

# KEMAMPUAN ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT INDIGENOUS UNTUK MENURUNKAN KADAR LAKTOSA YOGURT

*The Ability of Indigenous Lactic Acid Bacteria to Reduce Lactose in Yoghurt*

Kasmianti<sup>1</sup>, Tyas Utami<sup>2</sup>, Eni Harmayani<sup>2</sup>

*Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan  
Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada*

## ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the ability of indigenous lactic acid bacteria to reduce lactose in yoghurt. Isolates of lactic acid bacteria from different sources (3 dadih isolates, 2 fecal isolates, and 2 gatot isolates) were used in this study. Two isolates from yoghurt were also examined as references. The results showed that mixed culture *Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus bulgaricus* + *Streptococcus sp* Dad 11 (ST+LB+Dad 11) and *S. thermophilus* + *L. bulgaricus* + *Lactobacillus sp* Dad 13 (ST+LB+Dad 13) had higher ability to highest ability to reduce lactose in yoghurt compared to yoghurt starter (ST+LB).

**Keywords:** *indigenous of lactic acid bacteria – yogurt*

## PENGANTAR

Susu dan produk olahannya merupakan sumber utama kalsium serta protein dan mineral berkualitas tinggi. Susu menyediakan 75% kebutuhan kalsium bagi diet penduduk Amerika khususnya balita dan manula untuk pertumbuhan dan pemeliharaan tulang sepanjang hidup. Kebutuhan kalsium balita berdasarkan RDA (*Recommended Daily Allowence*) sebesar 200-500 mg/hari dan manula sebesar 1000-1500 mg/hari (Anonim, 1998).

Meskipun nutrisi susu tinggi, tidak semua orang dapat memanfaatkannya karena kadar laktosa susu yang juga tinggi. Individu penderita *lactose intolerance* tidak mampu mencerna laktosa susu karena secara genetik mengalami defisiensi enzim  $\beta$ -galaktosidase dalam sistem pencernaannya (Fabrizis dkk., 1997). Defisiensi enzim tersebut menyebabkan terjadinya malabsorpsi laktosa ditandai dengan munculnya gejala seperti mual, kram perut, flatulensi, dan diare sekitar 30 menit sampai 2 jam setelah mengkonsumsi produk berbasis susu.

1) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Coktoaminoto Makassar

2) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Hal tersebut menyebabkan penderita *lactose intolerance* menghindari mengkonsumsi susu (Valdez dkk., 1997). Dengan demikian individu tersebut kehilangan sumber kalsium yang berkualitas tinggi.

Hasil sensus warga Amerika pada tahun 1996 diperkirakan 11-19% diantaranya adalah penderita *lactose intolerance* (Anonim, 1997). Sementara itu penderita *lactose intolerance* di Australia sekitar 85% dan China 93% (Huskey, 1998). Sekitar 90% penduduk Asia-Afrika dan Eropa 15-20% juga diperkirakan menderita *lactose intolerance* (Anonim, 2002).

Pada umumnya orang dewasa normal mampu mengkonsumsi 400 ml susu per hari atau setara dengan 25 g laktosa, sedangkan kemampuan anak-anak lebih tinggi yaitu 50 g laktosa per hari. Kadar laktosa yang aman bagi penderita *lactose intolerance* adalah 8 sampai 12 g per hari atau setara dengan 200 ml susu yang mengandung laktosa 6%, atau 3 cup susu rendah laktosa yang mengandung 2,2 sampai 3,5% laktosa (Fabrizis dkk., 1997; Anonim, 2002). Dengan kata lain kemampuan penderita *lactose intolerance* untuk mengkonsumsi susu hanya setengah dari kemampuan orang normal. Dengan demikian perlu dilakukan upaya-upaya untuk menurunkan kadar laktosa susu dan meningkatkan pencernaan laktosa bagi penderita *lactose intolerance*.

Salah satu metode untuk menurunkan kadar laktosa susu adalah suplementasi enzim laktase secara langsung sebelum susu dikonsumsi. Metode ini terbukti efektif mereduksi gejala yang berhubungan dengan malabsorpsi laktosa (Paige dkk., 1975), akan tetapi secara ekonomis dianggap tidak menguntungkan karena harga susu menjadi lebih mahal (Mustapha dkk., 1996).

Penggunaan kultur bakteri asam laktat dalam pembuatan susu terfermentasi seperti yogurt merupakan metode alternatif untuk menurunkan kadar laktosa susu, selain itu juga dapat meningkatkan pencernaan laktosa bagi penderita *lactose intolerance* (Noh and Gilliland, 1993). Kadar laktosa berkurang selama proses fermentasi menjadi sekitar 4% atau turun 33,33% (Fabrizis dkk., 1997).

Secara alami bakteri asam laktat ditemukan pada beberapa bahan makanan seperti daging, buah-buahan, sayur-sayuran, dan makanan hasil fermentasi seperti tape, dadih, dan asinan. Bakteri asam laktat dari dadih (*Lactobacillus sp* Dad 4, *Streptococcus sp* Dad 11, *Lactobacillus sp* Dad 13) dan feces bayi (*L. acidophilus* D2, *L. acidophilus* N2) tumbuh dengan baik pada media MRS (Ngatirah, 2000). Kelima isolat tersebut juga mampu menurunkan kadar laktosa media MRS + laktosa 5% (MRSL 5%) sebagai pengganti glukosa dan skim 10% (Kasmianti, 2002).

Salah satu potensi bakteri asam laktat *indigenus* yang belum terungkap adalah kemampuannya untuk menurunkan kadar laktosa yogurt. Dengan demikian penelitian ini akan mempelajari kemampuan campuran antara isolat *indigenus* (dari dadih dan feces bayi) dengan starter yogurt komersial untuk menghasilkan yogurt rendah laktosa.

Secara umum penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat campuran antara bakteri asam laktat *indigenus* dan starter yogurt komersial untuk menurunkan kadar laktosa yogurt. Adapun tujuan penelitian secara khusus adalah untuk mengetahui (1) pola pertumbuhan isolat campuran dalam pembuatan yogurt; (2) kemampuan isolat campuran untuk menurunkan pH dan meningkatkan keasaman serta menurunkan kadar laktosa, dan (3) kemampuan *curd* yogurt yang dihasilkan oleh isolat campuran.

## CARA PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari isolat bakteri asam laktat, media pengujian, dan reagen kimia.

**Isolat Bakteri Asam Laktat.** Isolat Bakteri Asam Laktat yang digunakan sebagai starter pembuatan yogurt dalam penelitian ini adalah isolat lokal (*indigenus*) yang berasal dari dadih (*Lactobacillus sp* Dad 4, *Streptococcus sp* Dad 11, dan *Lactobacillus sp* Dad 13 dan feces bayi (*Lactobacillus acidophilus* D2, *Lactobacillus acidophilus* N2). Sebagai isolat pembanding digunakan starter yogurt komersial yaitu *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 dan *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041. Semua isolat bakteri asam laktat diperoleh dari FNCC (*Food and Nutrition Culture Collection*) Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Kultur stok disimpan dalam *ependof* yang berisi gliserol 20% (v/v) dan skim 10% (b/v) dengan perbandingan 1 : 1 (v/v) dan dibekukan dalam freezer suhu -40°C. Setiap akan digunakan sebagai kultur kerja dilakukan subkultur satu sampai dua kali.

**Media Pengujian.** Media yang digunakan terdiri dari media untuk peremajaan kultur, enumerasi bakteri asam laktat, uji kemampuan menurunkan kadar laktosa.

Media yang digunakan untuk peremajaan kultur adalah MRS (*de Man Rogosa and Sharp*) cair. pH media sebelum disterilisasi diatur  $\pm 6,8$  dengan penambahan NaOH 1 N. Media untuk enumerasi bakteri asam laktat yaitu PGY (*Pepton Glucose Yeast Extract*) agar yang disuplementasi dengan 1% CaCO<sub>3</sub>.

Media yang digunakan untuk menguji kemampuan bakteri asam laktat untuk menurunkan kadar laktosa yogurt adalah skim 10%. Skim merk Laktona diperoleh dari pasar swalayan Mirota Kampus di Yogyakarta. Berdasarkan komposisinya Skim 10% mengandung karbohidrat (laktosa) kurang lebih 5,31.

Media MRS dan PGY disterilisasi dalam *autoclave* (Hiramaya) pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan skim 10% disterilisasi pada suhu 115°C selama 10 menit.

**Reagen Kimia.** Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan kimia untuk penentuan total asam (sebagai asam laktat) dan laktosa. Bahan kimia untuk penentuan total asam : NaOH 0,1 N dan indikator phenolptalin (pp). H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 N sebagai fase mobil digunakan untuk penentuan kadar laktosa dengan HPLC.

**Jalannya Penelitian.** Dimulai dengan penyiapan kultur stok. Kultur stok dibuat dengan cara menginokulasikan masing-masing isolat bakteri asam laktat dari ampul ke dalam 5 ml MRS cair kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Sel dipanen dengan cara disentrifugasi (sentrifuse Labofuge 200/Heraeus) pada 3500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan sel dengan media. Supernatan dibuang, pellet sel dicuci dengan 0,1% *pepton water* steril kemudian disentrifugasi lagi. Pellet sel diberi pelindung gliserol 20% (v/v) dan skim 10% (b/v) dengan perbandingan 1 : 1 (v/v) kemudian dimasukkan ke dalam *ependof* dan disimpan sebagai kultur stok dalam *freezer* suhu mencapai -40°C.

Preparasi starter dilakukan setiap akan digunakan sebagai kultur kerja yaitu dengan cara menginokulasikan 2 – 3 ose kultur stok (telah *dithawing*) ke dalam 5 ml MRS cair kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah disentrifugasi, pellet sel dipindahkan ke dalam 5 ml skim 10% steril. Dihomogenkan dengan vorteks kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 42°C. Perbanyakkan dilakukan dengan memindahkan starter ke dalam 45 ml skim 10% steril kemudian diinkubasi lagi pada kondisi yang sama. Diperoleh kultur kerja yang siap digunakan dalam pembuatan yogurt.

Starter pembanding yang digunakan adalah starter yogurt komersial yaitu campuran antara *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* (ST+LB) dengan perbandingan 1 : 1 (v/v). Kombinasi masing-masing isolat sebagai starter untuk pembuatan yogurt dan perbandingannya dapat dilihat pada Tabel 1.

Percobaan dilakukan dengan cara : masing-masing kultur yang telah berumur 24 jam dalam media skim 10% diinokulasikan dengan perbandingan tertentu (Tabel 1) ke dalam erlenmeyer 100 ml (total volume suspensi 80 ml) yang berisi skim 10% kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 6 jam pada suhu 42°C. Pengamatan dilakukan pada jam ke-0 (sebelum diinkubasi), ke-3 dan jam ke-6 meliputi : pola pertumbuhan kultur campuran, penurunan pH media dan peningkatan total asam, dan penurunan kadar laktosa serta penampakan *curd* yogurt yang dihasilkan. Diagram alir jalannya penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.

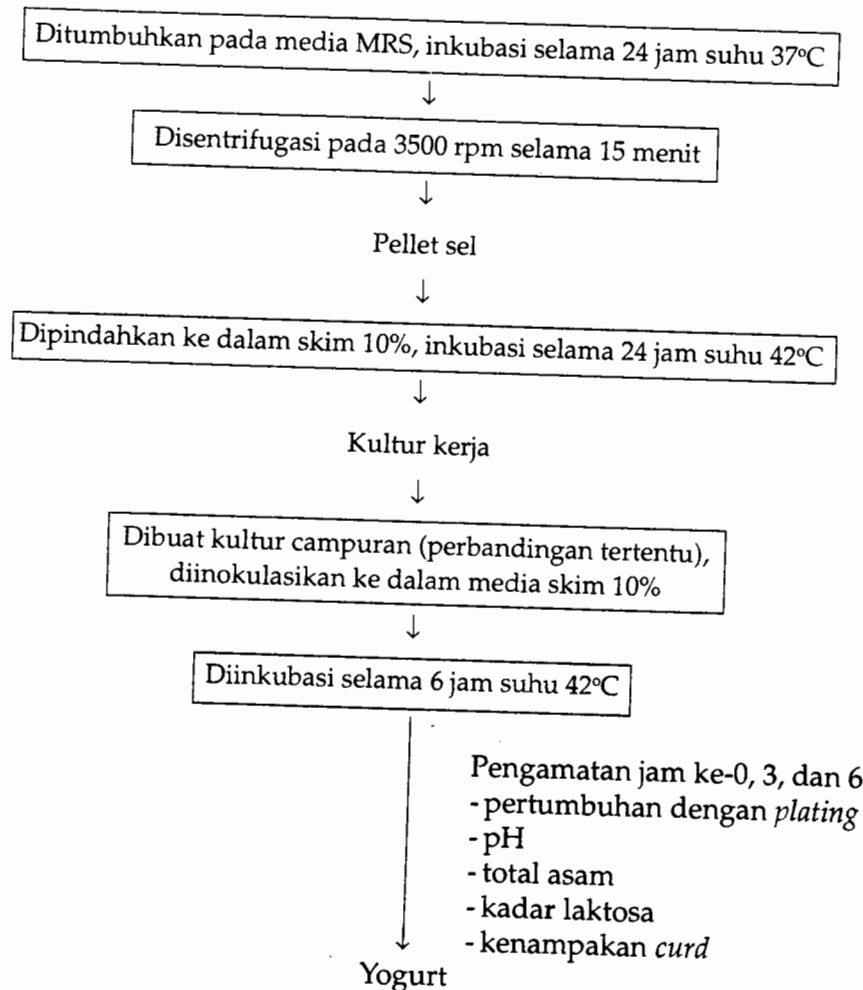
Tabel 1. Kombinasi isolat dan perbandingannya sebagai starter untuk pembuatan yogurt.

Kombinasi isolat	Persentase (v/v)
ST + LB	5 + 5
ST + D2	5 + 5
ST + N2	5 + 5
ST + Dad 4	5 + 5
ST + Dad 13	5 + 5
Dad 11 + Dad 13	5 + 5
LB + Dad 11	5 + 5
ST + LB + D2	5 + 2,5 + 2,5
ST + LB + N2	5 + 2,5 + 2,5
ST + LB + Dad 4	5 + 2,5 + 2,5
ST + LB + Dad 13	5 + 2,5 + 2,5
ST + LB + Dad 11	2,5 + 5 + 2,5

Masing-masing titik pengamatan dilakukan secara terpisah. Ukuran sampel untuk pengamatan pertumbuhan sel sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam seri pengenceran 0,1% *pepton water*. Sebanyak 25 ml sampel untuk pengamatan pH, 10 g untuk penentuan total asam, dan 5 ml sampel untuk penentuan kadar laktosa. Masing-masing pengamatan dilakukan dua kali ulangan.

## Isolat bakteri asam laktat

(*Lactobacillus sp* Dad 4, *Streptococcus sp* Dad 11, *Lactobacillus sp* Dad 13, *Lactobacillus acidophilus* D2, *Lactobacillus acidophilus* N2, *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040, *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0040)



Gambar 1. Diagram alir jalannya penelitian

**Uji Pola Pertumbuhan Kultur Campuran Dalam Pembuatan Yogurt.** Pengamatan pola pertumbuhan kultur campuran dilakukan dengan metode *plating*. Sebanyak 5 ml sampel dicuplik pada setiap titik pengamatan, kemudian dimasukkan ke dalam seri pengenceran 0,1 % *pepton water* steril. Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan metode *pour plate* pada media PGY agar yang disuplementasi dengan 1%  $\text{CaCO}_3$ ,

diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Jumlah koloni (CFU/ml) dihitung dengan menggunakan *Quibec Colony Counter (Darkfield, American Optical)*.

**Uji Kemampuan Kultur campuran Untuk Menurunkan pH dan Peningkatan Total Asam.** pH yogurt ditera dengan dengan pH meter (ToA/Jenway). Total asam ditentukan dengan cara : 10 g sampel ditambahkan dengan 90 ml aquades suhu 60°C kemudian dihomogenkan, diambil sebanyak 25 ml dan ditambahkan dengan 2 tetes indikator phenolptalin. Dititrasi dengan NaOH 0,01 N sampai terbentuk warna merah muda. Satu mililiter NaOH 0,01 N setara dengan 0,009 % asam laktat.

**Uji Kemampuan Kultur Campuran Untuk Menurunkan Kadar Laktosa.** Kadar laktosa yogurt ditera dengan HPLC merk Beckman. Preparasi sampel : sebanyak 5 ml sampel diencerkan menjadi 10 kali dengan penambahan aquades, kemudian disentrifugasi pada 3500 rpm selama 15 menit untuk memisahkan sel dengan supernatan. Supernatan bebas sel yang mengandung gula reduksi/laktosa disimpan dalam freezer -40°C sebelum dianalisis (1 - 2 minggu).

Sebanyak 1 ml supernatan bebas sel diencerkan menjadi 10 kali kemudian disaring dengan penyaring bakteri nylon 0,45 mm. Sebanyak 20 ml sampel diinjeksikan ke dalam loop dengan fase mobil  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,01 N. Kadar laktosa sampel ditentukan dengan membandingkan luas area kromatogram sampel dengan luas area kromatogram standar pada konsentrasi tertentu.

Spesifikasi alat *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)* adalah : merk Beckman dengan kolom Rezex RCM-Monosaccharide, Deterctor Refraktif Indeks. Kondisi operasi : suhu kolom 50°C, fraksi mobil  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,01 N dengan *flow rate* 0,5 ml/menit. Volume sampel yang diinjeksikan 20  $\mu\text{l}$ . Sebagai standar digunakan laktosa monohidrat konsentrasi 5; 2,5; dan 1,25%.

**Analisis Data.** Data hasil pengamatan secara kimiawi dianalisis statistik *Analysis of Variance (ANOVA)* dengan menggunakan program SPSS 10.0. Dilakukan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test (DMRT)* pada tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Lima isolat bakteri asam laktat yang digunakan dalam penelitian ini aman dikonsumsi karena berasal dari makanan tradisional yang telah

dikonsumsi secara turun temurun. Sejauh ini tidak pernah dijumpai kasus keracunan atau infeksi karena mengkonsumsi dadih dan gatot. Demikian pula dengan isolat dari feces bayi dikatakan aman karena berasal dari bayi yang sehat.

### Pola Pertumbuhan Kultur Campuran Bakteri Asam Laktat

Pengamatan pola pertumbuhan ini bertujuan untuk mengetahui peningkatan jumlah sel kultur campuran dalam aplikasinya sebagai starter untuk pembuatan yogurt. Jumlah sel kultur campuran bakteri asam laktat pada media yogurt dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah sel kultur campuran bakteri asam laktat pada media yogurt, inkubasi selama 6 jam suhu 42°C.

Isolat	Jumlah sel (CFU/ml)		
	0 jam	3 jam	6 jam
ST+LB	$9,74 \times 10^7$	$1,34 \times 10^9$	$7,40 \times 10^9$
ST+D2	$2,20 \times 10^8$	$1,05 \times 10^9$	$5,10 \times 10^9$
ST+N2	$2,41 \times 10^8$	$1,63 \times 10^9$	$6,00 \times 10^9$
ST+Dad 4	$3,11 \times 10^8$	$2,44 \times 10^9$	$4,34 \times 10^9$
ST+Dad 13	$3,06 \times 10^8$	$3,00 \times 10^9$	$6,00 \times 10^9$
LB+Dad 11	$3,44 \times 10^8$	$4,11 \times 10^9$	$7,12 \times 10^9$
Dad 11+Dad 13	$1,70 \times 10^8$	$2,03 \times 10^9$	$8,00 \times 10^9$
ST+LB+D2	$1,20 \times 10^8$	$1,28 \times 10^9$	$5,34 \times 10^9$
ST+LB+N2	$7,13 \times 10^7$	$8,74 \times 10^8$	$8,60 \times 10^9$
ST+LB+Dad 4	$1,16 \times 10^8$	$1,17 \times 10^9$	$5,44 \times 10^9$
ST+LB+Dad 11	$2,10 \times 10^8$	$2,06 \times 10^9$	$8,26 \times 10^9$
ST+LB+Dad 13	$3,34 \times 10^8$	$4,79 \times 10^9$	$9,40 \times 10^9$

Hasil pengamatan pertumbuhan kultur campuran menunjukkan bahwa kombinasi antara isolat *indigenus* dengan pembanding mempunyai pola pertumbuhan yang cenderung sama dengan starter yogurt. Jumlah sel awal sebelum diinkubasi berkisar antara  $7,13 \times 10^7$  sampai  $3,44 \times 10^8$  CFU/ml untuk isolat campuran sedangkan starter yogurt sebesar  $9,74 \times 10^7$  CFU/ml. Setelah diinkubasi selama 6 pada suhu 42°C jumlah sel meningkat 1 sampai 2 *log cycle* menjadi sekitar  $4,34 - 9,40 \times 10^9$  CFU/ml.

Peningkatan jumlah sel kultur campuran sedikit lebih tinggi dari pada kultur tunggal pada media yang sama (Kasmiasi, 2002). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi antara *Lactobacillus* dan *Streptococcus* memberikan pertumbuhan yang lebih baik. Hasil pengamatan ini didukung oleh teori yang dikemukakan oleh Tamime dan Robinson

(1983) bahwa laju pertumbuhan kombinasi *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* yang ditumbuhkan secara bersama-sama lebih tinggi dari pada pertumbuhannya sebagai kultur tunggal. Hal ini diduga karena selama periode inkubasi starter yogurt membebaskan nutrisi yang berfungsi sebagai stimulator untuk pertumbuhan kedua bakteri. *Lactobacillus bulgaricus* menyediakan nutrisi esensial seperti asam amino untuk pertumbuhan *S. thermophilus*, kemudian *S. thermophilus* menghasilkan senyawa (asam format) yang mendukung pertumbuhan *L. bulgaricus* (Pette dan Lolkema cit. Tamime dan Robinson, 1983).

Hasi penelitian yang serupa juga dilaporkan oleh Hekmat dan Mc Mahon (1992) bahwa jumlah sel kultur campuran *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dalam pembuatan *ice cream* mencapai  $5 \times 10^8$  CFU/ml atau meningkat 2 *log cycle* setelah diinkubasi selama 5 jam pada suhu 42°C. Pertumbuhan *L. acidophilus* dan *B. bifidum* dalam media *ice cream* ini sebanding dengan pertumbuhan kombinasi isolat indigenous dengan isolat pembanding dalam pembuatan yogurt yaitu meningkat 2 *log cycle* dari jumlah sel awal setelah diinkubasi selama 6 jam pada suhu 42°C.

### Penurunan pH dan Produksi Asam Oleh Kultur Campuran Bakteri Asam Laktat

Pengamatan ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat campuran untuk menghasilkan asam yang dapat diketahui dengan mengamati penurunan pH (Tabel 3) dan peningkatan total asam yogurt (Tabel 4).

Tabel 3. Penurunan pH\* yogurt oleh isolat campuran bakteri asam laktat, inkubasi selama 6 jam suhu 42°C.

Isolat	pH		
	0 jam	3 jam	6 jam
ST+LB	6,21 <sup>p</sup>	5,37 <sup>l</sup>	4,60 <sup>e</sup>
ST+D2	6,25 <sup>q</sup>	5,40 <sup>l</sup>	4,81 <sup>g</sup>
ST+N2	6,30 <sup>r</sup>	5,45 <sup>m</sup>	4,74 <sup>f</sup>
ST+Dad 4	6,32 <sup>r</sup>	5,38 <sup>l</sup>	4,73 <sup>f</sup>
ST+Dad 13	6,14 <sup>n</sup>	5,10 <sup>ji</sup>	4,51 <sup>d</sup>
LB+Dad 11	6,17 <sup>nop</sup>	5,12 <sup>ijk</sup>	4,31 <sup>c</sup>
Dad 11+Dad 13	6,17 <sup>nop</sup>	5,08 <sup>i</sup>	4,22 <sup>b</sup>
ST+LB+D2	6,17 <sup>nop</sup>	5,12 <sup>ijk</sup>	4,28 <sup>c</sup>
ST+LB+N2	6,19 <sup>op</sup>	5,12 <sup>ijk</sup>	4,18 <sup>ab</sup>
ST+LB+Dad 4	6,20 <sup>op</sup>	5,16 <sup>k</sup>	4,20 <sup>ab</sup>
ST+LB+Dad 11	6,16 <sup>no</sup>	5,04 <sup>h</sup>	4,16 <sup>a</sup>
ST+LB+Dad 13	6,16 <sup>no</sup>	5,02 <sup>h</sup>	4,18 <sup>ab</sup>

\* Angka yang diikuti oleh huruf *superscript* yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ )

Secara umum semua kombinasi isolat mampu menurunkan pH yogurt seperti kemampuan starter yogurt kecuali kombinasi ST+D2, ST+N2 dan ST+Dad 4 mempunyai kemampuan yang lebih rendah. Kombinasi antara 3 isolat menunjukkan kemampuan yang relatif lebih tinggi dari pada kemampuan starter yogurt. pH awal media sebelum diinkubasi berkisar antara 6,14 sampai 6,32, turun menjadi 4,16 sampai 4,81 setelah diinkubasi selama 6 jam pada suhu 42°C. Semua kombinasi isolat mempunyai kemampuan untuk menurunkan pH media seperti kemampuan *starter* yogurt. Penurunan pH yogurt oleh isolat campuran dalam penelitian ini hampir sama dengan pH yogurt yang dihasilkan dengan *starter* yogurt komersial (*S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*) setelah diinkubasi selama 6 jam pada suhu 42°C yaitu berkisar antara 3,8–4,6 (Marshall, 1987).

Peningkatan total asam media oleh kultur campuran sejalan dengan kemampuannya untuk menurunkan pH. Total asam media sebelum diinkubasi berkisar antara 0,34 sampai 0,36% dan setelah diinkubasi selama 6 jam meningkat menjadi 1,08 sampai 1,32%.

Tabel 3. Peningkatan total asam\* yogurt oleh kultur campuran bakteri asam laktat, inkubasi selama 6 jam suhu 42°C.

Isolat	Total asam (%)		
	0 jam	3 jam	6 jam
ST+LB	0,35 <sup>a</sup>	0,65 <sup>bc</sup>	1,20 <sup>i</sup>
ST+D2	0,34 <sup>a</sup>	0,61 <sup>b</sup>	1,08 <sup>i</sup>
ST+N2	0,34 <sup>a</sup>	0,63 <sup>b</sup>	1,12 <sup>i</sup>
ST+Dad 4	0,34 <sup>a</sup>	0,63 <sup>b</sup>	1,12 <sup>i</sup>
ST+Dad 13	0,36 <sup>a</sup>	0,68 <sup>de</sup>	1,18 <sup>j</sup>
LB+Dad 11	0,36 <sup>a</sup>	0,68 <sup>de</sup>	1,20 <sup>j</sup>
Dad 11+Dad 13	0,35 <sup>a</sup>	0,72 <sup>e</sup>	1,18 <sup>j</sup>
ST+LB+D2	0,36 <sup>a</sup>	0,79 <sup>f</sup>	1,28 <sup>k</sup>
ST+LB+N2	0,36 <sup>a</sup>	0,86 <sup>gh</sup>	1,32 <sup>l</sup>
ST+LB+Dad 4	0,36 <sup>a</sup>	0,82 <sup>g</sup>	1,32 <sup>l</sup>
ST+LB+Dad 11	0,36 <sup>a</sup>	0,92 <sup>h</sup>	1,32 <sup>l</sup>
ST+LB+Dad 13	0,36 <sup>a</sup>	0,94 <sup>h</sup>	1,32 <sup>l</sup>

\*) Angka yang diikuti oleh huruf *superscript* yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ )

Kombinasi 3 jenis kultur mempunyai keasaman yang lebih tinggi dari pada campuran dua isolat yaitu mencapai kisaran 1,28 sampai 1,32%. Total asam yogurt yang dihasilkan oleh kombinasi isolat *indigenus* dengan starter yogurt lebih tinggi dari pada *starter* yogurt

komersial yang dikemukakan oleh Tamime dan Robinson (1983) yaitu berkisar antara 0,9 – 0,95%. Hal ini dimungkinkan karena perbedaan strain bakteri yang digunakan.

### Penurunan Kadar Laktosa Yogurt Oleh Kultur Campuran Bakteri Asam Laktat

Pengamatan ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan kultur campuran untuk menghasilkan yogurt rendah laktosa yang dapat diketahui dengan mengamati penurunan kadar laktosa (Tabel 4) yogurt.

Tabel 4. Persentase penurunan kadar laktosa\* yogurt oleh kultur campuran bakteri asam laktat, inkubasi selama 6 jam suhu 42°C.

Isolat	Penurunan kadar laktosa (%)	
	3 jam	6 jam
ST+LB	26,51 <sup>d</sup>	40,81 <sup>i</sup>
ST+D2	17,82 <sup>a</sup>	35,45 <sup>h</sup>
ST+N2	19,41 <sup>b</sup>	32,57 <sup>fg</sup>
ST+Dad 4	27,47 <sup>d</sup>	35,78 <sup>h</sup>
ST+Dad 13	18,27 <sup>ab</sup>	28,13 <sup>de</sup>
LB+Dad 11	27,31 <sup>d</sup>	41,10 <sup>ij</sup>
Dad 11+Dad 13	22,59 <sup>c</sup>	40,90 <sup>i</sup>
ST+LB+D2	31,86 <sup>f</sup>	41,35 <sup>ij</sup>
ST+LB+N2	31,12 <sup>ef</sup>	41,98 <sup>ij</sup>
ST+LB+Dad 4	28,60 <sup>de</sup>	42,16 <sup>j</sup>
ST+LB+Dad 11	32,49 <sup>fg</sup>	52,74 <sup>l</sup>
ST+LB+Dad 13	33,40 <sup>g</sup>	48,84 <sup>k</sup>

\*) Angka yang diikuti oleh huruf *superscript* yang sama pada baris dan kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ( $P > 0,05$ )

Semua kombinasi isolat mempunyai kemampuan menurunkan kadar laktosa yogurt yang lebih tinggi dari pada *starter* yogurt kecuali kombinasi ST+Dad 13, ST+D2, ST+N2 dan ST+Dad 4 mempunyai kemampuan yang lebih rendah. Kombinasi isolat tersebut berpotensi digunakan sebagai *starter* dalam pembuatan yogurt rendah laktosa yaitu mampu menurunkan kadar laktosa lebih dari 30% atau hampir sama dengan yogurt yang dihasilkan oleh kombinasi *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* yaitu kadar laktosa turun 29,5 sampai 33,33% (Fabrizis dkk., 1997). Kemampuan yang paling tinggi ditunjukkan oleh kombinasi ST+LB+Dad 11 dan ST+LB+Dad 13 yaitu mampu menurunkan kadar laktosa sekitar 52,47 dan 48,84%.

**Simulasi:** Penurunan kadar laktosa yogurt dengan *starter* ST+LB+Dad 11 atau ST+LB+Dad 13 rata-rata sebesar 50%. Skim 10% mengandung laktosa sekitar 5%, setelah dibuat yogurt kadar laktosanya menjadi 2,5% atau 2,5 g/100 ml. Susu rendah laktosa mengandung laktosa 2,2 sampai 3,5%. Dengan demikian kedua kombinasi tersebut berpotensi sebagai *starter* untuk menghasilkan yogurt rendah laktosa. Penderita *lactose intolerance* mampu mengonsumsi 8–12 g laktosa/hari atau setara 500 ml yogurt/hari (mengandung 2,5% laktosa). Kemampuan tersebut setara dengan umumnya orang dewasa mengonsumsi laktosa susu yaitu 25 g/hari. Dengan demikian penderita *lactose intolerance* tidak kehilangan sumber kalsium yang sangat penting untuk pemeliharaan tulang.

### Sifat Fisik Yogurt yang Dihasilkan Oleh Kultur Campuran Bakteri Asam Laktat

Pengamatan ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan kultur campuran untuk menghasilkan yogurt dengan penampakan *curd* yang menyerupai kekuatan *curd* yogurt komersial. Hasil pengamatan penampakan *curd* yogurt oleh isolat campuran bakteri asam laktat dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kenampakan *Curd* yogurt oleh isolat campuran, inkubasi selama 6 jam suhu 42°C.

Isolat	Kenampakan		
	0 jam	3 jam	6 jam
ST+LB	encer	<i>Curd</i> lemah	<i>Curd</i> kuat
ST+D2	encer	<i>Curd</i> lebih lemah	<i>Curd</i> kuat
ST+N2	encer	<i>Curd</i> lemah	<i>Curd</i> kuat
ST+Dad 4	encer	<i>Curd</i> lebih lemah	<i>Curd</i> kuat
ST+Dad 13	encer	<i>Curd</i> lemah	<i>Curd</i> kuat
LB+Dad 11	encer	<i>Curd</i> lemah	<i>Curd</i> kuat
Dad 11+Dad 13	encer	<i>Curd</i> lemah	<i>Curd</i> kuat
ST+LB+D2	encer	<i>Curd</i> kuat	<i>Curd</i> lebih kuat
ST+LB+N2	encer	<i>Curd</i> kuat	<i>Curd</i> lebih kuat
ST+LB+Dad 4	encer	<i>Curd</i> kuat	<i>Curd</i> lebih kuat
ST+LB+Dad 11	encer	<i>Curd</i> kuat	<i>Curd</i> lebih kuat
ST+LB+Dad 13	encer	<i>Curd</i> kuat	<i>Curd</i> lebih kuat

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semua isolat campuran mampu menghasilkan *curd* yang kuat setelah diinkubasi selama 6 jam.

Kombinasi 3 isolat menunjukkan kekuatan *curd* yang lebih kokoh dari pada *starter* yogurt. Kemampuan isolat untuk membentuk *curd* yang baik sejalan dengan kemampuannya menurunkan kadar laktosa yogurt. Hal ini memperkuat alasan bahwa isolat *indigenous* berpotensi sebagai *starter* campuran untuk pembuatan yogurt rendah laktosa yang bermanfaat bagi penderita *lactose intolerance* dengan sifat fisik seperti yogurt komersial.

Mekanisme terbentuknya gel yogurt berawal dari penurunan pH susu sebagai hasil dari produksi asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi yogurt membantu destabilisasi misel kasein dengan cara destabilisasi koloid kompleks kalsium fosfat di dalam misel menjadi fraksi terlarut kalsium fosfat. Fraksi ini akan mendifusi ke dalam fase cair susu. Dengan demikian secara perlahan-lahan misel menjadi kekurangan kalsium sehingga terjadi koagulasi kalsium pada pH 4,6 sampai 4,7 dan membentuk gel yogurt

Berdasarkan hasil pengamatan kemampuan kultur campuran untuk menurunkan kadar laktosa yogurt, dapat disimpulkan bahwa masing-masing kombinasi isolat mampu menurunkan kadar laktosa dengan tingkat kemampuan yang berbeda-beda. Kombinasi ST+LB+Dad 11 dan ST+LB+Dad 13 mempunyai kemampuan yang paling tinggi dengan penampakan *curd* menyerupai yogurt dari *starter* komersial. Hal ini sejalan dengan pertumbuhan, kemampuan untuk menurunkan pH dan peningkatan total asam, dan penurunan kadar gula reduksi.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan beberapa hal sebagai berikut.

1. Semua kultur campuran mampu tumbuh pada media skim 10% (yogurt) dengan pola pertumbuhan yang cenderung sama dengan *starter* yogurt.
2. Kombinasi antara *starter* yogurt (*Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*) dengan *Streptococcus sp* Dad 11 (ST+LB+Dad 11), dan *starter* yogurt dengan *Lactobacillus sp* Dad 13 (ST+LB+Dad 13) mempunyai potensi yang paling tinggi untuk menghasilkan yogurt rendah laktosa. Hal ini didasarkan pada kemampuannya menurunkan pH, meningkatkan keasaman, dan menurunkan kadar

laktosa yogurt, serta penampakan *curd* yogurt yang dihasilkan.

3. Penurunan kadar laktosa yogurt oleh ST+LB+Dad 11 dan S+LB+Dad 13 masing-masing sebesar 52,74 dan 48,84%, lebih besar dari pada kemampuan starter yogurt komersial ST+LB yaitu sebesar 40,81%.

#### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi isolat sebagai agensia probiotik dengan menguji ketahanan isolat pada pH rendah dan bile, serta pengaruh pH dan bile terhadap aktivitas enzim b-galaktosidase yang dihasilkan. Hal penting dalam kaitannya dengan kemampuan isolat untuk meningkatkan pencernaan laktosa di dalam usus halus.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1997. *Lactose Intolerance. Digestive, Health and Nutrition*. The American Gastroenterological Association.
- Anonim. 1998. *Lactose Intolerance. Nutritional Digestive Diseases Information Clearinghouse*. The American Gastroenterological Association.
- Anonim, 2002. Lactose Intolerance. [www.biohit.com/view/categ.asp/doc.id](http://www.biohit.com/view/categ.asp/doc.id).
- Fabrizis, L., M. D. Suarez and D. A. Savaiano. 1997. Diet, Genetic and Lactose Intolerance. *J. Food Tech.* 51 : 3.
- Hekmat, S. and D. J. Mc Mohan. 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in Ice Cream for Use a Probiotic Food. *J. Dairy Sci.* 176 : 1415-1422.
- Huskey, R. J. 1998. *Frequency and Distribution of Lactose Intolerance*. [www.biohit.com/view/category.asp/doc.id](http://www.biohit.com/view/category.asp/doc.id).
- Kasmiati. 2002. Kemampuan Bakteri Asam Laktat Indigenous Untuk Menurunkan Kadar Laktosa Yogurt. *Ilmu dan Teknologi Pangan*, Program Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Marshall, V. M. 1987. Fermented Milk and Their Future Trends. *J. Dairy Res.* 54 : 559-574.
- Mustapha, A., T. Jiang and D. A. Savaiano. 1996. Improvement of Lactose Digestion in Humans by Ingestion of Nonfermented Milk Containing *Bifidobacterium longum*. *J. Dairy Sci.* 79 : 750-757.
- Ngatirah. 2000. Seleksi Bakteri Asam Laktat Sebagai Agensia Probiotik yang Berpotensi Menurunkan Kolesterol. *Thesis S-2*. Ilmu dan Teknologi Pangan. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Noh, O. D. and S. E. Gilliland. 1993. Influence of Bile on Celluler Integrity and b-galactosidase Activity of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* 76 : 1253-1259.

Paige, I. D. M., T. M. Bayless and W. S. Delinger. Jr. 1975. Relationship of Milk Consumption Blood Glucose Rise in Lactose Intolerant Individuals. *J. Clin. Nutr.* 28 : 677-680.

Tamime, A. Y. and R. K. Robinson. 1983. *Yoghurt Science and Technology*. Pergoman Press, Oxford.

Valdez, G. F., G. Mortos, M. P. Taranto, G. L. Lorca, G. Oliver and A. P. de Ruiz Holgado. 1997. Influence of Bile on b-galactosidase Activity and Cell Viability of *Lactobacillus reuteri* when Subjected to Freeze-Drying. *J. Dairy Sci.* 80 : 1955-1958.