

Uji Aktivitas Antioksidan dan Kadar Asam Laktat Yoghurt Tempe Kedelai (*Glycine max*) dan Yoghurt Tempe Kacang Hijau (*Vigna radiata*)

Antioxidant Activity and Lactic Acid Test of Yoghurt Soybean Tempeh (Glycine max) and Yoghurt Green Bean Tempeh (Vigna radiata)

Fitrotul Af'idah*, Guntur Trimulyono

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

* e-mail: fitrotulafidah@gmail.com

ABSTRAK

Tempe merupakan salah satu produk fermentasi yang memiliki banyak manfaat, salah satunya sebagai antioksidan. Tempe dapat diolah menjadi yoghurt yang dapat meningkatkan kadar antioksidan melalui peningkatan kadar asam laktat selama proses fermentasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis susu, jenis *starter* dan kombinasi jenis susu dan jenis *starter* terhadap aktivitas antioksidan, kadar asam laktat dan pH. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variabel manipulasi jenis susu dan jenis *starter*. Penelitian ini memiliki dua faktor perlakuan yang diulang sebanyak empat kali dan diuji pada jam ke 0, 4, 8, 12. Data dianalisis dengan menggunakan Anova dua arah dan dilanjutkan uji Duncan. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa jenis susu memengaruhi peningkatan kadar asam laktat dan penurunan pH, sehingga aktivitas antioksidan meningkat. Peningkatan kadar asam laktat dipengaruhi oleh jenis *starter* bakteri yang digunakan. Kombinasi jenis susu dan jenis *starter* dapat memengaruhi peningkatan kadar asam laktat dan penurunan pH. Hasil Duncan menunjukkan bahwa susu tempe kedelai dan susu tempe kacang hijau memiliki hasil terbaik terhadap aktivitas antioksidan dan kadar asam laktat, sedangkan interaksi antara jenis susu dan jenis *starter* menunjukkan susu tempe kacang hijau memiliki nilai terbaik.

Kata kunci: tempe; yoghurt; aktivitas antioksidan; kadar asam laktat; pH

ABSTRACT

Tempeh is one of the fermentation products that have many benefits, one of them as an antioxidant. In processing tempeh into yoghurt can increase levels of antioxidants through increased of lactic acid during fermentation process. The purpose of this research was to describe the influence of milk type, starter type and combination of milk type and starter type to antioxidant activity, lactic acid level and pH. This research used Completely Random Design. The variable manipulation were milk type and starter type. It has two factor treatment with four times repeated and tested at 0, 4, 8, 12 hours. Data were analyzed using two-way Anova and followed Duncan test. The results showed that the kind of milk affects increased levels of lactic acid and decreased of pH, so that antioxidant activity increases. Increasing levels of lactic acid are affected by the kind of bacterial starter used. The combination of milk type and starter type can influenced levels of lactic acid and decreased of pH. The Duncan test showed that the soybean tempeh milk, green bean tempeh milk, and skim milk had greatest result to antioxidant activity and lactic acid level, whereas interaction between the kind of milk and starter showed that green bean tempeh milk has greatest result than other kind milk.

Key words: tempeh; yoghurt; antioxidant activity; lactic acid level; pH

PENDAHULUAN

Tempe merupakan salah satu makanan tradisional yang berasal dari Indonesia dan sudah lama dikenal selama berabad-abad silam. Makanan ini telah diproduksi dan dikonsumsi secara turun temurun oleh masyarakat Indonesia, khususnya di daerah Jawa Tengah dan sekitarnya (Nout dan Kiers, 2005). Tempe merupakan makanan yang terbuat dari kedelai atau beberapa bahan lain, kemudian difermentasi yang secara umum dikenal menggunakan ragi tempe. Melalui

proses fermentasi, kedelai mengalami proses penguraian menjadi senyawa sederhana sehingga mudah dicerna oleh tubuh (Ika, 2013).

Tempe memiliki beberapa karakteristik menguntungkan yaitu aktivitas antioksidan, salah satu antioksidan ada di tempe berupa isoflavin. Antioksidan merupakan suatu molekul yang mampu menghambat molekul oksidasi lainnya, sehingga reaksi oksidasi ini dapat menghasilkan radikal bebas yang mengakibatkan reaksi berantai dan dapat merusak sel. Reaksi berantai ini mampu

dihentikan oleh antioksidan dengan cara menghapus intermediet radikal bebas dan menghambat reaksi oksidasi lainnya (Shebis *et al.*, 2013).

Yoghurt merupakan salah satu sumber probiotik yang mengalami proses fermentasi oleh mikrobial bakteri asam laktat. Yoghurt juga terbukti memiliki manfaat dalam mengatasi gangguan saluran cerna dan mencegah kanker. Yoghurt merupakan sumber vitamin dan mineral yang baik bagi tubuh. Susu sapi yang difermentasi terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan susu murni (Samichah, 2014). Dalam fermentasi yoghurt, jumlah asam yang diekskresikan oleh bakteri asam laktat akan meningkat dikarenakan adanya proses akumulasi asam dalam substrat, meningkatnya keasaman dalam substrat ini ditandai dengan menurunnya pH substrat, sehingga meningkatnya jumlah asam laktat dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (Widowati dan Misgiyarta, 2002).

Penelitian menurut Pattorn *et al.* (2012) menunjukkan bahwa terdapat beberapa manfaat yoghurt, seperti sebagai antioksidan, antitrombotik, antimikroba, imunomodulator, mengikat ion, atau kualitas *angiotensin-converting enzyme inhibitor* yang memiliki efek menguntungkan pada fungsi tubuh pada manusia. Dalam penelitian ini dilakukan pembuatan tempe dengan bahan dasar kedelai dan kacang hijau, tempe ini kemudian diolah menjadi yoghurt untuk diuji aktivitas antioksidan dan kadar asam laktat. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis susu, jenis *starter* dan kombinasi jenis susu dan jenis *starter* terhadap aktivitas antioksidan, kadar asam laktat dan pH pada lama inkubasi jam ke-0, 4, 8 dan 12.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dan dilakukan pada bulan Maret-Mei 2107 di Laboratorium Mikrobiologi gedung C9 dan Laboratorium Fisiologi gedung C10 FMIPA Universitas Negeri Surabaya. Penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan, tahap pertama yaitu pembuatan tempe kedelai dan tempe kacang hijau. Pembuatan tempe dilakukan dengan dua kali perendaman dan dua kali perebusan. Biji kedelai direndam selama dua jam dan direbus selama 30 menit. Kedelai direndam lagi selama 24 jam dan direbus selama 30 menit, kemudian ditiriskan lalu diberi ragi tempe sebanyak 1 gram. Kedelai dibungkus dan difermentasi selama 48 jam.

Tahapan kedua yaitu pembuatan susu tempe dengan cara tempe dipotong menjadi dadu dan direbus selama 10 menit, tempe kemudian

ditiriskan dan dihaluskan dengan menggunakan blender dengan penambahan air hangat 1:3. Bubur tempe kemudian disaring dan hasil saringan direbus selama 5 menit pada suhu 90°C. Tahap ketiga adalah perbanyak *starter* yoghurt yang digunakan, yaitu yoghurt komersial dengan tiga strain bakteri (*Bifidobacterium*, *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*) dan empat strain bakteri (*Bifidobacterium*, *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* serta *L. acidophilus*) yang diinokulasikan sebanyak 25 ml ke dalam 50 ml susu tempe kemudian difermentasi selama 8 jam pada suhu 40°C.

Tahap keempat yaitu pembuatan yoghurt tempe dengan cara susu tempe ditambah dengan susu skim sebanyak 15% kemudian direbus selama 15-30 menit. Susu tempe kemudian didiamkan sampai suhu 40°C dan diinokulasi secara aseptis dengan *starter* sebanyak 5% dari volume susu, lalu diinkubasi pada suhu 40°C dan diamati pada jam ke-0, 4, 8 dan 12 untuk diuji aktivitas antioksidan, kadar asam laktat, dan pH.

Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, sedangkan uji kadar asam laktat dilakukan menggunakan metode Titrimetri NaOH 0,01N dengan rumus:

$$\text{Kadar Asam Laktat}(\%) = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times 90}{\text{Bobot sampel} \times 1000} \times 100\%$$

V NaOH: Volume titrasi

N NaOH: Normalitas larutan NaOH yang digunakan sebagai titer

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan uji peredaman warna DPPH 0,1 mM. Pengujian ini dilakukan penambahan 1 ml 0,1 mM DPPH dan ditambahkan 5 ml methanol, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex kecepatan 5000rpm dan disimpan diruang gelap selama 30 menit. Pengujian dilakukan dengan spektrofotometer Uv-Vis panjang gelombang 517 nm. Hasil uji aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus:

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

HASIL

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, data mengenai uji aktivitas antioksidan dan kadar asam laktat yoghurt tempe kedelai (*Glycine max*) dan yoghurt tempe kacang hijau (*Vigna radiata*) diperoleh peningkatan kadar asam laktat dan penurunan pH, sehingga memicu peningkatan aktivitas antioksidan. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada jam ke-0, 4, 8 dan 12 dengan menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Jenis susu pada lama inkubasi jam ke-0, 8, dan 12 berbeda nyata terhadap aktivitas antioksidan ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil Duncan,

susu skim berbeda nyata terhadap susu tempe kedelai dan susu tempe kacang hijau. Hasil uji Duncan susu tempe kedelai, susu tempe kacang hijau, dan susu skim pada inkubasi jam ke-4 memiliki hasil yang tidak signifikan, sehingga pada jam ke-4 jenis susu tidak berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Hasil uji Duncan disajikan pada Tabel 1.

Jenis *starter* pada lama inkubasi jam ke-0, 4, 8, dan 12 memiliki nilai tidak signifikan yang menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh nyata antara variabel independen jenis *starter* terhadap aktivitas antioksidan ($p > 0,05$) sehingga tidak dilanjutkan pada uji beda nyata Duncan. Hasil uji Duncan pada Tabel 2 dalam bentuk notasi ns menunjukkan tidak ada pengaruh jenis *starter* terhadap aktivitas antioksidan.

Kombinasi jenis susu dan jenis *starter* pada jam ke-0, 4, 8, dan 12 memiliki nilai tidak signifikan yang menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh nyata antara variabel independen kombinasi jenis susu dan jenis *starter* terhadap aktivitas antioksidan ($p > 0,05$) sehingga tidak dilanjutkan pada uji beda nyata Duncan. Hasil uji Duncan kombinasi jenis susu dan jenis *starter* disajikan dalam Tabel 3.

Jenis susu pada lama inkubasi jam ke-0, 4, 8, dan 12 menunjukkan adanya pengaruh terhadap kadar asam laktat ($p < 0,05$) sehingga dilanjutkan uji beda nyata Duncan. Berdasarkan hasil Duncan, susu skim berbeda nyata terhadap susu tempe kedelai dan susu tempe kacang hijau, data tersebut disajikan pada Tabel 4.

Jenis *starter* pada lama inkubasi jam ke-0, 4, 8, dan 12 memiliki nilai tidak signifikan yang menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh nyata antara variabel independen jenis *starter* terhadap kadar asam laktat ($p > 0,05$) sehingga tidak dilanjutkan pada uji beda nyata Duncan. Pengaruh jenis *starter* terhadap kadar asam laktat dinotasikan ns yang menunjukkan tidak adanya pengaruh nyata jenis susu terhadap kadar asam laktat yang disajikan pada Tabel 5.

Kombinasi jenis susu dan jenis *starter* memiliki nilai yang signifikan pada lama inkubasi jam ke-0 dan 4 ($p < 0,05$) sehingga dilanjutkan uji Duncan. Berdasarkan hasil uji Duncan menunjukkan adanya perbedaan nyata pada susu tempe kedelai, susu tempe kacang hijau, dan susu skim dengan penambahan tiga strain bakteri dan empat strain bakteri. Berdasarkan uji Anova kombinasi jenis susu dan jenis *starter* pada lama inkubasi jam ke-8 dan 12 tidak berpengaruh nyata terhadap kadar asam laktat ($p > 0,05$) sehingga tidak dilanjutkan pada uji Duncan. Nilai paling optimal ditunjukkan pada jenis susu tempe kacang hijau terhadap kadar asam laktat dengan penambahan empat strain bakteri pada inkubasi jam ke-4. Data hasil uji Duncan disajikan pada Tabel 6.

Hasil uji pH susu tempe kedelai, susu tempe kacang hijau, dan susu skim menggunakan pH meter, menunjukkan adanya penurunan pada lama waktu inkubasi jam ke-0, 4, 8, dan 12 dengan penambahan tiga strain bakteri maupun empat strain bakteri. Hasil nilai pH ditunjukkan pada Tabel 7.

Tabel 1 Hasil uji Duncan pengaruh aktivitas antioksidan pada susu tempe kedelai, susu tempe kacang hijau, dan susu skim

Jenis Susu	Lama Waktu Inkubasi			
	0	4	8	12
Susu Tempe Kedelai	68,40±5,53 ^b	71,97±8,95 ^{ns}	81,36±7,97 ^b	72,03±9,96 ^b
Susu tempe kacang Hijau	70,42±5,03 ^b	72,99±8,22 ^{ns}	82,60±4,53 ^b	74,25±13,86 ^b
Susu Skim	60,61±6,47 ^a	63,93±3,18 ^{ns}	65,52±6,66 ^a	57,17±6,49 ^a

Keterangan:

- Notasi a dan b menunjukkan ada tidaknya perbedaan nyata jenis susu dan waktu inkubasi terhadap aktivitas antioksidan dengan tingkat signifikansi ($\alpha = 0,05$).
- Notasi ns menunjukkan hasil uji Anova tidak signifikan ($\alpha > 0,05$) dan tidak dilanjutkan ke uji Duncan.

Tabel 2 Hasil uji Duncan pengaruh aktivitas antioksidan pada berbagai jenis *starter*

Jenis <i>Starter</i>	Lama Waktu Inkubasi			
	0	4	8	12
3 Strain Bakteri	64,90±8,08 ^{ns}	68,29±5,48 ^{ns}	74,77±10,53 ^{ns}	64,95±11,87 ^{ns}
4 Strain Bakteri	68,05±5,53 ^{ns}	70,99±10,10 ^{ns}	78,23±9,81 ^{ns}	70,67±13,38 ^{ns}

Keterangan:

- Notasi ns menunjukkan hasil uji Anova tidak signifikan ($\alpha > 0,05$) dan tidak dilanjutkan ke uji Duncan.

Tabel 3 Hasil uji Duncan pengaruh aktivitas antioksidan pada kombinasi jenis susu dan jenis *starter*

Perlakuan		Lama Waktu Inkubasi			
Jenis <i>Starter</i>	Jenis Susu	0	4	8	12
3 Strain Bakteri	Susu Tempe Kedelai	65,99±5,95 ^{ns}	70,66±3,27 ^{ns}	79,82±6,52 ^{ns}	68,01±6,45 ^{ns}
	Susu Tempe Kacang hijau	69,97±6,42 ^{ns}	71,96±4,18 ^{ns}	81,33±5,27 ^{ns}	70,03±18,29 ^{ns}
	Susu Skim	58,74±8,72 ^{ns}	62,24±2,74 ^{ns}	63,15±8,05 ^{ns}	56,82±2,30 ^{ns}
	4 Strain Bakteri	Susu Tempe Kedelai	70,81±4,54 ^{ns}	73,28±13,09 ^{ns}	82,90±9,97 ^{ns}
	Susu Tempe Kacang hijau	70,87±4,14 ^{ns}	74,02±11,72 ^{ns}	83,88±3,96 ^{ns}	78,46±8,16 ^{ns}
	Susu Skim	62,48±3,48 ^{ns}	70,99±10,10 ^{ns}	67,90±4,86 ^{ns}	57,52±9,63 ^{ns}

Keterangan:

- Notasi ns menunjukkan hasil uji Anova tidak signifikan ($\alpha > 0,05$) dan tidak dilanjutkan ke uji Duncan.

Tabel 4 Hasil uji Duncan kadar asam laktat pada susu tempe kedelai, susu tempe kacang hijau, dan susu skim

Jenis Susu	Waktu Inkubasi			
	0	4	8	12
Susu Tempe Kedelai	0,42±0,11 ^b	0,53±0,08 ^b	0,92±0,34 ^b	1,39±0,21 ^b
Susu tempe kacang Hijau	0,35±0,06 ^b	0,57±0,14 ^b	0,69±0,05 ^b	0,80±0,12 ^b
Susu Skim	0,20±0,03 ^a	0,20±0,06 ^a	0,62±0,34 ^a	0,49±0,19 ^a

Keterangan:

- Notasi a dan b menunjukkan ada tidaknya perbedaan nyata jenis susu dan waktu inkubasi terhadap aktivitas antioksidan dengan tingkat signifikansi ($\alpha = 0,05$).

Tabel 5 Hasil uji Duncan pengaruh kadar asam laktat pada berbagai jenis *starter*

Jenis <i>Starter</i>	Lama Waktu Inkubasi			
	0	4	8	12
3 Strain Bakteri	0,34±0,13 ^{ns}	0,42±0,15 ^{ns}	0,57±0,29 ^{ns}	1,04±0,41 ^{ns}
4 Strain Bakteri	0,31±0,09 ^{ns}	0,45±0,24 ^{ns}	0,69±0,39 ^{ns}	0,74±0,38 ^{ns}

Keterangan:

- Notasi ns menunjukkan hasil uji Anova tidak signifikan ($\alpha > 0,05$) dan tidak dilanjutkan ke uji Duncan.

Tabel 6 Hasil uji Duncan pengaruh kadar asam laktat pada kombinasi jenis susu dan jenis starter

Perlakuan		Lama Waktu Inkubasi			
Jenis Starter	Jenis Susu	0	4	8	12
3 Strain Bakteri	Susu Tempe Kedelai	0,50±0,64 ^c	0,56±0,11 ^b	0,73±0,41 ^{ns}	1,58±0,23 ^{ns}
	Susu Tempe Kacang hijau	0,30±0,03 ^b	0,44±0,06 ^c	0,65±0,02 ^{ns}	0,89±0,04 ^{ns}
	Susu Skim	0,21±0,03 ^a	0,25±0,04 ^a	0,29±0,01 ^{ns}	0,66±0,04 ^{ns}
4 Strain Bakteri	Susu Tempe Kedelai	0,34±0,08 ^b	0,50±0,04 ^b	1,11±0,09 ^{ns}	1,20±0,08 ^{ns}
	Susu Tempe Kacang hijau	0,39±0,03 ^b	0,69±0,02 ^c	0,73±0,05 ^{ns}	0,70±0,07 ^{ns}
	Susu Skim	0,19±0,02 ^a	0,14±0,02 ^a	0,21±0,03 ^{ns}	0,32±0,13 ^{ns}

Keterangan:

- Notasi a, b dan c menunjukkan ada tidaknya perbedaan nyata jenis susu dan waktu inkubasi terhadap aktivitas antioksidan dengan tingkat signifikansi ($\alpha = 0,05$).
- Notasi ns menunjukkan hasil uji Anova tidak signifikan ($\alpha > 0,05$) dan tidak dilanjutkan ke uji Duncan.

Tabel 7 Hasil uji pH yoghurt tempe kedelai, yoghurt tempe kacang hijau, dan yoghurt susu skim

Perlakuan		Lama Waktu Inkubasi			
Jenis Starter	Jenis Susu	0	4	8	12
3 Strain Bakteri	Susu tempe kedelai	6,3	5,5	4,5	3,3
	Susu tempe kacang hijau	5,6	4,7	4,1	3,3
	Susu skim	6,6	5,7	4,7	3,5
4 Strain Bakteri	Susu tempe kedelai	6,5	5,8	4,6	3,7
	Susu tempe kacang hijau	5,7	5,1	4,3	3,4
	Susu skim	6,8	5,9	4,9	4,3

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji Anova dua arah menunjukkan bahwa jenis susu berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan ($p < 0,05$), hal tersebut dinyatakan dengan hasil uji Duncan pada fermentasi jam ke-0, 8 dan 12 yang menunjukkan adanya perbedaan nyata jenis susu terhadap aktivitas antioksidan. Hal ini dikarenakan susu tempe memiliki kandungan isoflavon penghasil antioksidan alami seperti glycitein, genistein dan daidzein. Saat kedelai mengalami fermentasi isoflavon ditemukan dalam bentuk aglikon (Astuti, 2008).

Suprpti (2003) menyatakan bahwa tempe merupakan sumber protein nabati yang dibuat melalui proses fermentasi oleh jamur *Rhizopus* sp. Jamur tersebut menghasilkan berbagai enzim amilase, lipase, dan protease yang menghidrolisis makronutrien menjadi senyawa larut air yang lebih sederhana. Kedelai dan kacang hijau yang dibuat tempe mengandung galaktooligosakarida (GOS) dan fruktooligosakarida (FOS) yang merupakan sumber prebiotik untuk pertumbuhan

bakteri asam laktat (probiotik). Tempe dapat diolah menjadi susu tempe yang rendah lemak, selain itu susu tempe dapat digolongkan menjadi minuman fungsional dengan kandungan zat bioaktifnya tinggi (Suryani *et al.*, 2010).

Meningkatnya aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh meningkatnya kadar asam laktat, hal tersebut dibuktikan dengan nilai rata-rata hasil uji Duncan kombinasi jenis susu dan jenis starter terhadap aktivitas antioksidan dan kadar asam laktat (Tabel 3; Tabel 6). Kadar asam laktat dihasilkan oleh bakteri asam laktat selama proses fermentasi mengalami peningkatan dan pH mengalami penurunan. Susu tempe kedelai, susu tempe kacang hijau maupun susu skim mengalami peningkatan kadar asam laktat dan penurunan pH selama proses fermentasi. Dengan bertambahnya waktu inkubasi (Tabel 7), aktivitas mikroba semakin meningkat dan jumlah mikroba semakin banyak sehingga mengakibatkan pH menurun. Penurunan pH membuktikan bahwa terjadi perubahan kimia dari gula (sukrosa, glukosa, laktosa) menjadi asam (Muawanah, 2007).

Berdasarkan uji Anova jenis susu pada fermentasi jam ke-0, 4, 8, dan 12 menunjukkan bahwa adanya pengaruh nyata antara jenis susu, susu tempe kedelai, dan susu tempe kacang hijau terhadap kadar asam laktat ($p < 0,05$), kemudian data tersebut dilanjutkan pada uji Duncan (Tabel 4). Berdasarkan hasil uji Duncan, susu skim berbeda nyata dengan susu tempe kedelai dan susu tempe kacang hijau. Perbedaan jenis susu terhadap kadar asam laktat ini dikarenakan adanya perbedaan kandungan laktosa pada jenis susu yang berbeda, sehingga memengaruhi laju perpecahan sintesis asam laktat dan laktosa (Prayitno, 2006). Sementara kadar asam laktat terendah yaitu pada yoghurt susu skim (kontrol), hal ini dikarenakan susu skim memiliki kadar laktosa yang lebih tinggi daripada jenis susu yang lain. Susu skim merupakan serum susu yang sudah tidak mengandung lemak sehingga enzim laktase berperan dalam menguraikan laktosa menjadi asam laktat (Saleh, 2004).

Susu tempe memiliki kandungan karbohidrat lebih tinggi dibandingkan susu sapi. Saat susu tempe diolah menjadi yoghurt, selama fermentasi karbohidrat dalam susu tempe akan dipecah oleh bakteri asam laktat untuk menghasilkan asam laktat sebagai produk utama (Mozzi, 2016). Karbohidrat yang terkandung dalam kedelai dan kacang hijau mengandung dinding sel polisakarida utama dan sedikit gula seperti fruktosa, stakiosa dan rafinosa. Gula rendah ini dikeluarkan selama proses fermentasi (Egounlety dan Aworh, 2003).

Jenis *starter* merupakan beberapa bakteri asam laktat (probiotik) yang digunakan dalam fermentasi yoghurt. Meningkatnya kadar asam laktat pada yoghurt dipengaruhi oleh aktivitas bakteri asam laktat. Dalam penelitian ini, digunakan penambahan jenis *starter* tiga strain bakteri asam laktat dan empat strain bakteri asam laktat yang kemudian difermentasi selama 12 jam. Berdasarkan hasil uji Anova dua arah jenis *starter* menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata antara jenis bakteri dengan aktivitas antioksidan ($p > 0,05$) selama proses fermentasi, begitu juga dengan hasil pengujian Anova jenis *starter* terhadap kadar asam laktat yang menunjukkan tidak adanya pengaruh nyata jenis *starter* terhadap kadar asam laktat ($p > 0,05$).

Hasil yang menunjukkan tidak adanya pengaruh nyata jenis *starter* bakteri terhadap aktivitas antioksidan yang ditunjukkan pada Tabel 2 dikarenakan peningkatan aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh meningkatnya kadar asam laktat dan ditandai dengan menurunnya nilai pH. Jenis *starter* mempengaruhi kadar asam laktat selama

proses fermentasi. Bakteri asam laktat dalam yoghurt mampu menghasilkan asam laktat sebagai produk metabolisme selama fermentasi. Asam organik yang dihasilkan akan menyebabkan pH menjadi rendah, akan tetapi meningkatnya kadar asam laktat memicu meningkatnya aktivitas antioksidan (Widowati dan Misgiyarta, 2002).

Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan bahwasannya tidak ada pengaruh jenis *starter* terhadap kadar asam laktat ($p > 0,05$) pada lama inkubasi jam ke-0, 4, 8, dan 12, hal ini dikarenakan susu tempe kedelai dan susu tempe kacang hijau memiliki kandungan gula yang banyak berupa glukosa, hal ini menunjukkan adanya kandungan oligosakarida (GOS dan FOS) pada kedelai dan kacang hijau (Kusumaningrum, 2011). Bakteri asam laktat memerlukan waktu adaptasi dan energi untuk menghasilkan enzim dalam memecah oligosakarida menjadi monosakarida yang nantinya di pecah menjadi glukosa. Glukosa kemudian akan digunakan dalam fermentasi asam laktat, sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama (Murti, 2003). Susu skim mengandung kadar laktosa yang sangat tinggi dibandingkan susu yang lain. Kandungan laktosa yang tinggi dapat memengaruhi kadar asam laktat, hal ini disebabkan adanya interaksi antara konsentrasi susu skim yang tinggi dan konsentrasi glukosa yang tinggi. Sel bakteri kemudian akan mengalami lisis akibat perbedaan tekanan osmotik, sehingga tidak memengaruhi kadar asam laktat secara nyata (Jene *et al.*, 2004).

Tabel 5 menunjukkan penggunaan kultur bakteri yang berbeda tidak memengaruhi kadar asam laktat yang dihasilkan. Hasil penambahan tiga strain bakteri dan empat strain bakteri ke dalam yoghurt menunjukkan bahwa tidak adanya pengaruh peningkatan kadar asam laktat yang dihasilkan baik dengan penambahan tiga strain bakteri maupun empat strain bakteri. Namun, kadar asam laktat yang dihasilkan dengan penambahan empat strain bakteri menghasilkan kadar asam laktat lebih sedikit daripada penambahan tiga strain bakteri. Produksi asam laktat yang sedikit ini dikarenakan produksi asam laktat akan menurun seiring menurunnya aktivitas bakteri asam laktat yang hidup. Penurunan asam laktat dikarenakan adanya senyawa organik yang mudah menguap dan hilang ketika proses fermentasi.

Menurut Rachman *et al.* (2015) menyatakan bahwa kultur bakteri yang lebih banyak dapat menurunkan aktivitas bakteri dalam menghasilkan asam laktat karena adanya persaingan antar bakteri asam laktat, hal tersebut menyebabkan hanya bakteri asam laktat tertentu

yang mampu bertahan hidup dan menghasilkan asam laktat. Bakteri asam laktat yang dapat bertahan hidup dalam menghasilkan asam laktat menyebabkan produksi asam laktat menjadi berkurang. Lama fermentasi juga memengaruhi terhadap produk yang dihasilkan, yaitu semakin lama waktu inkubasi maka semakin banyak substrat yang mampu dirombak oleh *starter*. Nilai pH berbanding terbalik dengan nilai asam laktat, semakin rendah nilai pH maka semakin tinggi nilai asam laktat.

Lactobacillus bulgaricus, *L. acidophilus* dan *S. thermophilus* berperan dalam mempercepat proses pembentukan asam laktat, *S. thermophilus* berperan dalam menghasilkan cita rasa asam sedangkan *L. bulgaricus* berperan dalam menghasilkan aroma melalui produksi asam laktat dan asetaldehida. Pada awal fermentasi *S. thermophilus* tumbuh lebih dahulu dan menciptakan suasana asam pada media, kemudian sekitar pH 5,5 *L. bulgaricus* mulai tumbuh. Asam yang dihasilkan dari metabolisme *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* terakumulasi bersama dengan asam yang diproduksi oleh *L. acidophilus* sehingga menciptakan keasaman yang tinggi dengan nilai pH rendah (Sunarlim dan Usmiati, 2010). *Bifidobacterium* merupakan kelompok bakteri asam laktat yang memfermentasi laktosa untuk menghasilkan asam laktat dan asam asetat dengan rasio 2:3 tanpa menghasilkan CO₂, selain itu bakteri ini dapat memfermentasi laktosa, galaktosa dan beberapa pentosa (Soepandi dan Wardah, 2014).

Jenis susu dan jenis *starter* digunakan dalam menentukan kualitas yoghurt menentukan keberhasilan produk asam laktat, hal tersebut tergantung pada penggunaan bakteri asam laktat. Data penelitian penggunaan jenis susu dan jenis *starter* yang berbeda memengaruhi kadar asam laktat dan aktivitas antioksidan. Berdasarkan Tabel 3 hasil uji Anova dua arah menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh kombinasi antara jenis susu dan jenis bakteri terhadap aktivitas antioksidan. Akan tetapi, hasil uji Anova dua arah menunjukkan adanya pengaruh nyata kombinasi antara jenis susu dan jenis *starter* terhadap kadar asam laktat pada jam ke-0 dan jam ke-4 yang ditunjukkan pada Tabel 6. Hal ini tidak sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa meningkatnya kadar asam laktat memengaruhi peningkatan aktivitas antioksidan. Penurunan aktivitas antioksidan disebabkan karena selama proses fermentasi terjadi peningkatan senyawa organik, akibatnya bakteri asam yang dapat menyebabkan ferol menjadi stabil sehingga sulit melepaskan proton yang berikatan dengan DPPH (Mutiar, 2014). Penurunan aktivitas antioksidan

juga disebabkan oleh penurunan pH. Semakin berada pada suasana asam, aktivitas antioksidan semakin menurun. Pada pH rendah kemampuan ion hidrogen dalam medium yang berfungsi sebagai donor elektron untuk menstabilkan radikal bebas, mulai berkurang (Pelealu, 2011).

Jenis susu dan *starter* saling berkaitan dalam pembentukan yoghurt selama fermentasi. Komponen susu yang paling berperan dalam pembuatan yoghurt adalah laktosa dan kasein. Laktosa digunakan sebagai sumber energi dan karbon bagi pertumbuhan bakteri asam laktat selama proses pembentukan yoghurt yang akan menghasilkan asam laktat. Terbentuknya asam laktat dari hasil fermentasi laktosa menyebabkan keasaman pada susu menjadi meningkat dan nilai pH menjadi menurun (Rukmana, 2001).

Ha *et al.*, (2003) mengatakan bahwa pertumbuhan bakteri asam laktat dipengaruhi oleh pH, suhu dan kandungan nutrisi media pertumbuhan. Jenis susu dan jenis *starter* yang berbeda berpengaruh terhadap kadar asam laktat yoghurt hasil penelitian ($p < 0,05$) yang ditunjukkan pada Tabel 6. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tamime dan Robinson (1989), yaitu bahwa jenis susu dan bakteri asam laktat yang digunakan sebagai *starter*, menentukan kualitas yoghurt, terutama jumlah mikroba hidup dan keasaman yoghurt. Menurut Surono (2004), fermentasi melibatkan metabolisme laktosa, disakarida dalam susu menjadi asam laktat. Untuk menghasilkan susu fermentasi yang baik perlu diperhatikan kultur *starter* yang tepat, kondisi fermentasi dan susu yang bermutu.

SIMPULAN

Susu tempe kedelai, susu tempe kacang hijau dan susu skim memengaruhi kadar asam laktat, pH dan aktivitas antioksidan selama proses fermentasi menjadi yoghurt. Jenis susu memengaruhi selama proses fermentasi dalam perombakan laktosa menjadi asam laktat. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan jumlah laktosa pada susu yang menyebabkan perbedaan kadar asam laktat dan pH, sehingga memengaruhi aktivitas antioksidan. Jenis *starter* bakteri tidak mempengaruhi kadar asam laktat dan pH, dan aktivitas antioksidan. *Starter* dengan tiga jenis bakteri asam laktat mampu menghasilkan kadar asam laktat yang lebih tinggi dan penurunan pH lebih cepat dibandingkan dengan empat jenis bakteri. Kombinasi jenis susu dan jenis *starter* tidak memengaruhi aktivitas antioksidan, namun memengaruhi kadar asam laktat pada jam ke-0 dan 4 dan penurunan pH selama proses fermentasi. Laktosa dalam susu mampu dirombak oleh bakteri

asam laktat sehingga menghasilkan kadar asam laktat. Meningkatnya kadar asam laktat yang dihasilkan bakteri asam laktat mampu menurunkan pH dan meningkatkan aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti S, 2008. Isoflavon Kedelai Dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil pertanian Vol 13 (1)*: 126-136.
- Egounlety M, dan Aworh OC. 2003. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and ground bean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). *J Food Eng* 56:249-254.
- Ha MY, Kim SW, Lee YW, Kim MY, dan Kim SJ, 2003. Kinetic analysis of growth and lactic acid production in pH control batch cultures of *Lactobacillus casei* KH-1 using yeast extract/corn steep liquor/ glucose medium. *Journal Bioscience and Bioengineering Vol 96*: 134-140.
- Ika ME, Reftiana A, Puji AS, Harti, Kusumawati, 2013. Pemanfaatan Bakteri Asam Laktat dalam Proses Pembuatan Tahu dan Tempe untuk Peningkatan Kadar Isoflavon, Asam Linoleat dan Asam Linolenat. *Jurnal KesMaDaSka, Vol 4(2):IV+62*.
- Jene, Hardoko, Ratnawati L S, Margaretha E. 2004. Pengaruh Konsentrasi Glukosa dan Susu Skim Terhadap Fermentasi Susu Koro Begog (*Canavalia ensiformis*) Menggunakan *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan Vol 2 (1):1-5*.
- Kusumaningrum AP, 2011. Kajian Total Bakteri Probiotik dan Aktivitas Antioksidan Yoghurt tempe dengan Variasi Substrat. *Skripsi*. Universitas Sebelas Maret: Surakarta.
- Muawanah A, 2007. Pengaruh Lama Inkubasi dan Variasi Starter terhadap Kadar Gula, Asam Laktat, Total Asam dan pH Yoghurt Susu Kedelai. *Jurnal Kimia Valensi: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia Vol 1 (1):1-6*.
- Murtri, 2003. *Evaluasi Komposisi Kimia Susu Kambing Segar yang Difortifikasi Bakteri Asam Laktat dengan kehadiran Ekstrak Susu Kedelai*. Prosiding Seminar Pemerintah Daerah Jawa Tengah, 25-38.
- Mutiara DL, 2014. Pengaruh Fermentasi Dan Konsentrasi Ekstrak daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) Terhadap Aktivitas Antioksidan Kombucha. *Skripsi*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Mozzi F, 2016. *Encyclopedia Of Food and Health: Lactic Acid Bacteria Vol 3*. (B. Caballero, P. M. Finglas, and F. Toldra, Eds.) Oxford: Elsevier Ltd.
- Nout MJR, Kiers J, 2005. Tempe fermentation, innovation and functionality: update into the third millenium. *Journal of Applied Microbiology* 98: 789-805.
- Pealeu K, Pontoh J, Suryanto E, 2011. Pengaruh Pemanasan Terhadap Aktivitas Antioksidan Dalam Pembuatan Gula Aren. *Chem. Prog Vol 4 (2)*: 60-65.
- Pattorn S, Horimoto Y, Hongsprabhas P, dan Yada, 2012. Influence of aggregation on the antioxidative capacity of milk peptides. *Int. Dairy J.* 25:3-9.
- Prayitno, 2006. Kadar Asam Laktat dan Laktosa Yogurt Hasil Fermentasi Menggunakan Berbagai Rasio Jumlah Sel Bakteri dan Persentase Starter. *Jurnal Animal Production, Vol 8 (2)*: 131-136.
- Rachman S, Djajasoepena S, Kamara D, Idar I, Sutrisna R, Safari A, Suprijana O, dan Ishmayana S, 2015. Kualitas Yoghurt Yang Dibuat Dengan Kultur Dua (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) dan Tiga Bakteri (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus acidophilus*). *Chimica et Natura Acta, Vol.3 (2)*: 76-79.
- Rukmana R, 2001. *Yoghurt dan Karamel Susu*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Saleh E, 2004. Teknologi Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak. *Dalam Jurnal Program Studi Produksi Ternak Fakultas Peternakan USU*.
- Samichah, 2014. Aktivitas Antioksidan dan Penerimaan Organoleptik Yoghurt Sari Wortel (*Daucus carota* L.). *Artikel Penelitian*. Program Gizi Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro: Semarang.
- Shebis Y, Iluz D, Kinel-Tahan Y, Dubinsky Z, Yoheshua Y, 2013. Natural Antioxidant: Function and Sources. *Journal Food and Nutrition Sciences, Vol 4:643-649*
- Sopandi T, dan Wardah, 2014. *Mikrobiologi Pangan (Teori dan Praktik)*. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Sunarlim R, dan S Usmiati, 2010. *Kombinasi Beberapa Bakteri Asam Laktat Terhadap Karakteristik Yogurt*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor.
- Suprpti ML, 2003. *Pembuatan Tempe*. Kanisius: Yogyakarta.
- Surono IS, 2004. *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan*. YAPMMI: Jakarta.
- Suryani I, Santoso A, Juffrie M, 2010. Penambahan Agar-Agar dan Pengaruhnya Terhadap Kestabilan dan Daya Terima Susu Tempe pada Mahasiswa Politeknik Kesehatan Jurusan Gizi. Yogyakarta. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia, Vol 7 (2)*: 1-5.
- Tamimie AY, dan Robinson RK, 1989. *Yogurt Science and Technology*. Pergamos Press
- Widowati dan Misgiyarta. 2002. Efektifitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein/Susu Nabati. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*.