



KEMAMPUAN FERMENTASI BAL DENGAN SUBSTRAT SUSU KACANG MERAH

Luthfiana Indah Hastuti, Endah Retnaningrum

Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada
Jl. Teknika Selatan, Senolowo, Sinduadi, Kec. Mlati, Kabupaten Sleman,
Daerah Istimewa Yogyakarta 55281

*Email : endahr@ugm.ac.id

Papar submit: 19 September 2019, Paper publish: September 2020

Abstrak-*Kandungan oligosakarida yang terdapat pada kacang merah merupakan komponen makanan yang harus diuraikan. Salah satu mikroorganisme yang dapat menguraikan adalah kelompok Bakteri Asam Laktat. Penguraian oligosakarida dengan bantuan Bakteri Asam Laktat dapat dilakukan di dalam proses fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas BAL *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NBRC 12007 dalam proses fermentasi sari kacang merah dan mengamati perbedaan kualitas dengan fermentasi susu sapi UHT dengan bakteri starter yang sama. Starter *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NBRC 12007 ditambahkan 3% kedalam substrat sari kacang merah dan susu sapi UHT. Fermentasi dilakukan selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil menunjukkan bahwa nilai total sel, total asam, total protein, pH, antibakteri dan fisikawi jauh lebih baik dan meningkatkan kualitas produk fermentasi substrat sari kacang merah dibandingkan dengan fermentasi dengan substrat susu sapi UHT.*

Kata kunci: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* , Kacang Merah, Fermentasi, Asam Laktat

Pendahuluan

Kebutuhan pangan setiap tahun selalu meningkat. Namun, kebutuhan ini tidak diimbangi oleh ketersediaan pangan yang ada. Kualitas pangan terutama kandungan gizi yang masih tersediapun masih dibawah standar. Salah satu penyebab pangan kurang tersedia karena pangan kurang bertahan lama sehingga pangan menjadi mudah busuk.

Kacang merah merupakan salah satu komoditas pangan yang kebutuhan minat konsumen yang cukup tinggi. Kandungan protein yang cukup tinggi ini menjadikan kacang merah sebagai alternatif sumber protein. α -galaktosida dari oligosakarida pada kacang merah menjadi faktor antinutrisi sehingga perlu dilakukan pemasakan, perendaman atau fermentasi untuk menguraikan senyawa tersebut sehingga dapat meningkatkan nutrisi dari kacang merah (Han & Baik, 2006).

Fermentasi merupakan salah satu pengolahan pangan yang dapat mengubah makanan menjadi lebih awet. Citarasa, aroma serta kandungan gizi dalam makanan menjadi meningkat jika melalui proses fermentasi (Famworth, 2008). Fermentasi dalam prosesnya membutuhkan mikroorganisme untuk mengubah senyawa kompleks menjadi lebih sederhana dalam substrat dengan bantuan enzim pada mikroorganisme tersebut (Jay, Loessner, & Golden, 2005). Salah satu kelompok mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi adalah Bakteri Asam Laktat. BAL telah diamati pada berbagai jenis makanan tradisional salah satunya adalah fermentasi chao chao, dadih soya (Nurhikmayani, Daryono, & Retnaningrum, 2019; Retnaningrum, Yossi, Nur'azizah, Sapalina & Kulla, 2020). Bakteri ini mampu menghasilkan produk utama berupa asam laktat serta produk lainnya sejumlah etanol, asam asetat dan lain-lain.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas bakteri asam laktat dalam proses fermentasi sari kacang merah serta mengetahui pengaruh penambahan bakteri asam laktat terhadap nilai gizi produk fermentasi.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Mei hingga Juli 2019 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada. Isolat BAL yang digunakan yaitu *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NBRC 12007 didapatkan dari Laboratorium Bioteknologi, Pascasarjana UGM. Pada uji total asam, total protein, pH, total sel BAL dan fisikawi dilakukan setiap 6 jam sekali selama 24 jam. Pada uji antibakteri dan organoleptik diambil pada saat fermentasi ke 24 jam. Penelitian dilakukan dengan melalui beberapa tahap :

1. Persiapan Produk Fermentasi

a. Persiapan Kultur Starter

Isolat *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NBRC 12007 ditumbuhkan pada medium MRSA selama 48 jam dengan suhu 37°C. Isolat diinokulasikan ke dalam aquades steril dan digojog hingga homogen. Selanjutnya, dimasukkan ke dalam susu sapi UHT yang sudah dipasteurisasi dan diinkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C. Dilakukan perhitungan jumlah koloni dengan metode *total plate count*. Jumlah BAL yang sudah mencapai 10⁶ ml siap digunakan sebagai starter (Tamime & Robinson, 2000).

b. Pembuatan Sari Kacang Merah

Kacang merah direndam dalam air dengan perbandingan 4:1 selama 8 jam. Lalu direbus selama 10 menit. Kacang merah digiling dengan blender dan ditambahkan air dengan perbandingan 8 : 1. Bubur encer disaring dengan kain tipis dan filtratnya diambil (Kunaepah, 2008).

c. Pembuatan Produk Fermentasi

Sari kacang merah dan susu sapi yang sudah dipasteurisasi ditambahkan gula 5%, susu skim 5% dan gelatin 1%. Selanjutnya dituangkan starter 3% ke dalam substrat yang akan difermentasi dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

2. Uji Kualitatif Produk Fermentasi

a. Uji Organoleptik Produk Fermentasi

Uji ini dilakukan oleh 10 orang panelis yang dipilih secara acak dari Mahasiswa Fakultas Biologi UGM. Parameter yang digunakan dari segi rasa, warna, aroma, tekstur, dan keseluruhan sampel dan panelis diminta untuk mengisi lembar kuesioner yang telah disajikan (Chang, Kim, & Han, 2010).

3. Uji Kuantitatif Produk Fermentasi

a. Uji Total Asam

Sampel 10 ml dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan diencerkan dengan akuades. 5 mL sampel yang sudah diencerkan dipindahkan ke dalam erlenmeyer 100 mL dan ditambahkan 2 tetes fenolftalein 1%. Titrasi dilakukan dengan menggunakan NaOH 0,1 N. Hasil yang didapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Total asam tertitrasi} = \frac{\text{ml } 0,1 \text{ N NaOH} \times 0,009 \times \text{FP}}{\text{ml sampel}}$$

b. Uji Total Protein

Sampel diambil sebanyak 8 µL dan dimasukkan ke dalam mikroplate dengan tiga kali ulangan. Kemudian dimasukkan reagen bradford sebanyak 100 µL. Selanjutnya dimasukkan ke ELISA reader dengan panjang gelombang 595 nm (Mufidah, Wibowo, & Subekti, 2015).

c. Uji pH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter.

d. Uji Antibakteri

Uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar. Bakteri patogen yang digunakan adalah *Escherichia coli*. Kultur *E.coli* diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke cawan petri. Selanjutnya dituangkan medium NA ditunggu hingga padat. Kemudian dibuat sumuran dan dimasukkan sampel sebanyak 60 µL. Lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

e. Uji Total Sel BAL

Uji ini dilakukan dengan metode Total Plate Count yang ditumbuhkan pada medium MRSA. Sampel diencerkan hingga 10^8 . Pengenceran 10^6 hingga 10^8 masing-masing diambil sebanyak 1ml dan tuangkan kedalam cawan petri. Kemudian ditambahkan medium MRSA dan diinkubasi pada 37°C selama 48 jam (Fardiaz, 1993).

f. Uji Fisikawi

Sampel diambil sebanyak 10gram dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C dan ditunggu hingga berat mencapai konstan. Hasil yang didapat dihitung dengan menggunakan rumus :

- Persentase Kadar Air (wt/wt) =

$$\frac{\text{Berat kering} - \text{Berat basah} \times 100\%}{\text{Berat sampel basah}}$$

- Persentase total padatan (wt/wt) =

$$\frac{\text{berat kering sampel} \times 100\%}{\text{Berat basah sampel}}$$

(Nielsen, 2014)

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Uji Organoleptik

Uji ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan kualitas diantara beberapa produk dan memberikan besarnya perbedaan berdasarkan penilaian terhadap sifat tertentu dari suatu produk.

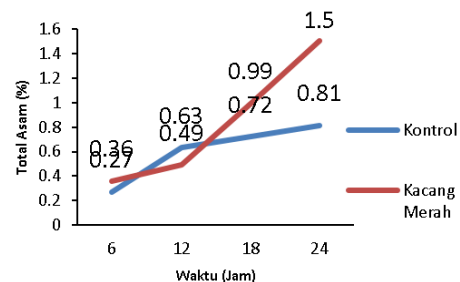
Tabel 1. Uji Organoleptik Produk Fermentasi Sari Kacang Merah dan Kontrol (Susu Sapi UHT)

Parameter	Produk	
	Sari kacang merah	Kontrol
Rasa	3.7	2.8
Aroma	3.2	3.6
Tekstur	2.7	3.2
Warna	3.3	3.4
Keseluruhan	2.9	3.1

Dari hasil yang di dapat produk fermentasi substrat kacang merah memiliki rasa yang lebih asam dibandingkan dengan kontrol. Produk fermentasi sari kacang merah jauh lebih encer, beraroma lebih asam dibandingkan dengan kontrol. Aroma yang terbentuk karena BAL menghasilkan produk gugus karbonil seperti asetaldehit, aston dan diasetil sehingga membentuk rasa/aroma yang khas (Yildiz, 2010). Rasa asam yang terbentuk merupakan hasil produk utama dari fermentasi oleh BAL. Perbedaan warna diakibatkan karena produk asal (substrat) yang berbeda, sehingga menghasilkan warna akhir yang berbeda.

2. Uji Total Asam

Fermentasi dengan starter BAL akan menghasilkan produk utama yaitu berupa asam. Uji ini bertujuan untuk menghitung kadar asam yang dihasilkan mikroorganisme pada produk fermentasi dengan substrat yang berbeda.



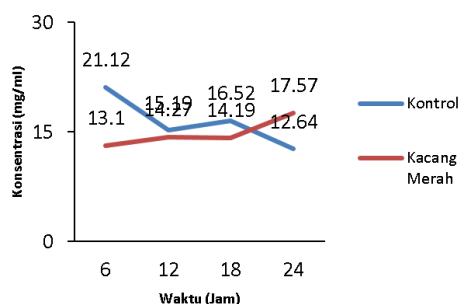
Gambar 1. Total Asam Fermentasi Sari Kacang Merah dan Susu Sapi (Kontrol) Selama 24 jam

Total asam dengan substrat sari kacang merah dan susu sapi UHT mengalami peningkatan setelah dilakukan fermentasi selama 24 jam (Gambar 1). Namun Kadar asam pada substrat sari kacang merah jauh lebih tinggi pada jam ke 24. Hal ini membuktikan bahwa *L. lactis* menghasilkan asam selama proses fermentasi. Asam piruvat akan terbentuk dari hasil pemecahan dari glukosa melalui jalur EMP (Embden-Meyerhof-Parnas) (Gänzle, 2015). Selanjutnya fermentasi asam piruvat akan diubah menjadi asam laktat (Fardiaz, 1987).

3. Uji Total Protein

Metode yang digunakan pada uji adalah metode uji bradford. Metode ini menggunakan

readgen bradford yang melibatkan warna *Coomassie Brilliant Blue* (CBB) yang akan berikatan dengan protein.

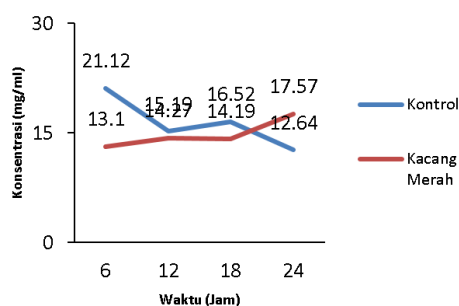


Gambar 2. Total Protein Fermentasi Susu Sapi (kontrol) dan Kacang Merah Selama 24 jam

Produk fermentasi substrat sari kacang mengalami kenaikan protein (Gambar 2). Hal ini diduga, mikroorganisme mengalami kenaikan jumlah sehingga enzim protease yang dihasilkan semakin tinggi dan kadar protein mengalami degradasi oleh enzim-enzim protease yang dihasilkan oleh *L. lactis* (Granito, Michel, Frias, Champ, & Guerra, 2005). Pada produk fermentasi substrat susu UHT mengalami penurunan kadar protein, hal ini mungkin karena protein pada susu digunakan bakteri sebagai nutrisi sehingga produksi protease tidak seimbang dengan protein untuk nutrisi bakteri.

4. Uji pH

pH menunjukkan total asam pada suatu sampel. Semakin tinggi total asam maka pH yang didapat semakin rendah <7. Uji pH ini berkaitan dengan uji total asam.



Gambar 3. pH fermentasi sari kacang merah dan susu sapi (Kontrol) Selama 24 jam.

Dapat dilihat pada gambar 3., diketahui bahwa pH pada kedua substrat ini mengalami penurunan. Namun, pada substrat sari kacang merah memiliki pH yang jauh lebih asam dibandingkan dengan kontrol.

Semakin lama fermentasi, maka asam laktat yang dihasilkan semakin banyak. Hal ini karena jumlah mikroorganisme mengalami peningkatan sehingga dapat menghasilkan asam jauh lebih tinggi. Kadar pH mempengaruhi aktivitas metabolisme pada bakteri. *L. lactis* lebih aktif bermetabolisme pada keadaan lingkungan yang asam.

5. Uji Antibakteri

Produk fermentasi jika ingin dikonsumsi perlu adanya uji antibakteri. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan produk dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. *E. coli* dianggap sebagai bakteri patogen karena dalam menyebabkan infeksi pada saluran pencernaan.

Tabel 2. Diameter antibakteri susu sapi dan sari kacang merah

Diameter Zona Bening (mm)	
Kontrol	Kacang merah
16.7	22.5

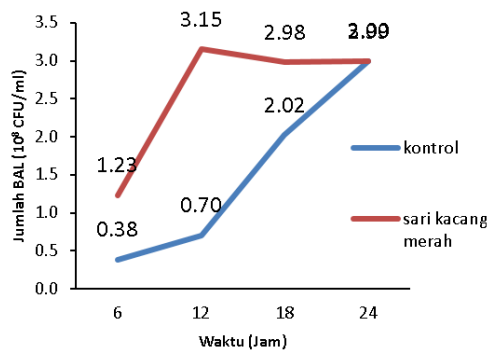
Berdasarkan Indu, Hatha, Abirosh, Harsha, & Vivekanandan, (2006), aktivitas kriteria zona hambat dapat diukur dengan ukuran diameter yang terbentuk >16 mm maka aktivitas hambatan cukup tinggi, sedangkan pada diameter 12-16 mm aktivitas sedang dan jika berdiameter <12 mm aktivitas rendah. Produk fermentasi sari kacang merah dan susu sapi UHT yang telah diuji dapat dikategorikan sebagai aktivitas zona hambat yang tinggi. Jika dibandingkan kedua substrat ini, sari kacang merah cenderung lebih tinggi daya hambat dibandingkan dengan susu sapi UHT. Hal ini karena kandungan karbohidrat jauh lebih tinggi pada sari kacang merah sehingga hidrolisis karbohidrat jauh lebih tinggi dan menghasilkan asam yang cukup

tinggi. Asam yang tinggi akan memberikan pH yang rendah sehingga aktivitas antibakteri menjadi jauh lebih tinggi (Wijaningsih, 2008).

6. Uji Total Sel BAL

L. lactis merupakan salah satu kelompok bakteri asam laktat. Bakteri ini merupakan termasuk homofermentatif. *L. lactis* sendiri dapat hidup pada pH optimum sekitar 6,3-6,9 dan memiliki batas pertumbuhan terendah pH sekitar 4 sampai 5 (Sánchez *et al.*, 2008).

Pada proses fermentasi, bakteri asam laktat pada umumnya memanfaatkan karbohidrat seperti glukosa, fruktosa dan sukrosa sebagai sumber nutrisi utama. Kacang merah termasuk kedalam bahan pangan nabati yang umumnya mengandung maltosa dan fruktosa yang disukai oleh bakteri asam laktat yang akan digunakan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan (Kurniasih & Rosahdi, 2013).



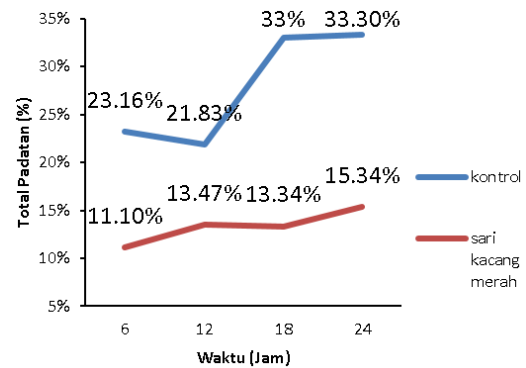
Gambar 4. Hasil TPC BAL (*Lactococcus lactis*) selama 24 Jam

Sari kacang merah maupun susu sapi (Kontrol) mengalami kenaikan total sel BAL (Gambar 4). Namun, pada sari kacang merah sudah mengalami kenaikan pada jam ke 12 lalu mengalami fase stationer hingga jam ke 24. Sebaliknya, pada kontrol (susu sapi) mengalami kenaikan total sel bal terus menerus dari jam ke 0 hingga ke 24. Hal ini karena bakteri pada fase log.

7. Uji Fisikawi

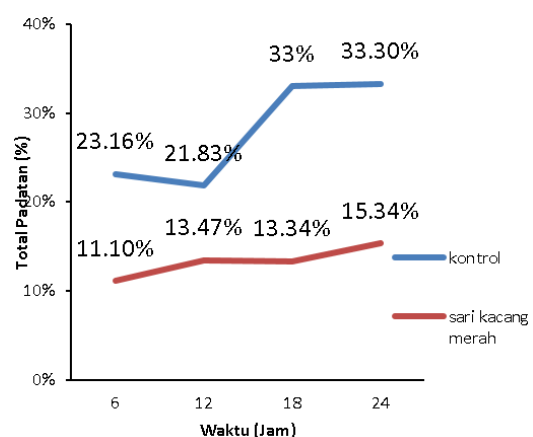
Uji Fisikawi terdiri dari kadar air dan total padatan. Kadar air dalam bahan pangan sangat

mempengaruhi kualitas dan daya simpan dari bahan pangan tersebut.



Gambar 5. Hasil Total Kadar Air Produk Fermentasi Susu Sapi (Kontrol) dan Sari Kacang Merah Selama 24 jam

Dari hasil analisis dapat diketahui bahwa kadar air pada sari kacang merah jauh lebih tinggi di banding dengan kontrol. Sari kacang merah dan kontrol dari 6 jam hingga 24 jam terus menurun. Hal ini dikarenakan pada kontrol cenderung jauh lebih kental dibanding dengan sari kacang merah. Pembuatan sari kacang merah dilakukan penambahan air sebanyak 8 kali berat biji kacang merah, sehingga kadar air jauh lebih tinggi di banding kontrol. Zhao, Feng, Ren, & Xueying (2018), yoghurt susu sapi memiliki kandungan air yang jauh lebih rendah karena tidak ada penambahan air pada saat pengolahan.



Gambar 6. Total padatan fermentasi sari kacang merah dan susu sapi (Kontrol) Selama 24 jam

Hasil total padatan pada kontrol maupun sari kacang merah mengalami kenaikan (Gambar

6). Namun, pada sari kacang merah memiliki total padatan yang jauh lebih rendah dibanding dengan kontrol. Hal ini karena fermentasi pada kedua substrat ini menghasilkan kekentalan yang berbeda-beda. Pada kontrol jauh lebih kental dan sudah terbentuk padatan, sedangkan pada sari kacang merah tidak terbentuk padatan namun semakin kental dari sebelum fermentasi.

Simpulan

Lactococcus lactis subsp. *Lactis* NBRC 12007 memiliki efektivitas yang baik dalam menghasilkan dan meningkatkan produk fermentasi pada substrat sari kacang merah di banding dengan fermentasi dengan substrat susu sapi UHT. Namun, dari segi kualitas kurang baik dibandingkan dengan susu sapi UHT.

Daftar Pustaka

- Chang, S. Y., Kim, D. H., & Han, M. J. (2010). Physicochemical and sensory characteristics of soy yogurt fermented with *Bifidobacterium brewe* K-110, *Streptococcus thermophilus* 3781, or *Lactobacillus acidophilus* Q509011. *Food Science and Biotechnology*, 19(1), 107–113.
- Famworth, E. R. (2008). *Handbook of fermented functional foods 2nd ed.* Boca Raton: CRC Press.
- Fardiaz, S. (1987). *Penuntun Praktek: Mikrobiologi Pangan.* Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Fardiaz, S. (1993). *Mirobiologi Pangan.* Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Gänzle, M. G. (2015). Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science*. 2,106-117. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.03.001>
- Granito, M., Michel, C., Frias, J., Champ, M., & Guerra, M. (2005). Fermented *Phaseolus vulgaris* : acceptability and intestinal effects. *European Food Research and Technology*, 220, 182–186.
- Han, I. H., & Baik, B. K. (2006). Oligosaccharide content and composition of legumes and their reduction by soaking, cooking, ultrasound and high hydrostatic pressure. *Cereal Chemistry*, 93(4), 428–433.
- Indu, M. N., Hatha, A. A. M., Abirosh, C., Harsha, U., & Vivekanandan, G. (2006). Antimicrobial activity of some of the South-Indian spices against serotypes of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria Monocytogenes* and *Aeromonas Hydrophila*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37(2), 153–158. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000200011>
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern food microbiology 7th ed.* New York: Springer science.
- Kunaepah, U. (2008). *Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah* (Universitas Diponegoro). Retrieved from <http://eprints.undip.ac.id/17580/>
- Kurniasih, N., & Rosahdi, T. D. (2013). Perbandingan Efektivitas Sari Kacang Merah dan Kacang Hijau sebagai Media Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*. *Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Teknologi Nuklir*, 212–216.
- Mufidah, T., Wibowo, H., & Subekti, D. T. (2015). Pengembangan Metode Elisa dan Teknik Deteksi Cepat dengan Imunostik Terhadap Antibodi Anti *Aeromonas Hydrophila* pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio*). *Jurnal Riset Akuakultur*, 10(4), 553. <https://doi.org/10.15578/jra.10.4.2015.553-565>
- Nielsen, S. (2014). *Food Analysis.* Berlin: Springer science.
- Nurhikmayani, R., Daryono, B.S., Retnaningrum, E. (2019). Isolation and molecular identification

- of antimicrobial-producing Lactic Acid Bacteria from chao, South Sulawesi (Indonesia) fermented fish product. *Biodiversitas*, 20 (4), 1063-1068. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d200418>
- Retnaningrum, E., Yossi, T., Nurazizah, R., Sapalina, F., Kulla, P. D. K. (2020). Characterization of a bacteriocin as biopreservative synthesized by indigenous lactic acid bacteria from dadih soya traditional product used in West Sumatra, Indonesia. *Biodiversitas* 21 (9), 4192-4198. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210933>
- Sánchez, C., Neves, A. R., Cavalheiro, J., Dos Santos, M. M., García-Quintáns, N., López, P., & Santos, H. (2008). Contribution of citrate metabolism to the growth of *Lactococcus lactis* CRL264 at low pH. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(4), 1136–1144. <https://doi.org/10.1128/AEM.01061-07>
- Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (2000). *Yoghurt: Science and technology 2nd Ed* (2nd ed.). Boston: CRC Press.
- Wijaningsih, W. (2008). Aktivitas Antibakteri in Vitro dan Sifat Kimia Kefir Susu Kacang Hijau (*Vigna radiata*) oleh Pengaruh Jumlah Starter dan Lama Fermentasi Semarang. 1–128.
- Yildiz, F. (2010). *Development and Manufacture of yogurt and other Functional Dairy Product*. New York: CRC Press.
- Zhao, L., Feng, R., Ren, F., Xueying, M. (2018). Addition of buttermilk improves the flavor and volatile compound profiles of low-fat yogurt. *LWT -Food Science and Technology*. 98, 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.029>