

KAJIAN TOTAL BAKTERI PROBIOTIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN YOGHURT TEMPE DENGAN VARIASI SUBSTRAT

STUDY OF TOTAL PROBIOTICS BACTERIA AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN YOGHURT TEMPEH USING SUBSTRATE VARIATION

Esti Widowati, S.Si, MP¹⁾ Ir. MAM. Andriani, MS¹⁾ Amalia Putri Kusumaningrum²⁾

¹⁾ Staf Pengajar Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian UNS Surakarta

²⁾ Alumni Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian UNS Surakarta

ABSTRACT

*The objective of this study were to determine the substrate in producing the best character of yoghurt from the highest of total probiotics bacteria, concentration of lactic acid and pH based on SNI 01-2981-1992, and the highest antioxidant activity. Yoghurt tempeh was processed by varying the treatment of substrates of soybeans tempeh, corn tempeh, and soybean-corn tempeh (90% soybean and 10% corn) with 15% skim milk yoghurt as a control. The yoghurt was made of soybeans tempeh, corn tempeh, soybean-corn tempeh, skim milk, a commercial yoghurt as a starter contained probiotic bacteria *L. acidophilus* LA5, BB12 *Bifidobacteria*, and *S. thermophilus*. Tempeh was processed into tempeh milk. Mixture of tempeh milk and 15 % skim milk was then pasteurized at 80°C along 30 minutes and cooled to 40°C. Aseptic inoculation process of 5% starter was done and continued with homogenization. The inoculated yoghurt was incubated along 12 hours at 40°C. The parameters measured in this experiment were total count of probiotic bacteria with Total Plate Count (TPC) method, concentration of lactic acid analysis using titration method and pH measurement using pH meter and antioxidant activity with DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Samples were taken at one hour interval to analyze the total count of probiotic bacteria while the antioxidant activity was collected at three hours interval. The analysis showed that variation substrate of tempeh could improve total probiotic bacteria and antioxidant activity. The highest total probiotic bacteria was corn yoghurt tempeh. The highest antioxidant activity was soybean yoghurt and concentration of lactic acid and pH based on accomplishing SNI 01-2981-1992 standardization.*

Key words: *antioxidant activity, probiotic, tempeh, yoghurt*

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui substrat yang akan menghasilkan yoghurt dengan karakter paling baik yaitu total bakteri probiotik tertinggi, kadar asam laktat dan pH sesuai SNI 01-2981-1992 dan aktivitas antioksidan tertinggi. Variasi perlakuan yang digunakan adalah substrat tempe kedelai, tempe jagung, tempe kombinasi (kedelai 90% dan jagung 10%), dengan yoghurt susu skim 15% sebagai kontrol. Bahan yang digunakan untuk membuat yoghurt tempe adalah tempe kedelai, tempe jagung, tempe kombinasi, susu skim, starter yoghurt komersial yang berisi bakteri probiotik *L. acidophilus* LA5, *Bifidobacteria* BB12, dan *S. thermophilus*. Susu tempe yang telah ditambah susu skim (15% b/v) dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 30 menit kemudian didinginkan sampai suhu 40°C. Susu tempe kemudian diinokulasi secara aseptis dengan 5% starter dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 12 jam. Parameter yang diuji dalam penelitian ini adalah total bakteri probiotik dengan metode *Total Plate Count* (TPC), kadar asam laktat dengan metode titrimetri, pH dengan menggunakan pHmeter yang dilakukan setiap satu jam selama 12 jam dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) setiap tiga jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan substrat tempe dari berbagai variasi substrat dapat meningkatkan total bakteri probiotik dan aktivitas antioksidan. Total bakteri probiotik tertinggi pada yoghurt tempe jagung, aktivitas antioksidan tertinggi pada yoghurt tempe kedelai dan kadar asam laktat dan pH seluruh variasi substrat sesuai dengan SNI 01-2981-1992.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, probiotik, tempe, yoghurt

PENDAHULUAN

Tempe digolongkan sebagai pangan fungsional karena tempe memiliki efek antioksidan, antibakteri, antikanker, antihemolitik (Pawiroharsono, 1997), antialergi (Kasmidjo, 1990) dan antiinfeksi (Karyadi dan Hermana, 1995). Serat dalam

tempe dapat menurunkan kolesterol darah (Brata dan Arbai, 1999). Espinosa and Ruperez (2006), melaporkan bahwa kedelai sebagai bahan baku dari tempe mengandung GOS sebesar 47-53%.

Kandungan GOS pada tempe memiliki nilai fungsional sebagai prebiotik. Prebiotik

menurut Gibson and Rubeiro (2008) memberikan nutrisi untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik. Prebiotik merupakan substrat yang baik digunakan untuk yoghurt karena dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik. Bakteri probiotik memiliki banyak manfaat terutama dalam menekan pertumbuhan bakteri patogen dalam saluran pencernaan.

Tempe selama ini dimanfaatkan secara terbatas dalam bentuk olahan untuk lauk dan kue. Adanya kandungan prebiotik pada tempe dapat dimanfaatkan sebagai substrat yoghurt. Yoghurt termasuk pangan fungsional yang banyak mengandung probiotik. Pengolahan tempe menjadi yoghurt selain sebagai diversifikasi produk olahan tempe juga untuk mengatasi produksi susu di Indonesia yang masih sangat rendah. Data dari Departemen Pertanian menyebutkan bahwa total produksi susu dalam negeri mencapai 350 ribu ton per tahun. Jumlah ini masih di bawah jumlah impor susu dalam negeri yaitu sebanyak 1,5 juta ton per tahun (Ekawati, 2008).

Harga kedelai yang tinggi membuat pengrajin tempe terkadang mencampur kedelai dengan jagung yang bertujuan untuk menambah volume pada tempe. Hal ini dianggap merugikan, akan tetapi jagung juga mengandung prebiotik berupa FOS dan antioksidan dalam bentuk karotenoid, lutein dan zeaxanthin. Jagung juga dapat diolah menjadi tempe jagung. Pengolahan jagung menjadi tempe jagung diharapkan dapat mempunyai nilai gizi yang lebih baik dibandingkan dengan jagung. Selain itu pengolahan jagung menjadi tempe jagung juga sebagai langkah diversifikasi tempe dari bahan nonleguminosa yang juga sekaligus bertujuan untuk mengatasi kenaikan harga kedelai. Adanya variasi substrat akan dihasilkan karakter yoghurt yang berbeda. Maka penelitian perlu dilakukan untuk mengetahui substrat manakah antara tempe kedelai, tempe jagung atau tempe kombinasi (kedelai 90% dan jagung 10%) yang akan menghasilkan yoghurt dengan karakter paling baik.

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana potensi tempe dari berbagai variasi bahan sebagai sumber

prebiotik untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik dalam pembuatan yoghurt. Tujuan khusus penelitian ini adalah untuk mengetahui substrat yang menghasilkan total bakteri probiotik tertinggi, untuk mengetahui substrat yang menghasilkan kadar asam laktat dan pH yang sesuai dengan SNI (01-2981-1992) dan untuk mengetahui substrat yang mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama dalam penelitian ini adalah tempe yang dibuat dari kedelai, jagung dan kombinasi kedelai dan jagung. Kedelai diperoleh dari tempat pembuatan industri tempe. Jagung berupa jagung pipilan yang telah digiling kasar. Starter yoghurt digunakan yoghurt komersial merk Yummy, yang berisi bakteri probiotik *L. acidophilus* LA5, *Bifidobacteria* BB12, dan *S. thermophilus*. Bahan pembantu yang digunakan adalah ragi tempe merk "Raprima" yang diproduksi oleh PT. Aneka Fermentasi Industri (Bandung), daun pisang, dan air bersih. Sedangkan bahan – bahan kimia yang digunakan untuk analisis sampel antara lain

- Analisis total bakteri probiotik : Media de Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar untuk pertumbuhan BAL dan aquades.
- Analisis kadar asam laktat dan pH : NaOH 0,01N, indikator fenolphthalein (pp) 1% (trayek pH 8-10).
- Analisis aktivitas antioksidan : methanol, larutan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

Alat

Peralatan untuk analisis sampel antara lain :

- Analisis total bakteri probiotik: *Laminar Flow* (LAF), inkubator, cawan petri, pipet ukur 1 ml, tabung reaksi, erlenmeyer 250 ml, bunsen spiritus, dan rak tabung reaksi
- Analisis kadar asam laktat dan pH : pH meter, buret, pipet tetes, erlenmeyer 100 ml.
- Analisis aktivitas antioksidan : spektrofotometer UV-Vis 1420 *thermo spectronic*, timbangan analitik (Denfer Instrumen buatan USA), erlenmeyer 125 ml, pipet volume 5 ml dan pro pipet, mikropipet, vortex mixer, dan tabung reaksi.

Metode

1. Pembuatan Tempe kedelai dan tempe kombinasi

Metode pembuatan tempe kedelai berdasarkan metode pembuatan Kasmidjo (1990) dengan modifikasi penelitian, yaitu dengan dua kali perendaman dan dua kali perebusan. Kedelai direndam dalam air selama dua jam dan direbus selama 30 menit. Kedelai direndam kembali selama 24 jam dan dilakukan pengupasan kulit. Kedelai direbus kembali selama 30 menit kemudian ditiriskan dan dikeringanginkan sebelum diinokulasi.

Untuk pembuatan tempe kombinasi, sebelum dilakukan inokulasi, kedelai dicampur dahulu dengan jagung dengan persentase jagung 10%. Jagung sebelumnya juga mengalami perlakuan pendahuluan yaitu direndam selama 5 jam dan dikukus sampai lunak. Campuran kedelai dan jagung diinokulasi dengan bubuk ragi sebanyak 2% (bb). Kedelai dan jagung yang telah siap dibungkus dengan daun pisang dan difermentasi selama 48 jam.

2. Pembuatan tempe jagung

Pembuatan tempe jagung hampir sama seperti pembuatan tempe kedelai yaitu jagung direndam selama 5 jam, dikukus hingga lunak, ditiriskan, dikeringanginkan, diinokulasi dengan ragi tempe kemudian dibungkus dengan daun pisang untuk difermentasi selama 36 jam.

3. Pembuatan starter

Starter yoghurt yang digunakan berupa yoghurt komersial dengan merk Yummy. Starter pada yoghurt Yummy diinokulasikan secara aseptis sebanyak 25 ml ke dalam 50 ml susu tempe yang kemudian difermentasi selama 8 jam pada suhu 40°C. Starter induk diinokulasikan sebanyak 5% dalam susu tempe yang akan dibuat yogurt.

4. Pembuatan yogurt tempe (modifikasi Bani, 2007)

Tempe yang telah terbentuk kompak sebanyak 250 gram dipotong-potong dadu berukuran 1 cm² kemudian direbus terlebih dahulu selama 5 menit. Tujuan perebusan untuk mematikan *Rhizopus* sp. pada tempe. Tempe dihaluskan dengan blender dan ditambah air hangat sehingga menjadi bubur tempe. Penambahan air dilakukan dengan perbandingan 1:3 antara

berat tempe dan air. Bubur tempe disaring menggunakan kain saring (hero). Hasil penyaringan bubur tempe merupakan susu tempe.

Susu tempe ditambah susu skim sebanyak 15% kemudian dipasteurisasi selama 15-30 menit pada suhu 70-80°C. Susu tempe didiamkan sampai bersuhu 40°C yang merupakan suhu optimal pertumbuhan bakteri probiotik. Susu kemudian diinokulasi secara aseptis dengan starter sebanyak 5%. Analisis yang dilakukan terhadap yoghurt selama proses fermentasi yaitu analisis total bakteri probiotik, kadar asam laktat dan pH setiap jam pengamatan (jam ke 0- 12) dan aktivitas antioksidan pada jam pengamatan 0,3,6,9 dan 12.

5. Analisis Sampel

a. Analisis total bakteri probiotik, pH dan kadar asam laktat

Analisis total bakteri probiotik dan kadar asam laktat dilakukan setiap interval satu jam sekali selama 12 jam proses fermentasi yoghurt. Penentuan total bakteri probiotik yoghurt secara kuantitatif dilakukan dengan perhitungan bakteri secara tidak langsung menggunakan metode hitungan cawan atau *Total Plate Count* (TPC) (Yutono, 1983). Seri pengenceran bertingkat dari 10⁻¹ sampai 10⁻⁶. Sampel diinokulasi sebanyak 1 ml secara *pour plate* ke dalam media MRS sebagai media selektif bakteri probiotik kemudian diinkubasi pada suhu 40°C selama 24-48 jam.

Analisis pH dengan menggunakan alat pH meter sedangkan analisis kadar asam laktat dilakukan dengan metode Titrimetri NaOH 0,01N menurut Soewedo (1994), pengamatan dilakukan setiap jam dari jam ke 0-12. Hasil pengamatan dibuat kurva yang menunjukkan hubungan antara log total bakteri probiotik, kadar asam laktat dan pH dengan waktu fermentasi. Log total bakteri probiotik, kadar asam laktat dan pH diplotkan sebagai ordinat (sumbu y) dan waktu fermentasi sebagai absis (sumbu x).

b. Analisis Aktivitas Antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan ini dilakukan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Subagio and Morita, 2001). Prinsip analisis ini adalah senyawa antioksidan dalam sampel bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning, yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang

gelombang 517 nm (Blois, 1958 dalam Hanani dkk, 2005). Semakin pudar warna yang dihasilkan (kuning), maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi, dan sebaliknya. Analisis aktivitas antioksidan dilakukan pada sampel saat berupa tempe dan yoghurt tempe yang difermentasi pada jam ke-0,3,6,9, dan 12. Aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \left(1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan. Masing-masing perlakuan dilakukan 2 kali ulangan analisis. Adapun perlakuan tersebut adalah yoghurt dari substrat tempe kedelai, tempe jagung dan tempe kombinasi. Pada tempe kombinasi perbandingan kedelai dan jagung sebanyak 10%. Sebagai kontrol dalam penelitian adalah yoghurt dari susu skim dengan 15% susu skim.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Perbedaan Substrat Terhadap Total Bakteri Probiotik Yoghurt

Variasi substrat untuk pembuatan yoghurt terdiri dari, yoghurt tempe kedelai, yoghurt tempe jagung, dan yoghurt tempe kombinasi, sedangkan sebagai kontrol berupa yoghurt susu skim 15%. Tempe kombinasi merupakan tempe dari campuran kedelai 90% dan jagung 10%. Penggunaan yoghurt susu skim 15% sebagai kontrol dikarenakan untuk mengetahui substrat yang paling baik digunakan jika ditambahkan dengan susu skim 15%. Substrat yang paling baik dilihat dari karakter yoghurt yang dihasilkan yaitu dengan total bakteri probiotik tertinggi, kadar asam laktat dan pH sesuai SNI 01-2981-1992 dan memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Fermentasi yoghurt dilakukan selama 12 jam pada suhu 40°C. Pengujian total bakteri probiotik dilakukan tiap satu jam sekali mulai dari jam ke-0 hingga jam ke-12. Hasil pengujian total bakteri probiotik dan pH yoghurt dari berbagai substrat disajikan pada **Tabel 1**.

Pada penelitian variasi substrat yang digunakan berupa susu tempe kedelai, susu tempe jagung, dan susu tempe kombinasi. Pada yoghurt tempe jagung, sumber karbon didapat dari susu skim dan gula pada tempe jagung. Proses fermentasi tempe akan mengubah pati pada jagung menjadi glukosa. Pada jagung semula hanya memiliki kandungan glukosa, fruktosa, dan sukrosa berkisar antara 1-3% dan sebagian besar komponen jagung tersusun dari pati sebanyak 72,4%, akan tetapi selama proses fermentasi menjadi tempe oleh ragi tempe yaitu *Rhizopus* akan mengubah pati menjadi monosakarida dan disakarida. *Rhizopus* menghidrolisis pati menjadi gula dengan menggunakan enzim amilase.

Dalam keadaan aerob, *Rhizopus* banyak menghasilkan enzim amilase (Crueger and Crueger, 1984). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim antara lain substrat, nilai pH, dan suhu. Adanya substrat berupa pati dalam medium produksi dapat memicu kerja enzim amilase (Pujoyuwono dkk, 1997). Hasil hidrolisis amilase mula-mula adalah dekstrin yang kemudian dipotong-potong lagi menjadi campuran antara glukosa, maltosa, maltotriosa, dan ikatan lain yang lebih panjang. Enzim amilase akan menghidrolisis pati menjadi suatu produk yang larut dalam air serta mempunyai berat molekul rendah yaitu glukosa. Oleh karena itu tempe jagung yang dibuat menjadi susu tempe jagung akan banyak mengandung glukosa.

Berbeda dengan tempe jagung, pada tempe kedelai kandungan gula lebih banyak dalam bentuk oligosakarida. Menurut Shallberger *et al* (1967) dalam Kasmidjo (1990), kandungan karbohidrat awal kedelai berupa sukrosa (4,53%), stakhiosa (2,73%) dan glukosa, galaktosa, fruktosa. Oleh karena itu dalam susu tempe kedelai lebih banyak mengandung oligosakarida dan glukosa dalam jumlah sedikit. Sedangkan untuk susu tempe kombinasi karena dibuat dari kombinasi kedelai 90% dan jagung 10% maka sebagian besar kandungannya berupa oligosakarida. Akan tetapi adanya jagung akan memicu enzim amilase pada *Rhizopus* untuk bekerja mengubah pati pada jagung menjadi glukosa. Oleh karena itu kandungan

Tabel 1. Total Bakteri Probiotik Yoghurt dengan Berbagai Variasi Substrat Selama Proses Fermentasi

Pengamatan jam ke-	kontrol		Tempe kedelai		Tempe jagung		Tempe kombinasi	
	\sum sel (cfu/ml)	pH	\sum sel (cfu/ml)	pH	\sum sel (cfu/ml)	pH	\sum sel (cfu/ml)	pH
0	$1,4 \times 10^6$	6,8	$2,2 \times 10^6$	6,4	$1,5 \times 10^7$	5,2	$1,0 \times 10^7$	5,8
1	$2,1 \times 10^6$	6,8	$2,7 \times 10^6$	6,2	$1,8 \times 10^7$	4,8	$1,2 \times 10^7$	5,7
2	$1,2 \times 10^7$	6,7	$2,9 \times 10^6$	6,1	$2,2 \times 10^7$	4,7	$1,4 \times 10^7$	5,4
3	$2,0 \times 10^7$	6,5	$2,9 \times 10^6$	5,8	$2,6 \times 10^7$	4,5	$2,1 \times 10^7$	5,1
4	$2,4 \times 10^7$	6,1	$1,2 \times 10^7$	5,5	$3,2 \times 10^7$	4,4	$2,3 \times 10^7$	4,7
5	$2,9 \times 10^7$	5,9	$2,7 \times 10^7$	5,2	$5,5 \times 10^7$	4,3	$3,1 \times 10^7$	4,5
6	$5,2 \times 10^7$	5,6	$8,1 \times 10^7$	5,0	$2,2 \times 10^8$	4,2	$5,1 \times 10^7$	4,4
7	$9,3 \times 10^7$	5,4	$1,5 \times 10^8$	4,8	$3,0 \times 10^8$	4,1	$2,5 \times 10^8$	4,3
8	$7,6 \times 10^7$	5,1	$1,2 \times 10^8$	4,6	$2,8 \times 10^8$	4,0	$1,8 \times 10^8$	4,1
9	$2,5 \times 10^7$	4,9	$4,3 \times 10^7$	4,4	$2,7 \times 10^8$	3,9	$1,7 \times 10^8$	3,9
10	$1,9 \times 10^7$	4,6	$3,0 \times 10^7$	4,0	$1,9 \times 10^8$	3,8	$8,7 \times 10^7$	3,8
11	$1,2 \times 10^7$	4,4	$1,9 \times 10^7$	3,9	$9,4 \times 10^7$	3,7	$1,9 \times 10^7$	3,7
12	$3,0 \times 10^6$	4,2	$7,8 \times 10^6$	3,8	$6,7 \times 10^7$	3,6	$1,4 \times 10^7$	3,8

glukosa dalam susu tempe kombinasi lebih banyak daripada kandungan glukosa susu tempe kedelai.

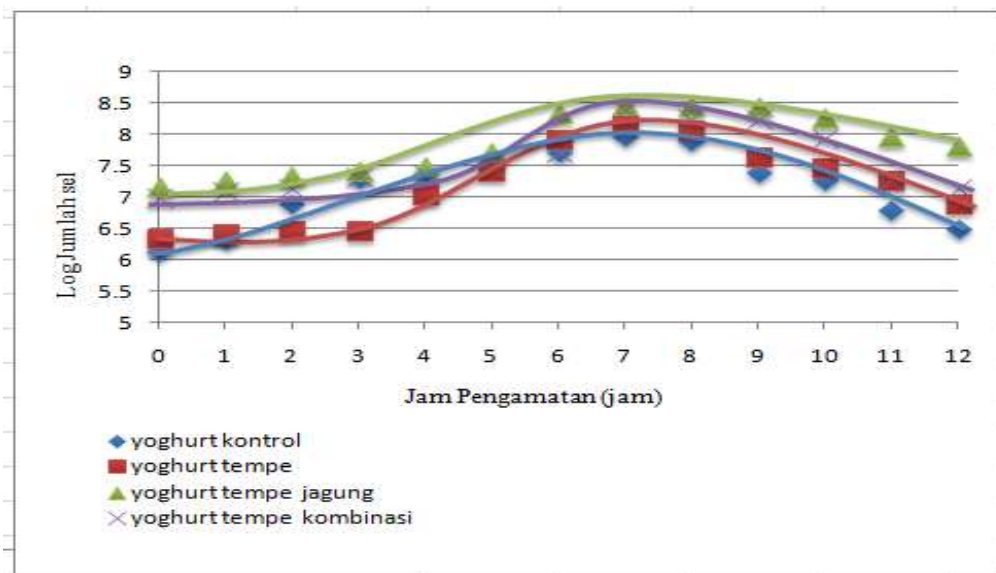
Berdasarkan **Tabel 1** perbedaan total bakteri probiotik sudah terlihat dari pengamatan jam ke-0. Hal ini dikarenakan perbedaan substrat starter induk yang digunakan. Starter induk berupa yoghurt Yummy yang diinokulasikan ke dalam masing-masing substrat yaitu susu tempe kedelai, susu tempe jagung dan susu tempe kombinasi. Ketiganya difermentasi selama 8 jam pada suhu 40°C . Starter induk sebagai starter siap pakai ini dibuat untuk mengadaptasikan terlebih dahulu bakteri probiotik dalam yoghurt Yummy supaya dapat bertahan hidup dalam substrat baru.

Selama proses pengadaptasian, bakteri probiotik tumbuh sehingga total bakteri probiotik bertambah. Pertambahan bakteri probiotik pada masing starter induk berbeda karena substrat yang digunakan berbeda. Substrat yang berbeda mengandung nutrisi yang berbeda dan nutrisi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan sel. Pada pengamatan jam ke-0 total bakteri probiotik tertinggi pada yoghurt tempe jagung yaitu sebesar $1,5 \times 10^7$ cfu/ml, yoghurt tempe kombinasi sebesar $1,0 \times 10^7$ cfu/ml, dan terendah pada yoghurt tempe kedelai sebesar $2,2 \times 10^6$ cfu/ml. Tingginya total bakteri probiotik pada yoghurt tempe jagung karena susu jagung paling banyak mengandung

glukosa sehingga selama proses pengadaptasian lebih banyak glukosa yang difermentasi untuk pertumbuhan.

Proses fermentasi yoghurt dilakukan selama 12 jam, selama proses fermentasi terjadi peningkatan total bakteri probiotik pada semua sampel, peningkatan total bakteri probiotik dimulai dari jam ke-0 hingga jam ke-7. Total bakteri probiotik tertinggi terjadi pada fermentasi jam ke-7 dan kembali menurun mulai fermentasi jam ke-8. Pola pertumbuhan bakteri probiotik tiap jamnya mengikuti pola pertumbuhan bakteri yang terdiri dari tiap-tiap fase pertumbuhan. Pola pertumbuhan bakteri probiotik melewati fase-fase pertumbuhan yaitu fase lag, fase log, fase stasioner dan fase kematian. Hubungan antara waktu fermentasi dan total bakteri probiotik dapat dilihat pada **Gambar 1**, yang juga menggambarkan pola pertumbuhan total bakteri probiotik tiap jam selama proses fermentasi.

Pada awal pertumbuhan bakteri probiotik akan mengalami fase lag. Selama fase lag pertumbuhan bakteri probiotik masih sangat rendah karena bakteri probiotik masih menyesuaikan dengan substrat tempat tumbuhnya. Menurut Pangestuti (1996), dalam proses penyesuaian diri tersebut bakteri probiotik yang mampu bertahan hidup akan memperbanyak diri. Fase lag pada masing-masing sampel berlangsung pada waktu yang berbeda. Kecepatan fase lag



Gambar 1. Hubungan Waktu Fermentasi dengan Log Total Bakteri Probiotik pada Berbagai Sampel Yoghurt

dipengaruhi oleh substrat karena substrat mempengaruhi kemampuan bakteri probiotik dalam memfermentasi substrat untuk pertumbuhannya. Semakin kompleks senyawa maka lebih membutuhkan waktu yang lama untuk dihidrolisis. Karbohidrat dalam bentuk polisakarida akan lebih sulit dihidrolisis dibandingkan karbohidrat dalam bentuk monosakarida. Karena dalam bentuk polisakarida harus dirubah terlebih dahulu menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu glukosa.

Pada yoghurt tempe jagung dan yoghurt kontrol fase lag terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-1. Sedangkan yoghurt tempe kedelai dan yoghurt tempe kombinasi fase lag mulai jam ke-0 hingga jam ke-2. Yoghurt tempe jagung fase lag lebih pendek dari yoghurt tempe kedelai dan yoghurt tempe kombinasi. Hal ini dikarenakan pada tempe jagung lebih banyak mengandung glukosa dibandingkan tempe kedelai yang banyak mengandung oligosakarida sehingga lebih mudah difermentasi untuk dimanfaatkan untuk energi pertumbuhan bakteri probiotik.

Setelah fase lag bakteri probiotik akan memasuki fase logaritmik (log). Fase pertumbuhan bakteri probiotik yang meningkat drastis merupakan fase logaritmik. Pada fase logaritmik sel-sel bakteri probiotik akan tumbuh dan membelah diri secara eksponensial sampai jumlah maksimum. Peningkatan total bakteri probiotik terjadi

karena bakteri probiotik mulai memanfaatkan nutrisi pada substrat untuk melakukan pembelahan sel. Ketersediaan nutrisi yang memadai dalam substrat akan dimanfaatkan oleh bakteri probiotik untuk tumbuh dan berkembang sehingga total bakteri probiotik terus meningkat hingga mencapai total tertinggi. Jika dilihat pada **Tabel 1**, total bakteri probiotik tertinggi berlangsung pada jam ke-7 yang kemudian akan mulai memasuki fase stasioner dimana pertumbuhan bakteri probiotik akan berhenti dan total bakteri probiotik akan terus menurun.

Lamanya fase log juga berbeda pada masing-masing substrat. Berbeda dengan fase lag, fase log untuk yoghurt tempe kedelai dan yoghurt tempe kombinasi lebih singkat yaitu mulai jam ke-2 sampai jam ke-6. Sedangkan fase log yoghurt tempe jagung mulai jam ke-1 sampai jam ke-6. Lebih singkatnya fase log pada yoghurt tempe kedelai karena kondisi pH yang cocok bagi pertumbuhan bakteri probiotik yaitu pH dari 6,1 menjadi 5,0. Kondisi pH yang sesuai akan mendukung bakteri probiotik untuk tumbuh optimum. Bakteri *Streptococcus thermophilus* mempunyai pH optimum 6,8; *Lactobacillus acidophillus* 5,5-6,0 dan dapat tumbuh dengan baik pada pH 5,0-7,0, sedangkan *Bifidobacterium* tumbuh optimum pada pH 6,0-7,0 dan masih dapat tumbuh pada pH antara 5,0-8,0.

Yoghurt tempe kombinasi pada fase log memiliki pH 5,4 menjadi 4,4, sedangkan pada yoghurt tempe jagung memiliki pH 4,8 dan turun sampai 4,2. Jay (1978) mengatakan bahwa *Streptococcus thermophilus* kurang tahan pada pH 4,2-4,4, beberapa strain dapat tumbuh pada pH 4,0-4,5. *Bifidobacterium* dapat tumbuh pada pH 5,0-8,0 dan *L. acidophilus* dapat tumbuh baik pada pH 5,0-7,0. Rendahnya pH pada yoghurt tempe jagung karena adanya pembentukan asam lain yaitu asam asetat dari *Bifidobacterium* selain juga dihasilkan asam laktat.

Total bakteri probiotik tertinggi pada masing-masing sampel yaitu, yoghurt kontrol sebesar $9,3 \times 10^7$ cfu/ml, yoghurt tempe kedelai $1,5 \times 10^8$ cfu/ml, yoghurt tempe jagung $3,0 \times 10^8$ cfu/ml, dan yoghurt tempe kombinasi sebesar $2,5 \times 10^8$ cfu/ml. Pada jam ke-8 mulai terjadi penurunan total bakteri probiotik secara drastis pada jam ke-10 sampai jam ke-12. Menurut Saripah (1983), menyebutkan bahwa aktivitas bakteri menurun karena terhambat oleh keasaman yang dihasilkan. Selain dengan pertumbuhannya yang semakin cepat, maka akan semakin banyak gula reduksi yang dimanfaatkan baik untuk pertumbuhannya maupun untuk membentuk asam laktat, sehingga kadar gula reduksinya semakin menurun. Dengan menurunnya gula reduksi maka mengakibatkan substrat yang sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri juga berkurang sehingga substrat ini akan habis. Jika substrat dalam media habis, maka pertumbuhan bakteri probiotik pun akan menurun karena bakteri probiotik kekurangan nutrisi untuk pertumbuhan. Pada fase kematian, kecepatan kematian bakteri probiotik terus meningkat sedangkan kecepatan pembelahan sel nol. Meskipun demikian, penurunan total bakteri probiotik hidup ini tidak sampai nol. Dalam jumlah minimum tertentu bakteri probiotik akan tetap bertahan dalam medium tersebut. Total bakteri probiotik pada jam ke-12 yoghurt kontrol $3,0 \times 10^6$ cfu/ml; yoghurt tempe kedelai $7,8 \times 10^6$ cfu/ml; yoghurt tempe jagung $6,7 \times 10^7$ cfu/ml; yoghurt tempe kombinasi $1,4 \times 10^7$ cfu/ml.

Pada **Tabel 1** dapat dilihat dari semua variasi substrat yang digunakan total bakteri

probiotik tertinggi baik pada awal fermentasi, fase logaritmik dan akhir fermentasi terdapat pada yoghurt tempe jagung dan terendah yoghurt tempe kedelai. Adanya perbedaan kecepatan pertumbuhan sel dipengaruhi oleh kondisi media tempat tumbuh seperti pH dan suplemen zat gizi atau nutrisi. Selain itu juga dipengaruhi faktor lingkungan seperti suhu, ketersediaan oksigen, dan kelembaban udara. Semakin baik nutrisi dalam substrat yaitu mengandung nutrisi yang dibutuhkan bakteri probiotik maka pertumbuhan bakteri probiotik akan semakin cepat dan semakin tinggi kecepatan pertumbuhan maka total bakteri probiotik yang dihasilkan semakin banyak sehingga akan terjadi peningkatan total bakteri probiotik. Pemecahan gula dalam sel bakteri probiotik akan menghasilkan energi untuk aktivitas bakteri probiotik sehingga dihasilkan asam laktat. Dalam fermentasi, gula digunakan sebagai substrat untuk pertumbuhan baik jumlah maupun ukuran sel.

Tingginya total bakteri probiotik yoghurt tempe jagung dikarenakan pada susu tempe jagung memiliki kandungan gula paling banyak dibandingkan substrat lainnya. Kandungan gula pada jagung paling banyak berupa glukosa. Oleh karena itu diasumsikan bahwa pertumbuhan bakteri probiotik pada yoghurt akan lebih dahulu memfermentasi glukosa untuk dirubah menjadi asam laktat. Hal ini menunjukkan adanya kandungan FOS dan GOS pada kedelai dan jagung tidak semuanya dapat dimanfaatkan untuk difermentasi sebagai sumber energi. Hal ini didukung oleh penelitian Jen-Horng Tsen *et al* (2004), dalam penelitiannya yang menggunakan pisang sebagai substrat untuk pertumbuhan *L. acidophilus* CCRC 10695 menyatakan bahwa sumber FOS pada pisang selama proses fermentasi tidak mengalami perubahan yang signifikan, karena pisang merupakan buah-buahan yang banyak mengandung glukosa. Oleh karena FOS dan GOS tidak terfermentasi maka kandungan FOS dan GOS yang masih terdapat dalam yoghurt menjadi sumber prebiotik dalam produk yoghurt.

Total bakteri probiotik yang dihasilkan pada semua variasi substrat lebih tinggi dari total bakteri probiotik pada yoghurt kontrol.

Selain itu total bakteri probiotik pada akhir fermentasi untuk keempat jenis yoghurt yang diuji masih memenuhi syarat sebagai minuman probiotik. Menurut International Dairy Federation dalam Indratiningsih dkk (2004), jumlah minimal bakteri probiotik hidup untuk dapat berperanan untuk kesehatan adalah 10^6 cfu/ml. Maka supaya didapatkan yoghurt dengan total bakteri probiotik tertinggi, waktu fermentasi sebaiknya dihentikan pada jam ke-7 yang merupakan fase eksponensial pertumbuhan bakteri probiotik.

Pengaruh Perbedaan Substrat Terhadap Kadar Asam Laktat dan pH Yoghurt

Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium* merupakan bakteri pembentuk asam laktat yang berperan dalam produksi yoghurt. Ketiga bakteri tersebut merombak laktosa menjadi asam laktat dalam susu fermentasi. Dengan adanya aktivitas bakteri asam laktat, maka laktosa yang ada dalam yoghurt akan mengalami penurunan dan terjadi kenaikan kadar asam laktat.

Dengan terbentuknya asam laktat maka akan mempengaruhi nilai keasaman pada yoghurt. Pemecahan gula dalam sel bakteri probiotik akan menghasilkan energi untuk aktivitas bakteri probiotik sehingga dihasilkan asam laktat. Asam laktat kemudian tersekresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam cairan fermentasi sehingga menyebabkan penurunan pH yoghurt dan peningkatan keasaman produk (Widowati dan Misgiyarta, 2002). Senada dengan Buckle dkk (1987), bakteri probiotik menghasilkan sejumlah besar asam laktat sebagai hasil dari metabolisme gula. Asam laktat yang dihasilkan dengan cara tersebut akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam dan menyebabkan terbentuknya koagulasi. Kadar asam laktat dalam yoghurt juga dipengaruhi oleh jumlah penambahan sukrosa.

Bifidobacterium adalah bakteri yang termasuk kelompok nonpatogen heterofermentatif, artinya disamping menghasilkan asam laktat, juga asam asetat, etanol dan CO₂ (Lindquist, 1998). Sedangkan

Lactobacillus merupakan kelompok bakteri nonpatogen homofermentatif yaitu sebagian besar memproduksi asam laktat. Hasil pengujian kadar asam laktat dan pH masing-masing sampel yoghurt dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Menurut Winarno (1997), kenaikan keasaman atau penurunan pH akan membantu penghambatan bakteri patogen. Asam laktat merupakan produk yang dihasilkan BAL sebagai aktivitas fermentasi gula, sehingga kadar asam laktat dalam yoghurt dipengaruhi oleh total bakteri probiotik yoghurt. Semakin banyak bakteri probiotik maka asam laktat akan semakin banyak. Kenaikan kadar asam laktat dalam fermentasi susu selalu berbanding lurus dengan penurunan pH yoghurt, artinya semakin besar kadar asam laktat yang terbentuk selama fermentasi maka pH yoghurt semakin turun sehingga akan menimbulkan rasa asam.

Kadar asam laktat pada semua sampel yoghurt dari jam ke-0 hingga jam ke-12 fermentasi jumlahnya terus meningkat. Sedangkan pH yoghurt akan terus menurun seiring dengan kenaikan kadar asam laktat. Pada jam ke-12 fermentasi kadar asam laktat yoghurt kontrol 0,73% dengan pH 4,2; yoghurt tempe kedelai 0,86% asam laktat dan pH 3,8; yoghurt tempe jagung 1,12% kadar asam laktat dengan pH 3,6; dan yoghurt tempe kombinasi dengan kadar asam laktat 1,08% dan pH 3,8.

Menurut SNI (01-2981-1992), kadar asam laktat dalam yoghurt berkisar antara 0,5-2 % dan pH 4,0-4,5. Dari data yang dihasilkan, semua substrat yang digunakan memiliki kadar asam laktat yang sesuai dengan SNI (01-2981-1992), akan tetapi pH nya tidak sesuai dengan standar SNI. Oleh karena itu supaya didapatkan pH yang sesuai SNI (01-2981-1992) maka fermentasi dihentikan hingga jam ke-7, yang juga merupakan fase eksponensial dan juga pada jam ke-7 didapatkan total bakteri probiotik tertinggi. Pada jam ke-7 fermentasi pH yoghurt tempe kedelai sebesar 4,8, yoghurt tempe jagung 4,1 dan yoghurt tempe kombinasi sebesar 4,3.

Yoghurt supaya dapat mencapai kadar asam 0,85-0,90% maka fermentasi yoghurt

Tabel 2. Kadar Asam Laktat dan pH pada Yoghurt Variasi Substrat

Jam ke-	Yoghurt kontrol		Yoghurt tempe kedelai		Yoghurt tempe jagung		Yoghurt tempe kombinasi	
	Kadar Asam laktat (%)	pH	Kadar Asam laktat (%)	pH	Kadar Asam laktat (%)	pH	Kadar Asam laktat (%)	pH
0	0,21	6,8	0,21	6,4	0,98	5,2	0,59	5,8
1	0,26	6,8	0,26	6,2	1,01	4,8	0,62	5,7
2	0,43	6,7	0,28	6,1	1,02	4,7	0,62	5,4
3	0,45	6,5	0,31	5,8	1,02	4,5	0,63	5,1
4	0,52	6,1	0,35	5,5	1,03	4,4	0,69	4,7
5	0,52	5,9	0,59	5,2	1,05	4,3	0,69	4,5
6	0,54	5,6	0,62	5,0	1,07	4,2	0,73	4,4
7	0,56	5,4	0,64	4,8	1,09	4,1	0,74	4,3
8	0,61	5,1	0,70	4,6	1,11	4,0	0,77	4,1
9	0,64	4,9	0,73	4,4	1,11	3,9	0,82	3,9
10	0,65	4,6	0,78	4,0	1,11	3,8	0,97	3,8
11	0,69	4,4	0,80	3,9	1,12	3,7	0,99	3,7
12	0,73	4,2	0,86	3,8	1,12	3,6	1,08	3,8

diakhiri jika keasaman sudah mencapai 0,65-0,75%. Lampert (1970) menambahkan, bahwa lamanya pemeraman didasarkan pada terbentuknya kadar asam laktat normal adalah 0,85-0,95%. Untuk mencapai keasaman yoghurt 0,90 %, maka fermentasi yoghurt harus diakhiri pada saat mencapai keasaman 0,75% (Wittier and Webb, 1970). Yoghurt akan berubah derajat keasamannya jika disimpan pada suhu rendah. Sehingga lebih baik fermentasi yoghurt pada sampel dihentikan pada jam ke-7 fermentasi yaitu pada waktu bakteri probiotik mencapai fase log agar didapatkan kadar asam laktat dan pH yang sesuai dan total bakteri probiotik tertinggi.

Pengaruh Perbedaan Substrat Terhadap Aktivitas Antioksidan Yoghurt

Analisis aktivitas antioksidan dilakukan pada tempe dan yoghurt tempe yang difermentasi pada jam ke-0,3,6,9, dan 12. Aktivitas antioksidan pada sampel awal yaitu susu bubuk skim, tempe kedelai, tempe jagung dan tempe kombinasi dapat dilihat pada **Tabel 3**, sedangkan perubahan aktivitas antioksidan selama fermentasi yoghurt dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Pada bahan awal yaitu berupa tempe dilakukan uji aktivitas antioksidan untuk mengetahui perubahan aktivitas antioksidan dari tempe dan setelah diproses menjadi yoghurt. Adanya aktivitas antioksidan pada bahan baku akan menambah nilai fungsional

pada yoghurt. Yoghurt selain mengandung bakteri probiotik juga memiliki aktivitas antioksidan.

Aktivitas antioksidan tertinggi pada tempe kedelai yaitu sebesar 75,00%, tempe jagung 39,20% dan pada tempe kombinasi sebesar 68,74%. Tingginya aktivitas antioksidan pada tempe bersumber dari tingginya kandungan isoflavon kedelai. Senyawa isoflavon merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak disintesis oleh tanaman. Pada tanaman kedelai, kandungan isoflavon yang lebih tinggi terdapat pada biji kedelai, khususnya pada bagian hipokotil (germ) yang akan tumbuh menjadi tanaman. Kandungan isoflavon pada kedelai berkisar 2-4 mg/g kedelai (Anonim, 2008^b). Senyawa isoflavon ini pada umumnya berupa senyawa kompleks atau konjugasi dengan senyawa gula melalui ikatan glukosida. Jenis senyawa isoflavon ini terutama adalah Genistin, Daidzin, Glisitin (Pradana, 2008).

Selama proses pengolahan, baik melalui proses fermentasi maupun proses nonfermentasi, senyawa isoflavon dapat mengalami transformasi, terutama melalui proses hidrolisa sehingga dapat diperoleh senyawa isoflavon bebas yang disebut aglukon yang lebih tinggi aktivitasnya. Senyawa aglukon tersebut adalah Genistein, Daidzein, dan Glisitein (Pawiroharsono, 1995). Kandungan isoflavon aglukon pada

Tabel 3. Aktivitas antioksidan pada sampel bahan awal

Sampel	Aktivitas antioksidan (%)
Susu skim (kontrol)	28,00
Tempe Kedelai	75,00
Tempe Jagung	39,20
Tempe kombinasi	68,74

Tabel 4. Kandungan isoflavon pada kedelai dan tempe

Komponen	Kedelai sebelum	Setelah difermentasi	
	difermentasi (mg/100 gram)	<i>R.oryzae</i> (mg/100 gram)	<i>R.oligosporus</i> (mg/100 gram)
Genistein	1,60	4,94	13,80
Daidzein	1,80	3,80	12,90
Genistin	52,55	19,94	10,00
Daidzin	74,60	21,56	8,06

Sumber : Wuryani, 2009

tempe ternyata lebih besar dibandingkan pada kedelai sebelum difermentasi, dan dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Dari **Tabel 4** dapat dilihat bahwa terjadi perubahan isoflavon selama proses fermentasi. Saat kedelai belum difermentasi, kandungan isoflavon yang mendominasi adalah isoflavon glikosidanya (Genistin dan Daidzin). Setelah difermentasi, terutama dengan kapang *Rhizopus oligosporus*, ternyata kandungan senyawa isoflavon aglukonnya (Genistein dan Daidzein) meningkat karena aktivitas enzim β -Glukosidase (Ebata *et al*, 1972). Salah satu faktor penting dalam perubahan tersebut adalah terbebasnya senyawa-senyawa isoflavon dalam bentuk bebas (aglikon), dan Faktor-II (6,7,4' tri-hidroksi isoflavon), yang terdapat pada tempe tetapi tidak terdapat pada kedelai (Karyadi dan Hermana, 1995).

Pada jagung sumber antioksidan bersumber dari kandungan karotenoid, lutein, zeaxanthin dan tokoferol. Kandungan karotenoid pada jagung biji kuning berkisar antara 6,4-11,3 g/g, 22% di antaranya adalah betakaroten dan 51% kriptosantin. Selain itu jagung juga mengandung senyawa fitokimia dalam bentuk terikat. Komponen fitokimia bermanfaat membantu serat menurunkan resiko kanker terutama kanker usus.

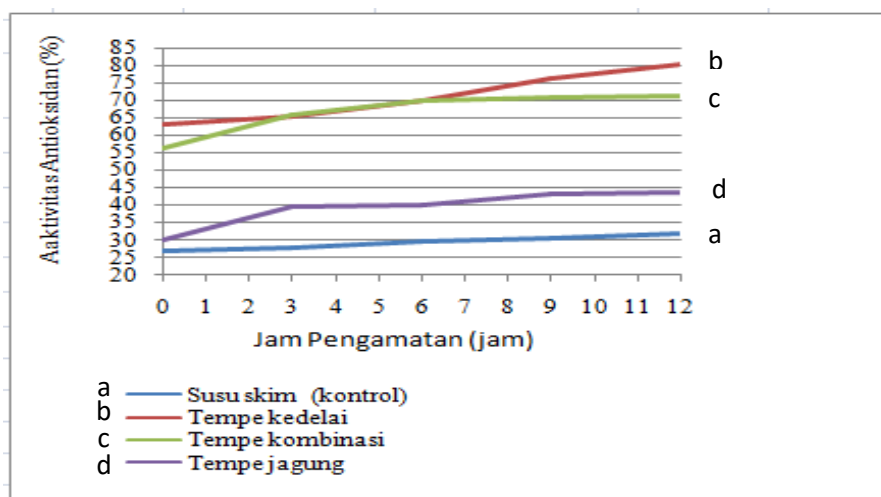
Semua variasi substrat yang digunakan menunjukkan bahwa aktivitas

antioksidannya lebih tinggi dari aktivitas antioksidan pada susu skim.

Hal ini menunjukkan bahwa semua substrat lebih baik dari susu skim sebagai sumber antioksidan pada yoghurt. Pada susu skim sendiri aktivitas antioksidannya bersumber dari vitamin C, walaupun dalam jumlah kecil yang berkurang karena proses pemanasan. Selanjutnya uji aktivitas antioksidan dilakukan pada waktu fermentasi yoghurt, yaitu pada jam ke-0,3,6,9, dan 12. Perbandingan aktivitas antioksidan pada masing-masing substrat dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Dilihat dari **Tabel 3** dan **Tabel 5**, aktivitas antioksidan dari sampel awal bahan mengalami penurunan pada fermentasi jam ke-0. Penurunan aktivitas antioksidan dikarenakan selama proses pengolahan tempe menjadi yoghurt mengalami berbagai perlakuan pengolahan salah satunya pemanasan yang dapat mengurangi aktivitas antioksidan pada suatu bahan makanan. Hubungan aktivitas antioksidan dengan waktu fermentasi dapat dilihat pada **gambar 2**.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan jam ke-0 menunjukkan bahwa yoghurt tempe kedelai mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai 62,90%, yoghurt tempe jagung sebesar 30,05%, yoghurt tempe kombinasi sebesar 56,35% dan yoghurt kontrol mempunyai aktivitas antioksidan terendah dengan nilai 26,80%. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan substrat-substrat tersebut dapat sebagai sumber antioksidan pada yoghurt. Tingginya nilai



Gambar 2. Hubungan antara waktu fermentasi dengan aktivitas antioksidan (a : susu skim, b: tempe kedelai, c: tempe kombinasi, d: tempe jagung)

Tabel 5. Aktivitas Antioksidan yoghurt pada berbagai substrat.

Sampel	Aktivitas antioksidan (%) pada pengamatan jam ke-				
	0	3	6	9	12
Kontrol	26,80	27,70	29,70	30,45	31,70
Tempe kedelai	62,90	65,28	69,79	76,11	80,22
Tempe jagung	30,05	39,70	39,85	43,15	43,50
Tempe kombinasi	56,35	65,75	69,75	70,66	71,10

aktivitas antioksidan pada yoghurt tempe kedelai dikarenakan dari tempe kedelai sebagai bahan bakunya sudah memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi yaitu sebesar 75,00%, dibandingkan dengan bahan lain yaitu tempe jagung 39,20%, tempe kombinasi 68,74% dan susu bubuk skim 28,00%.

Berdasarkan **Gambar 2** dapat terlihat bahwa selama proses fermentasi aktivitas antioksidan terus meningkat hingga pengamatan jam ke-12. Hasil pengamatan jam ke-12 menunjukkan aktivitas antioksidan selama proses fermentasi. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada yoghurt tempe kedelai sebesar 80,22% yoghurt tempe jagung 43,50%, yoghurt tempe kombinasi dengan nilai 71,10%, dan terendah yoghurt kontrol sebesar 31,70%.

Peningkatan aktivitas antioksidan dapat disebabkan oleh terbentuknya asam laktat. Menurut Yu and Van (2002), asam laktat pada yoghurt mengandung α -hydroxyacids (AHA) yang berfungsi sebagai antioksidan dan sering dimanfaatkan untuk pembuatan kosmetik. Oleh karena itu, aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh asam laktat

($\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$) yang diproduksi oleh bakteri probiotik berperan sebagai donor atom hidrogen bagi molekul atau atom yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbit terluarnya (radikal bebas). Terjadinya peluruhan warna larutan DPPH pada pengujian aktivitas antioksidan disebabkan oleh adanya donasi atom hidrogen pada elektron tidak berpasangan dari gugus N dalam struktur DPPH. Semakin kuat aktivitas antioksidan maka penurunan intensitas warna ungu semakin besar.

Selain dari asam laktat adanya peningkatan aktivitas antioksidan disebabkan oleh adanya aktivitas bakteri probiotik yang akan menghasilkan senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan yang terkandung dalam yoghurt ini merupakan antioksidan alami yang berasal dari bakteri probiotik selama proses fermentasi berlangsung. Antioksidan merupakan metabolit sekunder dari metabolisme bakteri. Bakteri probiotik akan mulai membentuk metabolit sekunder ketika memasuki fase stasioner. Pada **Tabel 5** juga terlihat bahwa peningkatan aktivitas

Tabel 6. Produksi vitamin oleh *Bifidobacterium*

	<i>B. breve</i>	<i>B. infantis</i>	<i>B. longum</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>B. adolescentis</i>
Thiamine (B ₁)	+	+++	+	+++	+
Riboflavin (B ₂)	+	+	+++	++	+
Pyridoxine (B ₆)	++	++	+++	+	++
Folic acid (B ₉)	+	+++	+	++	+
Cobalamine (B ₁₂)	+	++	+++	+	+
Ascorbic acid (C)	++	++	+++	++	+
Nicotinic acid (PP)	+++	+++	+	+++	+
Biotin (H)	++	+++	++	++	++

Sumber : Hatanaka *et al*, 1987

antioksidan paling banyak meningkat pada waktu fermentasi antara jam ke-6 dan jam ke-9, dimana fase stasioner terjadi pada jam ke-8.

Kruszewska *et al*, (2002) dalam penelitiannya menyatakan bahwa *Lactobacillus plantarum* 2592 yang ditumbuhkan selama 18 jam dapat membentuk 10µg vitamin C. Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan ini tergantung dari strain bakteri probiotik yang digunakan. Hasil ini didukung oleh Kaizu *et al*, (1993) dalam penelitiannya yang menggunakan mencit dengan kondisi kekurangan vitamin E setelah dimasukkan ekstrak intraseluler dari *Lactobacillus*, defisiensi vitamin E pada mencit dapat disembuhkan. Menurut Hatanaka *et al* (1987) beberapa species *Bifidobacterium* juga memproduksi vitamin C yang dapat dilihat pada **Tabel 6**.

Vitamin C mempunyai efek multifungsi antara lain sebagai antioksidan, pengikat logam, pereduksi dan penangkap logam. Vitamin C sangat efektif sebagai antioksidan pada konsentrasi tinggi. Antioksidan ini berfungsi menurunkan tekanan darah dan kolesterol untuk mencegah stroke dan serangan jantung. Kekurangan vitamin C dalam darah menyebabkan beberapa penyakit antara lain asma, kanker, diabetes, dan penyakit hati. Sedangkan vitamin E juga dapat membantu memperlambat proses penuaan pada arteri dan melindungi tubuh dari kerusakan sel-sel yang akan menyebabkan penyakit kanker, penyakit hati, dan katarak. Vitamin E ini bekerja sama dengan antioksidan lain seperti

vitamin C untuk mencegah penyakit-penyakit kronik lainnya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Total bakteri probiotik tertinggi diperoleh pada yoghurt dengan substrat tempe jagung sebesar $6,7 \times 10^7$ cfu/ml pada jam ke-12 fermentasi.
2. Kadar asam laktat dan pH semua substrat memenuhi standar SNI yaitu pada kisaran kadar asam laktat 0,5-2% dan kisaran pH 4,0-4,5.
3. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada yoghurt dengan substrat tempe kedelai sebesar 80,22% pada jam ke-12 fermentasi.

Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai kandungan FOS dan GOS yang masih ada dalam yoghurt yang berperan sebagai prebiotik.
2. Pada tempe jagung perlu dilakukan penelitian mengenai jenis gula yang ada pada tempe jagung berupa monosakarida atau disakarida.
3. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai karakter yoghurt (kekentalan, flavor, citarasa, tekstur, sineresis).
4. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai daya simpan yoghurt.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim^b. 2008. *Menguak Manfaat Tempe*. <http://www.susukolustrum.com>. Diakses tanggal 27 Mei 2010

- Bani. 2007. *Susu Tempe*.
<http://www.ipitek.net.id/ind/warintek/?mnu=6&t>. Diakses pada 8 September 2009.
- Brata, A.M dan Arbai. 1999. Cholesterol Lowering Effect of Tempe. *The Complete Handbook of Tempe: The Unique Fermented Soyfood of Indonesia*. Hal 51-70.
- Buckle, KA, RA Edwards, GH Fleet dan M. Wootton. 1987. *Ilmu Pangan*. UI- Press, Jakarta.
- Crueger, W., and A. Crueger. 1984. *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology*. Madison: Sinauer Tech, Inc.
- Ebata, J., Fukuda, YI, Hirai, K., and Murate.K. 1972. *Betaglucosidase involved in anti-oxidant formation in tempeh*. *J. Agrie. Chem. Soc. Japan* 46:323
- Ekawati. 2008. *Umbi Saatnya Menjadi Pilihan*. <http://www.beritaiptek.com>. (diakses 24 Juli 2009)
- Espinosa and M, Rupérez. 2006. *Soybean oligosaccharides Potential as new ingredients in functional food*. *Nutr. Hosp.* v.21 n.1 Madrid ene.-feb. 2006.
- Gibson, G.R and M.B. Roberfroid. 2008. *Prebiotics: Concept, Definition, Criteria, Methodologies, and Products*. Handbook of Prebiotics. CRC Press. New York.
- Hanani, E., A. Mun'im. dan R. Sekarini. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2 (3): 127-133.
- Hatanaka, M.; Tachiki, T.; Kumagai, H.; Tochikura, T. 1987. Distribution and some properties of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in bifidobacteria. *Agric. Biol. Chem.* 51 (1), 251–252.
- Hong Tsen, Jen; Yeu-Pyng Lin; dan V. An-Erl King. 2004. *Fermentation of banana media by using n-carrageenan immobilized*. *International Journal of Food Microbiology* 91 (2004) 215– 220.
- Indratiningsih, Widodo, Siti Isrima, dan Endang Wahyuni. 2004. *Produksi Yoghurt Shiitake (Yoshiitake) Sebagai Pangan Kesehatan Berbasis Susu*. *Jurnal.Teknologi dan Industri Pangan* 25 (1):54-60.
- Jay, J. M. 1978. *Modern Food Microbiology*. Van Nostran Company. New York.
- Kaizu H, Sasaki M, Nakajima H & Suzuki Y (1993) *Effect of antioxidative lactic acid bacteria on rats fed a diet deficient in vitamin E*. *J Dairy Sci* 46, 2493–2499.
- Karyadi, D. dan Hermana. 1995. *Potensi Tempe Untuk Gizi dan Kesehatan*. Makalah disampaikan pada Simposium Nasional : Pengembangan Tempe dalam Industri Pangan Modern, Yogyakarta, 15-16 April 1995.
- Kasmidjo, R.B. 1990. *Tempe: Mikrobiologi dan Biokimia Pengolahan Serta Pemanfaatannya*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Kruszewska, D., Lan, J., Lorca, G., Yanagisawa, N., Marklinder, I. and Ljungh, Å. (2002). Selection of Lactic Acid Bacteria as probiotic strains by in vitro tests. *Microb. Ecol. Health Dis.* 29:37–49.
- Lampert, L. M. 1970. *Modern Dairy Product*. Chemical Publishing Company. Inc. New York.
- Leviton, A. and E. A. Mart. 1965. *Fermentation*. dalam Webb, B. H., dan Johnson, A.H., 1965. *Fundamental Of Dairy Chemistry*. Westport. Conecticut. The AVI Publishing Company. Inc.
- Lindquist, J. 1998. General Overview of The Lactic Acid Bacteria. Departemen of Bacteriology, University of Wisconsin. Madison. *Food Science* (324), 102.
- Pangestuti, H.P. dan Sitoresmi Triwibowo. 1996. *Analisis Mikrobiologi : Proses Pembuatan Tempe Kedelai*. *Cermin Dunia Kedokteran* 109:1-4.
- Pawiroharsono. 1995. *Metabolisme Isoflavon dan Faktor-II pada Proses Pembuatan Tempe*. Prosiding Simposium Nasional Pengembangan Tempe dalam Industri Pangan Modern, April 1995. UGM. Yogyakarta.
- Pawiroharsono, S. 1997. Prospect of Tempe as Functional Food. *Proceedings International Tempe Symposium Reinventing The Hidden Miracle of Tempe*. Hal 101-113.
- Pradana, S. 2008. *Prospek dan Manfaat Isoflavon Sebagai Fitoestrogen Bagi Kesehatan*. Jakarta.
- Pujoyuwono, M.D., N. Trinovia, D.S. Richana, Damardjati dan U. Murdiyanto. 1997. Karakterisasi enzim amilase dari beberapa strain bakteri indigenus Indonesia. Prosiding Seminar Teknologi Pangan. Bogor: Balai Penelitian Bioteknologi Pangan.
- Saripah, S. 1983. *Dasar-Dasar Pengawetan II*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Jakarta.
- Subagio, A. and N. Morita. 2001. *No Effect of Esterification with Fatty Acid on Antioxidant Activity of Lutein*. *Food Res. Int.* 34 : 315-320.

- Soewedo, 1994, *Teori dan Prosedur Pengujian Mutu Susu dan Hasil Olahannya*. PAU Pangan dan Gizi. Yogyakarta.
- Widowati, Sri dan Misgiyarta. 2002. *Efektifitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein/Susu Nabati*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian
- Winarno, FG. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Wittier, E.O. and B.H. Webb. 1970. *By Product From Milk*. Westport. Connecticut. The AVI Publishing Company. Inc.
- Wuryani. 2009. *Isoflavones: The Destrogenic Compounds In Tempe*.
<http://www.biotek.lipi.go.id/annales/v3n1%201994/wuryani.pdf>. (Diakses tgl 17 Juni 2009).
- Yutono. 1973. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum untuk Perguruan Tinggi*. Dept Mikrobiologi. Fakultas Pertanian Universitas Gajah Mada. Yogyakarta
- Yu RJ and Van Scott EJ. Hydroxycarboxylic acids, N-acetylamino sugars, and N-acetylamino acids. *Skinmed.*, 2002; 1 (2): 117-22.