PENGARUH FERMENTASI BAKTERI ASAM LAKTAT TERHADAP KADAR PROTEIN SUSU KEDELAI

TUGAS AKHIR 2

Disusun dalam rangka penyelesaian Studi Strata 1
untuk memperoleh gelar sarjana sains

Oleh
Rizal Setya Bangun
4350404021

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2009

HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir II ini telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Tugas Akhir I Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang

Hari : Selasa

Tanggal : 14 April 2009

Panitia Ujian

Ketua

Drs. Kasmadi Imam S., M.S

NIP. 130781011

Sekretaris

Drs. Sigit Priatmoko, M.Si.

NIP. 131965839

Penguji I

Drs. Kusoro Siadi, M.Si.

NIP.130515772

Penguji II/ Pembimbing II

Drs. Ersanghono Kusumo, M.S

NIP.1310894821

Penguji III/ Pembimbing I

Dr. Sudarmin, M.Si.

NIP. 131993877

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Tugas Akhir II ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan ke Sidang Panitia Ujian Akhir II Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang

Semarang, Maret 2009

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Sudarmin, M.Si.	Drs. Ersanghono Kusumo, M.S
NIP. 131993877	NIP. 1310894821

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

PERNYATAAN

Penulis menyatakan bahwa yang tertulis di dalam Tugas Akhir II ini benar-benar hasil karya penulis sendiri, bukan jiplakan dari karya tulis orang lain, baik sebagian atau seluruhnya. Pendapat atau temuan orang lain yang terdapat dalam Tugas Akhir II ini dikutip atau dirujuk berdasarkan kode etik ilmiah.

Semarang, Maret 2009
Penulis

Rizal Setya Bangun
NIM 4350404021

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO:

- Lakukanlah segala sesuatu ikhlas karena Allah SWT.
- Berusaha, berdoa, dan kerja keras kunci utama kesuksesanmu.
- Maka Maha Suci (Allah) yang di tangan-Nya kekuasaan atas segala sesuatu dan kepada-Nya lah kamu dikembalikan (Yaasiin : 83).

PERSEMBAHAN:

Dengan segala kerendahan hati dan sepenuh hati, karya ini ku persembahkan untuk:

1. Ibunda dan ayahanda yang senantiasa mencurahkan kasih sayang, doa, dan dukungannya selama ini.
2. Keluargaku (khususnya Mbak Menik, Dek Aji, dan nenek) terima kasih atas semangat, dukungan dan doanya.
3. Teman-temanku kimia 2004, teman-teman kost 'EDW' semuanya, serta teman seperjuangan (Indah, Anto, Joni, Bahtiar, Joko, ,Alit, Mahbub, Iksan) terima kasih atas bantuannya.
4. Semua orang yang mengenalku, khususnya Dek Dian Herawati.

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN UNNES

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir II dengan judul Pengaruh Fermentasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Kadar Protein Susu Kedelai

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu, baik dalam penelitian maupun penyusunan Tugas Akhir II. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.
3. Ketua Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
4. Dr. Sudarmin, M.Si. selaku Pembimbing I yang telah memberikan ilmu, petunjuk dan bimbingan dengan penuh kesabaran sehingga Tugas Akhir II ini dapat terselesaikan.
5. Drs. Ersanghono Kusumo, M.S selaku Pembimbing II yang telah memberikan motivasi, bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan Tugas Akhir II ini.
6. Drs. Kusoro Siadi, M.Si. selaku Penguji utama yang telah memberikan pengarahan, kritikan dan masukan sehingga Tugas Akhir II ini menjadi lebih baik.
7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA UNNES yang telah memberikan bekal ilmu kepada penulis.
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah membantu dalam penyusunan Tugas Akhir II ini.

PERPUSTAKAAN UNNES

Demikian ucapan terima kasih dari penulis, mudah-mudahan Tugas Akhir II ini dapat bermanfaat dan dapat memberikan konstribusi positif bagi perkembangan ilmu pengetahuan dalam dunia penelitian, khususnya dalam sintesis senyawa organik.

Semarang, Maret 2009

Penulis

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

ABSTRAK

Bangun, Rizal Setya. 2009. *Pengaruh Fermentasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Kadar Protein Susu Kedelai*. Tugas Akhir 2, Jurusan Kimia, Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang. Pembimbing I : Dr. Sudarmin, M.Si, Pembimbing II : Drs. Ersanghono Kusumo, M.S.

Kata Kunci : Susu Kedelai, Fermentasi, Bakteri Asam Laktat, Protein

Penelitian ini telah dilakukan untuk mengetahui pengaruh jenis bakteri asam laktat (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus casei*) dan pengaruh waktu fermentasi terhadap kandungan protein susu kedelai yang difermentasi. Sebagai media fermentasi digunakan susu kedelai yang diinokulasikan dengan 2 jenis starter, yaitu: starter 1 (*Lactobacillus bulgaricus* 5% dan *Streptococcus thermopilus* 5%), starter 2 (*Lactobacillus casei* 5% dan *Streptococcus thermopilus* 5%), kemudian diinkubasi selama 0, 6, 8, dan 10 jam. Kadar protein diukur dengan cara Kjeldahl. Hasil penelitian menunjukkan bahwa (1) Tidak ada pengaruh jenis bakteri asam laktat (*Lactobacillus bulgaricus* / *Streptococcus thermopillus* dan *Lactobacillus casei* / *Streptococcus thermopilus* terhadap kadar protein susu kedelai fermentasi; (2) Ada pengaruh waktu fermentasi susu kedelai terhadap kadar protein; (3) Dari penelitian ini, kondisi optimal untuk mendapatkan kadar protein yang tinggi adalah fermentasi selama 10 jam. Saran yang dapat dilakukan dari penelitian ini adalah: (1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai jenis bakteri asam laktat yang lain; (2) Perlu dilakukan penelitian dengan lebih banyak variasi waktu untuk mendapatkan kadar protein dengan waktu yang optimal. (3) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai variasi konsentrasi dari bakteri asam laktat untuk mengetahui pengaruh fermentasinya terhadap kadar protein.

PERPUSTAKAAN
UNNES

ABSTRACT

Bangun, Rizal Setya. 2009. *Influence of Lactic Acid Bacteria Fermentation to Protein Value of Soybean Milk* Final Project 2, Chemistry Major, Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Sciences, Semarang State University, Advisors I : Dr. Sudarmin, M.Si, Advisors II : Drs. Ersanghono Kusumo, M.S.

Key words : Soybean milk, Fermentation, Acid Lactic Bacteria, Protein

This research was done to know about influence of lactic acid bacteria (*Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus casei*) and influence of fermentation time concerning protein value from soybean milk that was fermented. Fermentation media is soybean milk, was inoculated with 2 starter variant, they are : starter 1 (*Lactobacillus bulgaricus* 5% and *Streptococcus thermopiles* 5%), starter 2 (*Lactobacillus casei* 5% and *Streptococcus thermopiles* 5%), then incubation during 0, 6, 8, and 10 hours. Protein value obtain by Kjeldahl. The result are: (1) No influence of variant from lactic acid bacteria (*Lactobacillus bulgaricus* / *Streptococcus thermopiles* and *Lactobacillus casei* / *Streptococcus thermopiles* concerning protein value of soybean milk fermentation; 2) There are influence of soybean milk fermentation time concerning protein value; (3) from this research, 10 hours is condition to get higher protein value. Suggestion for next research are: (1) Use more kind of lactic acid bacteria to know influence concerning protein value; (2) Use more time variation to get protein value optimal; (3) Use more concentration bacteria of lactic acid to know about influence concerning protein value.

PERPUSTAKAAN
UNNES

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i
PERSETUJUAN PEMBIMBING ii
HALAMAN PENGESAHAN iii
PERNYATAAN iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN v
KATA PENGANTAR vi
ABSTRAK viii
ABSTRACK ix
DAFTAR ISI x
DAFTAR TABEL xii
DAFTAR GAMBAR xiii

BAB 1. PENDAHULUAN 1
1.1. Latar Belakang 1
1.2. Permasalahan 4
1.3. Tujuan Penelitian 4
1.4. Manfaat Penelitian 5

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS 6
2.1. Tinjauan Pustaka 6
2.1.1. Susu Kedelai 6
2.1.2. Fermentasi 12
2.1.3. Bakteri Asam Laktat 16
2.1.4. Protein 25
2.2. Hipotesis 32

BAB 3. METODE PENELITIAN 33
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian 33
3.2. Variabel Penelitian 33
3.3. Alat dan Bahan 34
3.4. Prosedur Penelitian 34
3.4.1. Pembuatan Media Cair untuk Kultur Bakteri 34
3.4.2. Peremajaan Kultur Bakteri ke Media Cair 35
3.4.3. Pembuatan Starter 35
3.4.4. Pembuatan Susu Kedelai 36
3.4.5. Fermentasi Susu Kedelai 36
3.4.6. Uji Kadar Protein 37
3.5. Metode Pengumpulan data 39
3.6. Metode Analisis Data 40

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN UNNES

BAB 4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN 41
4.1. Hasil Penelitian 41
4.2. Pembahasan 43
4.2.1. Persiapan Starter 43
4.2.2. Pembuatan Susu Kedelai 44
4.2.3. Fermentasi Susu Kedelai 46
4.2.4. Analisis Kadar Protein 48

BAB 5. PENUTUP 54
5.1. Simpulan 54
5.2. Saran 54

DAFTAR PUSTAKA 55
LAMPIRAN 57

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1 Komposisi Asam Amino Biji Kedelai 7
Tabel 2 Nilai Gizi Kedelai dalam 100 Gram Biji Kedelai 8
Tabel 3 Komposisi Gizi Susu Kedelai Cair dan Susu Sapi Tiap 100 Gram 9
Tabel 4 Rancangan Hasil Percobaan..... 39
Tabel 5 Data Hasi Perhitungan Kadar Protein dari Kegiatan Fermentasi Bakteri Asam Laktat pada Susu Kedelai 41

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1 Fermentasi Asam Laktat Homofermentatif 18
Gambar 2 Fermentasi Asam Laktat Heterofermentatif 20
Gambar 3 Lactobacillus bulgaricus 22
Gambar 4 Lactobacillus casei 22
Gambar 5 Steptococcus thermopilus 23
Gambar 6 Rumus Struktur Asam Amino 27
Gambar 7 Rumus Struktur Protein 28
Gambar 8 Susu Kedelai Cair Hasil Penelitian dan Contoh Susu Kedelai Cair yang Dijual di Pasaran 45
Gambar 9 Grafik Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Protein 51
Gambar 10 Grafik Batang Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Protein 52
Gambar 11 Pembuatan Media Cair untuk Kultur Bakteri 57
Gambar 12 Peremajaan Kultur Bakteri ke Media Cair 58
Gambar 13 Pembuatan Starter 59
Gambar 14 Pembuatan Susu Kedelai 60
Gambar 15 Fermentasi Susu Kedelai 61
Gambar 16 Uji Kadar Protein 62

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Di Indonesia, kedelai merupakan sumber makanan yang cukup popular karena mudah didapat dan mempunyai kandungan gizi yang cukup tinggi. Sebagai sumber makanan, kedelai dapat diolah menjadi berbagai macam olahan seperti tempe, tahu, kecap, taoco, susu kedelai, dan lain-lain. Protein kedelai merupakan protein yang paling baik bila dibandingkan dengan protein dari jenis kacang-kacangan lain karena mengandung semua asam amino esensial dan setara dengan protein hewani (daging, susu, dan telur).

Salah satu hasil olahan kedelai adalah susu kedelai. Susu kedelai terbuat dari protein kedelai (hasil olahan) yang diperkaya dengan metionin (asam amino esensial). Susu kedelai merupakan minuman yang bergizi tinggi. Sebagai sumber nutrisi nabati, susu kedelai mempunyai nilai gizi yang dapat disejajarkan dengan susu hewani.

PERPUSTAKAAN UNNES

Komposisi susu kedelai hampir sama dengan susu sapi. Karena itu susu kedelai dapat digunakan sebagai pengganti susu sapi. Susu kedelai mampu menggantikan susu sapi karena protein susu kedelai mempunyai susunan asam amino hampir mirip dengan susu sapi. Proteinnya bahkan lebih tinggi dan asam lemak jenuhnya lebih rendah, selain itu susu kedelai tidak mengandung kolesterol karena merupakan produk nabati. (Muryati dkk. 2005: 2).

Pengolahan kedelai menjadi susu kedelai dimaksudkan untuk menghilangkan bau menyengat yang kurang disukai. Bau ini disebabkan oleh enzim lipoksigenase yang secara alami terdapat dalam kacang kedelai. Kedelai juga mengandung oligosakarida yaitu rafinosa dan stakiosa, merupakan komponen gula yang tidak dapat dicerna sehingga dapat menyebabkan kembung dan rasa tidak nyaman di perut. Selain itu, kedelai mengandung zat antigizi penghambat tripsin yang dibutuhkan untuk mencerna protein. Zat antigizi ini menyebabkan sakit perut dan defisiensi asam amino kronis. Kandungan yang lain adalah hemaglutinin yang dapat menyebabkan penggumpalan sel darah merah sehingga tidak mampu mengikat oksigen untuk didistribusikan ke jaringan tubuh dan hal ini juga berakibat pada kesehatan kardiovaskuler. Zat penghambat tripsin dan hemaglutinin juga merupakan zat penghambat pertumbuhan.

Kedelai juga mengandung asam fitat dalam jumlah tinggi. Asam fitat ini dapat mengganggu penyerapan mineral esensial seperti kalsium, magnesium, besi, tembaga, dan terutama seng. Seng merupakan komponen vital enzim yang berperan terhadap sistem imunitas, karena itu konsumsi kedelai dapat menyebabkan menurunnya kekebalan tubuh. Namun demikian unsur penghambat kerja enzim tripsin dan aroma tersebut dapat dihilangkan dengan direndam dalam air atau larutan $NaHCO_3$ 0,5%. Selain diolah menjadi susu, unsur penghambat kerja enzim tripsin dan aroma tersebut juga dapat dihilangkan dengan cara fermentasi. Fermentasi dapat mengurangi kandungan

asam fitat dan hemaglutinin. Proses fermentasi juga membuat produk kedelai menjadi lebih mudah dicerna.

Fermentasi memiliki berbagai manfaat, antara lain untuk mengawetkan produk pangan, memberi cita rasa atau flavor terhadap produk pangan tertentu, memberikan tekstur pada produk pangan tertentu. Dengan adanya proses fermentasi yang dilakukan oleh mikroba tertentu diharapkan akan meningkatkan nilai gizi yang ada pada produk fermentasi. Perbaikan mutu produk pangan fermentasi ini diharapkan nilai terima pangan oleh konsumen meningkat. Peningkatan nilai terima oleh konsumen akan meningkatkan permintaan terhadap produk fermentasi misalnya susu fermentasi.

Penelitian tentang susu kedelai yang difermentasi telah dilakukan sebelumnya. Menurut Sukardi dkk (2002) "Susu kedelai fermentasi yang ditambah dengan sari kecambah jagung 30% akan menurunkan kadar protein 5,67% menjadi 4,44%". Yusmarini dan Efendi (2004) melaporkan bahwa penambahan gula akan meningkatkan kandungan protein yoghurt susu kedelai. Terjadinya peningkatan kandungan protein dari susu kedelai yang difermentasi ini disebabkan karena adanya penambahan protein dari mikroba yang digunakan. Semakin banyak jumlah mikroba yang terdapat dalam yoghurt maka semakin tinggi kandungan proteinnya

Dari uraian di atas, peneliti mencoba untuk mengetahui pengaruh jenis bakteri asam laktat dan lama fermentasi susu kedelai terhadap kandungan proteinnya. Jenis bakteri asam laktat yang diteliti adalah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus casei* untuk fermentasi susu kedelai. Dari alasan inilah peneliti

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

memberi judul : "Pengaruh Fermentasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Kadar Protein Susu Kedelai".

1.2. Permasalahan

Permasalahan yang timbul dari latar belakang di atas adalah:

1. Adakah pengaruh jenis bakteri asam laktat (*Lactobacillus bulgaricus / Streptococcus thermopilus* dan *Lactobacillus casei / Streptococcus thermopillus*) pada fermentasi susu kedelai terhadap kadar protein?
2. *Adakah* pengaruh waktu fementasi susu kedelai terhadap kadar protein?
3. *Berapakah* waktu fermentasi dari masing-masing bakteri (*Lactobacillus bulgaricus / Streptococcus thermopilus* dan *Streptococcus thermopillus*) agar diperoleh kadar protein paling tinggi pada penelitian ini?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh jenis bakteri asam laktat (*Lactobacillus bulgaricus / Streptococcus thermopilus* dan *Lactobacillus casei / Streptococcus thermopillus*) pada fermentasi susu kedelai terhadap kadar protein**.**
2. Mengetahui pengaruh waktu fermentasi susu kedelai terhadap kadar protein.
3. Mencari waktu masing-masing bakteri asam laktat (*Lactobacillus bulgaricus / Streptococcus thermopilus* dan *Streptococcus thermopillus*) agar diperoleh kadar protein paling tinggi pada susu kedelai yang difermentasi dalam peneletian ini.

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah:

1. Menambah pengetahuan tentang pemanfaatan kedelai sebagai susu yang dapat diawetkan dengan fermentasi.
2. Memberikan informasi tentang bau menyengat dan zat antigizi pada kedelai dapat dihilangkan dan dikurangi dengan cara diolah menjadi susu yang difermentasi dengan bakteri asam laktat.
3. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh jenis bakteri asam laktat (*L. bulgaricus* dan *L. casei*) dan lama fermentasi terhadap kadar protein hasil fermentasi susu kedelai.

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA DAN HIPOTESIS

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1. Susu Kedelai

Kedelai merupakan jenis *leguminosa* / kacang-kacangan yang umumnya sebagai sumber protein nabati yang cukup popular di semua kalangan (kelas bawah, ataupun menengah ke atas). Kedelai yang kita kenal sekarang (*Glycine max*) adalah keturunan dari tanaman kedelai liar *Glycine Soya* yang berasal dari daerah Manchuria (Cina Utara). Catatan sejarah kuno dari Cina menyatakan bahwa penanaman kacang kedelai telah dimulai 664 tahun sebelum Masehi pada masa pemerintahan dinasti Chou. Dari Cina, tanaman kedelai merambah hingga ke Jepang (abad ke-6) dan Eropa (abad ke-17). Di Indonesia, tanaman kedelai mulai dibudidayakan untuk bahan pangan dan pupuk hijau sejak abad ke-17. (http://enidra.multiply.com/journal/item/40/Mengapa_Kini_Kedelai_Dicurigai) Kedelai lebih dikenal merupakan tanaman subtropika yang dapat tumbuh di daerah tropika. Kedelai tidak tahan kondisi yang terlalu kering dan dingin. Tanah tempat tumbuh kedelai diutamakan yang mengandung bakteri pengikat N (*Rhizobium*). Jika ditanam di tempat yang sama berturut-turut sampai 2-3 kali, hasil kedelai dilaporkan dapat ditingkatkan. (Mugnisjah dan Setiawan 1991:69)

Tiap-tiap 100 gram biji kedelai akan menghasilkan energi 400 kalori. Kandungan asam-asam amino dalam kedelai tergolong lengkap, baik yang esensial maupun nonesensial. Kandungan asam-asam amino dalam biji kedelai dapat dilihat pada tabel 1.

PERPUSTAKAAN UNNES

Tabel 1 Komposisi Asam Amino Biji Kedelai (mg/g Nitrogen)

No	Asam Amino	Jumlah
1.	Asam glutamat	1444
2.	Asam aspartat	789
3.	Leusin	484
4.	Arginin	442
5.	Lisin	356
6.	Serin	332
7.	Fenilalanin	302
8.	Valin	298
9.	Isoleusin	296
10.	Prolin	276
11.	Alanin	273
12.	Glisin	265
13.	Treonin	258
14.	Tirosin	202
15.	Histidin	144
16.	Triptofan	72
17.	Metionin	69
18.	Sistein	54

(Muryati dkk. 2005: 2)

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

Kedelai dapat diolah dalam bermacam olahan seperti kecap, tahu, tempe, susu, taoco dan macam-macam turunannya. Dilihat dari kandungan gizinya, kedelai merupakan sumber protein, lemak, vitamin, mineral, dan serat yang baik. Protein kedelai telah terbukti paling baik dibandingkan jenis kacang-kacangan lain, karena mengandung semua asam amino esensial dan setara

dengan protein hewani (daging, susu, dan telur). Kandungan proteinnya mencapai 35% - 40%. Nilai gizi biji kedelai dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2 Nilai Gizi Kedelai dalam 100 Gram Biji Kedelai

No.	Zat Gizi Kedelai	Jumlah (g)
1.	Protein	35,1
2.	Karbohidrat	32,0
3.	Lemak	17,7
4.	Abu	5,0
5.	Serat	4,2
6.	Air	4,0
7.	Lain-lain	2,0
Total		100,0

(Muryati dkk. 2005: 2)

Susu kedelai adalah cairan hasil ekstraksi protein biji kedelai dengan menggunakan air panas. Susu kedelai berwarna putih seperti susu, dan bergizi tinggi. Dalam pelaksanaan pembuatan susu kedelai, teknologinya sangat sederhana, peralatan yang dibutuhkan sederhana dan mudah dipahami teknik pembuatannya. (Hartono, 2005 : 2).

Pada dasarnya kedelai mempunyai senyawa yang merintangi bekerjanya enzim tripsin untuk menguraikan protein menjadi asam-asam amino di dalam pencernaan. *Tripsin inhibitor* pada kedelai yang merupakan zat antigizi dapat dinonaktifkan melalui proses pemanasan. Sedangkan efek *groitogenic* (mengganggu penyerapan iodium) juga dapat dihilangkan dengan pemanasan dan penambahan iodium.

Mutu protein dalam susu kedelai hampir sama dengan mutu protein susu sapi. Misalnya, protein efisiensi rasio (PER) susu kedelai adalah 2,3, sedangkan PER susu sapi 2,5. PER 2,3 artinya, setiap gram protein yang

dimakan akan menghasilkan pertambahan berat badan pada hewan percobaan (tikus putih) sebanyak 2,3 g pada kondisi percobaan baku. Susu kedelai tidak mengandung vitamin B_{12} dan kandungan mineralnya terutama kalsium lebih sedikit daripada susu sapi. Karena itu dianjurkan penambahan atau fortifikasi mineral dan vitamin pada susu kedelai yang diproduksi oleh industri besar. Secara umum susu kedelai mempunyai kandungan vitamin B_2, niasin, piridoksin yang tinggi. Vitamin lain yang terkandung dalam jumlah cukup banyak adalah vitamin E dan K. Komposisi gizi susu kedelai cair dan susu sapi tiap 100 gram dapat dilihat pada tabel 3 berikut.

Tabel 3 Komposisi Gizi Susu Kedelai Cair dan Susu Sapi Tiap 100 Gram

Komponen	Susu kedelai	Susu sapi
Air (g)	87,00	88,33
Besi (g)	0,70	1,70
Fosfor (g)	45,00	60,00
Kalori (Kkal)	41,00	61,00
Kalsium (mg)	50,00	143,00
Karbohidrat (g)	5,00	4,30
Lemak (g)	2,50	3,50
Protein (g)	3,50	3,20
Vitamin B_1 (tiamin) (mg)	0,08	0,03
Vitamin C (mg)	2,00	1,00

(Muryati dkk. 2005: 4)

Jika dibuat dengan cara yang tidak baik, susu kedelai masih mengandung senyawa-senyawa antigizi dan senyawa-senyawa penyebab *off-flavor* (penyimpan cita rasa dan aroma pada produk olah kedelai) yang berasal dari bahan bakunya, yaitu kedelai. Senyawa-senyawa antigizi itu diantaranya antitripsin, hemaglutinin, asam fitat, dan oligosakarida penyebab flatulensi

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN UNNES

(timbulnya gas dalam perut sehinga perut menjadi kembung). Sedangkan senyawa penyebab *off-flavor* pada kedelai misalnya glukosida, saponin, estrogen, dan senyawa-senyawa penyebab alergi. Dalam pembuatan susu kedelai senyawa-senyawa itu harus dihilangkan, sehingga menghasilkan susu kedelai dengan mutu terbaik dan aman untuk dikonsumsi manusia.

Untuk memperoleh susu yang baik dan layak konsumsi, diperlukan syarat bebas dari bau dan rasa *langau* kedelai, bebas antitripsin, dan mempunyai kestabilan yang mantap (tidak mengendap atau menggumpal).

Langau adalah bau dan rasa khas kedelai dan kacang-kacangan mentah lainnya, dan tidak disukai konsumen. Rasa dan bau ini ditimbulkan oleh kerja enzim lipoksigenase dengan panas. Cara yang dapat dilakukan antara lain (1) menggunakan air panas (suhu 80-100^{0}C) pada penggilingan kedelai, atau (2) merendam kedelai dalam air panas selama 10-15 menit sebelum digiling. Agar bebas antitripsin, kedelai direndam dalam air atau larutan $NaHCO_3$ 0,5% selama semalam (8-12 jam) yang diikuti dengan perendaman dalam air mendidih selama 30 menit. (Muryati dkk. 2005: 5).

PERPUSTAKAAN UNNES

Menurut Boger (2004), antitripsin adalah inhibitor aktivitas protease. Enzim yang dihambat aktivitasnya oleh senyawa ini antara lain tripsin dan khimotripsin yang dapat menyebabkan daya cerna protein menurun. Efek ini terjadi bila bahan pangan yang mengandung antitripsin tidak dimasak dengan pemanasan yang cukup. Hal ini akan membawa akibat terhambatnya pertumbuhan dan pembengkakan pankreas.

Hemaglutinin adalah protein yang terdapat dalam kacang-kacangan (kedelai, kacang kapri) dan dapat menyebabkan aglutimasi sel darah merah sehingga mengakibatkan berkurangnya zat antigizi yang dapat diserap oleh dinding usus sehingga akan menyebabkan kekurangan zat gizi. Sama seperti inhibitor enzim lanning, hemaglutin bersifat tidak tahan terhadap pemanasan sehingga dapat dihilangkan aktivitasnya dengan pemasakan.

Tanin adalah senyawa polifenol yang dapat membentuk ikatan kompleks dengan protein sehingga mengganggu aktivitas enzim-enzim pencernaan. Akibatnya akan menurunkan broavibilatas zat gizi dan akan menghambat pertumbuhan. Tanin juga mengikat mineral sehingga dapat menurunkan ketersediaan mineral bagi tubuh. Tanin bersifat stabil terhadap pemanasan, tetapi mudah larut dalam air. Sehingga dapat dihilangkan dengan cara pencucian. (Boger, 2004)

Makin dikenalnya susu kedelai, membuat susu nabati ini makin berperan sebagai susu alternatif pengganti susu sapi karena kandungan protein yang cukup tinggi dan harga relatif lebih murah jika dibanding dengan sumber protein lainnya. Kelebihannya tidak mengandung laktosa sehingga susu ini cocok untuk dikonsumsi penderita intoleransi laktosa, yaitu seseorang yang tidak mempunyai enzim laktase dalam tubuhnya sehingga orang tersebut tidak dapat mencerna laktosa.

Penggunaan susu kedelai merupakan suatu alternatif dari penggunaan susu sapi. Khususnya penting untuk bayi dan anak-anak yang sangat memerlukan protein untuk pertumbuhannya, terutama bayi dan anak-anak

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

yang alergi susu sapi. Sebagai minuman, susu kedelai dapat menyegarkan dan menyehatkan tubuh karena pada umumnya minuman hanya bersifat menyegarkan, tetapi tidak menyehatkan. Susu kedelai juga dikenal sebagai minuman kesehatan. (Hartono, 2005).

2.1.2. Fermentasi

Fermentasi berasal dari bahasa Latin *fervere* yang berarti mendidihkan. Seiring perkembangan teknologi, definisi fermentasi meluas menjadi semua proses yang melibatkan mikroorganisme untuk menghasilkan suatu produk yang disebut metabolit primer dan sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. Pada mulanya istilah fermentasi digunakan untuk menunjukkan proses pengubahan glukosa menjadi alkohol yang berlangsung secara anaerob. Namun, kemudian istilah fermentasi berkembang lagi menjadi seluruh perombakan senyawa organik yang dilakukan mikroorganisme yang melibatkan enzim yang dihasilkannya.

Fermentasi adalah proses yang memanfaatkan kemampuan mikroorganisme untuk menghasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. Proses pertumbuhan mikroba merupakan tahap awal proses fermentasi yang dikendalikan terutama dalam pengembangan inokulum agar dapat diperoleh sel yang hidup. Pengendalian dilakukan dengan pengaturan kondisi medium, komposisi medium, suplai O_2, dan agitasi. Bahkan jumlah mikroba dalam fermentor juga harus dikendalikan sehingga tidak terjadi kompetisi dalam penggunaan nutrisi. Nutrisi dan produk fermentasi juga perlu dikendalikan,

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

sebab jika berlebih nutrisi dan produk metabolit hasil fermentasi tersebut dapat menyebabkan inhibisi dan represi. Pengendalian diperlukan karena pertumbuhan biomassa dalam suatu medium fermentasi dipengaruhi banyak faktor baik ekstraselular maupun faktor intraselular. Kinetika pertumbuhan secara dinamik dapat digunakan untuk meramalkan produksi biomassa dalam suatu proses.

Fermentasi bahan pangan untuk pengawetan, peningkatan gizi, perbaikan cita rasa, atau pembuatan minuman yang merangsang telah dilakukan mungkin sejak zaman prasejarah oleh manusia dari hampir semua peradaban. Banyak praktik fermentasi untuk percobaan tersebut masih dikerjakan untuk industri pangan modern. Selama abad terakhir ini, pengawetan pangan melalui pengolahan termal, dehidrasi, dan pembekuan telah maju di negara yang berkembang. Penyempurnaan metode yang bermacam-macam ini diiringi dengan melonjaknya konsumsi bahan pangan olahan dan menurunnya bahan pangan segar atau tak diolah.

Beberapa hal pertumbuhan organisme dalam bahan pangan menyebabkan perubahan yang menguntungkan seperti perbaikan bahan pangan dari segi mutu baik dari aspek gizi maupun daya cerna serta meningkatkan daya simpannya. Pada umumnya melibatkan proses mikroorganisme dan sebagai contoh adalah keju dan yoghurt (dari susu), tempe (dari kedelai) dan tape (dari ubi kayu). Masih banyak contoh bahan pangan hasil fermentasi antara lain minuman beralkohol.

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

Fermentasi bahan pangan adalah sebagai hasil kegiatan beberapa jenis mikroorganisme di antara beribu-ribu jenis bakteri, khamir, dan kapang yang telah dikenal. Mikroorganisme yang memfermentasikan bahan pangan untuk menghasilkan perubahan yang diinginkan dapat dibedakan dari mikroorganisme-mikroorganisme yang menyebabkan kerusakan dan penyakit yang ditularkan melalui makanan. Dari organisme-organisme yang memfermentasi bahan pangan yang paling penting adalah bakteri pembentuk asam laktat, bakteri pembentuk asam asetat, dan beberapa jenis khamir penghasil alkohol. Jenis-jenis kapang tertentu juga berperan utama dalam fermentasi beberapa pangan.

Salah satu produk yang mengalami fermentasi adalah susu. Susu fermentasi sudah dikenal luas oleh masyarakat seperti yang sekarang banyak terdapat produk yoghurt dengan berbagai macam merk baik luar negeri maupun dalam negeri. Susu fermentasi memiliki kelebihan dan khasiat yang baik untuk tubuh. Seperti kita ketahui bahwa beberapa orang tertentu mengalami gangguan pada sistem pencernaannya sehingga tidak dapat mencerna laktosa dalam susu. Dengan adanya produk tersebut laktosa yang terdapat dalam susu telah diuraikan menjadi monosakaridanya, sehingga bagi orang yang mengalami gangguan pencernaan tidak mengalami diare jika mengonsumsinya.

Yoghurt adalah salah satu upaya agar susu bisa lebih awet. Minuman ini memang berasal dari Balkan dan Timur Tengah dan kini populer di seluruh dunia. Yoghurt disukai karena rasa segar, tekstur, dan

aromanya yang khas. Citarasa yoghurt itu disebabkan timbulnya asam laktat, asam asetat, asetaldehida, aseton, asetoin, diasetil, dan lain-lain. (http:/www.republika.co.id/)

Di Indonesia, yoghurt belum terlalu populer. Baru belakangan ada yoghurt dalam berbagai kemasan, rasa, dan warna menarik. Di luar negeri, yoghurt bahkan mengandung mikroba yang masih hidup. Mereka percaya mikroba itu membantu proses pencernaan. Selain dibuat dari susu segar, yoghurt juga dapat dibuat dari susu skim (susu tanpa lemak) yang dilarutkan dalam air dengan perbandingan tertentu. Selain susu hewani, yoghurt juga dapat dibuat dari susu skim yang nabati seperti susu kacang. Pembuatan yoghurt menggunakan bakteri *Lactobasillus* dan *Streptococcus*. Kedua bakteri itu mengurai laktosa (gula) susu menjadi asam laktat dan berbagai komponen aroma dan citarasa. *Lactobasillus* lebih berperan pada pembentukan aroma, sedangkan *Streptococcus* lebih berperan pada pembentukan citarasa.

Prinsip pembuatan yoghurt adalah memfermentasikan susu dengan menggunakan bakteri asam laktat. Susu yang akan difermentasi, harus dipanaskan terlebih dahulu dengan tujuan untuk menurunkan populasi mikroba dalam susu dan memberikan kondisi yang baik bagi pertumbuhan biakan yoghurt.

Fungsi biakan (starter) antara lain adalah sebagai bahan pengawet (preservative). Terbentuknya asam laktat hasil fermentasi laktosa,

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

menyebabkan pertumbuhan beberapa bakteri tercegah, khususnya bakteri putreaktif, karena bekteri ini kurang toleran terhadap asam.

Komponen susu yang paling berperan dalam pembuatan yoghurt adalah laktosa dan kasein. Laktosa digunakan sebagai sumber energi dan karbon selama pertumbuhan biakan yoghurt, yang akan menghasilkan asam laktat. Terbentuknya asam laktat dari hasil fermentasi laktosa, menyebabkan keasaman susu meningkat atau pH susu menurun. (Rukmana 2001)

Dewasa ini yoghurt kedelai mulai populer di Indonesia. Di dalam yoghurt kedelai ini terdapat jutaan mikroba yang masih hidup. Jika yoghurt kedelai ini kita minum, berarti jutaan mikroba yang masih hidup masuk ke dalam perut kita. Mikroba-mikroba itu memiliki beberapa khasiat, antara lain dapat berguna bagi penderita kanker, memperpanjang usia manusia, dan sebagainya. Untuk membuktikannya, perlu dilakukan tes laboratorium dan lapangan, sekaligus mengungkap beberapa zat gizi yang terdapat di dalam yoghurt kedelai. Menurut para ahli, yoghurt kedelai merupakan "pabrik" dari bakteri-bakteri yang dapat memproduksi vitamin B, juga memiliki kadar protein dan kalsium lebih tinggi daripada susu segar. (Santoso 1993: 36).

2.1.3. Bakteri Asam Laktat

Bakteri adalah mikroorganisme bersel tunggal yang tidak terlihat oleh mata, tetapi dengan bantuan mikroskop, mikroorganisme tersebut akan nampak. Ukuran bakteri berkisar antara panjang 0,5 sampai 2,5 µ

tergantung dari jenisnya. Walaupun terdapat beribu jenis bakteri, tetapi hanya beberapa karakteristik bentuk sel yang ditemukan yaitu:

1. Bentuk bulat atau cocci (tunggal = *coccus*)
2. Bentuk batang atau bacili (tunggal = bacillus)
3. Bentuk spiral atau spirilli (tunggal = spirillum)
4. Bentuk koma atau vibros (tunggal = *vibrio*)

Bakteri probiotik dalam susu fermentasi telah terbukti secara klinis dapat menyehatkan saluran pencernaan manusia. Bakteri probiotik sendiri berarti suplemen mikroba hidup yang memberikan efek positif terhadap manusia dan hewan dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora usus. Habitat aslinya yaitu usus manusia maupun hewan. Umumnya, bakteri probiotik merupakan bakteri asam laktat, namun tidak semua bakteri asam laktat adalah bakteri probiotik. Sebagai contoh, bakteri asam laktat yang bukan probiotik yaitu *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*.

Mikroba yang melakukan fermentasi asam laktat terutama adalah bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat pada umumnya dapat dibagi menjadi dua macam yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Pada golongan homofermentatif hasil fermentasi terbesar merupakan asam laktat yaitu kira-kira 90 persen, sedangkan pada heterofermentatif jumlah asam laktat yang dihasilkan kurang dari 90 persen atau kira-kira seimbang dengan hasil-hasil lainnya misalnya asam asetat, etanol, CO_2, dan sebagainya. (Winarno 2004).

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

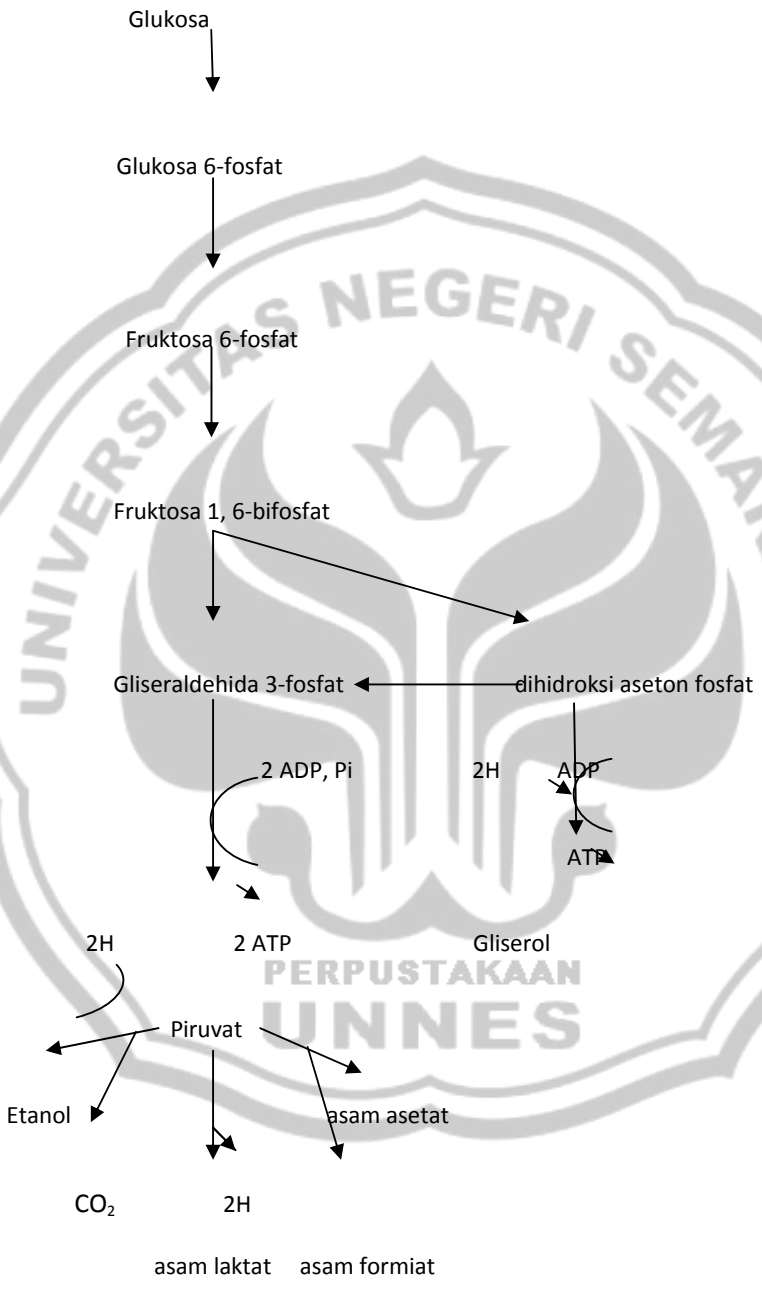
Bakteri asam laktat mampu mengubah glukosa menjadi asam laktat. Bakteri tersebut adalah *Lactobacillus, Streptococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Bifidibacterium*. Ada dua kelompok fermentasi asam laktat, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Homofermentatif menggunakan glikolisis melalui jalur Embden Meyerhof Pathnas (EMP) dan heterofermentatif menggunakan jalur Hexosa Monophosphat Pathway (HMP). (Purwoko 2007).

Jalur EMP adalah peristiwa pemecahan glukosa menjadi asam laktat dan piruvat dalam keadaan tanpa oksigen dan menghasilkan ATP. Ada serangkaian reaksi yang terjadi secara berurutan dalam jalur EMP untuk mengonversi glukosa menjadi asam piruvat yang secara garis besar dapat dikelompokkan dalam dua tahap, yaitu tahap perubahan glukosa menjadi triosa fosfat (gliseraldehida 3-fosfat dan dihidroksi aseton fosfat) yang memerlukan energi kimia dan tahap perubahan triosa fosfat menjadi asam piruvat sambil melepaskan energi ke lingkungannya.

Reaksi tahap pertama adalah perubahan glukosa menjadi triosa fosfat yang terdiri dari: aktivasi glukosa oleh ATP, reaksi isomerisasi glukosa menjadi fruktosa 6-fosfat, fosforilasi fruktosa 6-fosfat menjadi fruktosa 1, 6-bifosfat, pembentukan triosa fosfat. Reaksi tahap kedua adalah pembentukan asam piruvat dari gliseraldehida 3-fosfat yang terdiri dari: oksidasi gliseraldehida 3-fosfat, pemindahan gugus fosfat dari asilfosfat, interkonversi asam 3-fosfogliserat menjadi 2-fosfogliserat, dan pembentukan asam fosfoenol piruvat. (Ardianto 1996)

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

Gambar berikut menunjukkan fermentasi asam laktat homofermentatif jalur EMP.



Gambar 1 Fermentasi Asam Laktat Homofermentatif

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

Bakteri asam laktat homofermentatif menghasilkan mayoritas asam laktat dengan sedikit produk samping, yaitu gliserol, etanol, asam asetat, asam formiat, dan CO_2. Bakteri asam laktat homofermentatif mengoksidasi glukosa menjadi 2 piruvat melalui jalur EMP. Pada jalur itu menghasilkan 4 ATP + NADH yang dipakai untuk mereduksi piruvat menjadi asam laktat. Reaksi keseluruhan sebagai berikut.

$$\text{Glukosa} + 2\ \text{ADP} + 2\ \text{P} \longrightarrow 2\ \text{laktat} + 2\ \text{ATP}$$

Adanya produk samping, karena bakteri asam laktat homofermentatif mempunyai berbagai enzim yang dapat mengubah piruvat menjadi etanol dan CO_2, asetat dan formiat, serta laktat. Jika piruvat tidak segera diubah menjadi produk di atas, NADH dipakai untuk mereduksi dihidroksi aseton fosfat menjadi gliserol.

Perubahan nilai pH pada media dapat mengubah komposisi produk fermentasi asam laktat homofermentatif *Lactobacillus*. Fermentasi asam laktat idealnya dilakukan pada kondisi asam. Ketika kondisi diubah menjadi netral, sebagian piruvat dioksidasi menjadi asetil KoA dan format. Asetil KoA kemudian tereduksi menjadi asetat dan etanol.

Bakteri asam laktat heterofermentatif menghasilkan asam laktat dan produk fermentasi lainnya (kebanyakan etanol) dengan rasio yang seimbang. Hal itu karena mereka mengoksidasi glukosa menjadi piruvat dan asetil KoA melalui jalur HMP. Piruvat kemudian direduksi menjadi asam laktat, sedangkan asetil fosfat kemudian direduksi menjadi etanol. Pada jalur itu menghasilkan 1 ATP.

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

Reaksi keseluruhan sebagai berikut.

Glukosa + ADP + P ⟶ asam laktat + etanol + CO_2 + ATP

Gambar berikut menunjukkan fermentasi asam laktat heterofermentatif.

Gambar 2 Fermentasi Asam Laktat Heterofermentatif

Bakteri asam laktat yang termasuk homofermentatif misalnya *Streptococcus faecalis* dan *Streptococcus liquifaciens*, sedangkan yang termasuk heterofermentatif misalnya *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis* dan *L. pentoaceticum*.

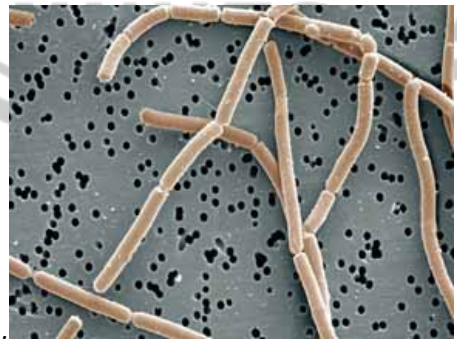
Secara singkat pemecahan glukosa oleh bakteri heterofermentatif dapat dituliskan sebagai berikut:

Glukosa ⟶ asam laktat + CO_2 + etil alkohol (etanol) (Winarno 2004: 49)

Spesies dari bakteri ini umumnya memfermentasikan gula heksosa menghasilkan asam laktat. Seringkali bakteri ini berperan dalam produksi bahan pangan terfermentasi. Anggota dari genus *Lactobacillus* tidak dapat bergerak, gram positif berbentuk batang yang dapat dijumpai secara tunggal, berpasangan atau berbentuk rantai. Spesies *Streptococcus* tidak dapat bergerak, berbentuk bulat yang dapat dijumpai secara tunggal, berpasangan atau berbentuk rantai. Spesies dari kedua kelompok ini memilih keadaan dengan kadar oksigen yang rendah untuk pertumbuhannya (katalase negatif) dan sangat tahan terhadap asam dibandingkan dengan spesies bakteri lain. *Lactobacillus* maupun *Streptococcus* berperan dalam memproduksi makanan terfermentasi seperti keju, yoghurt, dan asinan (pikel) dan beberapa spesies *Lactobacillus* dapat mengakibatkan minuman beralkohol seperti bir dan anggur menjadi asam.

Berikut adalah gambar dari *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, dan Streptococcus *thermopilus*

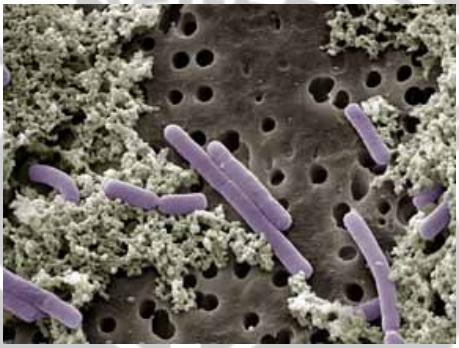
PERPUSTAKAAN



Gambar 3 *Lactobacillus bulgaricus*

Sumber:

http://bioweb.usu.edu/microscopy/lactobacillus%2520bulgaricus.jpg&imgrefurl=http://bioweb.usu.edu/microscopy/Research.htm&h=216&w=288&sz=22&hl=en&start=2&tbnid=JlLFd8mJSEVj6M:&tbnh=86&tbnw=115&prev=/images%3Fq%3Dlactobacillus%2Bbulgaricus%26gbv%3D2%26hl%3Den%26sa%3DG



Gambar 4 *Lactobacillus casei*

Sumber:

http://bioweb.usu.edu/microscopy/lactobacillus%2520bulgaricus.jpg&imgrefurl=http://bioweb.usu.edu/microscopy/Research.htm&h=216&w=288&sz=22&hl=en&start=2&tbnid=JlLFd8mJSEVj6M:&tbnh=86&tbnw=115&prev=/images%3Fq%3Dlactobacillus%2Bbulgaricus%26gbv%3D2%26hl%3Den%26sa%3DG

PERPUSTAKAAN UNNES

Gambar 5 *Streptococcus thermopilus*

Sumber:

http://www.magma.ca/~pavel/science/strther.jpg&imgrefurl=http://www.magma.ca/~pavel/science/Foods%26bact.htm&h=166&w=250&sz=16&hl=en&start=7&tbnid=QWkyTEhbI4wZ8M:&tbnh=74&tbnw=111&prev=/images%3Fq%3Dlactobacillus%2Bbulgaricus%26gbv%3D2%26hl%3Den%26sa%3DG

Dalam produksi, asam laktat didefinisikan sebagai campuran dari asam laktat dan hibrida asam laktat yang mengandung tidak kurang dari 85% dan tidak lebih dari 92% asam laktat. Prinsip utama pembuatan asam laktat dengan proses fermentasi adalah pemecahan laktosa menjadi bentuk monosakaridanya dan dari monosakarida tersebut dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh *Lactobacillus sp.* akan di ubah menjadi asam laktat. Asam laktat murni tidak berbau, tidak berwarna, dan bersifat higroskopis pada suhu kamar. Dalam keadaan tidak murni asam laktat berwarna kekuningan karena mengandung pigmen karoten. Sifat fisik asam laktat antara lain adalah bobot jenisnya 1,249; bobot molekulnya 90,08; titik beku 16,8 ^{o}C, dan titik didihnya 122 ^{o}C pada tekanan 14 mmHg. Sedang sifat kimiawi diantaranya adalah dapat larut dalam eter, alkohol, gliserin, dan air. Asam laktat tidak larut dalam kloroform, eter disulfida, dan karbon disulfida. (Budiyanto, 2002)

Asam laktat yang dihasilkan akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam. Ini juga menghambat

pertumbuhan dari beberapa jenis mikroorganisme lainnya. Dua kelompok kecil mikroorganisme dikenal dari kelompok ini yaitu organisme-organisme yang bersifat homofermentatif dan heterofermentatif. Jenis-jenis homofermentatif yang terpenting menghasilkan hanya asam laktat dari metabolisme gula sedang jenis-jenis heterofermentatif menghasilkan karbondioksida dan sedikit asam-asam volatil lainnya, alkohol dan ester di samping asam laktat. Beberapa jenis yang penting dalam kelompok ini:

1. *Streptococcus thermophilus, Streptococcus lactis* dan *Streptococcus cremoris*. Semuanya ini adalah bakteri gram positif, berbentuk bulat (*coccus*) yang terdapat sebagai rantai dan semuanya mempunyai nilai ekonomis penting dalam industri susu.
2. *Pediococcus cerevisae.* Bakteri ini adalah gram positif berbentuk bulat, khususnya jenis ini tercatat sebagai perusak bir dan anggur, bakteri ini berperan penting dalam fermentasi daging dan sayuran.
3. *Leuconostoc mesenteroides, Leuconostoc dextranicum.* Bakteri ini adalah gram positif berbentuk bulat yang terdapat secara berpasangan atau rantai pendek. Bakteri-bakteri ini berperan dalam perusakan larutan gula dengan produksi pertumbuhan dekstran berlendir. Walaupun demikian, bakteri-bakteri ini merupakan jenis yang penting dalam permulaan fermentasi sayuran dan juga ditemukan dalam sari buah, anggur dan bahan pangan lainnya.
4. *Lactobacillus lactis, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus delbrueckii.* Organisme-organisme ini adalah bakteri berbentuk batang, gram positif dan sering membentuk pasangan dan rantai dari sel-selnya. Jenis ini umumnya lebih tahan terhadap keadaan asam daripada jenis-jenis *Pediococcus* atau *Streptococcus* dan oleh karenanya menjadi lebih banyak terdapat pada tahapan terakhir dari fermentasi tipe asam laktat. Bakteri-bakteri ini penting sekali dalam fermentasi susu dan sayuran.

2.1.4. Protein

PERPUSTAKAAN UNNES

Protein merupakan suatu zat makanan yang amat penting bagi tubuh, karena zat ini disamping berfungsi sebagai bahan bakar dalam tubuh juga berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur. Protein adalah sumber asam-asam amino yang mengandung unsur-unsur C, H, O, dan N yang tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat. Molekul protein mengandung pula fosfor, belerang, dan ada jenis protein yang mengandung unsur logam seperti besi dan tembaga.

Sebagai zat pembangun, protein merupakan bahan pembentuk jaringan-jaringan baru yang selalu terjadi dalam tubuh. Pada masa pertumbuhan proses pembentukan jaringan terjadi secara besar-besaran, pada masa kehamilan proteinlah yang membentuk jaringan janin dan pertumbuhan embrio. Protein juga mengganti jaringan tubuh yang rusak dan yang perlu dirombak. Fungsi utama protein bagi tubuh ialah untuk membentuk jaringan baru dan mempertahankan jaringan yang telah ada. (Winarno 2004: 50).

Protein merupakan zat gizi yang paling banyak terdapat dalam tubuh setelah air. Protein merupakan bagian dari semua sel-sel hidup. Seperlima dari berat tubuh orang dewasa merupakan protein. Hampir setengah jumlah protein terdapat di otot, seperlima terdapat di tulang atau tulang rawan, seperlima terdapat di kulit, sisanya terdapat dalam jaringan lain dan cairan tubuh. Semua enzim merupakan protein. Banyak hormon juga protein atau turunan protein. Hanya urin dan empedu dalam kondisi normal tidak mengandung protein.

Protein mempunyai fungsi sebagai berikut:

1. Membentuk jaringan baru dalam masa pertumbuhan dan perkembangan tubuh
2. Memelihara jaringan baru dalam masa pertumbuhan dan perkembangan tubuh.
3. Menyediakan asam amino yang diperlukan untuk membentuk enzim pencernaan dan metabolisme serta antibodi yang diperlukan.

4. Mengatur keseimbangan air yang terdapat tiga kompartemen yaitu intraseluler, ekstraseluler / interseluler, dan intravaskuler.
5. Mempertahankan kenetralan (asam-basa) tubuh
6. Peningkatan aktivitas fisik. (Boger 2004: 52)

Protein merupakan bahan organik yang sangat penting dalam proses kehidupan. Protein terdapat dalam sel dan jaringan; misalnya dalam tubuh manusia protein merupakan bahan penyusun sekitar 18% berat tubuhnya. Secara kimiawi protein merupakan senyawa polimer yang tersusun dari asam-asam amino sebagai monomernya. Berat molekul protein berkisar antara 12000 sampai beberapa juta. Polimer asam-asam amino yang memiliki berat molekul di bawah 12000 (ada yang memberi batas 10000) dengan sengaja disebut polipeptida karena sifat-sifatnya yang berbeda dengan protein biasa.

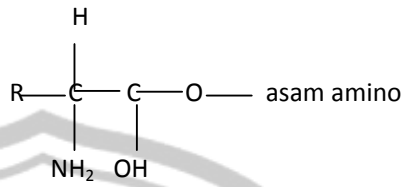
Unit penyusun protein yang disebut asam amino tersebut juga berbeda-beda berat molekulnya, dari yang terkecil yaitu glisin (Mr 75) sampai sistein (Mr 119). Asam amino memiliki dua gugus istimewa yaitu gugus Karboksil (-COOH) dan gugus amino ($-NH_2$) dalam molekulnya. Untuk membentuk protein, unit-unit asam amino tersebut berikatan antara satu dengan yang lain melalui ikatan peptida yaitu unsur nitrogen dari gugus amino dari senyawa asam amino yang satu berkaitan dengan gugus karbonil (CO) dari asam amino yang lain dengan kehilangan satu molekul air. Susunan antar asam amino dan jenis-jenis asam amino apa yang menyusun protein sangat spesifik dan khas bagi setiap jenis protein. (Sudarmadji dkk. 1997: 136).

Protein merupakan polimer yang panjang dari asam-asam amino. Suatu protein mengandung sampai 20 macam asam-asam amino yang berbeda-beda. Setiap asam amino kecuali glisin mengandung satu atom karbon yang tidak simetris yang dihubungkan dengan empat gugus yang berbeda yaitu gugus

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

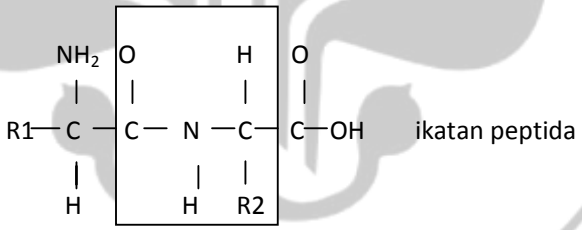
karboksil (-COOH), gugus amino (-NH_2), hidrogen (-H) dan gugusan R.

Rumus struktur asam amino dapat dituliskan sebagai berikut:



Gambar 6 Rumus Struktur Asam Amino

Biasanya protein mengandung 100-1000 molekul asam amino dan mempunyai berat molekul 16000-1000000. Masing-masing asam amino saling dihubungkan dengan ikatan kovalen yang disebut ikatan peptida, yaitu antara gugusan asam amino (-NH_2) dengan gugusan karboksil (-COOH). Ikatan peptida terlihat pada rumus struktur di bawah ini:



Gambar 7 Rumus Struktur Protein

Ikatan antara dua asam amino disebut ikatan peptida, sedangkan beberapa asam amino yang terikat oleh polipeptida disebut ikatan polipeptida. Urutan dari rangkaian asam-asam amino yang menyusun protein secara sempurna sukar untuk ditetapkan dan baru dapat diketahui beberapa protein tertentu (Winarno 2004).

Protein merupakan makromolekul dengan berbagai tingkat pengorganisasian struktur. Struktur primer protein berkaitan dengan ikatan peptida antara asam amino komponen dan dengan urutan asam amino dalam molekul. Para peneliti telah menentukan asam amino dalam banyak protein. Contohnya, susunan asam amino dan urutannya dalam beberapa protein susu sekarang sudah diketahui.

Di alam protein terdapat sebagai campuran serba berbeda dengan zat-zat lain. Di dalam penelitian sering diperlukan pemisahan protein dari campuran semacam itu. Untuk keperluan itu terdapat bermacam-macam cara. Dialisis dan penyaringan ultra dipergunakan untuk memisahkan larutan yang berbobot molekul rendah. Pengendapan dari larutan berair dengan penambahan aseton atau dengan penggaraman merupakan praktik yang umum. Pemisahan protein dari yang lainnya dilakukan dengan teknik yang didasarkan pada perbedaan bobot molekul, ukuran, dan muatan. Teknik ini meliputi kromatografi penukar ion, penyaringan gel, elektroforesis, pemusatan isoelektrik. Dengan demikian sempurnanya teknik pemisahan, maka banyak protein yang semula disangka serba sama ternyata terdiri atas beberapa jenis yang berbeda. (Sakidja : 1989 : 219).

Protein dapat mengalami suatu proses yang dikenal sebagai denaturasi, jika struktur sekundernya berubah tetapi struktur primernya tetap. Bentuk molekulnya mengalami perubahan, biasanya karena terpecah atau terbentuknya ikatan-ikatan silang tanpa mengganggu urutan asam aminonya. Proses ini biasanya tidak dapat berlangsung balik (*irreversible*), sehingga tidak mungkin untuk mendapatkan kembali struktur asal protein itu. Denaturasi dapat merubah sifat protein, menjadi sukar larut dan makin kental. Keadaan ini disebut koagulasi.

Koagulasi dapat ditimbulkan dengan berbagai cara.

1. Dengan pemanasan

   Banyak protein mengkoagulasi jika dipanaskan. Misalnya, jika telur dimasak, protein dalam bagian putih dan kuning telur mengkoagulasi. Protein dalam putih telur mengkoagulasi lebih awal, pada suhu 60 ^{o}C dan bagian kuning pada suhu antara 65°C dan 68 ^{o}C. Koagulasi ini digunakan secara meluas dalam penyiapan berbagai jenis makanan seperti puding telur dan *cake sepon*.

2. Dengan asam

   Jika susu menjadi asam, bakteri dalam susu memfermentasi laktosa, menghasilkan asam laktat. Derajat keasaman susu menurun menyebabkan protein susu, yaitu kasein, mengakogulasi. Starter (bibit awal) yang digunakan dalam pembuatan beberapa susu olahan seperti yoghurt dan keju terdiri atas bakteri yang memfermentasi laktosa. Asam laktat, yang dihasilkan oleh bakteri adalah penyebab koagulasi dalam susu sehingga terbentuk dadih (*curd*).

3. Dengan enzim-enzim

   Rennin yang secara komersial dikenal sebagai rennet adalah enzim yang mengakogulasikan protein. Rennet digunakan untuk membuat susu kental asam (*junket*) yaitu susu yang digumpalkan atau dikoagulasikan. Rennin juga digunakan bersama-sama dengan starter bakeri untuk membentuk dadih dalam pembuatan keju.

4. Dengan perlakuan mekanis

   Perlakuan mekanis seperti mengocok putih telur menyebabkan terjadinya koagulasi parsial pada protein. Ini digunakan dalam penyiapan makanan seperti dalam pembuatan "*meringue*" (sejenis kembang gula dengan putih telur)

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

5. Penambahan garam

Garam-garam tertentu seperti natrium klorida, dapat mengakogulasikan protein. Jika garam ditambahkan pada air yang digunakan untuk merebus telur, putih telurnya tidak akan hilang jika kulit telurnya pecah. Dalam pembuatan keju, garam sering ditambahkan pada dadih untuk mengeraskan dan juga menekan pertumbuhan mikroorganisme.

Kandungan protein dalam susu kedelai yang difermentasi menjadi yoghurt telah diteliti sebelumnya oleh Yusmarini dan Efendi (2004). Mereka meneliti tentang evaluasi mutu yoghurt yang dibuat dengan penambahan beberapa jenis gula. Penambahan gula cenderung meningkatkan kandungan proteinnya. Terjadinya peningkatan kandungan protein dari susu kedelai menjadi yoghurt disebabkan karena adanya penambahan protein dari mikroba yang digunakannya. Mikroba yang ditambahkan akan memanfaatkan sumber nitrogen dan karbon yang terdapat pada susu kedelai untuk hidup dan berkembangbiak (memperbanyak diri). Semakin banyak jumlah mikroba yang terdapat di dalam yoghurt maka akan semakin tinggi kandungan proteinnya karena sebagian besar komponen penyusun mikroba adalah protein. Hal ini sejalan dengan pendapat Herastuti (1994) di dalam Yusmarini dan Efendi (2004) yang mengatakan bahwa protein yang terdapat dalam yoghurt merupakan jumlah total dari protein bahan yang digunakan dan protein bakteri asam laktat yang terdapat didalamnya. Kandungan protein bakteri berkisar antara 60-70%. Selama fermentasi, protein akan dihidrolisis menjadi komponen-komponen terlarut guna keperluan pembentukan protein sel mikrobia.

2.2. Hipotesis

Hipotesis yang timbul dari permasalahan ini adalah:

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

1. Analisis untuk menguji ada tidaknya pengaruh jenis bakteri asam laktat *Lactobacillus bulgaricus* / *Streptococcus thermopilus* dan *Lactobacillus casei* / *Streptococcus thermopilus*) terhadap kadar protein susu kedelai hasil fermentasi.

   H_0 : kedua varians jenis bakteri sama (tidak ada pengaruh jenis bakteri asam laktat pada fermentasi susu kedelai terhadap kadar protein).

   H_1: kedua varians jenis bakteri tidak sama (ada pengaruh jenis bakteri asam laktat pada fermentasi susu kedelai terhadap kadar protein).

2. Analisis untuk menguji ada tidaknya pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar protein susu kedelai hasil fermentasi.

   H_0 : keempat varians waktu fermentasi sama (ada pengaruh waktu fermentasi susu kedelai terhadap kadar protein).

   H_1: keempat varians waktu fermentasi tidak sama. pengaruh waktu fermentasi susu kedelai terhadap kadar protein

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA UNNES untuk membuat starter kultur bakteri dan proses fermentasi, selain itu penelitian ini juga dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi FMIPA UNNES untuk uji protein. Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2009.

3.2. Variabel Penelitian

Sampel adalah sebagian yang diambil dari populasi. Sampel dari penelitian ini adalah kedelai yang diolah menjadi susu. Variabel bebas yaitu variabel yang diselidiki pengaruhnya terhadap variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis bakteri (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus casei*) dan waktu (lama fermentasi). Variabel terikat yaitu variabel yang menjadi titik pusat penelitian. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kandungan protein. Variabel terkendali yaitu faktor-faktor yang memengaruhi produk, tetapi dianggap konstan, sehingga dianggap tidak memberikan pengaruh atau pengaruhnya diabaikan. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah suhu, dan komposisi media pertumbuhan bakteri.

3.3. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: panci, pemanas, blender/ penggiling, saringan, tabung reaksi, erlenmeyer, kapas, plastik, karet, jarum ose, pipet mikro, spirtus, kulkas, inkubator, autoklaf, termometer, fermentor, labu Kjeldahl, seperangkat alat distilasi, gelas ukur, labu ukur, gelas kimia, termometer, pipet tetes, saringan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: kedelai, air, $NaHCO_3$, gula pasir, *Lactobacillus bulgaricus* (Lb), *Lactobacillus casei* (Lc), *Streptococcus thermopiles* (St), akuades, susu skim 10%, gelatin 1%, media MRS-*broth*, alkohol 70%, H_2SO_4 pekat, $KHSO_4$, $CuSO_4$, NaOH 30%, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, indikator metil merah.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Pembuatan Media Cair untuk Kultur Bakteri

1. Timbang media MRS-*Broth* sebanyak 5,2 gram.
2. Larutkan dengan akuades sampai volumenya 100 mL.
3. Aduklah sampai larut.
4. Larutan kemudian dibagi-bagi ke dalam tabung reaksi (10 buah), masing-masing berisi 10 mL larutan.
5. Tutup tabung reaksi dengan cottonplug, kemudian bungkus dengan plastik sampai rapat untuk sterilisasi.
6. Sterilisasi pada suhu 121 oC selama 15 menit di dalam autoklaf.
7. Dinginkan, kemudian simpan di dalam kulkas.

3.4.2. Peremajaan Kultur Bakteri ke Media Cair

1. Ambil kultur bakteri (Lb, Lc, St) dan media cair.

2. Buatlah tempat untuk peremajaan (penanaman) menjadi steril dengan cara menyemprotkan alkohol 70%.
3. Hidupkan api di kanan dan kiri tempat peremajaan.
4. Bakar jarum ose sampai berpijar kemudian angin-anginkan.
5. Lepaskan cottonplug pada tabung reaksi yang berisi kultur bakteri di dekat nyala api, ambil kultur dengan jarum ose, kemudian masukkan ke dalam media cair, ulangi tiga kali.
6. Tutup tabung reaksi dengan cottonplug, lakukan di dekat api supaya tidak terkontaminasi.
7. Lakukan untuk semua jenis kultur bakteri (Lb, Lc, St).
8. Inkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.4.3. Pembuatan Starter

1. Timbang susu skim sebanyak 10 gram.
2. Larutkan dengan akuades sampai volumenya 100 mL.
3. Kemudian masukkan larutan ke dalam erlenmeyer.
4. Buatlah 3 kali larutan di atas untuk 3 kultur.
5. Tutup erlenmeyer dengan *cottonplug*, kemudian bungkus dengan plastik sampai rapat untuk sterilisasi.
6. Sterilisasi dengan suhu 115 oC selama 10 menit di dalam autoklaf.
7. Setelah dingin kemudian inokulasi masing-masing kultur dalam media cair pada masing-masing larutan skim tadi.
8. Inkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37 ^{o}C selama 24 jam.

3.4.4. Pembuatan Susu Kedelai:

1. Timbang kedelai sebanyak 1 kg kemudian cuci dengan air hingga bersih.
2. Kedelai yang sudah bersih kemudian dimasukkan ke dalam panci yang berisi air, kemudian direndam selama 1 malam (12 jam) pada suhu kamar.

3. Kemudian kedelai dikukus atau direbus selama 30 menit, tambahkan 2 gram NaHCO3 sambil diaduk-aduk.
4. Dinginkan kemudian cuci dan kupas kulit arinya hingga benar-benar bersih.
5. Giling kedelai yang sudah bersih dengan menambahkan air hingga diperoleh bubur kedelai dan ditampung dalam panci.
6. Selanjutnya bubur kedelai dimasak hingga mendidih selama 15 menit dengan menambahkan air bersih dengan perbandingan: satu bagian bubur kedelai dengan satu bagian air.
7. Kemudian disaring dengan saringan yang halus.
8. Hasil saringan/ filtrat adalah susu kedelai.
9. Terakhir adalah pengemasan.

3.4.5. Fermentasi Susu Kedelai

1. Susu kedelai dipasteurisasi selama 15 menit pada suhu 80 ^{o}C, kemudian ditambahkan gelatin 1%.
2. Media susu kedelai kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer steril yang ditutup dengan cottonplug dan plastik.
3. Jumlah bakteri yang akan diinokulasikan adalah:

   Pada erlenmeyer I : 5% V/V starter *Lactobacillus bulgaricus* dan 5% V/V starter *Streptococcus thermophilus* (10% V/V jumlah bakteri inokulasi).

   Pada erlenmeyer II : 5% V/V starter *Lactobacillus casei* dan 5% V/V starter *Streptococcus thermophilus* (10% V/V jumlah bakteri inokulasi).

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

4. Cara penginokulasian adalah dengan mengambil sejumlah starter dari wadah starter dengan pipet mikro yang steril ke dalam masing-masing erlemeyer.
5. Erlenmeyer A dan B masing-masing berjumlah 3 buah, tiap-tiap erlemeyer digunakan untuk fermentsi selama 6 jam, 8 jam, dan 10 jam.
6. Kemudian fermentasi ke dalam inkubator pada suhu 37 oC dengan variasi waktu.
7. Sampel pada masing-masing erlenmeyer dapat diambil pada jam ke 0, 6, 8, dan 10, ditaruh dalam kulkas dengan suhu dibawa 0 ^{o}C sampai diuji kadar proteinnya.

3.4.6. Uji Kadar Protein

1. Sampel ditimbang sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl, tambahkan 1 gram $KHSO_4$, 3 gram $CuSO_4$, dan 25 mL H_2SO_4 pekat.
2. Kemudian didestruksi pada nyala api dalam lemari asam kira-kira selama 4 jam hingga warna hitam berubah menjadi hijau muda dan dinginkan.
3. Kemudian tambahkan 100 mL akuades.
4. Pindahkan ke dalam labu percik, kemudian susun alat untuk distilasi (labu yang berisi air disambung dengan bola percik dan pendingin Liebig)
5. Kemudian secara perlahan-lahan tambahkan 25 mL NaOH 30%.

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

6. Pendingin Liebig ujungnya dicelupkan ke dalam erlenmeyer yang berisi larutan 50 mL HCl 0,1 N yang telah ditetesi indikator metil merah.
7. Untuk mengetahui distilasi selesai, tes dengan kertas lakmus merah pada ujung pendingin. Jika kertas lakmus merah berubah menjadi biru berarti amoniak masih ada, distilasi dilanjutkan. Tetapi jika kertas lakmus merah tidak berubah warna berarti amoniak telah seluruhnya terdistilasi.
8. Kemudian cairan dalam erlenmeyer penampung dititrasi dengan NaOH 0,1 N hingga warna merah berubah menjadi kuning. Catat volume titran NaOH 0,1 N yang dipakai untuk titrasi.
9. Buatlah blanko dengan cara mengganti sampel dengan akuades.
10. Hitung kadar protein dengan cara sebagai berikut:

$$\%N = \frac{\text{mL NaOH blanko} - \text{mL NaOH sampel}}{\text{gram sampel} \times 1000} \times 100 \times 14{,}008$$

$$\%\ \text{protein} = \%N \times \text{faktor konversi}$$

3.5. Metode Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data adalah eksperimen. Rancangan percobaannya dapat dilihat pada tabel 4.

PERPUSTAKAAN UNNES

Tabel 4 Rancangan Hasil Percobaan

Jenis bakteri (starter)	Waktu fermentasi	Berat sampel	Volume NaOH titrasi blanko	Volume NaOH titrasi sampel	% N	Kadar protein	Rata-rata kadar protein
Lactobacillus bulgaricus	0	1 gram	… …	… …	… …	… …	…

5% V/V + *Streptococcus thermopilus* 5% V/V	6	1 gram	… …	… …	… …	… …	…
	8	1gram	… …	… …	… …	… …	…
	10	1 gram	… …	… …	… …	… …	…
Lactobacillus casei 5% V/V + *Streptococcus thermopilus* 5% V/V	0	1 gram	… …	… …	… …	… …	…
	6	1 gram	… …	… …	… …	… …	…
	8	1 gram	… …	… …	… …	… …	…
	10	1 gram	… …	… …	… …	… …	…

Hal-hal yang dilakukan untuk keperluan pengumpulan data yaitu:

1. Pembuatan susu kedelai dengan bahan dasar kedelai yang akan dicari kadar proteinnya.
2. Melakukan fermentasi pada susu kedelai dengan variasi jenis bakteri dan waktu.
3. Menentukan kadar protein dalam susu kedelai dengan menggunakan metode Kjeldahl.

3.6. Metode Analisis Data

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

Analisis data dilakukan dengan statistik menggunakan uji ANAVA satu jalur. Syarat untuk uji ANAVA satu jalur adalah rerata masing-masing kelompok harus sama (homogen) dan data berdistribusi normal. Uji ANAVA satu jalur dilakukan dengan program komputer melalui program SPSS 15 for Windows.

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

BAB 4

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Biokimia Jurusan Biologi FMIPA UNNES. Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2009. Bibit bakteri (*Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus casei*, dan *Streptococcus thermopilus*) adalah kultur murni dalam media agar yang diperoleh dari Laboratorium Pusat Antar Universitas UGM Yogyakarta. Hasil perhitungan kadar protein dari kegiatan fermentasi bakteri asam laktat pada susu kedelai dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5 Data Hasil Perhitungan Kadar Protein dari Kegiatan Fermentasi Bakteri Asam Laktat pada Susu Kedelai

Jenis bakteri (starter)	Waktu fermentasi (jam)	Berat sampel	Volume NaOH titrasi blanko	Volume NaOH titrasi sampel	% N	Kadar protein (%)	Rata-rata kadar protein
Lactobacillus bulgaricus 5% V/V + *Streptococcus thermopilus* 5% V/V	0	1 gram	24,8 mL 24,8 mL	20,9 mL 21,2 mL	5,45 5.04	34,15 31,52	32,83 %
	6	1 gram	24,8 mL 24,8 mL	19,5 mL 19,8 mL	7,42 7,00	46,40 43,78	45,09 %
	8	1 gram	24,8 mL 24,8 mL	18,3 mL 18,6 mL	9,10 8,69	56,91 54,28	55,59 %
	10	1 gram	24,8 mL 24,8 mL	16,2 mL 16,2 mL	12,05 12,05	75,29 75,29	75,29 %

Tabel 5 Data Hasil Perhitungan Kadar Protein dari Kegiatan Fermentasi Bakteri Asam Laktat pada Susu Kedelai

Jenis bakteri (starter)	Waktu fermentasi (jam)	Berat sampel	Volume NaOH titrasi blanko	Volume NaOH titrasi sampel	% N	Kadar protein (%)	Rata-rata kadar protein
Lactobacillus casei 5% V/V + *Streptococcus thermopilus* 5% V/V	0	1 gram	24,8 mL 24,8 mL	20,9 mL 21,2 mL	5,46 5.04	34,14 31,52	32,83 %
	6	1 gram	24,8 mL 24,8 mL	20,1 mL 19,5 mL	6,58 7,42	41,15 46,40	43,78 %
	8	1 gram	24,8 mL 24,8 mL	18,7 mL 19,1 mL	8,55 7,99	53,41 49,90	51,5 %
	10	1 gram	24,8 mL 24,8 mL	17,4 mL 17,6 mL	10,37 10,09	64,79 63,04	63,91 %

Data hasil penelitian ini dianalisis dengan ANAVA satu jalur. Asumsi yang digunakan pada pengujian ANAVA adalah populasi-populasi yang akan diuji berdistribusi normal, varians dari populasi-populasi tersebut adalah sama, dan sampel tidak berhubungan satu dengan yang lain (Santoso 2006).

Data dianalisis dengan menggunakan program SPSS 15 for Windows. Analisis dilakukan dua kali, yaitu analisis untuk menguji ada tidaknya pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar protein dan analisis untuk menguji ada tidaknya pengaruh jenis bakteri terhadap kadar protein.

Pada analisis varians waktu fermentasi diperoleh hasil bahwa keempat varians waktu fermentasi (0 jam, 6 jam, 8 jam, 10 jam) tidak sama dan keempat rata-rata waktu

fermentasi tidak sama. Hal ini berarti dengan waktu fermentasi yang berbeda maka menghasilkan kadar protein yang berbeda sehingga ada pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar protein.

Pada analisis varians jenis bakteri diperoleh hasil bahwa kedua varians jenis bakteri (Lb/St dan Lc/St) sama dan kedua rata-rata jenis bakteri sama. Hal ini berarti dengan jenis bakteri yang berbeda maka menghasilkan kadar protein yang sama sehingga tidak ada pengaruh jenis bakteri terhadap kadar protein.

4.2. Pembahasan

4.2.1. Persiapan Starter

Untuk melakukan fermentasi, kultur bakteri harus dalam bentuk starter. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini merupakan kultur biakan murni dalam media agar, untuk itu perlu dilakukan peremajaan kultur dalam media cair. Media yang dipakai untuk pembuatan media cair adalah MRS-*Broth* yang dilarutkan dalam akuades dan disterilisasi pada suhu 121 ^{o}C selama 15 menit. Sterilisasi perlu dilakukan untuk membunuh mikroorganisme yang mungkin hidup di dalamnya. Media cair ini dapat disimpan selama 3 bulan di dalam kulkas.

Kultur murni dalam media agar diinokulasi ke dalam media cair dan diinkubasi pada suhu 37 ^{o}C selama 24 jam. Starter dibuat dengan cara menginokulasi kultur cair ke dalam larutan susu skim supaya bakteri dapat berkembang dengan baik. Pembuatan starter harus dilakukan dalam keadaan steril. Proses inokulasi dilakukan di dekat nyala api agar tidak ada

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

mikroorganisme lain yang masuk. Starter inilah yang digunakan untuk proses fermentasi.

4.2.2. Pembuatan Susu Kedelai

Susu kedelai dibuat dari biji kedelai yang baik. Biji kedelai dibersihkan kemudian direndam dengan air pada suhu kamar selama 12 jam. Setelah itu kedelai direbus dengan air mendidih dengan menambahkan $NaHCO_3$. Pada saat perendaman, air rendaman menjadi berbau langau dan berwarna kuning. Bau ini disebabkan oleh enzim lipoksigenase yang secara alami terdapat dalam kacang kedelai. Proses perendaman dan perebusan dengan menambahkan $NaHCO_3$ dimaksudkan untuk menghilangkan zat antigizi pada kedelai. Zat anti gizi itu diantaranya adalah zat antitripsin, hemaglutinin, dan asam fitat.

Kedelai kemudian dicuci dan dikupas kulit arinya hingga benar-benar bersih. Giling kedelai yang sudah bersih dengan menambahkan sedikit air, hasil gilingan merupakan bubur kedelai. Penggilingan kedelai ini juga dapat menghilangkan enzim lipoksigenase yang dapat menyebabkan bau langau. Bubur kedelai ini direbus dengan air mendidih. Setelah itu disaring dan tambahkan gula secukupnya, hasilnya merupakan susu kedelai.

Susu kedelai yang dihasilkan dalam penelitian ini mempunyai karakteristik berwarna putih agak kekuningan, mempunyai rasa yang lebih

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

kuat, dan cairannya lebih kental daripada susu kedelai yang dijual di pasaran. Pada mulanya cairan susu kedelai akan terlihat merata, namun jika didiamkan terlalu lama akan terjadi endapan.

Susu kedelai hasil penelitian dan susu kedelai yang dijual di pasaran dapat dilihat pada gambar 8 berikut ini.

Susu kedelai hasil penelitian Susu kedelai yang di pasaran

Gambar 8 Susu Kedelai Cair Hasil Penelitian dan Contoh Susu Kedelai Cair yang Dijual di Pasaran

Pada perlakuan susu kedelai tanpa penambahan bakteri, diperoleh kadar protein sebesar 32,83%, sedangkan susu kedelai yang dijual di pasaran mempunyai kadar protein 3,5%. Kadar protein yang sangat besar pada penelitian ini dikarenakan pada saat proses pembuatannya, air yang ditambahkan pada bubur kedelai hanyalah satu bagian, sedangkan pada pembuatan susu kedelai biasanya air yang ditambahkan adalah delapan bagian. Hal ini menyebabkan susu kedelai menjadi pekat sehingga kadar proteinnya menjadi besar. Kadar protein biji kedelai adalah 35,1% dan kadar protein susu kedelai dalam penelitian ini adalah 32,83%,

artinya dalam pengolahan biji kedelai menjadi susu kedelai akan mengurangi kadar proteinnya sebesar 2,27%.

4.2.3. Fermentasi Susu Kedelai

Susu kedelai sebelum difermentasi harus dipasteurisasi dulu pada suhu 80°C selama 15 menit. Pasteurisasi dilakukan supaya mikroorganisme dalam susu kedelai mati sehingga tidak mengganggu kultur bakteri yang akan memfermentasi. Pasteurisasi juga bertujuan untuk memberikan kondisi yang baik bagi pertumbuhan biakan kultur. Pada penelitian ini pasteurisasi tidak boleh dilakukan dengan suhu yang terlalu tinggi karena suhu yang tinggi dapat merusak protein. Setelah dipasteursasi, susu kedelai kemudian ditambah gelatin 1%. Gelatin merupakan salah satu nutrisi yang diperlukan bagi kultur bakteri asam laktat sehingga dengan penambahan gelatin ini diharapkan kultur bakteri pada penelitian ini dapat berkembang dengan baik.

Pada penelitian ini ada tiga jenis starter yang diinokulasikan untuk memfermentasi susu kedelai. Starter tersebut adalah dari kultur *Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus casei*, dan *Streptococcus thermopilus*. Kultur dalam starter tersebut dipilih dalam penelitian ini karena kultur tersebut paling sering digunakan untuk membuat produk susu fermentasi. Sebanyak 5% starter dari kultur *Lactobacillus bulgaricus* dicampur dengan 5% *Streptococcus thermopilus*. Starter *Lactobacillus casei* 5% juga dicampur dengan *Steptococcus thermopilus* 5%. Starter tersebut kemudian diinokulasikan pada susu kedelai kemudian dilakukan fermentasi di dalam

PERPUSTAKAAN UNNES

inkubator. Susu fermentasi tersebut diambil pada jam ke 0, 6, 8, dan 10 untuk diuji kadar proteinnya.

Yusmarini dan Efendi (2004) menyatakan selama fermentasi terbentuk asam-asam organik sehingga menimbulkan citarasa yang khas. Kandungan gula yang terdapat pada susu kedelai dimanfaatkan oleh kultur untuk proses metabolismenya sehingga dihasilkan asam-asam organik terutama asam laktat. Asam-asam inilah yang akan menggumpalkan protein pada susu kedelai. Ratnawati (1999) menyatakan selama proses fermentasi terjadi perubahan fraksi protein, dari fraksi protein besar menjadi fraksi yang lebih kecil. Perubahan fraksi protein ini terjadi karena aktivitas kultur bakteri selama proses fermentasi. Perubahan fraksi protein susu kedelai ini menyebabkan berubahnya tekstur susu kedelai dari cair menjadi semipadat.

Farm (2006) menyatakan terjadi hubungan yang menguntungkan antara kultur *Lactobacillus* dengan kultur *Streptococcus thermopilus*. *Streptococcus thermopilus* tumbuh lebih cepat dan menghasilkan asam dan karbon dioksida. Asam dan karbon dioksida yang dihasilkan ini menstimulasi pertumbuhan *Lactobacillus*. Disamping itu, aktivitas dari *Lactobacillus bulgaricus* ternyata juga menghasilkan asam amino yang digunakan oleh *Streptococcus thermopillus*. Kultur *Streptococcus* thermopilus memberikan keadaan yang mendukung untuk pertumbuhan *Lactobacillus*. Kultur ini berperan dahulu menurunkan pH

PERPUSTAKAAN UNNES

sampai kira-kira 5,0. Keadaan asam inilah yang baik dan mendukung pertumbuhan *Lactobacillus.*

Proses fermentasi dari kedua kultur campuran ini dilakukan dengan variasi waktu. Waktu yang digunakan pada penelitian ini adalah 0 jam, 6 jam, 8 jam, dan 10 jam. Selang waktu tersebut dipilih untuk mengetahui pengaruh perbedaan waktu fermentasi terhadap kadar protein, sedangkan waktu yang digunakan untuk proses fermentasi pada umumnya adalah selama 6 jam. Saat waktu untuk fermentasi selesai, susu hasil fermentasi kemudian dipindahkan ke dalam kulkas dengan suhu di bawah 0 ^{o}C sampai dianalisis kadar proteinnya, hal ini dilakukan untuk menghentikan proses fermentasi. Pada suhu di bawah 0 ^{o}C, kultur bakteri akan inaktif sehingga proses metabolismenya berhenti. Proses fermentasi dapat juga dihentikan dengan pemanasan pada suhu 110 ^{o}C selama 10 menit, namun jika ini dilakukan mungkin akan berpengaruh pada kadar protein yang dihasilkan karena pemanasan pada suhu tinggi akan merusak protein.

4.2.4. Analisis Kadar Protein

PERPUSTAKAAN UNNES

Analisis kadar protein dilakukan dengan metode Kjeldahl. Prinsip dari metode Kjeldahl ini adalah oksidasi bahan-bahan berkarbon dan konversi nitrogen menjadi amoniak. Selanjutnya amoniak bereaksi dengan kelebihan asam membentuk amonium sulfat. Larutan dibuat menjadi basa, dan amoniak diuapkan untuk kemudian diserap dalam larutan asam. Nitrogen yang terkandung dalam larutan dapat ditentukan jumlahnya dengan titrasi.

Pada penelitian ini, sampel didestruksi dengan H_2SO_4 pekat dan ditambah $KHSO_4$ dan $CuSO_4$. $KHSO_4$ dan $CuSO_4$ digunakan sebagai katalis untuk membantu pendidihan. Proses destruksi akan mengoksidasi unsur karbon dan hidrogen menjadi CO, CO_2 dan H_2O, sedangkan nitrogennya akan bereaksi menjadi amonium sulfat $(NH_4)_2SO_4$.

Reaksinya adalah sebagai berikut:

$$H_2N\text{-}CH(R)\text{-}COOH + H_2SO_4 \rightarrow CO_2 + CO + H_2O + (NH_4)_2SO_4$$

Setelah didinginkan, larutan kemudian ditambah dengan NaOH 30% untuk membuat larutan menjadi basa dan memecah $(NH_4)_2SO_4$ menjadi NH_3. Amoniak yang mudah menguap ini kemudian didistilasi ke dalam larutan asam (HCl 0,1 N) berlebih yang sebelumnya telah ditambah indikator metil merah. Pada saat NH_3 mengalir ke penampung distilat (HCl 0,1 N) maka pH larutan akan naik. Pada tahap ini tidak terjadi perubahan warna. Distilasi selesai ditandai dengan tidak berubahnya warna kertas lakmus yang dipasang pada ujung adaptor. Jika kertas lakmus berubah menjadi biru, berarti amoniak masih ada dan distilasi harus dilanjutkan. Reaksinya adalah sebagai berikut:

$$(NH_4)_2SO_4 + 2\ NaOH \rightarrow 2\ NH_4OH + Na_2SO_4$$

$$NH_4OH \rightarrow NH_3 + H_2O$$

Amoniak yang hasil distilasi ditampung dalam larutan HCl 0,1 N yang akan bereaksi dan menghasilkan NH_4Cl dan sisa HCl. Sisa HCl ini selanjutnya dititrasi dengan dengan NaOH 0.1 N. Titrasi dihentikan jika warna larutan berubah dari merah muda menjadi jernih. Volume NaOH

hasil titrasi ini selanjutnya akan digunakan dalam perhitungan mencari kadar protein. Hal yang sama dilakukan pada blanko, yaitu mengganti sampel dengan akuades. Reaksi pada titrasi adalah sebagai berikut:

$NH_3 + HCl \rightarrow NH_4Cl + HCl$

$HCl + NaOH \rightarrow H_2O + NaCl$

Setelah didapatkan volume titrasi NaOH sampel dan NaOH blanko, maka kadar protein dapat dicari dengan rumus sebagai berikut:

$$\%N = \frac{\text{mL NaOH blanko} - \text{mL NaOH sampel}}{\text{gram sampel} \times 1000} \times 100 \times 14{,}008$$

$$\%\ \text{protein} = \%N \times \text{faktor konversi}$$

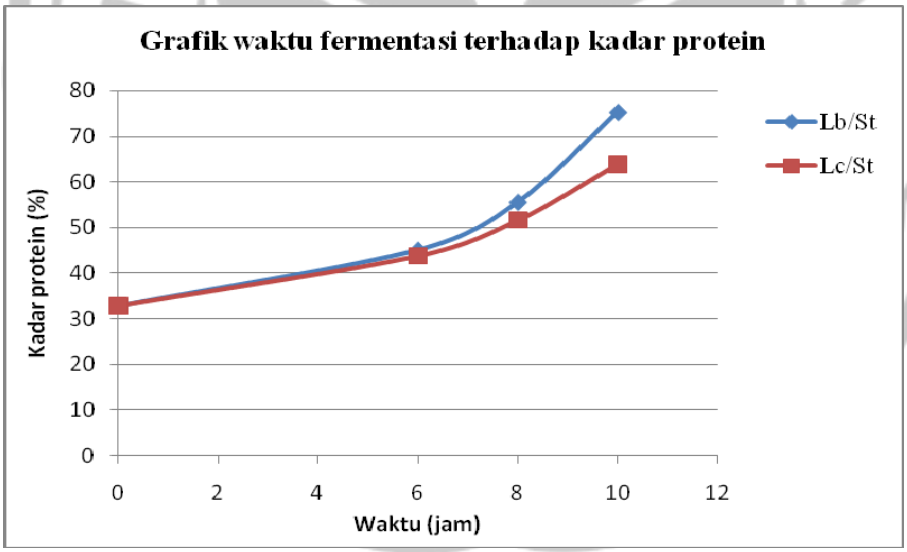
Faktor konversi = 6,25

Penelitian ini bertujuan untuk mencari pengaruh jenis bakteri asam laktat (*Lactobacillus bulgaricus / Streptococcus thermopilus* dan *Lactobacillus casei / Streptococcus thermopilus*) terhadap kadar protein susu kedelai fermentasi. Dari data yang diperoleh dalam penelitian ini dan setelah data diolah secara statistik, maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada pengaruh jenis bakteri terhadap kadar protein susu kedelai yang difermentasi. Meskipun dalam penelitian ini masing-masing jenis bakteri menghasilkan kadar protein yang berbeda, namun dalam uji dengan menggunakan ANAVA satu jalur tidak didapatkan perbedaan yang berarti.

Selain untuk mencari pengaruh jenis bakteri asam laktat terhadap kadar protein, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui

pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar protein susu kedelai fermentasi. Dari data yang diperoleh dan setelah diolah secara statitistik dengan menggunakan uji ANAVA satu jalur maka dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar protein susu kedelai. Semakin lama waktu fermentasi maka semakin besar kadar proteinnya pada semua jenis bakteri dalam penelitian ini.

Waktu fermentasi dari kedua jenis bakteri yang menghasilkan kadar protein paling besar adalah 10 jam. Berarti, 10 jam adalah waktu yang optimal pada penelitian ini. Hal ini dapat dilihat pada grafik berikut ini.



Gambar 9 Grafik Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Protein

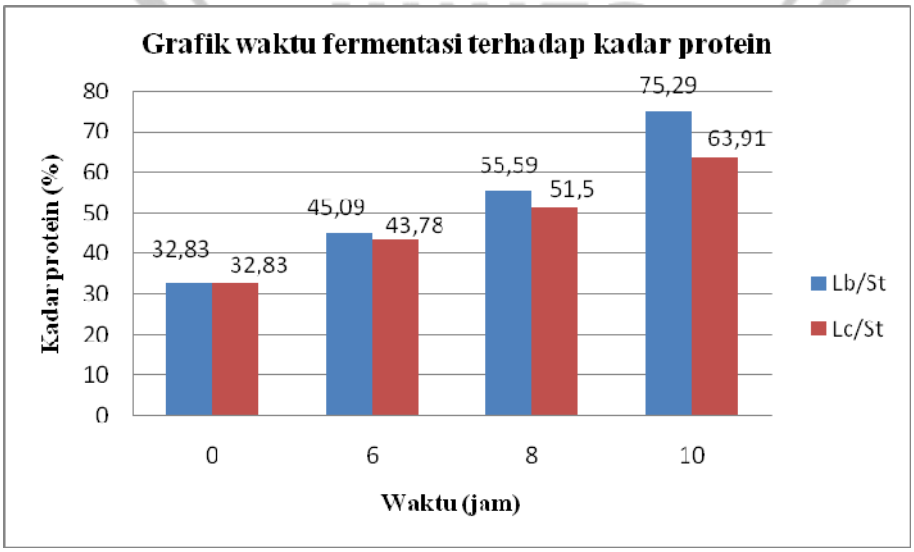
Keterangan:

Lb/St : fermentasi susu kedelai dengan starter bakteri *Lactobacillus bulgaricus* 5% dan *Streptococcus thermopilus* 5%.

Lc/St : fermentasi susu kedelai dengan starter bakteri *Lactobacillus casei* 5% dan *Streptococcus thermopilus* 5%.

Dari grafik di atas dapat diketahui bahwa dengan waktu fermentasi yang sama, kultur *Lactobacillus bulgaricus* / *Streptococcus casei* memiliki kadar protein yang lebih besar bila dibandingkan dengan kultur *Lactobacillus casei* / *Streptococcus* thermopilus. Hal ini terjadi karena perkembangbiakan dari *Lactobacillus bulgaricus* lebih cepat bila dibandingkan dengan *Lactobacillus casei*. Dengan meningkatnya jumlah Lactobacillus *bulgaricus* maka akan meningkatkan pula kadar proteinnya. Meskipun demikian, setelah diuji secara statistik dengan menggunakan uji ANAVA satu jalur perbedaan jenis bakteri tersebut tidak mempunyai pengaruh yang berarti karena dari hasil *output* SPSS dengan menggunakan ANAVA satu jalur pada tabel *test of Homogeneity of Variances* diperoleh nilai sig = 0,568 > 0,05 maka H_0 diterima artinya kedua varians jenis bakteri sama sehingga jenis bakteri tidak memengaruhi kadar protein hasil fermentasi susu kedelai. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada grafik batang berikut ini.

PERPUSTAKAAN



Gambar 10 Grafik Batang Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Protein

Semakin lama waktu fermentasi yang dibutuhkan maka semakin besar pula kadar protein yang dihasilkan. Terjadinya peningkatan kadar protein dari susu kedelai fermentasi ini disebabkan karena adanya penambahan protein dari kultur yang digunakan. Semakin banyak kultur yang berkembang maka semakin banyak enzim yang dihasilkan. Enzim merupakan protein, sehingga kadar protein dalam susu fermentasi ini akan semakin bertambah besar. Hal ini juga sama dengan pendapat Yusmarini dan Efendi (2004) yang menyatakan, dalam fermentasi kultur bakteri yang ditambahkan akan memanfaatkan sumber nitrogen dan karbon untuk hidup dan berkembang biak (memperbanyak diri). Semakin banyak jumlah kultur bakteri yang terdapat dalam susu fermentasi maka akan semakin tinggi kandungan proteinnya karena sebagian besar komponen penyusun bakteri adalah protein. Hal ini sejalan dengan pendapat Herastuti (1994) di dalam Yusmarini dan Efendi (2004) yang menyatakan bahwa protein yang terdapat dalam susu fermentasi merupakan jumlah total dari protein bahan yang digunakan dan protein bakteri asam laktat yang terdapat di dalamnya.

PERPUSTAKAAN UNNES

BAB 5

PENUTUP

5.1. Simpulan

Simpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah: (1) Jenis bakteri asam laktat (*Lactobacillus bulgaricus / Streptococcus thermopillus* dan *Lactobacillus casei / Streptococcus thermopilus*) yang berbeda akan menghasilkan kadar protein yang berbeda, namun perbedaan ini tidak signifikan sehingga tidak ada pengaruh jenis bakteri asam laktat terhadap kadar protein susu kedelai fermentasi; (2) Ada pengaruh waktu fermentasi susu kedelai terhadap kadar protein; (3) Dari penelitian ini, kondisi untuk mendapatkan kadar protein yang tinggi adalah fermentasi selama 10 jam.

5.2. Saran

PERPUSTAKAAN
UNNES

Saran yang dapat dilakukan dari penelitian ini adalah: (1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai jenis bakteri asam laktat yang lain untuk mengetahui pengaruh fermentasinya terhadap kadar protein. (2) Perlu dilakukan penelitian dengan lebih banyak variasi waktu untuk mendapatkan kadar protein dengan waktu yang optimal. (3) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan

berbagai variasi konsentrasi dari bakteri asam laktat untuk mengetahui pengaruh fermentasinya terhadap kadar protein.

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES

DAFTAR PUSTAKA

Anonim.2007. Mengapa Kini Kedelai Dicurigai? Http://enidra.multiply.com/journal/item/40/Mengapa_Kini_Kedelai_Dicurigai/ Diakses 11 April 2008.

Anonim. 2008. Lebih Jauh dengan Yoghurt. *Http://www.republika.co.id/* Diakses 11 April 2008.

Ardianto, P. 1996. *Biokimia Konsep-Konsep Dasar.* Bandung: Penerbit DEPDIKBUD DIKTI Proyek Pendidikan Tenaga Guru.

Boger. 2004. Pengantar Pangan dan Gizi. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya

Budiyanto, A. K. . 2002. *Mikrobiologi Terapan.* Malang: Universitas Muhamaddiyah Malang Press.

Dwidjoseputro, D. 1987. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Malang: Penerbit Djambatan.

Farm, M. 2006. Mikrobiologi Susu dan Yoghurt Starter. *Article of GNU Free Documentation License.*

Gaman, P.M. dan Sherrington, K.B. 1991. *Ilmu Pangan, Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikro Biologi*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Hartono, T. 2005. *Susu Kedelai dan Aplikasi Olahannya*. Surabaya: Penerbit Trubus Agrisarano.

Http://bioweb.usu.edu/microscopy/lactobacillus%2520bulgaricus.jpg&imgrefurl=http://bioweb.usu.edu/microscopy/Research.htm&h=216&w=288&sz=22&hl=en&start=2&tbnid=JlLFd8mJSEVj6M:&tbnh=86&tbnw=115&prev=/images%3Fq%3Dlactobacillus%2Bbulgaricus%26gbv%3D2%26hl%3Den%26sa%3DG

Http://www.magma.ca/~pavel/science/str-ther.jpg&imgrefurl=http://www.magma.ca/~pavel/science/Foods%26bact.htm&h=166&w=250&sz=16&hl=en&start=7&tbnid=QWkyTEhbI4wZ8M:&tbnh=74&tbnw=111&prev=/images%3Fq%3Dlactobacillus%2Bbulgaricus%26gbv%3D2%26hl%3Den%26sa%3DG

Krisno, A. 2002. *Mikrobiologi Terapan*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.

Mugnisjah, W.Q. & Setiawan, A. 1991. *Produksi Benih*. Jakarta: Penerbit Bumi Aksara.

Muryati, S., Sugiyo, W., Jumaeri, Astuti, W., 2005. *Ketrampilan Hidup Berbasis Kimia Hijau Life Skill KBK SMA*. Semarang: UPT UNNES Press.

Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Penerbit Bumi Aksara.

Rahayu, W.P., 2004. *Modul Praktikum Biologi Pangan*. Bogor: Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta IPB Sakdija. 1989. Kimia Pangan. Jakarta: Penerbit DEPDIKBUDDIKTI P2LPTK.

Ratnawati, L.S., Adnan, M., dan Indrati, R. 1999. Fraksinasi Protein Susu Kedelai Selama Fermentasi Yoghurt. *Agrosains 12 (1), 25-35.*

Rukmana, R. 2001. *Yoghurt dan Karamel Susu*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

Sakidja. 1989. *Kimia Pangan*. Jakarta: Penerbit DEPDIKBUDDIKTI P2LPTK

Santoso, H. B. 1993. *Susu dan Yoghurt Kedelai.* Yogyakarta: Penerbit Kanisius

Santoso, S. 2006. *Menguasai Statistik di Era Informasi dengan SPSS 14*. Jakarta. Penerbit PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia.

Yusmarini dan Efendi R. 2004. Evaluasi Mutu Soygurt yang Dibuat dengan Penambahan beberapa Jenis Gula. *Jurnal Natur Indonesia* 6(2*), 104-110*

Sudarmadji, S., Haryono, B., Suhardi. 1997. *Analisis Bahan Makanan dan Pertanian.* Yogyakarta: Penerbit Liberty Yogyakarta bekerja sama dengan Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM.

Sukardi, Pulungan, M.H., Purwaningsih, I. 2002. Optimasi Penambahan Sari Kecambah Jagung Guna Meningkatkan Kualitas dan Rasa Soyghurt untuk Diet Jantung Koroner. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati (14), 26-37*

Tarigan, J . 1988. *Pengantar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit DEPDIKBUDDIKTI P2LPTK.

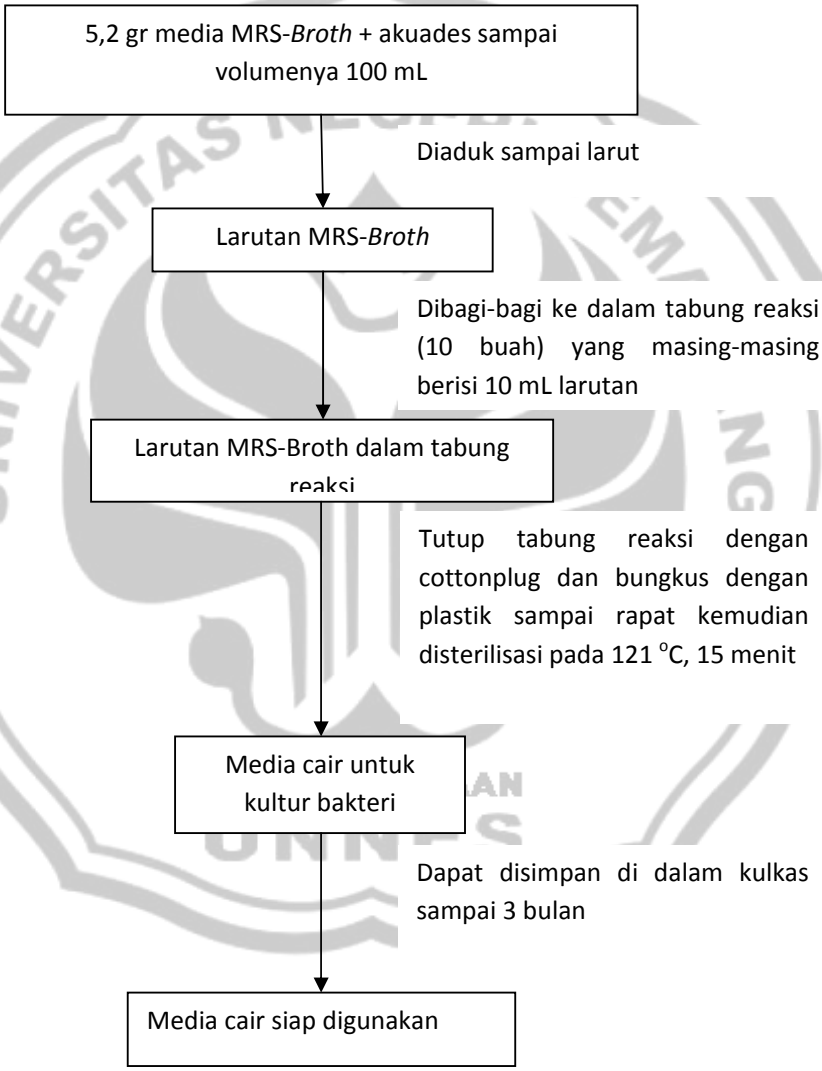
Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama.

PERPUSTAKAAN
UNNES

LAMPIRAN

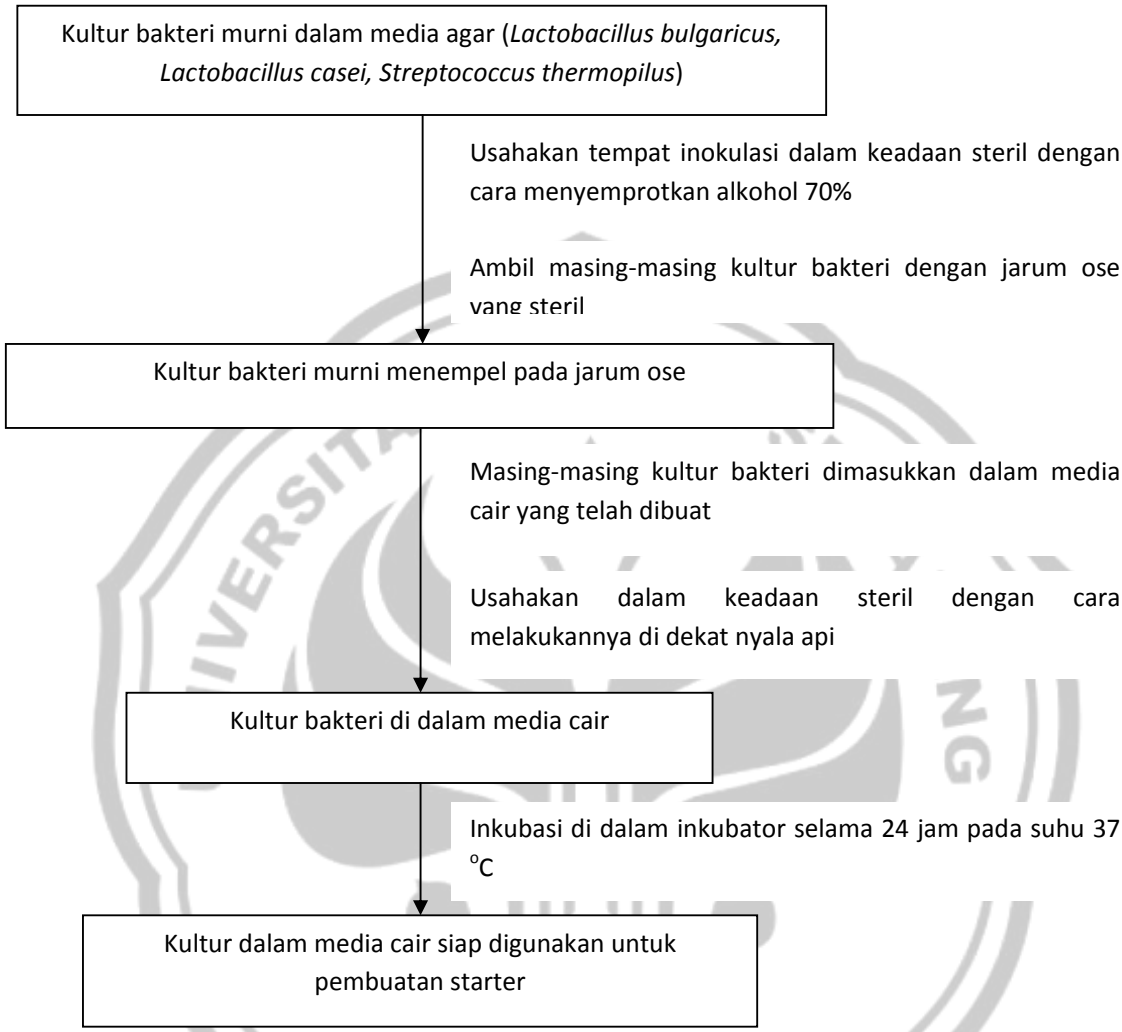
SKEMA KERJA

1. Pembuatan Media Cair untuk Kultur Bakteri



Gambar 11 Pembuatan Media Cair untuk Kultur Bakteri

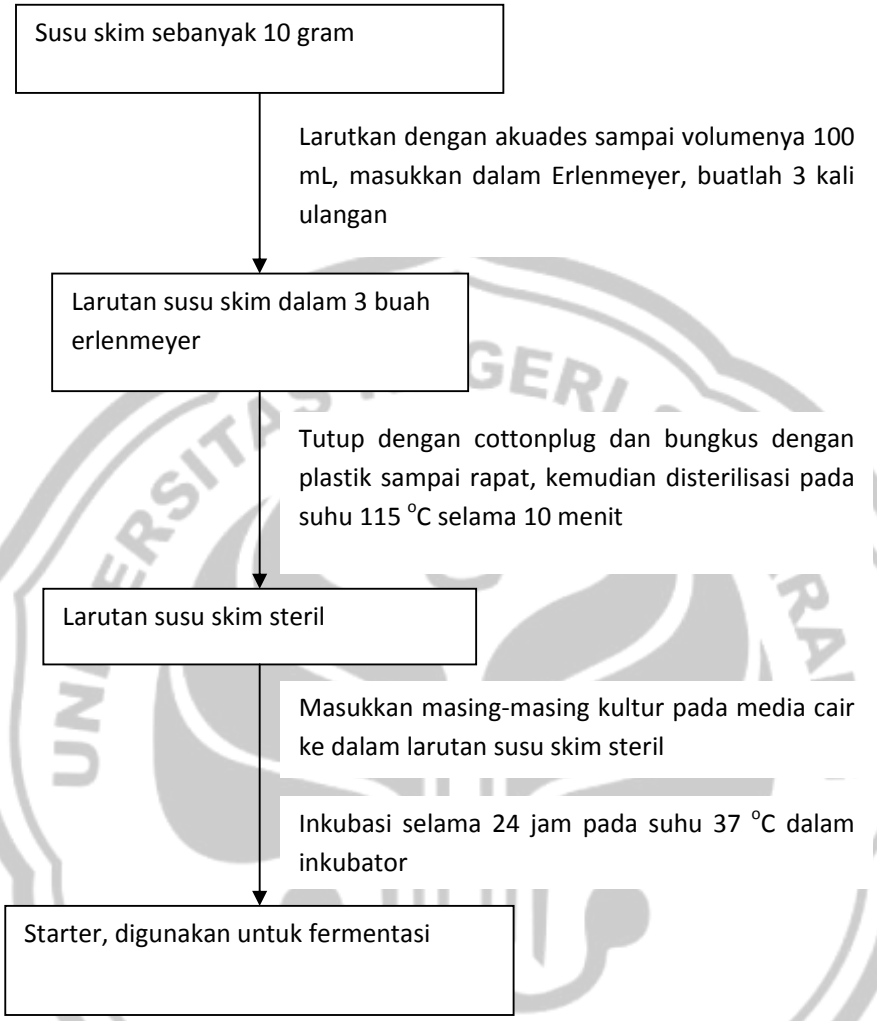
2. Peremajaan Kultur Bakteri ke Media Cair



Gambar 12 Peremajaan Kultur Bakteri ke Media Cair

PERPUSTAKAAN UNNES

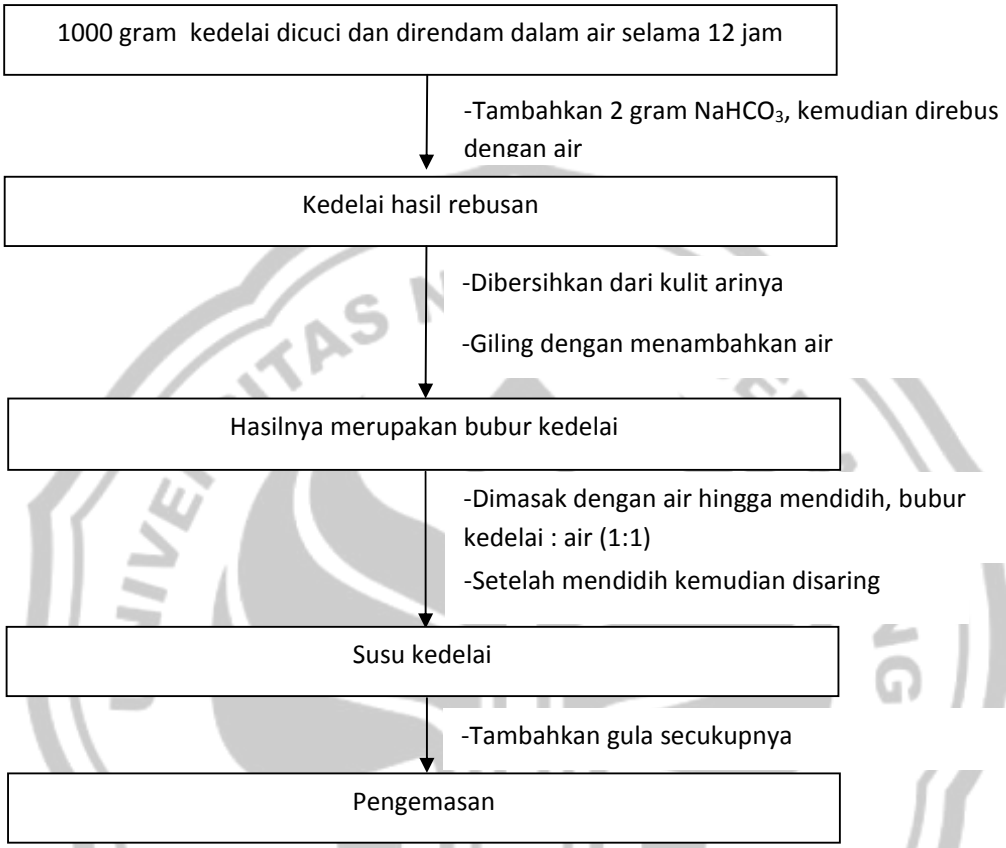
3. Pembuatan Starter



Gambar 13 Pembuatan Starter

PERPUSTAKAAN UNNES

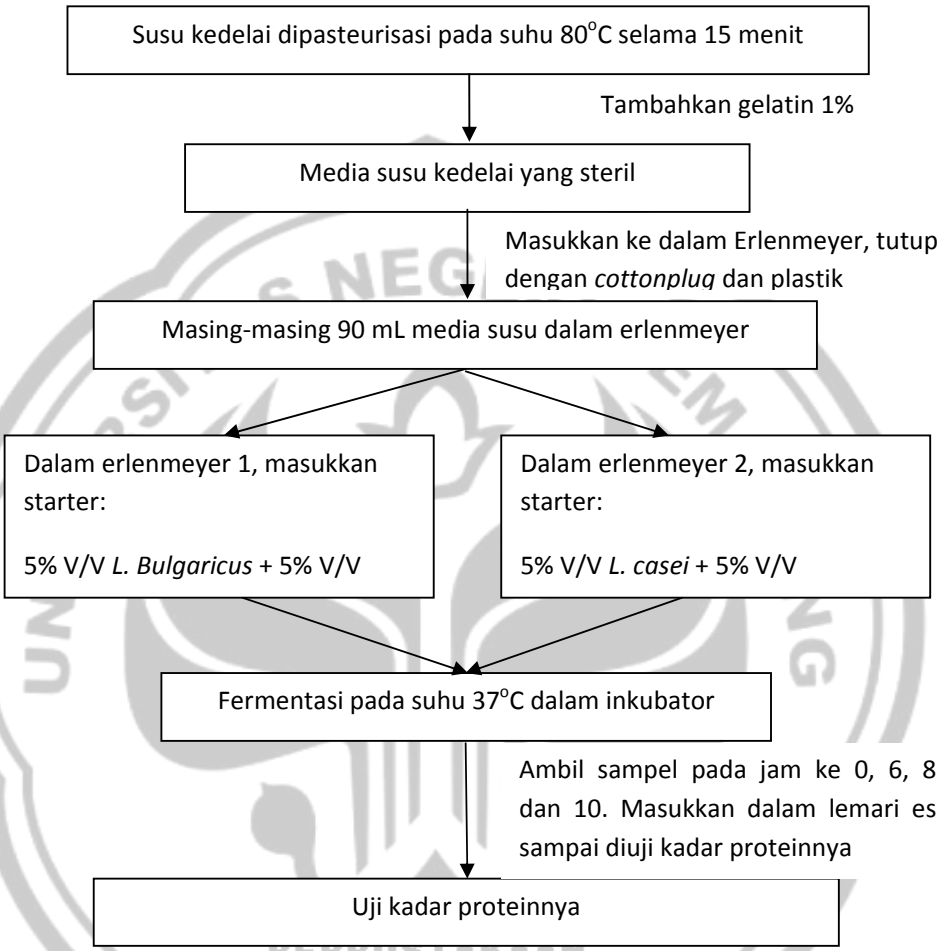
4. Pembuatan Susu Kedelai



Gambar 14 Pembuatan Susu Kedelai

PERPUSTAKAAN
UNNES

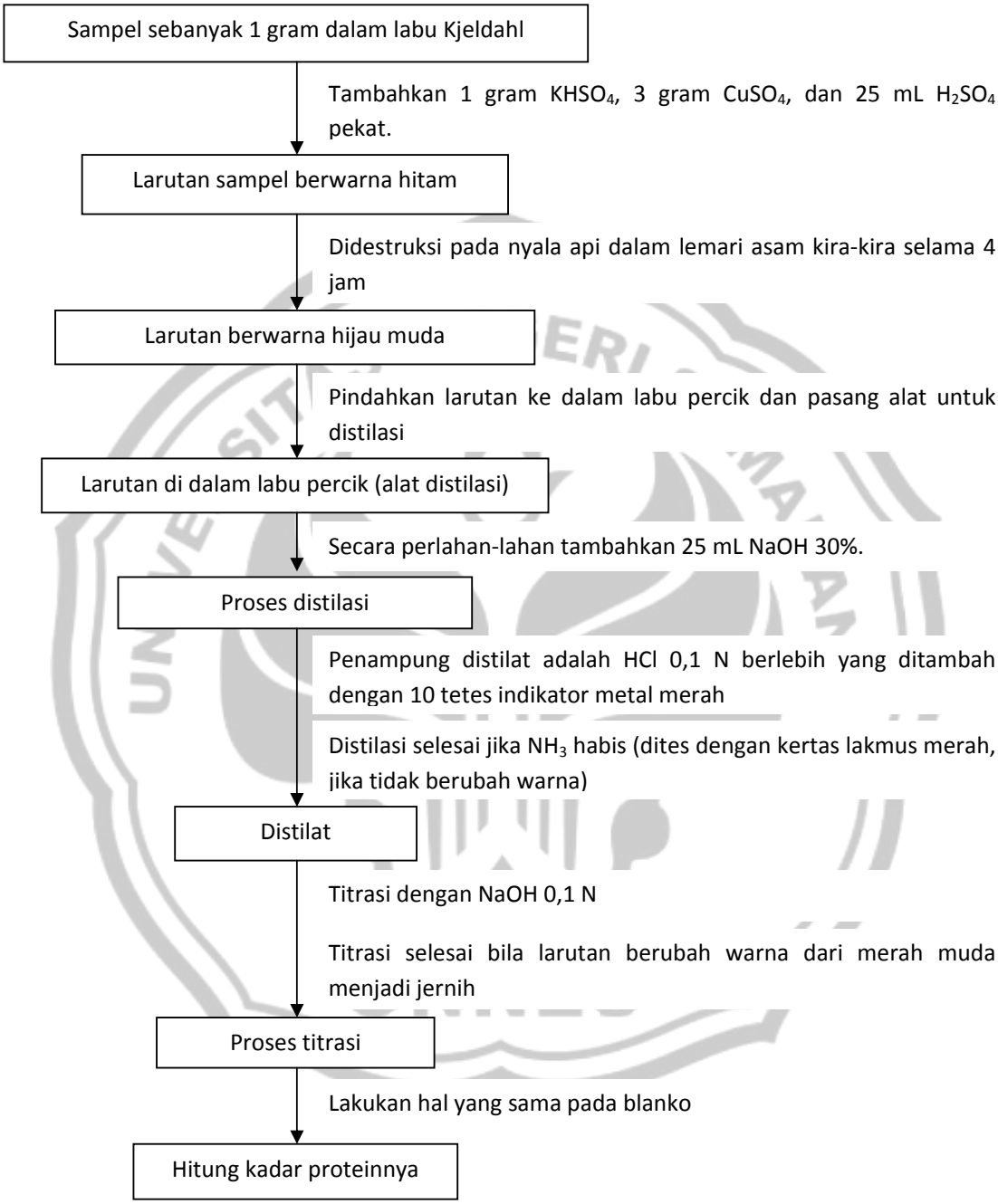
5. Fermentasi Susu Kedelai



Gambar 15 Fermentasi Susu Kedelai

PERPUSTAKAAN UNNES

6. Uji Kadar Protein



Gambar 16 Uji Kadar Protein

HASIL ANALISIS UJI ANAVA SATU JALUR DENGAN MENGGUNAKAN SPSS 15 FOR WINDOWS

Oneway

[DataSet2]

Descriptives

protein

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
nol	2	32.8300	.00000	.00000	32.8300	32.8300	32.83	32.83
enam	2	44.4350	.92631	.65500	36.1124	52.7576	43.78	45.09
delapan	2	53.6200	2.78600	1.97000	28.5888	78.6512	51.65	55.59
sepuluh	2	69.6000	8.04688	5.69000	-2.6983	141.8983	63.91	75.29
Total	8	50.1213	14.73257	5.20875	37.8045	62.4380	32.83	75.29

Test of Homogeneity of Variances

protein

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4E+015	3	4	.000

Hipotesis

H_0 : keempat varians waktu fermentasi sama

H_1: keempat varians waktu fermentasi tidak sama

kriteria uji:

H_0 ditolak apabila nilai probabilitas atau sig < 0.05

Kesimpulan:

Dari hasil output SPSS dengan menggunakan one way anova pada tabel test of Homogeneity of Variances diperoleh nilai sig = 0.000 < 0.05 maka H_0 ditolak, artinya keempat varians waktu fermentasi tidak sama

ANOVA

protein

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1445.967	3	481.989	26.276	.004
Within Groups	73.372	4	18.343		
Total	1519.339	7			

Hipotesis:

H_0 : keempat rata-rata waktu fermentasi sama

H_1: keempat rata-rata waktu fermentasi tidak sama

kriteria uji:

H_0 ditolak apabila nilai probabilitas atau sig < 0.05

Kesimpulan:

Dari hasil output SPSS dengan menggunakan one way anova pada tabel ANOVA diperoleh nilai sig = 0.004 < 0.05 maka H_0 ditolak, artinya keempat rata-rata waktu fermentasi tidak sama

Dari hasil analisis di atas dapat disimpulkan bahwa dengan waktu fermentasi yang berbeda maka menghasilkan kadar protein yang berbeda sehingga ada pengaruh jenis waktu terhadap kadar protein.

PERPUSTAKAAN UNNES

Oneway

[DataSet3]

Descriptives

protein

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Lb/St	4	52.2000	17.98508	8.99254	23.5817	80.8183	32.83	75.29
Lc/St	4	48.0425	13.09428	6.54714	27.2066	68.8784	32.83	63.91
Total	8	50.1213	14.73257	5.20875	37.8045	62.4380	32.83	75.29

Test of Homogeneity of Variances

protein

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.364	1	6	.568

Hipotesis:

H_0 : kedua varians jenis bakteri sama

H_1: kedua varians jenis bakteri tidak sama

kriteria uji:

H_0 ditolak apabila nilai probabilitas atau sig < 0.05

Kesimpulan:

PERPUSTAKAAN UNNES

Dari hasil output SPSS dengan menggunakan one way anova pada tabel test of Homogeneity of Variances diperoleh nilai sig = 0.568 > 0.05 maka H_0 diterima artinya kedua varians jenis bakteri sama

ANOVA

protein

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34.570	1	34.570	.140	.721
Within Groups	1484.770	6	247.462		
Total	1519.339	7			

Hipotesis :

H_0 : kedua rata-rata jenis bakteri sama

H_1: kedua rata-rata jenis bakteri tidak sama

kriteria uji:

H_0 ditolak apabila nilai probabilitas atau sig < 0.05

Kesimpulan:

Dari hasil output SPSS dengan menggunakan one way anova pada tabel ANOVA diperoleh nilai sig = 0.721 > 0.05 maka H_0 diterima artinya kedua rata-rata jenis bakteri sama

Dari hasil analisis di atas dapat disimpulkan bahwa dengan jenis bakteri yang berbeda maka menghasilkan kadar protein yang sama sehingga tidak ada pengaruh jenis bakteri terhadap kadar protein.

FOTO-FOTO PENELITIAN

Kultur bakteri murni media agar

Inokulasi kultur ke media cair

Starter bakteri

Pasteurisasi susu kedelai

Fermentasi dalam inkubator

Proses destruksi

Proses distilasi

Proses titrasi

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
PERPUSTAKAAN
UNNES