

AKTIVITAS PROTEOLITIK BAKTERI ASAM LAKTAT DALAM FERMENTASI SUSU KEDELAI

[Proteolytic Activities of Lactic Acid Bacteria in Fermentation of Soymilk]

Yusmarini^{1,2)*}, R. Indrati,¹⁾ T. Utami¹⁾ dan Y. Marsono¹⁾¹⁾ Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada²⁾ Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Riau

Diterima 04 Januari 2010 / Disetujui 8 Desember 2010

ABSTRACT

Some lactic acid bacteria (LAB) strains had been isolated from spontaneously fermented soymilk which have proteolytic system. The purpose of this research was to study ability of isolates in fermentation of soymilk. The changes in bacterial growth, pH, titrable acidity, and proteolytic activities during fermentation were examined. Isolates of *Lactobacillus plantarum* 1 R.1.3.2; *L. plantarum* 1 R.11.1.2 and *L. acidophilus* FNCC 0051 (as a control) were capable growing in soymilk. The results indicated that initial pH of soymilk was 6,6 and decreased to 4,6 after fermentation and titrable acidity of 0.11 increased to 0.34 after fermentation. The proteolytic activities were 0.352 U/ml – 0.468 U/ml. The electrophoretic pattern of the proteins showed changes during fermentation of soymilk.

Key words : fermented soymilk, lactic acid bacteria, proteolysis

PENDAHULUAN

Produk fermentasi susu kedelai dibuat dengan menambahkan bakteri asam laktat (BAL), namun tidak semua BAL dapat hidup dengan baik pada susu kedelai. Hal ini disebabkan karena tidak semua BAL menghasilkan enzim α -galaktosidase yang dibutuhkan untuk menghidrolisis rafinosa dan stakiosa yang banyak terdapat pada susu kedelai. Connes *et al.* (2004) menyatakan bahwa 40% gula yang terdapat pada kedelai adalah rafinosa dan stakiosa. Hanya BAL yang mampu memanfaatkan karbohidrat yang ada pada kedelai terutama rafinosa dan stakiosa yang dapat hidup dan berkembang biak dengan baik. Bordignon *et al.* (2004) menyatakan bahwa *Bifidobacterium bifidum* JCM 1255, *B. breve* JCM 1192, *B. infantis* JCM 1222 serta *L. casei subsp. rhamnosus* IFO 3425 dapat memanfaatkan rafinosa dan stakiosa yang terdapat pada kedelai. Kemampuan BAL untuk memanfaatkan karbohidrat pada susu kedelai bervariasi. *Bifidobacterium adolescentis* JCM 1275 dapat memanfaatkan sukrosa, rafinosa maupun stakiosa, namun *B. bifidum* JCM 1255 dan *B. breve* JCM 1192 dapat memanfaatkan rafinosa dan stakiosa.

Beberapa strain bakteri asam laktat diketahui mempunyai sistem proteolitik sehingga memungkinkan mereka tumbuh pada substrat yang kaya akan protein seperti susu (Kwok dan De Vos, 1994). Enzim proteolitik dihasilkan di sekitar dinding sel, membran sitoplasma, ataupun di dalam sel. *Lactobacillus acidophilus* selama proses fermentasi selain memanfaatkan peptida atau asam amino bebas untuk pertumbuhannya juga mampu menghidrolisis kasein dengan menggunakan protease yang disekresikan di sekitar permukaan dinding selnya (Thomas dan Pritchard, 1987).

Proteolisis dapat meningkatkan jumlah peptida dan asam amino bebas dalam produk fermentasi. Peningkatan jumlah peptida merupakan hasil aktivitas proteolitik mikroba. Mikroba yang digunakan akan menghasilkan protease dan peptidase ekstraseluler untuk memecah protein menjadi peptida dan asam-asam amino yang dapat melewati membran yang selanjutnya akan digunakan untuk keperluan sel. Sifat-sifat proteolitik dan kapasitas menghasilkan asam laktat dari gula merupakan faktor utama dalam seleksi strain bakteri asam laktat sebagai kultur starter bagi industri fermentasi.

Berdasarkan hal tersebut pada tahap pertama telah dilakukan isolasi BAL proteolitik dari susu kedelai yang terfermentasi secara spontan. Dari hasil penelitian tersebut diperoleh dua isolat BAL proteolitik yakni *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2. Tujuan penelitian tahap kedua ini adalah untuk mengkaji kemampuan isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dalam memfermentasi susu kedelai.

METODOLOGI

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang kedelai varietas Anjasmoro yang diperoleh dari Balai Benih Tanaman Palawija – Wonosari Daerah Istimewa Yogyakarta. Isolat bakteri asam laktat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2 hasil isolasi dari susu kedelai yang terfermentasi spontan (Yusmarini *et al.*, 2009). *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 (koleksi Laboratorium Mikrobiologi – Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada). Bahan-bahan kimia *analytical grade* diantaranya MRS broth (Merck), NaCl (Merck), serta bahan-bahan lainnya yang diperlukan untuk pengukuran total asam tertitrasi, uji aktivitas proteolitik, protein terlarut dan berat molekul protein dengan menggunakan gel elektroforesis.

*Korespondensi penulis :
E-mail : marini_thp@yahoo.co.id

Pembuatan susu kedelai

Susu kedelai dibuat dengan menggunakan metode Pusat Pengembangan Teknologi Pangan Institut Pertanian Bogor (Nisa *et al.*, 2006) dengan sedikit modifikasi. Biji kedelai kering disortir dan direndam dalam air selama 8 jam, kemudian dicuci dan ditiriskan lalu direbus hingga matang dan dicuci. Kedelai matang dihancurkan dengan blender sambil ditambahkan air panas dengan perbandingan 1:6, lalu disaring dengan menggunakan kain bersih yang telah dicuci dengan air panas. Susu kedelai yang dihasilkan kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup dengan aluminium foil dan plastik. Setelah itu susu kedelai disterilisasi pada suhu 115°C selama 10 menit.

Fermentasi susu kedelai dengan isolat BAL

Proses fermentasi susu kedelai mengacu pada Yusmarini *et al.* (2001). Susu kedelai yang telah disterilisasi pada suhu 115°C selama 10 menit didinginkan dengan cepat hingga mencapai suhu 45°C. Setelah itu diinokulasi dengan isolat BAL sebanyak 1% (mengandung sekitar 10^6 cfu /ml) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam. Selama inkubasi (0, 4, 8, 12, 16 dan 20 jam) dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri (metode *plating*) dan kemudian diukur nilai pH (pH meter) dan total asam tertitrisasi (metode titrasi). Pada akhir fermentasi juga dilakukan pengukuran protein terlarut (metode Lowry), dan penentuan pola protein (SDS-PAGE elektroforesis).

Penghitungan total bakteri asam laktat

Penghitungan total bakteri asam laktat menggunakan metode *plating* (Rahayu dan Margino, 1997). Sampel diencerkan dalam beberapa seri pengenceran, kemudian diinokulasi pada media MRS agar yang ditambah 0,2% CaCO_3 secara tuang (*pour plate*). Penambahan CaCO_3 bertujuan untuk membedakan bakteri asam laktat dengan mikroba kontaminan. Jumlah BAL dihitung untuk setiap seri pengenceran.

Pengukuran total asam tertitrisasi

Pengukuran total asam tertitrisasi (% asam laktat) mengacu pada Nout *et al.* (1989). Sampel sebanyak 10 ml dipipet secara aseptis dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan kemudian ditambahkan 2 tetes indikator fenolftalien 1%. Kemudian dititrasi dengan 0,1N larutan NaOH hingga timbul warna merah muda. Total asam dihitung sebagai persen asam laktat dengan rumus :

$$(\%) \text{ asam laktat} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{Normalitas NaOH} \times 1/10 \times 90}{\text{ml sampel}}$$

Pengukuran aktivitas proteolitik

Pengukuran aktivitas proteolitik secara kuantitatif mengacu pada Walter (1984) yakni 1 ml casein 2% ditambah 1 ml bufer Tris – HCl 0,2 M pH 8. Kemudian ditambah 0,5 ml larutan enzim yang merupakan supernatan yang diperoleh dari hasil sentrifugasi MRS broth yang telah diinokulasi dengan isolat BAL dan diinkubasi selama 20 jam (sampel); 0,5 ml akuades (blanko) dan 0,5 ml larutan tyrosin 0,5 mM/L (standar). Semua perlakuan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 50°C. Setelah itu ditambahkan 2 ml TCA 10% dan 0,5 ml akuades untuk

sampel dan 0,5 ml larutan enzim untuk blanko maupun standar. Larutan digojoy dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C, dan kemudian disentrifugasi 10.000 rpm (89.440 g) selama 10 menit pada suhu kamar. Supernatan sebanyak 1,5 ml ditambah 5 ml Natrium Karbonat 0,4M dan larutan folin (1:2) sebanyak 1 ml. Larutan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 37°C dan kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 578 nm. Aktivitas enzim dinyatakan dalam unit (U) yang didefinisikan sebagai milliliter larutan enzim yang dipakai untuk membentuk 1 mikromol tirosin per menit.

Pengukuran aktivitas proteolitik secara semi kuantitatif dilakukan dengan menumbuhkan koloni isolat pada medium skim milk agar. Adanya zona jernih (*clear zone*) di sekitar koloni menunjukkan aktivitas proteolitik yang sebanding dengan lebarnya zona jernih di sekitar koloni.

Penentuan profil protein

Penentuan profil dan berat molekul protein dilakukan dengan menggunakan SDS PAGE yang didasarkan pada metode Laemli (1970). Sampel yang akan digunakan ditentukan terlebih dahulu kadar protein terlarutnya dengan metode Lowry (Sudarmadji *et al.*, 1997).

Proses elektroforesis dilakukan pada 40mA dan proses berakhir apabila tanda warna biru dari bromophenol biru sudah berada pada bagian bawah gel (± 1 cm dari bagian bawah gel). Gel diambil dari unit elektroforesis dan kemudian dilakukan pewarnaan dengan larutan comassie brilliant blue R250 untuk mengetahui keberadaan protein. Gel yang telah mengalami pewarnaan kemudian direndam dalam larutan *destaining* sampai latar belakang gel berwarna jernih kembali dan pita (*band*) yang terdapat pada gel kelihatan jelas. Untuk mengetahui berat molekul dari masing-masing pita protein sampel, setiap pita protein sampel dibandingkan dengan pita standar protein (marker) yang telah diketahui berat molekulnya yakni 32.000 – 244.000 Da.

HASIL DAN PEMBAHASAN

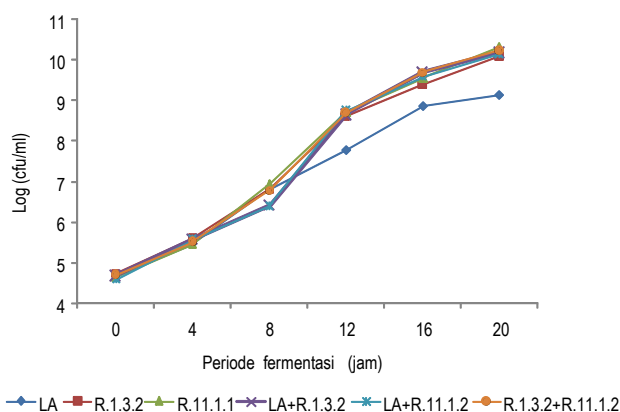
Total bakteri asam laktat

Penghitungan total bakteri asam laktat bertujuan melihat kemampuan isolat untuk tumbuh pada susu kedelai dengan memanfaatkan gula yang ada pada susu kedelai dan melihat pola pertumbuhan selama waktu inkubasi yakni 0, 4, 8, 12, 16, dan 20 jam. Hasil pengamatan disajikan pada Gambar 1.

Pola pertumbuhan isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2, *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. acidophilus* FNCC 0051 (Gambar 1) dari jam ke 0 hingga jam ke 8 hampir sama, namun setelah jam ke 8 hingga jam ke 20 isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2 menunjukkan pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan dengan *L. acidophilus* FNCC 0051. Kombinasi isolat (*L. acidophilus* FNCC 0051 + *L. plantarum* 1 R.1.3.2 ; *L. acidophilus* FNCC 0051 + *L. plantarum* 1 R.11.1.2 ; *L. plantarum* 1 R.1.3.2 + *L. plantarum* 1 R.11.1.2) tidak memperlihatkan perbedaan pola pertumbuhan yang signifikan dengan isolat tunggal *L. plantarum* 1 R.1.3.2 atau *L. plantarum* 1 R.11.1.2. Dari informasi tersebut dapat dikatakan bahwa tidak terjadi simbiosis mutualisme antar isolat. Isolat *L. plantarum* 1

R.1.3.2 maupun *L. plantarum* 1 R.11.1.2 diduga lebih dominan tumbuh pada susu kedelai dibanding *L. acidophilus* FNCC 0051.

Pada akhir fermentasi terlihat bahwa jumlah koloni *L. acidophilus* FNCC 0051 satu log cycle lebih rendah (10^9) dibandingkan dengan isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 maupun *L. plantarum* 1 R.11.1.2 (10^{10}). Data tersebut menunjukkan bahwa isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dapat tumbuh lebih baik pada susu kedelai dibandingkan dengan *L. acidophilus* FNCC 0051.



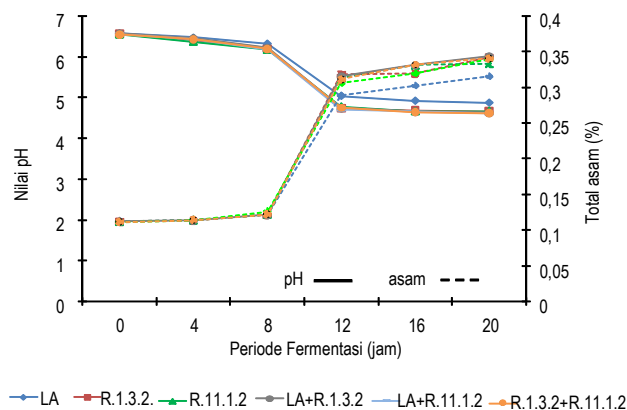
Gambar 1. Total bakteri asam laktat selama periode fermentasi
Keterangan : LA (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 ; R.1.3.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.1.3.2) ; R.11.1.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.11.1.2); LA+R.1.3.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 + *L. plantarum* 1 R.1.3.2); LA+R.11.1.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 + *L. plantarum* 1 R.11.1.2) dan R.1.3.2+R.11.1.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.1.3.2 + *L. plantarum* 1 R.11.1.2)

Nilai pH dan total asam tertitiasi

Gambar 2 memperlihatkan perubahan nilai pH dan total asam tertitiasi selama periode fermentasi susu kedelai oleh isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 ; *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. acidophilus* FNCC 0051 baik secara individu maupun gabungan dari masing-masing isolat tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa selama periode fermentasi akan terjadi penurunan nilai pH susu kedelai yang awalnya mempunyai pH 6,7 menjadi sekitar 4,6 – 4,8 pada akhir fermentasi. Hal ini selaras dengan hasil pengukuran total asam tertitiasi (dihitung sebagai persen asam laktat) yakni semakin lama periode fermentasi akan terjadi peningkatan jumlah total asam tertitiasi yakni dari 0,11% menjadi 0,31% - 0,34% seperti terlihat pada Gambar 2.

Selama proses fermentasi akan terjadi hidrolisis gula oleh bakteri asam laktat. Gula yang terdapat pada kedelai seperti sukrosa, glukosa, rafinosa maupun stakiosa akan dihidrolisis menjadi senyawa-senyawa penyusunnya. LeBlanc *et al.* (2004) menyatakan bahwa enzim invertase akan menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, sedangkan rafinosa dan stakiosa akan dihidrolisis oleh enzim α -galaktosidase dan invertase menjadi glukosa, fruktosa dan galaktosa. Hasil metabolisme gula oleh bakteri asam laktat berupa energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel bakteri dan asam-asam

organik terutama asam laktat dan asam-asam organik lainnya seperti asam suksinat dan asam sitrat. Asam-asam organik tersebut akan menyebabkan terjadinya penurunan pH ataupun peningkatan total asam tertitiasi pada susu kedelai selama proses fermentasi. Connes *et al.* (2004) menyatakan bahwa dalam proses fermentasi kedelai, nilai pH yang pada awalnya mendekati netral akan mengalami penurunan selama proses fermentasi yang disebabkan karena terjadinya perubahan gula menjadi asam-asam organik.



Gambar 2. Nilai pH dan total asam tertitiasi susu kedelai selama periode fermentasi. Keterangan : LA (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 ; R.1.3.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.1.3.2) ; R.11.1.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.11.1.2); LA+R.1.3.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 + *L. plantarum* 1 R.1.3.2); LA+R.11.1.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 + *L. plantarum* 1 R.11.1.2) dan R.1.3.2+R.11.1.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.1.3.2 + *L. plantarum* 1 R.11.1.2)

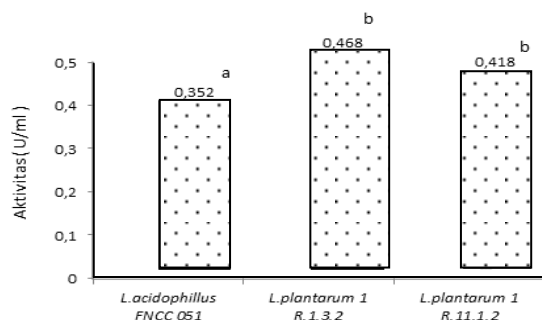
Kemampuan isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2 untuk memfermentasi gula yang terdapat pada susu kedelai tidak jauh berbeda. Hal ini terlihat dari nilai pH maupun total asam tertitiasi yang nilainya tidak jauh berbeda, namun jika dibandingkan dengan *L. acidophilus* FNCC 0051 secara statistik terdapat perbedaan yang signifikan.

Nilai pH yang terukur pada susu kedelai yang difermentasi dengan *L. acidophilus* FNCC 0051 (4,87) lebih tinggi dan total asam tertitiasi (0,316%) lebih rendah dibandingkan dengan susu kedelai yang difermentasi dengan isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2. Nilai pH dan total asam laktat pada susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.1.3.2 secara berurutan adalah 4,66 dan 0,342% sedangkan yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.11.1.2. adalah 4,67 dan 0,333%. Kombinasi isolat tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan nilai pH maupun peningkatan total asam tertitiasi jika dibandingkan dengan isolat tunggal *L. plantarum* 1 R.1.2.3 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2.

Aktivitas proteolitik

Hasil pengukuran aktivitas proteolitik secara kuantitatif disajikan pada Gambar 3 dan dari gambar tersebut terlihat bahwa isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2

mempunyai kemampuan proteolitik lebih tinggi dibandingkan *L.acidophilus* FNCC 0051.



Gambar 3. Aktivitas proteolitik dari *L. acidophilus* FNCC 0051, *L. plantarum* 1 R.1.3.2 dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2. Notasi dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata pada taraf kepercayaan 5%

Dari Gambar 3 terlihat bahwa ketiga isolat yakni *L. plantarum* 1 R.1.3.2; *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan *L. acidophilus* FNCC 0051 mempunyai aktivitas proteolitik berturut-turut 0,468 U/ml dan 0,418 U/ml dan 0,352 U/ml. Yusmarini *et al.* (2009) menyatakan bahwa aktivitas proteolitik isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2, *L. plantarum* 1 R.11.1.2 secara semi kuantitatif (pengukuran zona jernih pada media skim milk agar) berturut-turut 0,825 cm dan 0,750 cm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat yang berbeda mempunyai aktivitas yang hampir sama. Namun kadangkala isolat yang berada dalam 1 spesies mempunyai aktivitas proteolitik yang berbeda.

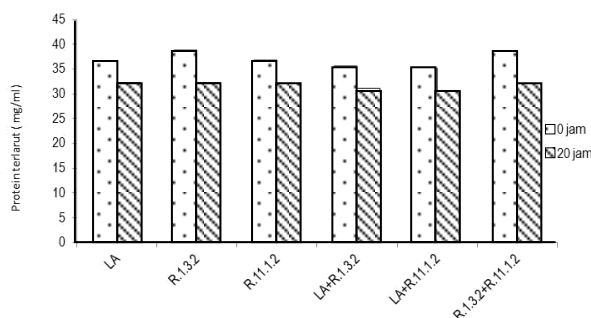
Nakazawa dan Hasono (1992) menyatakan bahwa aktivitas proteolitik dari BAL yang berada dalam satu spesies mungkin saja sama ataupun berbeda. Hasil penelitian Gobbetti *et al.* (1996) menunjukkan bahwa aktivitas spesifik dari enzim protease yang dihasilkan oleh *L. plantarum* DC400 lebih besar dibanding *L.acidophilus* BF4 maupun *L. fermentum* CC5. Selanjutnya Garabal *et al.* (2007) menyatakan bahwa *Lactococci* mempunyai aktivitas proteolitik yang lebih tinggi dibandingkan dengan *Lactobacilli*.

Protein terlarut

Hasil pengukuran menunjukkan terjadinya penurunan konsentrasi protein terlarut setelah susu kedelai difermentasi selama 20 jam seperti terlihat pada Gambar 4. Pada awal fermentasi jumlah protein terlarut lebih tinggi yakni berkisar antara 35,13mg/ml hingga 38,83mg/ml. Setelah susu kedelai difermentasi selama 20 jam jumlah protein terlarut mengalami penurunan yakni berkisar antara 30,43mg/ml - 32,33 mg/ml. Isolat yang digunakan untuk memfermentasi susu kedelai akan menghidrolisis protein kedelai menjadi protein/peptida yang berukuran lebih kecil seperti terlihat pada Gambar 5, namun kandungan protein terlarut mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena selama proses fermentasi, bakteri asam laktat akan memetabolisme karbohidrat yang terdapat pada susu kedelai dan menghasilkan asam organik terutama asam laktat yang menyebabkan terjadinya penurunan nilai pH. Pada pH rendah akan terjadi koagulasi protein kedelai (Liu *et al.*, 2006). Koagulasi protein kedelai dapat terjadi pada pH di sekitar titik isoelektrisnya yakni sekitar 4,2 - 4,6. Hasil pengamatan

menunjukkan bahwa pH susu kedelai setelah difermentasi adalah 4,6 – 4,8. Pada pH tersebut kelarutan protein akan berkurang. Wolf dan Cowan (1971) menyatakan bahwa kelarutan protein kedelai minimal pada pH 4,2 – 4,6 yang merupakan titik isoelektrisnya.

Yumiko *et al.* (2008) menambahkan bahwa protein kedelai komersil menunjukkan kelarutan minimum 52% pada pH 4,0 dan maksimum kelarutan 62% pada pH 10.



Gambar 4. Protein terlarut pada susu kedelai fermentasi. Keterangan : LA (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 ; R.1.3.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.1.3.2) ; R.11.1.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L.plantarum* 1 R.11.1.2); LA+R.1.3.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 + *L.plantarum* 1 R.1.3.2); LA+R.11.1.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 + *L.plantarum* 1 R.11.1.2) dan R.1.3.2+R.11.1.2 (susu kedelai yang difermentasi oleh *L.plantarum* 1 R.1.3.2 + *L.plantarum* 1 R.11.1.2)

Penggunaan beberapa isolat secara statistik tidak mempengaruhi jumlah protein terlarut pada susu kedelai dan kecenderungan penurunan protein terlarut untuk masing-masing isolat yang digunakan juga tidak berbeda nyata.

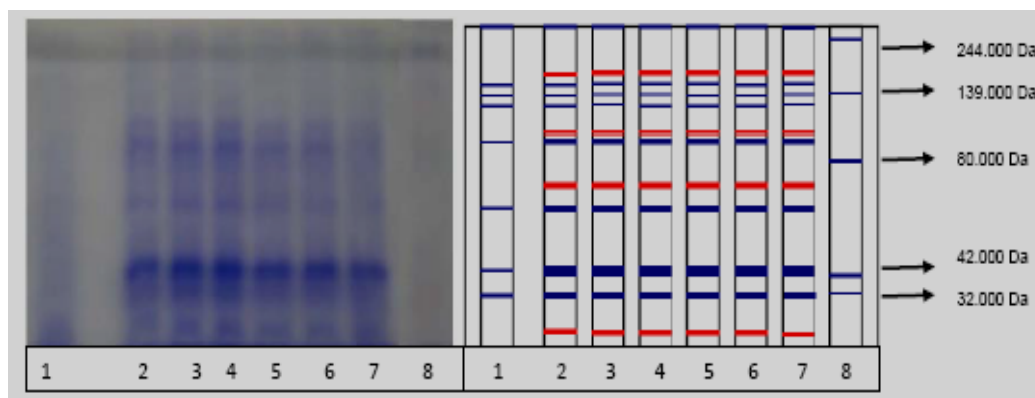
Profil protein

Profil protein pada susu kedelai non fermentasi dan susu kedelai fermentasi dapat diketahui dengan menggunakan teknik elektroforesis yakni dengan SDS-PAGE. Gel disusun oleh akrilamid dan bis akrilamid yang berpolimerisasi melalui mekanisme radikal bebas dengan bantuan N,N,N',N', tetrametilen diamina (TEMED) dan inisiator ammonium persulfat (Dunn, 1989). Prinsip analisis dengan SDS – PAGE adalah pemisahan protein berdasarkan ukuran molekul.

Hasil penelitian yang terlihat pada Gambar 5 menunjukkan bahwa ada perbedaan pola protein pada susu kedelai non fermentasi dan susu kedelai fermentasi.

Pada Gambar 5 terlihat bahwa proses fermentasi susu kedelai oleh bakteri asam laktat menyebabkan terjadinya perubahan pola protein secara signifikan.

Pada susu kedelai terfermentasi (pita nomor 2 – 7) dijumpai peptida yang berukuran 163.830 Da, 109.572 Da, 77.392 Da dan 25.888 Da.143Da (pita berwarna merah) dan peptida tersebut tidak dijumpai pada susu kedelai non fermentasi (pita nomor 1). Hal ini menunjukkan bahwa selama proses fermentasi isolat yang digunakan akan menghasilkan enzim protease yang menghidrolisis protein menjadi protein/peptida yang lebih sederhana.



Gambar 5. Pola Protein dari susu kedelai non fermentasi dan susu kedelai fermentasi Keterangan : (1) susu kedelai (2) susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 (LA) (3) susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.1.3.2 (4) susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.11.1.2 (5) susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 + *L. plantarum* 1 R.1.3.2 (6) susu kedelai yang difermentasi oleh *L. acidophilus* FNCC 0051 + *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dan (7) susu kedelai yang difermentasi oleh *L. plantarum* 1 R.1.3.2 + *L. plantarum* 1 R.11.1.2 (8) marker protein.

Gobetti *et al.* (1996) menyatakan bahwa beberapa strain *Lactobacillus* menghasilkan enzim protease yang mampu menghidrolisis protein seperti casein maupun gluten dengan aktivitas yang berbeda-beda. Meskipun ada perbedaan aktivitas proteolitik dari isolat yang digunakan namun pemecahan protein oleh enzim protease tersebut relatif sama. Hal ini terlihat pada Gambar 5 yang menunjukkan bahwa penggunaan masing-masing isolat maupun kombinasi isolat menghasilkan pemecahan protein yang sama.

Yusmarini *et al.* (2001) menyatakan bahwa selama proses fermentasi susu kedelai oleh *L. acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus* akan terjadi hidrolisis protein kedelai menjadi molekul yang lebih sederhana dan profil peptida yang dihasilkan juga hampir sama.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 ; *L. plantarum* 1 R.11.1.2 dapat memfermentasi susu kedelai yang ditandai dengan terjadinya peningkatan jumlah koloni bakteri dan penurunan nilai pH serta peningkatan total asam tertitiasi selama proses fermentasi. Aktivitas proteolitik isolat *L. plantarum* 1 R.1.3.2 (0,468 U/ml) dan *L. plantarum* 1 R.11.1.2 (0,418 U/ml) lebih besar dibanding aktivitas proteolitik *L. acidophilus* FNCC 0051 (0,352 U/ml).

Hasil analisa profil protein/peptida dengan menggunakan SDS-PAGE menunjukkan bahwa pola pemecahan protein selama fermentasi oleh ketiga isolat dan kombinasi antar isolat tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM Universitas Gadjah Mada dan program I-MHERE Universitas Riau yang telah membantu mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bordignon JR, Nakahara K, Yoshihashi T, Nikkuni S. 2004. Hydrolysis of isoflavone and consumption of oligosaccharides during lactic acid fermentation of soybean milk. *JARQ* 38 (4) 259- 265.
- Connes C, Silvestroni A, Leblanc JG, Juillard V, Savoy de Giori, G, Sesma F, Piard JC. 2004. Towards probiotic lactic acid bacteria strains to remove raffinose-type sugars present in soy-derived product. Review. INRA, EDP Science.
- Dunn MJ. 1989. Electrophoretic Analysis Methods. di dalam Harris ELV, Angal S. Editor. *Protein Purification Methods. A Practical Approach*. IRL Press. Oxford.
- Garabal JI, Alonso PR, Centeno JA. 2007. Characterization of lactic acid bacteria isolated from raw cow's milk cheeses currently produced in Galicia (NW Spain). *Swiss Soc. of Food Sci. And Technol.*
- Gobbetti M, Smacchi E, Fox P, Stepaniak L, Corsetti A.1996. The Sourdough Microflora. Cellular Localization and Characterization of Proteolytic Enzymes in Lactic Acid Bacteria. Academic Press Limited.
- Kwok J, De Vos WM. 1994. The Proteolytic System of Lactic Acid Bacteria. in : *Genetics and Biotechnology of Lactic Acid Bacteria*. Ed Gasson and De Vos. 1994. Blackie Academic & Professional. Glasgow.
- LeBlanc JG, Garro MS, Silvestroni A, Connes C, Piard J-C., Sesma F, Savoy de Giori G. 2004. Reduction of α -galactooligosaccharides in soyamilk by *Lactobacillus fermentum* CRL 722 : in vitro and in vivo evaluation of fermented soyamilk. *J. Appl. Microbiol.* 97: 876-881.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227 ; 680 -685
- Liu DM, Li Li, Yang XQ, Liang SZ, Wang JS. 2006. Survivability of *Lactobacillus rhamnosus* during the preparation of soy cheese. *Food Technol. Biotechnology.* 44 (3) : 417-

422. Nakazawa Y, Hosono A. 1992. Function of fermented milk. Challenges for the health sciences. 180-184S
- Nisa FZ, Marsono Y, Harmayani E. 2006. Efek hipokolesterolemik susu kedelai fermentasi steril pada model hewan coba. *Agrosains*, 19(1) : 41-53
- Nout MJR, Rombouts FM, Havelaar A. 1989, Effect of accelerated natural lactic acid fermentation of infant food ingredients on some pathogenic microorganism. *Int. J. Food Microbiol.* 84 : 351-354
- Rahayu ES, Margino S. 1997. Bakteri Asam Laktat : Isolasi dan Identifikasi. Materi Workshop, diselenggarakan oleh PAU Pangan Gizi. Universitas Gadjah Mada 13-14 Juni 1997. Yogyakarta
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 2007. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta.
- Thomas TD, Pritchard GG. 1987. Proteolytic enzymes from dairy starter cultures. *Fed. Eur. Microbiol. Soc. Microbiol. Rev.* 46: 245
- Walter HE. 1984. Method with Haemoglobin, Casein and Azocoll as Substrate, in : Bergmeyer, H.U. (ed). *Methods of Enzymatic Analysis*. Verlag Chemie. Deerfield Beach Florida Basel.
- Wolf WJ, Cowan JC. 1971. Soybean as a Food Source. The Chemical Rubber Co. Cleveland, Ohio.
- Yumiko YS, Wada Y, Wäsche A. 2008. Chemical composition, functional properties, and bioactivities of rapeseed protein isolat. *Food Chemistry* 107: 32-39
- Yusmarini, Adnan M, Hadiwiyoto S. 2001. Perubahan nilai cerna dan fraksi protein pada susu kedelai dalam proses pembuatan soygurt. *Agritech* Vol. 21 No.3. 95-98.
- Yusmarini, Indrati R, Utami T, Marsono Y. 2009. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat proteolitik dari susu kedelai yang terfermentasi spontan. *Jurnal Natur Indonesia* 12.1. 28-33.