

# Efektifitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein/Susu Nabati

Sri Widowati dan Misgiyarta

*Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian*

## ABSTRAK

Pada penelitian isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat (BAL) diperoleh 5 isolat unggul dalam menghasilkan asam laktat pada substrat *de Man Rogosa Sharpe broth*. Lima isolat unggul tersebut adalah F3, Nb3, KBB3, NNb PR5, dan SLB 22. Isolat-isolat tersebut belum diketahui efektifitasnya dalam memfermentasi substrat susu kacang-kacangan sebagai media pertumbuhannya. Tujuan penelitian ini adalah (1) mengetahui efektifitas BAL unggul dalam memfermentasi substrat susu kacang-kacangan dan (2) menguji organoleptik terhadap susu kacang-kacangan asam hasil fermentasi. Lima isolat unggul diuji efektifitas terhadap susu kacang-kacangan sebagai media fermentasi. Parameter efektifitas BAL adalah kadar asam laktat setelah 24 jam fermentasi. Susu asam hasil fermentasi diuji tingkat penerimaannya oleh konsumen dengan uji organoleptik. Pengujian ini menggunakan *yoghurt* komersial sebagai pembanding. Hubungan susu kacang-kacangan dengan isolat paling efektif dan persentase meningkatnya asam laktat yang dihasilkan secara berurutan adalah kacang hijau-Nb3 = 1,55; kacang merah-KBB3 = 1,05; kacang tanah-NNB PR5 = 0,85; kacang tunggak-SLB 22 = 1,55; kedelai-F3 = 0,95. Tingkat kesukaan panelis terhadap susu kacang merah, susu kacang hijau, susu kacang tunggak tidak berbeda nyata terhadap *yoghurt* komersial, sedangkan tingkat kesukaan panelis terhadap susu asam berbahan dasar kedelai dan kacang tanah berbeda nyata. Susu kacang merah asam paling disukai oleh panelis.

**Kata kunci:** Bakteri asam laktat, efektifitas, fermentasi, susu kacang-kacangan, uji organoleptik

## ABSTRACT

In previous research we isolated five excellences Lactic Acid Bacteria (LAB) isolates. These isolates are F3, Nb3, KBB3, NNb PR5, and SLB 22. The fermentation effectivity of these isolates in legume milk media wasn't observed. The aims of this research were (1) to observe of the fermentation effectivity in legume milk media and (2) to observe panelist preferency to fermented beans milk product. Parameter of fermentation effectivity in beans milk media is lactic acid concentration in media fermentation. The panelist preferency observed by organoleptic testing to fermented beans milk. The most effective couple of LAB isolates, beans milk media, and lactic acid concentration (%) showed respect-ively: mung bean milk-Nb3 = 1.55, kidney bean milk-KBB3 = 1.05, peanut milk-NNB PR5 = 0.85, legume milk-SLB 22 = 1.55, soybean milk-F3 = 0.95. Duncan's test show that the panelist preferency to fermented kidney bean milk, fermented mung bean milk, and fermented legume milk compared to commercialized yoghurt are not significant. The panelist preferency to fermented peanut milk and fermented soybean milk compared to commercialized yoghurt are significant. The most preference of fermented beans milk by panelists is fermented kidney bean milk.

**Key words:** Lactic acid bacteria, effectivity, fermentation, legume milk, organoleptic test

## PENDAHULUAN

Diversifikasi pengolahan pangan berbahan dasar kacang-kacangan masih sangat terbatas. Keragaman produk diperlukan untuk memberikan alternatif pilihan produk pada konsumen. Salah satu usaha diversifikasi produk kacang-kacangan tersebut dengan cara membuat susu dari kacang-kacangan yang difermentasi dengan bakteri asam laktat (BAL) lokal unggul.

Beberapa komoditi kacang-kacangan telah digunakan sebagai bahan dasar untuk membuat susu yang dikenal sebagai susu nabati. Susu nabati yang umum ditemukan dipasar ialah susu yang dihasilkan dari kedelai, sedangkan susu kacang-kacangan lain belum banyak ditemukan. Perlu terobosan untuk membuat susu dan produk dari susu kacang-kacangan yang lain, antara lain susu kacang hijau, susu kacang tanah, susu kacang panjang, susu kacang tunggak, susu kacang merah, dan lain-lain. Untuk mendapatkan nilai tambah secara ekonomi, peningkatan nilai gizi, daya terima konsumen terhadap produk kacang-kacangan serta peningkatan ragam pilihan konsumen akan produk kacang-kacangan perlu upaya-upaya proses lebih lanjut. Salah satu upaya tersebut ialah dengan cara fermentasi susu kacang-kacangan menggunakan BAL lokal.

Fermentasi ialah proses baik secara aerob maupun anaerob yang menghasilkan berbagai produk yang melibatkan aktivitas mikroba atau ekstraknya dengan aktivitas mikroba terkontrol (Darwis dan Sukara, 1989). Fermentasi merupakan proses yang telah lama dikenal manusia. Fermentasi adalah proses untuk mengubah suatu bahan menjadi produk yang bermanfaat bagi manusia, seperti fermentasi susu kambing, unta yang terjadi di Sumaria dan Babilonia pada jaman Mesopotamia. Hingga saat ini, proses fermentasi telah mengalami perbaikan-perbaikan dari segi proses sehingga dihasilkan produk fermentasi yang lebih baik (Tamime dan Robinson, 1999).

Fermentasi memiliki berbagai manfaat, antara lain untuk mengawetkan produk pangan, memberi cita rasa atau flavor terhadap produk pangan tertentu, memberikan tekstur tertentu pada produk pangan. Dengan adanya proses fermentasi yang dilakukan oleh mikroba tertentu diharapkan akan meningkatkan nilai gizi yang ada pada produk fermentasi. Dengan adanya perbaikan mutu produk pangan fermentasi ini diharapkan nilai terima pangan oleh konsumen meningkat. Dengan peningkatan nilai terima oleh konsumen akan meningkatkan permintaan terhadap produk fermentasi terutama susu fermentasi.

*Yoghurt* adalah salah satu produk fermentasi. *Yoghurt* didefinisikan sebagai produk pangan berasal dari susu sapi dengan bentuk seperti bubur atau es krim, yang merupakan hasil fermentasi susu sapi dengan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. *Yoghurt* mengandung kultur aktif sehingga  *yoghurt* merupakan produk probiotik. Apabila bahan bakunya susu kedelai disebut *soyghurt* dan kalau dari susu kacang tanah dinamakan susu kacang tanah terfermentasi atau *peaghurt*.

Kacang-kacangan mengandung oligosakarida tidak tercerna, tapi menguntungkan bagi bakteri probiotik, sehingga kacang-kacangan dapat sebagai prebiotik gabungan dari prebiotik dan probiotik disebut simbiotik. Jadi *yoghurt* yang dibuat dari susu kacang-kacangan tergolong produk simbiotik. Susu terfermentasi dikonsumsi karena kesegaran, aroma, dan teksturnya yang khas. Jumlah konsumsi susu terfermentasi berbeda di beberapa negara. Konsumsi tertinggi di Belanda, yaitu 13,7 kg/kapita/tahun, diikuti Swiss 7,5 kg dan Perancis 6,1 kg. Di Indonesia, *yoghurt* sudah dikenal, namun belum memasyarakat. Beberapa tahun terakhir produk *yoghurt* semakin populer, meskipun masih terbatas di kota besar (Koswara, 1995).

Starter dari BAL lokal unggul yang sesuai untuk pengembangan protein nabati terfermentasi perlu dikembangkan, selain untuk menggali potensi sumber daya alam Indonesia, juga untuk mendapatkan starter yang sesuai dengan produk akhir yang diinginkan. Tujuan penelitian ini adalah (1) mengetahui efektifitas BAL unggul dalam memfermentasi substrat susu kacang-kacangan dan (2) uji organoleptik terhadap susu kacang-kacangan asam hasil fermentasi.

## BAHAN DAN METODE

Mikroba yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri asam laktat (BAL) *L. bulgaricus* dan *L. casei*, diperoleh dari Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. *L. bulgaricus* dan *L. casei* disimpan pada media *de Man Rogosa Sharpe Agar/MRS* agar (Oxoid, 1982). Komposisi media MRS agar adalah sebagai berikut: Pepton 10 g, *beef extract* 10 g, *yeast extract* 5 g,  $K_2HPO_4$  2 g, amonium sitrat 2 g, glukosa 2 g, sodium asetat  $3H_2O$  20 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,58 g,  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  0,28 g, agar 15 g, akuades 1000 ml.

Susu nabati pada penelitian ini berasal dari kacang-kacangan yang meliputi kedelai (*Glycyne max* L.), kacang hijau (*Phaseolus radiatus* L.), kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.), kacang tunggak (*Vigna unguiculata* L.), kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.). Bahan kimia untuk pembuatan susu dan untuk analisis diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi serta Laboratorium Biokimia dan Enzimatik, Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor. Penelitian ini dilaksanakan pada tahun 2002, di Laboratorium Mikrobiologi serta Laboratorium Biokimia dan Enzimatik, Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor.

### Kurva Pertumbuhan BAL

Lima isolat BAL unggul digunakan dalam penelitian berasal dari hasil penelitian sebelumnya. Lima isolat BAL unggul diuji kurva pertumbuhannya dengan fermentasi *batch* skala 100 ml, selama 24 jam menggunakan media MRS *broth*. Selama proses fermentasi dilakukan pengukuran gula reduksi dan kerapatan sel sampel pada jam ke-0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, dan 28.

### **Kerapatan BAL (Jutono *et al.*, 1980)**

Diambil 1 ml sampel, dimasukkan ke dalam botol berisi 99 ml akuades steril. Dibuat seri pengenceran hingga  $10^{-8}$ . Diambil 1 ml dari masing-masing pengenceran dan dibuat taburan (*pour plate*). Diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Di-hitung jumlah koloni yang tampak. Koloni yang dihitung adalah jumlah koloni antara 30 sampai 300.

### **Uji Efektivitas BAL**

Efektivitas BAL diuji untuk memperoleh isolat yang kompatibel dan paling efektif dalam memfermentasi substrat susu kacang-kacangan. Uji efektifitas BAL dimulai dengan pembuatan susu kacang, penyiapan starter, dan proses fermentasi.

### **Pembuatan Susu Kacang-kacangan (Chen *et al.*, 1983)**

Kacang disortasi untuk memperoleh kacang yang baik. Kacang direndam pada air selama 4-8 jam kemudian direndam pada air mendidih selama 10 menit. Kulit kacang dikupas. Kacang yang telah bersih dari kulitnya diblender, dengan perbandingan air : kacang (8 : 1). Susu disaring menggunakan saringan kain tipis. Filtrat ditambah gula 5% dan didihkan sambil diaduk. Dilakukan penambahan susu skim 5% dan gelatin sebanyak 1% diaduk selama 5 menit pada api kecil. Susu dimasukkan ke dalam botol steril dan didinginkan pada suhu 37°C.

### **Pembuatan Starter**

Starter dibuat dengan menggunakan media MRS *broth* dan kultur BAL yang telah disiapkan pada media MRS agar miring. Media MRS *broth* steril sebanyak 100 ml dalam erlenmeyer steril diinokulasi dua ose kultur BAL. Media kultur diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C pada *shaker* dengan putaran 125 rpm. Kerapatan BAL mencapai  $10^7$  ml<sup>-1</sup> siap digunakan untuk starter.

### **Fermentasi Susu Kacang**

Susu kacang dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 15 menit, kemudian di-dinginkan sampai suhu 37°C. Media susu kacang dimasukkan ke dalam fermentor steril. Starter sebanyak 3% diinokulasikan ke dalam fermentor. Fermentasi dilaksa-nakan selama 24 jam pada suhu 37°C. Selama proses fermentasi dilakukan analisis terhadap berbagai karakter. Analisis yang dilakukan terhadap produk fermentasi meliputi total asam tertitrasi, kadar protein, derajat keasaman (pH), kadar gula re-duksi, kerapatan sel BAL. Pengambilan sampel dilakukan pada fermentasi jam ke-0, 4, 8, 12, 16, 20, dan 24.

### **Total Asam Tertitrasi (Fardiaz, 1989)**

Kadar asam laktat pada media fermentasi dianalisis dengan metode analisis total asam tertitrasi Fardiaz (1989).

### **Fermentasi Susu Kacang-kacangan**

Fermentasi susu kacang-kacangan oleh BAL dimulai dengan pembuatan susu kacang, penyiapan starter, dan proses fermentasi utama.

### **Pembuatan Susu Kacang-kacangan**

Pembuatan susu dari bahan kacang-kacangan berdasarkan metode yang disampaikan Chen *et al.* (1988).

### **Pembuatan Starter**

Starter dibuat dengan menggunakan media MRS *broth* dan menggunakan kultur BAL yang telah di persiapkan pada media MRS agar miring. Media MRS *broth* steril sebanyak 100 ml dalam erlenmeyer steril diinokulasi dua ose kultur BAL. Media kultur diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C pada *shaker* dengan goyangan 125 rpm. Kerapatan BAL mencapai antara 10<sup>7</sup> ml<sup>-1</sup> siap digunakan untuk starter.

### **Fermentasi Susu Kacang**

Susu kacang dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 15 menit, kemudian di-dinginkan sampai suhu 37°C. Media susu kacang dimasukkan ke dalam fermentor steril. Starter sebanyak 3% diinokulasikan ke dalam fermentor. Fermentasi dilaksa-nakan selama 24 jam pada suhu 37°C. Selama proses fermentasi dilakukan analisis terhadap berbagai karakter. Analisis yang dilakukan terhadap produk fermentasi meliputi: total asam tertitrasi, kadar protein, derajat keasaman (pH), kadar gula reduksi, kerapatan sel bakteri asam laktat. Pengambilan sampel dilakukan pada fermentasi jam ke-0, 4, 8, 12, 16, 20, dan 24.

### **Total Asam Tertitrasi (Fardiaz, 1989)**

Kadar asam laktat pada media fermentasi dianalisis dengan metode analisis total asam tertitrasi Fardiaz (1989).

### **Kadar Protein (Fardiaz, 1989)**

Sampel sebanyak 0,1 g yang telah dihaluskan, dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 30 ml kemudian ditambahkan dengan 2,5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, 1 g katalis dan batu didih. Contoh didihkan 1-1,5 jam atau sampai cairan berwarna jernih. Labu beserta isinya didinginkan, isinya dipindahkan ke dalam alat destilasi dan ditam-bahkan 15 ml larutan NaOH 50%, kemudian dibilas dengan air suling. Labu erlen-meyer berisi HCl 0,02 N diletakkan di bawah kondensor, sebelum ditambahkan ke dalamnya 2-4 tetes indikator (campuran metil merah 0,02% dalam alkohol dan metil biru 0,02% dalam

alkohol dengan perbandingan 2 : 1). Ujung tabung kondensor direndam dalam labu berisi larutan HCl, didestilasi sampai sekitar 25 ml destilat dalam labu erlenmeyer. Ujung kondensor dibilas dengan sedikit air destilat dan bilasannya ditampung di dalam erlenmeyer dan dititrasi dengan NaOH 0,02 N sampai terjadi perubahan warna hijau menjadi ungu. Penetapan blanko dilakukan dengan cara yang sama.

$$\text{Kadar protein kasar (\%)} = \frac{(Y-Z) \times (N \times 0,014 \times 6,25)}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

Y = ml NaOH titer untuk blanko

Z = ml NaOH titer untuk sampel

W = bobot sampel (g)

N = normalitas NaOH

#### **Pengukuran pH (Hadiwiyoto, 1994)**

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter.

#### **Analisis Gula Reduksi (Miller, 1959)**

##### **Pembuatan Larutan Sampel Bebas Pb**

Diambil sampel sebanyak 10 ml, dimasukkan ke dalam labu takar ukuran 100 ml, ditambahkan 50 ml akuades. Ditambahkan bubuk Al(OH)<sub>3</sub>, tetes demi tetes sampai tak ada kekeruhan lagi. Ke dalam labu ditambahkan akuades sampai tanda dan disaring. Filtrat ditampung dalam labu takar ukuran 200 ml. Kelebihan Pb dihilangkan dengan menambahkan Na-fosfat 8% secukupnya, kemudian ditambahkan akuades sampai tanda, digojog dan disaring. Filtrat bebas Pb ini ditambah Na-fosfat 8% sampai tetap jernih.

##### **Pembuatan Kurva Baku**

Dibuat larutan glukosa anhidrat baku 0,2-1,0 mg/ml. Diambil 1 ml larutan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 1 ml akuades. Dibuat blanko yang terdiri 2 ml akuades. Ditambahkan 3 ml DNS pada masing-masing tabung reaksi. Tabung reaksi dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 15 menit dan didinginkan selama 20 menit. Tabung reaksi ditera pada panjang gelombang 575 nm. Dibuat kurva baku glukosa (mg/ml x absorbansi).

##### **Penentuan Gula Reduksi**

Gula standar diencerkan dengan akuades hingga diperoleh kadar gula pereduksi 0,1-1,0 mg/ml. Faktor pengencerannya dicatat. Diambil 1 ml sampel yang terlarut, ditambahkan 1 ml akuades dalam tabung dan ditambah 3 ml larutan DNS. Dididihkan selama 15 menit dan didinginkan 15 menit.

Absorbansi diukur pada panjang gelombang 575 nm. Kadar gula reduksi berdasarkan kurva standart dan dikalikan dengan faktor pengencerannya.

#### **Total BAL (Jutono *et al.*, 1980)**

Analisis kerapatan total BAL dalam cairan fermentasi dilakukan dengan menggunakan metode *pour plate* yang disampaikan oleh Jutono *et al.* (1980).

#### **Uji Organoleptik (Soekara, 1985)**

Untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen terhadap produk fermentasi susu kacang-kacangan yang dihasilkan perlu dilakukan uji organoleptik. Uji organoleptik dilakukan berdasarkan uji hedonik dengan panelis sebanyak 15 orang. Skala hedonik dibuat lima tingkat (tarp 1-5), dimulai dari 1 (sangat suka), 2 (suka), 3 (biasa), 4 (tidak suka), 5 (sangat tidak suka). Penilaian organoleptik dilakukan terhadap warna, rasa, aroma.

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Isolat BAL yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi disimpan pada media MRS agar. Isolat BAL diuji kemampuan memfermentasi susu kacang. Pada tahap pengujian kemampuan isolat bakteri asam laktat memfermentasi susu kacang ini digunakan lima isolat BAL terbaik untuk fermentasi susu kacang hijau, kacang merah, kacang tunggak, kacang tanah, kedelai. Lima isolat BAL terbaik tersebut di-sajikan pada Tabel 1. Sebagai kontrol digunakan bakteri asam laktat komersial, yaitu *L. bulgaricus*.

Sebelum dilakukan fermentasi terhadap susu kacang kacang-kacangan menggunakan lima isolat BAL perlu dilakukan persiapan. Persiapan tersebut ialah menentukan kurva pertumbuhan BAL. Untuk fermentasi digunakan media MRS *broth*. Hadioetomo (1994), mengungkapkan bahwa kultur bakteri yang digunakan pada proses fermentasi mencapai fase log apabila kerapatan sel kultur yang di-gunakan pada fermentasi tersebut mencapai  $10^7/ml$ - $10^8/ml$ . Dari pengujian kurva pertumbuhan digunakan untuk mengetahui umur starter yang akan digunakan untuk fermentasi.

Dari kurva pertumbuhan diketahui, lama fermentasi 24 jam, suhu 37°C, menggunakan media susu kacang-kacangan difermentasi menggunakan lima

**Tabel 1.** Lima isolat BAL yang digunakan dalam fermentasi susu kacang-kacangan

Kode isolat	Persentase asam laktat
SLB 22	0,85
KBB3	0,80
Nb3	0,80
F3	0,80
NNBPR5	0,80

isolat BAL dan menggunakan satu isolat komersial sebagai kontrol pembanding-nya. Dari pengujian kurva pertumbuhan diperoleh hasil kerapatan sel selama fermentasi selama 24 jam (Tabel 2).

Dari data yang disajikan pada Tabel 3, kerapatan sel BAL  $10^7$  sel/ml terjadi pada jam ke-16. Dengan demikian, starter yang digunakan pada fermentasi susu kacang-kacangan ialah stater yang disiapkan pada usia 16 jam.

Pada pengujian kemampuan BAL dalam memfermentasi susu kacang-kacangan, fermentasi dilakukan selama 24 jam. Pada Jam ke-24 dilakukan pema-nenan atau penghentian fermentasi. Pada fermentasi susu kacang-kacangan di-lakukan persiapan yang meliputi pembuatan susu kacang, penyiapan starter, dan fermentasi itu sendiri.

Kecocokan (kompatibilitas) antara substrat sebagai sumber energi dengan isolat yang digunakan perlu dilakukan penelitian. Perlakuan pada penelitian ini ialah jenis susu kacang-kacangan dan macam isolat BAL. Susu kacang-kacangan yang digunakan ialah susu kacang hijau, susu kacang merah, susu kacang tanah, susu kacang tunggak, dan susu kedelai.

**Tabel 2.** Kerapatan sel selama 28 jam fermentasi media MRS *broth*

Jam ke	Kerapatan isolat bakteri asam laktat					
	F3	Nb3	KBB3	NNB PR5	SLB 22	<i>L. bulgaricus</i>
0	$3,0 \times 10^5$	$8,7 \times 10^5$	$3,6 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$6,5 \times 10^5$	$5,9 \times 10^5$
4	$2,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^5$	$6,1 \times 10^5$	$1,2 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$	$8,8 \times 10^5$
8	$1,9 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	$1,7 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$	$2,9 \times 10^6$	$3,4 \times 10^6$
12	$6,0 \times 10^6$	$4,0 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$	$6,0 \times 10^6$	$7,9 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$
16	$6,5 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$7,5 \times 10^7$	$5,0 \times 10^7$	$7,7 \times 10^7$	$4,5 \times 10^7$
20	$7,5 \times 10^8$	$9,2 \times 10^8$	$9,8 \times 10^8$	$7,5 \times 10^8$	$9,1 \times 10^8$	$7,6 \times 10^8$
24	$1,45 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$3,9 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$
28	$2,2 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$2,1 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$

**Tabel 3.** Kadar asam laktat selama proses fermentasi

Media	Isolat	Rerata peningkatan persentase asam laktat
Kacang hijau	F3	1,35
	Nb3	1,55
	KBB 3	1,30
	NNB PR5	1,40
	SLB 22	1,35
	<i>L. bulgaricus</i>	1,40
Kacang merah	F3	0,80
	Nb3	0,85
	KBB3	1,05
	NNB PR5	0,95
	SLB 22	0,90
	<i>L. bulgaricus</i>	1,00
Kacang tanah	F3	0,70
	Nb3	0,70
	KBB 3	0,75
	NNB PR5	0,85
	SLB 22	0,75
	<i>L. bulgaricus</i>	0,75
Kacang tunggak	F3	1,33
	Nb3	1,45
	KBB 3	1,25
	NNB PR5	1,45
	SLB 22	1,55
	<i>L. bulgaricus</i>	1,45
Kedelai	F3	0,95
	Nb3	0,85
	KBB 3	0,85
	NNB PR5	0,80
	SLB 22	0,85
	<i>L. bulgaricus</i>	0,85

Sedangkan isolat BAL yang digunakan ialah F3, Nb3, kobis 3, nanas PR5, selada 22, dan sebagai kontrol pembandingan digunakan bakteri asam laktat komersial, yaitu *L. bulgaricus*. Lama fermentasi dilakukan 24 jam, pada suhu 37°C dan dengan *shaker* 125 rpm. Fermentasi menggunakan botol 450 ml dengan volume substrat 100 ml.

Pada fermentasi dilakukan pengukuran kadar asam laktat sebagai parameter kecocokan antara jenis susu kacang-kacangan dengan isolat BAL. Hasil analisis kadar asam laktat selama proses fermentasi dapat disajikan pada Tabel 3. Dari data pengukuran kadar asam laktat selama proses fermentasi dapat diketahui kompatibilitas atau kecocokan antara susu kacang-kacangan sebagai substrat pertumbuhan dengan isolat yang digunakan dalam proses fermentasi. Kompatibilitas substrat dengan isolat BAL dapat disajikan pada Tabel 4.

Data kompatibilitas antara susu kacang-kacangan sebagai substrat pertumbuhan dengan isolat BAL juga menggambarkan efektifitas fermentasi isolat BAL pada susu kacang-kacangan. Isolat yang paling efektif untuk fermentasi masing-masing susu kacang-kacangan untuk menghasilkan susu asam disajikan pada Tabel 5.

Fermentasi utama dilakukan setelah diperoleh isolat BAL yang paling efektif untuk fermentasi susu kacang-kacangan. Fermentasi utama dilakukan pada botol volume 600 ml dengan volume substrat 200 ml. Fermentasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C, dan *shaker* 125 rpm. Selama proses fermentasi dapat diamati berbagai dinamika fermentasi di antaranya ialah kadar asam laktat, kadar gula reduksi, kadar protein, pH, dan kerapatan sel BAL. BAL memanfaatkan gula glukosa yang ada dalam media fermentasi

**Tabel 4.** Kompatibilitas antara susu kacang-kacangan dengan isolat BAL

Kompatibilitas susu kacang-kacangan dengan BAL
Kacang hijau-Nb3
Kacang merah-KBB3
Kacang tanah-NNB PR5
Kacang tunggak-SLB 22
Kedelai-F3
Kacang tunggak- <i>L. bulgaricus</i>

**Tabel 5.** Hubungan antara susu kacang-kacangan sebagai substrat fermentasi dengan isolat BAL yang paling efektif

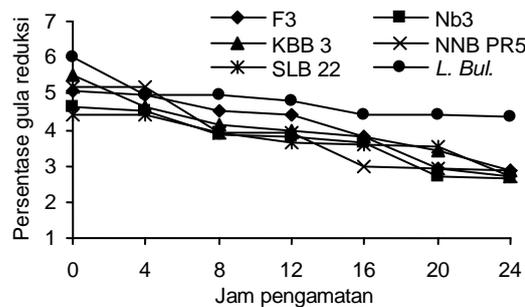
Susu kacang (substrat)	Isolat paling efektif
Kacang hijau	Nb3
Kacang merah	KBB3
Kacang tanah	NNB PR5
Kacanga tunggak	SLB 22
Kedelai	F3

untuk pertumbuhannya. Hal ini dapat dibandingkan kadar gula reduksi yang terkandung dalam substrat fermentasi mengalami perubahan. Perubahan kadar gula reduksi karena gula reduksi digunakan oleh BAL untuk pertumbuhannya. Kadar gula reduksi dalam substrat akan semakin berkurang atau menurun konsentrasinya. Perubahan kadar gula reduksi ini dapat dilihat pada Gambar 1.

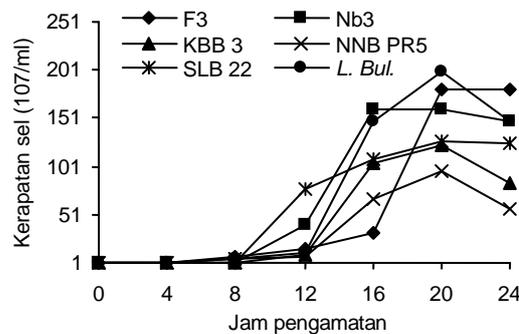
Pemanfaatan gula yang ada dalam substrat untuk pertumbuhan BAL akan terlihat dengan meningkatnya populasi sel BAL. Gambaran mengenai peningkatan kerapatan sel dari awal fermentasi hingga akhir fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.

Penggunaan gula yang ada dalam substrat untuk pertumbuhan BAL ini dapat terlihat dengan meningkatnya kerapan sel BAL pada substrat. Pemecahan glukosa dalam sel BAL menghasilkan energi untuk aktivitas BAL akan menghasilkan senyawa lain termasuk asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL akan terseks-kresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam cairan fermentasi, seperti terlihat pada Gambar 3.

Dengan meningkatnya jumlah asam yang diekskresikan oleh BAL karena proses akumulasi asam dalam substrat, maka akan meningkatkan keasaman substrat. Peningkatan akumulasi asam dalam substrat ini dapat



**Gambar 1.** Kadar gula reduksi selama proses fermentasi



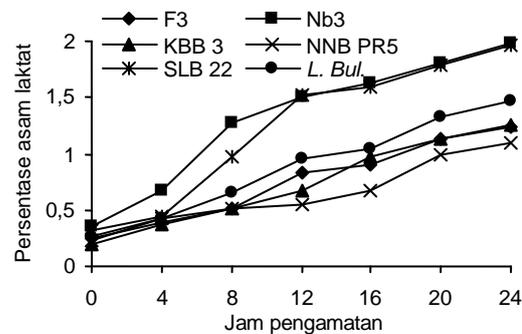
**Gambar 2.** Kerapatan BAL selama proses fermentasi

diketahui dengan penurunan pH substrat. Nilai pH substrat dipaparkan pada Gambar 4. Meningkatnya asam dalam substrat memberi flavor pada susu kacang-kacangan.

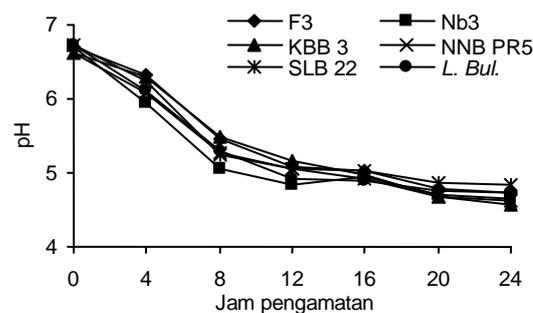
Proses fermentasi oleh BAL di samping meningkatkan kadar asam laktat, keasaman substrat, kerapatan sel BAL juga meningkatnya kadar protein dalam cairan fermentasi. Peningkatan protein dalam substrat ini dapat dilihat pada Gambar 5.

Dari beberapa uraian di atas dengan adanya aktivitas fermentasi BAL pada substrat susu kacang-kacangan dapat meningkatkan kadar asam laktat, kadar protein terlarut dalam substrat. Asam laktat yang ada dalam substrat akan memberikan flavor pada susu kacang-kacangan, sedangkan peningkatan kadar protein terlarut akan meningkatkan nilai gizi susu kacang-kacangan (Tabel 6).

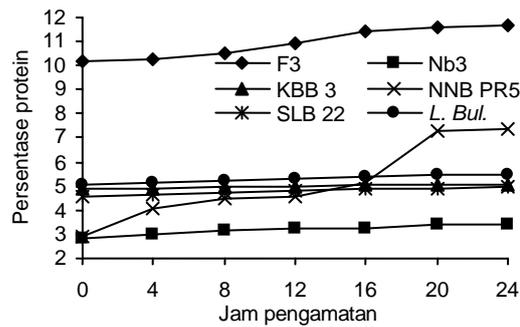
Susu asam hasil fermentasi oleh BAL lokal mengalami perubahan tekstur menjadi lebih lembut, aroma yang semakin segar dan memiliki warna yang beragam. Di samping perubahan fisik, susu kacang-kacangan yang telah mengalami fermentasi oleh BAL juga mengalami perubahan kimiawi dengan terbentuknya asam laktat, dan meningkatnya kadar protein. Dengan demikian, proses fermentasi susu kacang-kacangan juga dapat meningkatkan



Gambar 3. Kadar asam laktat selama proses fermentasi susu kacang-kacangan



Gambar 4. Nilai pH selama proses fermentasi



Gambar 5. Kadar protein substrat selama proses fermentasi

Tabel 6. Peningkatan kadar protein dan asam laktat setelah fermentasi

Peningkatan kadar (%)	Bakteri asam laktat/susu kacang					
	F3/ kedelai	Nb3/ kacang hijau	KBB5/ kacang merah	NNBPR5/ kacang tanah	SLB 22/ kacang tunggak	<i>L. bulgaricus</i> / kacang tunggak
Protein	4,53	0,56	0,16	1,53	0,41	0,43
Asam laktat	0,99	1,64	1,03	0,86	1,66	1,20

nilai gizi pada susu asam yang berbahan dasar kacang-kacangan.

Adanya perubahan tekstur, aroma, rasa serta peningkatan nilai gizi pada susu asam yang berbahan dasar kacang-kacangan diharapkan akan menjadi terobosan teknologi pengolahan susu kacang-kacangan, meningkatkan keragaman cara pengolahan susu kacang-kacangan, meningkatkan penerimaan produk yang berbahan dasar kacang-kacangan oleh masyarakat, serta memberikan nilai tambah terhadap susu asam yang berbahan dasar kacang-kacangan. Untuk mengetahui penerimaan masyarakat terhadap susu asam hasil fermentasi susu kacang-kacangan dengan isolat BAL, maka dilakukan uji organoleptik terhadap susu asam tersebut.

Uji organoleptik dilakukan oleh 15 orang panelis. Angka tingkat kesukaan panelis terhadap susu asam hasil fermentasi dianalisis dengan analisis *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT), untuk membandingkan tingkat kesukaan panelis terhadap susu asam yang diuji. Uji organoleptik terhadap susu asam berbahan dasar kacang-kacangan parameter yang diamati ialah tekstur, aroma, warna, dan rasa. Sebagai pembandingan digunakan *yoghurt* komersial. Hasil uji organoleptik ini hasilnya dapat dilihat pada Tabel 7. Dari Tabel 7, setiap jenis susu asam yang diikuti oleh huruf yang sama berarti tidak berbeda nyata. Dari uji organoleptik ini diketahui bahwa kesukaan panelis terhadap susu asam berasal dari kacang merah, kacang hijau, dan kacang tunggak tidak berbeda nyata terhadap *yoghurt* komersial, sedangkan susu asam yang berbahan kacang tanah dan kedelai berbeda nyata. Susu asam yang paling disukai panelis adalah susu asam dari kacang merah.

**Tabel 7.** Tabel uji organoleptik susu asam hasil fermentasi BAL

Panelis	Produk susu asam							Jumlah
	A <i>a,b</i>	B <i>b,c</i>	C <i>d</i>	D <i>a</i>	E <i>b,c</i>	F <i>c,d</i>	G <i>c,d</i>	
1	4	3	2	3	2	3	4	22
2	4	3	2	4	3	3	2	22
3	4	3	4	3	3	4	3	26
4	3	2	2	4	2	2	3	20
5	3	3	2	4	4	3	3	24
6	3	3	4	3	3	4	3	25
7	3	3	3	4	4	3	2	24
8	4	3	2	3	3	2	2	21
9	4	3	2	3	4	3	4	24
10	4	3	4	4	4	2	3	25
11	3	4	2	4	2	3	2	22
12	3	4	2	4	3	3	2	22
13	4	4	3	4	4	3	3	26
14	3	3	2	4	3	3	3	23
15	3	3	2	4	3	3	3	23
Jumlah	52	47	38	55	47	44	42	

A = susu kedelai, difermentasi F3; B = susu kacang hijau, difermentasi Nb3; C = susu kacang merah, difermentasi KKB5; D = susu kacang tanah, difermentasi NNB PR5; E = susu kacang tunggak, difermentasi SLB 22; F = susu kacang tunggak, difermentasi *L. bulgaricus*; G = *yoghurt* komersial

Jenis susu asam yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT pada tingkat kepercayaan 95%.

### KESIMPULAN

Dari uraian mengenai efektifitas BAL dalam pembuatan produk fermentasi berbasis protein/susu nabati dapat disimpulkan, sebagai berikut:

1. Diperoleh lima isolat BAL yang mampu secara efektif memfermentasi susu kacang-kacangan.
2. BAL unggul lokal dapat meningkatkan nilai gizi susu kacang-kacangan.
3. Pada uji organoleptik, tingkat kesukaan panelis terhadap susu kacang merah, susu kacang hijau, susu kacang tunggak tidak berbeda nyata terhadap *yoghurt* komersial, sedangkan tingkat kesukaan panelis terhadap susu asam berbahan dasar kedelai dan kacang tanah tidak berbeda nyata.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada Bpk. Danuwarsa dan Bpk. Lalu Sukarno yang telah membantu kelancaran penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chen, K.H., F. McFeeters, and H.P. Fleeming. 1983.** Fermentation characteristic of heterolactic acid bacteria in green juice. *J. Food Sci.* 48:962-966.
- Darwis, A.A. dan E. Sukara. 1989.** Teknologi mikrobial. Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.
- Fardiaz, S. 1989.** Penuntun praktikum mikrobiologi pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Hadiwiyoto, S. 1994.** Teori dan prosedur pengujian mutu susu dan hasil olahannya. Liberty, Yogyakarta.
- Jutono, Judoro S., S. Hartadi, S. Kabirun, Suhadi D., dan Soesanto. 1980.** Pedoman praktikum mikrobiologi untuk perguruan tinggi. Departemen Mikro-biologi, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Koswara, S. 1995.** Teknologi pengolahan kedelai. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.
- Miller, G.L. 1959.** Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination reducing sugar. *Anal. Chem.* 31:426-428.
- Oxoid. 1982.** The oxoid manual of culture media, ingredients, and other laboratory services. Fifth Edition. Published by Oxoid Limited, Wade Road. Basingtoke, Hampshire.
- Soekara, S.T. 1985.** Penilaian organoleptik untuk industri pangan dan hasil industri pertanian. Bharata, Jakarta.
- Tamime, A.Y. and R.K. Robinson. 1999.** Yoghurt: Science and technology. 2<sup>nd</sup> Edition. CRC Press. Boston.