

**PENGARUH LAMA PENYIMPANAN AIR
SUSU IBU (ASI) PADA SUHU -15°C
TERHADAP KUALITAS ASI**

Griennasty Clawdya Siahaya
(Prodi Ilmu Kesehatan Masyarakat,
Fakultas Kesehatan,
Universitas Kristen Indonesia Maluku)
Bellytra Talarima
(Prodi Ilmu Kesehatan Masyarakat,
Fakultas Kesehatan,
Universitas Kristen Indonesia Maluku)

ABSTRAK

Air Susu Ibu (ASI) merupakan makanan ideal bagi bayi untuk dapat tumbuh optimal baik perkembangan otak maupun fisiknya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama waktu penyimpanan ASI pada suhu -15°C terhadap kualitas ASI (protein, total mikroba, pH, warna dan aroma), menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan penyimpanan meliputi penyimpanan ASI pada suhu -15°C dengan lama waktu penyimpanan 0 (nol) hari (A0), 4 hari (A1), 8 hari (A2) dan 12 hari (A3) dan 3 kali ulangan. Hasil penelitian menunjukkan lama waktu penyimpanan ASI pada suhu -15°C berpengaruh nyata terhadap kadar protein dengan nilai F-hitung 28,285 (>F-tabel 4,07); berpengaruh nyata terhadap jumlah total bakteri nilai F-hitung 12,747 (>F-tabel 4,07); dan berpengaruh nyata terhadap nilai pH ASI dengan hasil uji analisis ragam diperoleh nilai F-hitung 6.818 (>F-tabel). Untuk warna dan aroma ASI yang dianalisis secara deskriptif memberikan hasil warna ASI yang disimpan pada penyimpanan beku -15°C selama 12 hari tidak mengalami perubahan masih terlihat berwarna putih susu kekuningan, dan untuk aroma atau bau ASI yang disimpan pada penyimpanan beku -15°C mengalami perubahan aroma di hari ke-8 dan ke-12 hari tercium aroma agak anyir disertai bau logam dan bau atau aroma ASI mendekati aroma santan kelapa.

Kata Kunci:
Air Susu Ibu, Kadar Protein, Total Bakteri, pH, Warna dan Aroma.

PENDAHULUAN

Air Susu Ibu (ASI) merupakan makanan ideal bagi bayi untuk dapat tumbuh optimal, baik perkembangan otak maupun fisiknya. Sampai usia 6 bulan bayi masih memiliki pertumbuhan badan sesuai dengan kurva standar. Pada periode ini, bayi dapat tumbuh dan berkembang secara optimal hanya dengan mengandalkan asupan gizi dari ASI. Untuk bayi baru lahir, seluruh kebutuhan vitamin dan mineralnya akan terpenuhi melalui ASI, karena ASI mengandung komponen zat gizi yang berkualitas tinggi dan berguna untuk kecerdasan, pertumbuhan dan perkembangan anak. ASI memiliki kelebihan yang sangat banyak sehingga dianjurkan diberikan kepada bayi sampai usia 2 tahun dan dianjurkan selama 6 bulan usia bayi secara eksklusif. (Istiany dan Rusilanti, 2013).

Begitu pentingnya peranan ASI bagi bayi, sehingga pemerintah mengeluarkan Peraturan Menteri Kesehatan yang mendukung program ASI Eksklusif dalam Permenkes RI Nomor 15 Tahun 2013 tentang Tata Cara Penyediaan Fasilitas Khusus Menyusui dan/atau Memerah Air Susu Ibu, dimana setiap tempat kerja diharuskan menyediakan fasilitas khusus untuk menyusui atau memerah ASI, bahkan menyimpan ASI. Hal ini sangat membantu bagi para ibu yang bekerja, khususnya ibu-ibu yang sedang menyusui sehingga mereka dapat tetap bekerja dan tetap memberikan ASI eksklusif bagi bayi mereka. Sehingga tidak menjadi alasan lagi bahwa pekerjaan yang menyebabkan ibu yang bekerja tidak punya waktu untuk menyusui bayi mereka, bahkan cakupan ASI eksklusif bisa tercapai.

Kualitas ASI perah yang disimpan di lemari es atau di freezer dapat diukur secara kimia, fisik dan mikrobiologi. Langkah-langkah atau metode yang dapat digunakan untuk memperpanjang masa simpan susu adalah dengan diberi perlakuan pasteurisasi, pendinginan/pembekuan, dan pemanasan. Menurut Saleha (2009), ASI yang dikeluarkan atau diperah dapat disimpan di udara bebas atau terbuka selama 6-8 jam, di lemari es (4°C) dan di lemari pendingin/beku (-18°C) selama 6 bulan. Dengan teknik pendinginan/pembekuan, maka umur/daya simpan produk dapat

dipertahankan karena dalam proses tersebut pertumbuhan mikroorganisme dapat dihambat.

Proses penyimpanan ASI perah di dalam lemari es atau *freezer* merupakan salah satu cara dari proses pengawetan bahan makanan dengan cara pendinginan dan pembekuan, yang mana merupakan salah satu teknologi pengawetan pangan yang didasarkan pada pengambilan panas dari bahan pangan sehingga daya simpan produk menjadi lebih panjang (Estiasih dan Ahmadi, 2011). Dengan proses penyimpanan pada suhu rendah maka dapat mengawetkan ASI hingga beberapa waktu. Salah satu tujuan pengawetan pangan adalah untuk mempertahankan kualitas bahan makanan. Kualitas bahan makanan sendiri dapat dinilai dari kualitas gizinya. Hal ini ditunjukkan dengan kadar protein dalam bahan pangan, sehingga protein dapat menentukan mutu bahan pangan (Widyani dkk, 2008). Iqbal (2010) mengemukakan bahwa protein merupakan salah satu indikator mutu bahan pangan, selain indikator lain yang menunjang kualitas bahan pangan khususnya ASI.

Walaupun dengan teknik pendinginan atau pembekuan dapat memperpanjang umur simpan ASI, tapi teknik tersebut juga dapat merusak kualitas ASI jika tidak diperhatikan lama waktu penyimpanan ASI di dalam lemari es atau *freezer*. Hasil penelitian Iqbal (2010) dalam melihat pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kualitas gizi ASI diperoleh hasil bahwa jenis penyimpanan pada suhu kamar, refrigerator dan *freezer* tidak berpengaruh pada kadar protein, tetapi lama waktu penyimpanan (0-3 hari) berpengaruh pada kadar protein dan lemak. Menurut Irianto (2006), pembekuan bahan makanan betapapun rendahnya suhu yang digunakan tidak dapat diandalkan untuk mematikan semua mikroorganisme.

Selain komponen gizi, kualitas ASI perah yang disimpan di lemari es atau *freezer* juga perlu dilihat kualitasnya secara fisik dan mikrobiologi. Kerusakan susu yang tidak layak dikonsumsi ditunjukkan dengan meningkatnya mikroorganisme (Sulasih, 2013), serta secara fisik menimbulkan aroma asam akibat fermentasi laktosa sehingga menyebabkan terjadinya penurunan pH, bentuk susu yang berlendir, bau busuk (hasil penguraian protein), ketengikan (hasil penguraian lemak),

pembentukan gas atau pigmen (Muchtadi dkk, 2010). Sifat fisik dari susu dalam hal ini ASI dapat dilakukan pengujian secara organoleptik atau pengujian yang didasarkan pada proses penginderaan untuk melihat warna, aroma dan rasa, serta konsistensi pada ASI.

Untuk itu perlu dilakukan penelitian yang berhubungan dengan lama penyimpanan ASI pada suhu -15°C terhadap kualitas ASI sehingga bisa didapat waktu penyimpanan yang tepat dengan kualitas susu yang baik.

Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh lama waktu penyimpanan ASI pada suhu -15°C terhadap kualitas (Kadar Protein, Total Mikroba, Tingkat Keasaman, warna dan Aroma) ASI

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di tiga Laboratorium, yaitu di Lab. Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat - Universitas Kristen Indonesia Maluku, Lab. Kimia Dasar, Fakultas MIPA Universitas Pattimura Ambon, dan Laboratorium Balai Riset dan Standarisasi Perindustrian Ambon selama 2 bulan yaitu dari bulan Mei sampai dengan bulan Juli Tahun 2016

Bahan dan Alat

Bahan : Air Susu Ibu (ASI) Perah.

Alat : Pompa ASI, Botol, Lemari Es satu pintu, alkohol, tissue, sabun antiseptik.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuannya meliputi penyimpanan ASI perah pada suhu -15°C dengan lama waktu penyimpanan :

A_0 = Penyimpanan ASI 0 (nol) hari

A_1 = ASI yang disimpan selama 4 hari

A_2 = ASI yang disimpan selama 8 hari

A_3 = ASI yang disimpan selama 12 hari

Prosedur Penelitian

a. Survei Pendahuluan

Pelaksanaan survei ini mencakup pengumpulan data ibu-ibu menyusui

- yang dalam keadaan sehat di setiap Puskesmas yang ada di kota Ambon dan meminta kesediaan mereka untuk menjadi sukarelawan ASI dengan menyumbang ASI mereka guna penelitian ini. Dalam penelitian ini dibutuhkan jumlah relawan yg lebih dari 1 orang ibu, karena proses pengambilan ASI dilakukan hanya 1 kali untuk 1 rangkaian penelitian hingga selesai. Oleh sebab itu dibutuhkan jumlah relawan yang banyak mengingat volume jumlah ASI hasil perah setiap ibu berbeda. Para Relawan yang bersedia selanjutnya diberikan arahan dalam persiapan mereka saat proses pemerahan ASI.
- b. **Persiapan Alat**
Alat-alat yang digunakan untuk pemerah ASI sampai pada pengujian harus steril, sehingga perlu dilakukan sterilisasi alat.
- c. **Proses Pengambilan/Pemerahan ASI**
1. Mengawali proses pengambilan ASI, setiap ibu-ibu relawan dimintakan untuk mencuci tangan dengan sabun antiseptik terlebih dahulu dan menggunakan masker. Hal ini bertujuan agar supaya tidak terjadi kontaminasi silang bakteri dari para ibu ke dalam ASI hasil perah.
 2. ASI selanjutnya diambil dengan cara diperah menggunakan Pompa ASI yang dilakukan oleh masing-masing relawan. ASI yang dipompa langsung masuk ke dalam botol yang telah disterilkan. Proses pemerahan ini dibantu oleh tenaga yang ahli dalam hal ini konselor ASI dari Dinas Kesehatan Provinsi Ambon, dan Pegawai Puskesmas. Mengingat peneliti tidak bisa menangani proses ini sendiri karena dibutuhkan kecepatan dan ketepatan dalam proses pemerahan jangan sampai terjadi kontaminasi pada susu.
 3. ASI hasil perah yang berada di dalam botol selanjutnya dituang semuanya ke dalam wadah yang telah disterilkan, dicampur dan dihomogenisasi sebelum perlakuan.
 4. Selanjutnya ASI dibagi ke dalam botol berdasarkan perlakuan penyimpanan, dan diberi label/kode perlakuan.
- d. **Penyimpanan ASI**
1. Sampel ASI untuk perlakuan 0 hari (A_0) siap untuk langsung dianalisa. Sedangkan untuk sampel ASI dengan perlakuan lama penyimpanan yaitu 4, 8 dan 12 hari selanjutnya disimpan pada suhu 15°C (di dalam *freezer* lemari es satu pintu).
 2. ASI perah yang telah disimpan di *freezer* selanjutnya akan dikeluarkan untuk dianalisa sesuai dengan perlakuan waktu penyimpanan.
 3. **Persiapan Pengujian Sampel ASI**
 - a) Sampel ASI 0 hari tanpa disimpan di dalam *freezer* diletakkan di dalam *box ice* dan selanjutnya dibawa ke Laboratorium MIPA, Universitas Pattimura Ambon untuk dianalisa protein dan total mikroba.
 - b) Sampel yang disimpan pada hari ke-4, dikeluarkan dari dalam *freezer*, dan selanjutnya dicairkan dengan cara *thawing* yaitu ASI direndam di dalam air hangat ($\pm 35^{\circ}\text{C}$) selama 30 detik.
 - c) Sampel selanjutnya dianalisa kandungan protein dan total mikroba di Laboratorium MIPA, Universitas Pattimura Ambon. Sedangkan uji pH dan uji organoleptik dilakukan di laboratorium Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan-UKIM Ambon.
 - d) Proses ini selanjutnya dilakukan pada sampel ASI dengan penyimpanan pada hari ke-8 dan hari ke-12.
- e. **Prosedur Analisa ASI**
1. **Total Mikroba**
Perhitungan jumlah mikroorganisme dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC) dengan prosedur sebagai berikut (Dundu, 2010):
Sampel ASI yang akan dianalisa diencerkan terlebih dahulu dengan pengenceran awal $1:10 = 10^{-1}$ dibuat dengan cara mengambil sebanyak 10 ml ASI secara aseptik dan masukkan ke dalam 90 ml larutan NaCl 0,9 %, dihomogenkan (suspensi yang terbentuk memiliki tingkat pengenceran 10^{-1}). Kemudian dengan menggunakan pipet steril, diambil 1 ml suspensi yang terbentuk

dari pengenceran 10^{-1} dan dimasukkan ke dalam ke dalam 9 ml larutan NaCl 0.9% secara steril dan dihomogenkan dengan cara mengkokok tabung tersebut (suspensi yang terbentuk memiliki tingkat pengenceran 10^{-2}). Demikian seterusnya sampai tingkat pengenceran 10^{-5} . Selanjutnya, dari pengenceran 10^{-3} ambil masing-masing 1 ml suspensi dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang steril dan telah diberi label jenis sampel dan pengencerannya, lalu secara hati-hati tuang media NA sebanyak 15 ml ke dalam cawan petri dan homogenkan suspensi dan media dengan cara memutar 3 kali ke kiri, 3 kali ke kanan, dorong ke belakang satu kali, ke depan satu kali. Kemudian diamkan hingga media menjadi padat/keras. Demikian seterusnya sampai pengenceran 10^{-5} . Semua cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan posisi terbalik. Untuk mendapatkan hasil yang baik, maka setiap pengenceran dibuat duplo. Jumlah koloni yang dihitung pada cawan petri adalah antara 30-300 koloni dan dalam keadaan koloni bebas. Setelah itu, jumlah yang diperoleh dikalikan dengan satu per tingkat pengencerannya:

$$\text{Jumlah Koloni} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{Tingkat Pengenceran}}$$

2. Uji Derajat Keasaman (pH) (Muchtadi, 2010)
pH-meter yang akan digunakan dilakukan standarisasi/kalibrasi pH-meter pada pH 7 terlebih dahulu. Selanjutnya, bagian elektroda dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan kertas tissue. Ujung elektroda pH-meter dicelupkan pada sampel ASI dan pH-meter diset pada pengukuran pH. Elektroda dibiarkan beberapa saat sampai jarum pH-meter stabil. Jarum pH-meter menunjukkan nilai pH.
3. Uji Warna dan Aroma ASI (Aminah dan Isworo, 2012)
Uji Warna dan Aroma ASI dilakukan dengan melakukan pengamatan

terhadap sampel ASI dan melihat perubahan yang terjadi. Warna dan aroma ASI diamati secara visual menggunakan indra penglihatan dan pembauan setelah ASI di thawing atau dicairkan. Hasil pengamatan kemudian didiskripsikan.

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian pengaruh penyimpanan ASI pada suhu -15°C selama 12 hari terhadap kualitas ASI dalam hal ini protein, total mikroba, tingkat keasaman (pH), warna dan aroma diperoleh hasil sebagai berikut:

Kadar Protein ASI

Hasil uji kadar protein ASI dengan perlakuan penyimpanan A_0 (0 hari), A_1 (4 hari), A_2 (8 hari) dan A_3 (12 hari) pada suhu -15°C dapat dilihat pada Tabel 1. Rata-rata kadar protein ASI yang diperoleh dari hasil uji berkisar antara 1.589% hingga 1.919%. Hasil tersebut menunjukkan adanya peningkatan kadar protein. Peningkatan kadar protein terjadi pada perlakuan penyimpanan 0 hari hingga penyimpanan 8 hari. Kadar protein mengalami penurunan pada perlakuan penyimpanan 12 hari.

Tabel 1. Data Hasil Uji Kadar Protein ASI pada Penyimpanan Suhu -15°C

Lama Penyimpanan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A_0	1.542	1.556	1.668	4.766	1.589 _a
A_1	1.666	1.667	1.658	4.991	1.664 _{ab}
A_2	1.979	1.900	1.879	5.757	1.919 _d
A_3	1.662	1.723	1.677	5.063	1.688 _{bc}
Total	6.849	6.846	6.882	20.576	1.715

Hasil Analisis Ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa perlakuan penyimpanan beku memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar protein ASI dengan hasil uji statistik diperoleh nilai F_{hitung} 28,285 lebih besar dari nilai F_{tabel} 5%. Dari uji lanjut BNT 5% diperoleh hasil bahwa perlakuan penyimpanan pada suhu -15°C selama 8 hari (A_2) dan 12 hari (A_3) berpengaruh sangat nyata dibanding perlakuan yang lain.

Total Bakteri

Hasil uji total bakteri ASI dengan perlakuan penyimpanan A₀ (0 hari), A₁ (4 hari), A₂ (8 hari) dan A₃ (12 hari) pada suhu -15°C dapat dilihat pada Tabel 2. ASI dengan perlakuan penyimpanan 0 hari (A₀) mengandung jumlah total mikroba sebesar 116 CFU/ml, begitu juga dengan ASI yang disimpan selama 4 hari (A₁). Selanjutnya terjadi penurunan jumlah total mikroba ASI yang dibuktikan dengan hasil uji A₂ sebesar 22 CFU/ml. Pada hari ke-12 penyimpanan terjadi peningkatan total bakteri menjadi 133 CFU/ml. Rata-rata total bakteri ASI berkisar antara 22 CFU/ml sampai dengan 133 CFU/ml.

Tabel 2. Hasil Uji Total Bakteri ASI pada Penyimpanan Suhu -15°C

Lama Penyimpanan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A0	105	109	134	348.00	116 ^b
A1	106	108	134	348.00	116 ^b
A2	3.55	51	11	65.55	22 ^a
A3	136	166	95.5	397.50	133 ^b
Total				1159.05	386

Berdasarkan hasil uji ANOVA diperoleh hasil bahwa lama penyimpanan ASI berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah total bakteri ASI yang disimpan selama 12 hari pada suhu -15°C, dengan hasil uji analisis ragam diperoleh nilai F_{hitung} 12,747 lebih besar dari nilai F_{tabel} 5% (4,07). Dilakukan uji lanjutan BNT yang menunjukkan bahwa hasil uji perlakuan penyimpanan selama 8 hari (A₂) berbeda sangat nyata dibanding perlakuan yang lain, sedangkan antar perlakuan A₀, A₁, dan A₃ tidak memiliki perbedaan. Hal ini terlihat dari notasi huruf yang sama pada ketiga perlakuan (Tabel 3).

Tingkat Keasaman (pH)

Hasil uji tingkat keasaman (pH) ASI dengan perlakuan penyimpanan A₀ (0 hari), A₁ (4 hari), A₂ (8 hari) dan A₃ (12 hari) pada suhu -15°C dapat dilihat pada Tabel 3. Berdasarkan hasil uji yang diperoleh terlihat bahwa selama penyimpanan terjadi penurunan pH sampai hari ke-12. Rata-rata pH ASI yang diperoleh dari hasil uji berkisar antara 7,06% sampai dengan 7,40%.

Tabel 3. Data Hasil Uji pH ASI pada Penyimpanan Suhu -15°C

Lama Penyimpanan	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
A0	7.31	7.30	7.33	21.94	7.31 ^c
A1	7.31	7.29	7.59	22.19	7.40 ^d
A2	7.22	7.24	7.21	21.67	7.22 ^b
A3	7.00	7.03	7.16	21.19	7.06 ^a
Total				1159.05	386

Berdasarkan hasil uji statistik ANOVA diperoleh hasil bahwa lama penyimpanan ASI sangat berpengaruh nyata terhadap pH ASI yang disimpan selama 0, 4, 8 dan 12 hari pada suhu -15°C, dengan hasil uji analisis ragam diperoleh nilai F_{hitung} 6.818 lebih besar dari nilai F_{tabel} 5% (4,07). Dilakukan uji lanjutan BNT dengan hasil yang menunjukkan bahwa pada penyimpanan suhu -15°C terdapat perbedaan antar tiap perlakuan lama waktu penyimpanan dari 0 hari (A₀) sampai dengan hari ke-12 (A₃), yang ditunjukkan dengan notasi huruf yang berbeda pada Tabel 3.

Warna ASI

Pengujian warna ASI dilakukan secara deskriptif dimana peneliti mengamati perubahan apa saja yang terjadi selama penyimpanan. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 4. Pengamatan warna ASI secara visual oleh peneliti memperoleh hasil bahwa ASI yang disimpan selama 0, 4, 8 dan 12 hari tidak mengalami perubahan warna. Akan tetapi terlihat warna kuning yang lebih dominan dibagian atas ASI dan warna putih di bagian bawah.

Tabel 4. Deskripsi Warna ASI berdasarkan Lama Penyimpanan

Lama Penyimpanan	Warna ASI
A0 (0 hari)	Putih Susu Agak Kekuningan
A1 (4 hari)	Putih Susu Agak Kekuningan
A2 (8 hari)	Putih Susu dengan dominan warna kuning lebih terlihat dibagian atas (Tidak homogen/menyatu)
A3 (12 hari)	Putih Susu dengan dominan warna kuning lebih terlihat dibagian atas (Tidak homogen/menyatu)

Aroma ASI

Pengujian aroma ASI dilakukan juga secara deskriptif, dimana peneliti mengamati perubahan apa saja yang terjadi selama penyimpanan. Berdasarkan hasil penelitian (Tabel 5), aroma ASI yang muncul setelah ASI disimpan pada suhu -15°C selama 0 hari hingga 4 hari adalah aroma khas ASI. Pada penyimpanan hari ke 8 dan hari ke-12 terjadi perubahan aroma. Tercium aroma agak anyir disertai bau logam dan aroma yang mendekati aroma santan kelapa.

Tabel 5. Deskripsi Aroma ASI berdasarkan Lama Penyimpanan

Lama Penyimpanan	Aroma ASI
A0 (0 hari)	Bau Khas ASI
A1 (4 hari)	Bau Khas ASI
A2 (8 hari)	Bau Khas ASI tidak terlalu tercium, lebih dominan bau agak anyir, seperti logam bahkan mendekati seperti santan kelapa.
A3 (12 hari)	Bau Khas ASI tidak terlalu tercium, lebih dominan bau agak anyir, seperti logam bahkan mendekati seperti santan kelapa.

PEMBAHASAN

Kadar Protein ASI

Penyimpanan ASI pada suhu -15°C dengan lama waktu penyimpanan selama 0, 4, 8 dan 12 hari menunjukkan ada pengaruh penyimpanan terhadap kadar protein ASI yang dibuktikan melalui hasil uji ANOVA dengan nilai F_{hitung} 28,285 lebih besar dari nilai F_{tabel} 5%. Untuk hasil uji antar perlakuan penyimpanan tersebut, penyimpanan ASI pada suhu -15°C selama 8 hari (A_2) dan 12 hari (A_3) berpengaruh sangat nyata terhadap kadar protein ASI. Hal ini menunjukkan bahwa proses penyimpanan beku mempengaruhi kualitas ASI. Pada hasil uji yang diperoleh menunjukkan bahwa ada peningkatan kadar protein dalam jumlah yang kecil pada penyimpanan hari ke-4 hingga penyimpanan hari ke-8 dan di hari ke-12 terjadi penurunan kadar protein. Peningkatan protein yang terjadi dapat disebabkan karena terjadinya peningkatan

asam amino dalam jumlah kecil. Menurut Tejasari (2005), penyimpanan beku dapat mempengaruhi peningkatan kandungan asam amino walaupun dalam jumlah yang relatif kecil. Terjadinya penurunan kadar protein pada penyimpanan hari ke-12 dapat disebabkan oleh kerusakan sel karena adanya pertumbuhan kristal es sebagai akibat dari penyimpanan beku. Menurut Estiasih dan Ahmadi (2009), pengaruh utama pembekuan terhadap kualitas bahan atau produk pangan adalah kerusakan sel yang diakibatkan oleh pertumbuhan kristales.

Pembekuan menyebabkan perubahan-perubahan yang kecil pada pigmen, cita rasa atau komponen-komponen nutrisi penting. Tingkat kerusakan bergantung pada ukuran kristal es dan laju pindah panas. Proses laju pembekuan lambat menyebabkan kristal es tumbuh pada ruang antar sel, yang menyebabkan perubahan bentuk (deformasi) dan kerusakan dinding sel di dekatnya. Kristal es mempunyai tekanan uap air yang lebih rendah di dalam sel sehingga air berpindah dari dalam sel menuju kristal yang sedang tumbuh, akibatnya sel mengalami dehidrasi dan secara permanen mengalami kerusakan akibat peningkatan konsentrasi solut. Selain itu pada proses *thawing* (pencairan), sel yang rusak tidak kembali ke wujud asalnya.

Menurut Roenaldo (2002) dalam Arifin dkk (2009), standar ASI dilihat dari jumlah g% dan tingkat kematangan ASI, maka protein ASI untuk kolostrum adalah 4,1 g%, protein ASI transisi 1,6 g% dan protein ASI matur 1,2 g%. Penelitian Arifin dkk tersebut diperoleh kadar protein ASI para ibu sesuai standar 1,2 g% dan selanjutnya mengalami penurunan kadar protein ASI yang disimpan pada suhu ruang dengan rata-rata masih mendekati normal. Hasil tersebut diperoleh juga dalam penelitian ini, dimana peneliti memperoleh kadar ASI awal ibu menyusui 1,58 g% dan masih berada di antara protein matur dan transisi. Bahkan setelah perlakuan penyimpanan beku terjadi kenaikan dan penurunan kadar protein tetapi tidak berada di bawah standar tersebut. Menurut Almatsier dkk (2011), ASI mempunyai kadar protein yang paling rendah dibandingkan dengan susu mamalia lain. Kandungan protein ASI kurang lebih 1,5 gram/100 ml. Protein utama ASI adalah kasein dan *whey*. Kasein merupakan

protein mengandung fosfor yang hanya terdapat di dalam susu, sedangkan protein *whey* seperti laktalbumin dan laktoferin disintesis dalam kelenjar-kelenjar payudara. Kolostrum mengandung kurang lebih 2% protein, sedangkan ASI mengandung kurang lebih 1-1,5% protein.

Total Bakteri

Penyimpanan ASI selama 12 hari pada suhu -15°C berdasarkan hasil uji statistik berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah total bakteri ASI dengan nilai *F*hitung 12,747 lebih besar dari nilai *F*tabel 5% (4,07). Berdasarkan hasil penelitian didapati bahwa ASI yang disimpan pada suhu beku sampai pada hari ke-4 tidak mengalami peningkatan atau penurunan total bakteri dengan hasil uji menunjukkan jumlah total bakteri hari ke-4 (A1) 116 CFU/ml sama jumlahnya dengan perlakuan kontrol A0. Hal ini mengindikasikan bahwa proses pembekuan dapat menghambat proses pertumbuhan dan perkembangan bakteri sampai pada hari ke-4. Menurut Fardiaz (1992), penggunaan suhu rendah dalam pengawetan makanan didasarkan pada kenyataan bahwa aktivitas mikroorganisme dapat diperlambat atau dihentikan pada suhu di atas suhu pembekuan. Hal ini disebabkan karena reaksi-reaksi metabolisme di dalam sel mikroorganisme dikatalis oleh enzim, dan kecepatan reaksi sangat dipengaruhi oleh suhu.

Penurunan jumlah total bakteri dalam penelitian ini terjadi pada penyimpanan hari ke-8 dengan jumlah rata-rata total bakteri 22 CFU/ml, dan selanjutnya meningkat pada hari ke-12 dengan total 133 CFU/ml jauh di atas perlakuan kontrol (A1). Penurunan bakteri yang tidak konsisten selama periode penyimpanan ini disebabkan oleh adanya kemungkinan jenis bakteri tertentu yang resisten terhadap penyimpanan beku sehingga pada hari ke-4 penyimpanan terdapat peningkatan jumlah total bakteri.

Terjadinya penurunan jumlah total bakteri dapat disebabkan karena proses penyimpanan pada suhu di bawah 0°C atau pembekuan dapat mengakibatkan terjadinya stress/sakit pada beberapa sel bakteri dan berdampak pada kerusakan sel. Selain itu proses thawing atau pelelehan/pencairan ASI juga

mempengaruhi terjadinya penurunan jumlah bakteri. Menurut Fardiaz (1992), penyimpanan makanan pada suhu rendah di bawah 0°C seperti yang dilakukan dalam pengawetan beku yang selanjutnya dilakukan dengan proses pelelehan dapat mengakibatkan terjadinya stress/sakit pada beberapa sel bakteri. Proses tersebut dapat mengakibatkan kerusakan subletal pada sel-sel bakteri *E. coli*, *Salmonella anatum*, *S. lactics*, *Shigella*, *S. Faecalis* dan *Pseudomonas fluorences*. Sel mikroorganisme dikatakan mengalami stress atau sakit jika kehilangan salah satu atau lebih sifat-sifat atau aktifitasnya pada kondisi yang dapat dilakukan sel-sel normal. Sel yang mengalami kerusakan subletal merupakan sel yang tidak mampu menyerap nutrisi secara normal dan tidak mampu tumbuh di dalam medium yang menandung senyawa-senyawa selektif. Berbagai proses pengolahan makanan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan subletal pada sel mikroorganisme yang terdapat di dalam makanan misalnya pemanasan, pendinginan, pembekuan, pelelehan/pencairan, pengeringan beku, pengurangan air, dan sebagainya. Supardi dan Sukanto (1999) menjelaskan pengaruh pembekuan terhadap mikroba menunjukkan adanya pengaruh langsung dari pembekuan yang terlihat dalam suatu penurunan jumlah populasi yang tajam, diikuti dengan pengaruh mematikan yang kurang drastis.

Pada kondisi tertentu, kerusakan-kerusakan sel yang belum terlalu parah mungkin dapat disembuhkan kembali sehingga sel tersebut dapat melakukan metabolisme seperti halnya sel normal (Fardiaz, 1992). Proses seperti ini terlihat pada hasil penelitian penyimpanan ASI sampai pada hari ke-12 dimana terjadi peningkatan jumlah sel bakteri. Menurut Fardiaz (1992) mikroorganisme yang telah dinyatakan inaktif tersebut dapat aktif kembali dan tumbuh dapat disebabkan karena faktor nutrisi dan kondisi lingkungan sehingga memungkinkan sel-sel yang sakit atau stress yang berada dalam keadaan inaktif menjadi aktif kembali, timbul dna berkembang seperti halnya sel-sel normal.

Kemampuan bertahan hidup bakteri sampai pada penyimpanan hari ke-12 pada suhu -15°C disebabkan oleh keberadaan bakteri Gram positif yang mampu tahan

terhadap proses pembekuan. Hal ini sesuai dengan pendapat Estiasih dan Ahmadi (2011) mengungkapkan bahwa ketahanan mikroba terhadap pembekuan berbeda-beda, dimana sel vegetatif khamir, kapang, dan bakteri Gram negatif seperti koliform dan *Salmonella* mudah rusak karena pembekuan. Akan tetapi bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Enterococci*) dan spora kapang bersifat lebih tahan. Selain itu, menurut Supardi dan Sukamto (1999), suatu bahan pangan beku yang dicairkan mempunyai pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan mikroba. Selain itu, ASI memiliki atau mengandung beberapa jenis bakteri yang baik bagi usus bayi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ASI mengandung beberapa jenis bakteri asam laktat yang berpotensi sebagai probiotik, seperti *Bifidobacterium longum*, *B. animalis*, *B. bifidum*, dan *B. catenulatum*. Selain itu keberadaan laktobasili pada ASI antara lain *L. gasseri*, *L. fermentum* dan *L. salivarius* (Nuraida, Winarti and Prangdimurti, 2011). Jenis-jenis bakteri asam laktat tersebut merupakan jenis-jenis bakteri Gram positif.

Berdasarkan fase pertumbuhan bakteri, maka dapat dijelaskan bahwa terjadi fase adaptasi dimana bakteri yg sudah ada di dalam ASI berupaya melakukan adaptasi dengan lingkungan dan hasilnya ditunjukkan dengan jumlah total bakteri pada hari ke-4 secara rata-rata sama dengan perlakuan ASI kontrol. Menurut Fardiaz (1988), fase adaptasi terjadi ketika komponen mikroba melakukan penyesuaian dengan kondisi lingkungan disekitarnya. Fase ini dipengaruhi oleh medium, lingkungan pertumbuhan, dan jumlah inokulum. Jika medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya, maka mungkin tidak memerlukan adaptasi, tetapi sebaliknya jika nutrisi yang tersedia dan lingkungan yang baru berbeda dengan sebelumnya diperlukan waktu untuk mensintesa enzim-enzim. Hal ini yang terjadi pada penyimpanan beku, karena merupakan salah satu kondisi lingkungan yang baru yaitu suhu pertumbuhan.

Tingkat Keasaman (pH)

Hasil uji tingkat keasaman (pH) ASI dengan perlakuan penyimpanan A0 (0 hari), A1 (4 hari), A2 (8 hari) dan A3 (12

hari) pada suhu -15°C menunjukkan bahwa rata-rata kisaran pH ASI berkisar pada pH 7,06 sampai dengan 7,40. Kisaran pH tersebut mengalami penurunan nilai pH seiring dengan lama penyimpanan ASI sampai pada hari ke-12. Perubahan keasaman (pH) dapat disebabkan oleh keberadaan bakteri yang terdapat pada ASI selama penyimpanan. Murti (2014) mengemukakan bahwa pH susu ternak netral yakni antara 6,6-6,8, kecuali susu unta dan ASI 7,01. Pada pH sekitar ini mikroba khusus bakteri asam laktat mesofilik sangat cepat beradaptasi dan berkembang biak. Menurut Estiasih dan Ahmadi (2011) pada suhu pembekuan normal (-18°C), terjadi penurunan mutu yang lambat akibat perubahan kimiawi atau aktivitas enzim. Perubahan tersebut dipercepat dengan perubahan pH, peningkatan konsentrasi solute disekitral es, penurunan aktivitas air, dan potensi reduksi-oksidasi. Jika enzim tidak diinaktivasi sebelum pembekuan, kerusakan membran sel menyebabkan enzim kontak dengan solut dan bereaksi.

Warna

Menurut Murti (2014) susu normal merupakan senyawa keruh berwarna putih kekuningan. Karakter keruh diambil dari penyinaran yang dipendarkan oleh partikel protein dan butiran lemak. Ketika susu mengandung butiran lemak lebih kecil, susu akan memendarkan lebih banyak sinar sehingga produk kelihatan lebih putih seperti pada susu homogenisasi. Muchtadi dkk (2010) menjelaskan bahwa warna putih susu merupakan refleksi cahaya oleh globula lemak, kalsium kaseinat dan koloid fosfat.

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh tidak ada perbedaan yang mencolok pada ASI yang disimpan dengan perlakuan kontrol sampai pada penyimpanan hari ke-12. Warna ASI yang diamati secara oragnoleptik adalah tampak warna putih susu kekuningan. Perbedaan yang muncul adalah hasil penyimpanan ASI hari ke-8 dan ke-12 yang telah di thawing (dicairkan) nampak ASI tidak homogen sehingga terlihat warna putih susu kekuningan terpisah di bagian atas dengan putih susu dan dominan encer atau cair bagian bawah. Menurut Aminah dan Isworo (2012), perubahan yang terjadi dalam

penyimpanan ASI dengan munculnya warna kuning yang lebih jelas tampak dihubungkan dengan perubahan parameter yang lainnya yaitu pemisahan krim dan cairan sehingga krim susu berwarna kuning tampak berada di bagian atas. Warna kekuningan yang secara organoleptik terlihat ada pada ASI menunjukkan adanya kolostrum. Menurut Almatsier dkk (2011) warna kekuningan dari kolostrum disebabkan kandungan karoten yang relatif tinggi. Kolostrum mempunyai kandungan energy lebih rendah, protein lebih tinggi, serta karbohidrat dan lemak lebih rendah daripada ASI yang diproduksi selanjutnya. Kolostrum juga memiliki kandungan mineral natrium, kalium, dan klorida yang lebih tinggi dari ASI. Komposisi zat gizi kolostrum berubah dari hari ke hari, yang mana disebabkan oleh pola sekresi payudara yg belum stabil.

Aroma ASI

Aroma ASI selama penyimpanan tetap normal aroma khas ASI sampai pada penyimpanan hari ke-8 dan hari ke-12 aroma ASI mulai berkurang dan dominan aroma yang muncul adalah bau agak anyir, seperti bau logam dan bahkan menyerupai aroma santan kelapa. Hasil ini sejalan dengan penelitian Aminah dan Isworo (2008) yang melakukan penelitian penyimpanan ASI pada suhu rendah, dimana mereka menemukan bau yang terbentuk setelah ASI disimpan pada suhu -5°C sampai pada hari ke-5 terjadi perubahan dari bau khas ASI muncul bau anyir. Bau khas anyir atau amis susu segar menurut Muchtadi dkk (2010) dihubungkan dengan flavor yang khas dari susu dengan laktosa, dimana jika kandungan laktosa rendah dan klorida tinggi menyebabkan flavor garam/asin pada susu. Murti (2014) mengungkapkan bahwa pembekuan mempengaruhi flavor susu, setelah pembekuan susu mencair kembali, maka susu akan memberikan rasa seperti air, globula lemak akan memiliki bentuk yang tidak beraturan, terjadi pemecahan globula dan pembebasan beberapa asam lemak bebas.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ASI yang disimpan selama 12 hari pada penyimpanan beku dapat dikatakan masih dalam kondisi yang baik, walaupun ada sedikit perubahan komponen zat gizi, tetapi

dari variabel aroma ASI tidak menunjukkan aroma yang abnormal seperti bau asam, dan atau seperti telur busuk. Menurut Muctadi dkk (2010), bau busuk yang timbul pada susu disebabkan karena hasil penguraian protein oleh bakterisehingga menimbulkan seperti telur busuk. Sedangkan jika susu menunjukkan bau atau aroma yang abnormal lain seperti bau asam menandakan bahwa telah terjadi dekomposisi unsur-unsur susu akibat pertumbuhan bakteri dan mikroorganisme lainnya, misalnya penguraian laktosa menjadi asam laktat yang menyebabkan bau asam. Sedangkan Tridjoko (2014) menjelaskan bahwa susu yang tercemar bakteri pengurai laktosa akan membantuk asam karena kemunculan asam piruvat dan dilanjutkan dengan asam laktat atau terbentuk asam asetat.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Perlakuan lama waktu penyimpanan beku memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar protein ASI dengan hasil uji analisis ragam diperoleh nilai F-hitung 28,285 lebih besar dari nilai F-tabel 5% (4,07), dengan hasil uji lanjut BNT 5% didapati perlakuan penyimpanan pada suhu -15°C selama 8 hari (A2) dan 12 hari (A3) berpengaruh sangat nyata dibanding perlakuan yang lain.
2. Perlakuan lama waktu penyimpanan beku memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah total bakteri ASI yang disimpan selama 12 hari pada suhu -15°C dengan hasil uji analisis ragam diperoleh nilai F-hitung 12,747 lebih besar dari nilai F-tabel 5% (4,07) dengan hasil uji lanjut BNT 5% didapati perlakuan penyimpanan pada suhu -15°C selama 8 hari (A2) berbeda sangat nyata dibanding perlakuan yang lain.
3. Perlakuan lama waktu penyimpanan beku memberikan pengaruh nyata terhadap pH ASI yang disimpan selama 12 hari pada suhu -15°C dengan hasil uji analisis ragam diperoleh nilai F-hitung 6.818 lebih besar dari nilai F-tabel 5% (4,07), dengan hasil uji lanjutan BNT 5% diperoleh hasil bahwa

- penyimpanan pada suhu -15°C ada perbedaan antar tiap perlakuan lama waktu penyimpanan dari 0 hari (A0) sampai dengan hari ke-12 (A3).
- Warna ASI yang disimpan pada penyimpanan beku -15°C selama 12 hari tidak mengalami perubahan, ASI tetap berwarna putih susu kekuningan.
 - Aroma atau bau ASI yang disimpan pada penyimpanan beku -15°C mengalami perubahan aroma di hari ke-8 dan ke-12 hari tercium aroma agak anyir disertai bau logam dan bau atau aroma ASI mendekati aroma santan kelapa.

Saran

- Bagi peneliti lain perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait penyimpanan beku Air Susu Ibu (ASI) dengan parameter uji yang lain seperti kadar laktosa karena jika ditinjau dari nilai pH, total bakteri terlihat ada perubahan yang nyata.
- Perlu dilakukan penelitian lanjut dalam mengidentifikasi jenis bakteri yang terkandung dalam ASI.
- Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait lama waktu thawing ASI
- Bagi para ibu menyusui perlu memperhatikan higienitas dalam pemerah ASI, sehingga ASI yang diambil tidak terkontaminasi cemaran mikroba.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur dan Terima Kasih kami peneliti panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas limpahan berkat dan kasih karunia-Nya sehingga peneliti dapat melaksanakan penelitian dan membuat laporan akhir penelitian hibah dosen pemula yang berjudul "Pengaruh Lama Penyimpanan ASI Pada Suhu -15°C Terhadap Kualitas ASI". Proses penelitian dan penulisan laporan ini bisa diselesaikan tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini kami peneliti ingin mengucapkan terima kasih kepada:

- Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan yang telah memberikan bantuan dana dalam pelaksanaan penelitian ini

- Rektor Universitas Kristen Indonesia Maluku atas bantuan dan dukungan yang diberikan
- Drs. M. Maspaitella, M.Si selaku Ketua Lembaga Penelitian Universitas Kristen Indonesia Maluku atas dukungan yang diberikan
- Drs. I. Noya, M.Kes, selaku Dekan Fakultas Kesehatan
- Kepala dan Staf Puskesmas Air Salobar
- Para Relawan ASI di wilayah Puskesmas Air Salobar
- Kepala Laboratorium Kimia Dasar UNPATTI dan Baristand Ambon
- Berbagai pihak yang telah membantu mensukseskan pelaksanaan kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S., S. Soetardjo., M. Soekarti., 2011. Gizi Seimbang Dalam Daur Kehidupan. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Aminah, S. dan J.T. Isworo.2012.Pengaruh Penyimpanan Pada Suhu Rendah Terhadap Umur Simpan dan Total Bakteri Air Susu Ibu.Prosiding Hasil Seminar Nasional.Lembaga Penelitian Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Arisman. 2014. Buku Ajar Ilmu Gizi- Gizi Dalam daur Kehidupan. Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2009. Bahan-bahan Kosmetik Sebagai Anti Acne, Rosela dan Herbal Khusus Untuk Ibu Menyusui. Naturakos Edisi 10. 2009. Vol.IV/No. 10, Juli 2009-ISSN 1907-6606
- Cakrawati, D., dan Mustika NH. 2012. Bahan Pangan, Gizi dan Kesehatan. Penerbit Alfabeta. Bandung.
- Dundu, B.2000. Penuntun Praktikum Mikrobiologi. Fakultas Pertanian, Universitas Sam Ratulung, Manado.
- Estiasih, T. dan K. Ahmadi.2011. Teknologi Pengolahan Pangan. Penerbit Bumi Aksara. Jakarta
- Fardiaz, S, 1992. Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Indtitut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fardiaz, S .,1988. Fisologi Fermentasi. Pusat Antar Universitas IPB. Bogor

- Gazperz, V. 1991. Metode Rancangan Percobaan. Arminco. Bandung
- Ikatan Dokter Anak Indonesia. 2014. ASI- Penyimpanan ASI Perah. Diunduh dari <http://idai.or.id/public-aarticles/klinik/asi/penyimpanan-asi-perah.html> pada tanggal 22 Maret 2015
- Iqbal, M. 2010. Pengaruh Variasi Suhu dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Air Susu Ibu (ASI). Program Studi Gizi Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran. UGM.Yogyakarta.
- Irianto, 2006. Mikrobiologi Jilid 2. CV. Yrama Widya. Bandung
- Istiany A. dan Rusilanti. 2013. Gizi Terapan. PT. Remaja Rosdakarya. Bandung.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.2012. Peraturan Pemerintah Nomor 33 Tahun 2012 Tentang Air Susu Ibu Eksklusif.
- Legowo, A. M. 2002. Sifat Kimiawi, Fisik dan Mikrobiologi Susu. Diktat Kuliah. Program Studi hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro.
- Muchtadi, T.R, Sugiyono, F. Ayustaningwarno. 2010. Ilmu Pengetahuan Bahan. Penerbit Alfabeta. Bandung
- Murti, T. W., 2014. Pangan, Gizi, dan Teknologi Susu. Gajah Mada Univerity Press. Yogyakarta.
- Nuraida, L., Winarti, S. and Prangdimurti, E. (2011) 'Evaluasi In Vitro Terhadap Kemampuan Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Air Susu Ibu Untuk Mengasimilasi Kolesterol Dan Mendekonjugasi Garam Empedu [In Vitro Evaluation Of Cholesterol Assimilation And Bile Salt Deconjugation By Lactic Acid Bacteria Isolated', j Teknol. dan Pangan, XXII(1), pp. 46–52.
- Saleha, S. 2009. Asuhan Kebidanan Pada Masa Nifas. Penerbit Salemba Medika. Jakarta.
- Waryana. 2010. Gizi Reproduksi. Pustaka Rihama. Yogyakarta.
- Widyani, R. dan T. Suciaty. 2008. Prinsip Pengawetan Pangan. Penerbit Swagati Press. Cirebon.