

## **EFEKTIVITAS SARI KEDELAI HITAM (*Glycine soja sieb*) SEBAGAI BAHAN PANGAN FUNGSIONAL**

**Nunung Kurniasih<sup>1</sup>, Tina Dewi Rosahdi<sup>2</sup>, Nunik Rahmawati Rahman<sup>3</sup>**

<sup>1,2,3</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Gunung Djati, Jl. AH Nasution No 105, Bandung, 40614

nunung.kurniasih@uinsgd.ac.id

### **ABSTRACT**

**EFFECTIVENESS OF THE BLACK SOYBEAN EXTRACTS AS A FUNCTIONAL FOOD.** *Black soybean (*Glycine soja sieb*) has potential as functional food. This is because it have carbohydrates as a source of nutrition (prebiotic) for lactic acid bacteria (probiotic). This research was to determine the effectiveness of the black soybeans extracts as a medium for the growth of lactic acid bacteria, namely *Lactobacillus lactis*. Sampling is done on fermentation at the 0, 24, 48 and 72 for analysis of total acid, glucose levels and the number of bacteria. Analysis of the levels of lactic acid by qualitative and quantitative methods tertitrasi while total acid, glucose levels by methods Luff Schoorl and the number of bacteria using UV-Vis spectrophotometer. Fermentation extracts black soybeans by *Lactobacillus lactis* for 72 hours of earned value increased lactic acid levels. Reducing sugar content of both the substrate decreases. The number of bacteria *Lactobacillus lactis* increased to 72 hours. From the data obtained is known that black soybean extract is effective as a functional food.*

*Keywords: Black Soybean, Functional Food, Prebiotic, Lactobacillus lactis*

## 1. PENDAHULUAN

Konsep pangan fungsional lahir seiring dengan makin meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat, dimana tuntutan konsumen terhadap bahan pangan bukan saja yang mempunyai komposisi gizi yang baik serta penampakan dan cita rasa yang menarik, tetapi juga harus memiliki fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh<sup>[1]</sup>. Salah satu pangan fungsional adalah prebiotik yaitu komponen pangan yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim-enzim pencernaan manusia namun komponen ini dapat menguntungkan tubuh dengan cara menstimulasi pertumbuhan atau aktivitas sejumlah bakteri misalnya bakteri asam laktat (BAL), *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Bacteroides*, dan *Eubacterium* di dalam usus besar yang pada akhirnya dapat meningkatkan kesehatan tubuh<sup>[2]</sup>.

Salah satu bahan makanan yang memenuhi kriteria prebiotik karena mengandung oligosakarida yang tidak dapat dicerna (*non-digestible oligosaccharide* atau NDO) adalah kacang-kacangan. Termasuk didalamnya adalah kedelai hitam (*Glycine soja sieb*), yang oleh masyarakat Indonesia biasa digunakan sebagai bahan baku pembuatan kecap.

Dalam penelitian ini sari kedelai hitam akan difermentasi oleh bakteri probiotik *Lactobacillus lactis*. Kemudian dianalisa dan dibandingkan kadar asam total, gula reduksi dan jumlah bakteri yang bertahan.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif bahan pangan fungsional berupa prebiotik dari sari kedelai hitam yang di fermentasi oleh bakteri probiotik *Lactobacillus lactis*.

## 2. TEORI

## 2.1 Pangan Fungsional

Sampai saat ini belum ada definisi pangan fungsional yang disepakati secara universal. Definisi pangan fungsional menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan<sup>[3]</sup> adalah pangan yang secara alamiah maupun telah melalui proses, mengandung satu atau lebih senyawa yang berdasarkan kajian-kajian ilmiah dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan. Dikonsumsi sebagaimana layaknya makanan atau minuman, mempunyai karakteristik sensori berupa penampakan, warna, tekstur dan cita rasa yang dapat diterima oleh konsumen. Tidak memberikan kontraindikasi dan efek samping pada jumlah penggunaan yang dianjurkan terhadap metabolisme zat gizi lainnya.

Kelompok senyawa yang dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu di dalam pangan fungsional menurut Badan POM adalah senyawa-senyawa alami di luar zat gizi dasar

(karbohidrat, protein dan lemak) yang terkandung dalam pangan yang bersangkutan yaitu : vitamin, mineral, gula alkohol, serat pangan, prebiotik, probiotik dan komponen fungsional lain yang akan ditetapkan kemudian.

Suatu produk disebut pangan fungsional apabila memenuhi kriteria sebagai berikut :

1. harus berupa suatu produk pangan (bukan kapsul, tablet atau bubuk) yang berasal dari bahan atau *ingredient* alami,
2. dapat dan layak dikonsumsi sebagai bagian dari diet atau menu setiap hari,
3. mempunyai fungsi tertentu saat dicerna, memberikan peran khusus dalam proses metabolisme tubuh seperti meningkatkan imunitas tubuh, mencegah penyakit tertentu, membantu pemulihan tubuh setelah menderita sakit, menjaga kondisi

fisik dan mental serta memperlambat penuaan.

## 2.2 Kacang-Kacangan Sebagai Prebiotik

Karakteristik utama dari prebiotik adalah tahan terhadap enzim pencernaan manusia. Prebiotik akan difermentasi oleh bakteri probiotik terutama *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus* dan menghasilkan asam lemak rantai pendek dalam bentuk asam asetat, propionat, butirir, asam laktat, juga karbondioksida dan hidrogen. Oleh tubuh, asam lemak rantai pendek tersebut digunakan sebagai sumber energi. Prebiotik adalah *ingredient* pangan yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim-enzim pencernaan, tetapi memberikan pengaruh menguntungkan bagi tubuh melalui stimulasi secara selektif pertumbuhan dan aktivitas satu atau sejumlah terbatas bakteri dalam usus besar, sehingga dapat memperbaiki kesehatan tubuh

Kolida menyatakan bahwa bahan makanan dikategorikan sebagai prebiotik apabila memenuhi kriteria berikut ini<sup>[4]</sup>:

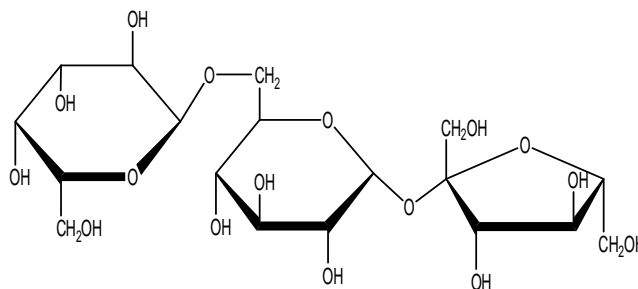
1. tidak dihidrolisis atau diabsorpsi oleh sistem pencernaan bagian atas,
2. difermentasi pada usus besar hanya oleh bakteri yang bermanfaat bagi kesehatan,
3. mampu mengatur komposisi mikroflora pada usus besar menuju komposisi yang ideal bagi kesehatan, dengan cara meningkatkan jumlah bakteri yang bermanfaat dan mengurangi jumlah bakteri yang tidak bermanfaat.

Apapun komponen nutrisi yang mencapai kolon tanpa tercerna berpotensi sebagai prebiotik, namun perkembangan penelitian mengenai prebiotik, mengklaim senyawa oligosakarida tak tercerna sebagai prebiotik utama<sup>[5]</sup>. Senyawa oligosakarida tak tercerna antara lain *fructooligosaccharides* (FOS), *transgalactooligosaccharides* (TOS), *isomalto-oligosaccharides* (IMO),

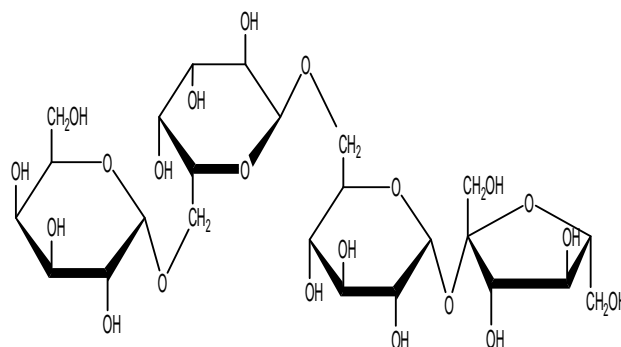
*xylooligosaccharides* (XOS),  
*soyoligosaccharides* (SOS),  
*glucooligosaccharides* (GOS), dan  
*lactosucrose*. Oligosakarida mempunyai  
kemampuan untuk meningkatkan per-  
tumbuhan *Bifidobacteria* pada kolon tanpa  
dicerna oleh mikroflora usus lainnya<sup>[6]</sup>.

Senyawa oligosakarida secara alami  
terdapat pada tumbuh-tumbuhan, namun

pada umumnya terdapat pada umbi-  
umbian dan kacang-kacangan. Beberapa  
tanaman yang telah diketahui mengandung  
oligosakarida dalam jumlah banyak adalah  
dahlia, *chicory*, *Jerusalem artichoke*<sup>[7]</sup>.  
Kacang kedelai hitam (*Glycine soja sieb*)  
mengandung oligosakarida yang berupa  
rafinosa dan stakiosa.



Gambar 1. Struktur Raffinosa



Gambar 2. Struktur Stakhiosa

Oligosakarida merupakan senyawa karbohidrat yang tidak dapat dicerna dalam usus mamalia karena usus tidak memiliki enzim yang dapat mencerna, seperti alfa galaktosa. Oligosakarida yang tidak tercerna akan difermentasi dalam usus besar oleh mikroflora, menghasilkan gas karbondioksida, hidrogen, yang akan terakumulasi dan menumpuk di lambung yang disebut flatulensi. Flatulensi di dalam lambung menyebabkan tanda-tanda seperti sakit kepala, pusing, perubahan kecil pada mental dan penurunan daya konsentrasi<sup>[8]</sup>.

### 2.3. Kacang Kedelai Hitam sebagai Prebiotik

Kedelai hitam termasuk dalam keluarga leguminosa, telah banyak digunakan sebagai bahan makanan. Kacang kedelai hitam merupakan bahan baku dasar pembuatan kecap. Taksonomi dari kedelai hitam adalah sebagai berikut:

Nama ilmiah : *Glycine soja* sieb.

Kerajaan : Plantae  
 Divisi : Spermatophyta  
 Sub divisi : Angiospermae  
 Kelas : Dicotyledonae  
 Ordo : Leguminales  
 Famili : Leguminosae  
 Marga : *Glycine*  
 Spesies : *Glycine Soja*  
 Sieb. et Zucc

Kedelai mengandung karbohidrat kompleks, protein nabati, serat, oligosakarida, isoflavon dan mineral kompleks. Kandungan serat berkontribusi terhadap indeks glikemik yang rendah yang menguntungkan bagi penderita diabetes untuk mengurangi risiko diabetes. Komposisi nutrisi kedelai hitam kering adalah protein 420 mg/g, lemak 224 mg/g, karbohidrat 340 mg/g, kalsium 6 mg/g, fosfor 5 mg/g, dan besi 0,1 mg/g<sup>[9]</sup>.



**Gambar 3.** Kacang Kedelai hitam

Kandungan senyawa bioaktif dalam kedelai hitam adalah sebagai berikut:

#### 1. Oligosakarida

Kedelai hitam mengandung rafinosa dan stakiosa yang merupakan komponen gula yang tidak dapat dicerna sehingga dapat menyebabkan kembung dan rasa tak nyaman di perut. Tetapi kemudian ada beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa oligosakarida dapat berperan sebagai prebiotik. Kandungan stakiosa pada kacang kedelai hitam yaitu 37,2 mg/mL

dan kandungan rafinosa yaitu 8,7 mg/mL<sup>[10]</sup>.

#### 2. Isoflavon

Hagiwara dkk<sup>[11]</sup> mengemukakan bahwa dalam kedelai hitam terdapat lima jenis isoflavon, yaitu daidizin (25 mg/100 g), daidezein (92 g/100gr), genesitin (22 mg/100 g), genistein (51 mg/100 g), dan glysitin (16 mg/100 g).

#### 3. Antosianin

Dalam kacang kedelai hitam terdapat tiga macam antosianin yaitu

delphinidin-3-glukosida 0–3,71 mg/mL, cyanidin-3-glukosida 0,94 –15,98 mg/mL, dan petunidin-3-glukosida 0–1,41 mg/mL. Total kandungan anthosianin dalam kacang kedelai hitam 11,58–20,18<sup>[12]</sup>.

#### 4. Saponin

Kandungan saponin kedelai hitam sebesar 310 mg/100 g. Menurut Potter, *et al*<sup>[13]</sup>, saponin menghambat pencernaan protein dikarenakan adanya susunan saponin protein kompleks.

#### 5. Serat Pangan

Kandungan serat dalam kedelai hitam juga sangat tinggi. Serat kasarnya sekitar 4% dan bermanfaat untuk membantu sistem pencernaan tubuh, sehingga dapat mengurangi waktu transit zat-zat racun yang tidak dibutuhkan tubuh. Di dalam kedelai hitam terdapat serat yang larut,

dimana serat yang larut itu akan menyerap air membentuk sebuah gel yang akan memperlambat metabolisme karbohidrat pada kedelai. Kedelai hitam juga mengandung serat tidak larut yang berguna untuk mengontrol kepadatan feses dan mencegah sembelit<sup>[14]</sup>.

#### 2.4 Bakteri *Lactobacillus lactis* Sebagai Probiotik

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang dimakan untuk memperbaiki secara menguntungkan keseimbangan mikro flora usus. Keseimbangan yang baik dalam ekosistem mikrobiota usus bisa menguntungkan kesehatan kita dan dapat dipengaruhi oleh konsumsi probiotik setiap hari<sup>[2]</sup>.

Karakteristik probiotik yang diinginkan dari satu strain spesifik mencakup<sup>[15]</sup> :

1. mempunyai kapasitas untuk bertahan hidup (*survive*), untuk melakukan kolonisasi (*colonize*), serta melakukan



- metabolisme (*metabolize*) dalam saluran cerna,
2. mampu mempertahankan suatu keseimbangan mikroflora usus yang sehat melalui kompetisi dan inhibisi kuman-kuman patogen,
  3. dapat menstimulasi bangkitnya pertahanan imun,
  4. bersifat non-patogenik dan non-toksik,
  5. disamping itu harus mempunyai karakteristik teknologi yang baik, yaitu mampu bertahan hidup secara optimal dan stabil selama penyimpanan dan penggunaan (*storage* dan *use*) dalam bentuk preparat makanan yang didinginkan dan dikeringkan, agar dapat disediakan secara masal dalam industry.

*Lactobacillus*, memiliki kemampuan bertahan dari kondisi asam lambung maupun rendahnya tegangan permukaan cairan empedu sehingga mampu hidup sampai di usus besar. BAL tersebut meningkatkan aktivitas bakteri normal dan bakteri berguna lainnya, menyerap bahan-bahan berbahaya, menghambat dan

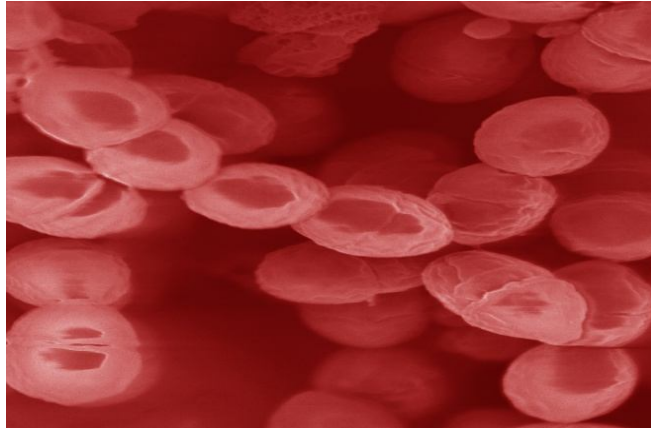
membunuh bakteri patogen serta memiliki efek anti tumor yang lebih kuat dibandingkan bakteri lainnya<sup>[16]</sup>.

*L. lactis* diklasifikasikan sebagai homofermentatif, hasil metabolismenya sebagian besar berupa asam laktat dan sedikit asam asetat. Produksi asam laktatnya berasal dari laktosa dan sukrosa. Produksi asam laktat yang dihasilkan bakteri ini sekitar 0,9-1,0%<sup>[17]</sup>.

Aktivitas biologis yang positif dari Bifidobakteri dalam penelitian menempatkannya sebagai salah satu probiotik yang terpenting. Efek positif Bifidobakteri bagi kesehatan manusia disimpulkan oleh Johan S. Lisal sebagai berikut:

1. Bifidobakteri menghambat pertumbuhan dan kolonisasi berbagai patogen potensial dengan menghasilkan asam laktat dan asetat sebagai produk akhir metabolisme (PAM) yang menurunkan pH medium. Disamping itu juga

- membentuk PAM yang secara langsung bersifat inhibitor terhadap sejumlah besar bakteri patogen (Gram positif maupun Gram negatif),
2. Bifidobakteri mempunyai efek mengubah ammonia (dan amina) yang potensial toksik menjadi  $\text{NH}_4^+$  yang *non-diffusible*, sehingga menurunkan kadar ammonia darah,
  3. Bifidobakteri mampu mensintesa vitamin-vitamin (B kompleks), maupun enzim-enzim pencernaan (diantaranya kasein-fosfatase) menghasilkan SCFA (*Short Chain Fatty Acid*) sebagai sumber energi bagi fungsi fisiologik dan integritas sel-sel kolon,
  4. komponen seluler tertentu dari Bifidobakteri bertindak sebagai imunomodulator yang merangsang serangan terhadap sel-sel maligna (antitumor/antikarsinogenik), maupun sebagai aktivator sistem imun yang meningkatkan resistensi terhadap patogen,
  5. Bifidobakteri memulihkan mikroflora usus yang normal setelah terapi antibiotik,
  6. Bifidobakteri menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida darah.
- Klasifikasi *Lactococcus lactis* menurut Hansen dan Møller<sup>[18]</sup>
- Kingdom: Monera
- Divisi : Firmicutes
- Kelas : Cocci
- Ordo : Lactobacilales
- Famili : Streptococcaceae
- Genus : *Lactococcus*
- Spesies : *Lactococcus lactis*



**Gambar 4.** *Lactococcus lactis* dengan pembesaran mikroskop 20000 kali<sup>[19]</sup>

*L. lactis* merupakan bakteri asam laktat yang sering digunakan dalam industri susu, diantaranya dalam pembuatan keju, keju keras (*hard* keju), kue-kue, susu, youghurt, keju lembut, minuman fermentasi, produk-produk daging, ikan asap dan sayuran kaleng. Bakteri *L. lactis* berperan dalam menghasilkan anti bakteri nisin sebagai metabolit sekundernya.

Bakteri *L. lactis* memiliki koloni berbentuk bulat, hidup secara individu, berpasangan atau membentuk rantai, dapat berantai panjang atau pendek. Non-haemolitik termasuk bakteri gram positif dan non motil. Fakultatif anaerob, katalase

negatif. *Lactococcus* merupakan bakteri mesofilik, suhu umum untuk pertumbuhan *L. lactis* yaitu berkisar antara 10-40°C, pada suhu 45° pertumbuhannya terhenti<sup>[20]</sup>.

Genom *L. lactis* relatif kecil yaitu 2,5 Mbp. Semua galur bakteri *L. lactis* memproduksi asam yang berasal dari galaktosa, fruktosa, laktosa, maltosa, mannosa, N-asetilglukosamin, ribosa, dan trihalosa<sup>[20]</sup>. Beberapa galur bakteri ini menggunakan sitrat untuk memproduksi CO<sub>2</sub> dan aseton diasetil. Bakteri *L. lactis* menghasilkan asam laktat sebagai metabolit primernya. Oleh karena itu untuk

mengamobilisasi bakteri ini diperlukan bahan pembawa yang tahan terhadap pH rendah.

### 3. BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain kedelai hitam didapatkan di pasar Basmalah Astana Anyar Bandung, bakteri asam laktat *Lactobacillus lactis* dari Sekolah Ilmu Tinggi Hayati Institut Teknologi Bandung, aquades, agar, media de Man Rogosa Sharpe (MRS) broth, larutan Luff Schoorl,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,1 N,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  25%, KI 20%, amilum, NaOH 0,1 N,  $\text{FeCl}_3$ , phenolftalein, kertas saring, alkohol, Buffer pH 4 dan pH 7.

#### 3.1 Pembuatan Larutan Stok Kultur Bakteri Asam Laktat pada Agar Miring

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactococcus lactis* dipindahkan ke media agar miring yang berisi media MRS dengan menggunakan jarum ose yaitu

sebanyak dua ose, setelah itu diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama dua hari sehingga didapatkan stok kultur. Stok kultur disimpan dalam refrigerator pada suhu  $3-5^\circ\text{C}$  dan diregenerasi setiap tiga minggu sekali.

#### 3.2 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri

Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri dilakukan dengan mengukur kerapatan sel sampel pada selang waktu tertentu. Medium pertumbuhan dibuat dengan bahan yang sama dengan medium agar miring tanpa agar sebanyak 500 mL dan kemudian disterilisasi. Setelah steril, bakteri diinokulasikan ke dalam erlenmeyer, kemudian diinkubasi dengan menggunakan inkubator pada suhu kamar  $\pm 24$  jam. Setiap selang waktu 1 jam dilakukan pengukuran absorbansi dan kerapatan sel sampel, dan lakukan triplo.

### 3.3. Pembuatan Sari Kedelai Hitam

(*Glycine soja sieb*)

Biji kedelai hitam direndam dengan aquades dengan perbandingan 1:2 selama 6 jam. Kemudian diblender hingga halus dan dipanaskan hingga 70°C selama 30 menit. Setelah didinginkan dan dilakukan penyaringan, disentrifugasi 3500 rpm selama 10 menit untuk memperoleh cairan yang jernih. Sari yang didapatkan dipanaskan hingga mendidih selama 10 menit. Setelah didapatkan sarinya kemudian dilakukan analisa total asam tertitrasi dan kadar gula reduksi.

### 3.4. Pembuatan Starter

Starter dibuat dengan menggunakan media MRS broth dan kultur *Lactobacillus lactis* yang telah disiapkan pada media MRS miring. Media MRS broth steril sebanyak 100 mL dalam Erlenmeyer steril diinokulasi dua ose kultur *L. lactis*. Media kultur diinkubasi pada suhu 37°C. Starter

dapat digunakan pada waktu fase eksponensial *L. lactis*.

### 3.5. Fermentasi Sari Kedelai Hitam

oleh *Lactobacillus lactis*

Sari kedelai hitam ditambah dengan starter sebanyak 3% (v/v) kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari. Selama proses fermentasi dilakukan analisa total asam tertitrasi, kadar gula reduksi, dan kerapatan sel *L. lactis*. Pengambilan sampel dilakukan pada fermentasi jam ke-0, 24, 48, dan 72.

### 3.6. Analisa pH

Analisa pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. pH meter dikalibrasi dengan menggunakan buffer pH 4 dan pH 7. Elektrode dibilas dengan aquades sebelum dikalibrasi dengan buffer dan dikeringkan. Elektrode dicelupkan ke dalam larutan sampel dan set pengukuran

pH biarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil, pH sampel dicatat.

### 3.7. Analisa Total Asam

Analisa Kualitatif :

Dua mL medium dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$ . Positif terdapat asam laktat jika dalam larutan timbul warna coklat kekuningan.

Analisa Kuantitatif :

Sepuluh mL larutan sampel dititrasi dengan larutan standar 0,1 N NaOH dengan indikator PP. Akhir titrasi ditandai dengan berubahnya warna menjadi merah muda.

### 3.8. Analisa Gula Reduksi

Analisa gula reduksi dilakukan dengan menggunakan metode Luff Schoorl. Sebanyak 10 mL larutan ditambahkan 15 mL air suling dan 25 mL larutan Luff Schoorl dan beberapa batu didih.

Dipanaskan di atas pemanas listrik hingga mendidih selama 10 menit. Setelah dingin tambahkan 25 mL larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  25% dan 10 mL KI 20%. Kemudian dititrasi dengan larutan natrium tiosulfat 0,1N dengan indikator kanji 0,5% ( $V_1$ )

### 3.9. Analisa Jumlah Sel Bakteri

Jumlah sel bakteri dihitung dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis yaitu dengan cara dua mL sampel masukan ke dalam kuvet kemudian diukur absorbansi sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 610 nm dan hitung jumlah sel menggunakan Mc Farland.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

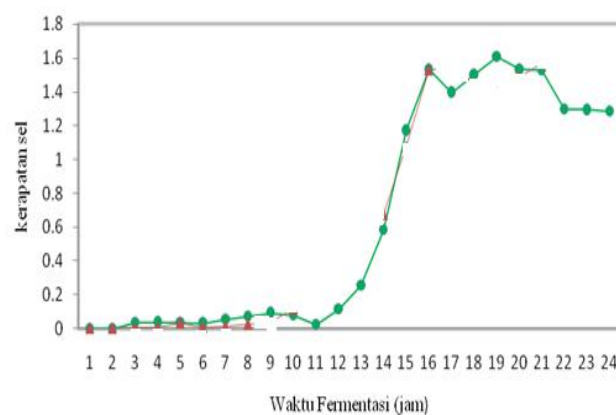
Pembuatan sari kedelai hitam melalui beberapa tahap. Pada tahap perendaman, biji kacang menjadi lebih lunak sehingga mudah dihaluskan dan juga mengurangi zat antinutrisi di dalamnya<sup>[21]</sup>. Saat

pemanasan 70°C selama 30 menit, bubur kedelai hitam mengental. Pemanasan ini untuk memperoleh kekentalan sari yang baik dan membunuh bakteri. Setelah disaring dan dipisahkan dengan sentrifugator, sari kedelai hitam menjadi lebih bening dan cair. Tahap terakhir adalah dididihkan selama 10 menit untuk membunuh bakteri patogen yang ada dalam sari tersebut.

Hasil analisis kadar total asam titrasi kedelai hitam sebesar 0,2444% dengan pH sebesar 5,98. Kadar glukosa dalam sari tidak didapatkan karena rafinosa merupakan karbohidrat kompleks yang tidak memiliki sifat mereduksi.

#### 4.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan mikroorganisme dimulai dari awal pertumbuhan sampai dengan berakhirnya aktivitas merupakan proses bertahap yang dapat digambarkan sebagai kurva pertumbuhan. Kurva pertumbuhan umumnya terdiri atas 7 fase pertumbuhan, tetapi yang utama hanya 4 fase yaitu lag, eksponensial, stasioner, dan kematian. Kurva pertumbuhan yang lengkap merupakan gambaran pertumbuhan secara bertahap (fase) sejak awal pertumbuhan sampai dengan terhenti mengadakan kegiatan.



**Gambar 5.** Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat

Fase lag disebut juga fase persiapan, fase permulaan, fase adaptasi atau fase penyesuaian yang merupakan fase pengaturan suatu aktivitas dalam lingkungan baru. Oleh karena itu selama fase ini penambahan massa atau penambahan jumlah sel belum begitu besar, sehingga kurva fase ini umumnya mendatar. Pada bakteri *Lactococcus lactis* mengalami *fase lag* pada jam ke-1 sampai jam ke-11.

Fase eksponensial atau logaritmik merupakan *fase* peningkatan aktivitas perubahan bentuk maupun penambahan jumlah mencapai kecepatan maksimum sehingga kurvanya dalam bentuk eksponensial. Pada bakteri *Lactococcus lactis* mengalami *fase eksponensial* pada jam ke-12 sampai jam ke-20.

Fase stasioner merupakan fase terjadinya keadaan seimbang antara tingkat pertumbuhan sel (pembelahan sel) dengan tingkat kematian sel artinya jumlah sel yang hidup sama dengan jumlah sel yang

mati. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, saat *fase stasioner* telah terjadi penumpukan atau akumulasi produk-produk akhir hasil metabolisme yang mungkin dapat bersifat racun bagi pertumbuhan bakteri itu sendiri. Faktor lainnya adalah ketersediaan nutrisi pertumbuhan dalam medium yang telah habis dan mulai terbatasnya tempat populasi untuk tumbuh yang disebut *biological space*. Beberapa faktor inilah yang menyebabkan jumlah sel hidup menjadi tetap dan membentuk garis lurus atau konstan pada fase stasioner dalam kurva pertumbuhan<sup>[22]</sup>. Bakteri *Lactococcus lactis* mengalami *fase stasioner* pada jam ke-21 sampai jam ke-24.

Dari pengujian kurva pertumbuhan diperoleh hasil kerapatan sel selama fermentasi selama 24 jam. Kerapatan sel BAL terjadi pada jam ke-17 untuk *Lactococcus* dengan demikian starter yang digunakan pada fermentasi sari kacang kedelai hitam ialah starter yang disiapkan



pada usia 17 jam karena pada jam tersebut optimum pertumbuhannya.

Pada pengujian kemampuan BAL dalam memfermentasi sari kacang kedelai hitam, fermentasi dilakukan selama 72 jam dan dilakukan analisa sampel pada jam ke-0, 24, 48 dan 72.

#### **4.2. Pembuatan Starter**

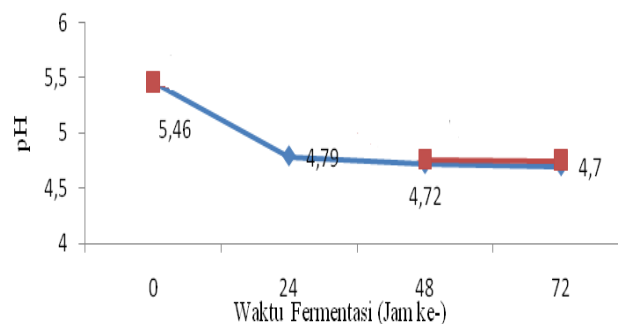
Tujuan dari pembuatan starter adalah untuk mengadaptasikan bakteri asam laktat pada lingkungan pertumbuhannya sehingga saat proses fermentasi sari kacang kedelai hitam bakteri sudah dapat beradaptasi dengan baik. Menurut Fardiaz<sup>[23]</sup>, jika jasad renik dipindahkan ke dalam suatu medium mula-mula akan mengalami fase adaptasi untuk menyesuaikan dengan substrat dan kondisi sekitarnya. Lama fase ini bervariasi tergantung dari kecepatan penyesuaian dengan lingkungan sekitarnya dan dipengaruhi oleh media dan lingkungan pertumbuhan serta inokulumnya.

#### **4.3 Pembuatan Sari Kacang Kedelai Hitam**

Pembuatan sari kacang kedelai hitam diawali dengan perendaman selama 6 jam yang bertujuan agar saat pemblenderan mudah halus dan menghilangkan zat antinutrisi pada sampel<sup>[24]</sup>. Pemanasan pada suhu 70°C selama 30 menit ini bertujuan untuk membunuh mikroba patogen awal pada ekstrak sari kacang kedelai hitam serta untuk menguapkan sebagian air pada sampel sehingga didapatkan sari yang mempunyai kekentalan yang baik. Setelah dipanaskan sampel disaring menggunakan kain dan disentrifugasi untuk memperoleh sampel yang bening. Hasil dari sentrifugasi dididihkan selama sepuluh menit yang bertujuan membunuh mikroba patogen dan menginaktifkan enzim, setelah itu kemudian dilakukan pengujian pH, analisa total asam tertitrasi, dan kadar gula reduksi.

Nilai pH dari sari kacang kedelai hitam adalah 5,98 total asam tertitrasinya adalah 0,2444% dan untuk nilai gula reduksi pada penelitian ini tidak diperoleh nilainya karena karbohidrat dalam kacang kedelai hitam sangat kompleks hingga susah untuk dihidrolisis.

#### 4.4 Fermentasi Kacang Kedelai Hitam



**Gambar 6.** Hasil Analisa pH Sari Kacang Kedelai Hitam

Hasil penelitian menunjukkan terjadinya perubahan pH selama 72 jam dan dilakukan analisa sampel pada jam ke-0, 24, 48, dan 72. Fermentasi sari kacang kedelai hitam pada bakteri *L. lactis* pada jam ke-0 hingga jam ke-24, terjadi penurunan pH yaitu dari 5,46 menjadi

Fermentasi adalah penguraian senyawa organik menjadi senyawa sederhana dengan bantuan mikroorganisme sehingga menghasilkan energi<sup>[25]</sup>. Produk-produk tersebut biasanya dimanfaatkan sebagai minuman atau makanan.

Penurunan pH bakteri *L. lactis* dapat dilihat pada Gambar 4.

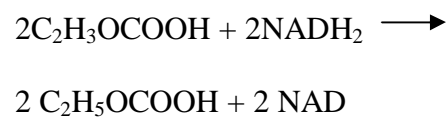
4,79, dan sampai jam ke-72 tetap terjadi penurunan pH walaupun tidak terlalu signifikan. Penurunan nilai pH pada penelitian ini sesuai dengan yang dikemukakan Buchanan dan Gibbons<sup>[26]</sup>, bahwa *L. lactis* merupakan bakteri yang

melakukan metabolisme glukosa menjadi asam laktat.

Mekanisme perubahan glukosa menjadi asam laktat yaitu pertama glukosa mengalami fosforilasi menjadi glukosa-6-P dan fruktosa-6-P dengan ATP sebagai donor fosfat. Fruktosa-6-P kemudian diubah menjadi fruktosa 1,6-di-P menggunakan ATP sebagai donor fosfat. Fruktosa-1,6-di-P kemudian dipecah menjadi dua molekul C3 yang terfosforilasi yaitu dihidroksiaseton fosfat dan gliseraldehid-3-P. Dihidroksi aseton fosfat selanjutnya teroksidasi menjadi gliserolfosfat kemudian diubah menjadi gliserol yang merupakan metabolit sekunder. Gliseraldehid-3-P tereduksi membentuk asam 1,3-di-fosfoglisarat kemudian mengalami defosforilasi menjadi 3-P-asam gliserat dengan melepaskan fosfat dan aseptor fosfat ADP membentuk ATP. Selanjutnya, 3-P-asam gliserat membentuk 2-P-asam gliserat kemudian terbentuk asam fosfoenol

piruvat dengan menghasilkan ATP dan menghasilkan asam piruvat<sup>[27]</sup>.

Asam piruvat diubah menjadi asam laktat yaitu dengan menggunakan enzim laktat dehidrogenase. Pembentukan asam laktat ini dengan cara reduksi dan menggunakan NADH sebagai koenzim<sup>[28]</sup>.



Energi yang terbentuk dari glikolisis hingga terbentuk asam laktat:

$$8\text{ ATP} - 2\text{ NADH}_2 = 8 - 2(3\text{ ATP}) = 2\text{ ATP}$$

Penurunan nilai pH dikarenakan selama proses fermentasi, dihasilkan metabolit berupa asam-asam organik seperti asam laktat, asam sitrat, dan asam asetat<sup>[29]</sup>. Tetapi pada penelitian ini fermentasi yang dilakukan adalah fermentasi homofermentatif sehingga asam yang dihasilkan lebih dari 90% adalah asam laktat dan sisanya adalah asam sitrat dan asam asetat. Asam-asam organik ini merupakan asam-asam yang terdisosiasi

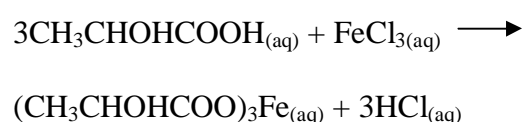
dalam bentuk ion-ion  $H^+$ . Semakin banyak asam yang dihasilkan, maka semakin banyak pula ion  $H^+$  yang terbentuk sehingga pengukuran pH oleh elektroda pH meter menunjukkan nilai yang semakin menurun.

#### 4.4 Total Asam Hasil Fermentasi Sari Kedelai Hitam

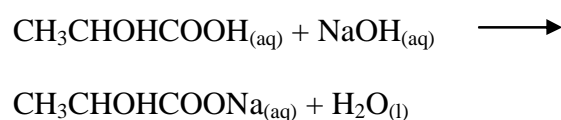
Total asam tertitrisasi dinyatakan sebagai persen asam laktat. Asam laktat merupakan komponen asam terbesar yang terbentuk selama fermentasi. Perubahan nilai total asam tertitrisasi tidak selalu sesuai dengan pengukuran pH. Hal ini dikarenakan pada pengukuran pH hanya menunjukkan ion  $H^+$  yang terdisosiasi sedangkan nilai total asam tertitrisasi merupakan nilai total asam.

Untuk analisa kualitatif, sari kedelai yang difermentasi ditambahkan larutan

$FeCl_3$  kemudian terjadi perubahan warna menjadi kuning kehijauan. Hal ini menunjukkan sari kedelai hitam yang difermentasi positif mengandung asam laktat. Reaksi yang terjadi antara asam laktat dengan larutan  $FeCl_3$  menghasilkan ferrilaktat dan asam klorida. Persamaan reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:



Analisa kuantitatif dilakukan dengan untuk mengetahui kadar asam laktat dari sari kedelai hitam yang difermentasi. Fermentasi oleh bakteri asam laktat sebagian besar menghasilkan asam laktat murni sehingga analisa ini dihitung berdasarkan berat molekul asam laktat sebagai metabolit primer bakteri asam laktat. Sampel dititrisasi menggunakan NaOH, reaksi yang terjadi adalah sebagai berikut:

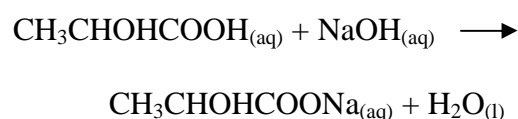


**Tabel 1. Hasil Analisa Total Asam Fermentasi Sari Kedelai Hitam oleh *Lactobacillus lactis***

Jam ke-	Sari Kedelai hitam	
	Kuali	Kuanti (%)
0	+	0,3666
24	++	0,6984
48	+++	0,7860
72	++++	0,8037

Terjadi peningkatan total asam yang signifikan yaitu dari 0,3666% hingga 0,6984% dari fermentasi jam ke-0 sampai jam ke-24, hal ini terjadi karena adanya aktivitas bakteri pembentuk asam laktat yang mengubah glukosa menjadi asam laktat dalam kondisi anaerob. Pada jam ke-48 sampai ke-72 total asam masih meningkat meskipun tidak terlalu signifikan. Data kenaikan total asam yang didapatkan sesuai dengan apa yang dikemukakan Tamime dan Robinson<sup>[29]</sup> yaitu *L. acidophilus* dapat memproduksi asam laktat sebanyak 0,3-1,9%. Asam laktat direaksikan dengan natrium

hidroksida menghasilkan natrium laktat dan air, dan reaksinya adalah sebagai berikut :



#### 4.5 Kadar Gula Reduksi Fermentasi Sari Kedelai Hitam

Gula reduksi adalah gula yang mempunyai kemampuan untuk mereduksi. Hal ini dikarenakan adanya gugus aldehid atau keton bebas. Senyawa-senyawa yang mengoksidasi atau bersifat reduktor adalah

logam-logam oksidator seperti Cu (II) (Team Laboratorium Kimia UMM, 2008).

Prinsip analisis dengan metode Luff Schoorl yaitu reduksi  $\text{Cu}^{2+}$  menjadi  $\text{Cu}^+$  oleh monosakarida. Monosakarida bebas akan mereduksi larutan basa dari garam logam menjadi bentuk oksida atau bentuk bebasnya. Kelebihan  $\text{Cu}^{2+}$  yang tidak tereduksi kemudian dikuantifikasi dengan titrasi iodometri (SNI 01-2891-1992).

Rafinosa dalam kacang-kacangan terdiri atas tiga molekul monosakarida yang berikatan yaitu glukosa-fruktosa-galaktosa, sehingga gula reduksi yang terukur pada analisa ini dihitung sebagai glukosa atau gula invert. Kadar glukosa pada kedelai hitam semakin menurun karena glukosa yang terdapat didalamnya digunakan oleh bakteri asam laktat sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan, energi, dan sintesis asam laktat<sup>[32]</sup>.

**Tabel 2 Hasil Analisa Gula Reduksi Fermentasi Sari Kedelai Hitam oleh *Lactobacillus lactis***

Jam ke-	Kadar gula reduksi (mg)
0	25,8
24	12,4
48	1,9
72	1,4

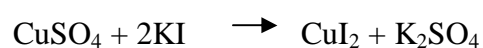
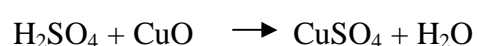
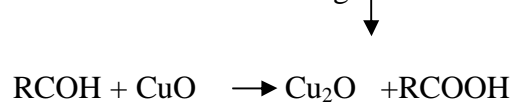
Dari hasil penelitian menunjukkan kadar gula reduksi dari jam ke-0 sampai jam ke-72 selama fermentasi mengalami penurunan yang signifikan yaitu sebesar 25,8 mg menjadi 1,4 mg. Hal ini disebabkan BAL memanfaatkan glukosa

yang ada dalam media fermentasi untuk pertumbuhannya.

Penggunaan gula yang ada dalam substrat untuk pertumbuhan BAL ini dapat terlihat dengan meningkatnya kerapatan sel BAL pada substrat. Pemecahan glukosa

dalam sel BAL menghasilkan energi untuk aktivitas BAL dan menghasilkan senyawa lain termasuk asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL akan diekskresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam cairan fermentasi. Dengan meningkatnya jumlah asam yang diekskresikan oleh BAL karena proses akumulasi asam dalam substrat, maka akan meningkatkan keasaman substrat. Peningkatan akumulasi asam dalam substrat ini dapat diketahui dengan penurunan pH substrat.

Reaksi yang terjadi pada penentuan Luff Schrool adalah sebagai berikut :



(Sudarmadji, 1989)

Monosakarida akan mereduksikan CuO dalam larutan Luff menjadi Cu<sub>2</sub>O. Kelebihan CuO akan direduksikan dengan KI berlebih, sehingga dilepaskan I<sub>2</sub>. I<sub>2</sub> yang dibebaskan tersebut dititrasi dengan larutan Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Pada dasarnya prinsip metode analisa yang digunakan adalah Iodometri karena kita akan menganalisa I<sub>2</sub> yang bebas untuk dijadikan dasar penetapan kadar. Zat oksidator kuat H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam larutannya yang bersifat netral atau sedikit asam penambahan ion iodida berlebih akan membuat zat oksidator tersebut tereduksi dan membebaskan I<sub>2</sub> yang setara jumlahnya dengan banyaknya oksidator. I<sub>2</sub> bebas ini selanjutnya akan dititrasi dengan larutan standar Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> sehingga I<sub>2</sub> akan membentuk kompleks iod-amilum yang tidak larut dalam air. Oleh karena itu, jika dalam suatu titrasi membutuhkan indikator amilum, maka penambahan amilum harus sebelum titik ekuivalen.

#### 4.6 Jumlah Sel Bakteri Fermentasi Sari

##### Kedelai Hitam

Dalam proses fermentasinya, bakteri asam laktat umumnya memanfaatkan karbohidrat seperti glukosa, fruktosa dan sukrosa sebagai sumber nutrisi utama. Bahan pangan nabati umumnya mengandung maltosa dan fruktosa yang disukai oleh bakteri asam laktat untuk digunakan sebagai nutrisi<sup>[32]</sup>. *L. lactis* merupakan bakteri homofermentatif yang mengubah glukosa menjadi asam laktat.

Perubahan jumlah BAL selama fermentasi menunjukkan terjadinya seleksi pertumbuhan yang dapat disebabkan karena perubahan pada kondisi fermentasinya. Faktor lingkungan relatif diatur stabil selama fermentasi, maka yang berpengaruh cukup besar adalah kondisi media, diantaranya adalah jumlah substrat dan pH. Awal fermentasi, jumlah nutrisi yang mudah dimetabolisme (glukosa) masih tinggi sehingga jumlah mikroba penghasil asam meningkat.

**Tabel 3 Hasil Analisa Jumlah Bakteri *Lactobacillus lactis* pada Sari Kedelai Hitam**

Jam ke-	Kacang Hijau (sel/mL)
0	$3,62 \times 10^9$
24	$3,67 \times 10^9$
48	$3,68 \times 10^9$
72	$3,74 \times 10^9$

Fermentasi kedelai hitam oleh *L. lactis* mengalami peningkatan dari jam ke-0 sampai jam ke-72. Ini menunjukkan bahwa sari kedelai hitam efektif sebagai substrat untuk pertumbuhan probiotik *L.*

*lactis*. Jumlah sel bakteri *Lactococcus lactis* dari hasil penelitian menunjukkan dari jam ke-0 sampai jam ke-72 mengalami kenaikan, hal ini disebabkan banyak faktor diantaranya adalah faktor biologis seperti



bentuk dan sifat mikroorganisme terhadap lingkungan yang ada, asosiasi kehidupan diantara organisme yang bersangkutan dan faktor non-biologis, seperti kandungan hara di dalam medium kultur, suhu, kadar oksigen, cahaya yang optimum. Menurut Anderson dan Rodstrom<sup>[32]</sup> *Lactococcus lactis* memiliki mekanisme pertahanan stress terhadap lingkungan seperti pH, kekurangan nutrien, dan perubahan oksidatif. Jumlah sel bakteri yang paling optimum adalah pada jam ke-72 yaitu  $3,74 \times 10^9$  sel/mL.

Penurunan jumlah bakteri bisa disebabkan karena faktor berikut:

- a. nutrien habis,
- b. akumulasi metabolit toksik (misalnya alkohol, asam, dan basa),
- c. penurunan kadar oksigen,
- d. penurunan nilai  $a_w$  (ketersediaan air).

## 5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan diperoleh kesimpulan bahwa kacang kedelai dapat digunakan sebagai bahan pangan fungsional yaitu berperan sebagai prebiotik bagi bakteri probiotik *L. lactis*.

## 6. DAFTAR PUSTAKA

1. Wijaya, Hanny, (2002), *Pangan Fungsional dan Kontribusinya bagi Kesehatan*, Kharisma; Women and Education, Jakarta.
2. Gibson, G.R., dan Roberfroid, M.B., (1995), "Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics", *The Journal of Nutrition* Vol. 125, No. 6, hal. 1401-1412.
3. Badan Pengawas Obat dan Makanan (Badan POM), (2005), *Peraturan Kepala Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Tentang Ketentuan Pokok Pengawasan Pangan Fungsional*, No. HK.

- 00.05.52.0685.
4. Kolida, S., Tuohy, K. dan Gibson, G. R., 2002, *Prebiotic effects of inulin and oligofructose*, British Journal of Nutrition, Hal 193–197.
  5. Manning, T. S, R.Rastall, dan G. Gibson. 2004. *Prebiotics and Lactic Acid Bacteria*. Di dalam: S. Salminen, A.V Wright dan A. Ouwehand. *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. Marcel Dekker, Inc. New York-Basel.
  6. Shin, H. S. et al. 2000. *Growth and viability of commercial bifidobacterium spp in skim milk containing oligosaccharides and inulin*. J. Food Science. 65 (5): 884 – 887.
  7. Swennen, K., Courtin, C.M., dan Delcour, J.A., (2006), "Non-digestible Oligosaccharides with Prebiotic Properties", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* Vol. 46, No. 6, hal. 459-470.
  8. Cristofaro, E., F. Motty and J.J. Wuhrmann.1994. *Sugars in Nutrition*. Academic Press. New York.
  9. Slamet, D.S. 1978. *The nutrients and amino acids contents of kecap*. Dalam Basuki, T., E. Sukara, dan S. Bojonegoro (ed.). 1981. *Kumpulan Makalah Seminar Mikrobiologi II*. Jakarta: Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia.
  10. Hengbao Feng, Chin Lee Saw, And Dejian Huang. *Novel Process of Fermenting Black Soybean [Glycinemax (L.)Merrill] Yogurt with Dramatically Reduced Flatulence-Causing Oligosaccharides but Enriched Soy Phytoalexins*. Food Chem. 2008, 56, 10078–10084.
  11. Hagiwara. 2010 dalam Renitya Intan dkk.2011. *Kedelai Hitam(Glycine Max L). Sebagai Susu*. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
  12. M. Muchlish Adie dan Ayda Krisnawati., 2012. *Kedelai Hitam : Varietas, Kandungan Gizi Dan Prospek Bahan Baku Industri*. Badan Litbang Pertanian , Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan

- Umbian-umbian.  
Department of Bacteriology.
13. Potter SM *et al.*, 1993. *Depression of plasma cholesterol in men by consumption of baked products containing soy protein*. Am J Clin Nutr.
14. Renitya Intan P dkk. 2011. *Kedelai Hitam(Glycine Max L). Sebagai Susu*. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
15. Lisal JS. 2005. *Konsep Probiotik Dan Prebiotik Untuk Modulasi Mikrobiota Usus Besar*. Med Nus Vol. 26 No.4.
16. Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. Yogyakarta: Lakticia Press.
17. Kosikowski, F. 1982. *Cheese and Fermented Milk Food, Third edition*. F. V. Kosikowski and Associates, New York.
18. Hansen and Moucqtot, 1970. *Lactococcus lactis*, moro comb, nov, International. Journal of systemic bacteriology.
19. Kenenth, Todar. 2010 *Lactococcus lactis* Wisconsin's State Microbe. University of Wisconsin-Madison
20. Teubeur M. 1995. The Genus *Lactococcus* Di dalam BJB Wood dan WH Holzaptel, editor. *The Genera Of Lactic Acid Bacteria*. Ed ke-2. Glasgow: Blakie Academic & Professinal. Hlm 173-23.
21. M. Deddy. 2005. *Serat Makanan Faktor Penting yang Hampir Dilupakan*. Bogor: IPB.
22. Astuti dan Ana Rahmawati., 2010. *Asimilasi Kolesterol Dan Dekonjugasi Garam Empedu Oleh Bakteri Asam Laktat (Bal) Dari Limbah Kotoran Ayam Secara In Vitro*. Yogyakarta.
23. Fardiaz, S., 1989. *Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
24. Buchanan, R.E. And N.E. Gibbons. 1975. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. The William and Wilkins Company Baltimore, Amerika.
25. Isra Dharma Suyandra, 2007. *Pemanfaatan Hidrolisat Pati Sagu*

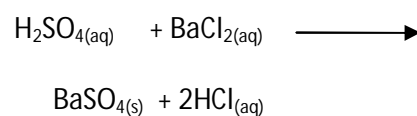
- (*Metroxylon sp.*) Sebagai Sumber Karbon Pada Fermentasi Etanol Oleh *Saccharomyces Cerevisiae*. Institut Pertanian Bogor.
26. Ana Poejiadi dan Titin Supriyanti, 2007. *Dasar-Dasar Biokimia*. UI-Press : Bandung.
27. Surono, I. S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Tri Cipta Karya, Jakarta.
28. Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet & M. Wooton. 1987. *Ilmu Pangan*. Terjemahan: H.Purnomo dan Adiono. UI Press, Jakarta.
29. Tamine, A, Y, dan R, K, Robimson. 1999. *Yougurt Science and Technology*. Pergaman Press Ltd. London.
30. Moore-Landecker E. 1996. *Fundamentals of Fungi*. 4<sup>th</sup> ed. New Jersey: Pretince-Hall.Inc.
31. Salminen, S. dan A.V. Wright. 1998. *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*. 2nd edition. Marcel Dekker Inc., New York.
32. Anderson, V., Rodstrom, P. 2003. *Physiological Function of The Maltose Operon Regulator, MalR In Lactococcus lactis*. Biomed Central Microbiology. 2.

## LAMPIRAN

### Penentuan Jumlah Bakteri

#### 1. Pembuatan Standar Mc Farland

Standar Mc Farland berada dalam bentuk skala yang bernomor dari 1 sampai 10, yang menjelaskan konsentrasi spesifik dari bakteri per mL.



Membuat standar Mc Farland dengan larutan 1% BaCl<sub>2</sub> dan 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dengan kombinasi sebagai berikut:

- a. 0,1 mL Barium Klorida dalam 9,9 mL Asam Sulfat

- b. 0,2 mL Barium Klorida dalam 9,8 mL Asam Sulfat
- c. 0,3 mL Barium Klorida dalam 9,7 mL Asam Sulfat
- d. 0,4 mL Barium Klorida dalam 9,6 mL Asam Sulfat
- e. 0,5 mL Barium Klorida dalam 9,5 mL Asam Sulfat
- f. 0,6 mL Barium Klorida dalam 9,4 mL Asam Sulfat
- g. 0,7 mL Barium Klorida dalam 9,3 mL Asam Sulfat
- h. 0,8 mL Barium Klorida dalam 9,2 mL Asam Sulfat
- i. 0,9 mL Barium Klorida dalam 9,1 mL Asam Sulfat
- j. 1,0 mL Barium Klorida dalam 9,0 mL Asam Sulfat

Seluruh larutan yang telah dibuat tersebut dilakukan pembacaan absorbansi dengan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 610 nm.

Sampel yang akan dianalisa dilakukan pembacaan absorbansi dengan

spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 610 nm dan dihitung.

## 2. Hasil Pengamatan

### 2.1 Absorbansi sampel (a)

Jam ke-	0	24	48	72
<i>L. lactis</i>	1,8094	1,8420	1,8400	1,8733
	1,8140	1,8437	1,8300	1,8722
	1,8174	1,8328	1,8417	1,8713
	1,8136	1,8374	1,8415	1,8739

### 2.2 Absorbansi Standar

Konsentrasi	B	C
0.5	0,00848	1
1	0,17235	2
1.5	0,28244	3
2	0,39495	4
3	0,75966	6
4	1,01990	8
5	1,22810	10
6	1,39900	12
7	1,45450	14
8	1,48430	16
9	1,49620	18
10	1,50090	20

Sebelum dihitung, tentukan absorbansi standar (C) yang terdekat dari absorbansi sampel, kemudian hitung berdasarkan rumus berikut:

$$\text{Jumlah bakteri (sel/mL)} = \frac{A}{B} \times C \times 1,5 \times 10^8$$

Keterangan :

A = absorban bakteri

B = absorban standar yang mendekati absorban bakteri

C = standar yang mendekati absorban bakteri

### 3. Perhitungan

Fermentasi *L. lactis*

$$\text{Jumlah BAL jam ke 0} = \frac{1,8136}{1,50090} \times 1,5 \times 10^8 \times 20$$

$$= 3,62 \times 10^9 \text{ sel/mL}$$

$$\text{Jumlah BAL jam ke 24} = \frac{1,83743}{1,50090} \times 1,5 \times 10^8 \times 20$$

$$= 3,67 \times 10^9 \text{ sel/mL}$$

$$\text{Jumlah BAL jam ke 48} = \frac{1,8415}{1,50090} \times 1,5 \times 10^8 \times 20$$

$$= 3,68 \times 10^9 \text{ sel/mL}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah BAL jam ke 72} &= \frac{1,8739}{1,50090} \times 1,5 \times 10^8 \times 20 \\ &= 3,74 \times 10^9 \text{ sel/mL} \end{aligned}$$

