

Gambar 3. Metabolisme Heterofermentatif dari Bakteri Asam Laktat (Herlina, 2014)

Proses metabolisme laktosa di dalam sel bakteri secara umum melibatkan tiga macam alur metabolik, yaitu *homolactat pathway*, *phosphoketolase* dan

heterolactate pathway. Secara skematis, ketiga macam alur tersebut melibatkan beberapa tahapan, yaitu: transport dan hidrolisis laktosa menjadi monosakarida, konversi monosakarida menjadi triosa phospat dan berbagai bentuk intermediet lainnya, konversi triosa phospat menjadi piruvat, konversi piruvat menjadi asam laktat dan produk lain, sekresi produk akhir fermentasi dan pengaturan fermentasi (Widodo, 2003).

Inokulasi kultur starter biasanya dilakukan sesuai suhu optimum kultur starter yang digunakan dalam pembuatan yoghurt. Kultur bakteri yang biasa dipergunakan dalam produksi yoghurt adalah *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Kedua bakteri tersebut mempunyai suhu optimum 42-45°C. Susu yang diinokulasi kultur starter kemudian diinkubasi sampai diperoleh keasaman yang diinginkan, kurang lebih selama 6-8 jam (Tamime dan Robinson, 1999 dalam Prabandari, 2011). Selama proses inkubasi berlangsung, terdapat tiga hal penting yang terjadi yaitu:

1. Kultur memanfaatkan laktosa sebagai sumber energi. Mula-mula laktosa dihidrolisis oleh enzim D-galaktosidase dalam sel bakteri menjadi glukosa dan galaktosa. Glukosa ini dimetabolisme oleh sel bakteri membentuk asam piruvat, lalu diubah menjadi asam laktat.
2. Akumulasi asam laktat menyebabkan keasaman pada susu meningkat yang mengakibatkan kompleks kalsium-kasein-fosfat dalam susu menjadi tidak stabil. Keasaman susu yang semakin tinggi sampai akhirnya pH turun mencapai 4,6-4,7 menyebabkan terbentuknya koagulum atau curd pada susu.
3. Selama proses fermentasi juga terjadi pembentukan kompleks flavor seperti asetaldehid, aseton, asetonin, dan diasetil. Secara umum produk yoghurt yang memiliki kualitas baik harus memenuhi kriteria Badan Standardisasi Nasional

(2009) tentang yoghurt. Menurut Antara (2010), berdasarkan penerimaan panelis, kriteria ditentukan dari tekstur atau viskositas, derajat keasaman (pH atau total asam) dan kandungan senyawa flavor. Parameter mutu tersebut sangat berpengaruh terhadap mutu sensoris yoghurt. Flavor dan tekstur/viskositas merupakan faktor yang sangat nyata memengaruhi mutu dan penerimaan yoghurt oleh konsumen.

Menurut Antara (2010), secara organoleptik kandungan asetaldehida dan diasetil dengan rasio 1:1 memberikan aroma yoghurt yang disukai. Kandungan asetaldehida yang tinggi tidak memberikan rasa yoghurt yang baik. Hasil uji organoleptik memperlihatkan bahwa rasa terbaik oleh panelis diberikan untuk yoghurt dengan kandungan asetaldehida yang rendah dan kemungkinan kandungan senyawa karbonil lainnya memberikan pengaruh terhadap flavor dan/atau aroma yoghurt. Aroma dan flavor khas yoghurt (natural atau plain yoghurt) sangat erat kaitannya dengan kandungan senyawa karbonil, terutama asetaldehida.

2.3 Mikrobiologi Yoghurt

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram-positif yang tidak membentuk spora dan dapat memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat. Berdasarkan taksonomi, terdapat sekitar 20 genus bakteri yang termasuk BAL. Beberapa BAL yang sering digunakan dalam pengolahan pangan adalah *Aerococcus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weissella* (Salminen et al., 2004). Contoh produk makanan yang dibuat menggunakan bantuan BAL adalah yogurt, keju, mentega, sour cream (susu asam), dan produk fermentasi lainnya (Nur, 2005).

Bakteri asam laktat (BAL) termasuk bakteri yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena tidak bersifat toksik, tidak menghasilkan toksin dan umumnya memenuhi status GRAS (*Generally Recognized As Safe*), yaitu mikrobial yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan. BAL yang biasa digunakan untuk starter dalam pembuatan yoghurt adalah sekelompok bakteri yang dapat mengubah laktosa menjadi asam laktat. BAL ini dapat digolongkan menjadi 2 golongan yaitu golongan bakteri homofermentatif dan bakteri heterofermentatif (Soeharsono, 2010).

Menurut Axelsson (2004), BAL homofermentatif mengubah keseluruhan glukosa menjadi asam laktat melalui jalur glikolisis sedangkan heterofermentatif memfermentasi glukosa menjadi asam laktat melalui jalur fosfoketolase. BAL yang tergolong homofermentatif dapat mengubah 95% dari glukosa menjadi asam laktat, CO₂ dan asam-asam volatil lainnya juga dihasilkan tetapi dalam jumlah yang sangat kecil. BAL yang tergolong heterofermentatif mengubah glukosa menjadi asam laktat, etanol, asam asetat, asam format dan CO₂ dalam jumlah yang hampir sama. Axelsson (2004) menambahkan beberapa contoh BAL yang bersifat homofermentatif adalah *Streptococcus*, *Pediococcus* dan beberapa spesies *Lactobacillus* seperti *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, dan *L. helveticus* sedangkan contoh BAL yang bersifat heterofermentatif adalah *Leuconostoc* dan beberapa spesies *Lactobacillus* seperti *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. buchneri*, *L. pastorianus*, dan *L. hirgadii*.

2.3.1 *Lactobacillus bulgaricus*

Lactobacillus bulgaricus merupakan bakteri berbentuk batang, tidak membentuk spora, termasuk bakteri gram positif, bersifat termofilik (hidup baik

pada suhu 45-60°C) dengan ukuran sel 0,5-1,2 x 1-10 µm, anaerob fakultatif, jarang dijumpai yang patogenik, memfermentasi gula menjadi asam laktat, tahan pada kadar asam tinggi (pH 4) (Suhartanti, 2012).

Sistematika *Lactobacillus bulgaricus* menurut Weiss *et al.* (1984) dalam Freedictionary (2007) dapat digolongkan sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*

Division : *Firmicutes*

Class : *Bacilli*

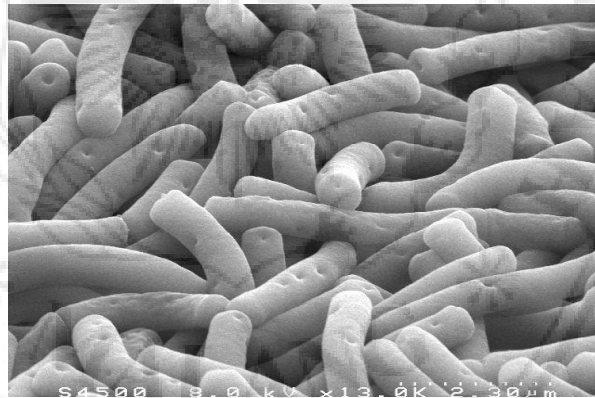
Ordo : *Lactobacillales*

Famili : *Lactobacillaceae*

Genus : *Lactobacillus*

Species : *Lactobacillus delbrueckii*

Sub-species : *Lactobacillus delbrueckii subspecies bulgaricus*



Gambar 4. Koloni *Lactobacillus bulgaricus* (Suhartanti, 2012)

Lactobacillus bulgaricus merupakan bakteri asam laktat yang sering digunakan sebagai starter pada pembuatan yoghurt. *Lactobacillus bulgaricus* termasuk golongan gram positif, berbentuk batang, berukuran 0,5-0,8 x 2-9 µm, bakteri fakultatif anaerob, dan tidak berspora (Holt *et al.*, 1994 dalam Herlina, 2014). Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* tergolong bakteri mesofilik dengan

kisaran suhu optimum 35-45⁰C, pH 4-5,5, tidak tumbuh pada pH di atas 6. Bakteri ini tergolong homofermentatif karena hanya mampu menghasilkan asam laktat pada produk utama dari fermentasi glukosa. Fermentasi gula pentose oleh *Lactobacillus bulgaricus* akan menghasilkan asam laktat dan asam asetat. Kelompok bakteri *Lactobacillus bulgaricus* memiliki enzim adolase, heksosa isomerase, dan sedikit fosfoketolase, sehingga jalur metabolisme yang dipakai oleh kelompok bakteri ini yaitu jalur Embden Meyerhoff Parnas (EMP) yang menghasilkan dua molekul asam piruvat. Asam piruvat yang terbentuk dari jalur EMP bertindak sebagai penerima hydrogen sehingga reduksi asam piruvat oleh NADH menghasilkan dua asam laktat (Fardiaz, 1992 dalam Herlina, 2014)

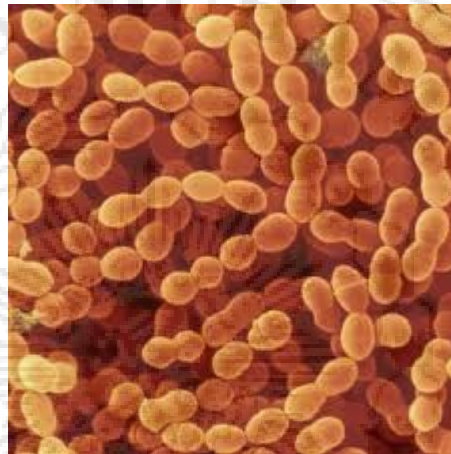
Asam laktat ini akan meningkatkan keasaman air susu hingga mencapai titik isoelektrik protein. Pada titik inilah terjadi perubahan kelarutan (*solubility*) protein menjadi tidak larut (*insolubility*) melalui tahap proteolitik pada air susu sapi. Keuntungan lain *Lactobacillus bulgaricus* menghasilkan enzim yang mengubah glukosa atau laktosa selain membentuk asam laktat, disamping itu aktivitas enzim proteolitiknya lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya, sehingga produk yang dihasilkan dari fermentasi oleh bakteri ini memiliki cita rasa dan nilai gizi yang tinggi (Soeharsono, 2010).

2.3.2 *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus merupakan bakteri bentuk bulat, termasuk bakteri gram positif dengan ukuran sel bakteri 0,5-2 μ m, bersifat termofilik (hidup baik pada suhu 45-60⁰C), tahan pada kadar asam tinggi (pH 4), dan berfungsi memfermentasi gula menjadi asam laktat (Suhartanti,2012).

Sistematika *Streptococcus thermophillus* menurut Weiss *et al.* (1984) dalam Freedictionary (2007) dapat digolongkan sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*
Division : *Firmicutes*
Class : *Cocci*
Ordo : *Lactobacillales*
Famili : *Streptococcaceae*
Genus : *Streptococcus*
Species : *Streptococcus salivarius*
Sub-species : *Streptococcus salivarius subspecies thermophilus*



Gambar 5. Koloni *Streptococcus thermophilus* (Suhartanti, 2012)

Streptococcus thermophilus adalah bakteri asam laktat dan sebagai starter untuk pembuatan yoghurt, berbentuk bulat dan membentuk rantai. Bakteri ini tergolong homofermentatif yaitu bakteri yang dalam proses fermentasinya menghasilkan lebih dari 85% asam laktat, sedangkan suhu optimum pertumbuhannya 37-42 °C, dengan pH optimum 6,5, tidak tumbuh pada 10 °C tidak tahan pada konsentrasi garam. Pembentukan asam laktat dari laktosa digunakan sebagai sumber energi dan karbon selama pertumbuhan bakteri dalam proses fermentasi sehingga pH akan turun. Turunnya pH sangat berpengaruh terhadap kasein sebagai bagian protein yang terbanyak dalam air susu, yang menyebabkan

kasein ini tidak stabil dan terkoagulasi (Helferich dan Westhoff, 1980 dalam Suhartanti 2012).

Streptococcus dikenal sebagai salah satu bakteri asam laktat yang cukup penting. Saat ini, banyak sekali produk olahan susu yang bergantung pada *Streptococcus* dan probiotik lain dalam pembuatannya. Bakteri ini ditambahkan pada susu dan menghasilkan asam laktat yang juga membantu mengawetkan susu. Bakteri ini memecah laktosa sehingga sangat membantu untuk penderita intoleransi laktosa. Selama fermentasi, bakteri ini menghasilkan asetaldehid yang membentuk aroma pada yoghurt (Ali, 2009).

2.4 Susu Skim

Skim Milk Powder (SMP) adalah susu bubuk tanpa lemak yang dibuat dengan cara pengeringan atau *spray dryer* untuk menghilangkan sebagian air dan lemak tetapi masih mengandung laktosa, protein, mineral, vitamin yang larut lemak, dan vitamin yang larut air (B₁₂). Kandungan SMP sama dengan kandungan yang terdapat dalam susu segar tetapi berbeda dalam kandungan lemaknya yaitu \pm 15%. SMP digunakan untuk mencapai kandungan solid non fat pada produk dan sebagai sumber protein serta memperbaiki tekstur pada produk akhir (Anonim, 2008).

Dalam pembuatan yoghurt pada umumnya dilakukan penambahan bahan tambahan seperti susu skim. Susu skim biasanya digunakan untuk meningkatkan kadar bahan kering bahan baku dan sebagai media dalam pembiakan bakteri starter. Susu skim mengandung bahan kering tanpa lemak (BKTL) yang tinggi terutama protein dan laktosa yang merupakan sumber energi guna mempercepat pertumbuhan bakteri starter (bakteri asam laktat) dalam membentuk asam laktat

dan meningkatkan kualitas yoghurt yang dihasilkan dan memiliki kemampuan untuk mengikat air serta memberikan penampakan yang padat (Tawaf, 2010).

Susu skim adalah bagian susu yang tertinggal sesudah krim diambil sebagian atau seluruhnya. Susu skim mengandung semua zat makanan dari susu kecuali lemak dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak. Susu skim dapat digunakan oleh orang yang menginginkan nilai kalori yang rendah dalam makanannya karena hanya mengandung 55% dari seluruh energi susu, dan Susu skim juga dapat digunakan dalam pembuatan keju rendah lemak dan yoghurt (Buckle, 1987 dalam Sinaga, 2007).

Tabel 3. Komposisi Gizi Susu Bubuk Skim dalam 100 Gram Bahan

Komponen	Jumlah
Lemak Total	3,5 g
Protein	8 g
Karbohidrat Total	20 g
Natrium	110 mg
Kalium	520 mg
Vitamin A	270 mg
Vitamin C	16 mg
Vitamin D ₃	2,5 µg
Vitamin B ₁ (Thiamin)	800 µg
Vitamin B ₂ (Riboflavin)	0,6 mg
Vitamin B ₆ (Piridoksin)	900 µg
Vitamin B ₁₂ (Kobalamin)	1,2 µg
Kalsium	510 mg
Fosfor	310 mg
Magnesium	53 mg
Seng	1,5 mg
Iodium	26 µg

Sumber : Wiyoto (2009)

Susu skim adalah bagian susu yang tertinggal setelah krim diambil sebagian atau seluruhnya. Susu skim mengandung semua komponen gizi dalam susu yang tidak dipisahkan, kecuali lemak dan vitamin-vitamin dalam lemak. Susu skim dalam bentuk bubuk memiliki kandungan lemak sebesar 0,6%, protein 36,1% dan laktosa 52,9% (Tamime dan Robinson, 1985 dalam Sinaga, 2007). Laktosa yang terkandung tersebut merupakan fermentable sugar yang dapat dimanfaatkan oleh

BAL untuk pertumbuhan sehingga susu skim merupakan salah satu medium yang baik untuk pertumbuhan BAL.

Tamime dan Robinson (1985) dalam Sinaga (2007) menyatakan bahwa penggunaan susu skim bubuk ternyata dapat meningkatkan kandungan total padatan dari susu yang berpengaruh nyata terhadap kekentalan, aroma dan total asam yoghurt, yang semakin tinggi total padatan akan semakin tinggi pula total asam yang dihasilkan. Penambahan susu skim bubuk juga dapat meningkatkan kandungan protein, selain sebagai sumber laktosa bagi kehidupan kultur BAL. Kandungan protein yang semakin meningkat ini akan menaikkan total padatan susu yang kemudian akan memengaruhi kekentalan susu fermentasi.

Selain itu Yulianis (2004) menyimpulkan dari hasil penelitiannya bahwa kombinasi penambahan susu skim yang terlalu tinggi yaitu sekitar 20% akan menghasilkan bentuk curd yang padat dan pecah. Hal ini diasumsikan karena penggumpalan yang terjadi terlalu banyak sehingga aroma asam yang dihasilkan juga berlebihan (*over fermented*).

2.5 Gelatin

Bahan penstabil akan meningkatkan viskositas, konsistensi fisik dan stabilitas yoghurt. Bahan penstabil biasanya berasal dari hidrokoloid. Hidrokoloid atau koloid hidrofilik adalah komponen aditif penting dalam industri pangan karena kemampuannya dalam mengubah sifat fungsional produk pangan yang diinginkan seperti kekentalan, emulsi, gel, dan kestabilan dispersi. Bahan penstabil yang dapat digunakan dalam pembuatan yoghurt adalah gelatin, CMC, agar, gum arab, dan gum xanthan (Glicksman, 1979 dalam Prabandari, 2011).

Bahan penstabil dapat menstabilkan tekstur dan viskositas produk pangan dengan pembentukan gel. Pembentukan gel dapat terjadi karena kemampuan bahan

penstabil dalam berikatan dengan air. Bahan penstabil memiliki sifat sebagai pengemulsi yang ditandai dengan adanya gugus yang bersifat polar (hidrofilik) dan non polar (hidrofobik). Ketika dicampurkan dalam bahan pangan cair maka gugus polar akan berikatan dengan air dan tekstur bahan pangan menjadi kokoh (deMan, 1989 dalam Prabandari, 2011).

Pada prinsipnya pembentukan gel hidrokoloid terjadi karena adanya pembentukan jala atau jaringan tiga dimensi oleh molekul primer yang terentang pada seluruh volume gel yang terbentuk dengan memerangkap sejumlah air di dalamnya. Terjadi ikatan silang pada polimer-polimer yang terdiri dari molekul rantai panjang dalam jumlah yang cukup maka akan terbentuk bangunan tiga dimensi yang kontinu sehingga molekul pelarut akan terjebak diantaranya, terjadi immobilisasi molekul pelarut dan terbentuk struktur yang kaku dan tegar yang tahan terhadap gaya maupun tekanan tertentu. Gelasi merupakan fenomena yang melibatkan penggabungan, atau terjadinya ikatan silang antara rantai-rantai polimer (Prayogo, 2011).

Penurunan daya ikat air dan sineresis dapat diatasi dengan cara menambahkan bahan penstabil berupa hidrokoloid atau polimer yang larut air ke dalam yoghurt, misalnya gelatin. Gelatin merupakan protein yang dapat dikonsumsi dan mengandung semua asam amino esensial, kecuali tryptophan dan cystine. Gelatin kering mengandung 84-86 % protein, 8-12 % air dan 2-4 % mineral. Penambahan gelatin ke dalam yogurt optimum pada konsentrasi 0,25 % hingga 0,5 %. Penggunaan gelatin yang berlebihan dapat menyebabkan timbulnya tekstur kasar dan menggumpal (Sawitri, 2008).

Gelatin dapat meningkatkan daya ikat air dengan cara melalui interaksi elektrostatis dengan molekul kasein ($\text{COO}^- \text{--- Ca}^{2+} \text{--- COO}^-$) sehingga terjadi

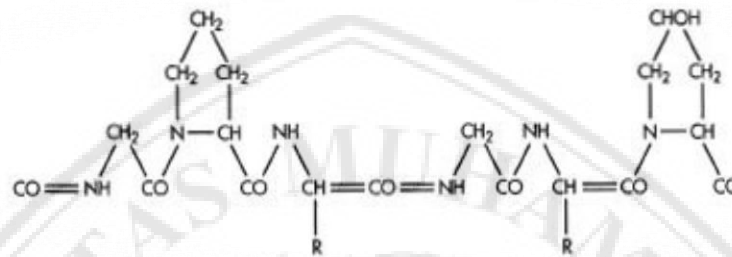
penghambatan interaksi hidrofobik pada molekul nonpolar atau molekul yang mempunyai gugus nonpolar yang menyatu karena proses pengasaman. Interaksi elektrostatik diduga juga dapat menghambat terjadinya ikatan hidrogen antara molekul kasein dan molekul asam laktat karena adanya gelatin yang berfungsi sebagai jembatan antara molekul kasein dan molekul asam laktat tersebut (Sawitri, 2008).

Gelatin adalah salah satu hidrokoloid yang dapat digunakan sebagai gelling atau penstabil. Gelatin adalah suatu jenis protein yang diekstraksi dari jaringan kolagen kulit, tulang atau ligamen (jaringan ikat) hewan. Gelatin berbeda dengan hidrokoloid lain, karena kebanyakan hidrokoloid adalah polisakarida seperti karagenan dan pektin, sedangkan gelatin merupakan protein mudah dicerna, mengandung semua asam-asam amino esensial kecuali triptofan (Rahmawati, 2007).

Salah satu sifat unik gelatin adalah mudah meleleh ketika dipanaskan dan mudah menjadi padat kembali apabila didinginkan. Bersama-sama dengan air, gelatin akan membentuk gel koloid semi-padat. Gelatin dapat dimanfaatkan dalam produk olahan susu, yaitu untuk memperbaiki tekstur, konsistensi dan stabilitas produk dan menghindari sineresis pada yoghurt, es krim, susu asam, keju cottage. Dalam produksi yoghurt, penambahan stabilizer gelatin akan membantu memperbaiki stabilitas dengan peningkatan viskositas. Dalam hal ini gelatin akan bereaksi dengan kasein susu, membentuk gel dan memberikan kekokohan tekstur pada yoghurt. Gelatin memiliki gugus hidrofilik yang bersifat polar sehingga dapat berikatan dengan kasein susu, membentuk struktur gel (Jaswir, 2007).

Pembentukan gel gelatin terjadi karena pengembangan molekul gelatin akibat pemanasan. Panas akan membuka ikatan-ikatan molekul gelatin dan gugus

hidrofobik dari protein gelatin berada di permukaan, sedangkan gugus hidrofiliknya berada di dalam serta terjadi ikatan antara gugus COO^- , NH_3^+ , dan H_2O sehingga membentuk ikatan silang pada molekul gelatin sehingga cairan yang awalnya bebas menjadi terperangkap didalam struktur tersebut (Belizt and Grosch, 1986 dalam Farikha, 2013).



Gambar 6. Struktur Kimia Gelatin (Farikha, 2013)

Efektifitas gelatin sebagai pembentuk gel berasal dari susunan asam aminonya. Molekul gelatin mengandung tiga kelompok asam amino yang tinggi, yaitu sekitar sepertiganya terdiri dari residu asam amino glisin atau alanin, hampir seperempatnya adalah asam amino basa atau asam, dan seperempatnya lagi merupakan asam amino prolin dan hidroksiprolin. Proporsi yang tinggi dari ketiga kelompok asam amino polar ini membuat molekul gelatin mempunyai afinitas yang tinggi terhadap air. Rantai-rantai protein tersebut dihubungkan secara *cross links* (interaksi silang) sehingga terdapat lubang (rongga) diantara rantai yang dapat menahan air (Iffatulummah, 2007).