

KUALITAS YOGHURT YANG DIBUAT DENGAN KULTUR DUA (*Lactobacillus bulgaricus* DAN *Streptococcus thermophilus*) DAN TIGA BAKTERI (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* DAN *Lactobacillus acidophilus*)

Saadah D. Rachman^a, Sadiyah Djajasoepeana^a, Dian S. Kamara^a, Idar Idar^b, Roni Sutrisna^a, Agus Safari^a, O. Suprijana^a, & Safri Ishmayana^{a,*}

^aDepartemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jln. Raya Bandung-Sumedang km. 21, Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat 45363

^bSekolah Tinggi Farmasi Bandung, Jln. Soekarno - Hatta No.754, Bandung, Jawa Barat 40617

*Alamat Korespondensi: ishmayana@unpad.ac.id

Abstrak: Yoghurt merupakan produk susu terfermentasi yang dibuat dengan menambahkan kultur bakteri asam laktat (BAL) ke dalam susu. Kultur BAL yang ditambahkan dapat berupa kultur bakteri tunggal ataupun campuran. Pada umumnya, kultur campuran yang biasa digunakan untuk membuat yoghurt adalah campuran antara *Lactobacillus bulgaricus* (Lb) dan *Streptococcus thermophilus* (St). Namun berdasarkan beberapa penelitian kedua bakteri ini tidak bertahan lama pada saluran pencernaan. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan penambahan *Lactobacillus acidophilus* (La) untuk memperbaiki sifat probiotik dari produk yoghurt. Pada pembuatan kultur starter, kultur tunggal bakteri ditumbuhkan pada media susu skim 10%. Kemudian susu sapi hasil pasteurisasi diinokulasi dengan kultur starter dengan perbandingan kultur yang berbeda-beda yaitu 1:1, 1:4 dan 4:1 (Lb:St) untuk kultur dua bakteri serta 1:1:1, 1:4:1 dan 4:1:1 (Lb:St:La) untuk kultur tiga bakteri. Susu yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 40°C selama 12 jam. Analisis terhadap produk yoghurt meliputi pengukuran pH, kadar laktosa, kadar asam laktat dan kadar protein. Hasil analisis menunjukkan bahwa penambahan *L. acidophilus* cenderung memberikan efek penghambatan pembentukan asam laktat, seperti ditunjukkan oleh pH yang lebih tinggi, kadar asam laktat yang lebih rendah serta kadar laktosa sisa yang lebih tinggi pada yoghurt yang menggunakan kultur tiga bakteri.

Kata kunci: Yoghurt, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*

Abstract: Yoghurt is fermented milk product that is made by addition of lactic acid bacteria (LAB) into milk. Culture of LAB added to the milk can be single or mixed culture. *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* are commonly used as mixed culture in yoghurt production. However, according of some reports, both of the bacteria can not survive in the gastrointestinal tract. Therefore, in the present study we add *Lactobacillus acidophilus* to improve probiotic properties of the yoghurt. To prepare starter culture, single cultures of the bacteria were grown in 10% (w/v) skimmed milk. Pasteurized cow milk were then inoculated using starter culture with different culture starter ratio, which are 1:1, 1:4 and 4:1 (Lb:St) for two bacteria culture and 1:1:1, 1:4:1 and 4:1:1 (Lb:St:La) for three bacteria culture. The inoculated milk was then incubated at 40°C for 12 hours. The yoghurt product was analyzed for its pH, lactose content, lactic acid content and protein content. The analysis results indicated that addition of *L. acidophilus* tend to inhibit lactic acid formation as shown by higher pH, lower lactic acid content and higher remaining lactose in yoghurt with three bacteria culture.

Keywords: Yoghurt, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*

PENDAHULUAN

Yoghurt merupakan produk susu yang difermentasi menggunakan bakteri asam laktat (BAL). Pada proses fermentasi yoghurt dapat digunakan kultur tunggal ataupun campuran dari BAL. *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* merupakan bakteri yang umum digunakan sebagai kultur starter pada proses fermentasi susu menjadi yoghurt (El-Abbassy & Sitohy, 1993). Ketika digunakan sebagai kultur campuran, kedua bakteri ini bersimbiosis mutualisme, dimana *L. bulgaricus* dilaporkan menghasilkan asam amino dan peptida pendek yang menstimulasi pertumbuhan *S. thermophilus*. Sedangkan *S. thermophilus* menghasilkan asam format yang menunjang pertumbuhan *L. bulgaricus*

(El-Abbassy & Sitohy, 1993; Rajagopal & Sandine, 1990).

L. bulgaricus dan *S. thermophilus* pada umumnya dilaporkan tidak dapat bertahan hidup pada saluran pencernaan (Conway *et al.* 1987). Oleh karena itu, kedua bakteri ini dianggap sebagai agen probiotik yang kurang baik, dan hanya dianggap sebagai kultur starter. Namun penelitian yang lebih baru melaporkan bahwa kedua bakteri ini ternyata dapat bertahan hidup di saluran pencernaan (Mater *et al.*, 2005). Selain itu, Lick *et al.* (2001) dan Elli *et al.* (2006) juga menemukan bahwa *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* dapat bertahan hidup setelah melewati saluran pencernaan.

Lactobacillus acidophilus dan *Bifidobacterium* spp. merupakan BAL yang dilaporkan memiliki

ketahanan yang lebih baik dalam saluran pencernaan manusia (Gomez & Malcata 1999). Oleh karena itu penelitian mengenai penambahan kedua bakteri ini pada kultur campuran menjadi salah satu topik yang menarik karena adanya interaksi antara bakteri-bakteri tersebut dengan bakteri kultur starter (Vinderola *et al.* 2002) yang dapat mempengaruhi kualitas produk yang diinginkan (Gardini *et al.* 1999).

Pada penelitian ini, *L. acidophilus* ditambahkan ke dalam kultur campuran *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*. Kualitas yoghurt yang dihasilkan ditentukan dengan menentukan beberapa parameter uji yaitu pH, kadar laktosa, kadar asam laktat dan protein.

BAHAN DAN METODE

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah inkubator, spektrofotometer Jenway 6350, sentrifugasi, *laminar flow cabinet* (Forma Scientific), mikroskop (Nikon), pH meter (Mettler Toledo MP220), termometer, dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium

Bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan antara lain adalah susu skim, susu murni, air suling, natrium hidroksida, asam sulfat, fenoltalein, glukosa, laktosa, *bovine serum albumin*, tembaga sulfat pentahidrat, nutrient broth, pereaksi Folin-Ciocalteu, pereaksi fosfomolibdat, kultur bakteri *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* dan *L. acidophilus*.

Pembuatan kultur starter tunggal

Ke dalam 5 mL susu skim hasil pasteurisasi dalam tiga botol vial steril dimasukkan masing-masing satu ose *L. bulgaricus* pada botol vial pertama, *S. thermophilus* pada botol vial kedua dan *L. acidophilus* pada botol vial ketiga. Ketiga botol ini diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, selanjutnya susu hasil fermentasi tersebut dipindahkan ke dalam 50 mL susu murni hasil pasteurisasi pada suhu 85°C selama 15 menit, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Susu hasil fermentasi merupakan kultur yang siap digunakan. Jika tidak langsung digunakan dapat disimpan pada suhu 4°C.

Fermentasi susu

Sebelum fermentasi, susu murni dipasteurisasi terlebih dahulu pada suhu 85°C selama 15 menit, kemudian sebanyak 50 mL dimasukkan ke dalam enam labu Erlenmeyer 250 mL steril. Setelah itu ke dalam labu Erlenmeyer yang berbeda dimasukkan kultur starter dengan perbandingan volume kultur tunggal 1:1, 1:4 dan 4:1 untuk kultur dua bakteri (*L. bulgaricus*: *S. thermophilus*) dan 1:1:1, 1:4:1 dan 1:1:4 untuk kultur tiga bakteri (*L. bulgaricus*: *S. thermophilus*: *L. acidophilus*). Campuran kemudian diinkubasi pada suhu 40°C. Sampel diambil setelah

12 jam. Hasil fermentasi ini kemudian dianalisis untuk nilai pH, kadar asam total, kadar protein dan kadar laktosa.

Pengukuran pH

Sampel produk yoghurt yang dihasilkan diukur pH-nya dengan menggunakan pH meter.

Penentuan kadar asam laktat

Sebanyak 10 mL yoghurt dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer dan ditambahkan 2-3 tetes larutan fenoltalein 1% sebagai indikator. Buret diisi dengan larutan natrium hidroksida 0,1 N. Larutan yoghurt kemudian dititrasikan dengan menggunakan larutan NaOH sampai terjadi perubahan warna menjadi kemerahan.

Penentuan kadar protein

Sebanyak 0,1 mL larutan standar BSA (0,00; 0,05; 0,10; 0,20; 0,30; 0,40 dan 0,50 mg/mL) atau sampel yang akan ditentukan kadar proteinnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan sebanyak 5 mL pereaksi Lowry C (50 mL 2% natrium karbonat dalam 0,1 N natrium hidroksida : 1 mL 0,5% tembaga sulfat pentahidrat dalam 1% natrium tartrat) dan didiamkan selama 10 menit. Sebanyak 0,5 mL larutan Folin-Ciocalteu kemudian ditambahkan, dikocok dan didiamkan selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang 750 nm dengan menggunakan spektrofotometer.

Penentuan kadar laktosa

Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambahkan dengan 2 mL larutan natrium tungstat dan 2 mL asam sulfat 0,3 M sambil dikocok perlahan. Kemudian ditambahkan air suling sampai tanda batas dan dibiarkan selama 5 menit lalu disentrifugasi. Supernatan yang diperoleh diambil sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 1 mL air suling. Selanjutnya ke dalam tabung reaksi tersebut ditambahkan pereaksi tembaga alkalis dan dipanaskan pada penangas air selama 8 menit lalu didinginkan dan ditambah dengan 4 mL larutan fosfomolibdat sambil dikocok. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan diencerkan dengan larutan fosfomolibdat encer (1:4). Serapan kemudian diukur pada panjang gelombang 630 nm dengan menggunakan spektrofotometer.

Larutan standar laktosa dibuat dengan menimbang 1 g laktosa lalu dilarutkan dalam labu ukur 100 mL dengan larutan asam benzoat 0,2%. Sebanyak 3 mL larutan kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan diencerkan dengan menggunakan larutan asam benzoat 0,2%. Larutan standar tersebut kemudian diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air suling. Langkah kerja berikutnya sama dengan langkah kerja yang dijelaskan sebelumnya. Untuk blanko

digunakan air suling sebanyak 2 mL dan ditambahkan dengan reagen yang sama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

pH produk yoghurt

Hasil pengukuran pH produk yoghurt ditunjukkan pada Tabel 1. Menurut Food Standards Australia New Zealand (2014) pH yoghurt yang baik memiliki nilai maksimum 4,5. Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 1, produk yoghurt yang menggunakan kultur dua bakteri memenuhi standar yang ditetapkan oleh Food Standards Australia New Zealand. Sedangkan yoghurt yang dibuat dengan tiga kultur bakteri memiliki pH sedikit di atas standar. Meskipun demikian, nilai pH produk yoghurt dengan tiga kultur bakteri masih mendekati nilai standar di sekitar pH ~4,5.

Nilai pH kultur tiga bakteri yang lebih tinggi kemungkinan besar terjadi karena penurunan kemampuan bakteri untuk menghasilkan produk asam.

Tabel 1. Nilai pH yoghurt dengan variasi perbandingan antara kultur starter campuran dua bakteri (*L. bulgaricus*:*S. thermophilus*) dan tiga bakteri (*L. bulgaricus*:*S. thermophilus*:*L. acidophilus*) dan waktu inkubasi 12 jam.

Perbandingan kultur starter (Lb:St) atau (Lb:St:La)	pH
1:1	4,48
1:4	4,49
4:1	4,41
1:1:1	4,56
1:4:1	4,55
4:1:1	4,52

Kadar laktosa

Kadar laktosa ditentukan dengan metode penentuan gula pereduksi sesuai yang dijelaskan oleh Somogyi (1951) dan Nelson (1944). Penentuan kadar laktosa dilakukan untuk mengetahui kemampuan kultur bakteri untuk mengonversi laktosa menjadi asam laktat. Kadar laktosa susu sapi sebelum fermentasi adalah sebesar 7,94% (b/v) (Safari dkk., 2016), sedangkan kadar laktosa setelah proses fermentasi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar laktosa yoghurt dengan variasi perbandingan kultur starter campuran dua bakteri (*L. bulgaricus* : *S. thermophilus*) dan tiga bakteri (*L. bulgaricus* : *S. thermophilus* : *L. acidophilus*) dan waktu inkubasi 12 jam.

Perbandingan kultur starter (Lb:St) atau (Lb:St:La)	Kadar Laktosa (%b/v)
1:1	2,86
1:4	2,60
4:1	2,25
1:1:1	3,84
1:4:1	4,14
4:1:1	3,94

Hasil pengukuran kadar laktosa menunjukkan bahwa yoghurt yang dibuat dengan kultur dua bakteri mengonsumsi lebih banyak laktosa dibandingkan kultur tiga bakteri. Hal ini juga mengindikasikan adanya efek inhibisi dari penambahan *L. acidophilus* terhadap kemampuan kultur bakteri dalam mengonsumsi laktosa untuk diubah menjadi asam laktat.

Kadar asam laktat

Menurut SNI 2981:2009, kadar asam laktat yoghurt yang baik adalah sebesar 0,5-2,0%. Kadar asam laktat yoghurt hasil penelitian ini ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar asam laktat yoghurt dengan variasi perbandingan kultur starter campuran dua bakteri (*L. bulgaricus* : *S. thermophilus*) dan tiga bakteri (*L. bulgaricus* : *S. thermophilus* : *L. acidophilus*) dan waktu inkubasi 12 jam.

Perbandingan kultur starter (Lb:St) atau (Lb:St:La)	Kadar asam laktat (%b/v)
1:1	1,21
1:4	1,15
4:1	1,27
1:1:1	1,14
1:4:1	1,11
4:1:1	1,15

Hasil analisis kadar asam laktat yang ditunjukkan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa semua produk yoghurt pada penelitian ini memenuhi syarat SNI. Hasil analisis kadar asam laktat sesuai dengan data pH dan data kadar laktosa, dimana sampel-sampel yoghurt yang menggunakan tiga kultur bakteri cenderung memiliki kadar asam laktat yang lebih sedikit, yang berarti mengonsumsi laktosa lebih sedikit dan memiliki nilai pH yang lebih tinggi.

Fenomena ini dapat terjadi karena adanya interaksi antara bakteri-bakteri yang digunakan dalam kultur starter. Vinderola *et al.* (2002) mengungkapkan bahwa *L. acidophilus* dapat menghambat pertumbuhan *L. bulgaricus*, sedangkan *S. thermophilus* tidak menunjukkan interaksi yang berarti dengan *L. acidophilus*. Hal ini menunjukkan adanya inhibisi pertumbuhan *L. bulgaricus* yang pada akhirnya akan dapat menghambat konsumsi laktosa untuk diubah menjadi asam laktat, yang berakibat memberikan nilai pH yang relatif lebih tinggi.

Kadar Protein

Kadar protein sampel yoghurt yang dibuat dengan kultur dua dan tiga bakteri ditunjukkan pada Tabel 4. Menurut SNI 2981:2009 kadar protein minimal yang harus ada pada yoghurt adalah sebesar 2,7% sedangkan menurut Food Standards Australia New Zealand (FSANZ, 2014) adalah 3%. Kedua lembaga ini menggunakan metode Kjeldahl untuk menentukan kadar protein, sehingga keseluruhan protein yang ada pada sampel ikut ditentukan.

Tabel 4. Kadar protein yoghurt dengan variasi perbandingan kultur starter campuran dua bakteri (*L. bulgaricus* : *S. thermophilus*) dan tiga bakteri (*L. bulgaricus* : *S. thermophilus* : *L. acidophilus*) dan waktu inkubasi 12 jam.

Perbandingan kultur starter (Lb:St) atau (Lb:St:La)	Kadar Protein (%b/v)
1:1	0,26
1:4	0,24
4:1	0,23
1:1:1	0,30
1:4:1	0,27
4:1:1	0,28

Tabel 4 menunjukkan bahwa sampel yoghurt yang dibuat pada penelitian ini memiliki kadar protein yang lebih rendah dari standar baik SNI ataupun FSANZ. Kedua standar ini menggunakan metode Kjeldahl untuk menentukan kadar protein, sedangkan pada penelitian ini digunakan metode Lowry (1951), yang hanya dapat mengukur protein terlarut. Karena kebanyakan protein yang terkandung dalam yoghurt tidak dalam bentuk protein terlarut, maka protein yang terukur pada penelitian ini menjadi lebih kecil dibandingkan standar.

Kadar protein sampel yoghurt pada penelitian ini relatif tidak terlalu berbeda antara sampel yang satu dengan yang lain dan berada pada rentang 0,23-0,30% (b/v). Nilai kadar protein pada yoghurt yang dibuat dengan dua kultur bakteri memiliki nilai yang relatif lebih rendah, yaitu pada rentang 0,23-0,26% (b/v), sedangkan yoghurt yang dibuat dengan kultur tiga bakteri berada pada rentang 0,27-0,30% (b/v).

KESIMPULAN

Penambahan *L. acidophilus* pada kultur starter yoghurt yang mengandung dua bakteri (*L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*) memberikan beberapa pengaruh, diantaranya yaitu meningkatkan nilai pH, menurunkan tingkat konsumsi laktosa, menurunkan kadar asam laktat yang dihasilkan serta meningkatkan kadar protein. Hal ini dimungkinkan terjadi karena adanya interaksi antara bakteri-bakteri yang ada pada kultur starter. Penambahan *L. acidophilus* kemungkinan besar memberikan efek inhibisi terhadap kinerja dari kedua bakteri lainnya yang digunakan pada kultur starter, terutama *L. bulgaricus*.

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada U. Juharia dan Maman Tardi sebagai teknisi Laboratorium Biokimia FMIPA Unpad yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Badan Standar Nasional. 2009. SNI 2981:2009 Yogurt.
 Conway, P.L., Gorbach, S.L. & Goldin, B.R. (1987). Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *Journal of Dairy Science*. 70: 1-12.

El-Abbassy, M.Z. & SitoHy, M. (1993). Metabolic interaction between *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in single and mixed starter yoghurt. *Food / Nahrung*. 37(1), 53-58.
 Elli, M., Callegari, M.L., Ferrari, S., Bessi, Elena., Cattivelli, D., Soldi, S., Morelli, L., Feuillerat, N.G. & Antoine, J.-M. (2006). Survival of yogurt bacteria in the human gut. *Applied and Environmental Microbiology*. 72(7), 5113-5117.
 Food Standards Australia New Zealand. 2014. Standard 2.5.3 Fermented milk products.
 Gardini, F., Lanciotti, R., Guerzoni, M.E. & Torriani, S. (1999). Evaluation of aroma production and survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in fermented milks. *International Dairy Journal*. 9.125-134.
 Gomes, A.M.P. & Malcata, F.X. (1999). *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology*. 10, 139-157.
 Lick, S., Drescher, K. & Heller, K. (2001). Survival of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in the terminal ileum of fistulated Göttingen minipigs. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(9), 4137-4143.
 Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193: 25-275.
 Mater, D.D.G., Bretigny, L., Firmesse, O., Flores, M.-J., Mogenet, A., Bresson, J.-L. & Corthier, G. (2005). *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* survive gastrointestinal transit of healthy volunteers consuming yogurt. *FEMS Microbiology Letters*. 250, 185-187.
 Nelson, N. (1944). A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biological Chemistry*. 153: 375-380.
 Rajagopal, S.N. & Sandine, W.E. (1990). Associative growth and proteolysis of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in skim milk. *Journal of Dairy Science*. 73: 894 - 899.
 Safari, A., Rachman, S.D., Kamara, D.S., Suprijana, O., Djajasopena, S., Sutrisna, R. & Ishmayana, S. (2016). Perbandingan kualitas yoghurt yang dibuat dengan kultur dua dan tiga bakteri. Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pembelajaran Kimia. Jatinangor, 12 Mei 2016.
 Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*. 195: 19-23.
 Vinderola, C.G., Mocchiutti, P. & Reinheimer, J. A. (2002). Interactions Among Lactic Acid Starter and Probiotic Bacteria Used for Fermented Dairy Products. *Journal of Dairy Science*. 85: 721-729.