PENAMBAHAN GLUKOSA, LAKTOSA, & SUKROSA SEBAGAI SUMBER KARBON PADA FERMENTASI SUSU KEDELAI OLEH BAKTERI *Lactobacillus acidophilus*

IRWATI
H 511 02 032

UPT ... HASANUDDIN
11-12-2006
Fak. MIPA
ILSatn/eks
H
B37/11-12-6
36030

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006

PENAMBAHAN GLUKOSA, LAKTOSA, & SUKROSA SEBAGAI SUMBER KARBON TERHADAP FERMENTASI SUSU KEDELAI OLEH BAKTERI *Lactobacillus acidophilus*

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas – tugas dan memenuhi syarat – syarat untuk mencapai gelar sarjana

I R W A T I
H 511 02 032

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006

PENAMBAHAN GLUKOSA, LAKTOSA, & SUKROSA SEBAGAI SUMBER KARBON TERHADAP FERMENTASI SUSU KEDELAI OLEH BAKTERI *Lactobacillus acidophilus*

IRWATI

H511 02 032

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Dra. Sartini, M.Si, Apt
NIP. 131 166 480

Pembimbing Pertama,

Dra. Christiana Lethe, Apt
NIP. 131 122 062

Pembimbing Kedua,

Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si, Apt)
NIP. 131 916 413

Pada tanggal 4 Desember 2006

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur penulis ke hadirat Allah Yang Maha Kuasa dan Maha Penyayang karena berkat izin-Nya jualah sehingga penulis berhasil menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin. Shalawat dan salam kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW.

Tiada kata yang dapat penulis ucapkan selain terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Dra. Sartini, M.Si Apt selaku Pembimbing Utama dan Ibu Dra. Christiana Lethe, Apt selaku Pembimbing Pertama serta selaku Bapak Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si, Apt selaku Pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu selama ini untuk memberi petunjuk, membagi ilmu dan menyumbangkan pikiran serta tenaga dalam membimbing penulis selama melakukan penelitian hingga selesainya skripsi ini.

Pada kesempatan ini pula, penulis menyampaikan terima kasih kepada Ibu Ketua Jurusan serta Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, dan Bapak Dr. Syahruddin Kadir, M.Sc selaku Penasehat Akademik penulis.

Saudariku Mita, Ima, Mega, Yati, Kak Ika, Kak Ita, Esti, kalian mengajarkan arti persaudaraan dan cinta yang sesungguhnya. Ita dan Ida, dua sahabat unik yang kutemukan di Farmasi. Pipi, Ratna, Neti, Mila,

Kak Lia, Mawa, dorongan semangat dan bantuan kalian sangat berarti untuk menjalani hari-hari yang tidak mudah. Teman-teman Angkatan 2002 yang tidak dapat disebutkan satu per satu terima kasih atas kebersamaannya selama ini. Nanni, Rani, Mely terima kasih atas bantuan printnya.

Rasa hormat yang sedalam-dalamnya penulis haturkan kepada Ayahanda Abdullah yang selalu mendoakan dan memberikan dorongan dalam menempuh jenjang pendidikan dan Ibunda Nurtini (Almh.), Bunda namamu tetap terukir indah di hatiku. Ibunda Amirah, hanya Allah Yang Maha Pengasih yang dapat membalas semua kebaikanmu. Kakanda Irwan, terima kasih telah begitu sabar selama bertahun-tahun untuk adikmu yang begitu banyak menghabiskan biaya ini. Adik-adikku tercinta Idhar, Maya, Asrul, Eni, Rahma, Lisa, do'a kalian senantiasa kuharapkan. Om Adi terima kasih atas pinjaman komputernya, serta seluruh keluarga yang tidak dapat penulis sebutkan satu demi satu.

Akhirnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan baik tenaga maupun pikiran, penulis mendoakan semoga Allah SWT senantiasa memberkahinya. Semoga skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat bagi keilmuan farmasi pada khususnya dan masyarakat luas pada umumnya.

Makassar, Desember 2006

Irwati

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh penambahan sumber karbon terhadap fermentasi susu kedelai oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus* menggunakan sumber karbon berupa glukosa, laktosa, dan sukrosa, pada dua konsentrasi yaitu 5 dan 10% dengan tujuan untuk mengetahui jenis sumber karbon yang paling baik untuk digunakan dalam fermentasi susu kedelai. Pengujian dilakukan setelah susu kedelai diinokulasikan dengan starter sebanyak 2,5% dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam. Nilai pertumbuhan koloni bakteri yang tumbuh pada medium GYPA ditentukan dengan Angka Lempeng Total (ALT), perubahan pH menggunakan pHmeter, dan penentuan total asam dengan metode alkalimetri. Dari analisa statistik, konsentrasi sumber karbon yang diujikan yaitu glukosa 5%, glukosa 10%, laktosa 5%, laktosa 10%, sukrosa 5%, sukrosa 10%, dan kontrol tidak memperlihatkan perbedaan yang nyata. Kesimpulan dari penelitian ini adalah tidak terdapat perbedaan pengaruh penambahan sumber karbon yang nyata terhadap fermentasi susu kedelai oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Kata kunci : Susu kedelai fermentasi. *Lactobacillus acidophilus*. Sumber karbon

ABSTRACT

A research of effect carbon source addition to the soy milk fermentation by *Lactobacillus acidophilus* used carbon source such glucose, lactose, and sucrose in two concentration that were 5 and 10% with purpose to know kind of carbon source best to be used for soy milk fermentation. Examination was done after soy milk was inoculated with 2,5% starter and incubated at 37° C for 16 hours. The value of bactery colony forming which grow in GYPA medium was based on Standard Plate Count (SPC), changes pH used pH meter, and determination of acid used alkalimetry method. Statistical analysis of examined carbon source that were 5% glucose, 10% glucose, 5% lactose, 10% lactose, 5% sucrose, 10% sucrose, and control did not show real difference. The conclution from this research was there were no significant effect of addition of carbon source to fermentation of soy milk by *Lactobacillus acidophilus*.

Key words : Fermented soy milk, *Lactobacillus acidophilus*, Carbon source

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK..... vi

ABSTRACT..... vii

DAFTAR ISI..... viii

DAFTAR TABEL..... xi

DAFTAR GAMBAR..... xii

DAFTAR LAMPIRAN..... xiii

BAB I PENDAHULUAN..... 1

BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... 4

II.1 Tinjauan Tentang Fermentasi 4

II.1.1 Uraian Tentang Fermentasi 4

II.1.2 Fermentasi Asam Laktat 6

II.2 Tinjauan Tentang Susu Kedelai Fermentasi..... 7

II.2.1 Uraian Tentang Kedelai..... 7

II.2.2 Kandungan Gizi..... 8

II.2.3 Manfaat Kedelai..... 8

II.2.4 Uraian Umum Tentang Susu Kedelai..... 8

II.2.5 Uraian Tentang Susu Fermentasi 10

II.2.6 Manfaat Susu Kedelai Fermentasi Bagi Kesehatan..... 12

II.2.7 Metode Pembuatan Susu Kedelai Fermentasi..... 16

II.3 Sumber Karbon..... 16

II.3.1 Senyawa Gula..... 17
II.3.2 Sifat-Sifat Gula..... 22
II.4 Tinjauan Tentang Bakteri Asam Laktat 24
II.4.1 Uraian Bakteri Asam Laktat..... 24
II.4.2 Metabolisme Bakteri Asam Laktat 27
II.4.3 Uraian *Lactobacillus acidophilus*..... 30
II.4.3.1 Klasifikasi Bakteri..... 30
II.4.3.2 Sifat dan Morfologi..... 31
II.4.3.3 Manfaat Bakteri Asam Laktat..... 31
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN..... 33
III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan..... 33
III.1.1 Sterilisasi Alat..... 33
III.1.2 Pembuatan Susu Kedelai..... 33
III.1.3 Pembuatan Medium..... 34
III.1.4 Pembuatan Starter..... 35
III.2 Pengambilan dan Penyiapan Bahan Penelitian..... 35
III.2.1 Peremajaan Bakteri Asam Laktat 35
III.2.2 Pembuatan Kultur Bakteri Asam Laktat..... 35
III.2.3 Pembuatan Susu Kedelai Fermentasi..... 36
III.2.4 Pembuatan Larutan Baku NaOH 0,1 N 36
III.2.4.1 Pembuatan Larutan NaOH 0,1 N..... 36
III.2.4.2 Pembakuan Larutan NaOH 0,1 N..... 36
III.3 Pengujian Susu Kedelai Fermentasi..... 37

III.3.1 Jumlah Bakteri (Angka Lempeng Total) 37

III.3.2 Perubahan pH..... 37

III.3.3 Total Asam..... 38

III.4 Pengamatan dan Pengumpulan Data..... 38

III.5 Pengolahan dan Analisis Data..... 38

III.6 Pembahasan Hasil Penelitian..... 38

III.7 Pengambilan Kesimpulan..... 38

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... 39

IV.1 Hasil Penelitian..... 39

IV.2 Pembahasan..... 41

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN..... 45

V.1 Kesimpulan..... 45

V.2 Saran..... 45

DAFTAR PUSTAKA..... 46

LAMPIRAN..... 54

DAFTAR TABEL

Tabel halaman

1. Komposisi Sari Kedelai dan Susu Sapi Tiap 100 gram..... 10
2. Kemanisan Nisbi Berbagai Gula..... 22
3. Jumlah Koloni Pada Tingkat Pengenceran Susu Kedelai yang Diujikan..... 39
4. Perubahan pH Susu Kedelai Fermentasi..... 40
5. Kadar Total Asam Susu Kedelai Fermentasi..... 40
6. Pengamatan Total Asam..... 50
7. Perhitungan ALT Bakteri..... 50
8. Perubahan pH..... 51

DAFTAR GAMBAR

Gambar halaman

1. Struktur Glukosa..... 18
2. Struktur Fruktosa..... 18
3. Struktur Galaktosa..... 19
4. Struktur Sukrosa..... 19
5. Reaksi Aktivasi Glukosa..... 29
6. Reaksi Pembentukan Asam Laktat..... 30
7. Susu Kedelai Fermentasi..... 52
8. Koloni *L. acidophilus* dalam susu kedelai + glukosa 10% 53

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Skema Kerja..... 54

2. Perhitungan Statistik Data Hasil Penelitian Pengaruh Penambahan Sumber Karbon Terhadap Fermentasi Susu Kedelai Oleh Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Dengan Menggunakan Metode Rancangan Acak Kelompok (RAK)..... 55

3. Contoh Perhitungan Kadar Total Asam..... 65

BAB I

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* Merril) merupakan tanaman yang termasuk dalam familia Leguminoceae, subfamili Papilionidae. Kedelai penting bagi pemenuhan kebutuhan manusia akan pangan. Kedelai merupakan sumber protein nabati dengan nilai gizi tinggi. Kandungan protein kedelai 34,9%, karbohidrat 34,8%, lemak 18,1%, dan vitamin. (1,2)

Produk olahan kedelai diklasifikasikan menjadi 2 kelompok, yaitu makanan nonfermentasi dan makanan difermentasi. Makanan nonfermentasi seperti tahu, kembang tahu, minyak kedelai, dan susu kedelai. Sedangkan produk fermentasi seperti tempe dan olahannya, kecap, yoghurt kedelai dan keju kedelai. (3)

Susu sapi yang difermentasi disebut yoghurt, sedangkan susu kedelai yang difermentasi disebut soyghurt. Komposisi susu sapi hanya berbeda dari komposisi susu kedelai pada kandungan laktosa. Karbohidrat dalam susu kedelai terdiri dari golongan oligosakarida dan polisakarida yang sulit digunakan langsung sebagai sumber energi oleh kultur bakteri asam laktat dalam proses fermentasi. Oleh karena itu pada fermentasi susu kedelai harus ditambahkan sumber karbon yang mudah digunakan oleh bakteri asam laktat.(3)

Susu kedelai sendiri memiliki manfaat yang besar bagi kesehatan manusia. Manfaatnya antara lain menurunkan kadar kolesterol, mencegah

aterosklerosis dan hipertensi. Selain itu juga dapat mencegah diabetes melitus, serta mencegah migrain dan penuaan dini. (4,5,6)

Bakteri yang digunakan dalam proses fermentasi susu adalah bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus acidophilus, Streptococcus thermophilus*, baik gabungan maupun sendiri. *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri famili Lactobacillacea. Bakteri ini menghasilkan asam laktat sebagai hasil utama dari fermentasi glukosa. (7,8)

Manfaat *Lactobacillus acidophilus* antara lain mempertahankan keseimbangan flora normal saluran pencernaan. Dilaporkan pula adanya aktivitas antimikrobial melawan mikroorganisme patogen dan fungi. Beberapa peneliti juga menyatakan bahwa *Lactobacillus acidophilus* dapat meningkatkan sistem imun dan efektif untuk penyakit seperti tukak lambung, diare, serta menurunkan kolesterol. (9,10,11)

Karena adanya masalah perbedaan jenis karbohidrat pada susu kedelai, maka untuk membuat susu kedelai fermentasi dilakukan penambahan jenis karbohidrat yang sederhana ke dalam susu kedelai untuk digunakan oleh bakteri sebagai sumber energi antara lain monosakarida dan disakarida. Penambahan gula sebanyak 1 sampai 10% akan merangsang pertumbuhan mikroorganisme. (3,12)

Berdasarkan permasalahan tersebut maka telah dilakukan penelitian untuk mengetahui jenis sumber karbon mana yang paling baik sebagai sumber energi bagi bakteri *Lactobacillus acidophilus* dalam memfermentasi susu kedelai, dengan variasi sumber karbon berupa

glukosa, sukrosa, dan laktosa. Parameter yang digunakan adalah total asam, pH, dan jumlah bakteri *Lactobacillus acidophilus* dalam susu kedelai fermentasi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis sumber karbon yang paling baik untuk digunakan dalam fermentasi susu kedelai sehingga menghasilkan produk susu kedelai fermentasi yang baik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tinjauan Tentang Fermentasi

II.1.1 Uraian Tentang Fermentasi

Fermentasi ialah proses baik secara aerob maupun secara anaerob yang menghasilkan berbagai produk yang melibtkan aktivitas mikroba atau ekstraknya dengan aktivitas mikroba terkontrol. 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. (13, 14)

Teknologi fermentasi merupakan ilmu dan teknik mikrobiologi terapan yang saat ini berkembang pesat. Teknologi fermentasi menerapkan secara terpadu cabang-cabang ilmu mikrobiologi, biokimia, kimia, keteknikan, biologi molekular, dan genetika. Teknologi fermentasi telah membuka lembaran baru dalam upaya manusia untuk memanfaatkan bahan-bahan yang murah harganya menjadi bernilai tinggi dan berguna bagi kesejahteraan umat manusia. Lebih lanjut lagi kemajuan-kemajuan yang dicapai di bidang teknologi fermentasi telah memungkinkan manusia untuk memproduksi berbagai jenis produk yang tidak dapat atau sulit diproduksi melalui proses kimia. (15)

Beberapa mikroorganisme dapat mencerna bahan baku energinya tanpa adanya oksigen dan sebagai hasilnya bahan baku energi ini hanya sebagian yang dipecah. Hanya sejumlah kecil energi, karbondioksida, air, dan produk akhir metabolik organik lain yang dihasilkan. Zat-zat produk akhir ini termasuk sejumlah besar asam laktat, asam asetat, dan etanol serta sejumlah kecil asam organik volatil lainnya, alkohol, dan ester dari alkohol tersebut. (16,17)

Teknologi fermentasi mempunyai bidang cakupan yang luas, yaitu mulai dari teknik produksi makanan fermentasi, minuman beralkohol, produksi biomassa (inokulum, protein sel tunggal), produksi asam-asam organik, asam-asam amino, enzim, vitamin, antibiotika dan sebagainya sampai pada teknik penanganan limbah. (15,17)

Berbagai jenis makanan dan minuman yang diproduksi melalui proses fermentasi telah lama dikenal dan digemari. Pada dasarnya produk-produk fermentasi makanan dan minuman dapat dikelompokkan menjadi (15) :

1. Produk makanan dengan nili gizi yang tinggi
2. Produk makanan hasil proses fermentasi asam
3. Produk di mana etanol merupakan hasil utama proses fermentasi
4. Produk fermentasi yang dikonsumsi sebagai saus dan penyedap makanan.

Pada saat ini, industri fermentasi dibedakan menjadi empat kelompok (18) :

1. Industri fermentasi yang menghasilkan biomasa sel mikroorganisme seperti ragi roti dan protein sel tunggal (PST).
2. Industri fermentasi yang menghasilkan enzim mikrobial seperti amilase, protease, katalase, lipase, sellulase, dan lain-lain.
3. Industri fermentasi yang menghasilkan metabolit tertentu, misalnya alkohol, gliserol, asam cuka, glutamat, lisin, polisakarida, vitamin,dan lain-lain.
4. Industri fermentasi yang menghasilkan senyawa-senyawa kimia tertentu dengan proses transformasi seperti steroida, antibiotik, prostaglandin, dan lain-lain.

II.1.2 Fermentasi Asam Laktat

Berbagai jenis makanan fermentasi baik tradisional maupun modern melibatkan bakteri asam laktat. Bakteri ini menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir dari metabolisme gula (karbohidrat). Asam laktat yang dihasilkan akan menurunkan pH lingkungan pertumbuhan dari mikroorganisme lainnya (9,16).

Fermentasi asam masih merupakan salah satu metode yang paling praktis untuk pengawetan, bahkan fermentasi asam dapat meningkatkan sifat-sifat organoleptik dan mutu gizi sayur-sayuran, biji-bijian, dan campuran susu. Daging dan hasil-hasil laut juga dapat diawetkan melalui proses fermentasi aam jika produk-produk ini dikombinasikan dengan

sayur-sayuran, biji-bijian atau susu. Produk makanan fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat dikelompokkan menjadi dua yaitu produk fermentasi susu dan produk fermentasi non susu. (9,15)

Beberapa manfaat dari makanan produk fermentasi asam adalah (9, 15) :

1. Makanan menjadi lebih awet dari bentuk segarnya karena kondisi asam tidak disukai oleh bakteri kontaminan serta mencegah berkembangnya toksin pada makanan.
2. Kemungkinan makanan sebagai media mikroba patogen berkurang.
3. Makanan mengalami perubahan citarasa yang digemari dan sering meningkatkan nilai gizinya, karena umumnya lebih mudah dicerna karena telah mengalami penguraian selama proses fermentasi dan terbentuk molekul-molekul yang lebih sederhana dan lebih mudah dicerna.

II.2 Tinjauan Tentang Susu Kedelai Fermentasi

II.2.1 Uraian Tentang Kedelai

a. Klasifikasi : (19)

Regnum	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Klass	: Dicotyledoneae
Subklass	: Dialypetalae
Ordo	: Rosales

Familia : Papilionaceae

Genus : Glycine

Species : *Glycine max* Merril

b. Morfologi (19)

Terna dengan daun tunggal. Bunga banci, zigomorf, kelopak berbilangan 5, pada pangkal berlekatan, mahkota berbentuk kupu-kupu terdiri atas 5 daun mahkota dengan susunan yang khas, 1 paling besar disebut bendera (vexillum), 2 di samping sama besar disebut sayap (ala), 2 lagi sempit berlekatan disebut lunas (carina). Benang sari biasanya 10, berberkas 2, 1 bebas, yang 9 lainnya dengan tangkai sari yang berlekatan, kepala sari membuka dengan celah membujur. Buahnya berupa polong yang bila masak menjadi kering dan pecah, tetapi ada pula yang tidak pecah, melainkan terputus-putus dalam bagian yang berisi 1 biji. Biji tanpa atau dengan sedikit endosperm. Cadangan makanan untuk lembaga terutama tersimpan dalam daun lembaganya.

II.2.2 Kandungan Gizi

Di antara jenis kacang-kacangan, kedelai merupakan sumber protein, vitamin, mineral, lemak, dan serat yang paling baik. Selain itu, dalam lemak kedelai terkandung beberapa fosfolipida penting, seperti sepalin, lipositol, dan lesitin. (4)

II.2.3 Manfaat Kedelai

II.2.4 Uraian Umum Tentang Susu Kedelai

Sari kedelai adalah produk seperti susu sapi, tetapi dibuat dari kedelai. Komposisi sari (susu) kedelai hampir sama dengan susu sapi karena itu susu kedelai dapat digunakan sebagai pengganti susu sapi. Susu ini baik dikonsumsi oleh mereka yang alergi susu sapi, yaitu orang-orang yang tidak mempunyai atau kekurangan enzim laktase dalam saluran pencernaannya sehingga tidak mampu mencerna laktosa dalam susu sapi (2).

Persyaratan mutu untuk sari kedelai yang terpenting adalah kadar protein minimal 3% kadar lemak, kadar protein minimal 3%, kadar total padatan 10%. Kandungan mikroba tidak boleh lebih dari 300 koloni/gram, serta tidak mengandung bakteri koli (3).

Dipandang dari segi gizi, sari kedelai yang dibuat dengan kadar protein minimal 3% mempunyai nilai gizi mendekati susu sapi. Protein efisiensi ratio (PER) sari kedelai adalah 2,3 sedangkan PER susu sapi 2,5. kedelai mengandung provitamin A dan karoten yang tinggi (243 g/100 g) serta vitamin B kompleks, kecuali vitamin B_{12} yang tidak ada sama sekali. Kandungan mineralnya terutama kalsium rendah, karena itu dianjurkan penambahan atau partisipasi mineral dan vitamin pada sari kedelai yang diproduksi oleh industri besar. (20, 21)

Pemanfaatan kacang kedelai untuk bahan makanan, selain tahu dan tempe masih terbatas di Indonesia karena berbagai hal, antara lain bau

langu dan dapat menghasilkan flatulensi yaitu timbulnya banyak gas dalam pencernaan sehinga perut menjadi kembung dan banyak buang gas. Terbentuknya gas disebabkan oleh dua senyawa yang dikandung kedelai, yaitu stakiosa dan raffinosa. Den

gan proses fermentasi seperti paa proses pembuatan tempe, kecap, dan soyghurt bau langu dan flatulensi dapat dihilangkan. (21)

Tabel 1. Komposisi Sari Kedelai dan Susu Sapi Tiap 100 gram

Komposisi	Susu Kedelai Cair	Susu Sapi
Energi (kkal)	41,00	61,00
Protein (g)	3,50	3,20
Lemak (g)	2,50	3,50
Karbohidrat (g)	5,00	4,30
Kalsium (mg)	50,00	143,00
Fosfor (mg)	45,00	60,00
Besi (mg)	0,70	1,70
Vitamin A (SI)	200,0	130,00
Vitamin B_1 (mg)	0,08	0,03
Vitamin C (mg)	2,00	1,00
Air (g)	87,00	88,30

Sumber : Direktorat Gizi Depkes RI (1972)

II.2.5 Uraian Tentang Susu Fermentasi

Selain yoghurt, banyak sekali jenis susu fermentasi. Secara umum, jenis susu fermentasi dibedakan berdasarkan metode fermentasi atau

prosesnya, yang terkait dengan mikroba yang terlibat di dalamnya. Tiap jenis susu fermentasi melibatkan mikroba spesifik. Namun demikian, terdapat kesamaan yang kuat dalam teknologi produksi yang digunakannya. (9)

Jenis-jenis susu fermentasi di antaranya yang termasuk dalam fermentasi termofil adalah (9) :

1. Yoghurt

   Yoghurt melibatkan bakteri *Lactobacillus delbruechii* subsp. *Bulgaricus* dan *sterptococcus thermophilus*, yang secara alami terdapat dalam susu atau sengaja ditambahkan sebagai kultur starter sebanyak 2,5%, dengan perbandingan 1:1. suhu fermentasi optimum adalah 42-45° C selama 3-6 jam, hingga mencapai pH 4,4 dan kadar asam tertitrasi mencapai 0,9-1,2%.

2. Buttermilk Bulgarian

   Jenis susu fermentasi ini sangat asam, melibatkan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* saja, yaitu 2% kultur sarter diinokulasi pada susu full cream yang dipasteurisasi pada suhu 38-42° C selama 10-12 jam sampai terbentuk gumpalan dengan total asam tertitrasi sebesar 1,4%, sehingga citarasa asamnya sangat tajam.

3. Susu Asam Asidofilus

   susu fermentasi ini hanya melibatkan kultur starter tunggal *Lactobacillus acidophilus*. Pertumbuhan bakterinya sangat lambat,

hanya meningkat 5 kali dalam 18-24 jam dengan keasaman di bawah 0,8%.

Susu asidofilus telah dikenal memiliki keuntungan terapeutik dalam gangguan gastrointestinal. Susu full cream atau susu skim dapat digunakan. Susu dipanaskan pada temperatur tinggi, misalnya 95° C selama 1 jam, untuk mengurangi mikroba di dalamnya, kemudian diinokulasikan bakteri sebanyak 2-5% dan diinkubasi pada suhu 37° C sampai mengental. Beberapa susu asidofilus memiliki keasaman setinggi 1% asam laktat, tetapi tujuan pengobatan keasaman 0,6-0,7% lebih umum digunakan.

4. Yakult

Susu ini difermentasi dengan *Lactobacillus casei* Shirota strain, di mana waktu fermentasinya selama 7 hari pada suhu 37° C, dalam koindisi yang sangat higienis. Bakteri hidup yang terkandung pada produk akhir adalah tidak kurang dari 10^8 koloni/ml.

5. Susu Fermentasi Probiotik

Susu fermentasi probiotik diproduksi dengan melibatkan bakteri probiotik, yaitu bakteri asam laktat maupun bifidobakteria yang bersifat probiotik, di antaranya adalah *Lactobacillus acidofhilus, Lactobacillus casei, Lactobacillus GG,* dan *Bifidobacterium sp.*

II.2.6 Manfaat Susu Kedelai Fermentasi Bagi Kesehatan

Soyghurt merupakan produk serba guna yang menyehatkan karena kaya nutrien, mengandung protein, vitamin, dan berbagai mineral penting,

terlebih lagi bila soyghurt diperkaya dengan penambahan vitamin dan mineral yang tidak terkandung dalam sari kedelai yang dibuat soyghurt tersebut. Makanan bisa berbentuk probiotik susu fermentasi, soyghurt, mentega, keju, sari buah, dan susu formula yang diforitifikasi dengan bakteri asam laktat. (21)

Manfaat minum yoghurt dan susu fermentasi lainnya adalah sebagai berikut (4, 12, 22, 23) :

1. Banyak anak yang alergi terhadap susu sapi. Responnya bisa berupa mual, muntah, diare, dan gejala sakit perut lainnya. Ini pertanda sistem pencernaan tidak mampu mencerna dan menyerap laktosa (lemak susu) dengan baik. Kondisi demikian dikenal dengan istilah intoleransi laktosa yang disebabkan karena terbatasnya enzim laktase dalam tubuh. Enzim laktase berfungsi memecah laktosa menjadi glukosa atau galaktosa (monosakarida) agar lebih mudah dicerna usus. Sebagai alternatif, susu kedelai dapat dijadikan pengganti susu sapi dan minuman pendamping ASI bagi balita. Salah satu kelebihan susu sapi adalah laktosa susu. Karena itu, anak yang alergi terhadap susu sapi sangat dianjurkan untuk mengkonsumsi susu kedelai. Tentunya, susu kedelai juga sangat dianjurkan untuk dikonsumsi orang dewasa yang alergi terhadap susu sapi.
2. Mencegah kanker kolon

   Terdapat 3 mekanisme yang dipekirakan terjadi sehubungan dengan kemampuan probiotik dalam menekan insiden kanker kolon, yaitu : (1)

menekan perkembangan sel tumor secara langsung maupun tidak langsung melalui peningkatan sistem imun, (2) penghilangan kemampuan enzim yang berperan dalam mengkonversi komponen-komponen prokarsinogenik menjadi karsinogenik, yaitu enzim-enzim fekal β-glukosidase, β-glukoronidase, nitroreduktase dan azoreduktase. Peranan probiotik dalam hal ini adalah menekan pertumbuhan bakteri-bakteri penghasil enzim-enzim tersebut dengan cara: memproduksi senyawa-senyawa inhibitor seperti asam-asam organik (laktat, asetat), H_2O_2, memblokir sisi penempelan di saluran pencernaan, berkompetisi dalam penggunaan nutrisi untuk pertumbuhan, (3) eliminasi senyawa mutagenik atau prokarsinogenik.

3. Menurunkan kolesterol

Mekanisme penurunan kolesterol adalah probiotik dapat mendegradasi kolesterol , menjadi *"coprostanol"*, yaitu dapat sebuah sterol yang tidak dapat diserap oleh usus. Selanjutnya *"coprostanol"* dan sisa kolesterol dikeluarkan bersama-sama tinja hewan dan manusia. Dengan demikian jumlah kolesterol yang diserap tubuh menjadi rendah. Sebuah laporan menunjukkan bahwa penurunan kolesterol oleh starin *Lactobacillus* secara anaerobik dapat mencapai sekitar 27-38%.

Susu kedelai sendiri mampu menghalau kolesterol jahat Low Density Lipoprotein (LDL) karena susu kedelai mengandung lesitin. Lesitin mempunyai sifat melarutkan kolesterol dalam darah, sehingga tidak

terjadi penyempitan atau penyumbatan pembuluh darah oleh kolesterol.

4. Menurunkan tekanan darah

Beberapa pengujian klinik menunjukkan konsumsi susu fermentasi dapat menurunkan tekanan darah. Hal ini dianggap disebabkan oleh penghambatan ACE seperti produksi peptida selama proses fermentasi.

5. Meningkatkan imunitas tubuh dan mencegah infeksi

Probiotik memberikan efek menguntungkan fungsi imun. Probiotik dapat melawan bakteri patogen melalui penghambatan kompetitif.

6. Mereduksi inflamasi

Probiotik diketahui dapat memodulasi inflamasi dan respon hipersensitif.

Selain istilah probiotik dikenal juga istilah prebiotik yang merupakan kelompok oligosakarida seperti raffinosa, stakiosa, galakto-oligosakarida, inulin serta beberapa jenis peptida dari protein yang tidak dapat dicena di lambung sehingga mencapai usus. Prebiotik merupakan nutrisi yang sesuai bagi bakteri asam laktat sehingga bisa meningkatkan jumlah bakteri asam laktat dalam usus. Prebiotik secara alami terdapat pada biji-bijian, sayuran, dan buah. Produk olahan kedelai seperti tahu, tempe, tauco, dan soyghurt kaya akan prebiotik. Kombinasi probiotik dan prebiotik untuk meningkatkan kesehatan tubuh disebut sinbiotik. (24)

Keistimewaan kacang kedelai ini adalah kandungan isoflavon Genestein dan Diadzein yang secara unik banyak berguna dalam fungsi biologis tubuh, antara lain mempunyai efek proestrogenik lemah (agonis) atau antiestrogenik (antagonis), efek terhadap fungsi vaskuler, jaringan payudara, densitas tulang, fungsi ginjal, dan efek sekresi hormonal pada wanita dan mempunyai efek antioksidan.(20)

II.2.7 Metode Pembuatan Susu Kedelai Fermentasi

Selain susu sapi yang dapat difermentasikan menjadi yoghurt, bahan lain yaitu sari kedelai dapat difermentasikan menjadi sari kedelai fermentasi yang dikenal dengan nama soyghurt yang dihasilkan dari fermentasi oleh campuran sinbiotik dua tipe bakteri asam laktat yang tidak berbahaya, yaitu *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Jika digunakan bersama maka kecepatan produksi asam lebih tinggi bila dibandingkan dengan menumbuhkan kedua mikroba tersebut secara sendiri-sendiri. (21)

II.3 Sumber Karbon

Jasad renik heterotrof membutuhkan nutrien untuk kehidupan dan pertumbuhannya, yaitu sebagai: (1) sumber karbon, (2) sumber nitrogen, (3) sumber energi, dan (4) prekursor pertumbuhan yaitu mineral dan vitamin. Fungsi utama nutrien adalah sebagai sumber energi bahan pembangun sel dan sebagai aseptor elektron dalam reaksi bioenergetik (reaksi yang menghasilkan energi). Setiap jasad renik bervariasi alam kebutuhannya akan zat-zat nutrisi tersebut. (26,27)

Hasil oksidasi dari senyawa karbon juga digunakan sebagai sumber energi. Sebagai sumber karbon adalah karbohidrat, yaitu monosakarida (glukosa, fruktosa, galaktosa), disakarida (maltosa, laktosa, sukrosa), trisakarida (raffinosa), dan polisakarida (pati, dekstrin, pektin, selulosa). Sumber karbon lain berasal dari asam-asam organik (asam sitrat, asam malat, dan asam suksinat), garam-garam organik, dan polialkohol. (28)

II.3.1 Senyawa Gula (29,30,31)

Karbohidrat merupakan senyawa karbon, hidrogen dan oksigen yang terdapat dalam alam. Secara alami, ada tiga bentuk karbohidrat yang terpenting :

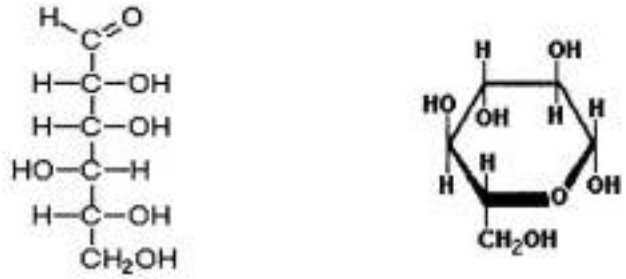
1. Monosakarida

Monosakarida (sering disebut gula sederhana) adalah satuan karbohidrat yang tersederhana; mereka tak dapat lagi dihidrolisis menjadi molekul karbohidrat yang tersederhana. Gula monosakarida umumnya terdapat dalam pangan mengandung enam atom karbon dan mempunyai rumus umum $C_6H_{12}O_6$. Tiga senyawa gula yang paling penting ialah :

a. Glukosa (juga dikenal sebagai dekstrosa)

Struktur molekul glukosa dapat dilihat pada Gambar 1. Pada struktur konvensional atom-atom karbon yang membentuk cincin tidak dituliskan. Glukosa terdapat dengan jumlah yang bervariasi dalam sayuran dan buah-buahan. Kadar yang tinggi didapatkan dalam buah-buahan seperti buah anggur dan dalam

jumlah lebih sedikit dijumpai pada sayuran seperti kapri muda dan wortel. Senyawa ini juga dijumpai dalam darah binatang. Sirup glukosa atau glukosa komersial bukanlah glukosa murni tetapi campuran dari glukosa, senyawa karbohidrat dan air.



Gambar 1. Struktur Glukosa

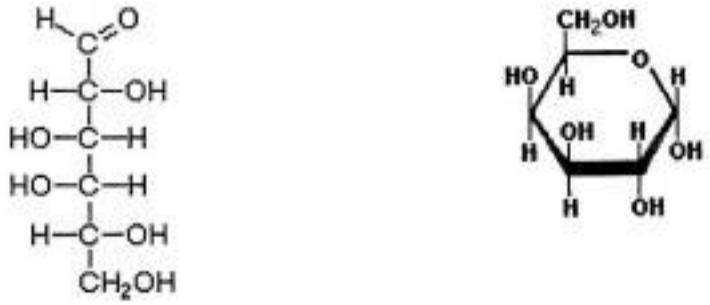
b. Fruktosa (juga dikenal sebagai laevulosa)

Senyawa ini secara kimia mirip glukosa kecuali susunan atom-atom dalam molekulnya sedikit berbeda. Fruktosa ini didapatkan bersama-sama dengan glukosa dalam banyak buah-buahan dan madu.

Gambar 2. Struktur Fruktosa

c. Galaktosa

Gula ini secara kimia mirip glukosa. Di dalam pangan, senyawa ini tidak terdapat seperti apa adanya, tetapi dihasilkan jika laktosa, sebuah disakarida, dipecah dalam pencernaan.



Gambar 3. Struktur galaktosa

2. Disakarida

Gula-gula mempunyai rumus umum $C_{12}H_{22}O_{11}$. senyawa-senyawa ini terbentuk jika dua molekul monosakarida bergabung dengan melepaskan satu molekul air.

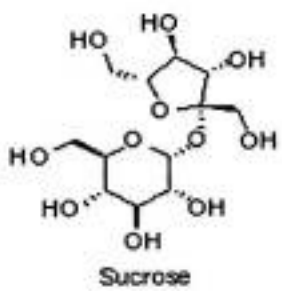
$$C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6 \longrightarrow C_{12}H_2O_{11} + H_2O$$

Monosakarida monosakarida disakarida air

Reaksi di atas merupakan contoh reaksi kondensasi, yaitu reaksi dua molekul kecil yang bergabung membentuk molekul yang lebih besar dengan melepaskan molekul kecil dari antara mereka, biasanya air.

a. Sukrosa

Senyawa ini adalah yang dikenal sehari-hari dalam rumah tangga sebagai gula dan dihasilkan dalam tanaman dengan jalan mengkondensasikan glukosa dan fruktosa. Struktur sukrosa ditunjukkan pada gambar 4.



Gambar 4. Struktur Sukrosa

Sukrosa didapatkan dalam sayuran dan buah-buahan, beberapa diantaranya seperti tebu dan bit gula mengandung sukrosa dalam jumlah yang relatif besar. Dari tebu dan bit gula itulah gula diekstraksi secara komersial.

Apakah berasal dari bit ataupun dari tebu, komposisi kimia dari gula adalah sama : satu satuan fruktosa yang digabung dengan satu satuan glukosa. Ikatan glikosida menghubungkan karbon ketal dan asetal dan bersifat β dan fruktosa dari α dari glukosa. Dalam sukrosa, baik fruktosa maupun glukosa tidak memiliki gugus hemiasetal; oleh karena itu, sukrosa di dalam air tidak berada dalam kesetimbangan dengan suatu bentuk aldehida dan keton. Sukrosa tidak menunjukkan mutarotasi dan bukanlah gula pereduksi.

b. Laktosa

Gula ini dibentuk dengan proses kondensasi glukosa dan galaktosa. Senyawa ini didapatkan hanya pada susu, dan menjadi satu-satunya karbohidrat dalam susu.

c. Maltosa

Molekul maltosa dibentuk dari hasil kondensasi dua molekul glukosa. Selama perkecambahan biji "barley", pati diuraikan menjadi maltosa. "Malt", ingridien amat penting dalam pembuatan bir, dihasilkan pada proses ini.

PEMBENTUKAN DISAKARIDA

Glukosa + Fruktosa ⟶ Sukrosa + Air

Glukosa + Galaktosa ⟶ Laktosa + Air

Glukosa + Glukosa ⟶ Maltosa + Air

3. Polisakarida

Polisakarida adalah polimer hasil kondensasi monosakarida dan tersusun dari banyak molekul monosakarida yang berkaitan satu sama lain dengan melepaskan sebuah molekul air untuk setiap ikatan yang terbentuk. Polisakarida memenuhi tiga maksud dalam sistem kehidupan : sebagai bahan bangunan (arsiitektural), bahan makanan (nutritional) dan sebagai zat spesifik. Polisakarida arsitektural misalnya selullosa yang memberikan kekuatan pada pokok kayu atau dahan dari tumbuhan. Polisakarida nutrisi yang lazim adalah pati dan glikogen. Heparin, suatu contoh zat spesifik adalah suatu polisakarida yang mencegah koagulasi darah. Adapun polisakarida yang penting yaitu :

a. Pati (amilum)

Terbentuk ± 500 molekul monosakarida. Terdapat dalam umbi-umbian sebagai cadangan makanan pada tumbuh-tumbuhan. Molekulnya terdiri atas 2 komponen yaitu amilosa dan aminopektin dan pada hidrolisis dengan enzim membentuk dextrin dan maltosa. Pati bila dipisahkan menjadi dua fraksi utama berdasarkan kelarutan bila dibubur (triturasi) dengan air panas : sekitar 20 % pati adalah amilosa (larut) dan 80 % sisanya adalah amilopektin (tidak larut).

b. Selulosa

Selulosa adalah polisakarida lain yang terdiri dari rantaian-rantaian panjang unit-unit glukosa. Suatu molekul tunggal selulosa merupakan polimer lurus dari 1,4 β D-glukosa. Hidrolisis lengkap dengan HCl 40 % dalam air, hanya menghasilkan D-glukosa.

II.3.2 Sifat-sifat Gula (31)

1. Kenampakan dan Kelarutan

Semua gula berwarna putih, membentuk kristal yang larut air.

2. Rasa manis

Semua gula berasa manis tetapi tingkatan rasa manisnya tidak sama. Rasa manis berbagai macam gula dapat diperbandingkan dengan menggunakan skala nilai dimana atas rasa manis sukrosa dianggap seratus. Tabel 2 menunjukkan kemanisan nisbi bermacam-macam gula.

Tabel 2. Kemanisan Nisbi Berbagai Gula (31)

GULA	KEMANISAN NISBI
Fruktosa	114
Gula invert*)	95
Sukrosa	100
Glukosa	69
Maltosa	40
Sorbitol	51
Laktosa	39

*) Campuran glukosa dan fruktosa

3. Hidrolisis

Disakarida mengalami proses hidrolisis menghasilkan monosakarida. Hidrolisis adalah pemecahan kimiawi suatu molekul karena pengikatan air, menghasilkan molekul-molekul yang lebih kecil. Proses ini dapat dinyatakan dengan persamaan reaksi sebagai berikut :

AB	+	H_2O	⟶	AOH	+	BH
Molekul besar		air		molekul kecil		molekul kecil

4. Inversi Sukrosa

Hidrolisis sukrosa juga dikenal sebagai inversi sukrosa dan hasilnya yang berupa campuran glukosa dan fruktosa disebut "gula invert". Inversi dapat dilakukan baik dengan memanaskan sukrosa bersama asam atau dengan menambahkan enzim intervase.

5. Pengaruh panas

Jika dipanaskan gula akan mengalami karamelisasi. Walaupun karamelisasi terjadi dengan mudah dalam keadaan tanpa air, larutan gula (sirup) akan mengalami karamelisasi jika dipanaskan cukup kuat. Karamel adalah substansi berasa manis, berwarna coklat dan merupakan campuran dari beberapa senyawa mirip karbohidrat.

5. Sifat mereduksi

Semua monosakarida dan disakarida yang telah disebut, kecuali sukrosa, berperan sebagai agensia pereduksi dan karenanya dikenal sebagai gula reduksi. Kemampuan senyawa-senyawa gula mereduksi agensia pengoksidasi mendasari berbagai cara pengujian untuk glukosa dan gula-gula reduksi lainnya. Misalnya, gula-gula ini jika dididihkan dapat mereduksi ion-ion tembaga (II) (kupri) dari larutan Fehling menjadi ion-ion tembaga (I) (kupro), membentuk endapan berwarna jingga. Sukrosa adalah bukan gula reduksi dan karenanya tidak dapat mereduksi Fehling.

II.4 Tinjauan Tentang Bakteri Asam Laktat

II.4.1 Uraian Bakteri Asam Laktat

Istilah bakteri asam laktat (BAL) mulanya ditujukan hanya untuk sekelompok bakteri yang menyebabkan keasaman pada susu *(milk-souring organism)*. Secara umum BAL didefinisikan sebagai suatu kelompok bakteri gram positif, tidk menghasilkan spora, berbentuk bulat atau batang tidak mempunyai sitokrom, aerotoleran, anaerobik hingga mikroaefilik, membutuhkan nutrisi yang kompleks seperti asam-asam amino, vitamin (B_1, B_6, B_{12}, dan biotin), purin, pirimidin yang memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat. (9,32)

Bakteri asam laktat telah digunakan beberapa abad yang lalu dalam fermentasi bahan pangan dan minuman secara tradisional dengan membiarkan makanan atau minuman tercemar oleh bakteri. (25)

Secara alami, bakteri asam laktat banyak dijumpai di berbagai habitat, seperti makanan, sayuran, buah-buahan dan saluran pencernaan manusia dan ternak. Bakteri asam laktat tidak bersifat patogen dan aman untuk meningkatkan kesehatan baik manusia maupun ternak. (25)

Bakteri asam laktat adalah kelompok spesies bakteri yang mempunyai kemampuan menghasilkan sejumlah besar asam laktat sebagai hasil akhir dari metabolisme karbohidrat yang akan menurunkan pH lingkungan pertumbuhan sehingga menimbulkan rasa asam. Proses fermentasi ini mampu menggumpalkan protein susu dan mencegah

proses pembusukan susu di samping dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis mikroba lainnya. (33,34)

Umumnya bakteri asam laktat bersifat sangat selektif terhadap substrat pertumbuhannya yaitu membutuhkan sejumlah nutrien dalam media seperti asam amino, beberapa vitamin, zat tumbuh, dan mineral selain sumber karbon dan nitrogen. (16)

Bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif yang digolongkan berdasarkan persamaan karakteristik morfologi, metabolit, dan fisiologi. Gambaran umum dari bakteri ini adalah gram positif, tidak berspora, berbentuk bulat atau batang dan menghasilkan asam laktat sebagai haisl fermentasi. (16,34)

Ada 4 genus yang tergolong sebagai bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus, Streptococcus, Leuconostoc,* dan *Pediococcus*. Sedangkan genus *Bifidobacterium* walaupun dapat memproduksi asam laktat tetapi karena karakteristik yang dimiliki maka diklasifikasikan dalam keluarga Actinomycetaceae. Klasifikasi bakteri asam laktat ke dalam genus yang berbeda berdasarkan pada morfologi, fermentasi glukosa, suhu pertumbuhan yang berbeda, konfigurasi asam laktat yang dihasilkan, kemampuan untuk tumbuh pada kadar garam yang tinggi dan toleransi terhadap asam atau basa. (16)

Bakteri asam laktat dan Bifidobacteria termasuk dalam kelompok bakteri "baik" bagi manusia dan umumnya memenuhi standar GRAS (Generaly Recognised As Safe) yaitu aman bagi manusia. Dua kelompok

utama yang telah memperlihatkan efek terapeutik yang menguntungkan tubuh adalah *Lactobacili* dan *Bifidobacteria*. (9)

Kondisi keasaman optimum adalah pH 4,0-5,0, sehingga bakteri asam laktat sangat kompetitif dibanding mikroba lain yang ada dalam susu. Secara umum bersifat anaerobik, namun berbagai jenis strain reaksinya berbeda terhadap molekul oksigen. Suhu optimum pertumbuhan juga beragam pada setiap strain. Ada yang bersifat psikotropik (mampu tumbuh pada suhu 5° C atau di bawahnya) seperti genus *Leuconostoc* dan beberapa species *Lactobacillus* fakultatif homofermentatif, khususnya *Lactobacillus sake*. Pada umumnya, kultur starter yoghurt *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dan juga kebanyakan species *Lactobacillus* obligat homofermentatif tumbuh pada suhu 45° C tetapi tidak tumbuh pada suhu 15° C. (9)

Berdasarkan sifat fermentasinya, bakteri asam laktat digolongkan menjadi dua yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Golongan homofermentatif adalah bakteri yang hanya menghasilkan asam laktat dari metabolisme gula, contohnya pada genus *Streptococcus* dan *Lactobacillus*, sedangkan golongan heterofermentatif adalah bakteri yang selain menghasilkan asam laktat juga menghasilkan karbondioksida, sejumlah kecil minyak menguap, alkohol, dan asam asetat, contohnya pada genus *Leuconostoc* (16,33,34).

Bakteri asam laktat homofermentatif melibatkan jalur Embden Meyerhoff yaitu glikolisis, menghasilkan asam laktt, 2 mol ATP dari 1

molekul glukosa/heksosa dalam kondisi normal. Tidak menghasilkan biomassa sel dua kali lebih banyak daripada bakteri asam laktat heterofermentatif. (9)

Secara umum, bakteri asam laktat homofermentatif digunakan dalam fermentasi susu menjadi yoghurt, dan juga untuk menghasilkan asam laktat sebagai asidulan dalam industri makanan dan industri polilaktat suatu industri polimer atau plastik ramah lingkungan. Sedangkan bakteri asam laktat heterofermentatif, melalui jaur 6-fosfoglukonat/fosfoketolase. Selain menghasilkan asam laktat, juga menghasilkan etanol, CO_2, asam asetat, senyawa citarasa, dan mannitol sert 1 mol ATP dari heksosa dan tidak mempunyai enzim aldolase. Bakteri asam laktat heterofermentatif banyak dimanfaatkan dalam industri susu untuk menghasilkan keju dan senyawa flavour, senyawa citarasa maupun pengental yaitu eksopolisakarida. (9)

Bakteri *Lactobacillus sp* terbagi dalam kelompok homofermentatif dan heterofermentatif adalah *L. Acidophilus, L. Salivarius, L. Halveticus, L. Delbruechii, L. Casei, L. Plantarum, L. Curvatus.* Sedangkan kelompok heterofermentatif antara lain *L. Fermentum, L. Reuteri, L. Brevis, L. Buchneri, L. Kefir.* (5)

II.4.2 Metabolisme Bakteri Asam Laktat

Karbohidrat merupakan substrat utama yang dipecah dalam prose fermentasi. Polisakarida terlebih dahulu akan dipecah menjadi gula sederhana sebelum difermentasi, misalnya hidrolisa pati menjadi unit-unit

glukosa. Glukosa kemudian akan dipecah menjadi senyawa-senyawa lain tergantung dari jenis fermentasinya. Fermentasi glukosa pada prinsipnya terdiri dari dua tahap, yaitu (35):

1. Pemecahan rantai karbon dari glukosa dan pelepasan sedikitnya dua pasang atom hidrogen, menghasilkan senyawa karbon lainnya yang lebih teroksidasi daripada glukosa.
2. Senyawa yang teroksidasi tersebut direduksi kembali oleh atom hidrogen yang dilepaskan dalam tahap pertama, membentuk senyawa-senyawa lain sebagi hasil fermentasi. Reaksi oksidasi tidak dapat berlangsung tanpa reaksi reduksi yang seimbang. Oleh karena itu jumlah atom hidrogen yang dilepaskan dalam tahap pertama fermentasi selalu seimbang dengan jumlah yang digunakan dalam tahap kedua.

Dalam tahap pertama fermentasi glukosa selalu terbentuk asam piruvat. Pada jasad renik dikenal empat jalur pemecahan glukosa menjadi asam piruvat, yaitu (35) :

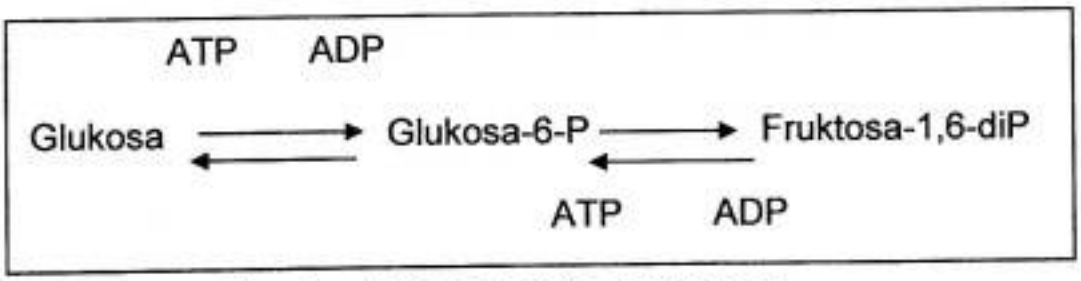
1. Jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP) atau glikolisis ditemukan pada fungi dan kebanyakan bakteri, serta pada hewan dan manusia.
2. Jalur *Entner-Duaodroff* (ED) hanya ditemukan pada beberapa bakteri.
3. Jalur *heksosamonofosfat* (HMF) ditemukan pada beberapa mikroorganisme.
4. Jalur *fosfoketolase* (FK) hanya ditemukan pada bakteri yang tergolong *Lactobacilli* heterofermentatif.

Berbagai monosakarida dimetabolisme oleh bakteri asam laktat menjadi glukose-6-phosphate atau fructose-6-phosphat dan kemudian terjadi metabolisme melalui jalur EMP. Bakteri asam laktat homofermentatif menggunakan jalur EMP untuk menghasilkan piruvat untuk kemudian direduksi menjadi asam *lactate dehidrogenase* menggunakan kelebihan NADH. (9)

Jalur EMP terbagi menjadi tiga tahapan, yaitu (9):

1. Aktivasi glukosa

Sebagaimana diketahui, glukosa merupakan molekul yang relatif stabil, sehingga untuk mendegradasinya perlu ditambahkan fosfat energi tinggi agar tidak stabil. Pada tahap awal fosfat disumbangkan dari ATP atau fosfoenol piruvat pada glukosa sehingga terbentuk glukosa-6-fosfat, untuk selanjutnya diisomerisasikan menjadi fruktosa-1,6-bifosfat, yang lebih mudah diuraikan dibanding glukosa. Urutan reaksinya pada gambar sebagai berikut :



Gambar 5 Reaksi aktivasi glukosa

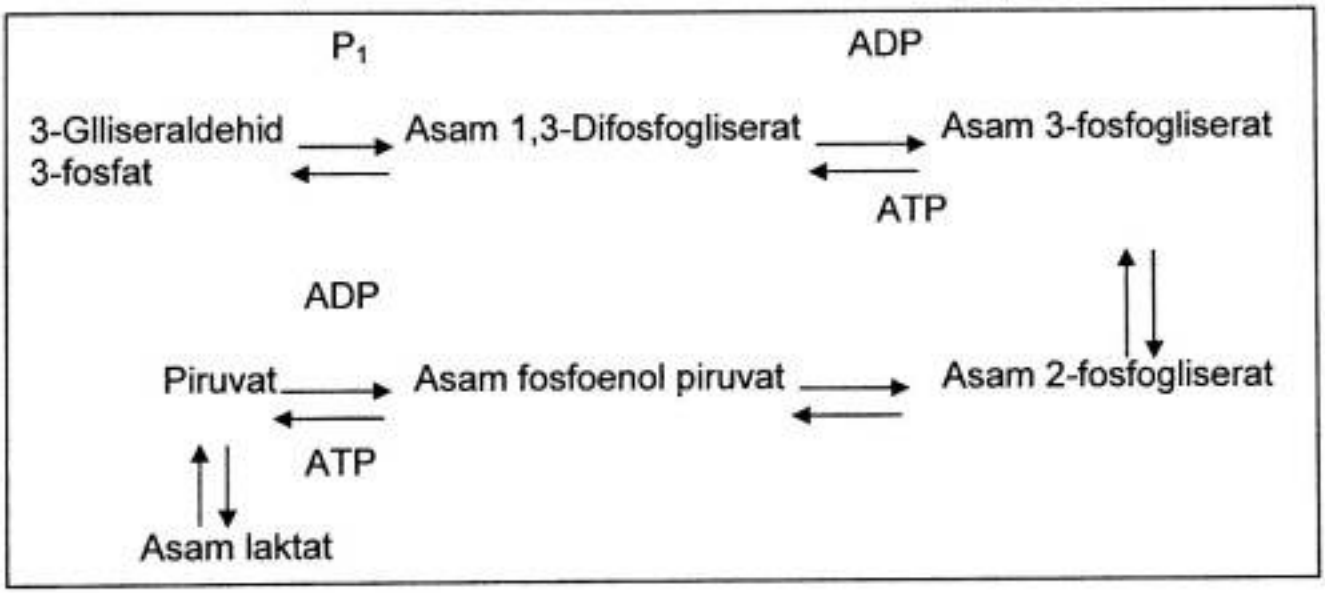
2. Penguraian glukosa

Fruktosa-1,6-bifosfat selanjutnya diurai oleh enzim fruktosa bifosfat aldolase menjadi dua senyawa berkarbon 3, yaitu glyceraldehida 3 fosfat (GAP) dan dihidroxyacetonfosfat (DAP). Ini

merupakan tahap penting dalam jalur EMP, yaitu mengubah glukosa yang berkarbon 6 menjadi dua molekul senyawa berkarbon 3 yang menjadi cikal bakal piruvat.

3. Ekstraksi energi

Pada tahap reaksi selanjutnya, DAP diubah menjadi GAP yang akan berperan pada jalur EMP selanjutnya. Fosfat anorganik ditambahkan pada GAP untuk membentuk 1,3-biphosphoglycerate



Gambar 6 Reaksi pembentukan asam laktat

Reaksi keseluruhan dapat diringkas sebagai berikut :

$$2\ ATP + glukosa + 4\ ADP + 2P_1 + 2\ NAD \longrightarrow 2ADP + 2\ piruvat + 4\ ATP + 2\ NADH$$

II.4.3 Uraian *Lactobacillus acidophilus*

II.4.3.1 Klasifikasi Bakteri (7)

Divisi : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Sub ordo : Eubacterineae

Famili : Lactobacillaceae

Genus : Lactobacillus

Species : *Lactobacillus acidophilus*

II.4.3.2 Sifat dan Morfologi

Bakteri ini berbentuk batang yang hidup secara berpasangan, tunggal atau berbentuk rantai, bersifat anaerob fakultatif, kemoorganotrof, tahan terhadap asam. Bakteri ini menyerupai Streptococci dalam kebutuhan akan nutrien (22). Umumnya bakteri ini berukuran 0,6-0,9 x 1,56 μm. Tumbuh pada pH 5-7, optimum pada pH 5,5-6,0, katalase negatif. Merupakan flora normal yang ada di usus, juga ditemukan pada mulut dan vagina. Dapat mencegah mikroba yang merugikan termasuk *Candida albicans* , melalui produksi antibiotik dan substansi penghambat lainnya seperti asam laktat dan hidrogen peroksida. (7,36,37,38)

Lactobacillus dapat memfermentasi gula dengan sejumlah asam laktat sehingga dapat digunakan dalam produksi makanan fermentasi. Umumnya paling tahan terhadap asam di antara bakteri lainnya, dapat tumbuh pada suhu tinggi menyebabkan bakteri ini tahan terhadap proses pasteurisasi. Suhu optimum pertumbuhan 30°-40°C (7).

II.4.3.3 Manfaat Bakteri Asam Laktat

Keseimbangan mikroflora usus dapat menjadi tolak ukur kondisi kesehatan manusia yang dapat diperbaiki dengan meningkatkan

keseimbangan bakteri usus ke arah yang menguntungkan dengan bantuan bakteri probiotik. Bakteri asam laktat merupakan probiotik yang mempunyai berbagai manfaat bagi kesehatan, di antaranya dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen, virus dan jamur karena mampu memproduksi antibiotik alami, membantu menurunkan kadar kolesterol darah, meningkatkan kekebalan tubuh dan dapat menghambat perkembangan beberapa sel kanker (2).

Bakteri asam laktat dan *Bifidobacterial* secara alami terdapat dalam saluran pencernaan manusia dan hewan, dan dalam makanan fermentasi seperti yakult, yoghurt, dan produk alami lainnya. Tidak semua bakteri laktat bersifat probiotik dan hanya jenis bakteri laktat tertentu yang menempati saluran pencernaan. Ia mampu melekat pada sel epitel dan menjaga keharmonisan komposisi bakteri saluran pencernaan. (39)

Selanjutnya ia membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa, mencegah diare, sembelit, kanker, hipertensi, menurunkan kolesterol, menormalkan komposisi saluran pencernaan setelah pengobatan antibiotik serta peningkatan kekebalan tubuh (39).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat –alat yang digunakan adalah blender, cawan petri, inkubator, Laminar Air Flow, labu tentukur, lemari es, ose, otoklaf, oven, pHmeter spoit injeksi, tabung reaksi, timbangan analitik.

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, alkohol 70%, asam klorida, biakan murni *Lactobaciluus acidophilus,* kalium biftalat, medium GYPA, medium MRS Agar, medium NA, natrium hidroksida, trinatrium fosfat.

III.1.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat gelas direndam dengan larutan trinatrium fosfat 1% dan didihkan selama 10 menit, kemudian dicuci dengan air sampai bersih dan direndam dalam larutan asam klorida 1% selama 24 jam, dicuci kembali dengan air bersih lalu dibilas dengan air suling. Selanjutnya dibungkus dengan kertas perkamen, lalu disterilkan dalam oven pada suhu dan waktu yang sama. Ose dan pinset disterilkan dengan cara dipijarkan langsung pada nyala api, sedang spoit injeksi disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

III.1.2 Pembuatan Susu Kedelai (3)

Kacang kedelai sebanyak 125 g direndam selama 8 jam kemudian dicuci dan direbus. Kacang kedelai yang sudah bersih digiling dengan

penambahan air panas (1: 8) menggunakan blender dan disaring untuk memisahkan fase cair berupa sari kedelai dari fase padat yaitu ampas. Kemudian didihkan pada suhu 100°C selama 20 menit.

III.1.3 Pembuatan Medium

Medium yang digunakan :

a.Medium MRS Agar

Komposisi :

Pepton 10 g, ekstrak daging 5 g, ekstrak khamir 5 g, glukosa 20 g, dikalium hidrogen fosfat 2 g, tween 80 1 g, diamonium hidrogen sitrat 2 g, natrium asetat 5 g, magnesium sulfat 0,1 g, mangan sulfat 0,05 g, dan agar 12 g, air suling.

Cara membuat :

Bahan-bahan di atas ditimbang dan dimasukkan ke erlenmeyer kemudian dilarutkan dalam air suling hingga volume 800 ml. Lalu dicek pH 6 – 6,5, kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C, tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

b. Medium Nutrien Agar (NA)

Komposisi :

Ekstrak daging 3 g, pepton 5 g, agar 20 g, air suling.

Cara membuat :

Bahan-bahan di atas ditimbang kemudian dimasukkan ke erlenmeyer. Lalu dilarutkan dalam air suling hingga volume 800 ml dan

dicek pH 7. Setelah itu dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Kemudian disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

III.1.4 Pembuatan Starter

Komposisi :

Ekstrak ragi 5 g, laktosa 5 g, glukosa 5 g, kalsium karbonat 0,2 g, dan air suling.

Cara membuat :

Bahan-bahan di atas ditimbang dan dimasukkan ke erlenmeyer kemudian dilarutkan dengan air suling hingga volume 800 ml dan dicek pH 4,0. Kemudian dicukupkan volumenya dengan air suling hingga 1000 ml. Setelah itu disterilkan dalam otoklaf pada suhu121°C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

III.2 Pengambilan dan Penyiapan Bahan Penelitian

III.2.1 Peremajaan Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat yang digunakan adalah *Lactobacillus acidophilus* diambil 1 ose lalu diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium miring MRS-Agar lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator.

III.2.2 Pembuatan Kultur Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat yang telah diremajakan diinokulasikan pada medium starter. Kultur bakteri dibuat dengan menginokulasikan masing-

masing 4 ose biakan bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada tabung reaksi yang berisi 10 ml medium starter dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam.

III.2.3 Pembuatan Susu Kedelai Fermentasi

Susu kedelai masing-masing sebanyak 100 ml dalam 4 erlenmeyer berbeda dipanaskan pada suhu 80°C selama 30 menit. Kemudian ditambahkan sumber karbon berupa sukrosa, glukosa, dan laktosa ke dalam 3 erlenmeyer pertama, sedangkan erlenmeyer keempat sebagai kontrol. Setelah itu susu kedelai fermentasi menggunakan bakteri asam laktat tunggal *Lactobacillus acidophilus* dibuat dengan menginokulasikan 10 ml kultur bakteri ke dalam susu pada suhu 37°C selama 16 jam hingga menggumpal.

III.2.4 Pembuatan Larutan Baku NaOH 0,1 N (40)

III.2.4.1 Pembuatan Larutan NaOH 0,1 N

Dilarutkan 16,2 g natrium hidroksida P dalam 150 ml air bebas karbon dioksida P, larutan didinginkan hingga suhu kamar, kemudian disaring melalui kertas saring yang dikeraskan. Filtrat jernih sebanyak 5,45 ml dimasukkan ke dalam wadah poliolefilen bertutup rapat, dan diencerkan dengan air bebas karbon dioksida P hingga 1000 ml.

III.2.4.2 Pembakuan Larutan NaOH 0,1 N

Ditimbang seksama sebanyak 5 g Kalium biftalat yang sebelumnya telah dihaluskan dan dikeringkan pada suhu 120° C selama 2 jam, dan

dilarutkan dalam 75 ml air bebas karbon dioksida P. Ditambahkan 2 tetes fenolftalein LP dan dititrasi dengan larutan natrium hidroksida hingga terjadi warna merah muda mantap.

III.3 Pengujian Susu Kedelai Fermentasi

III.3.1 Jumlah Bakteri (Angka Lempeng Total)

Pengujian pengaruh penambahan sumber karbon terhadap fermentasi susu kedelai oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus* menggunakan medium GYPA (Glucosa Yeast Pepton Agar). Susu kedelai fermentasi untuk masing-masing perlakuan dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke botol pengenceran yang berisi 9 ml air suling steril kemudian dibuat pengenceran bertingkat 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10}. Pengujian dilakukan pada pengenceran 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, dengan mengambil 1 ml dari tiap pengenceran dan 10 ml medium GYPA dimasukkan ke cawan petri lalu dihomogenkan. Setelah memadat lalu diinkubasi dengan posisi terbalik dalam inkubator aerob selama 1x24 jam. Koloni bakteri yang tumbuh dihitung jumlahnya.

III.3.2 Perubahan pH

pH susu kedelai diukur dengan menggunakan pH meter. Susu kedelai dan susu kedelai fermentasi yang telah jadi dikocok secara merata, kemudian diukur pHnya menggunakan pH meter.

III.3.3 Total asam (41)

Ditimbang seksama susu kedelai fermentasi sebanyak 10 g dalam erlenmeyer. Kemudian ditambahkan indikator fenolftalein 1%. Dititrasi dengan natrium hidroksida 0,1 N sampai warnanya berubah menjadi kemerah-merahan. Kadar total asam kemudian ditentukan.

$$\text{Kadar asam (laktat)} = \frac{\text{ml NaOH x N NaOH x BM NaOH}}{\text{gram sampel}} \times 100\%$$

III.4 Pengamatan dan Pengumpulan Data

Pengamatan dan perhitungan jumlah koloni bakteri dilakukan setelah inkubasi selama 1 x 24 jam.

III.5 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa secara statistik dengan mengggunakan uji Rancangan Acak Kelompok (RAK).

III.6 Pembahasan Hasil Penelitian

Pembahasan hasil penelitian dilakukan berdasarkan hasil pengamatan dan analisis data.

III.7 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Dari hasil pengamatan jumlah koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang tumbuh pada medium GYPA dengan penambahan 1 ml susu kedelai fermentasi untuk tingkat pengenceran 10^{-7}, 10^{-8}, dan 10^{-9} diperoleh data :

Tabel 3. Jumlah Koloni Bakteri Pada Tingkat Pengenceran Susu Kedelai yang Diujikan

No	Sampel	Tingkat pengenceran		
		10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}
1	Glukosa 5%	11	8	3
2	Glukosa 10%	207	26	19
3	Laktosa 5%	8	7	2
4	Laktosa 10%	13	18	5
5	Sukrosa 5%	6	12	9
6	Sukrosa 10%	16	12	12
7	Kontrol	4	3	1

Data hasil pengamatan perubahan pH diperoleh yaitu :

Tabel 4. Perubahan pH Susu Kedelai Fermentasi

No	Sampel	pH awal	pH akhir
1	Glukosa 5%	6,67	5,1
2	Glukosa 10%	6,67	4,9
3	Laktosa 5%	6,67	5,5
4	Laktosa 10%	6,67	5,4
5	Sukrosa 5%	6,67	5,1
6	Sukrosa 10%	6,67	5,0
7	Kontrol	6,67	5,4

Data hasil pengamatan total asam susu kedelai fermentasi yaitu :

Tabel 5. Kadar Total Asam Susu Kedelai Fermentasi

No	Sampel	Bobot (mg)	Volume titran (ml)	Kadar asam laktat
1	Glukosa 5%	10045	1,32	0,1038
2	Glukosa 10%	10024	1,79	0,1409
3	Sukrosa 5%	10039	1,29	0,1015
4	Sukrosa 10%	10047	1,3	0,1022
5	Laktosa 5%	10027	1,31	0,1032
6	Laktosa 10%	10047	1,41	0,1109
7	Kontrol	10056	1,38	0,1084

Berdasarkan hasil analisa statistik menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) diperoleh hasil sebagai berikut :

Untuk parameter total asam dan ALT bakteri tidak terdapat perbedaan yang nyata untuk setiap perlakuan yang diberikan. Untuk analisis total asam diperoleh F hitung perlakuan 0,958266, pada F tabel tidak nyata pada taraf 0,05. Untuk parameter ALT bakteri diperoleh F hitung perlakuan 4,5223, pada F tabel tidak nyata pada taraf 0,05. Sedangkan untuk parameter pH diperoleh perbedan yang nyata untuk perlakuan yang diberikan. F hitung perlakuan adalah 38,2701538, pada F tabel sangat nyata pada taraf 0,01.

IV.2 Pembahasan

Dalam penelitian ini dibuat susu kedelai susu fermentasi dengan variasi penambahan sumber karbon berupa glukosa 5 dan 10%, laktosa 5 dan 10%, sukrosa 5 dan 10%, serta kontrol yaitu tanpa penambahan sumber karbon. Kemudian dilakukan pengujian jumlah bakteri (angka lempeng total) bakteri *Lactobacillus acidophilus*, perubahan pH, dan pengukuran total asam.

Dalam penelitian ini dilakukan penambahan sumber karbon yang berfungsi sebagai sumber energi berupa glukosa, sukrosa, dan laktosa dengan dua variasi konsentrasi yaitu 5 dan 10%. Fermentasi susu secara umum melibatkan metabolisme laktosa, disakharida dalam susu menjadi asam laktat, oleh bakteri asam laktat terutama *Lactococci* dan *Lactobacilli*. Sedangkan dalam susu kedelai tidak terdapat laktosa, yang merupakan alasan mengapa pada pembuatan soyghurt atau susu kedelai fermentasi kemungkinan harus dilakukan penambahan sumber karbon.

Untuk keperluan hidupnya, jasad renik seperti bakteri memerlukan bahan makanan. Bahan-bahan organik dan anorganik diambil dari lingkungannya. Fungsi utama nutrisi adalah sebagai bahan pembentuk sel dan aseptor elektron di dalam aksi yang menghasilkan energi. Nutrisi yang diperlukan oleh mikroba meliputi air, sumber energi, sumber karbon, sumber nitrogen, sumber aseptor elektron, sumber mineral, dan faktor tumbuh. (28)

Hasil oksidasi dari senyawa karbon juga digunakan sebagai sumber energi. Yang menjadi sumber karbon adalah karbohidrat, yaitu monosakarida (glukosa, fruktosa, galaktosa), disakarida (maltosa, laktosa, sukrosa), trisakarida (raffinosa), dan polisakarida (pati, dekstrin, pektin, selulosa). Sumber karbon lain berasal dari asam-asam organik (asam sitrat, asam malat, dan asam suksinat), garam-garam organik, dan polialkohol. (28)

Pengujian susu kedelai fermentasi diilakukan setelah inkubai selama 16 jam hingga menggumpal. Selama proses fermentasi susu kedelai menjadi susu kedelai fermentasi terjadi perubahan pH. pH awal susu kedelai adalah 6,67 sedangkan setelah difermentasi selama 16 jam menggunakan bakteri *Lactobacillus acidophilus*, susu kedelai fermentasi mengalami penurunan pH yang berkisar antara 4,9-5,6. Dari pengujian penurunan pH diperoleh hasil yang signifikan di mana nilai pH pada penambahan sukrosa 5 dan 10% paling tinggi dibandingkan perlakuan lain. Sukrosa merupakan disakarida yang akan diuraikan terlebih dahulu

menjadi monosakarida-monosakarida penyusunnya yaitu fruktosa dan glukosa, selanjutnya glukosa akan dimanfaatkan oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus* sebagai sumber energi dan sebagian lagi akan dimetabolisir lebih lanjut menjadi asam-asam organik khususnya asam laktat. Sedangkan glukosa yang merupakan monosakarida tidak perlu untuk dihidrolisis terlebih dahulu, sehingga pH susu kedelai fermentasi dengan penambahan glukosa memiliki p\H paling rendah. Asam organik akan menurunkan pH susu kedelai. Menurut Tamime dan Robinson (1985), fermentasi karbohidrat oleh *Streptococcus* dan *Lactobacillus* dilakukan melalui konversi karbohidrat ke glukosa dan kemudian glukosa difermentasi melalui jalur heksosa difosfat untuk memproduksi asam laktat sebagai produk utama. Asam-asam organik yang dihasilkan akan menyebabkan pH susu kedelai menjadi rendah. Semakin banyak sumber gula yang dapat dimetabolisir maka akan semakin banyak pula asam organik yang dihasilkan sehingga pH susu akan semakin turun pula. Asam laktat yang dihasilkan dalam pembuatan susu fermentasi dapat menurunkan pH susu. (39,40)

Demikian pula dengan Angka Lempeng Total dan total asam diperoleh jumlah yang tinggi pada glukosa. Hal ini sebanding dengan pH masing-masing susu kedelai fermentasi, di mana semakin banyak jumlah bakteri yang terdapat dalam susu kedelai fermentasi maka semakin banyak asam laktat yang dihasilkan dari metabolisme sumber karbon di dalam susu dan total asam semakin tinggi, pH juga akan semakin turun.

Dari hasil pengolahan data secara statistik menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK), untuk parameter jumlah bakteri (ALT) dan penentuan total asam diperoleh hasil yang tidak signifikan. Jumlah bakteri paling tinggi terdapat pada penambahan penambahan glukosa.Ini berarti bahwa perlakuan yang diberikan tidak berpengaruh nyata terhadap fermentasi susu kedelai oleh bakteri asam laktat *Lactobacillus acidophilus*. Kemungkinan hal ini disebabkan bakteri *Lactobacillus acidophilus* di dalam susu kedelai masih dapat menggunakan sumber karbon yang berasal dari starter. Di mana starter yang digunakan mengandung glukosa dan laktosa sebanyak 5%. Sehingga bakteri *Lactobacillus acidophilus* masih mempunyai sumber karbon sebagai sumber energi untuk menghasilkan asam laktat.

Pemanfaatan sumber karbon yang ada di dalam susu kedelai akan dimanfaatkan dan terlihat dengan meningkatnya jumlah koloni bakteri pada pengujian jumlah bakteri. Pemecahan glukosa dalam sel bakteri asam laktat *Lactobacillus acidophilus* akan menghasilkan senyawa lain yaitu asam organik berupa asam laktat. Senyawa ini akan terekskresikan keluar dan terakumulasi dalam cairan susu kedelai fermentasi. Dengan meningkatnya jumlah asam yang diekskresikan oleh *Lactobacillus acidophilus* maka susu kedelai fermentasi akan mengalami penurunan pH. (41)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis statistik dapat disimpulkan bahwa penambahan sumber karbon pada konsentrasi 5 dan 10% tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap total asam, jumlah bakteri, dan pH dalam fermentasi susu kedelai oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

V.2 Saran

Sebaiknya dilakukan penambahan sumber karbon dengan menggunakan kultur starter dan jenis bakteri asam laktat yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dahlan, D., & Sennang, N.1986. *Kedelai*. Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin. Ujung Pandang. 1.
2. Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. 248-253.
3. Koswara, S.1995. *Teknologi Pengolahan Kedelai : Menjadi Makanan Bermutu*. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta. 75-76.
4. Mudjajanto, E.S., & Kusuma, F.R. 2005. *Susu Kedelai, Susu Nabati yang Menyehatkan*. PT. AgroMedia Pustaka, Jakarta. 18-31.
5. Faika, S. 2002. Penurunan Kadar Kolesterol Oleh Soyghurt Pada Berbagai Suhu Inkubasi Secara In Vitro. *Skripsi*, Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar. 31-34.
6. Andriani, Y. 2003. Uji In Vitro Penurunan Kadar Kolesterol Oleh Sari Kecambah Kedelai Putih. *Skripsi*, Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, Makassar. 22-25.
7. Buchanan, R.E., Gibbons, N.E., Cowan, S.T., Holt, J.G., Liston, J., Murray, R.G.E., Niven, C.F., Ravin, A.W., & Stanier, R.Y. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th Edition. The Williams & Wilkins Company. Baltimore. 578, 580, 582.
8. Buttris, J. 1997. Nutritional properties of Fermented Milk Products. *International Journal of Dairy Technology* 50 (1). 21-27. http://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_acidophilus diakses 13 Juni 2006
9. Surono, I.S. 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan*. YAPMMI. Jakarta. 2, 4-5, 10-11, 70, 80, 119, 234-236.
10. Takashi. 1993. BioScience-Biotechnology and Biochemistry. *Journal of Food Protection*. 162-169. http://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_acidophilus diakses 13 Juni 2006

11. Gilliland, S.E. & Speck, M.L. 1977. Deconjugation of Bile Acids by Intestinal Lactobacillus. *Journal of Applied and Environmental Microbiology, American Society for Microbiology, USA.* 15 http://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_acidophilus diakses 13 Juni 2006
12. Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut.* Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antaruniversitas Pangan dan Gizi Insitut Pertanian Bogor. 31
13. Darwis, A.A. & Sukara. 1989. *Teknologi Mikrobial.* Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
14. Tamime, A.Y. & Robinson, R.K. 1999. *Yoghurt : Science and Technology.* 2nd edition. CRC Press. Boston.
15. Rahman, A. 1992. *Teknologi Fermentasi.* Penerbit Arcan. Universitas Pangan dan Gizi IPB. Bogor. 1-24
16. Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H., & Wootton, M. Tanpa tahun. *Ilmu Pangan.* Terjemahan oleh Hari Purnomo & Adiono. 1987. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 5, 92-94
17. Djide, N. & Sartini. 2003. *Mikrobiologi Farmasi Dasar.* Laboratorium Mikrobiologi Farmasi FMIPA UNHAS. Makassar.14
18. Djide, N. & Sartini. 2005. *Dasar-Dasar Bioteknologi Farmasi.* Laboratorium Mikrobiologi Farmasi FMIPA UNHAS. Makassar. 304-305
19. Tjitrosoepomo, G. 2000. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta).* Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 192-207
20. Anonim.1987. *Yoghurt Dairy Science and Technology,* http://foodsci.aps//uoquelph.co/dayryedu/yoghurt/html.
21. Winarno, F.G. 1987. *Gizi dan Makanan Bagi Bayi dan Anak Sapihan.* Pustaka Sinar Harapan, Jakarta. 146
22. Prangdimurti, E. 2001. *Probiotik dan Efek Perlindungannya Terhadap Kanker Kolon. PPs/S3 Institut Pertanian Bogor.*

www.tumoutou.net/3_sem1_012/endang_prangdimurti.htm. *Diakses 23 Mei 2006*

23. Wikipedia. Tanpa Tahun. *Probiotic.* http//en.wikipedia.org/wiki/Probiotic. Diakses 9 Mei 2006
24. Waspodo, I.S. 2001. *Efek Probiotik, Prebiotik, dan Synbiotik Bagi Kesehatan. Kompas Online*, http://www.kompas.com
25. Waspodo, I.S. 2001. *Probiotik dan Prebiotik Untuk Kesehatan. Kompas Online*, http://www.kompas.com
26. Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1.* Kerja Sama PAU Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor dengan PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.103
27. Suriawiria, U. 2005. *Mikrobiologi Dasar.* Penerbit Papas Sinar Sinanti, Jakarta. 66,67.
28. Nurwantoro & Djarijah, A.S. 1994. *Mikrobiologio Pangan Hewani-Nabati*, Penerbit Kanisius. Jakarta. 14
29. Fessenden & Fessenden. 1992. *Kimia Organik.* Erlangga. Jakarta. 318
30. Sudarmadji S., Bambang, H., & Suhardi. 1989. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian.* Ed. IV. Penerbit Liberty. Yogyakarta. 71-3
31. Sherrington, K.B., & Gaman,P.B. 1994. *Ilmu Pangan,Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi.* UGM Press. Yogyakarta. 58 - 68
32. Pati, U. 2003. Potensi Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Dadih Untuk Menurunkan Resiko Penyakit Kanker. *Jurnal Natur Indonesia.* **5 (2)** : 162-166
33. Ishak, E. & Amrullah, S. 1985. *Ilmu dan Teknologi Pangan.* Badan Kerja Sama Perguruan Tinggi Negeri Indonesia Bagian Timur. Makassar. 86
34. Gunawan, A.W. 1993. *Bakteri Asam Laktat, Mikrobiologi Indonesia,* Vol.2 No. 2. Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia. Bogor. 33
35. Wikipedia. Tanpa Tahun. *Lactobacillus acidophilus.* http://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_acidophilus. diakses 13 Juni 2006

36. Goodman, S. 2003. *The Evidence for Probiotics.* *http://www.positivehealth/permit/Articles/Colon%20Health/evidence.htm. diakses 9 Mei 2006*

37. Budiyanto, A.K. 2004. *Mikrobiologi Terapan.* Universitas Muhammadiyah Malang. Malang. 5-6.

38. Fardiaz, S. 1987. *Fisiologi Fermentasi.* Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor. Bogor.46.

39. Dwidjoseputro. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi.* Penerbit Djambatan. Jakarta. 130-131.

40. Ditjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1216

41. Hadiwiyoto, S. 1982. *Teknik Uji Mutu Susu dan Hasil Olahannya.* Penerbit Liberty. Jakarta.

42. Tamime, A.Y. & Robinson, R.K. 1985. *Yoghurt Science and Technology*. Pergamon Press. New York

43. Chandan, R.C & Shahani, K.M. 1993. Yoghurt. Di dalam Hui (ed.). *Dairy Science and Technology Handbook-Product Manufacturing.* New York

44. Widowati, S. & Misgiyarta. 2006. Efektifitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein/Susu Nabati. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor. 368-369.

Tabel 6. Pengamatan Total Asam

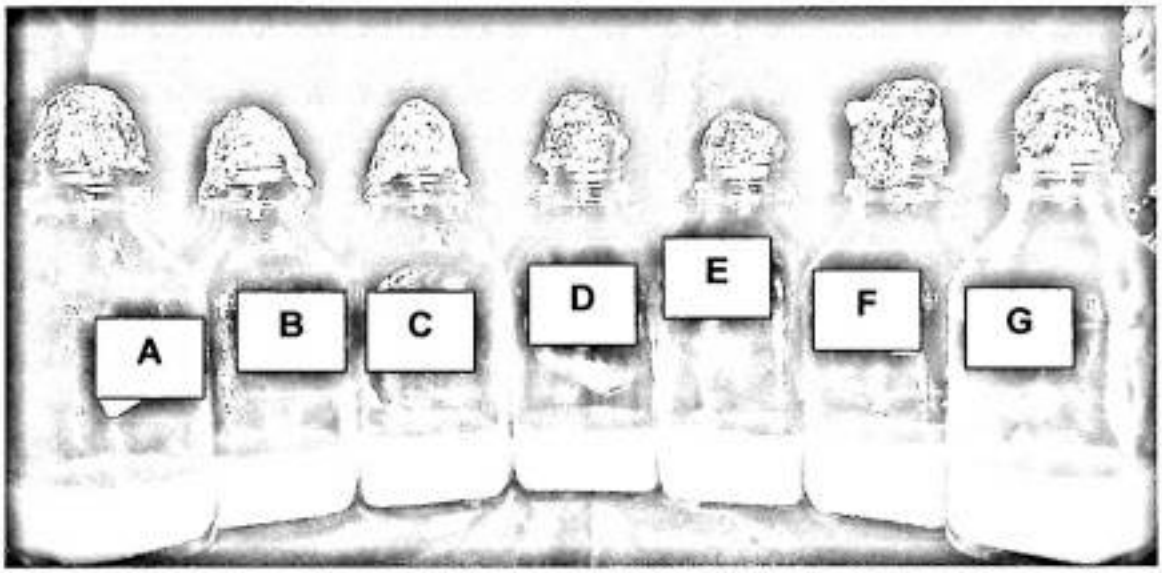
Sumber Konsentrasi	Pengulangan	Glukosa	Laktosa	Sukrosa	Kontrol
5%	I	0,10545	0,1025	0,991	0,1099
	II	0,1022	0,10397	0,1039	0,1069
Rata-rata		0,1038	0,1032	0,1015	0,1084
10%	I	0,1415	0,1101	0,1038	0,1099
	II	0,1007	0,1117	0,1007	0,1069
Rata-rata		0,1022	0,1109	0,1022	0,1084

Tabel 7. Perhitungan ALT Bakteri

No	Sampel	Tingkat pengenceran					
		10^{-7}		10^{-8}		10^{-9}	
1	Glukosa 5%	7	15	14	3	4	3
2	Glukosa 10%	210	205	18	34	7	31
3	Laktosa 5%	8	9	7	8	3	2
4	Laktosa 10%	22	5	21	15	8	3
5	Sukrosa 5%	9	4	14	10	18	0
6	Sukrosa 10%	17	15	19	5	14	10
7	Kontrol	7	2	5	1	7	31

Tabel 8. Perubahan pH

Sumber Konsentrasi	Pengulangan	Glukosa	Laktosa	Sukrosa	Kontrol
5%	I	5,2	5,6	5,2	5,5
	II	5,2	5,5	5,1	5,4
	III	5,1	5,4	5,1	5,4
Rata-rata		5,13	5,5	5,13	5,43
10%	I	5,0	5,5	5,0	5,5
	II	5,0	5,4	5,0	5,4
	III	4,9	5,4	5,0	5,4
Rata-rata		4,97	5,43	5,0	5,43



Gambar 7. Susu kedelai fermentasi

Keterangan :

A = Kontrol (susu asam tanpa penambahan sumber karbon)

B = Susu kedelai + sukrosa 5%

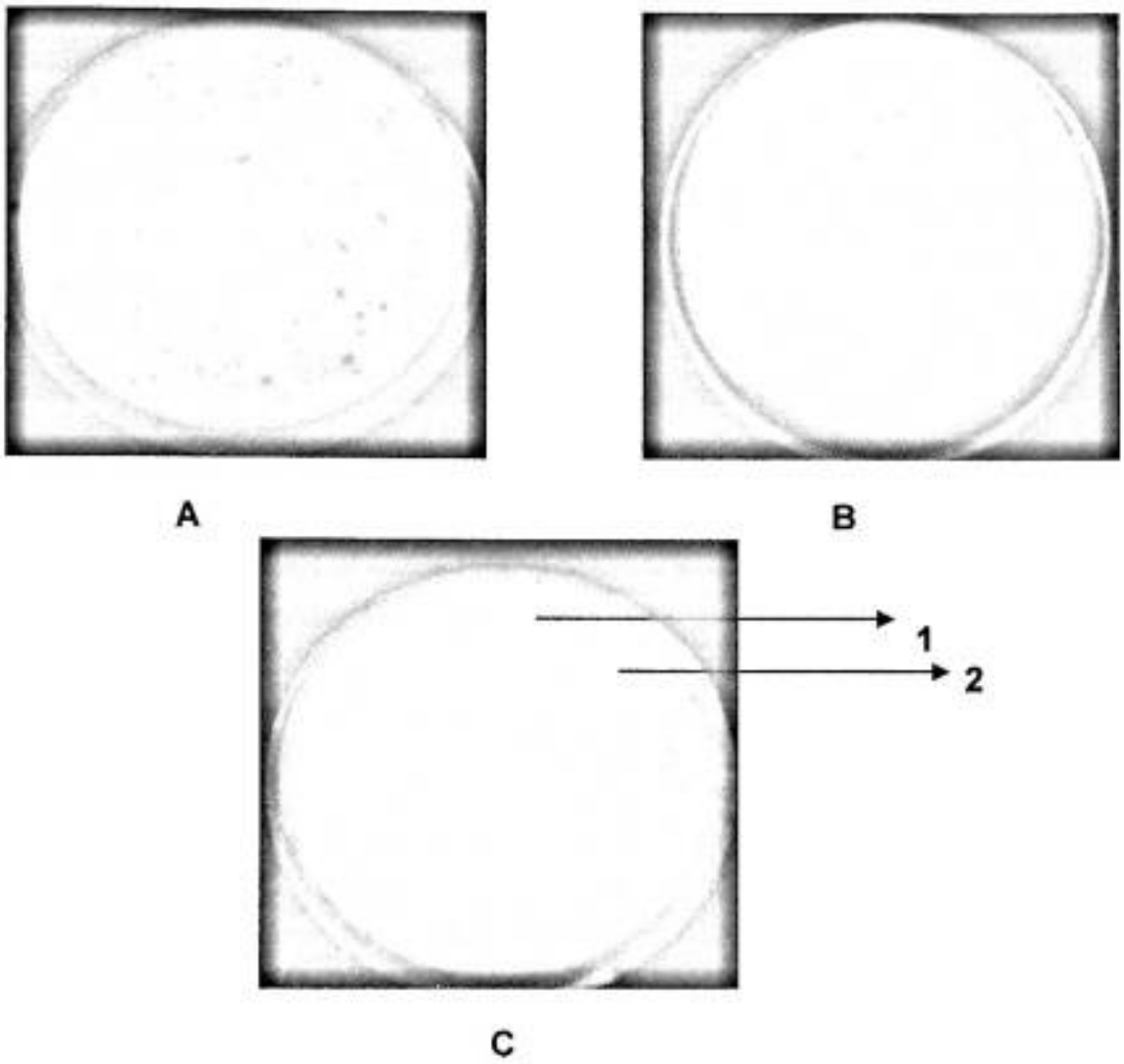
C = Susu kadelai + sukrosa 10%

D = Susu kedelai + laktosa 5%

E = Susu kedelai + laktosa 10%

F = Susu kedelai + glukosa 5 %

G = Susu kedelai + glukosa 10 %



Gambar 8. Koloni *L. acidophilus* dalam susu kedelai + glukosa 10%

Keterangan :

A = Pengenceran 10^{-7}

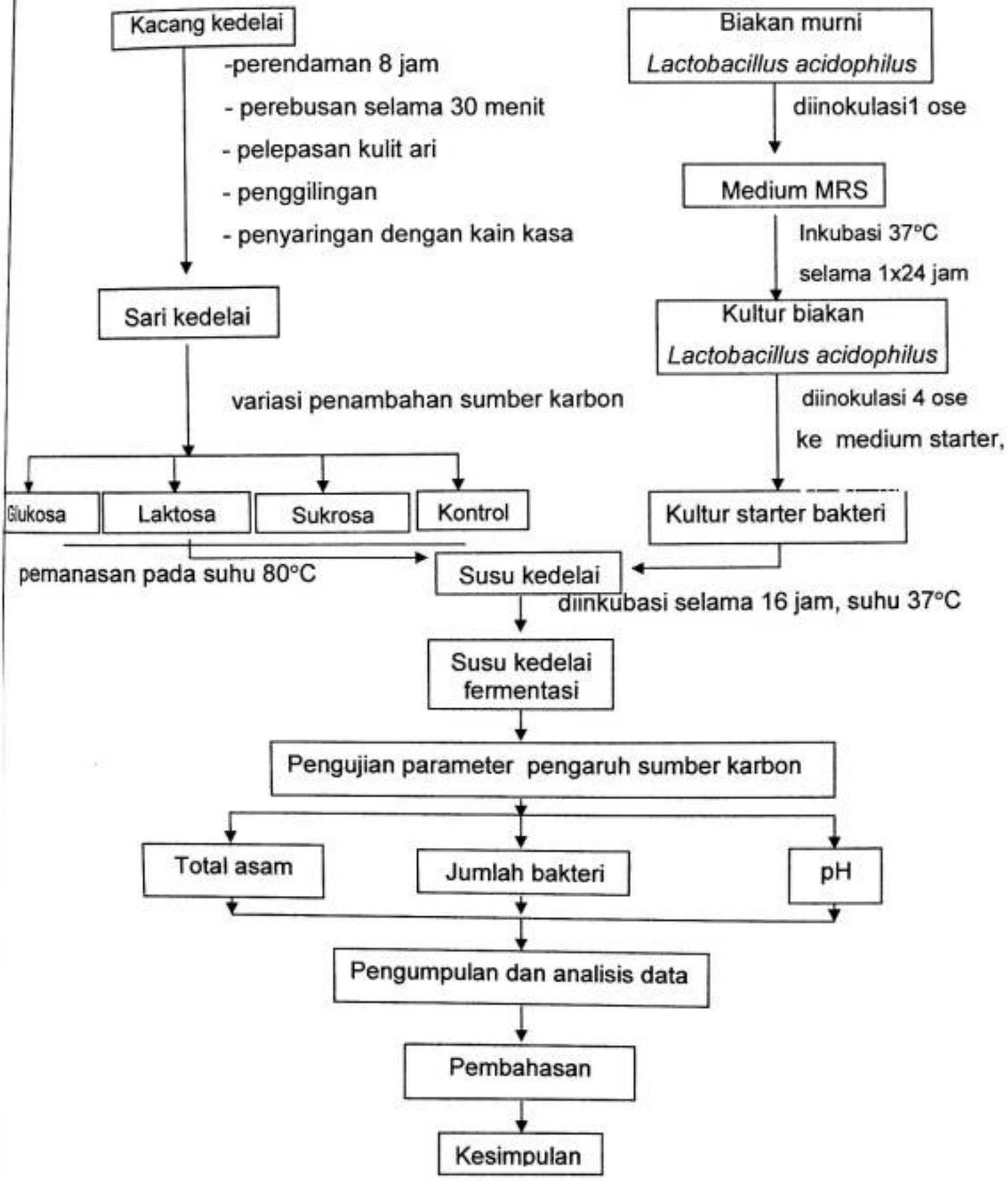
B = Pengenceran 10^{-8}

C = Pengenceran 10^{-9}

1 = Koloni bakteri

2 = Medium GYPA

Lampiran 1. Skema Kerja penambahan glukosa, laktosa, dan sukrosa sebagai sumber karbon pada fermentasi susu kedelai oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus.*



Lampiran Perhitungan Statistik Data Hasil Penelitian Pengaruh Penambahan Sumber Karbon Terhadap Fermentasi Susu Kedelai Oleh Bakteri *Lactobacillus acidophilus* Dengan Menggunakan Metode Rancangan Acak Kelompok (RAK).

Lampiran 2. Perhitungan Rancangan Acak Kelompok Total Asam Pada Susu Kedelai Fermentasi

Kelompok	Pengulangan	Perlakuan				Total Kelompok
		Glukosa	Laktosa	Sukrosa	Kontrol	
5 %	I	0,105	0,103	0,099	0,110	
	II	0,102	0,104	0,104	0,107	
Subtotal		0,207	0,207	0,203	0,217	0,834
Rata-rata		0,1035	0,1035	0,1015	0,1085	0,418
10 %	I	0,142	0,110	0,104	0,110	
	II	0,140	0,112	0,101	0,107	
Subtotal		0,282	0,222	0,205	0,217	0,926
Rata-rata		0,141	0,111	0,1025	0,1085	0,463
Total Perlakuan		0,489	0,429	0,408	0,434	1,760

A. Hipotesa yang akan diuji

Ho :Tidak ada pengaruh penambahan sumber karbon terhadap fermentasi susu kedelai atau diperoleh nilai tengah perlakuan yang sama

H1 :Ada pengaruh penambahan sumber karbon terhadap fermentasi susu kedelai atau diperoleh nilai tengah perlakuan berbeda

B. Perhitungan

1. Dengan notasi Y_{ijk} dari hasil yang diamati

s = jumlah kelompok perlakuan

r = jumlah pengamatan setiap perlakuan

t = jumlah perlakuan

- Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(1,760)^2}{2 \times 2 \times 4} = 0,1936$$

- Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = [(0,105)^2 + (0,102)^2 + \ldots + (0,110)^2 + (0,107)^2] - FK$$
$$= 0,195994 - 0,1936$$
$$= 0,002394$$

- Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{(0,489)^2 + (0,429)^2 + (0,408)^2 + (0,434)^2}{2 \times 2} - FK$$

$= 0,1944955 - 0,1936$

$= 0,00089555$

- Jumlah Kuadrat Kelompok (JKK)

$$JKK = \frac{(0,834)^2 + (0,926)^2}{2 \times 4} - FK$$

$= 0,194129 - 0,1936$

$= 0,000529$

- Jumlah Kuadrat Galat$_1$

$$JKG_1 = \frac{(0,207)^2 + \ldots + (0,217)^2 + (0,217)^2}{2} - FK - JKP - JKK$$

$= 0,195959 - 0,1936 - 0,0008955 - 0,000529$

$= 0,0009345$

- Jumlah Kuadrat Galat$_2$

$JKG_2 = JKT - JKP - JKK - JK\ Galat_1$

$= 0,002394 - 0,0008955 - 0,000529 - 0,0009345$

$= 0,000035$

2. Penentuan derajat bebas (db) untuk setiap sumber keragaman

db total = s.r.t – 1 = (2 x 2 x 4) – 1 = 15
db perlakuan = t – 1 = 4 – 1 = 3
db kelompok = r – 1 = 2 – 1 = 1
db galat$_1$ = (r – 1) (t – 1) = (2 – 1) (4 – 1) = 3
db galat$_2$ = r.t (s – 1) = 2 x 4 (2 – 1) = 8

3. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

- Kuadrat Tengah Kelompok (KTK)

$$KTK = \frac{JKK}{r-1} = \frac{0,000529}{2-1} = 0,000529$$

- Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$KTP = \frac{JKP}{t-1} = \frac{0,0008955}{4-1} = 0,0002985$$

- Kuadrat Tengah $Galat_1$

$$KTG_1 = \frac{JKG_1}{db\ galat_1} = \frac{0,0009345}{3} = 0,0003115$$

- Kuadrat Tengah $Galat_2$

$$KTG_2 = \frac{JKG_2}{db\ galat_2} = \frac{0,000035}{8} = 0,000004375$$

4. Penentuan F_{hitung}
Untuk perlakuan (P)

$$F_{hitung} = \frac{KTP}{KTG_1} = \frac{0,0002985}{0,0003115} = 0,958266$$

Untuk galat percobaan

$$F_{hitung} = \frac{KTG_1}{KTG_2} = \frac{0,0003115}{0,000004375} = 71.2$$

5. Tabel analisis ragam hasil total asam

Sumber keseragaman	db	JK	KT	F_{hitung}	F_{tabel}	
					5%	1%
Kelompok	1	0,000529	0,000529	-	-	-
Perlakuan	3	0,0008955	0,0002985	$0,958266^{tn}$	9,55	30,82
Galat 1	3	0,0009345	0,0003115	$71,2^{**}$	4,07	7,59
Galat 2	8	0,0000345	0,000004375	-	-	-
				-	-	-
Total	**15**	**0,002395**				

Keterangan : tn) tidak nyata
**) sangat nyata

Lampiran 3. Perhitungan Rancangan Acak Kelompok Angka Lempeng Total Bakteri (Koloni/Gram) Pada Susu Kedelai Fermentasi

Kelompok	Pengulangan	Perlakuan ($x10^7$)				Total Kelompok
		Glukosa	Laktosa	Sukrosa	Kontrol	
5%	I	7	8	9	7	
	II	15	9	4	2	
Subtotal		22	17	13	9	61
Rata-rata		11	8,5	6,5	4,5	30,5
10%	I	210	22	17	7	
	II	280	5	15	2	
Subtotal		490	27	32	9	558
Rata-rata		245	13,5	16	4,5	279
Total Perlakuan		512	44	45	18	619

A. Hipotesa yang akan diuji

Ho :Tidak ada pengaruh penambahan sumber karbon terhadap fermentasi susu kedelai atau diperoleh nilai tengah perlakuan yang sama

H1 :Ada pengaruh penambahan sumber karbon terhadap fermentasi susu kedelai atau diperoleh nilai tengah perlakuan berbeda

B. Perhitungan

a. Dengan notasi Y_{ijk} dari hasil yang diamati

s = jumlah kelompok perlakuan

r = jumlah pengamatan setiap perlakuan

t = jumlah perlakuan

- Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(619)^2}{2 \times 2 \times 4} = 23947{,}5625$$

- Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = [(7)^2 + (15)^2 + \ldots + (7)^2 + (2)^2] - FK$$
$$= 124145 - 23947{,}5625$$
$$= 100197{,}4375$$

- Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{(512)^2 + (44)^2 + (45)^2 + (18)^2}{2 \times 2} - FK$$
$$= 66607{,}25 - 23947{,}5625$$
$$= 42659{,}6875$$

- Jumlah Kuadrat Kelompok (JKK)

$$JKK = \frac{(61)^2 + (558)^2}{2 \times 4} - FK$$

$$= 39385{,}625 - 23947{,}5625$$

$$= 15438{,}0625$$

- Jumlah Kuadrat Galat$_1$

$$JKG_1 = \frac{(22)^2 + \ldots + (9)^2 + (9)^2}{2} - FK - JKP - JKK$$

$$= 121478{,}5 - 23947{,}5625 - 42659{,}6875 - 15438{,}0625$$

$$= 39433{,}1875$$

- Jumlah Kuadrat Galat$_2$

$JKG_2 = JKT - JKP - JKK - JK\ Galat_1$

$$= 100197{,}4375 - 42659{,}6875 - 15438{,}0625 - 39433{,}1875$$

$$= 2666{,}5$$

2. Penentuan derajat bebas (db) untuk setiap sumber keragaman

db total = s.r.t – 1 = (2 x 2 x 4) – 1 = 15
db perlakuan = t – 1 = 4 – 1 = 3
db kelompok = r – 1 = 2 – 1 = 1
db galat$_1$ = (r – 1) (t – 1) = (2 – 1) (4 – 1) = 3
db galat$_2$ = r.t (s – 1) = 2 x 4 (2 – 1) = 8

3. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

- Kuadrat Tengah Kelompok (KTK)

$$KTK = \frac{JKK}{r-1} = \frac{15438{,}0625}{2-1} = 15438{,}0625$$

- Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$KTP = \frac{JKP}{t-1} = \frac{42659{,}6875}{4-1} = 14219{,}89583$$

- Kuadrat Tengah Galat$_1$

$$KTG_1 = \frac{JKG_1}{db\ galat_1} = \frac{39433{,}1875}{3} = 13144{,}39583$$

- Kuadrat Tengah Galat$_2$

$$KTG_2 = \frac{JKG_2}{db\ galat_2} = \frac{2666,5}{8} = 333.3125$$

4. Penentuan F_{hitung}

Untuk perlakuan (P)

$$F_{hitung} = \frac{KTP}{KTG_1} = \frac{14219,89583}{3144.39583} = 4.522298272$$

Untuk galat percobaan

$$F_{hitung} = \frac{KTG_1}{KTG_2} = \frac{3144,39583}{333.3125} = 9,4338$$

5. Tabel analisis ragam hasil angka lempeng total (ALT)

Sumber keseragaman	db	JK	KT	F_{hitung}	F_{tabel}	
					5%	1%
Kelompok	1	15438,0625	15438,0625	-	-	-
Perlakuan	3	42659,6875	14219,89583	4,5223^{tn}	9,55	29,46
Galat 1	3	39433,1875	3144,39583	9,4338**	4,07	7,59
Galat 2	8	2666,5	333,3125	-	-	-
				-	-	-
Total	**15**	**100197,4375**				

Keterangan : tn) tidak nyata

**) sangat nyata

Lampiran 4. Perhitungan Rancangan Acak Kelompok pH Pada Susu Kedelai Fermentasi

Kelompok	Pengulangan	Perlakuan				Total Kelompok
		Glukosa	Laktosa	Sukrosa	Kontrol	
5%	I	5,2	5,6	5,2	5,5	
	II	5,1	5,5	5,1	5,4	
	III	5,1	5,4	5,1	5,4	
Subtotal		15,4	16,5	15,4	16,3	63,6
Rata-rata		5,1	5,5	5,1	5,4	21,2
10%	I	5,0	5,5	5,0	5,5	
	II	5,0	5,4	5,0	5,4	
	III	4,9	5,4	5,0	5,4	
Subtotal		14,9	16,3	15,0	16,3	62,5
Rata-rata		4,9	5,4	5,0	5,4	20,8
Total Perlakuan		30,3	32,8	30,4	32,6	126,1

A. Hipotesa yang akan diuji

Ho :Tidak ada pengaruh penambahan sumber karbon terhadap fermentasi susu kedelai atau diperoleh nilai tengah perlakuan yang sama

H1 :Ada pengaruh penambahan sumber karbon terhadap fermentasi susu kedelai atau diperoleh nilai tengah perlakuan berbeda

B. Perhitungan

a. Dengan notasi Y_{ijk} dari hasil yang diamati

s = jumlah kelompok perlakuan

r = jumlah pengamatan setiap perlakuan

t = jumlah perlakuan

- Faktor Koreksi (FK)

$$FK = \frac{(126,1)^2}{3 \times 2 \times 4} = 662,55$$

- Jumlah Kuadrat Total (JKT)

$$JKT = [(5,6)^2 + (5,5)^2 + \ldots + (5,4)^2 + (5,4)^2] - FK$$
$$= 663,61 - 662,55$$
$$= 1,06$$

- Jumlah Kuadrat Perlakuan (JKP)

$$JKP = \frac{(30,8)^2 + (32,8)^2 + (30,4)^2 + (32,6)^2}{3 \times 2} - FK$$
$$= 663,475 - 662,55$$
$$= 0,925$$

- Jumlah Kuadrat Kelompok (JKK)

$$JKK = \frac{(63,6)^2 + (62,5)^2}{3 \times 4} - FK$$
$$= 662.6008333 - 662.55$$
$$= 0,05083333$$

- Jumlah Kuadrat $Galat_1$

$$JKG_1 = \frac{(15,4)^2 + \ldots + (16,3)^2 + (16,3)^2}{2} - FK - JKP - JKK$$
$$= 663.55 - 662.55 - 0.925 - 0.05083333$$
$$= 0,02417$$

- Jumlah Kuadrat $Galat_2$

JKG_2= JKT – JKP – JKK – JK $Galat_1$
= 1,06 – 0,925 – 0,05083333 – 0,02417
= 0,05999667

2. Penentuan derajat bebas (db) untuk setiap sumber keragaman

db total = s.r.t – 1 = (3 x 2 x 4) – 1 = 23
db perlakuan = t – 1 = 4 – 1 = 3
db kelompok = r – 1 = 2 – 1 = 1
db $galat_1$ = (r – 1) (t – 1) = (2 – 1) (4 – 1) = 3
db $galat_2$ = r.t (s – 1) = 2 x 4 (3 – 1) = 16

3. Perhitungan Kuadrat Tengah (KT)

- Kuadrat Tengah Kelompok (KTK)

$$KTK = \frac{JKK}{r-1} = \frac{0,05083333}{2-1} = 0,05083333$$

- Kuadrat Tengah Perlakuan (KTP)

$$KTP = \frac{JKP}{t-1} = \frac{0,925}{4-1} = 0.30833$$

- Kuadrat Tengah $Galat_1$

$$KTG_1 = \frac{JKG_1}{\text{db galat}_1} = \frac{0,02417}{3} = 0,00805667$$

- Kuadrat Tengah $Galat_2$

$$KTG_2 = \frac{JKG_2}{\text{db galat}_2} = \frac{0,05999667}{16} = 0.003749791875$$

4. Penentuan F_{hitung}
Untuk perlakuan (P)

$$F_{hitung} = \frac{KTP}{KTG_1} = \frac{0,30833}{0.00805667} = 4.522298272$$

Untuk galat percobaan

$$F_{hitung} = \frac{KTG_1}{KTG_2} = \frac{0,00805667}{0,003749791875} = 2,148564579$$

5. Tabel analisis ragam hasil pH

Sumber keseragaman	db	JK	KT	F_{hitung}	F_{tabel}	
					5%	1%
Kelompok	1	0,05083333	0,05083333	-	-	-
Perlakuan	3	0,925	0,30833	38,2701538**	9,55	29,46
Galat 1	3	0,02417	0,00805667	2,148564579tn	3,24	5,29
Galat 2	16	0,05999667	0,003749791875	-	-	-
				-	-	-
Total	**23**	**1,06000003**				

Keterangan : tn) tidak nyata
**) sangat nyata

A. Analisis Antar Perlakuan Dilanjutkan Dengan Uji BNT

Nilai tengah umum (Y) = $\frac{126,1}{2x3x4} = 5,254167$

Koefisien Keseragaman (KK)

$$KK = \sqrt{\frac{KTG}{Y}} \; x \; 100\%$$

$$= \sqrt{\frac{0,00805667}{5,254167}} \; x \; 100\%$$

Uji BNT = 1,708%

$$\text{Uji BNT} = t\,\alpha\ 5\% \quad \sqrt{\frac{2KTG}{t}}$$

$$= 3,182 \quad \sqrt{\frac{2 \times 0,30833}{4}}$$

$$= 1,249$$

$$\text{Uji BNT} = t\,\alpha\ 1\% \sqrt{\frac{2KTG}{t}}$$

$$= 5{,}841 \sqrt{\frac{2 \times 0{,}30833}{4}}$$

$$= 2{,}293$$

Perbandingan antar range perlakuan dengan BNT

Perlakuan	Range	Hasil
A – B	2,4	Sangat signifikan
A – C	0,1	Non signifikan
A – D	2,2	Sangat signifikan
B – C	2,5	Sangat signifikan
B – D	0,2	Non signifikan
C – D	2,3	Sangat signifikan

Keterangan : A = Glukosa
B = Laktosa
C = Sukrosa
D = Kontrol

Lampiran 3. Contoh perhitungan kadar total asam

$$\text{Kadar asam (laktat)} = \frac{\text{ml NaOH x N NaOH x BM NaOH}}{\text{gram sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar asam (laktat)} = \frac{1{,}34 \times 0{,}08773 \times 90{,}08}{10042} \times 100\%$$

$$= 0{,}10545\%$$