurang suka). Dari segi aroma, rata-rata aroma kesukaan panelis terhadap hasil fermentasi umbi garut berkisar 1,26 (kurang suka) – 1,60 (kurang suka). Dari segi tekstur, rerata tekstur kesukaan panelis terhadap fermentasi umbi garut berkisar 1,60 (kurang suka) – 1,86 (cukup suka), sedangkan dari warna rata-rata rasa kesukaan panelis terhadap fermentasi umbi garut berkisar 1,70 (cukup suka) – 1,83 (cukup suka). Berdasarkan penilaian tersebut, maka penerimaan panelis secara keseluruhan untuk semua sampel adalah kurang suka. Hal ini, diduga karena penerimaan terhadap beberapa parameter uji rasa dan aroma tidak jauh berbeda sehingga panelis beranggapan bahwa secara keseluruhan antar sampel tidak ada perbedaan. Hal ini sangat wajar, karena panelis pada umumnya lebih terbiasa dengan minuman fermentasi yang telah diberi pemanis dan pewarna, sedangkan minuman fermentasi yang disajikan merupakan minuman fermentasi dari hasil fermentasi umbi garut yang didominasi rasa asam.

Tabel 2. Hasil respon panelis terhadap warna, aroma, tekstur dan rasa minuman fermentasi umbi garut

Uji Organoleptik	Sampel		
	A	B	C
Rasa	1,53±0,5074	1,40±0,4982	1,53±0,5713
Aroma	1,60±0,5632	1,26±0,5208	1,56±0,5040
Tekstur	1,86±0,7760	1,60±0,6064	1,73±0,6914
Warna	1,83±0,6989	1,70±0,7497	1,83±0,7466

Ket: A= Hasil fermentasi umbi garut menggunakan bakteri Lf dengan inkubasi 4 jam, B= Hasil fermentasi umbi garut menggunakan bakteri Lf dengan inkubasi 8 jam, C= Hasil fermentasi umbi garut menggunakan bakteri Lf dengan inkubasi 12 jam (1= kurang suka, 2= cukup suka, 3= suka)

Setelah dilakukan uji organoleptik umbi garut yang telah difermentasi, dilakukan juga uji pH, total asam laktat, total BAL dan uji kadar alkohol yaitu diperoleh data pada Tabel 3. Berdasarkan Tabel 3, hasil pengamatan pH pada fermentasi umbi garut menurun antara 5,25 hingga

5,96 dari pH suspensi umbi garut sebelum fermentasi adalah 7. Nilai tersebut belum memenuhi syarat karena nilai standar pH minuman probiotik sekitar pH 4-5. Sementara itu, nilai pH ketiga sampel masih cukup tinggi yaitu sampel A sebesar 5,96; sampel B sebesar 5,34 dan sampel C

yang sedikit mendekati sebesar 5,25. Nilai pH hasil fermentasi umbi garut pada semua waktu inkubasi berbeda nyata ($<0,05$). Penurunan pH pada fermentasi umbi garut ini diakibatkan oleh adanya aktivitas BAL. Akibat dari aktivitas tersebut maka terjadilah proses glikolisis dimana senyawa kompleks (glukosa) dari suspensi umbi garut maupun laktosa dari susu akan dipecah menjadi asam laktat yang pada akhirnya dapat menurunkan pH fermentasi umbi garut (Octavia, 2018).

Pada Tabel 3, pengujian total asam laktat pada fermentasi umbi garut yaitu, sampel A sebesar 0,85%, sampel B sebesar 0,96% dan C sebesar 1,65%. Total asam laktat hasil fermentasi umbi garut dengan waktu inkubasi 12 jam berbeda nyata ($<0,05$) dengan nilai total asam laktat hasil fermentasi dengan waktu inkubasi 4 dan 8 jam. Keasaman fermentasi umbi garut yang dihasilkan masih sesuai dengan ketentuan dari SNI untuk produk minuman probiotik yaitu 0,5–2,0%. Berdasarkan hasil pengujian total asam laktat terhadap hasil fermentasi umbi garut dapat diketahui bahwa lama fermentasi berpengaruh terhadap total asam laktat. Hal ini terlihat bahwa semakin lama waktu fermentasi semakin meningkat pula total asam laktat hasil fermentasi umbi garut tersebut. Selain itu, adanya glukosa dari umbi garut dan susu juga dapat digunakan oleh

bakteri tersebut sebagai sumber energi sehingga pembentukan asam laktat semakin optimal. Berdasarkan hasil penelitian, kondisi asam laktat berbanding terbalik dengan kondisi pH yang semakin menurun seiring meningkatnya waktu inkubasi.

Perhitungan total BAL dengan menggunakan metode *Total Plate Count* untuk mengetahui viabilitas dari BAL yang berada dalam fermentasi umbi garut. Pada Tabel 3, pengujian total BAL dari hasil fermentasi umbi garut dengan waktu inkubasi 4 jam sebanyak $5,4 \times 10^8$ CFU/mL, fermentasi umbi garut dengan waktu inkubasi 8 jam sebanyak $3,6 \times 10^8$ CFU/mL, dan fermentasi umbi garut dengan waktu inkubasi 12 jam sebanyak $6,4 \times 10^8$ CFU/mL. Hasil perhitungan viabilitas BAL pada fermentasi umbi garut menunjukkan bahwa jumlah viabilitas tertinggi adalah fermentasi umbi garut dengan waktu inkubasi 12 jam. Jumlah bakteri tersebut telah memenuhi standar untuk produk probiotik dengan jumlah minimal bakteri 10^6 – 10^7 CFU/mL. Jumlah tersebut adalah jumlah sel minimal yang memberikan efek kesehatan pada manusia (Manea *et al.*, 2010). Kadar alkohol dari hasil fermentasi umbi garut pada semua waktu inkubasi diketahui tidak terdeteksi.

Tabel 3. Hasil uji pH, total asam laktat, total BAL, dan kadar alkohol fermentasi umbi garut

Uji	Sampel		
	A	B	C
pH	5,96 $\pm$ 0,005 ^a	5,34 $\pm$ 0,015 ^b	5,25 $\pm$ 0,020 ^c
Total asam laktat (%)	0,85% $\pm$ 0,092 ^a	0,96% $\pm$ 0,211 ^a	1,65% $\pm$ 0,080 ^b
Total BAL (CFU/ mL)	$5,4 \times 10^8$ ^b	$3,6 \times 10^8$ ^a	$6,4 \times 10^8$ ^b
Kadar alkohol (%)	-	-	-

Ket: Notasi huruf yang berbeda dan pada baris yang sama, menunjukkan perbedaan signifikan (berdasarkan uji *one way ANOVA* dan dilanjutkan dengan *Post Hoc Tests Duncan*).

A= Hasil fermentasi umbi garut menggunakan bakteri Lf dengan inkubasi 4 jam, B= Hasil fermentasi umbi garut menggunakan bakteri Lf dengan inkubasi 8 jam, C= Hasil fermentasi umbi garut menggunakan bakteri Lf dengan inkubasi 12 jam

Hewan uji yang telah diberikan asupan kolesterol dengan kuning telur puyuh selama 7 hari diberikan perlakuan selama 7 hari untuk diukur dan dicatat kadar kolesterol totalnya. Hasil pengukuran kadar kolesterol hewan uji sebelum, setelah induksi dan setelah perlakuan dapat disajikan pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan bahwa persentase rata-rata penurunan kadar kolesterol oleh minuman probiotik dari umbi garut berbeda antara

kelompok kontrol negatif dan kontrol positif dengan hasil fermentasi umbi garut. Persentase rata-rata penurunan kadar kolesterol pada kelompok (kontrol positif) dan kontrol negatif berbeda nyata ($\alpha < 0,05$). Semakin tinggi jumlah BAL, potensi penurunan kadar kolesterol total semakin tinggi. Hal ini disebabkan, semakin tinggi jumlah BAL maka sekresi enzim BSH (*Bile Salt Hydrolase*) semakin meningkat. Selain itu, umbi garut sendiri dapat menurunkan kadar kolesterol

K1= kontrol negatif, K2= kontrol positif, K3= waktu inkubasi 4 jam, K4= waktu inkubasi 8 jam, K5= waktu inkubasi 12 jam, K6= umbi garut yang tidak difermentasi

Gambar 2. Penurunan kadar kolesterol total (%)

karena mengandung pektin yang menyebabkan terjadinya eliminasi kolesterol dari tubuh dalam bentuk asam empedu yang mengakibatkan tubuh menggunakan kolesterol dalam darah untuk menggantikan asam empedu yang hilang (Endrinaldi, 2012). Dilihat dari hasil percobaan pada K6 yang menggunakan umbi garut memberikan hasil yang cukup bagus dalam menurunkan kadar kolesterol dibandingkan dengan K1 tanpa penambahan umbi, yaitu penurunannya sebesar 12,10% untuk K6 dan 9,42% untuk K1. Hasil tersebut menunjukkan bukti bahwa umbi garut memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar kolesterol karena terdapat kandungan pektin di dalamnya.

Penurunan kadar kolesterol pada hewan uji kemungkinan karena adanya bakteri probiotik yang terkandung dalam hasil fermentasi umbi garut. Penurunan kolesterol oleh bakteri probiotik terjadi dengan menyerap sejumlah kolesterol ke dalam selnya. Pada sel bakteri probiotik mengandung fosfolipid bilayer yang mampu menarik kolesterol ke dalam selnya. Bakteri probiotik menghasilkan kofaktor kolesterol dehidrogenase yang berfungsi mengaktifkan enzim kolesterol reduktase untuk mengkonversi kolesterol menjadi kosprotanol. Kosprotanol merupakan sterol yang tidak dapat diserap oleh usus dan dikeluarkan melalui feses sehingga kolesterol dapat turun (Ooi dan Liong, 2010).

4. KESIMPULAN

Penurunan kadar kolesterol total tertinggi terjadi pada fermentasi umbi garut dengan waktu inkubasi 12 jam dengan nilai persentase penurunan 28,56%. Penurunan kadar kolesterol total pada hasil fermentasi umbi garut oleh *L. fermentum* dengan waktu inkubasi 12 jam lebih tinggi dan berbeda nyata ($\alpha < 0,05$) dengan aktivitas penurunan kadar kolesterol total oleh *L. fermentum* dengan waktu inkubasi 4 dan 8 jam. Hasil fermentasi umbi garut oleh *L. fermentum* dengan waktu inkubasi 12 jam berpotensi sebagai agen antihiperkolesterolemia karena meningkatnya total asam laktat (1,65%) dan BAL ($6,4 \times 10^8$ CFU/mL).

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, K. A., & Abd El-Twab, T. M. (2009). Oxidative markers, nitric oxide and homocysteine alteration in hypercholesterolemic rats: Role of atorvastatin and cinnamon. *Int J Clin Exp Med.*, 2(3), 254-265.
- [AOAC]. (1999). Official Methods of Analysis of The Association Analytical Chemist. *Virginia :AOAC, Inc, 15th* (Volume 1), 136138.
- Chand, D., Avinash, V.S., Yadav, Y., Pundle, A.V., Suresh, C.G., & Ramasamy, S. (2017). Molecular features of bile salt hydrolases and relevance in human health. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1861(1), 2981-2991.
- Emmawati, A., Jenie, B. S. L. S., Nuraida, L., & Syah, D. (2015). Karakterisasi isolat bakteri asam laktat dari mandai yang berpotensi sebagai probiotik. *Jurnal Agritech*, 35(2), 146-155.

- Endrinaldi, & Asterina. (2012). Pengaruh pemberian ekstrak pepaya terhadap kadar kolesterol total, ldl dan hdl darah tikus putih jantan. *Majalah kedokteran Andalas*, 36(1), 29-38.
- Fahri, C., Sutarno, & Listyawati, S. (2005). Kadar glukosa dan kolesterol total darah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) hiperglikemik setelah pemberian ekstrak metanol akar meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Jurnal Biofarmasi*, 3(1), 1-6.
- Faridah, R., Taufik, E., & Arief, I. I. (2017). Pertumbuhan dan produksi bakteriosin *Lactobacillus fermentum* asal dangke pada media Whey dangke. *Jurnal Agripet.*, 17(2), 81-86.
- Fitriyani, I. (2010). Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat (BAL) dari Buah Matang yang Berpotensi Menghasilkan Antimikrobia. [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
- Ibrahim, A., Fridayanti, A., & Delvia, F. (2015). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari buah mangga (*Mangifera indica* L.). *Ilmiah Manuntung*, 1(2), 159-163.
- Jannah, A. M., Legowo, A. M., Pramono, Y.B., Al-baarri, A. N., & Abduh, S. B. M. (2014). Total bakteri asam laktat, ph, keasaman, citarasa dan kesukaan yogurt drink dengan penambahan ekstrak buah belimbing. *Aplikasi Teknologi Pangan*, 3(2), 7-11.
- Kumalasari, I. D., Harmayani, E., Lestari, L. A., Raharjo, S., Asmara, W., Nishi, K., & Sugahara, T. (2012). Evaluation of immunostimulatory effect of the arrowroot (*Maranta arundinacea*. L) in vitro and in vivo. *Cytotechnology*, 64(2), 131-137.
- Kusharto, C. M. (2007). Serat makanan dan perannya bagi kesehatan. *Jurnal Gizi Dan Pangan*, 1(2), 45-54.
- Manea, I., & Buruleanu, L. (2010). Study of the effects shown by the action of various microorganisms on the lactic fermentation of juices. *Annalis Food Science and Technology*, 11(1), 60-63.
- Naim, H.Y. (2011). Pengaruh Pemberian Yoghurt Kedelai Hitam (*Black Soyghurt*) terhadap Profil Lipid Serum. [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro Semarang.
- Novia, D. (2012). Pembuatan Yogurt Nabati melalui Fermentasi Susu Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris*) Menggunakan Kultur Backslop. [Skripsi]. Depok: Universitas Indonesia.
- Octavia, N. D. (2018). Formulasi Minuman Sari Pepaya (*Carica papaya* L.) Probiotik Untuk Penurunan Kadar Kolesterol Total pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Sprague Dawley. [Skripsi]. Bogor: Sekolah Tinggi Teknologi dan Industri Farmasi.
- Ooi, L. & Liong, M. 2010. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics : a review of in vivo and in vitro findings. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 2499-2522.
- Putri, A. L. O., & Kusdiyantini, E. (2018). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat dari pangan fermentasi berbasis ikan (Inasua) yang diperjualbelikan di Maluku-Indonesia. *Jurnal Biologi Tropika*, 1(2), 6-12.
- Romadhon, Subagiyo, & Margino, S. (2012). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari usus udang penghasil bakteriosin sebagai agen antibakteria pada produk-produk hasil perikanan. *Jurnal Sainstek Perikanan*, 8(1), 59-64.
- Suryono, Sudono, A., Sudarwanto, M., & Apriyantono, A. (2005). Studi pengaruh penggunaan bifidobakteria terhadap flavor yoghurt. *Teknologi dan Industri Pangan*, 16(1), 62-70.
- Waty, A. R. (2018). Potensi Penurunan Kadar Kolesterol Total Dari Hasil Fermentasi Umbi Garut oleh *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus fermentum* pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). [Skripsi]. Bogor: Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor.
- World Health Organization. (2013). *World health statistic 2013*. Italy: WHO.
- Yani, M. (2015). Mengendalikan kadar kolesterol pada hiperkolesterolemia. *Jurnal Olahraga Prestasi*, 11(2), 3-7.
- Yuniastuti, A., Susanti, R., & Iswari, R. S. (2018). Efek infusa umbi garut (*Marantha arundinaceae* L) terhadap kadar glukosa dan insulin plasma tikus yang diinduksi *Streptozotocin*. *Jurnal MIPA*, 41(1), 34-39.