

Pengaruh Lama Dan Suhu Penyimpanan ASI Terhadap Total Koloni Bakteri Asam Laktat (BAL), Total Koloni Bakteri Aerob Dan Keasaman Dalam ASI

Netti Suharti, Siska Indrayani², Eny Yantri³

Abstrak

Pemberian ASI mempunyai peranan penting untuk pertumbuhan, kesehatan dan kelangsungan hidup bayi. Namun pada saat ini, banyak ibu berhenti menyusui bayinya dengan alasan bekerja. Sebenarnya, ibu bekerja dapat menyusui bayi mereka secara tidak langsung karena ASI dapat disimpan dan memberikan kepada bayinya saat ibu sedang bekerja. Kualitas ASI yang disimpan tergantung pada lama dan suhu penyimpanan ASI. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama penyimpanan ASI terhadap total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL), total koloni bakteri aerob dan keasaman dalam ASI. Desain penelitian adalah *pretest-posttest Control Group Design* dengan jenis penelitian *True Experiment*. Populasi pada penelitian ini adalah ASI yang didapatkan dari ibu-ibu yang menitipkan bayinya di TPA. ASI yang memenuhi kriteria sampel lalu diperah oleh ibu menyusui sebanyak 35 ml. Selanjutnya dilakukan penyimpanan dan pemeriksaan ASI di Laboratorium THT Faterna UNAND. Analisa data menggunakan uji *Kruskal-Wallis Test* untuk mengetahui faktor lama penyimpanan ASI dan dilanjutkan *poshoct Mann-Whitney*. Sedangkan untuk mengetahui faktor suhu penyimpanan ASI menggunakan Uji *Mann-Whitney*. Terdapat perbedaan yang signifikan terhadap total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL), total koloni bakteri aerob dan keasaman di dalam ASI selama 1 hari, 5 hari dan 14 hari ($p < 0,05$). Terdapat perbedaan total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL) pada suhu -15°C dan 4°C ($p < 0,05$) dan tidak terdapat perbedaan total koloni bakteri aerob dan keasaman pada suhu -15°C dan 4°C ($p > 0,05$). Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh lama penyimpanan ASI terhadap total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL), total koloni bakteri aerob dan keasaman di dalam ASI. Sedangkan suhu dari penyimpanan ASI mempengaruhi total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL), tetapi tidak ada pengaruh suhu terhadap total koloni bakteri aerob dan keasaman di dalam ASI.

Kata kunci: Lama Penyimpanan, Suhu Penyimpanan, BAL, Bakteri aerob, Keasaman, ASI.

Abstract

Breastfeeding has crucial role for growth, health, and survivality of the baby. But nowadays, many mothers stop breastfeeding her babies because of work. Actually, Working mothers can breastfeed her babies indirectly because breastmilk can be stored, So the baby still can get it while the mother was at work. The quality of stored breastmilk depends on the duration and temperature of its storage. The purpose of this study was to determine the effect of duration and temperature of breastmilk storage to the total lactic acid bacteria colonies (LAB), total aerobic bacterial colonies, and acidity rate of the breastmilk. The design of this study was *pretest-posttest control group design* with the true experimental study. The population of this study was breastmilk obtained from the mothers who leave their baby at baby daycares. Breast milk that meets the sample criteria then milked by the mother as much as 35 ml. After that, the breastmilk was stored and then the examination was performed in the THT laboratory of agriculture faculty of UNAND. The data were analyzed by *Kruskal-Wallis Test* to find the duration factors of breastmilk storage and then continued by *poshoct Mann-Whitney*. While the temperature factors of breastmilk storage were analyzed using *Mann-Whitney Test*. There was a significant difference of the total lactic acid bacteria (LAB) colonies, total aerobic bacterial colonies, and acidity rate in breastmilk after 1 days, 5 days and 14 days ($p < 0.05$). There was a difference in total colony of lactic acid bacteria (LAB) at a temperature of -15°C and 4°C ($p < 0.05$) and there was no difference in total aerobic bacterial colonies and acidity rate at a temperature of -15°C and 4°C ($p > 0.05$). The conclusion of this study was there was an effect of the duration of breastmilk storage to the total lactic acid bacteria (LAB) colonies, total aerobic bacterial colonies, and acidity rate in the breast milk. While the temperature of the breastmilk storage affect a total of lactic acid bacteria (BAL) colonies, but there was no effect of the storage temperature to total aerobic bacterial colonies and acidity rate in the breastmilk.

Key words : Storage duration, storage temperature, LAB, aerobic bacterial acidity rate, breastmilk.

Afiliasi penulis :1. Program Studi Magister S2 Kebidanan FK UNAND, 2.Bagian Mikrobiologi FK Unand3. Bagian Perinatologi RSUP.dr.M.Djamil/FK UNAND

Korespondensi :Siska Indrayani

email: lkaindrayani86@yahoo.com, Telp: 08127686240

PENDAHULUAN

ASI merupakan makanan yang terbaik untuk bayi pada awal kehidupan sehingga pemberian ASI mempunyai peranan penting untuk pertumbuhan, kesehatan dan kelangsungan hidup bayi. *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan sebaiknya bayi diberikan ASI selama paling sedikit 6 bulan dan makanan pendamping ASI seharusnya diberikan sesudah bayi berumur 6 bulan dan ASI tetap dilanjutkan sampai anak berumur dua tahun^(3, 13).

Pemberian ASI mempunyai peranan penting untuk pertumbuhan, kesehatan dan kelangsungan hidup bayi, karena ASI kaya dengan zat gizi dan antibodi yang terdiri dari karbohidrat, lemak, protein, imunoglobulin, laktoferin, komplemen, lisozim, oligosakarida, sitokin, dan makrofag⁽¹⁾. Selain zat-zat yang terkandung didalamnya, pada ASI juga ditemukan bakteri probiotik yang mengatur fungsi kekebalan tubuh dan meningkatkan resistensi terhadap bakteri patogen pada usus⁽⁷⁾. Bakteri probiotik yang banyak dikenal termasuk kelompok bakteri asam laktat (BAL) dan termasuk mikroorganisme yang aman dan dapat membantu kesehatan total⁽¹⁵⁾.

Melihat keuntungan-keuntungan diatas membuat sebagian orang perlu berpikir ulang untuk memberikan makanan pada bayi mereka selain ASI. Pada kenyataannya, pemberian ASI eksklusif belum maksimal. Salah satu faktor terjadinya kegagalan pemberian ASI eksklusif dikarenakan ibu bekerja yang beranggapan tidak dapat memberikan ASI eksklusif kepada bayinya. Faktor-faktor yang menjadi penghambat bagi ibu yang bekerja dalam pemberian ASI eksklusif tidak akan terjadi jika ibu memiliki pengetahuan yang benar tentang menyusui, perlengkapan pemerahan ASI dan dukungan lingkungan kerja bagi ibu yang bekerja^(4, 5). Penyimpanan ASI untuk jangka waktu tertentu tidak dapat dihindari terutama bagi ibu bekerja yang menitipkan anaknya baik dengan keluarga maupun pada TPA. Akan tetapi jangka waktu yang cukup lama dalam penyimpanan

ASI akan mempengaruhi kualitas ASI. Selain itu ketakutan terbesar adalah kemungkinan terjadinya kontaminasi bakteri dan pertumbuhan bakteri yang membuat ASI menjadi tidak segar sehingga tidak aman untuk dikonsumsi oleh bayi^(6, 10). Kondisi penyimpanan ASI yang dilakukan oleh ibu selama bekerja yang kemudian diberikan kepada bayinya terkadang kurang optimal. Kondisi penyimpanan yang optimal diperlukan karena ASI merupakan produk/bahan pangan dari manusia yang dalam hal ini dikategorikan sebagai hewan mamalia. Bahan pangan nabati relatif lebih tahan lama waktu simpannya daripada hewani. Hal ini berarti ASI sebagai produk hewani mamalia relatif pendek waktu simpannya sehingga untuk penyimpanan ASI perlu kondisi yang optimal dan metode yang paling sesuai dari berbagai macam metode penyimpanan yang ada⁽⁶⁾.

Terdapat perubahan keasaman ASI yang telah disimpan pada suhu -5°C. Perubahan keasaman ini dapat disebabkan oleh bakteri yang terdapat di dalam ASI selama penyimpanan. Adapun jenis bakteri yang terdapat di dalam ASI merupakan flora normal yang biasa pada kulit dan bakteri probiotik yang dikenal dengan bakteri asam laktat (BAL)⁽²⁾.

Tujuan penelitian ini mengetahui pengaruh lama dan suhu penyimpanan ASI terhadap total koloni bakteri asam laktat (BAL), total koloni bakteri aerob dan keasaman dalam ASI.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Tempat Penitipan Anak (TPA) Kelurahan Koto Tengah Padang dan Laboratorium Mikrobiologi Teknologi Hasil Ternak (THT) Fatma Universitas Andalas Padang pada Desember 2015 sampai dengan Oktober 2016. Penelitian ini merupakan penelitian *True Experiment* (eksperimental murni) dengan Desain yang digunakan adalah *Pretest-posttest Control Group Design*. Populasi penelitian ini adalah ASI yang didapatkan dari ibu-ibu yang menitipkan anaknya di TPA kelurahan Koto Tengah Padang. Sampel pada penelitian ini adalah semua populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Pengambilan sampel ASI dilakukan dengan cara pemerahan ASI yang dilakukan oleh ibu dengan

didampingi oleh peneliti sesuai dengan tempat yang diinginkan oleh ibu tersebut. Sampel ASI diambil sebanyak 35ml selanjutnya ASI dimasukkan ke dalam botol ASI yang telah disiapkan dan dibawa ke laboratorium dengan menggunakan *cooling bag*. Lalu ASI dibagi menjadi 7 botol ASI dengan masing-masing botol ASI diisi 5 ml ASI setelah itu botol ASI segera ditutup kemudian disimpan pada suhu -15°C dan diletakan pada suhu 4°C sebagai pembandingan dengan lama simpan yang sama sesuai dengan perlakuan yaitu: 0 hari, 1 hari, 5 hari dan 14 hari.

Pemeriksaan total koloni bakteri aerob dan BAL di dalam ASI menggunakan *Quebec Colony Counter Forming Unit* dan keasaman di dalam ASI menggunakan pH meter yang dilakukan di laboratorium THT Faterna UNAND. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Panitia Etik Penelitian di Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji Kruskal Wallis Test dan *Mann-Whitney Test*.

ASI	Hasil Pewarnaan Gram	Gram dan bentuk
01		bakteri gram positif dan bentuk bacil
02		bakteri gram positif dan bentuk bacil
03		bakteri gram positif dan bentuk bacil
04		bakteri gram positif dan bentuk coccus
05		bakteri gram positif dan bentuk coccus
06		bakteri gram positif dan bentuk coccus
07		bakteri gram positif dan bentuk coccus
08		bakteri gram positif dan bentuk coccus

Tabel 2 Perbedaan Rerata total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Lama Penyimpanan Pada Suhu -15°C

Lama Penyimpanan	Rerata \pm SD (CFU/ml ASI)	p
0 hari (kontrol)	$1895 \times 10^6 \pm 551.67 \times 10^6$	0,000
1 hari	$36.25 \times 10^6 \pm 11,88 \times 10^6$	
5 hari	$2.37 \times 10^6 \pm 1.19 \times 10^6$	
14 hari	$0.62 \times 10^6 \pm 0.54 \times 10^6$	

HASIL

Tabel 1 Jenis bakteri asam laktat (BAL) dalam ASI segar

Tabel 3 Perbedaan Rerata total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL) Berdasarkan Lama Penyimpanan Pada Suhu 4°C

Lama Penyimpanan	Rerata ± SD (CFU/ml ASI)	p
0 hari (kontrol)	1895 x 10 ⁶ ± 551.67 x 10 ⁶	
1 hari	12,50 x 10 ⁶ ± 4,63 x 10 ⁶	
5 hari	1,00 x 10 ⁶ ± 0,00 x 10 ⁶	0,000
14 hari	0,62 x 10 ⁶ ± 0,47 x 10 ⁶	

Tabel 4. Uji *Posthoc Mann-Whitney* terhadap total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL) di dalam ASI berdasarkan lama penyimpanan

Penyimpanan	1 hari -15°C	5 hari- 15 °C	14 hari -15 °C	1 hari 4°C	5 hari4°C	14 hari 4°C
Kontrol						
0 hari	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.001

Tabel 5. Pengaruh lama penyimpanan terhadap total koloni bakteri aerob di dalam ASI pada suhu -15°C

Lama Penyimpanan	Rerata ± SD (CFU/ml ASI)	p
0 hari (kontrol)	1,50 x 10 ⁵ ± 551.67 x 10 ⁵	
1 hari	1.50 x 10 ⁵ ± 11,88 x 10 ⁵	
5 hari	2.00x 10 ⁵ ± 1,19 x 10 ⁵	0,000
14 hari	13.63 x 10 ⁵ ± 0,54 x 10 ⁵	

Tabel 6. Pengaruh lama penyimpanan terhadap total koloni bakteri aerob di dalam ASI pada suhu 4°C

Lama Penyimpanan	Rerata ± SD (CFU/ml ASI)	p
0 hari (kontrol)	1.50x10 ⁵ ± 551.67 x 10 ⁵	
1 hari	3.63x10 ⁵ ± 3.92 x 10 ⁵	
5 hari	10.63x10 ⁵ ± 10,54 x 10 ⁵	0,000
14 hari	34.75x10 ⁵ ± 11.79 x 10 ⁵	

Tabel 7. Uji *Posthoc Mann-Whitney* terhadap total koloni bakteri aerob di dalam ASI berdasarkan lama penyimpanan

Penyimpanan	1 hari -15 °C	5 hari -15 °C	14 hari -15 °C	1 hari 4°C	5 hari4°C	14 hari 4°C
Kontrol						
0 hari	1.000	0.304	0.001	0.076	0.005	0.001

Tabel 8. Perbedaan rerata keasaman berdasarkan lama penyimpanan pada suhu - 15°C

Lama Penyimpanan	Keasaman (pH) Rerata ± SD	p
0 hari (kontrol)	7,03 ± 0,38	
1 hari	6,90 ± 0,37	
5 hari	6,62 ± 0,36	0,000
14 hari	6,00 ± 0,23	

Tabel 9. Perbedaan rerata keasaman berdasarkan lama penyimpanan pada suhu 4°C

Lama Penyimpanan	Keasaman (pH) Rerata ± SD	p
0 hari (kontrol)	7,03 ± 0,38	
1 hari	6,77 ± 0,40	
5 hari	6,22 ± 0,71	0,000
14 hari	5,37 ± 0,43	

Tabel 10. Uji *Posthoc Mann-Whitney* terhadap keasaman di dalam ASI berdasarkan lama penyimpanan

Penyimpanan	1 hari -15 °C	5 hari -15 °C	14 hari -15 °C	1 hari 4°C	5 hari4°C	14 hari 4°C
Kontrol						
0 hari	0.036	0.008	0.002	0.023	0.008	0.001

Tabel 11. Perbedaan suhu penyimpanan terhadap total koloni bakteri asam laktat (BAL) di dalam ASI

Suhu Penyimpanan	Rerata (CFU/ml ASI)	p
-15°C	36,25 x 10 ⁶	0,001
4°C	12.50 x 10 ⁶	

Tabel 12. Perbedaan suhu penyimpanan terhadap total koloni bakteri aerob di dalam ASI

Suhu Penyimpanan	Rerata (CFU/ml ASI)	p
-15°C	1,50 x 10 ⁵	0,076
4°C	3,63 x 10 ⁵	

Tabel 13. Perbedaan suhu penyimpanan terhadap keasaman di dalam ASI

Suhu Penyimpanan	Rerata (CFU/ml ASI)	p
-15°C	6,90	0,258
4°C	6,77	

PEMBAHASAN

Jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam ASI segar

Berdasarkan hasil penelitian ini dari 8 ASI ditemukannya bakteri gram positif yang berbentuk bacil dan coccus yang merupakan Bakteri Asam Laktat (BAL). Pada uji karakteristik bakteri ini nonmotil dan menunjukkan hasil positif pada uji proteolitik dan uji amilolitik. Bakteri Asam Laktat (BAL) menunjukkan hasil negatif pada uji lipolitik, sedangkan pada uji bakteri ini menunjukkan hasil yang negatif. Bakteri ini berbentuk batang dan bulat serta sering membentuk pasangan dan rantai pendek dari sel-selnya, selnya tidak berspora. Selnya batang berpasangan dan berwarna ungu. Warna ungu ini disebabkan karena dinding selnya mengikat zat warna kristal violet. Oleh karena itu bakteri ini disebut bakteri Gram positif karena mengikat zat warna dasar. Sesuai dengan teori bahwa bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram-positif yang berbentuk batang atau bulat, tidak membentuk spora, tidak memiliki

kemampuan untuk mereduksi nitrat dan memanfaatkan laktat⁽¹⁵⁾.

Pada abad ke 21 didapatkan laporan hasil penelitian yang menunjukkan adanya Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam ASI dan merupakan bakteri probiotik. Menurut WHO probiotik merupakan organisme hidup yang dapat memberikan keuntungan terhadap kesehatan kepada *host* apabila dikonsumsi sebagai *food suplemen*. Probiotik disebut juga dengan bakteri baik⁽⁷⁾. Hal ini juga sejalan dengan hasil penelitian yang menggambarkan bahwa isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari susu manusia yaitu, *L. gasseri*, *L. salivarius* CECT5713 dan *L. fermentum* CECT5716⁽⁸⁾.

Berdasarkan hasil penelitian diatas dapat disimpulkan bahwa Bakteri Asam Laktat (BAL) yang terdapat di dalam ASI sangat berperan pada fase-fase penting dalam proses awal pada kolonisasi usus neonatus, sesuai dengan hasil penelitian bahwa bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat di dalam ASI dapat berkontribusi untuk perlindungan anti-infeksi pada neonatus dan memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri patogen⁽¹¹⁾.

Pengaruh lama penyimpanan terhadap total koloni bakteri asam laktat (BAL) dalam ASI

Hasil penelitian memperlihatkan rata-rata total koloni bakteri asam laktat (BAL) berdasarkan lama penyimpanan ASI mengalami penurunan dari sebelum penyimpanan sampai setelah penyimpanan 1 hari, 5 hari dan 14 hari pada suhu -15°C dan 4°C. Dapat dilihat dari tabel 2. yang menunjukkan lama penyimpanan ASI pada suhu -15°C mengalami penurunan dengan diperoleh rata-rata total koloni bakteri asam laktat (BAL) yaitu menurun dari sebelum penyimpanan hingga perlakuan penyimpanan 14 hari yaitu dari sebanyak 1895 x 10⁶ CFU/ml ASI menjadi 0,62 x 10⁶ CFU/ml ASI. Hal ini menggambarkan bahwa total koloni bakteri asam laktat (BAL) lama penyimpanan hari ke 14 berada di bawah batas minimum.

Menurut SNI, syarat sebagai probiotik yang mampu memberikan pengaruh positif bagi kesehatan yaitu 1 x 10⁶ - 1 x 10⁹ CFU/ml sedangkan lama penyimpanan pada suhu 4°C pada tabel 3. didapatkan bahwa perlakuan lama penyimpanan 5 hari diperoleh

rata-rata total koloni bakteri asam laktat (BAL) yaitu sebanyak $1,00 \times 10^6$ CFU/ml ASI dan perakuan lama penyimpanan 14 hari diperoleh rata-rata $0,62 \times 10^6$ CFU/ml ASI. Hal ini menggambarkan bahwa total koloni bakteri asam laktat (BAL) dengan lama penyimpanan ASI hari ke 5 pada suhu 4°C sudah berada di batas minimum sebagai probiotik yang mampu memberikan pengaruh positif bagi kesehatan.

Berdasarkan hasil tabel 2. dan tabel 3. juga terdapat perbedaan yang signifikan terhadap total koloni bakteri asam laktat (BAL) antara variasi lama penyimpanan 1 hari, 5 hari dan 14 hari yang ditandai dengan nilai $p = 0,000$. Hal ini berarti ada pengaruh lama penyimpanan terhadap penurunan total koloni bakteri asam laktat (BAL) di dalam ASI.

Penelitian ini juga mendapatkan hasil bahwa penyimpanan ASI selama 1 hari pada suhu -15°C sudah menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap total koloni bakteri asam laktat (BAL) dan semakin signifikan pada lama penyimpanan 5 hari hingga 14 hari. Begitu juga dengan penyimpanan ASI yang dilakukan pada suhu 4°C yang mana penyimpanan selama 1 hari juga sudah menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap total koloni bakteri asam laktat (BAL) dan semakin signifikan pada penyimpanan 5 hari hingga 14 hari.

Hal ini terjadi karena terkait dengan nutrisi ASI yang kaya akan karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan mineral yang merupakan medium dalam pertumbuhan bakteri. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan bakteri gram positif sehingga membutuhkan kebutuhan nutrisi yang lebih banyak untuk mempertahankan hidupnya, sedangkan nutrisi tersebut yang didapatkan dari lingkungan sekitar yaitu dari ASI sendiri sudah mengalami perubahan terutama kadar karbohidrat dan protein yang terkandung di dalam ASI selama penyimpanan.

Hasil penelitian mengatakan bahwa suhu dan lama penyimpanan selama 3 hari memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kadar protein dan karbohidrat yang terdapat pada ASI. Semakin lama penyimpanan ASI maka semakin berkurang kadar protein di dalam ASI⁽⁶⁾. Sama halnya dengan hasil penelitian yang mengatakan bahwa penyimpanan di suhu 4°C sebaiknya hanya sampai 4 hari yang disebabkan karena penyimpanan selama 48 jam sudah memiliki

perbedaan yang signifikan terhadap kadar protein dan selama 72 jam sudah memiliki perbedaan signifikan terhadap kadar lemak yang terkandung di dalam ASI⁽¹⁴⁾.

Asumsi peneliti menurunnya total koloni bakteri asam laktat (BAL) selama penyimpanan terjadi karena sumber nutrisi yang dibutuhkan bakteri untuk melakukan metabolisme dalam mempertahankan hidupnya juga sudah mulai berkurang yang juga disebabkan oleh lama penyimpanan ASI. Terutama kebutuhan nutrisi kompleks bakteri asam laktat (BAL) meliputi asam amino, vitamin, purin, dan pirimidin. Sehingga lama penyimpanan dapat mempengaruhi total koloni bakteri asam laktat (BAL) yang ada di dalam ASI.

Pengaruh lama penyimpanan terhadap total koloni bakteri aerob dalam ASI

Hasil penelitian memperlihatkan rata-rata total koloni bakteri aerob berdasarkan lama penyimpanan ASI mengalami peningkatan dari sebelum penyimpanan sampai setelah penyimpanan 1 hari, 5 hari dan 14 hari pada suhu -15°C maupun 4°C . Dapat dilihat dari tabel 5. yang menunjukkan lama penyimpanan ASI pada suhu -15°C mengalami peningkatan dengan diperoleh rata-rata total koloni bakteri aerob yaitu meningkat dari sebelum penyimpanan hingga penyimpanan 14 hari yaitu dari sebanyak $1,5 \times 10^5$ CFU/ml ASI menjadi $13,63 \times 10^5$ CFU/ml ASI. Hal ini menggambarkan bahwa total koloni bakteri aerob dengan lama penyimpanan hari ke 14 pada suhu -15°C sudah berada di atas batas maksimum, sedangkan pada suhu 4°C diperoleh rata-rata total koloni bakteri aerob yaitu lama penyimpanan 1 hari sebanyak $3,63 \times 10^5$ CFU/ml ASI, lama penyimpanan 5 hari $10,63 \times 10^5$ CFU/ml ASI dan lama penyimpanan 14 hari $34,75 \times 10^5$ CFU/ml ASI. Dapat dilihat bahwa dengan lama penyimpanan hari ke 5 dan hari ke 14 sudah berada di atas batas maksimum.

Menurut SNI batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan (2009), menjelaskan bahwa jumlah maksimum mikroba Angka Lempeng Total (ALT) yang diizinkan terdapat dalam pangan yaitu 1×10^6 . Dimana Angka Lempeng Total (ALT) secara umum tidak terkait dengan bahaya keamanan dari suatu produk namun kadang bermanfaat untuk

menunjukkan kualitas, masa penyimpanan, kontaminasi dan status higienis pada saat proses produksi.

Berdasarkan hasil tabel 5. dan 6., juga terdapat perbedaan yang signifikan terhadap total koloni bakteri aerob antara variasi lama penyimpanan ASI 1 hari, 5 hari dan 14 hari yang ditandai dengan nilai $p= 0,000$. Hal ini berarti ada pengaruh lama penyimpanan terhadap penurunan total koloni bakteri asam laktat (BAL) di dalam ASI.

Perubahan total bakteri aerob tersebut sama dengan halnya bakteri asam laktat (BAL) yang terkait dengan nutrisi yang terdapat di dalam ASI yang merupakan medium dalam pertumbuhan mikroorganisme. Dari hasil penelitian terlihat bahwa total bakteri sebelum penyimpanan dan setelah penyimpanan pada hari pertama menunjukkan jumlah yang tidak jauh berbeda. Pada penyimpanan hari pertama bakteri masih berada pada fase adaptasi dan pertumbuhan awal. Kemudian pada hari kedua bakteri pada fase pertumbuhan logaritmik (eksponensial). Beberapa faktor yang mempengaruhi kecepatan pertumbuhan mikroorganisme adalah: ketersediaan nutrisi, keasaman (pH), suhu dan lama penyimpanan. Pada fase ini bakteri lebih banyak memerlukan energi dibanding dengan fase lainnya (Rahayu dan Nurwitri, 2012).

ASI termasuk salah satu bahan yang sangat mudah ditumbuhi bakteri karena komposisi gizi antara lain laktosa, protein, mineral dan vitamin yang cukup tinggi dan hal tersebut sangat menguntungkan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Menurut Nurwanto dalam penelitian Aminah dan Isworo (2006), walaupun suhu diturunkan sampai -5°C tetapi sel dan medium yang ada disekitarnya tetap tidak beku.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan Aminah dan Isworo (2006), mengatakan bahwa lama penyimpanan pada suhu -5°C tidak mempengaruhi total koloni bakteri. Perbedaan ini kemungkinan terjadi disebabkan karena perlakuan lama penyimpanan dalam penelitian tersebut hanya dilakukan selama 5 hari.

Pada penelitian ini mendapatkan hasil bahwa penyimpanan ASI pada suhu -15°C selama 1 hari dan 5 hari memang tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap total koloni bakteri aerob, namun lama penyimpanan ASI yang dilakukan setelah 14 hari

sudah memiliki perbedaan yang signifikan sedangkan pada suhu 4°C didapatkan hasil bahwa lama penyimpanan ASI selama 1 hari tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap total koloni bakteri aerob, namun lama penyimpanan ASI yang dilakukan setelah 5 hari memiliki perbedaan yang signifikan terhadap total koloni bakteri aerob dan semakin signifikan pada lama penyimpanan selama 14 hari. Hal ini juga sesuai dengan rekomendasi IDAI (2014) mengatakan bahwa ASI pada suhu 4°C hanya bisa disimpan hingga 5 hari.

Berdasarkan hasil penelitian ini terlihat terdapat perbedaan antara total koloni bakteri asam laktat (BAL) dengan total koloni bakteri aerob, yang mana semakin lama penyimpanan ASI maka total koloni bakteri asam laktat (BAL) akan mengalami penurunan sedangkan total koloni bakteri aerob akan mengalami peningkatan. Hal ini kemungkinan terjadi karena mikroba pada ASI memiliki kebutuhan nutrisi yang bervariasi dalam mempertahankan hidupnya dan tergantung dari jenis mikroba. Sehingga dengan kandungan beberapa jenis mikroba pada ASI, membuat mikroba saling berkompetisi untuk hidup dan akhirnya produksi enzim ekstraseluler untuk pemecahan komponen ASI dalam pembentukan energi berkurang. Pada kondisi ini, sebagian sel mikroba akan mengalami lisis dan enzim intraseluler yang akan mengatalisis pemecahan molekul kompleks pada ASI, kemudian sumber nutrisi tersebut digunakan oleh mikroba lainnya untuk bertahan hidup, yang dalam hal ini kemungkinan bakteri aerob⁽¹³⁾

Walaupun demikian, total koloni bakteri pada ASI masih terlihat adanya keseimbangan antara total koloni bakteri asam laktat (BAL) dengan total koloni bakteri aerob. Dilihat dari jumlah total koloni bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat di dalam ASI masih lebih banyak dibandingkan total koloni bakteri aerob. Sesuai dengan teori bahwa bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat di dalam ASI dapat menekan bakteri aerob. Hal ini dikarenakan bakteri asam laktat (BAL) yang hadir dalam ASI segar termasuk dari spesies yang menampilkan serangkaian sifat dari aktivitas antimikroba terhadap bakteri⁽¹¹⁾.

Asumsi peneliti meningkatnya total koloni bakteri aerob selama penyimpanan terjadi karena

sumber nutrisi yang dibutuhkan bakteri untuk melakukan metabolisme dalam mempertahankan hidupnya juga sudah mulai berkurang yang juga disebabkan oleh lama penyimpanan ASI. Terutama kebutuhan nutrisi kompleks bakteri asam laktat (BAL) meliputi asam amino, vitamin, purin, dan pirimidin. Sehingga lama penyimpanan dapat mempengaruhi total koloni bakteri asam laktat (BAL) yang ada di dalam ASI.

Pengaruh lama penyimpanan terhadap keasamandalam ASI

Hasil penelitian memperlihatkan rata-rata keasaman berdasarkan lama penyimpanan ASI mengalami penurunan dari sebelum penyimpanan sampai setelah penyimpanan 1 hari, 5 hari dan 14 hari pada suhu -15°C maupun suhu 4°C . Dapat dilihat dari tabel 8. yang menunjukan bahwa keasaman pada suhu -15°C mengalami penurunan pH dengan diperoleh rata-rata keasaman dari sebelum penyimpanan sampai penyimpanan 1 hari, 5 hari dan 14 hari yaitu dari nilai pH 7.03 sampai pH 6.00, sedangkan pada suhu 4°C juga mengalami penurunan dari sebelum penyimpanan nilai pH 7.03 hingga penyimpanan 1 hari nilai pH 6.77, penyimpanan 5 hari nilai pH 6.22 dan penyimpanan 14 hari nilai pH 5.37. Pada penyimpanan 14 hari nilai pH sudah menunjukan asam sehingga ASI dikhawatirkan akan rusak dan tidak layak untuk dikonsumsi.

Berdasarkan hasil tabel 8. dan 9. juga terdapat perbedaan yang signifikan terhadap keasaman antara variasi lama penyimpanan 1 hari, 5 hari dan 14 hari yang ditandai dengan nilai $p = 0,000$. Berarti lama penyimpanan ada pengaruh terhadap keasaman di dalam ASI.

Hasil penelitian memperlihatkan bahwa penyimpanan ASI selama 1 hari pada suhu -15°C sudah menunjukan perbedaan yang signifikan terhadap keasaman di dalam ASI dan semakin signifikan pada penyimpanan 5 hari hingga 14 hari. Begitu juga dengan penyimpanan ASI yang dilakukan pada suhu 4°C yang mana penyimpanan selama 1 hari juga sudah menunjukan perbedaan yang signifikan terhadap keasaman di dalam ASI dan semakin signifikan pada penyimpanan 5 hari hingga 14 hari.

Perubahan keasaman ini dapat disebabkan

oleh bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat pada ASI selama penyimpanan. Bakteri yang terdapat dalam ASI tersebut mampu memecah laktosa yang terdapat dalam ASI menjadi galaktosa dan glukosa dengan bantuan enzim laktase. Selanjutnya terjadinya penguraian glukosa menjadi fruktosa. Penguraian fruktosa yang juga membutuhkan energi dan menghasilkan fruktosa difosfat yang akan diurai menjadi gliseraldehid 3 fosfat yang akhirnya menjadi fosfogliseraldehid. Selanjutnya proses tergantung pada kondisi aerob dan anaerobnya sel tersebut. Piruvat merupakan produk akhir glikolisis pada sel yang memiliki mitokondria dan suplai oksigen. Jika anaerob piruvat akan berubah menjadi asam laktat dibantu oleh enzim laktat dehidrogenase.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang mengatakan bahwa ada pengaruh yang signifikan pada lama penyimpanan ASI hingga 5 hari terhadap keasaman pada ASI⁽²⁾. Menurut teori mengatakan bahwa selain nutrient, pH juga mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Keasaman (pH) optimum untuk pertumbuhan bakteri berkisar antara 6,5 – 7,5. Dengan terjadinya penurunan pH akan membuat pertumbuhan mikroba menjadi meningkat dan akan menurunkan kualitas ASI⁽¹³⁾.

Asumsi peneliti penurunan pH yang terjadi di dalam ASI selama penyimpanan terjadi karena bakteri asam laktat (BAL) yang terdapat dalam ASI mampu memecah laktosa yang ada pada ASI menjadi asam laktat. Sehingga kondisi tersebutlah yang menyebabkan penurunan keasaman ASI pada hari ke 15 di suhu -15°C dan hari ke 5 pada suhu 4°C .

Pengaruh suhu penyimpanan terhadap total koloni bakteri asam laktat (BAL) dalam ASI

Berdasarkan tabel 11. menunjukkan nilai rata-rata total koloni bakteri asam laktat (BAL) pada ASI yang disimpan di suhu -15°C 36.25×10^6 CFU/ml ASI dan rata-rata total koloni bakteri asam laktat (BAL) pada ASI yang disimpan di suhu 4°C 12.50×10^6 CFU/ml ASI dan hasil statistik uji *Mann Whitney Test* menunjukkan ada perbedaan yang bermakna total koloni bakteri asam laktat (BAL) pada ASI yang disimpan di suhu -15°C dan 4°C . Hal ini ditandai dengan nilai $p = 0.001$ dan berarti ada pengaruh suhu penyimpanan ASI terhadap total bakteri asam laktat (BAL) yang ada di dalam ASI.

Hal ini terjadi karena suhu dapat mempengaruhi lamanya fase lag, kecepatan pertumbuhan, kegiatan enzimatik dan penyerapan nutrisi oleh bakteri asam laktat (BAL) yang ada di dalam ASI. Menurut teori, suhu merupakan faktor dari luar bahan pangan yang sangat penting untuk pertumbuhan mikroba. Jenis maupun kelompok mikroba yang berbeda tumbuh pada kisaran suhu yang sangat luas dan berbeda-beda pula⁽¹³⁾.

Isolat bakteri asam laktat (BAL) yang berasal dari ASI yang berpotensi sebagai probiotik mempunyai pola pertumbuhan yang hampir sama. Pertumbuhan diartikan sebagai penambahan dan dapat dihubungkan dengan penambahan ukuran, jumlah bobot massa dan banyak parameter lainnya dari suatu bentuk hidup. Sel mengalami tahap adaptasi (fase lag) pada jam ke 0 sampai jam ke-2 (awal inkubasi). Fase lag merupakan masa penyesuaian mikroba sejak inokulasi sel mikroba ke dalam medium pertumbuhan. Pada fase lag tidak ada penambahan populasi, sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambahnya ukuran, terjadi sintesis enzim oleh sel yang diperlukan untuk metabolisme metabolit serta mengalami penambahan substansi intraseluler.

Setelah fase lag selesai sel memasuki fase logaritma (eksponensial) reproduksi selular mulai berlangsung. Konsentrasi selular atau biomassa meningkat sehingga massa sel menjadi dua kali lipat dengan laju sama dimana sel akan mengalami pembelahan dengan laju konstan. Fase logaritmik berlangsung mulai jam ke-2 sampai jam ke-21, dimana masing-masing isolat memiliki waktu generasi dan kecepatan pertumbuhan yang spesifik. Semua isolat yang digunakan memasuki fase akhir logaritmik pada jam ke-15 sampai jam ke-21 inkubasi. Pada saat memasuki fase stasioner konsentrasi biomassa menjadi maksimal, jumlah sel cenderung stabil, pertumbuhan berhenti dan menyebabkan terjadinya modifikasi struktur biokimiawi sel. Hasil penelitian mengatakan bahwa pola pertumbuhan dari bakteri asam laktat (BAL) yang terisolasi memiliki kecepatan pertumbuhan yang paling tinggi dan uji ketahanan bakteri asam laktat (BAL) semakin tahan terhadap proses *freeze drying*⁽¹²⁾.

Asumsi peneliti adanya perbedaan total koloni bakteri asam laktat (BAL) yang ada dalam ASI

berdasarkan suhu penyimpanan terjadi karena di saat proses penyimpanan pada suhu -15°C selama 1 hari, ASI yang disimpan sudah menjadi beku dibandingkan dengan suhu 4°C , sehingga penyimpanan pada suhu -15°C memberikan ketahanan pada bakteri asam laktat (BAL) dan akhirnya semakin rendah penurunan jumlah total bakteri asam laktat (BAL).

Pengaruh suhu penyimpanan terhadap total koloni bakteri aerob dalam ASI

Berdasarkan tabel 12 menunjukkan nilai rata-rata total koloni bakteri aerob pada ASI yang disimpan pada suhu -15°C yaitu 1.50×10^5 CFU/ml ASI dan rata-rata total koloni bakteri aerob dalam ASI yang disimpan pada suhu 4°C yaitu 3.63×10^5 CFU/ml ASI, hasil terlihat dimana ada perbedaan tetapi dari hasil statistik *Mann Whitney Test* menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna total koloni bakteri aerob dalam ASI yang disimpan pada suhu -15°C dan 4°C . Hal ini ditandai dengan nilai $p > 0,05$ dan berarti tidak ada pengaruh suhu penyimpanan ASI terhadap total koloni bakteri aerob di dalam ASI.

Walaupun suhu merupakan faktor dari luar bahan pangan yang sangat penting untuk pertumbuhan mikroba. Akan tetapi jenis maupun kelompok mikroba yang berbeda tumbuh pada kisaran suhu yang sangat luas dan berbeda-beda pula. Sehingga pada penelitian ini suhu tidak berpengaruh terhadap total koloni bakteri aerob. Selain itu ASI juga mengandung antimikroba yang mampu mempertahankan kualitas ASI dari pertumbuhan mikroba.

Sama halnya dengan fase pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL) bahwa fase pertumbuhan bakteri aerob juga mengalami fase lag, fase logaritma, fase stasioner dan fase kematian. Pada fase lag merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru. Lama fase lag pada bakteri sangat bervariasi, tergantung pada komposisi media, pH, suhu, aserasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis mikroorganisme ada media sebelumnya. Ketika sel telah menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru maka sel mulai membelah hingga mencapai populasi yang maksimum dan disebut dengan fase logaritma. Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa bakteri aerob masih berada pada fase logaritma (penyesuaian). Sehingga walaupun suhu

mempengaruhi pertumbuhan bakteri, akan tetapi ada faktor lain yang masih berperan pada fase logaritma (penyesuaian) ini.

Asumsi peneliti tidak ditemukannya perbedaan total koloni bakteri aerob di dalam ASI berdasarkan suhu penyimpanan dikarenakan masih ada faktor lain yang dapat mempengaruhi total koloni bakteri aerob di dalam ASI salah satunya faktor lama penyimpanan, komponen antimikroba pada ASI dan pH.

Pengaruh suhu penyimpanan ASI terhadap keasamandalam ASI

Berdasarkan tabel 13. menunjukkan nilai rata-rata keasaman dalam ASI yang disimpan pada suhu -15°C yaitu dengan pH 6.90 dan rata-rata keasaman dalam ASI yang disimpan pada suhu 4°C yaitu dengan pH 6.77. Hasil terlihat dimana ada perbedaan tetapi dari hasil statistik *Mann Whitney Test* menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna keasaman dalam ASI yang disimpan pada suhu -15°C dan 4°C . Hal ini ditandai dengan nilai $p > 0,05$ dan berarti tidak ada pengaruh suhu penyimpanan ASI terhadap keasaman dalam ASI.

pH ASI merupakan derajat keasaman dari ASI yang disebabkan banyaknya konsentrasi H. pH ASI pada fase *mature milk* mempunyai rentang 6.4 sampai dengan 7.6 dengan rata-rata nilai pH 7.01⁽⁹⁾. Pada hasil penelitian ini memang terdapat perbedaan pH yang telah disimpan pada suhu -15°C dan 4°C akan tetapi tidak signifikan. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh faktor lain seperti perubahan komposisi ASI yang telah disimpan baik pada suhu -15°C maupun suhu 4°C . Sesuai dengan penelitian Musamirwan, dkk. (2007), mengatakan bahwa perubahan komposisi ASI akan menyebabkan perubahan pH ASI dan diketahui pula bahwa komposisi ASI semakin berkurang dengan lama penyimpanan yang ditandai dari hasil penelitian yang mengatakan bahwa suhu dan lama penyimpanan ASI selama 3 hari memiliki pengaruh yang signifikan terhadap kadar protein dan lemak yang terdapat pada ASI. Semakin lama penyimpanan ASI maka semakin berkurang kadar protein dan lemak di dalam ASI sehingga dengan perubahan komposisi ASI tersebut menyebabkan terjadinya perubahan pH pada ASI⁽⁶⁾.

Asumsi peneliti tidak ditemukannya perbedaan keasaman di dalam ASI berdasarkan suhu penyimpanan dikarenakan masih ada faktor lain yang dapat mempengaruhi perubahan keasaman di dalam ASI yang disimpan pada suhu -15°C maupun suhu 4°C seperti perubahan komposisi ASI.

KESIMPULAN

Lama penyimpanan ASI mempengaruhi total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL), total koloni bakteri aerob dan keasaman di dalam ASI. Sedangkan suhu penyimpanan ASI mempengaruhi total koloni Bakteri Asam Laktat (BAL), tetapi tidak ada pengaruh suhu penyimpanan ASI terhadap total koloni bakteri aerob dan keasaman di dalam ASI.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala, staf TPA Kelurahan Koto Tengah Padang yang telah mengizinkan untuk penelitian sehingga membantu penyelesaian tesis ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Kepala dan Staf Laboratorium Fatema UNAND yang telah membantu dalam pemeriksaan sampel.

DAFTAR PUSTAKA

1. American Academy of Pediatrics. 2012. *Breastfeeding And The Use of Human Milk*. Pediatrics Volume 129, Number 3.
2. Aminah, Siti dan Isworo, Joko Teguh. 2006. *Pengaruh penyimpanan ASI pada suhu rendah terhadap umur simpan dan total bakteri ASI*. [Http://jurnal.unimus.ac.id](http://jurnal.unimus.ac.id).
3. Cadwell, Karin and Turner-Maffe, Cindy. 2011. *Buku Saku Manajemen Laktasi*. Diterjemahkan oleh: Etsu Tiar. Jakarta: EGC.
4. Gibney, Michael. J dkk. 2008. *Gizi Kesehatan Masyarakat*. Diterjemahkan oleh: Andry Hartono. Jakarta: EGC
5. Hikmawati, Isna. 2008. *Faktor-faktor resiko kegagalan pemberian ASI selama dua bulan*. Universitas Diponegoro Semarang.
6. Iqbal, M. 2010. *Pengaruh Variasi Suhu dan Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Gizi Pada Air Susu Ibu (ASI)*. Program Studi Gizi Kesehatan

Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

7. Lara-Villoslada, F., Olivares, M., Sierra, S., Rodriguez, J. M., Boza, J, and Xaus, J. 2007. *Beneficial effects of probiotic bacteria isolated from breast milk*. British Journal of Nutrition (2007), 98, Suppl. 1, S96–S100.
8. Marin, M.L., Arroyo, R., Jimenez, E., Gomez, A., Fernandez, L. and Rodriguez, J.M. 2009. *Cold storage of Human Milk: effect on its bacterial composition*. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 49 (3): 343-8.
9. Musnawirman, Iwan Ahmad dkk. 2007. *pH ASI berdasarkan Fase Laktasi Ibu Menyusui Anak Usia 8-24 bulan di Puskesmas Babakan Sari Kecamatan Kiaracandong Kota Bandung*. Penelitian Peneliti Muda (LITMUD) UNPAD. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran. Bandung (Hal 78, 79).
10. Medela, 2011. *Collection & Storage of Human Milk: Innovating Practice Through Research & Evidence*. Diakses dari www.medela.com pada tanggal 20 Agustus 2016.
11. Olivares, M. *et al*. 2006. *Antimicrobial potential of four Lactobacillus strains isolated from breast milk*. The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology 101 (2006) 72–79.
12. Puspawati, N.N, Nuraida, L, Adawiyah, D.R. 2010. *Penggunaan Berbagai Jenis Bahan Pelindung Untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam Laktat Yang Di Isolasi dari Air Susu Ibu Pada Proses Pengeringan Beku*. J. Teknol dan Industri Pangan, Vol. XXI No. 1 Yh. 2010.
13. Rahayu dan Nurwitri. 2012. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor. Percetakan IPB
14. Sari, Indri Putri. 2015. *Efek Lama Penyimpanan ASI Terhadap Kadar Protein dan Lemak Yang Terkandung Didalam ASI*. Tesis. Program PascaSarjana Kebidanan. Universitas Andalas. Padang.
15. Syukur, Sumaryati dan Purwati, Endang. 2013. *Bioteknologi Probiotik untuk Kesehatan Masyarakat*. Penerbit Andi Yogyakarta.
16. World Health Organization (WHO). 2012. *Proposed Global Targets for Maternal, Infant and child nutrition*: Akses 11 Desember 2015. Available at: http://apps.who.int/gb/archive/pdf_files/WHA55/e_a5515.pdf.