

# Kadar Asam Laktat dan Laktosa Yoghurt Hasil Fermentasi Menggunakan Berbagai Rasio Jumlah Sel Bakteri dan Persentase Starter

(The Content of Lactic Acid and Lactose of Yoghurt Fermented with Different Number and Percentage Starter Bacteria)

Prayitno

Fakultas Peternakan Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

---

## Abstract

The objective of the research was to study rate of lactose fermentation and production of lactic acid by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. Yoghurt was made from skim milk 10 percent inoculated with *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* different number and percentage. The research was conducted in a completely randomized design factorial pattern 3 x 4. The first factor was different (R) of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*  $10^9 : 10^9$  (1 : 1),  $10^9 : 2 \times 10^9$  (1 : 2) and  $2 \times 10^9 : 10^9$  (2 : 1), and second factor was percentage (S) of starter, with were 1, 2, 3 and 4 percent. Each treatment has three replicated. Variabels measured were lactic acid and lactose content of yoghurt after 12 hours fermented. Lactic acid content was determined by titration and lactose content by spectrofotometry. Result showed that number of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* and percentage of starter, including their interaction, have very high significant ( $P < 0,01$ ) affect on lactic acid and lactose content of yoghurt. For resulted the yoghurt with the best quality (middle of lactic acid and lower lactose content) recommended to used *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* 1 : 2 with 4 percent starter addition.

**Key Words** : *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, starter, yoghurt, lactic acid, lactose

---

## Pendahuluan

Produk yoghurt telah dikenal luas dan disukai sebagian masyarakat karena bila dikonsumsi : 1) dapat memperbaiki proses pencernaan protein dan lemak, 2) merangsang sekresi cairan yang diperlukan untuk proses pencernaan seperti air liur, cairan lambung, empedu dan pancreas serta 3) mengurangi timbulnya reaksi alergi terhadap laktosa (Roginsky, 1988). Kata yoghurt berasal dari bahasa turki *yogurt* yang berarti susu asam. Produk yoghurt lebih mudah dicerna dalam saluran pencernaan dibanding susu utuh (*whole milk*). Yoghurt mempunyai kekentalan dan rasa khas sehingga dapat dijadikan sebagai produk susu alternatif bagi konsumen (Chandnan dan Shahani, 1993). Yoghurt dapat diklasifikasikan

berlemak tinggi (3,20%), rendah (0,50 sampai 2,00%) dan tanpa lemak apabila kurang dari 0,50% (Helferich dan Westhoff, 1980).

Bakteri *starter* yang banyak digunakan adalah *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Kedua jenis bakteri ini bekerja secara sinergi saat memfermentasi susu. *Streptococcus thermophilus* mengawali pemecahan laktosa susu menjadi glukosa dan galaktosa (monosakarida), sedangkan *Lactobacillus bulgaricus* memetabolisme sebagian monosakarida menjadi asam laktat. Mekanisme ini terjadi karena *Streptococcus thermophilus* dapat bekerja aktif pada pH mendekati netral akan tetapi kemampuannya mensintesis asam laktat rendah serta tidak toleran asam, sedangkan *Lactobacillus bulgaricus* kurang aktif pada kondisi pH netral namun toleran asam dan mampu mensintesis

banyak asam laktat. Oleh karena itu, agar dihasilkan yoghurt dengan kadar laktosa rendah dan keasaman yang dapat diterima konsumen, maka penggunaan kedua bakteri tersebut harus proporsional.

Pada umumnya saat pembuatan *starter*, inokulasi *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* hanya didasarkan pada volume media cair kultur, sedangkan jumlah sel di dalamnya tidak diperhitungkan. Akibat yang sering terjadi ketika *starter* digunakan untuk membuat yoghurt mengalami kegagalan. Kasus yang sering terjadi meskipun susu dapat menggumpal tetapi tidak asam dan cenderung timbul bau amoniak. Keadaan seperti ini diantaranya dapat disebabkan karena proporsi sel *Streptococcus thermophilus* lebih banyak, akibatnya terjadi pemecahan laktosa yang cepat tanpa diimbangi kecepatan sintesis asam laktat. Pada kondisi keasaman rendah (pH masih tinggi), aktivitas *Streptococcus thermophilus* dalam memecah protein dan memetabolisme asam amino berjalan cepat, sehingga dihasilkan amoniak yang cenderung meningkatkan pH, akibatnya *Lactobacillus bulgaricus* tidak aktif atau mati sehingga asam laktat tidak terbentuk.

Agar dihasilkan yoghurt berkadar laktosa rendah dengan keasaman dapat diterima konsumen, perlu diatur keseimbangan laju pemecahan laktosa dan metabolisme monosakarida menjadi asam laktat. Mekanisme ini dapat diatur melalui rasio jumlah sel *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* yang diinokulasikan dalam *starter* serta dosis *starter* yang ditambahkan pada saat pembuatan yoghurt.

## Metode Penelitian

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah susu skim, kultur murni bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*, aquades, gula,

media MRS, bakto agar, gelatin, laktosa, glukosa, *bovine serum albumin* (BSA). Reagen *Somogy-Nelson* untuk penentuan gula terlarut, *Lowry* untuk penentuan protein terlarut dan phenol untuk penentuan laktosa serta asam sulfat dan NaOH untuk titrasi asam laktat.

Peralatan yang digunakan meliputi inkubator, pH meter, *water bath*, kompor, thermometer, pengaduk, timbangan, gelas ukur, becker gelas, gelas erlenmeyer, botol fermentasi, kertas tissue, aluminium foil, buret, pipet ukur, mikro pipet, autoclave dan spektrofotometer.

### Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian menggunakan metode eksperimental dalam skala laboratorium. Sebelum digunakan untuk membuat *starter*, bakteri *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* dikulturkan dalam media MRS selama 24 jam. Setiap 2 jam diambil cuplikan kemudian ditanam dalam media MRS agar selama 24 jam kemudian dihitung jumlah koloni yang tumbuh. Jumlah sel dinyatakan dalam *colony forming unit* (CFU) per mililiter. Pengamatan ini untuk menetapkan lama inkubasi sampai mencapai jumlah sel  $10^9$ .

Rasio jumlah jumlah sel *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* yang diinokulasikan berturut-turut 1:1 ( $10^9 : 10^9$ ); 1:2 ( $10^9 : 2 \times 10^9$ ) dan 2:1 ( $2 \times 10^9 : 10^9$ ). *Starter* yang dihasilkan digunakan untuk percobaan pembuatan yoghurt berbahan dasar susu skim dengan persentase penambahan 1, 2, 3 dan 4% dari volume susu yang akan dibuat yoghurt (V : V).

Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial menurut Steel dan Torrie (1991). Faktor pertama (R) adalah rasio jumlah sel *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* yang diinokulasikan pada saat pembuatan *starter* mulai 1:1, 1:2 dan 2:1. Faktor kedua (S) adalah taraf *starter* yang dibuat dengan berbagai rasio jumlah sel digunakan untuk percobaan pembuatan yoghurt dengan taraf

persentase penambahan 1, 2, 3 dan 4%. Setiap kombinasi perlakuan diulang tiga kali.

Model matematik :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Keterangan :

$Y_{ijk}$  = Nilai pengamatan peubah respon pada rasio jumlah sel ke-i dan taraf persentase penambahan starter ke-j, pada ulangan ke-k

$\mu$  = Nilai rata-rata umum

$\alpha_i$  = Pengaruh rasio jumlah sel ke-i

$\beta_j$  = Pengaruh persentase penambahan starter dengan taraf ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Pengaruh bersama pada rasio jumlah sel ke-i dan taraf persentase penambahan starter ke-j

$\epsilon_{ijk}$  = Galat percobaan

Peubah yang diukur dari kombinasi perlakuan adalah kadar asam laktat dan kadar laktosa. Kadar asam laktat ditentukan dengan metode titrasi menurut Soedigdo (1988), sedangkan kadar

laktosa ditentukan dengan metode spektrofotometri menurut Fremawati (1998).

Data dianalisis dengan analisis ragam dan dilanjutkan dengan analisis regresi menurut Steel dan Torrie (1991).

### Proses Pembuatan Yoghurt

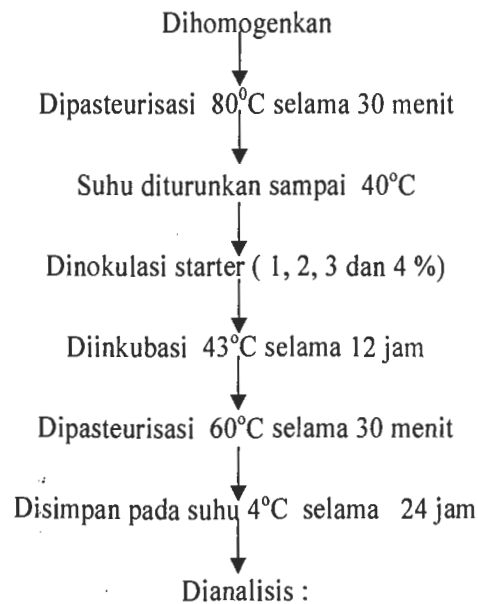
Proses pembuatan yoghurt menurut metode Buckle *et al.* (1978), Hadiwiyoto (1983) dan Panji (1988) yang dimodifikasi. Tata urutan kerja proses pembuatan yoghurt pada Gambar 1.

## Hasil dan Pembahasan

### Kadar Asam Laktat

Hasil analisis kadar asam laktat antar perlakuan menunjukkan perbedaan yang relatif besar (Tabel 1). Yoghurt yang dibuat menggunakan starter 1% dengan rasio jumlah sel *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* 1:1 (R<sub>1</sub>S<sub>1</sub>) mempunyai kadar asam laktat paling rendah, sedangkan kadar tertinggi pada penggunaan starter 4% dengan rasio sel 1:2.

Larutan susu skim 10 % ( 10 g susu skim + 100 ml air)



1. Kadar asam laktat (titrasi)
2. Kadar Laktosa (spektrofotometri)

Gambar 1. Proses pembuatan yoghurt

Kadar asam laktat yoghurt antar perlakuan serta interaksinya berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ). Diduga perbedaan kadar asam laktat ini karena antar perlakuan mempunyai rasio sel *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* berbeda, sehingga mempengaruhi laju pemecahan laktosa dan sintesis asam laktat. Antara rasio 1:1 dengan 1:2 dan 2:1 serta persentase starter 1 dengan 2, 3 dan 4% berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ).

Ada interaksi yang sangat nyata ( $P < 0,01$ ) antara penggunaan rasio sel dengan taraf penambahan starter terhadap kadar asam laktat. Hasil penelitian Setiawan dan Prayitno (2004) melaporkan bahwa penggunaan starter 4% dengan rasio jumlah sel *S. thermophilus* dan *L. Bulgaricus*  $10^9 : 10^9$  (1:1) dihasilkan yoghurt berkadar asam laktat tertinggi, sedangkan kadar asam laktat terendah pada penggunaan starter 1%. Penggunaan starter 5% dengan rasio 1:1 (berdasarkan volume kultur *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*) dengan lama fermentasi 18 jam dihasilkan yoghurt berkadar asam laktat 0,646%

(Astuti dan Setyawardani, 2003). Irawan dan Prayitno (2004) melaporkan penelitiannya bahwa penggunaan starter 4% dengan rasio 1:1 (didasarkan volume kultur *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*) selama 12 jam fermentasi dihasilkan yoghurt dengan pH 4,68 dan paling disukai panelis, sedangkan penggunaan starter 2% dengan lama fermentasi 12 dihasilkan yoghurt pH 5.5 dan tidak disukai panelis.

Hasil analisis regresi antara persentase starter dengan kadar asam laktat menunjukkan hubungan linier dan membentuk persamaan garis  $Y = 1,25 + 0,19 X$  dengan koefisien korelasi ( $r$ ) 0,36 dan koefisien determinasi ( $R^2$ ) sebesar 13,09%.

Hasil ini menunjukkan bahwa pengaruh persentase starter terhadap tinggi dan rendahnya kadar asam laktat yoghurt hanya sebesar 13,09%. Diduga yang banyak berperan dalam pembentukan asam laktat selama fermentasi adalah rasio jumlah sel *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* dalam starter yang digunakan.

Tabel 1. Kadar asam laktat dan laktosa yoghurt hasil fermentasi dengan berbagai rasio inokulasi *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* serta persentase penambahan starter

Perlakuan	Rataan kadar asam laktat (%)	Rataan kadar laktosa ( $\mu\text{g/ml}$ )
R <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	0,3152 <sup>a</sup>	202,0832
R <sub>1</sub> S <sub>2</sub>	0,5345 <sup>c</sup>	197,3042
R <sub>1</sub> S <sub>3</sub>	0,6059 <sup>f</sup>	169,3847
R <sub>1</sub> S <sub>4</sub>	0,6312 <sup>g</sup>	153,7603
R <sub>2</sub> S <sub>1</sub>	0,7392 <sup>b</sup>	173,2561
R <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	0,7625 <sup>i</sup>	158,3311
R <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	0,8036 <sup>j</sup>	139,2715
R <sub>2</sub> S <sub>4</sub>	0,9785 <sup>k</sup>	119,4319
R <sub>3</sub> S <sub>1</sub>	0,3675 <sup>b</sup>	129,1645
R <sub>3</sub> S <sub>2</sub>	0,3870 <sup>c</sup>	108,5822
R <sub>3</sub> S <sub>3</sub>	0,4068 <sup>d</sup>	90,1169
R <sub>3</sub> S <sub>4</sub>	0,4165 <sup>d</sup>	70,1752

<sup>a,b,c,d,e,f,g,h,i,j,k</sup> Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan ada perbedaan pada  $P < 0,01$

R<sub>1</sub> = Rasio *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* 1 : 1,

R<sub>2</sub> = Rasio *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* 1 : 2,

R<sub>3</sub> = Rasio *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* 2 : 1.

S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub> dan S<sub>4</sub> berturut-turut persentase penambahan starter 1, 2, 3 dan 4%.

## Kadar Laktosa

Kadar laktosa dalam yoghurt antar perlakuan menunjukkan perbedaan yang relatif besar (Tabel 1). Yoghurt yang dibuat menggunakan starter 4% dengan rasio sel *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* 2:1 (R<sub>3</sub>S<sub>4</sub>) mempunyai kadar laktosa terendah dan tertinggi pada penggunaan starter 3% dengan rasio sel 1:2.

Tidak ada interaksi antar perlakuan penggunaan rasio sel dan perlakuan taraf persentase penambahan starter terhadap kadar laktosa yoghurt. Namun perlakuan penggunaan rasio sel dan perlakuan taraf persentase penambahan starter masing-masing berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap kadar laktosa yoghurt. Diduga karena rasio sel *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* dalam starter berbeda, sehingga menyebabkan perbedaan laju pemecahan laktosa. Antara rasio 1:1 dengan 1:2 dan 2:1 serta persentase starter 1 dengan 2, 3 dan 4% berbeda sangat nyata ( $P < 0,01$ ) dalam kemampuannya memecah laktosa.

Hasil penelitian Setiawan dan Prayitno (2004) melaporkan bahwa penggunaan starter 4% dengan rasio jumlah sel *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*  $10^9 : 10^9$  (1:1) dihasilkan yoghurt berkadar laktosa terendah, sedangkan kadar laktosa tertinggi pada penggunaan starter 1%.

Hasil analisis regresi antara persentase starter dengan kadar laktosa menunjukkan hubungan linier dan membentuk persamaan garis  $Y = 564,93 - 54,89 X$  dengan koefisien korelasi  $r = 0,5217$  dan koefisien determinasi  $R^2$  sebesar 27,22%.

## Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa semakin banyak jumlah sel *L. Bulgaricus* dalam starter mempercepat pembentukan asam laktat dalam produk yoghurt yang dihasilkan. Sebaliknya semakin banyak jumlah

sel *S. thermophilus* pemecahan laktosa semakin cepat.

## Daftar Pustaka

- Astuti, Y. T. dan T. Setyawandani, 2003. Penggunaan Susu Skim dan Asam Lemak Omega-3 Sebagai Alternatif Cara Memperbaiki Kualitas Nutrisi Yoghurt. *Laporan Penelitian*. Pusat Penelitian Pangan, Gizi dan Kesehatan. Lembaga Penelitian UNSOED. 13 – 21.
- Buckle, K. A.; R.A. Edwards, S.G. H. Fleet, dan M. Wotton, 1987. Ilmu Pangan. *Terjemahan*. Purnomo H. dan Adiono. Universitas Indonesia Press, Jakarta.p.294 – 295.
- Chandnan, R. C. and K.M. Shahani, 1993. Yoghurt. *In: Dairy Science. Hand Book II. Product Manufactory*. J.H. Hui (Editor). VHC. Publisher. New York. p. 123 – 157.
- Frimawaty, E., 1998. Pengaruh Super Ovulasi dan Perbaikan Pakan Terhadap Aktifitas Enzim Sintetase Laktosa Kelenjar Ambing dan Produksi Susu Pada Domba Ekor Tipis. *Tesis*. Program Pascasarjana, IPB., Bogor.p. 28 – 36.
- Hadiwiyoto, S., 1983. *Hasil-Hasil Olahan Susu, Ikan, Daging dan Telur*. Liberty, Yogyakarta. 47 – 49.
- Hadiwiyoto, S., 1994. *Teori dan Prosedur Pengujian Mutu Susu dan Hasil Olahannya*. Liberty. Yogyakarta. 54 – 57.
- Salamah, 2000. Kemampuan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Asinan Kubis dalam Memfermentasi Susu Kedelai Dengan Lama Fermentasi Berbeda. *Skripsi*. Fakultas Biologi, UNSOED, Purwokerto.p.34 – 39.
- Irawan, Z.M., dan Prayitno, 2004. Pengaruh Persentase Starter dan Lama Inkubasi terhadap pH dan Tingkat Kesukaan Konsumen Yoghurt Berbahan Dasar Susu Skim. *Skripsi*. Fakultas Peternakan, UNSOED., Purwokerto.p.18 – 32.
- Panji, C., 1988. *Penuntun Praktikum Bioindustri*. PAU-Bioteknologi, IPB., Bogor.p.78 – 82.
- Roginsky, H., 1988. Fermented milk. *J. Dary Industry Association of Australia*: 163 – 169.

Setiawan, H., dan Prayitno, 2004. Pengaruh Persentase Starter terhadap Kadar Asam Laktat dan Laktosa Yoghurt Berbahan Dasar Susu Skim. *Skripsi*. Fakultas Peternakan UNSOED. Purwokerto.p.26 – 35.

Soedigdo, P., 1988. *Metode Penelitian Biokimia*. PAU-Bioteknologi, ITB, Bandung.p.23 – 26.

Steel, R.G.D. dan Torrie, 1991. Prinsip dan Prosedur Statistika. *Terjemahan*. B. Soemantri. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.p.158 – 160.