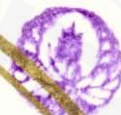


**PENGUJIAN SENYAWA PREBIOTIK
HOMOGALAKTOOLIGOSAKARIDA
SEBAGAI PEMACU PERTUMBUHAN
PADA BEBERAPA BAKTERI PROBIOTIK**

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**

Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk
Menyelesaikan Pendidikan Strata Satu
Pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember



Unit UPT Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER

Oleh : **M Yoyok Robi'i BS**
991710101144

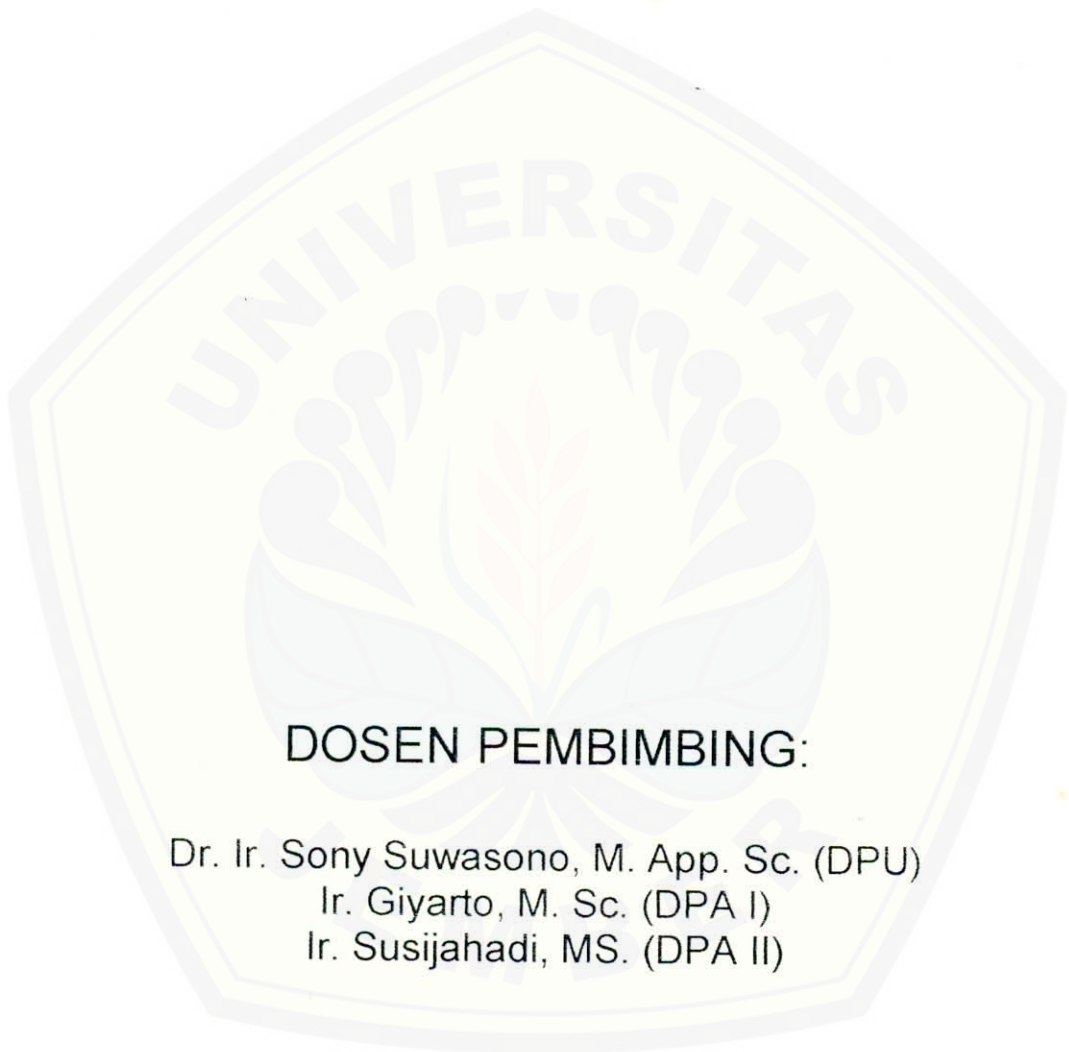
Asal : Hadiah
Pembelian
Terima : 30 DEC 2003
No. Induk :

Klas
664.07
ROB
P

Teknologi
Mekatronika

c.1

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2003**



DOSEN PEMBIMBING:

Dr. Ir. Sony Suwasono, M. App. Sc. (DPU)

Ir. Giyarto, M. Sc. (DPA I)

Ir. Susijahadi, MS. (DPA II)

Diterima oleh :

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi)

Dipertahankan pada :
Hari : Sabtu
Tanggal : 4 Oktober 2003
Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Tim Penguji
Ketua



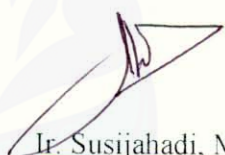
Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc.
NIP : 131 832 332

Anggota I



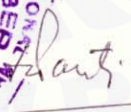

Ir. Giyarto, M.Sc.
NIP : 132 524 412

Anggota II



Ir. Susijahadi, MS
NIP : 130 287 109

Mengesahkan
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian



Ir. Hj. Siti Hartanti, MS
NIP : 130 350 763

MOTTO

Banyak orang-orang mencapai kebesaran berkat banyaknya kesulitan dan kesukaran yang mereka hadapi. Semak-semak yang terkuat tumbuhnya di atas tanah yang paling keras. Kegelapan mencemerlangkan bintang-bintang, kesedihan mencemerlangkan manusia.

“.....Sesungguhnya Allah tidak merubah keadaan suatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri.....”

(Q.S Ar Ra'd 13 : 11)

Allah akan meninggikan orang – orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah mengetahui apa yang kamu kerjakan.

(Q.S. Al Mujaadilah:11)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Kupersembahkan Karya Ilmiah tertulis (skripsi) ini untuk:

Allah SWT, atas izin-Mu Ananda ada dimuka bumi, serta menjalani hidup ini.

Bapak (Alm) Moehsinoen

Semoga Allah SWT memberikan tempat yang mulia disisi-Nya dan diampuni dosa-dosanya. Terimakasih bapak yang telah memberikan ananda kasih sayang dan teladan yang tak pernah ananda lupakan, ananda merindukan kehadiranmu.

Ibu Tukiyah

Yang telah memberikan kasing sayang dan arahan sehingga ananda dapat mengarungi hidup ini. Semoga Allah SWT memberikan kekuatan jiwa dan tatapan kedepan sebagai hamba Allah SWT.

Kakak-kakaku: *Mas Udin, Mas supri, Mbak nana*

Terimakasih telah memberikan motivasi, pengetahuan dan bantuan kepada adikmu, semoga kita diberi kekuatan dalam menjaga keluarga dan agama kita. Tak lupa terimakasih juga pada mbak lisa, mbak lis serta mas deni.

Keponakan kecilku: *Vira, Bela, Ade serta Thia*

Senyum dan tangisan adalah kegembiraan, songsong masa depan kalian.

Saudara sepupuku: *Lina dan Anis dan saudara2ku yang lain*
Mari kita berpacu diri lebih dewasa, sebab dewasa itu pilihan tua itu pasti.

Spesial partnerku: *Yenny Rahmawati*

Terimakasih selama ini kita saling berbagi dan mendukung, mari kita songsong masa depan kita.

Pada Almamaterku: *Universitas Jember*

Thanks To:

Anak-anak omah kidul⁺⁺: Eko susilo, Izmaul haqi, Ahmad ubaidillah, Cak Narto, tak lupa yang telah jadi sarjono duluan Andreyas, Nurasy'ari, Agung, ipink, Mas karimba, mas amir serta widya tutuka, sungguh hidup dengan kalian menjadi lebih hidup (ndak nyontek iklan lho).

Tak lupa anak-anak generasi penerus omah kidul: Koko, bahana, taufik, arga, kartiyan dan dedy. Pertahankan ketenaran dan kehebohan omah kidul.

Teman-teman keluarga besar KOMTETA Adi, Zidny, Nafi, Ari, diana, Haris, Anam, Priyanto, Munir, Zubaidi, lin, Fony, Ida Roh dan rurin, Nanik, Devy, mery dan el el yang tidak bisa tak sebut satu-persatu terimakasih atas salah satu memory terbesarku dalam pencarian jati diri.

Teman-teman KAPANOTE: Bendot, Wawan bokir, Tony, Slatem, Kunciung, Kobo, dondong, Joko, Ogan, galintung serta teman-teman yang lain terimakasih atas memory 3 tahun bersama kalian serta pak Sumadi dan Ibu, terimakasih boleh ngekos disitu (tarif jangan dinaikkan terus pak)

Teman-Teman di HIMAGIHASTA: Karel, Erick, Subhan, Ashar, evi, Yudo, De el el, satu perahu yang penuh warna, namun tantangan akan tetap teratasi.

Konco-konco Nggalek di Jember: terutama Riza teman curhat, Wahyu, Uut, Any, Hendro, Any, Sri, Ari de el el, walau jauh dari rumah dan ditinggalkan cinta tetapi kita tetap kompak.

Tak lupa teman-teman 99 semuanya, bener angkatan kita memang terbaik dan semoga kalian semua dikaruniai kesuksesan

Terimakasih juga pada jember dengan alamnya, suasana, serta warung-warungnya aku akan merindukanmu

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadirat Allah S.W.T. yang telah memberikan rahmat dan ridho-Nya sehingga dapat terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis dengan judul **“PENGUJIAN SENYAWA PREBIOTIK HOMOGALAKTOOLIGOSAKARIDA SEBAGAI PEMACU PERTUMBUHAN PADA BEBERAPA BAKTERI PROBIOTIK”**.

Karya Ilmiah Tertulis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Strata Satu pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Pada kesempatan yang baik ini, dengan penuh rasa hormat dan rendah hati penulis mengucapkan terima kasih kepada :

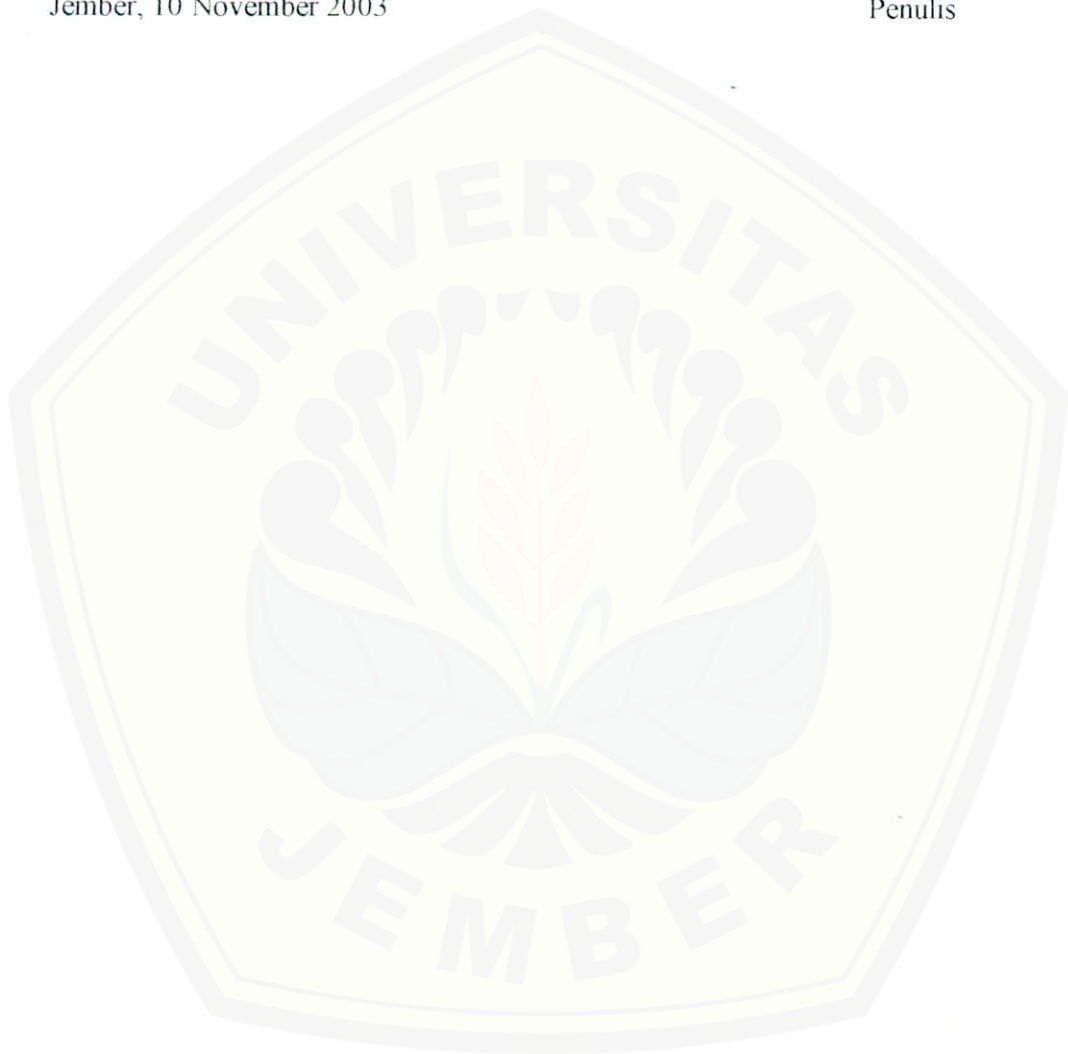
1. Ir. Hj. Siti Hartanti, MS, selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian
2. Ir. Susijahadi, MS, selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
3. Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc, selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU).
4. Ir. Giyarto, M.Sc, selaku Dosen Pembimbing Anggota I (DPA I)
5. Ir. Susijahadi, MS, selaku Dosen Pembimbing Anggota II (DPA II)
6. Ir. Herlina, MP, selaku dosen wali yang telah membimbing penulis selama kuliah
7. Segenap teknisi laboratorium, Mbak Widi, Mbak Ketut dan Mbak Sari, Mbak Win, Mas Mistar, Mas Tasor, Mas Dian dan Pak Min yang telah banyak membantu hingga terselesaikannya naskah skripsi ini
8. Segenap karyawan dan karyawan Fakultas Teknologi Pertanian yang telah membantu memperlancar studiku
9. Segenap saudaraku di “OMAH KIDUL” dan “KOMTETA”, serta saudara-saudara dan teman-temanku yang telah banyak membantu penelitianku.
10. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu kelancaran penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis sadar akan masih banyaknya kekurangan dalam penulisan skripsi ini, karena itu saran maupun kritik penulis terima dengan tangan terbuka.

Akhirnya penulis berharap semoga karya ini dapat memberikan tambahan pengetahuan dan manfaat bagi kita semua.

Jember, 10 November 2003

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
DOSEN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
MOTTO	iv
PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
RINGKASAN	xiv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Makanan Fungsional.....	4
2.2 Oligosakarida dan Galakto-Oligosakarida	6
2.2.1 Oligosakarida.....	6
2.2.2 Galakto-Oligosakarida	8
2.3 Prebiotik	10
2.4 Probiotik	13
2.5 Bakteri Asam Laktat.....	16
2.5.1 Jenis Bakteri Asam Laktat	17
2.5.2 Metabolisme Bakteri Asam Laktat	18

2.5.3 Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat 22

III. METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat 25

 3.1.1 Bahan 25

 3.1.2 Alat 25

3.2 Waktu dan Tempat 25

3.3 Metode Penelitian 26

3.4 Pelaksanaan Penelitian 26

 3.4.1 Pemeliharaan Bakteri 26

 3.4.2 Persiapan Inokulum 27

 3.4.3 Fermentasi Bakteri Asam Laktat 27

 3.4.4 Urutan Kerja 28

3.5 Pengamatan 30

3.6 Prosedur Analisa 30

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pertumbuhan Beberapa Bakteri Asam Laktat pada Media MRS-Broth dengan Penambahan Senyawa Homo-GalOS 32

 4.1.1 Pola Pertumbuhan 32

 4.1.2 Kecepatan Pertumbuhan Spesifik 44

 4.1.3 Waktu Generasi 46

4.2 Pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* pada Media MRS-Broth dengan Penambahan Senyawa Hetero-GalOS 47

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan 50

5.2 Saran 50

DAFTAR PUSTAKA 51

LAMPIRAN 55

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Skema Reaksi Sintesa dan hidrolisa	19
2.	Reaksi Hidrolisa Homo-Galaktosakarida.....	19
3.	Jalur pemecahan glukosa A). Homofermentatif (jalur Embden-Meyerhof) B). Heterofermentatif (jalur 6-phosphogluconate/phospoketolase)	20
4.	Metabolisme galaktosa pada bakteri asam laktat A) Jalur tagose-6- phospate; B) Jalur Leloir.....	21
5.	Kurva pertumbuhan bakteri yang khas: (A) fase lamban, (B) fase log (logaritmik) atau eksponensial, (C) fase statis, (D) fase kematian atau penurunan.....	24
6.	Diagram Alir Pengujian Homo-GalOS terhadap beberapa bakteri asam laktat.....	28
7.	Diagram Alir Pengujian Hetero-GalOS Terhadap beberapa bakteri asam laktat.....	29
8.	Total Mikroba <i>Lactobacillus bulgaricus</i> yang Diinkubasi Selama 24 Jam Dengan Penambahan Homo-GalOS Konsentrasi 0 – 40%.....	38
9.	Total Mikroba <i>Lactobacillus casei</i> yang Diinkubasi Selama 24 Jam Dengan Penambahan Homo-GalOS Konsentrasi 0 – 40%.....	39
10.	Total Mikroba <i>Lactobacillus acidophillus</i> yang Diinkubasi Selama 24 Jam Dengan Penambahan Homo-GalOS Konsentrasi 0 – 40%.....	39
11.	Total Mikroba <i>Streptococcus thermophilus</i> yang Diinkubasi Selama 24 Jam Dengan Penambahan Homo-GalOS Konsentrasi 0 – 40%.....	40
12.	Derajad Keasaman (pH) Media Pertumbuhan <i>Lactobacillus bulgaricus</i> yang Diinkubasi selama 24 Jam dengan Penambahan Homo-GalOS Konsentrasi 0 – 40%.....	42
13.	Derajad Keasaman (pH) Media Pertumbuhan <i>Lactobacillus casei</i> yang Diinkubasi Selama 24 Jam dengan Penambahan Homo-GalOS Konsentrasi 0 – 40%.....	42
14.	Derajad Keasaman (pH) Media Pertumbuhan <i>Lactobacillus acidophillus</i> yang Diinkubasi Selama 24 Jam dengan Penambahan Homo-GalOS Konsentrasi 0 – 40%.....	43
15.	Derajad Keasaman (pH) Media Pertumbuhan <i>Streptococcus thermophilus</i> yang Diinkubasi Selama 24 Jam dengan Penambahan Homo-GalOS Konsentrasi 0 – 40%.....	43

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Oligosakarida, Disakarida dan Poliol yang Dapat Meningkatkan <i>Bifidobacteria</i> dan Bakteri Asam Laktat dalam Saluran Pencernaan	5
2.	Syarat Dosis Maksimum Oligosakarida Tanpa Menimbulkan Diare.....	8
3.	Komposisi Kimia dan Karakteristik Beberapa Senyawa Prebiotik	11
4.	Beberapa Probiotik Dan Efek Perlindungannya	14
5.	Beberapa Contoh Produk Yang Mengandung Probiotik	15
6.	Morfologi Bakteri Asam Laktat Dan Tipe Peragiannya	18
7.	Waktu Generasi Beberapa Spesies Bakteri	23
8.	Pola Pertumbuhan <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dengan Variasi Penambahan GalOS Konsentrasi 0%, 20%, 30% dan 40% Selama 24 jam Waktu Inkubasi.....	33
9.	Pola Pertumbuhan <i>Lactobacillus casei</i> dengan Variasi Penambahan GalOS Konsentrasi 0%, 20%, 30% dan 40% Selama 24 jam Waktu Inkubasi.....	34
10.	Pola Pertumbuhan <i>Lactobacillus acidophilus</i> dengan Variasi Penambahan GalOS Konsentrasi 0%, 20%, 30% dan 40% Selama 24 jam Waktu Inkubasi.....	35
11.	Pola Pertumbuhan <i>Streptococcus thermophilus</i> dengan Variasi Penambahan GalOS Konsentrasi 0%, 20%, 30% dan 40% Selama 24 jam Waktu Inkubasi	36
12.	Kecepatan Pertumbuhan Spesifik dan Waktu Generasi <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dengan Variasi Penambahan Homogalos 0%, 20%, 30% dan 40%.....	44
13.	Kecepatan Pertumbuhan Spesifik dan Waktu Generasi <i>Lactobacillus casei</i> dengan Variasi Penambahan Homogalos 0%, 20%, 30% dan 40%.	45
14.	Kecepatan Pertumbuhan Spesifik dan Waktu Generasi <i>Streptococcus thermophilus</i> dengan Variasi Penambahan Homogalos 0%, 20%, 30% dan 40%.....	45
15.	Kecepatan Pertumbuhan Spesifik dan Waktu Generasi <i>Lactobacillus acidophilus</i> dengan Variasi Penambahan Homogalos 0%, 20%, 30% dan 40%.....	45
16.	Pola Pertumbuhan <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dengan Penggunaan Substrat Hetero-GalOS pada Media MRS-Broth.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Kurva Standar untuk Total Mikroba dan Absorbansi.....	55
2.	Hasil Pengamatan Pengujian Senyawa Homo-GalOS dalam Media MRS-Broth pada <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	57
3.	Hasil Pengamatan Pengujian Senyawa Homo-GalOS dalam Media MRS-Broth pada <i>Lactobacillus casei</i>	58
4.	Hasil Pengamatan Pengujian Senyawa Homo-GalOS dalam Media MRS-Broth pada <i>Lactobacillus acidophilus</i>	59
5.	Hasil Pengamatan Pengujian Senyawa Homo-GalOS dalam Media MRS-Broth pada <i>Streptococcus thermophilus</i>	60
6.	Data Pengamatan Pengujian Hetero-GalOS Pada <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	61

M. Yoyok Robi'i BS, NIM. 991710101144, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember "Pengujian Senyawa Prebiotik Homogalaktooligosakarida Sebagai Pemacu Pertumbuhan Pada Beberapa Bakteri Probiotik", dibimbing oleh Dr. Ir. Sony Suwasono, MAppSc, Ir. Giyarto, MSc. dan Ir. Susijahadi, MS.

RINGKASAN

Pangan fungsional adalah pangan yang mempunyai kemampuan untuk mempengaruhi proses fisiologis, sehingga meningkatkan potensi kesehatan dari makanan atau minuman tersebut, pergeseran konsumsi lebih dititik beratkan pada pengaruhnya terhadap kesehatan. Secara alami pada manusia terdapat bakteri asam laktat yang menguntungkan seperti *Lactobacillus sp.* dan *Streptococcus sp.* keberadaan bakteri ini pada bayi masih dominan karena pada air susu ibu (ASI) mengandung *N-acetyl glucosamine* yaitu suatu oligosakarida yang tidak dapat dicerna dan diabsorpsi oleh enzim-enzim pencernaan manusia, yang merupakan sumber nutrisi bagi mikroflora yang menguntungkan tersebut, namun dengan bertambahnya usia manusia tidak mungkin terus mengkonsumsi ASI untuk mempertahankan jumlah mikroflora menguntungkan tersebut, maka dengan menggunakan GalOS (Galaktooligosakarida) diharapkan memenuhi kebutuhan akan senyawa tersebut, sehingga mikroflora yang menguntungkan tetap dominan dalam usus.

Penerapan metode dengan menambahkan senyawa kedalam bahan pangan, dimana senyawa tersebut tidak dapat dicerna dan bermanfaat dalam merangsang pertumbuhan atau aktifitas sejumlah bakteri menguntungkan dalam usus besar dan menurunkan jumlah bakteri patogenik dikenal dengan konsep prebiotik. Senyawa Galaktooligosakarida termasuk dalam kelompok senyawa prebiotik, terdiri dari Homo-galaktooligosakarida (Homo-GalOS) dan Hetero-Galaktooligosakarida (Hetero-GalOS).

Penelitian ini bertujuan mendapatkan konsentrasi optimum senyawa homo-galaktooligosakarida serta jenis hetero-galaktooligosakarida yang diujikan pada beberapa bakteri asam laktat. Penelitian ini dilakukan dengan menambahkan senyawa Homo-galaktooligosakarida dengan berbagai konsentrasi pada media MRS-Broth yang diinkubasi selama 24 jam. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus*. Pengamatan yang dilakukan terhadap sampel meliputi pH, total mikroba, kecepatan pertumbuhan spesifik (μ) dan waktu generasi (*td*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan senyawa Homo-GalOS dengan konsentrasi 20% dapat meningkatkan total mikroba setelah 24 jam lebih tinggi dari pemakaian konsentrasi lain, sedangkan kecepatan pertumbuhan spesifik tertinggi dan waktu generasi dicapai dengan penggunaan konsentrasi 40%. Jenis Hetero-GalOS yang dapat memacu pertumbuhan paling tinggi pada *Lactobacillus bulgaricus* yaitu pemakaian substrat Galaktosil-Glukosa.



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dewasa ini ada kecenderungan orang untuk tidak hanya suka mengonsumsi makanan yang mengenyangkan dan bercitarasa, namun juga makanan yang mampu meningkatkan kesehatan terutama guna menghindarkan diri dari berbagai penyakit. Kecenderungan ini sangat dipengaruhi oleh tingginya tingkat pendidikan, tingkat kesadaran akan pentingnya kesehatan dan berbagai pengalaman mengonsumsi makanan.

Makanan adalah penggerak utama kebutuhan tubuh mulai penghasil energi, pertumbuhan, maupun perbaikan kondisi tubuh. Berbagai efek dapat ditimbulkan dari jenis dan volume makanan yang dikonsumsi, dimana konsumsi makanan sangat dipengaruhi oleh budaya daerah dan kondisi alam. Semua makanan ini akan dimetabolisme oleh manusia yang dimulai dengan penyerapan unsur-unsur makanan oleh usus.

Usus secara alami telah mengandung mikroflora yang seimbang antara mikroflora yang menguntungkan dan merugikan. Secara alami bayi yang baru lahir terbukti terdeteksi banyak mengandung mikroflora yang menguntungkan, dan selanjutnya perubahan terjadi ketika adanya konsumsi dari luar. Bayi yang diberi air susu ibu (ASI) akan lebih tahan terhadap penyakit. Hal ini disebabkan pada ASI mengandung senyawa yang diidentifikasi mampu meningkatkan mikroflora yang menguntungkan. Namun dengan bertambahnya usia, aktifitas dan gaya hidup maka komposisi mikroflora yang ada dalam usus dapat berubah jumlahnya.

Dengan penambahan usia orang tidak mungkin lagi tetap mengonsumsi ASI untuk dapat meningkatkan mikroflora menguntungkan dalam tubuhnya. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ASI mengandung *N*-acetyl glucosamine yaitu suatu oligosakarida yang tidak dapat dicerna dan diabsorpsi oleh usus, sehingga sampai ke usus dalam keadaan utuh dan akhirnya dapat dipecah dan digunakan oleh mikroflora menguntungkan dalam usus seperti *Bifidobacterium sp* atau *Lactobacillus sp* yang merupakan kelompok bakteri asam laktat. Senyawa

sejenis yang juga mempunyai kemampuan seperti ASI dengan oligosakarida tersebut dapat ditemukan pada sayuran dan buah-buahan, seperti pada pisang dan ubi jalar.

Peningkatan jumlah mikroflora terutama pada usus dapat dilakukan dengan memberikan senyawa yang dapat memacu pertumbuhan mikroflora menguntungkan yang dalam hal ini bakteri asam laktat. Dengan memberikan senyawa ini diharapkan mikroflora menguntungkan dalam usus dapat terus dominan. Penerapan metode ini sekarang lebih dikenal dengan konsep prebiotik yang berarti memasukkan senyawa tertentu ke dalam bahan pangan, dimana senyawa tersebut tidak dapat dicerna dan bermanfaat dalam merangsang pertumbuhan atau aktifitas sejumlah bakteri menguntungkan dalam usus besar (*Bifidobacterium sp*, *Lactobacillus sp*) dan menurunkan jumlah bakteri patogenik (*Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*) serta dapat memperbaiki kesehatan tubuh.

Konsep prebiotik sering dipadukan dengan konsep probiotik. Konsep probiotik artinya memasukkan bakteri yang menguntungkan kedalam tubuh sehingga dapat meningkatkan efek kesehatan. Paduan dua metode ini dikenal dengan konsep sinbiotik.

Ada banyak penelitian yang diarahkan pada penemuan prebiotik yang dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri menguntungkan sehingga diperoleh senyawa seperti Fruktooligosakarida (FOS), Transgalaktosil oligosakarida, 4'-galaktosil laktosa, Galaktooligosakarida (GalOS), Inulofruktosakarida, Silitol, Xilooligosakarida, dan lainnya. Senyawa-senyawa ini dapat diperoleh melalui ekstraksi polisakarida alami secara langsung dari tumbuhan, hidrolisa polisakarida alami dan sintesis secara enzimatik (Nuraida, 1996).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa dapat dilakukan sintesis galaktooligosakarida dengan β -galaktosidase dari *Escherichia coli* (Hartono, 2003). Untuk membuktikan bahwa galaktooligosakarida yang diberikan termasuk golongan senyawa prebiotik, maka perlu pengujian lebih lanjut. Pengujian dilakukan dengan menambahkan senyawa homo-galaktooligosakarida dalam media pertumbuhan untuk beberapa jenis bakteri probiotik.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Makanan Fungsional

Makanan dan minuman yang kita konsumsi sehari-hari mempunyai fungsi yang berhubungan dengan rasa, aroma dan atau nilai gizi esensial. Namun demikian saat ini berkembang konsep pangan fungsional yang didefinisikan sebagai pangan yang mengandung komponen aktif secara fisiologis, dan digunakan untuk pencegahan atau penyembuhan suatu penyakit, juga untuk menjaga kesehatan. Istilah pangan fungsional tersebut digunakan secara luas untuk mengidentifikasi dan mendefinisikan makanan yang mempunyai kemampuan untuk mempengaruhi proses fisiologis, sehingga meningkatkan potensi kesehatan dari makanan atau minuman tersebut (Head, 1995).

Pergeseran pertimbangan konsumsi ke arah pangan fungsional didasarkan pada pengaruhnya terhadap kesehatan tubuh dan hal ini didukung telah banyak laporan hasil penelitian tentang aktifitas komponen aktif bagi kesehatan, baik mengenai sifat kuratifnya (pengobatan) maupun sifat protektifnya (pencegahan) terhadap berbagai penyakit degeneratif (Goldberg, 1994; Muchtadi, 1996; Wijaya, 1996).

Sampai saat ini belum ada definisi pangan fungsional yang disepakati secara universal. The International Food Information Council (IFIC) mendefinisikan pangan fungsional sebagai bahan pangan yang memberikan manfaat kesehatan di luar zat-zat dasar. Menurut konsensus pada *The First International Conference on East-West Perspective on Functional Foods* tahun 1996, pangan fungsional adalah pangan yang karena kandungan komponen aktifnya dapat memberikan manfaat bagi kesehatan, di luar manfaat yang diberikan olah zat-zat yang terkandung di dalamnya (Astawan, 2003).

Di Indonesia, Badan Pengawasan Obat dan Makanan mendefinisikan pangan fungsional sebagai pangan yang secara alamiah maupun telah melalui proses, mengandung satu atau lebih senyawa, yang berdasarkan kajian-kajian ilmiah dianggap mempunyai fungsi-fungsi biologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan, serta dikonsumsi sebagaimana layaknya makanan atau minuman,

mempunyai karakteristik sensori berupa penampilan, warna, tekstur dan cita rasa yang dapat diterima oleh konsumen. Selain itu pangan fungsional tidak memberikan kontradiksi dan tidak memberi efek samping pada jumlah menggunakan yang dianjurkan terhadap metabolisme zat gizi lainnya (Astawan 2003).

Beberapa persyaratan yang harus dimiliki oleh suatu produk agar dapat dikatakan sebagai pangan fungsional menurut para ilmuwan Jepang adalah: 1) harus merupakan produk pangan (bukan berbentuk kapsul, tablet atau bubuk) yang berasal dari bahan (*ingredien*) alami, 2) dapat dan layak dikonsumsi sebagai bagian dari diet atau menu sehari-hari, 3) mempunyai fungsi tertentu pada saat dicerna, serta dapat memberikan peran dalam proses tubuh tertentu, seperti: memperkuat mekanisme pertahanan tubuh, mencegah penyakit tertentu, membantu mengembalikan kondisi tubuh setelah sakit tertentu, serta memperlambat proses penuaan (Astawan 2003).

Dari konsep yang telah dikembangkan oleh para ilmuwan, jelaslah bahwa pangan fungsional tidak sama dengan *food suplement* atau obat. Pangan fungsional dapat dikonsumsi tanpa dosis tertentu, dapat dinikmati sebagaimana makanan pada umumnya, serta lezat dan bergizi (Astawan, 2003).

Pangan fungsional telah banyak beredar di pasaran, mulai jenis susu probiotik tradisional seperti *yoghurt*, *kefir* dan *coumiss*, diikuti dengan pemunculan produk baru seperti *BioSeven*, *OH BA yoghurt*, *yakult*, *ophilus* dan *BA live*. Selain itu juga beredar produk pangan tanpa lemak (mengandung *fat substitute*) yang diperkaya dengan mineral, produk non kolesterol atau kadar kolesterol dan lemaknya yang telah diturunkan. Minuman yang berkhasiat menyehatkan tubuh yang mengandung komponen aktif rempah-rempah adalah *kunyit asem*, minuman *sari jahe instan* dan *sari temulawak* juga berbagai produk sereal, biskuit, dan minuman yang diperkaya serat (Arafah, 2003; Sibuea, 2002).

2.2 Oligosakarida dan Galakto-oligosakarida

2.2.1 Oligosakarida

Oligosakarida merupakan polimer yang terdiri dari 2 – 10 monosakarida yang tergabung dalam ikatan glikosidik, yang segera dapat dihidrolisa secara enzimatik untuk menghasilkan monosakarida (El Khadem, 1988; Pazur, 1994). Contoh oligosakarida yang memiliki dua residu monosakarida adalah sukrosa, laktosa, maltosa dan trehalosa, sedangkan yang memiliki tiga monosakarida adalah rafinosa, maltotriosa dan mannotriosa.

Oligosakarida dapat diklasifikasikan menjadi homo-oligosakarida yang terdiri dari satu tipe monosakarida dan hetero-oligosakarida yang terdiri dari dua atau lebih tipe monosakarida penyusunnya (El Khadem, 1988).

Menurut Silalahi (2001), oligosakarida fungsional tidak dapat dicerna oleh enzim-enzim pada pencernaan manusia, jadi seperti serat pangan, akhirnya akan sampai di usus besar. Kondisi tersebut merupakan media yang baik untuk pertumbuhan bakteri *Bifidobacteria* yang menguntungkan di dalam usus besar (kolon), sehingga oligosakarida disebut sebagai *prebiotik*.

Oligosakarida memiliki peranan penting dalam kegiatan biologis, baik sebagai molekul bebas atau kompleks (glikoprotein dan glikolipida) (Dwek, 1996), perlekatan sel-sel, ketahanan dan kekebalan serta infeksi (Ofek dan Sharon, 1990; Zopf dan Roth, 1996).

Menurut Silalahi (2001) manfaat oligosakarida dapat meningkatkan populasi *Bifidobacteria* dan menurunkan jumlah bakteri yang merugikan. Penelitian menunjukkan bahwa peningkatan jumlah *Bifidobacteria* sesudah mengkonsumsi oligosakarida akan terjadi dan sebaliknya menurunkan bakteri yang merugikan. *Bifidobacteria* juga akan mencegah pertumbuhan bakteri merugikan, karena konsumsi oligosakarida akan memproduksi asam lemak rantai pendek (terutama asam asetat dan asam laktat) dan mampu menghasilkan zat yang bersifat antibiotik

Produksi asam laktat atau asam organik lain oleh bakteri asam laktat atau *Bifidobacteria* dalam saluran pencernaan tergantung pada ketersediaan karbohidrat yang tidak dapat diserap oleh tubuh. Hasil-hasil penelitian

sebelumnya menunjukkan bahwa pengonsumsi oligosakarida yang tidak dapat dicerna akan dapat meningkatkan jumlah *Bifidobacteria* atau bakteri asam laktat dalam saluran pencernaan. Banyak terdapat jenis oligosakarida yang telah diketahui mampu meningkatkan jumlah *Bifidobacteria* dan bakteri asam laktat (Tabel 1)

Tabel 1. Oligosakarida, Disakarida dan Poliol yang Dapat Meningkatkan *Bifidobacteria* dan Bakteri Asam Laktat dalam Saluran Pencernaan

Jenis gula	Bakteri yang meningkat
Fruktooligosakarida	<i>Bifidobacteria</i>
Transgalaktosil oligosakarida	<i>Bifidobacteria</i>
4'-galaktosil laktosa	<i>Bifidobacteria</i>
Isomaltooligosakarida	<i>Bifidobacteria</i>
Galaktooligosakarida (Oligomat 50)	<i>Bifidobacteria</i>
Galaktosil Oligosakarida	<i>Bifidobacteria</i>
Oligosakarida kedelai	<i>Bifidobacteria</i> dan beberapa <i>lactobacillus</i>
Xilooligosakarida	<i>Bifidobacteria</i>
Palatinose	<i>Bifidobacteria</i>
Laktulosa	<i>Bifidobacteria</i> dan bakteri asam laktat
Inulofruktosakarida	<i>Bifidobacteria</i>

Sumber: Nuraida, 1996

Dalam bentuk yang belum terhidrolisa, oligosakarida tidak dapat dicerna oleh tubuh. Selain itu oligosakarida merupakan senyawa anti nutrisi yang menyebabkan *flatulensi* atau penumpukan gas dalam perut, seperti *rafinosa*, *stakiosa* dan *verbaskosa* terdapat dalam kacang-kacangan dan umbi-umbian.

Selama ini, upaya pengolahan pangan berkandungan oligosakarida selalu diarahkan pada pengurangan atau penghilangan sama sekali kandungan karbohidrat tersebut. Hasil – hasil penelitian mutakhir yang berkaitan dengan

metabolisme bakteri bermanfaat *Bifidobacteria* menunjukkan kemampuan bakteri ini memanfaatkan oligosakarida, sehingga pola penanganan konvensional bahan-bahan pangan dengan tujuan mengeliminasi kandungan oligosakarida perlu diubah. Kandungan oligosakarida dalam bahan pangan perlu dipertahankan pada tingkat yang cukup untuk memperbaiki atau mempertahankan keseimbangan mikroflora usus, tetapi tidak terlalu tinggi demi mencegah diare dan flatulensi. (Nuraida, 1996).

Hasil penelitian di Jepang, menyimpulkan tentang dosis maksimum penggunaan oligosakarida yang tidak menimbulkan diare dapat dijadikan pedoman sementara, seperti terlihat pada **tabel 2**

Tabel 2. Dosis Maksimum Oligosakarida Tanpa Menimbulkan Diare

Sakarida	Dosis Maksimum yang Diijinkan (g/kg berat badan/hari)	
	Pria	Wanita
Neosugar	0.3	0.4
4 galaktosil-sukrosa	0.6	0.6
4 galaktosil-oligosakarida	0.28	0.28
6 galaktosil-laktosa	0.3	0.3
Xilo-oligosakarida	0.12	0.12
Maltitol	0.3	0.3
Palatinit	0.3	0.3
Eritritol	0.66	0.8
Sorbitol	0.17	0.24

Sumber: Nuraida, 1996

2.2.2 Galakto-oligosakarida

Senyawa galakto-oligosakarida umumnya disintesa dengan menggunakan laktosa sebagai substrat. Hasil degradasi laktosa yang utama adalah glukosa dan galaktosa, walaupun sejumlah kecil galakto-oligosakarida terbentuk melalui reaksi

transferase. Ketika dikonsumsi oleh manusia, galakto-oligosakarida akan memacu pertumbuhan *Bifidobacteria* dalam usus besar. Hal ini akan memperbaiki keadaan mikroba dalam usus dan menekan kebusukan (Suwasono, *et al.*, 2001).

Galakto-oligosakarida, merupakan oligosakarida yang dapat merangsang perkembangbiakan *Bifidobacteria*, yang terdapat pada air susu ibu, susu sapi dan yoghurt komersial. Senyawa ini adalah suatu campuran oligosakarida dari laktosa yang disintesa secara enzimatik oleh β -D-galaktosidase dari *Aspergillus oryzae* dan *Streptococcus thermophilus*. Studi yang sama juga mengindikasikan bahwa galaktooligosakarida yang diproduksi dari laktosa oleh enzim yang sama memiliki pengaruh yang penting bagi flora fekal. Terdapat hubungan yang linear (sebanding) antara dosis galaktooligosakarida dengan fekal *Bifidobacteria*. Juga terjadi peningkatan jumlah *Lactobacillus*. Konsumsi galaktooligosakarida dengan dosis 10 gram/hari dianjurkan untuk memperoleh efek yang menguntungkan tersebut (Ito *et al.*, 1990).

Komposisi galakto-oligosakarida (GalOS) menurut Rastall (2001), yaitu terdiri oligogalaktosa (85%), glukosa, galaktosa dan laktosa. Jadi pada galakto-oligosakarida mengandung 85% homo-galaktooligosakarida yang terdiri dari disakarida atau trisakarida galaktosa.

Penerapan galakto-oligosakarida ke dalam makanan merupakan suatu hal yang menarik. Oleh karena itu penelitian untuk produksi GalOS dengan menggunakan mikrobial β -galaktosidase semakin menarik pada dekade terakhir ini. Hidrolisa laktosa akan berlangsung pada konsentrasi laktosa sangat rendah, selanjutnya produksi oligosakarida dengan reaksi transgalaktosidase akan berjalan juga dengan meningkatnya konsentrasi laktosa. Hidrolisa laktosa dan sintesa GalOS terjadi secara simultan yang membuat mekanisme reaksi sangat kompleks. Konversi laktosa menjadi GalOS akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi laktosa dalam media, karena grup β -galaktosil mempunyai peluang tinggi untuk melekat kepada laktosa dan/atau oligosakarida daripada ke air sebagai aseptor (Iwasaki *et al.*, 1996). Selanjutnya Iwasaki *et al.* juga mendapatkan bahwa konversi oligosakarida lebih dari 30 % terjadi dengan menggunakan konsentrasi laktosa lebih dari 1,11 mol/liter yang dikatalisa oleh β -galaktosidase

dari *Aspergillus oryzae* selama 5 jam. Hasil penelitian Suwasono, *et al.* (2001) dengan menggunakan β -galaktosidase dari *Aspergillus oryzae* selama 48 jam dengan menggunakan galaktosa sebanyak 2,2 mol/liter mampu menghasilkan GalOS antara 19.000 – 20.000 ppm.

2.3 Prebiotik

Prebiotik merupakan senyawa yang sering ditambahkan ke dalam bahan pangan, tidak dapat dicerna dan bermanfaat dalam merangsang pertumbuhan atau aktifitas sejumlah bakteri menguntungkan (*Bifidobacteria*, *Lactobacillus*) dalam usus besar dan menurunkan jumlah bakteri patogenik (*E. coli*, *Clostridium perfringens*) serta dapat memperbaiki kesehatan tubuh. Prebiotik juga sering disebut sebagai faktor pertumbuhan bagi probiotik (Suwasono, *et al.*, 2001).

Gibson and Robertfoid (1995) menyatakan bahwa prebiotik adalah bahan tambahan makanan yang tidak dapat dicerna, yang memiliki efek bermanfaat bagi tubuh dan dengan selektif merangsang atau menstimulasi pertumbuhan dan atau aktifitas satu atau beberapa jenis bakteri dalam usus, sehingga dapat memperbaiki kesehatan.

Sementara itu menurut Waspodo (2001) prebiotik merupakan kelompok oligosakarida seperti rafinosa, stakhiosa, galakto-oligosakarida, frukto-oligosakarida, inulin, serta beberapa jenis peptida dari protein yang tidak dapat dicerna, sehingga mencapai usus. Prebiotik merupakan nutrisi yang sesuai bagi bakteri baik, tapi tidak cocok bagi bakteri jahat, sehingga bisa meningkatkan bakteri baik dalam usus.

Beberapa prebiotik pada saat ini sedang disintesa secara enzimatik, seperti galaktooligosakarida, fruktooligosakarida, isomaltooligosakarida, gentooligosakarida, xilooligoakarida, laktulosa dan laktosukrosa. Prebiotik tidak bersifat toksik dan tidak mempunyai efek samping yang negatif. Senyawa ini akan dihidrolisa oleh enzim yang dihasilkan oleh probiotik dan selanjutnya digunakan sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan probiotik (Macfarlane and Cumming, 1999). Beberapa jenis prebiotik beserta komposisi kimia dan karakteristiknya dapat dilihat pada **tabel 3**.

Tabel 3. Komposisi Kimia dan Karakteristik Beberapa Senyawa Prebiotik

Prebiotik (Oligosakarida)	Komposisi kimia
Fruktooligosakarida (FOS)	95% oligosakarida $\beta(2-1)$ fructan; 60% glukosa, fruktosa _(n) , 40% fruktosa _(n) dp 2-8, rata-rata 4-5.
Inulin	>99% oligosakarida $\beta(2-1)$ fructan; rata-rata dp 10-12.
Galaktooligosakarida (GalOS)	Oligogalaktosa (85%), glukosa, galaktosa dan laktosa.
Oligosakarida kedelai	Stakiosa (fruktosa, galaktosa, glukosa) dan raffinosa (fruktosa, galaktosa, glukosa), dp 3-4.
Xilooligosakarida	$\beta(1-4)$ xilosa; kemurnian 70%, dp 2-4.
Isomaltosaoligosakarida	Campuran oligomer glukosa ikatan $\alpha(1-6)$ (isomaltosa, panosa, isomaltriosa).
Laktulosa	Galaktosa dan disakarida yang mengandung fruktosa.

Sumber: Rastall, 2001

Suatu bahan tambahan makanan dapat diklasifikasikan sebagai prebiotik jika:

1. Tidak terhidrolisa atau teradsorpsi pada jalur pencernaan makanan.
2. Diproduksi dari substrat tertentu yang dapat menstimulan pertumbuhan satu atau sejumlah terbatas bakteri dalam saluran pencernaan.
3. Dapat menekan jumlah bakteri patogen dan meningkatkan jumlah bakteri menguntungkan (Fuller, 1991).

Prebiotik dapat berupa karbohidrat kompleks ataupun beberapa peptida dari protein sehingga di dalam saluran pencernaan tidak terserap atau tidak tercerna. Dalam bentuk fruktooligosakarida (FOS), prebiotik ini dapat ditemukan misalnya pada bawang, pisang dan asparagus (Gibson and Robertfoid, 1995) dan secara alamiah beberapa makanan mengandung oligosakarida, misalnya

fruktooligosakarida dapat ditemukan pada bawang putih, asparagus dan kacang kedelai mengandung soybean oligosakarida (Silalahi, 2001).

Prebiotik yang didefinisikan sebagai *nondigestible* (tidak dapat dicerna) dan *non absorbable* (tidak teradsorpsi) pada saluran pencernaan mempunyai fungsi regulasi terhadap mikroekosistem mikrobiota probiotik dalam usus sehingga dapat memberikan efek kesehatan pada manusia. Prebiotik dapat diperoleh dari 1) ASI dalam bentuk *human milk oligosaccharide* yang hanya < 5% kandungan oligosakaridanya dapat dicerna (Gnoth, 2000), 2) secara alami karbohidrat yang mengandung fruktooligosakarida terdapat dalam berbagai sayur dan buah seperti *onion*, asparagus, *chicory* (mengandung inulin), pisang, dan *artichoke* (Gibson, 1998).

Untuk memperoleh oligosakarida sebagai bahan prebiotik dapat dilakukan melalui 1) ekstraksi langsung polisakarida alami dari tanaman. 2) hidrolisis polisakarida alami. 3) sintesis enzimatis dengan menggunakan hidrolase dan atau glikosil transferase, dimana kedua enzim tersebut mengkatalisa reaksi transglikosilasi sehingga terjadi oligosakarida sintetik dari mono dan disakarida. Saat ini di Eropa, inulin tipe fructan yang dicirikan mengandung ikatan *fructosyl* unit pada beta-2,1 sukrosa juga dipakai sebagai bahan prebiotik (Grizard, 1999)

Manfaat penggunaan prebiotik tidak terlepas dari peranan prebiotik untuk mengatur dan meningkatkan mikroekosistem populasi bakteri probiotik. Prebiotik dalam usus terutama usus besar yang difermentasi oleh bakteri probiotik akan menghasilkan asam lemak rantai pendek (*short chain fatty acid* / SCFA) dalam bentuk asetat, propionat, butirat dan L-lactat, karbondioksida hidrogen (Grizard, 1999). Asam lemak rantai pendek tersebut oleh tubuh dapat dipakai sebagai sumber energi, efek stimulasi selektif terhadap pertumbuhan probiotik terutama *Bifidobacteria* dan *Lactobacillus sp* akan memberikan efek yang menguntungkan bagi kesehatan antara lain 1) memperbaiki keluhan malabsorpsi laktosa 2) meningkatkan ketahanan alami terhadap infeksi di usus oleh kuman patogen, *Clostridium perfringen*, *Eschericia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria* (Grizard, 1999) 3) supresi (menekan pertumbuhan) kanker 4) memperbaiki metabolisme lipid dan mengurangi kadar kolesterol darah 5) memperbaiki

pencernaan (Fuller, 1991) 6) stimulasi imunitas gastrointestinal (McCracken *et al.*, 1999; McFarlane dan Cummings, 1999).

2.4 Probiotik

Probiotik merupakan sekumpulan mikroba yang secara alami ada dalam usus manusia, dan juga sering ditambahkan ke dalam bahan pangan, yang mampu memberikan keuntungan kepada manusia, seperti bakteri asam laktat dan *Bifidobacteria* (Macfarlane dan Cummings, 1999). Gibson and Robertfoid (1995) mendefinisikan probiotik sebagai pangan/suplemen pangan yang berisi mikroba hidup yang memberi efek yang menguntungkan (kesehatan) saluran pencernaan.

Konsep probiotik dikembangkan dari sebuah teori autointoksikasi yang dikemukakan oleh seorang ilmuwan Rusia penerima nobel biologi tahun 1908 yaitu Elie Metchnikoff. Menurutnya, secara perlahan pembusukan (*putrefikasi*) oleh bakteri dalam usus besar menghasilkan senyawa-senyawa beracun yang memasuki peredaran darah, yang disebut sebagai proses “*autointoksikasi*”. Proses inilah yang menyebabkan penuaan dan beberapa penyakit-penyakit degeneratif (Prangdimurti, 2003).

Salminen *et al* (1998) merangkum hasil studi efek klinis mikro organisme probiotik. Beberapa probiotik dan efek perlindungannya disajikan dalam **tabel 4**

Tabel 4. Beberapa Probiotik Dan Efek Perlindungannya

Galur	Efek Klinis yang telah dilaporkan
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA 1 (<i>Lactobacillus johnsonii</i>)	Dapat menempel pada sel intestinal manusia, menyeimbangkan mikroflora, memperkuat imunitas
<i>Lactobacillus</i> GG	Melindungi diare akibat antibiotik, rotavirus, diare akut, melawan bakteri kariogenik, memperkuat imunitas intestinal, mamperkuat barier saluran pencernaan.
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM	Menurunkan aktifitas enzim fekal, aktifitas laktase tinggi, pengobatan intolerance laktosa, produksi bakteriosin
<i>Lactobacillus casei shirota</i>	Melindungi gangguan intestinal, menyeimbangkan bakteri intestinal, menurunkan aktifitas enzim fekal, memperkuat imuniitas intestinal.
<i>Streptococcus thermophilus</i> ; <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Tidak ada efek pada diare rotavirus, tidak ada efek pada enzim fekal, memperkuat imunitas.
<i>Lactobacillus gasseri</i> (ADH)	Reduksi enzim fekal

Sumber: Salminen *et al* (1998)

Bakteri yang termasuk probiotik tersebut diatas mampu membatasi pertumbuhan dan aktifitas mikroba penyebab penyakit di dalam usus. Mikroba ini mampu merubah kolesterol menjadi bentuk yang kurang mudah teradsobrsi. Selain itu bakteri ini mampu menghambat proses pembentukan senyawa penyebab kanker atau toksik dalam usus. *Bifidobacteria* dapat memproduksi vitamin B kompleks (B1, B6 dan B12, asam folat) dan asam amino yang dibutuhkan oleh enzim metabolisme. Bakteri asam laktat dapat menghambat bakteri pemecah vitamin B1. *Bifidobacteria* dapat memproduksi asam laktat dan asam asetat yang mengasamkan lambung dan membunuh bakteri berbahaya yang tidak tahan kondisi asam.

Enzim yang dimiliki bakteri probiotik seperti laktase mampu mengatasi *laktosa intolerance* (tidak bisa memecah laktosa), *bile salt hydrolase* membantu menurunkan kadar kolesterol, senyawa dinding sel bakteri probiotik (peptidoglycan) menyerap senyawa karsinogenik (pemicu kanker), asam laktat yang dihasilkan merangsang gerak peristaltik usus sehingga mencegah sembelit

dan meningkatkan penyerapan kalsium yang diperlukan untuk mencegah kerapuhan tulang (osteoporosis). Bakteri probiotik juga mampu mencegah diare yang disebabkan *helicobacter pylori* (Anonim, 2002).

Efek menguntungkan dari probiotik bagi manusia menurut Veld dan Havenaar (1991) adalah anti infeksi bagi penderita over dosis antibiotika, berguna bagi penderita setelah terapi radiasi, *intensive care* unit bagi janin dan dibidang promosi kegiatan berguna sebagai inhibisi karsinogenesis, antikolesterol, meningkatkan penyerapan kalsium, mengatasi *intoleransi laktosa*, sebagai sintesis dari vitamin

Beberapa bakteri dan khamir yang termasuk ke dalam kelompok probiotik adalah *Bifidobacterium longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. bifidum*, *B. adolescentis*, *Lactobacillus lactis*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. gasseri*, *L. casei*, *Streptococcus thermophilus*, *Saccarromyces cerevicae* dan *S. boulardi* (Macfarlane dan Cummings, 1999). Sedangkan beberapa produk yang telah mengandung probiotik dapat dilihat pada **tabel 5** dibawah ini

Tabel 5. Beberapa Contoh Produk Yang Mengandung Probiotik

Nama Produk	Tahun Pemasaran	Jenis mikroflora
Biogarde (Jerman)	1968	<i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>Acidophilus</i> , <i>Streptococcus termophilus</i>
Lunebest-Spezial Yoghurt	1969	<i>Bifidobacterium</i> , <i>L.acidophilus</i> , <i>S. thermophilus</i> , <i>L.bulgaricus</i>
Biokys (cekoslowakia)	1977	<i>Bifidobacterium</i> , <i>L.acidophilus</i> , <i>Pidiococcus acidilactici</i>
Cultura (Denmark)	1963	<i>Bifidobacterium</i> , <i>L.acidophilus</i>
Bifighurt (Jerman)	1983	<i>Bifidobacterium</i> , <i>L.bulgaricus</i>

Sumber: Nuraida, 1996.

Mikroorganisme yang berpeluang besar melintasi dan hidup pada saluran pencernaan adalah yang berasal dari tubuh manusia sendiri, sehingga pada

awalnya bakteri yang digunakan untuk pembuatan probiotik diisolasi dari usus manusia atau dari feses bayi sehat. Ada sekitar 10^{14} bakteri terdapat dalam saluran pencernaan, termasuk bakteri-bakteri patogen dan bakteri yang menguntungkan (Prangdimurti, 2003).

Bakteri probiotik yang sudah melalui uji klinis, diantaranya adalah *Lactobacillus casei* sub *sp. casei* Shirota strain yang terdapat dalam yakult, *Bifidobacterium*, dan *Lactobacillus acidophilus* (Waspodo, 2001).

2.5 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat dikelompokkan dalam keluarga *Lactobacteriaceae*. Meskipun kelompok ini secara morfologi tidak homogen, ada yang berbentuk batang panjang, ada yang pendek ada juga yang berbentuk kok, tetapi dari segi fisiologi dapat dikarakterisasi relatif baik. Semua anggotanya gram positif, tidak membentuk spora (sampai pada *Sporolactobacillus inulis*) dan (dengan pengecualian) tidak mobil dan untuk perolehan bakteri ini boleh dikata hanya menggantungkan diri pada karbohidrat dan mengekskresi asam laktat (Schelgel, 1994). Ditambahkan oleh Salminen *et al* (1998) Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri gram positif yang dikelompokkan berdasarkan kesamaan karakteristik morfologi, metabolisme dan fisiologi. Deskripsi secara umum bakteri yang termasuk kelompok ini adalah gram positif, tidak berspora, berbentuk bulat atau batang, anaerob tapi aerotolerant, toleran terhadap asam, memetabolisme karbohidrat secara fermentatif, yang memproduksi asam laktat sebagai produk akhir yang utama selama fermentasi karbohidrat.

Susu fermentasi merupakan hasil kerja bakteri asam laktat yang merupakan kontaminan alami susu. Dalam pelbagai penelitian bakteri asam laktat terbukti mampu menjaga keseimbangan mikroflora usus serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh atau yang dikenal sebagai efek probiotik (Waspodo, 2001).

Bakteri *Lactobacillus* (bakteri asam laktat) diketahui akan menurunkan kolesterol darah karena dapat mencegah absorpsi kolesterol dari usus (Silalahi, 2001). Menurut Waspodo, (2001) bakteri asam laktat memproduksi enzim yang

disebut *bile salt hydrolisa* (BSH). Dekonjugasi garam empedu akan meningkatkan asam empedu terkonjugasi yang tidak mudah diserap dari usus halus dibanding asam empedu konjugasi. Asam empedu konjugasi akan terbuang lewat tinja, sehingga jumlah asam empedu yang kehati berkurang, untuk menyeimbangkan jumlah asam empedu tubuh akan mengambil kolesterol tubuh sebagai prekursor. Proses ini pada gilirannya akan menurunkan kadar kolesterol darah secara keseluruhan. bakteri ini juga akan menurunkan pH media biak sampai dibawah 5 dan dengan demikian menekan pertumbuhan bakteri anaerob lain, yang tak mampu tumbuh pada derajat keasaman seperti ini (Schelgel, 1994).

Berbagai senyawa hasil metabolisme bakteri asam laktat ini seperti asam laktat, hidrogen peroksida (H_2O_2) dan bakteriosin bersifat anti mikroba bagi bakteri jahat, bakteri ini mampu mengikat senyawa racun hasil metabolisme protein dan lemak hasil pemecahan enzim tertentu, sehingga meringankan tugas organ hati (Waspodo, 2001).

2.5.1 Jenis Bakteri Asam Laktat

Jenis *Lactobacillus* dapat dibedakan atas dua kelompok yaitu 1) bersifat homofermentatif dan 2) bersifat heterofermentatif. Bakteri *lactobacillus* homofermentatif memecah gula terutama menjadi asam laktat dan dapat tumbuh pada suhu $37^{\circ} C$ atau lebih. Sedangkan bakteri yang tergolong heterofermentatif memecah gula menjadi asam laktat dan produk-produk lain seperti alkohol, asam asetat dan karbondioksida (Fardiaz, 1992). Menurut Schlegel (1994) pemisahan jenis bakteri selaras dengan perbedaan-perbedaan mendasar pada alur-alur penguraian glukosa. Pada **tabel 6** disajikan perbedaan morfologi bakteri asam laktat homofermentatif dan heterofermentatif

Tabel 6. Morfologi Bakteri Asam Laktat Dan Tipe Peragiannya.

Kok-kok (Batang pendek)	Batang-batang
Homofermentatif : $C_6H_{12}O_6$	\longrightarrow 2 $CH_3CHOH-COOH$
<i>Streptococcus lactis</i>	Termobakteri (suhu optimum 40°C; tidak tumbuh pada 15°C)
<i>Streptococcus faecalis</i>	<i>Lactobacillus lactis</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Lactobacillus helveticus</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus delbruckii</i>
<i>Streptococcus diacetylactis</i>	Streptobakteri (suhu optimum 30–37°C; tumbuh selalu pada 15°C)
<i>Pediococcus cerevisiae</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	<i>Sporolactibacillus inulinus</i>
Heterofermentatif : $C_6H_{12}O_6$	\longrightarrow $CH_3-CHOH-COOH + CH_3-CH_2-OH$ + CO_2 (atau CH_3-COOH)
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (= <i>Betacoccus</i>)	Betabakteri
<i>Leuconostoc cremoris</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>
	<i>Lactobacillus fermentum</i>
	<i>Lactobacillus viridescens</i>
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>

Sumber: Schelgel, 1994

Karakter penting yang digunakan dalam klasifikasi kelompok bakteri asam laktat adalah cara fermentasi glukosa di bawah kondisi normal yaitu konsentrasi glukosa yang tidak dibatasi dan faktor-faktor pertumbuhan (asam amino, vitamin dan prekursor asam nukleat) dan persediaan oksigen yang terbatas. Pada kondisi ini bakteri asam laktat dapat dibagi ke dalam dua kelompok : homofermentatif, mengkonversi hampir seluruh glukosa menjadi asam laktat dan heterofermentatif, memfermentasi glukosa menjadi asam laktat, etanol/asam asetat dan CO_2 . Salminen *et al*, 1998).

2.5.2 Metabolisme Bakteri Asam Laktat

Reaksi kesetimbangan (*ekuilibrium*) berlaku juga pada proses hidrolisis oligosakarida menjadi monosakarida, dengan bantuan enzim untuk mengkatalisa

reaksi ini, akan diperoleh unit-unit monosakarida. (Hartono, 2003). Reaksi tersebut dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Skema Reaksi Sintesa dan hidrolisa

Enzim β -Galaktosidase berperan sangat aktif dalam reaksi hidrolisa monogalaktosakarida, ada beberapa kemungkinan reaksi yang terjadi, reaksi tersebut dapat dilihat pada **Gambar 2**, yaitu:



Gambar 2. Reaksi Hidrolisa Homo-Galaktosakarida

Sumber: Suwasono *et al* (2001)

Pemanfaatan substrat untuk mendegradasi karbohidrat dapat dihasilkan melalui proses *glikolisis*. Glikolisis adalah salah satu lintasan paling penting yang digunakan oleh sel untuk menghasilkan energi. Glikolisis tidak mensyaratkan adanya oksigen dan bisa terdapat pada sel-sel baik aerobik maupun anaerobik (Pelczar, 1986). GalOS akan terpecah oleh enzim yang dimiliki oleh bakteri asam laktat yaitu enzim β -galaktosidase yang selanjutnya terpecah menjadi galaktosa dan glukosa.

Galaktosa akan melalui jalur tagatose-6-phosphatase atau jalur leloir sedangkan glukosa ini akan terurai sesuai jalur bakteri asam laktatnya yaitu homofermentatif, yang menghasilkan asam laktat dan heterofermentatif, menghasilkan asam laktat dan produk lain, pada **gambar 5** dan **6** akan disajikan jalur pemecahan glukosa (Axelsson, 1998)

reaksi ini, akan diperoleh unit-unit monosakarida. (Hartono, 2003). Reaksi tersebut dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Skema Reaksi Sintesa dan hidrolisa

Enzim β -Galaktosidase berperan sangat aktif dalam reaksi hidrolisa monogalaktosakarida, ada beberapa kemungkinan reaksi yang terjadi, reaksi tersebut dapat dilihat pada **Gambar 2**, yaitu:

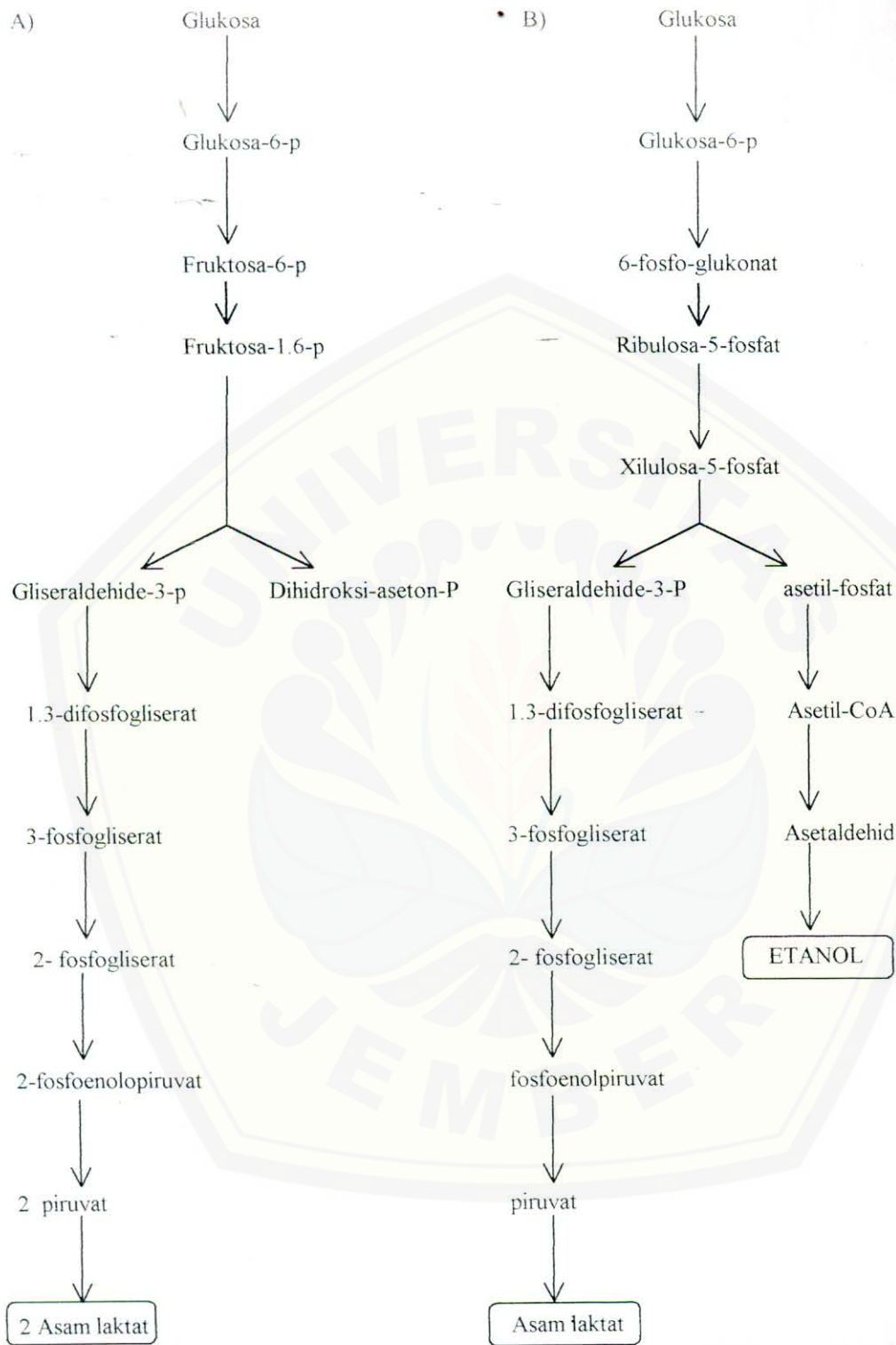


Gambar 2. Reaksi Hidrolisa Homo-Galaktosakarida

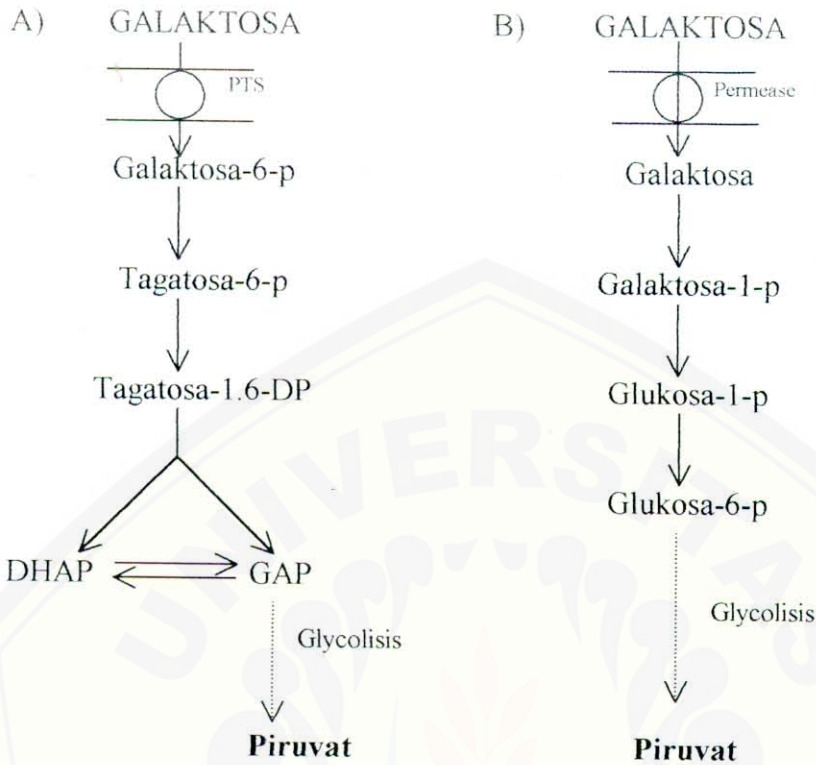
Sumber: Suwasono *et al* (2001)

Pemanfaatan substrat untuk mendegradasi karbohidrat dapat dihasilkan melalui proses *glikolisis*. Glikolisis adalah salah satu lintasan paling penting yang digunakan oleh sel untuk menghasilkan energi. Glikolisis tidak mensyaratkan adanya oksigen dan bisa terdapat pada sel-sel baik aerobik maupun anaerobik (Pelczar, 1986). GalOS akan terpecah oleh enzim yang dimiliki oleh bakteri asam laktat yaitu enzim β -galaktosidase yang selanjutnya terpecah menjadi galaktosa dan glukosa.

Galaktosa akan melalui jalur tagatose-6-phospatase atau jalur leloir sedangkan glukosa ini akan terurai sesuai jalur bakteri asam laktatnya yaitu homofermentatif, yang menghasilkan asam laktat dan heterofermentatif, menghasilkan asam laktat dan produk lain, pada **gambar 5** dan **6** akan disajikan jalur pemecahan glukosa (Axelsson,1998)



Gambar 3. Jalur pemecahan glukosa A). Homofermentatif (jalur Embden-Meyerhof) B). Heterofermentatif (jalur 6-phosphogluconate/phosphoketolase) (sumber: Axelsson, 1998).



Gambar 4. Metabolisme galaktosa pada bakteri asam laktat A) Jalur tagose-6-phospate; B) Jalur Leloir (Sumber: Axelsson, 1998)

2.5.3 Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat

Pertumbuhan sel diartikan sebagai adanya penambahan volume sel serta bagian-bagian sel lainnya, yang diartikan pula sebagai penambahan kuantitas isi dan kandungan di dalam sel. Sedangkan pertumbuhan populasi merupakan akibat dari adanya pertumbuhan individu, misal dari satu sel menjadi dua, dari dua menjadi empat, dari empat menjadi delapan, dan seterusnya hingga berjumlah banyak (Suriawiria, 1995).

Pada mikroba pertumbuhan individu (sel) dapat berubah langsung menjadi pertumbuhan populasi. Karena batas antara pertumbuhan sel sebagai individu serta satu kesatuan populasi yang kemudian terjadi, kadang-kadang karena terlalu cepat perubahannya, sulit untuk diamati dan dibedakan. Pada pertumbuhan populasi bakteri misalnya, merupakan penggambaran jumlah atau massa sel yang terjadi pada saat tertentu. kadang-kadang didapatkan bahwa konsentrasi sel sesuai dengan jumlah sel perunit volume, sedang kerapatan sel adalah jumlah materi perunit volume (Suriawiria, 1995). Pelczar (1986) mendefinisikan pertumbuhan yang umum digunakan untuk bakteri dan mikroorganisme lain, biasanya mengacu pada perubahan di dalam hasil panen sel (pertambahan total massa sel) dan bukan perubahan individu organisme.

Menurut Dwidjoseputro (1994) kecepatan biak suatu bakteri, kata asing untuk kecepatan biak ialah *generation time* (waktu generasi) atau *doubling time* (waktu penggandaan) tampaknya adanya suatu pola pertumbuhan koloni yang sama di antara berbagai spesies. Sedangkan definisi dari waktu generasi adalah selang waktu yang dibutuhkan bagi sel untuk membelah diri atau untuk populasi menjadi dua kali lipat. Sedangkan waktu generasi dari tiap mikroba sendiri sangat bergantung pada cukup tidaknya nutrien di dalam medium serta pada sesuai tidaknya kondisi fisik. Waktu generasi beberapa bakteri dapat dilihat pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Waktu Generasi Beberapa Spesies Bakteri

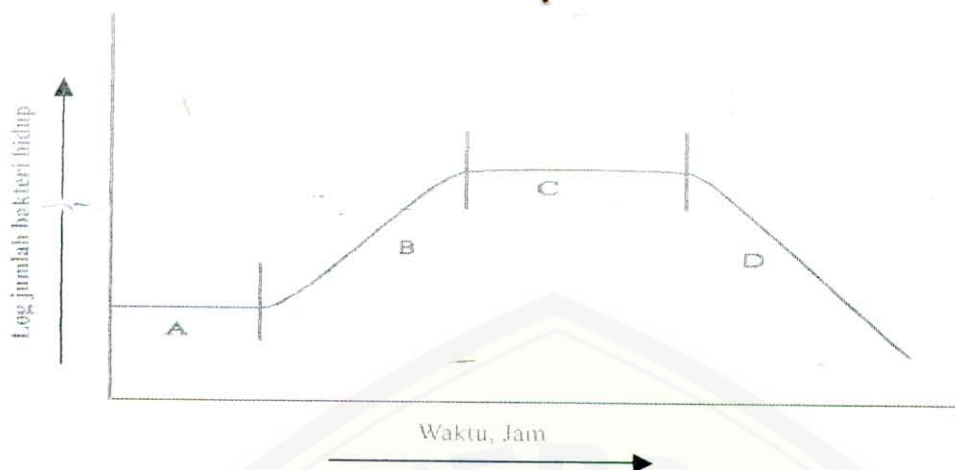
Bakteri	Medium	Suhu (°C)	Waktu generasi (menit)
<i>Bacillus mycoides</i>	Broth	37	28
<i>B. thermophilus</i>	Broth	55	18,3
<i>Escherichia coli</i>	Broth	37	17
	susu	37	12,5
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Susu	37	66-87
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Sintetik	37	792-932
<i>Staphylococcus aureus</i>	Broth	37	27-30
<i>Streptococcus lactis</i>	Broth	37	48
	Susu	37	26

Sumber: Fardiaz (1992)

Pertambahan massa bakteri berbanding lurus (proporsional) dengan pertambahan komponen selular yang lain seperti DNA, RNA dan protein. Sehingga berbagai cara dapat dikembangkan memperoleh metode pengukuran bagi pertumbuhan (Pelczar, 1986).

Penambahan dan pertumbuhan jumlah sel mikroba pada umumnya dapat digambarkan dalam bentuk kurva pertumbuhan (**Gambar 5**). Kurva tersebut merupakan penjabaran dari penambahan jumlah sel dalam waktu tertentu (Suriawiria, 1995).

Pada fase pertama yaitu setelah pemindahan bakteri belum mengadakan pembiakan. Fase ini disebut fase adaptasi, yang disusul dengan fase kedua, dimana jumlah bakteri mulai bertambah sedikit demi sedikit. Sel-sel dalam fase ini tampak gemuk. Setelah fase kedua disusul dengan fase pembiakan cepat (fase logaritma), dimana pembiakan sel berlangsung sangat cepat.



Gambar 5. Kurva pertumbuhan bakteri yang khas: (A) fase lamban, (B) fase log (logaritmik) atau eksponensial, (C) fase statis, (D) fase kematian atau penurunan.

Karena disebabkan beberapa hal seperti keadaan medium yang memburuk, perubahan pH, bertumpuknya (terakumulatif) zat kotor, maka dalam fase berikutnya terjadi penyusutan jumlah sel. Kecepatan berbiak menjadi menurun. Fase ini disebut fase pembiakan yang diperlambat. akibatnya jumlah bakteri yang berbiak sama dengan jumlah bakteri yang mati, maka kurva menunjukkan garis yang hampir horisontal, fase ini disebut fase konstan atau stasioner. Fase berikutnya jumlah bakteri mati makin banyak, dan melebihi jumlah bakteri yang membelah diri, grafiknya mulai menurun. Fase ini disebut fase kematian (Dwidjoseputro, 1994).

Jumlah bakteri yang mati senantiasa bertambah, hal ini bergantung kepada spesies dan keadaan medium serta faktor-faktor lingkungan (Dwidjoseputro, 1994). Penyimpangan kurva sangat mungkin terjadi jika faktor-faktor lingkungan yang menyertainya tidak memenuhi persyaratan, seperti: jenis mikroba, keadaan media, temperatur, cahaya, pH, radiasi, kelembapan, kehadiran senyawa yang mungkin dapat bersifat toksik atau meracuni terhadap mikroba tersebut (Suriawiria, 1995).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1. Bahan

Bahan yang digunakan antara lain : Laktosa (Sigma L-3625), Galaktosa (E-Merck 4061), Glukosa (Sigma G-8270), Mannosa (Sigma M-4625), Maltosa (Sigma M-5885), Sukrosa (Sigma S-9378), Maltotriosa (Fluka 63430), Trehalosa (Sigma T-5251), biakan agar tegak *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0053, *Lactobacillus casei* FNCC 0090, *Lactobacillus plantarum* FNCC 123, *Lactobacillus rhamnosus* FNCC 52, *Lactobacillus lactis* 3024 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC 040, aquades dan MRS – Broth (De Man Rogosa Und Sharpe-Difco). buffer pH 4,0 dan 7,0, enzim β -galaktosidase E.C. 3.2.1.23 (Sigma G-5635; 1,4 mg solid; 769 units/mg solid; 864 units/mg protein) dari *Eschericia coli*.

3.1.2 alat

Alat-alat yang digunakan antara lain: pipet volume, pipet mikro, tabung *eppendorf*, labu ukur, beaker glass, Timbangan Analitik, Haemacytometer (merek Assistent), kertas aluminium foil, gelas ukur, pH meter, Inkubator (Heraeus), penangas Air, *freezer*, Spektrofotometer, mikroskop dan laminar Air Flow (Crumair 9005-FL)

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari 2003 sampai bulan Juni 2003 di Laboratorium Pengendalian Mutu Bagian Mikrobiologi, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.



3.3 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan untuk mengetahui konsentrasi homo-GalOS dan jenis hetero-GalOS yang memberikan pertumbuhan optimal pada bakteri probiotik (*Lactobacillus sp* dan *Streptococcus sp*). Penelitian pertama yang dilakukan adalah untuk mengetahui konsentrasi GalOS yang optimal dengan menggunakan 2 faktor dimana faktor pertama adalah spesies bakteri A1 = *Lactobacillus bulgaricus*, A2 = *Lactobacillus casei*, A3 = *Streptococcus thermophilus*, dan A4 = *Lactobacillus acidophilus* dan faktor kedua adalah konsentrasi GalOS yaitu B1 = 0%, B2 = 20%, B3 = 30%, B4 = 40% sehingga didapatkan kombinasi

A1B1	A1B2	A1B3	A1B4
A2B1	A2B2	A2B3	A2B4
A3B1	A3B2	A3B3	A3B4
A4B1	A4B2	A4B3	A4B4

Penelitian yang kedua adalah untuk mengetahui jenis hetero-GalOS yang paling optimal bagi pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* dengan jenis hetero-GalOS yaitu B1 = Galaktosil-Laktosa, B2 = Galaktosil-Glukosa, B3 = Galaktosil-Manosa, B4 = Galaktosil-Maltosa, B5 = Galaktosil-Sukrosa, dan B6 = Galaktosil-Trehalosa.

Data yang diperoleh diolah menggunakan metode deskriptif, dimana hasil penelitian disusun dan disajikan dalam bentuk tabel, dianalisa, dirata-rata dari seluruh ulangan. Kemudian disajikan dalam bentuk gambar untuk diinterpretasikan sesuai dengan hasil penelitian yang diperoleh (Suryabrata, 1985).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pemeliharaan Bakteri

Biakan murni dari bakteri yang digunakan dalam penelitian ini tersedia dalam bentuk kering (*lyophilized culture*) di dalam tabung kaca steril. Pada tabung tersebut harus dibuat lubang kecil atau dipatahkan sehingga memudahkan 1 ml MRS-Broth steril masuk ke dalamnya. Sebanyak 0,5 ml kultur murni tersebut dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml MRS-Broth untuk diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Selanjutnya sebanyak satu ose kultur

murni dari MRS-Broth ditanamkan pada MRS-agar tegak dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam untuk dijadikan kultur stok (*Stock culture*).

3.4.2 Persiapan Inokulum

Inokulum disiapkan dengan cara mengambil kultur bakteri pada agar tegak dengan menggunakan jarum ose, dan selanjutnya dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml MRS-Broth.

3.4.3 Fermentasi Bakteri Asam Laktat

Penelitian dilakukan dalam dua bagian yaitu penelitian pertama dan penelitian kedua. Penelitian pertama ditujukan untuk menentukan pengaruh penambahan seyawa galaktooligosakarida dengan substrat galaktosa (homo-GalOS) terhadap pola pertumbuhan beberapa bakteri asam laktat. Diharapkan dalam penelitian ini akan didapatkan variasi pola pertumbuhan, kecepatan pertumbuhan spesifik, dan waktu generasi dari bakteri asam laktat yang digunakan.

Pada penelitian pertama ini dilakukan pengujian pertumbuhan bakteri asam laktat menggunakan homo-galaktooligosakarida (homo-GalOS), konsentrasi homo-GalOS standar pembuatan yang digunakan adalah 40% dan bakteri asam laktat yang digunakan adalah *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus*. Media yang sudah mengandung homo-GalOS dan diinokulasi dengan biakan selanjutnya diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke – 2, 4, 6, 9, 18 dan 24.

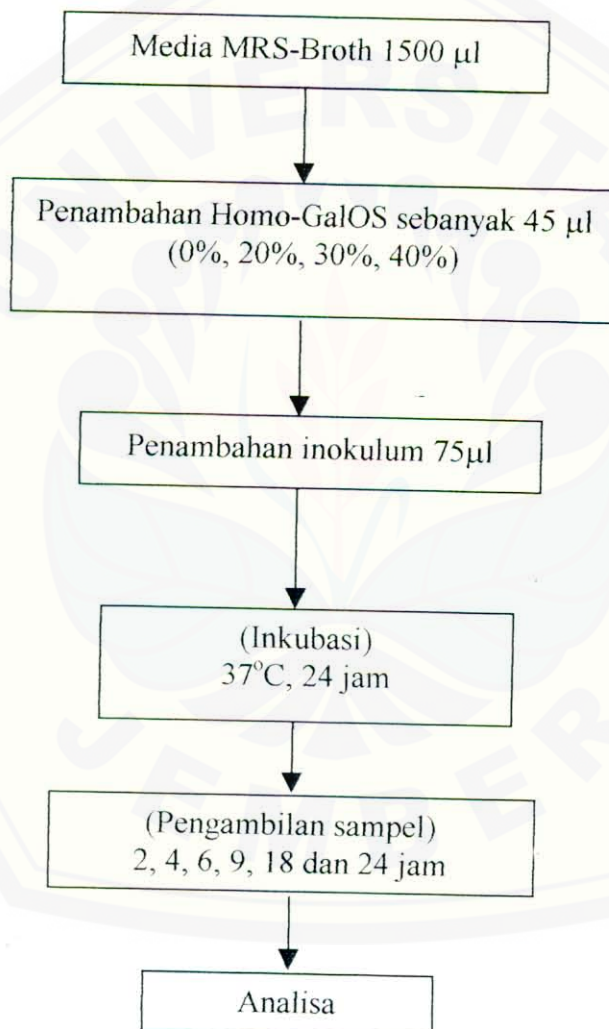
Pada penelitian kedua dilakukan pengujian pertumbuhan bakteri asam laktat dengan menggunakan hetero-galaktooligosakarida (hetero-GalOS) konsentrasi 40%, Rasio donor:aseptor 50%:50% dengan kombinasi gula donor galaktosa dan gula aseptor yaitu glukosa (galaktosil-glukosa), mannosa (galaktosil-mannosa), maltosa (galaktosil-maltosa), sukrosa (galaktosil-sukrosa) dan trehalosa (galaktosil-trehalosa) pada *Lactobacillus bulgaricus*. Media yang

sudah mengandung hetero-GalOS dan inokulum selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke 3 dan 24.

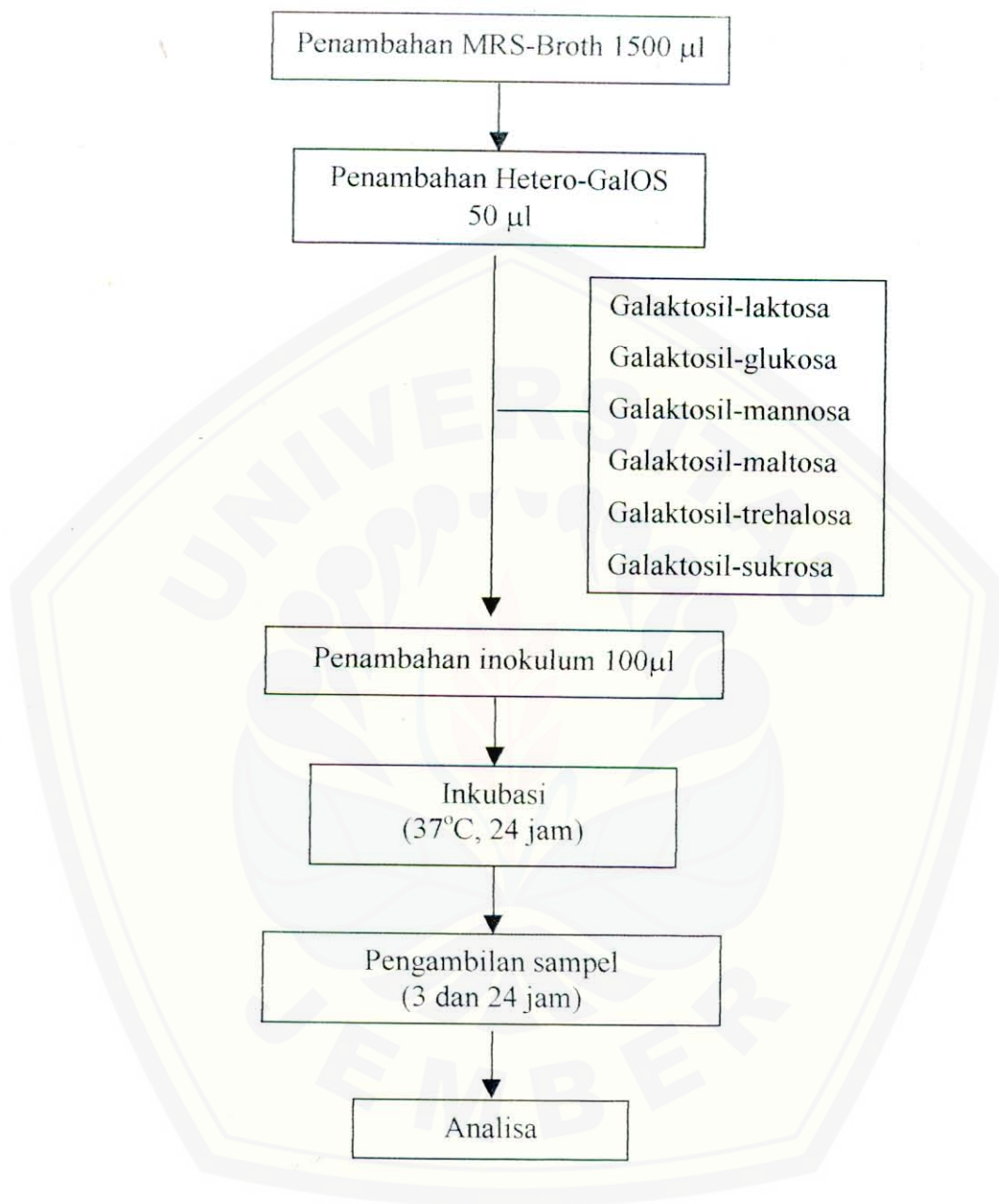
Hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan kurva kemudian dianalisa secara deskriptif.

3.4.4 Urutan Kerja

A. Tahap Pertama : Pengujian Homo-GalOS



Gambar 6. Diagram Alir Pengujian Homo-GalOS Terhadap Beberapa Bakteri Asam Laktat.

B. Tahap Kedua : Pengujian Hetero-GalOS

Gambar 7. Diagram Alir Pengujian Hetero-GalOS Terhadap Beberapa Bakteri Asam Laktat.

3.5 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan terhadap sampel meliputi : pH, total mikroba, dan kecepatan pertumbuhan spesifik atau *specific growth rate* (μ), dan waktu generasi atau *doubling time* (t_d).

3.6 Prosedur Analisa

Tahap-tahap analisa yang dilakukan pada sampel sebagai berikut :

1. Penghitungan total mikroba (metode kerapatan optik) (Anonim, 2001).

Metode ini menggunakan alat bantu spektrofotometer. Dasar tekniknya adalah banyaknya cahaya yang diabsorpsi ($OD = \text{optical density}$) sebanding dengan kerapatan (banyaknya) sel bakteri dalam suspensi.

Penentuan jumlah sel dengan OD memerlukan 2 tahap. Tahap pertama adalah spektrofotometer dikalibrasi sehingga mempunyai $OD = 0$ bila tidak ada sel ini dilakukan dengan memasukkan kuvet yang berisi larutan pengencer yang digunakan dalam perhitungan sel yaitu aquadest.

Karena nilai OD yang didapat tidak langsung menunjukkan jumlah sel maka dilakukan tahap kedua yaitu menyetarakan nilai OD dengan jumlah mikroba, dengan melakukan berbagai pengenceran sampel dan menghitung jumlah mikroba dengan langsung dibawah mikroskop (perbesaran 40×10 kali) dengan alat bantu *Haemocytometer*. Setelah diperoleh nilai OD berbagai pengenceran dan jumlah mikroba dibuat suatu kurva kalibrasi (kurva standard) dengan sumbu X sebagai jumlah sel hidup sumbu Y sebagai nilai OD.

Sehingga dari kurva standard tersebut dapat digunakan untuk menentukan jumlah sel hidup suatu suspensi/sampel.

2. Derajat keasaman (pH)

Analisa pH dilakukan dengan menggunakan alat pH-meter, adapun langkah-langkah yang dilakukan sebagai berikut :

- Kalibrasi pH meter dengan menggunakan buffer pH 7.
- Menuangkan sampel dari dalam tabung ependorf ke dalam tabung film.
- Mengukur pH sampel.

3. Pengukuran Optical Density (OD)/Absorbansi (Metode Kaplan, 2000).

Pengukuran absorbansi sampel dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer dengan langkah - langkah sebagai berikut :

- Mengencerkan sampel 1500 μl dengan 3 ml aquades kemudian digojok agar homogen.
- Kalibrasi spektrofotometer dengan menggunakan aquades sebagai blangko pada panjang gelombang 620 nm.
- Mengukur absorbansi sampel pada panjang gelombang 620 nm.

4. Menghitung Kecepatan Pertumbuhan Spesifik (Specific Growth Rate, μ)

Angka pertumbuhan spesifik dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\mu = \frac{\ln X_2 - \ln X_1}{\Delta t}$$

dimana :

X_1 = Total mikroba pada jam ke - 1

X_2 = Total mikroba pada jam ke - 2

Δt = Selisih waktu ($t_2 - t_1$)

5. Menghitung Waktu Generasi (Doubling Time, t_d)

Waktu generasi dihitung dengan menggunakan rumus :

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu}$$

dimana :

t_d = Waktu generasi

$\ln 2 = \ln (2X_1) - \ln (X_1) = 0.693$

μ = Kecepatan Pertumbuhan Spesifik

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat ditarik beberapa kesimpulan bahwa:

1. Penambahan GalOS (galaktooligosakarida) dapat memacu pertumbuhan dari *Lactobacillus sp* dan *Streptococcus sp*.
2. Pemakaian homo-GalOS konsentrasi 20% dapat meningkatkan total mikroba *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus termophilus* setelah 24 jam lebih tinggi dari pemakaian konsentrasi lain.
3. Pada pemakaian homo-GalOS kecepatan pertumbuhan spesifik tertinggi dan waktu generasi pada *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus termophilus* tercapai dengan substrat 40%.
4. Jenis hetero-GalOS yang dapat memacu pertumbuhan paling tinggi pada *Lactobacillus bulgaricus* yaitu pemakaian substrat Galaktosil-Glukosa.

5.2 Saran

Pengujian senyawa homo-GalOS maupun hetero-GalOS pada *Lactobacillus sp* dan *Streptococcus sp* telah dilakukan secara invitro di luar se/tubuh dengan hasil tersebut diatas dan diharapkan pengujian secara invivo untuk membuktikan apakah senyawa homo-GalOS dan hetero-GalOS memang dapat meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus sp* perlu dilakukan, mengingat GalOS termasuk mikroflora alami tubuh dan merupakan golongan prebiotik yang sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2001. **Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Pengolahan I**. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
- 2002. **Probiotik dan Prebiotik bagi Kesehatan**. [http:// www.kompas.com/kompas cetak/iptek_27 Januari 2002](http://www.kompas.com/kompas_cetak/iptek_27_Januari_2002). Jakarta: Kompas Cyber Media.
- Arafah, E. 2003. **Pangan Fungsional dan Oligosakarida: Pangan Fungsional dalam Perspektif Filsafah Ilmu**. [www. Hayati-ipb.com/users/rudyc](http://www.Hayati-ipb.com/users/rudyc).
- Astawan, M. 2003. **Pangan Fungsional untuk Kesehatan yang Optimal**. [http:// www.kompas.com/kompas cetak/ilpeng 22 Maret 2003](http://www.kompas.com/kompas_cetak/ilpeng_22_Maret_2003). Jakarta: Kompas Cyber Media
- Axelsson, L. 1998. **Lactic Acid bacteria: Classification and Physiology**. dalam Seppo Salminen (Ed) *Lactic acid Bacteria" Microbiology and Functional* " New York: Marcel Dekker.
- Dwek, R.A. 1996. **Glycobiologi: Toward Understanding The Function Of Sugar, Chemical Review**. 96, 683 – 720. dalam Sony Suwasono, *et al* "Sintesa Galakto-oligosakarida secara enzimatik dengan β -Galactosidase dari *Aspergillus oryzae*"
- Dwidjoseputro, D. 1994. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Jakarta: Penerbit Djambatan..
- El Khadem, H.S. 1988. **Carbohydrate Chemistry, Monosaccarides and Their Oligomers**. San Diego: Academic Press. dalam Sony Suwasono, *et al* "Sintesa Galakto-oligosakarida secara enzimatik dengan β -Galactosidase dari *Aspergillus oryzae*"
- Fardiaz, S. 1992. **Mikrobiologi Pangan I**. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Fuller R. 1991. **Probiotics in Human Medicine: Gut**. dalam Sudarmo dkk *Kontribusi Prebiotik Pada formula Untuk pemeliharaan Ekosistem Mikrobiota Normal pada Usus*. Surabaya: Laboratorium/SMF Kesehatan Anak RS. Dr. Soetomo/FK Unair.
- Gibson, GR. 1998. **Dietary Modulation of The Human Gut Microflora Using Prebiotics**. dalam Sudarmo dkk *Kontribusi Prebiotik Pada formula Untuk pemeliharaan Ekosistem Mikrobiota. Normal pada Usus*. Surabaya: Laboratorium/SMF Kesehatan Anak RS. Dr. Soetomo/FK Unair.

- Gibson, G.R dan Robertfroid, M. 1995. **Dietary Modulation of The Human Colonic Microbiota—Introducing The Concepts of Prebiotics.** J. Nur. 125. 1401 - 1412
- Gnoth, M.J. Kunz, C. Kinne-saffran, E. Rudlof, S. 2000. **Human Milk Oligosaccharides: Are Minimally Digested in Vitro ?.** dalam Sudarmo dkk *Kontribusi Prebiotik Pada formula Untuk pemeliharaan Ekosistem Mikrobiota Normal pada Usus.* Surabaya: Laboratorium/SMF Kesehatan Anak RS. Dr. Soetomo/FK Unair.
- Goldberg, I (Ed). 1999. **Functional Foods: Designer Food, Pharmafood, Nutraceutical.** Maryland USA. An Aspen Publication
- Grizard, D. Barthomeuf, C. 1999. **Non Digestible Oligosaccharides Used as Prebiotic Agents: Mode of Production and Beneficial Effects on Animal and Human Health.** dalam Sudarmo dkk *Kontribusi Prebiotik Pada formula Untuk pemeliharaan Ekosistem Mikrobiota Normal pada Usus.* Surabaya: Laboratorium/SMF Kesehatan Anak RS. Dr. Soetomo/FK Unair.
- Hartono, I. D. 2003. **Produksi Prebiotik Galaktooligosakarida oleh Enzim β -Galaktosidase dari Eschericia coli.** Jember: Universitas Jember.
- Head, R.J. 1995. **Approaches to Definition an Substantiation: First International Conferences on East-West Perspective on Functional Food.** Singapore. dalam Arafah. "*Pangan Fungsional dalam Perspektif Filsafat Ilmu*".
- Ito, M. Deghuci, Y. Miyamori, A. Matsumoto, K. Kikuchi, H. Kobayashi, Y. Yajima, T. Kan, T. 1990. **Effects of Administration of Galacto-oligosaccharides on The Human Faecal Microflora, Stool Weight and Abdominal Sensation,** Microbial, Ecol, Health Dis. 3:285-292 dalam Seppo Salminen (Ed) *Prebiotic Substrates and Lactic acid bacteria.* New York: Marcel Dekker Inc.
- Iwasaki, K., Nakajima, M., dan Nakao, S. 1996. **Galacto-Oligosaccharide Production from Lactose by an Enzymic Batch Reaction Using β -Galactosidase.** Process Biochemistry. dalam Sony Suwasono, *et al* "*Sintesa Galakto-oligosakarida secara enzimatik dengan β -Galactosidase dari Aspergillus oryzae*"
- Kaplan, H dan Hutkins, R.W. 2000. **Fermentation of Fructooligosaccharides Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria.** Dalam Applied and Environmental Microbiology. (Juni, 2000). P.2682-2684. American Society for Microbiology.

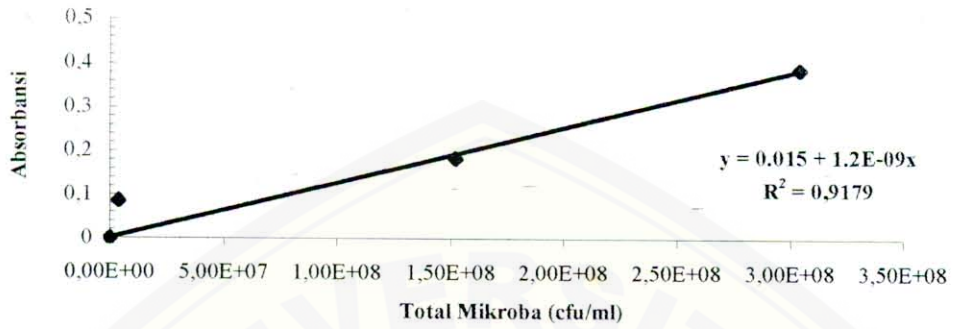
- McCracken VJ. Gaskin HR. 1999. **Probiotics and Immune System**. Horizon Scientific press. <http://horizonpress.com/hsp/pro.html> 16 nov 1999. dalam Sudarmo dkk *Kontribusi Prebiotik Pada formula Untuk pemeliharaan Ekosistem Mikrobiota Normal pada Usus*. Surabaya: Laboratorium/SMF Kesehatan Anak RS. Dr. Soetomo/FK Unair.
- Macfarlane and Cumming. 1999 . **Biomedical Journal**. “**Prebiotics and Probiotic : Can Regulating The Activities of Intestinal Bacteria Benefit Health?**”. <http://www.bmj.com/cgi/content/full>. Cambridge: Medical Research Council Dunn Clinical Nutrition Centre.
- Muctadi, D. 1996. **Makanan Fungsional: Pengendalian dan Perancangannya. Kursus Singkat Makanan Fungsional**. Yogyakarta: PATPI. 8-9 Juli 1996.
- Monsan, P. dan Paul, F. 1995. **Enzymatic Synthesis of Oligosaccharides by Glucoamylase in Reverse, Biotechnology Letters** 13, 501-504 dalam Imam Dwi Hartono. *Produksi Prebiotik Galaktooligosakarida oleh Enzim β -Galaktosidase dari Eschericia coli*. Jember: Universitas Jember.
- Nuraida, L. 1996. **Pelatihan Makanan Fungsional “Bifidobacteria dan Oligosakarida dalam Minuman dan Makanan Fungsional”**. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Ofek, I. Dan Sharon, N. 1990. **Adhesins as Lectins: Spesifity and Role in Infection Current Topics in Microbiology and Immunology**, 151, 91 - 113 dalam Sony Suwasono, *et al* “*Sintesa Galakto-oligosakarida secara enzimatik dengan β -Galactosidase dari Aspergillus oryzae*”
- Page, D.S. 1997. **Prinsip-prinsip Biokimia**. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Pazur, J.H. 1994. **Neutral Polisaccharides, In Carbohydrate Analysis, A Practical Approach, 2nd edition**. M.F. Champlin and J.F. Kennedy. Oxford University Press. pp. 73-124. dalam Sony Suwasono, *et al* “*Sintesa Galakto-oligosakarida secara enzimatik dengan β -Galactosidase dari Aspergillus oryzae*”
- Pelczar, M.J. and E.C.S. Chan. 1986. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Prangdimurti, E. 2003. **Prebiotik dan Efek Perlindungannya Terhadap Kanker Kolon**. Dalam Makalah Falsafah Sains. IPB: http://rudycet.Tripod.com/sem/endang_prangdimurti.
- Rastall, R.A. 2001. **Second Generation Prebiotics**. Division of Food Microbial Science. Reading, (<http://www.fst.rdg.ac.uk/prebiotics.htm>).

- Salminen, S. Deighton, M.A. Benno, Y., and Gorbach, S.L. 1998. **Lactic Acid Bacteria in Health and Disease**. dalam Sepo Salminen and Wright, A (Ed). *Lactid Acid Bacteria : Microbiology and Functional Aspects*. New York: Marcel Dekker.
- Sclegel, H.G. 1994. **Mikrobiologi Umum**. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sibuea, P. 2002. **Probiotik: Hidup Sehat Bersama Bakteri !**. [http:// www. Kompas.com/kesehatan/news](http://www.kompas.com/kesehatan/news) 23 April 2002 Jakarta: Kompas Cyber Media
- Silalahi, J. 2001. **Manfaat dan Khasiat Probiotik untuk Mencegah Penyakit**. [http:// www. Kompas.com/kompas cetak/ipitek](http://www.kompas.com/kompas_cetak/ipitek). Jakarta: Kompas Cyber Media
- Suriawiria, U. 1995. **Pengantar Mikrobiologi Umum**. Bandung: Penerbit Angkasa. Bandung.
- Suryabrata, S. 1985. **Metodologi Penelitian**. Jakarta: Rajawali Press.
- Suwasono, S, T. Utami, R. Indrati, ER. Ani. 2001. **Sintesa Galaktoligosakarida secara enzimatik dengan β -Galactosidase dari *Aspergillus Oryzae***. Dalam B. Widianarko (ed). *Mikrobiologi dan Bioteknologi Pangan* Himpunan Makalah Seminar Nasional Teknologi Pangan. Semarang: PATPI.
- Veld, H.J and Havenaar, R. 1991. **Probiotic and Health in Man and Animal, J. Chem. Technol**, 51: 562 – 577 dalam Hidayat *et al* Himpunan makalah Seminar Nasional Teknologi Pangan *Pengaruh jenis kultur dan Kondisi penyimpanan Terhadap Kualitas Permen Probiotik*. Semarang: PATPI
- Waspodo. I. S. 2001. **Efek Probiotik, Prebiotik dan Synbiotik bagi kesehatan**. [http:// www. Kompas.com./ipitek](http://www.kompas.com/ipitek) 30 April 2001. Jakarta: Kompas Cyber Media
- Wijaya, C.H. 1996. **Komponen Bioaktif: Kursus Singkat Makanan Fungsional**. Yogyakarta, 8-9 juli 1996.
- Winarno, F.G. 1995. **Enzim Pangan**. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Wirahadikusumah, M. 1989. **Biokimia Protein, Enzim dan Asam Nukleat** Bandung: Penerbit ITB.
- Zopf, D dan Roth, S. 1996. **Oligosaccharides: Anti-inveective Agents**. *The Lancet*, 347, 1017-1021.

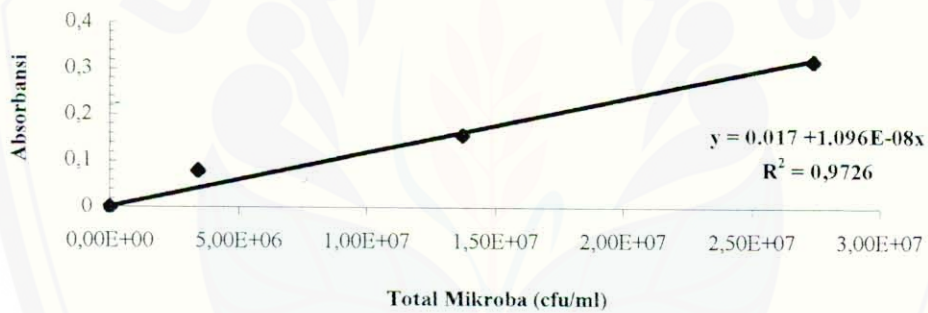
Lampiran 1.

Kurva Standar untuk Total Mikroba dan Absorbansi

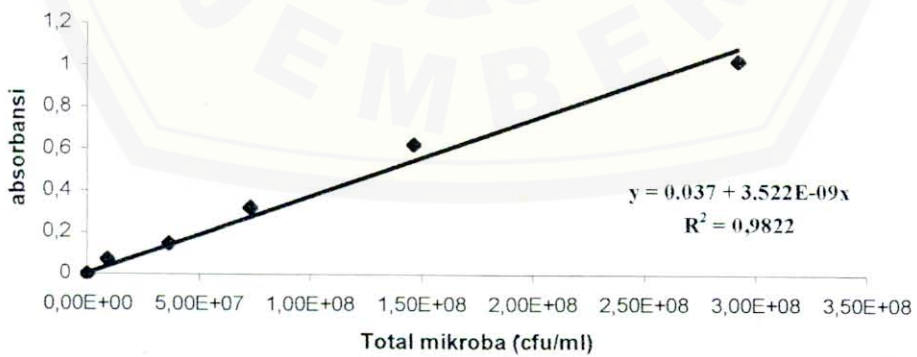
Kurva Standar *Lactobacillus bulgaricus*

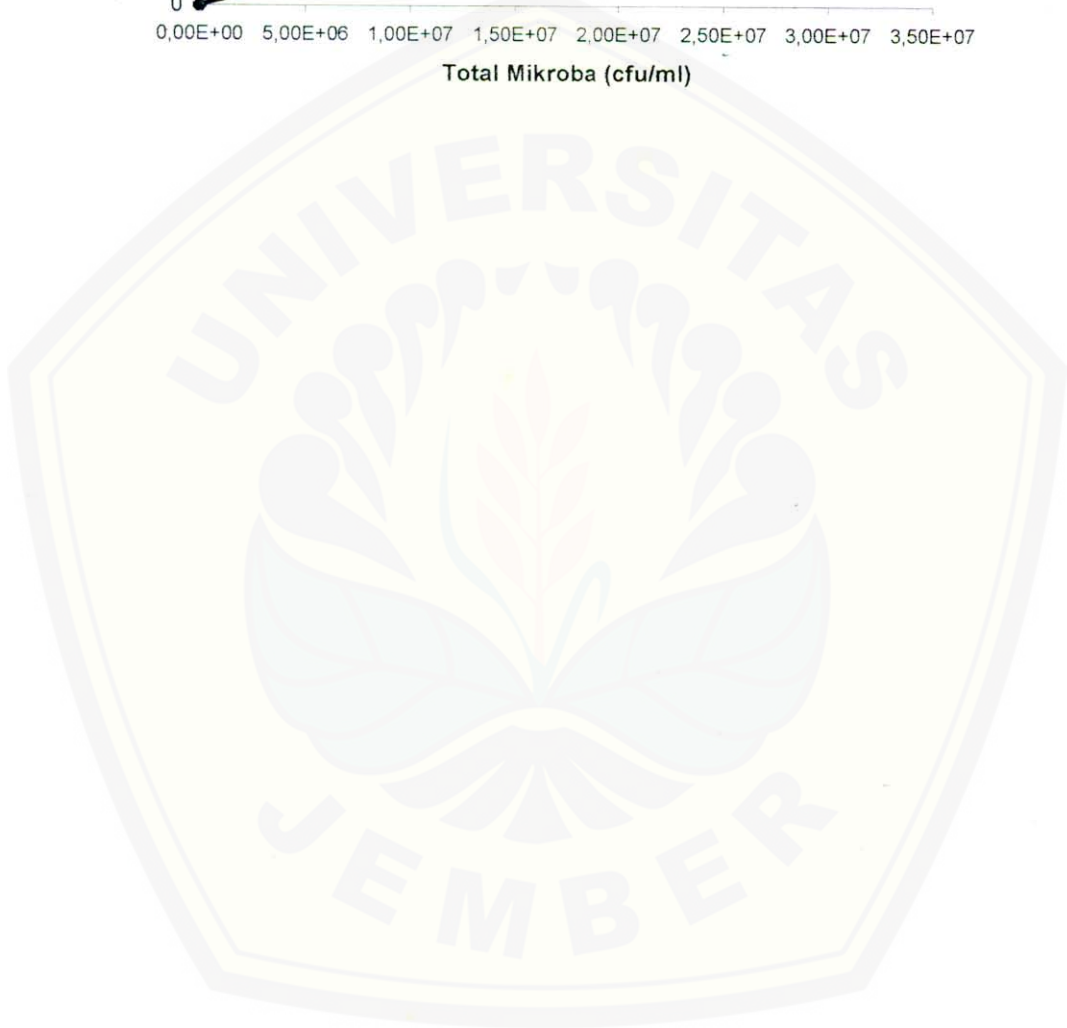
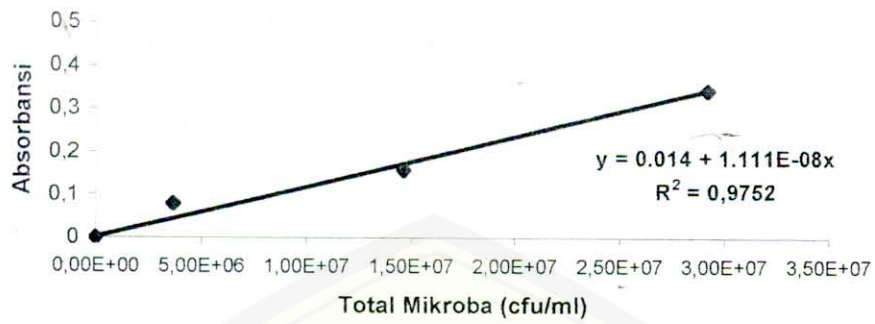


Kurva Standar *Lactobacillus casei*



Kurva Standar *Lactobacillus acidophilus*



Kurva Standar *Streptococcus termophilus*

Lampiran 2.

Hasil Pengamatan Pengujian Senyawa Homo-GalOS dalam Media MRS-Broth pada *Lactobacillus bulgaricus*.

GalOS (%)	Waktu (jam)	pH		Rata-rata		Absorbansi		Rata-rata		Total mikroba		Rata-rata total mikroba	Pertumbuhan
		1	2	pH	1	2	absorbansi	1	2				
0	0					0,010	0,010	0,010	1,00E+07	1,00E+07	1,00E+07	+	
	0,5	6,39	6,71	6,55	0,072	0,051	0,062	4,73E+07	3,00E+07	3,91E+07	++		
	1	6,32	6,54	6,43	0,133	0,092	0,113	9,71E+07	6,36E+07	8,12E+07	+++		
	1,5	6,28	6,44	6,36	0,191	0,132	0,163	1,45E+08	9,67E+07	1,22E+08	+++		
	2	6,25	6,37	6,31	0,247	0,171	0,211	1,92E+08	1,29E+08	1,62E+08	+++		
	4	6,32	6,19	6,26	0,576	0,417	0,497	4,64E+08	3,32E+08	3,98E+08	++++		
	6	6,06	6,03	6,05	0,627	0,597	0,612	5,06E+08	4,81E+08	4,93E+08	++++		
	9	5,97	6,14	6,06	0,897	0,651	0,774	7,29E+08	5,26E+08	6,27E+08	++++		
	18	6,00	5,96	5,98	0,750	0,687	0,719	6,07E+08	5,55E+08	5,81E+08	++++		
24	6,10	5,73	5,92	0,885	1,377	1,131	7,19E+08	1,13E+09	9,22E+08	++++			
20	0				0,010	0,010	0,010	1,00E+07	1,00E+07	1,00E+07	+		
	0,5	6,80	6,73	6,77	0,076	0,060	0,068	5,05E+07	3,74E+07	4,39E+07	++		
	1	6,57	6,53	6,55	0,140	0,109	0,125	1,03E+08	7,80E+07	9,06E+07	+++		
	1,5	6,45	6,41	6,43	0,201	0,157	0,179	1,54E+08	1,18E+08	1,36E+08	+++		
	2	6,36	6,33	6,34	0,260	0,193	0,226	2,03E+08	1,47E+08	1,74E+08	+++		
	4	6,26	6,21	6,24	0,507	0,495	0,501	4,07E+08	3,97E+08	4,02E+08	++++		
	6	6,06	6,04	6,05	0,561	0,558	0,560	4,51E+08	4,49E+08	4,50E+08	++++		
	9	5,92	6,02	5,97	0,816	0,627	0,722	6,62E+08	5,06E+08	5,84E+08	++++		
	18	5,61	5,64	5,63	0,936	1,020	0,978	7,61E+08	8,31E+08	7,96E+08	++++		
24	5,69	5,69	5,69	0,630	1,239	0,935	5,08E+08	1,01E+09	7,60E+08	++++			
30	0				0,010	0,010	0,010	1,00E+07	1,00E+07	1,00E+07	+		
	0,5	6,62	6,73	6,67	0,055	0,074	0,065	3,27E+07	4,91E+07	4,09E+07	++		
	1	6,47	6,52	6,49	0,098	0,137	0,117	6,85E+07	1,01E+08	8,46E+07	+++		
	1,5	6,38	6,40	6,39	0,140	0,197	0,169	1,03E+08	1,51E+08	1,27E+08	+++		
	2	6,32	6,32	6,32	0,181	0,256	0,218	1,37E+08	1,99E+08	1,68E+08	+++		
	4	6,25	6,19	6,22	0,486	0,495	0,491	3,89E+08	3,97E+08	3,93E+08	++++		
	6	6,06	6,01	6,04	0,501	0,612	0,557	4,02E+08	4,93E+08	4,48E+08	++++		
	9	6,00	5,93	5,97	0,537	0,915	0,726	4,31E+08	7,44E+08	5,88E+08	++++		
	18	5,98	5,66	5,82	0,561	0,936	0,749	4,51E+08	7,61E+08	6,06E+08	++++		
24	5,72	5,67	5,70	0,798	0,903	0,851	6,47E+08	7,34E+08	6,90E+08	++++			
40	0				0,010	0,010	0,010	1,00E+07	1,00E+07	1,00E+07	+		
	0,5	6,72	6,76	6,74	0,079	0,057	0,068	5,30E+07	3,51E+07	4,40E+07	++		
	1	6,51	6,54	6,53	0,146	0,104	0,125	1,08E+08	7,33E+07	9,07E+07	+++		
	1,5	6,40	6,41	6,41	0,210	0,149	0,179	1,61E+08	1,11E+08	1,36E+08	+++		
	2	6,31	6,33	6,32	0,272	0,204	0,238	2,12E+08	1,56E+08	1,84E+08	+++		
	4	6,26	6,15	6,21	0,507	0,480	0,494	4,07E+08	3,84E+08	3,95E+08	++++		
	6	5,99	6,03	6,01	0,564	0,513	0,539	4,54E+08	4,12E+08	4,33E+08	++++		
	9	5,85	6,01	5,93	0,933	0,468	0,701	7,59E+08	3,74E+08	5,67E+08	++++		
	18	5,64	5,57	5,61	0,921	0,975	0,948	7,49E+08	7,93E+08	7,71E+08	++++		
24	5,71	5,63	5,67	0,609	0,954	0,782	4,91E+08	7,76E+08	6,33E+08	++++			
50	0				0,010	0,010	0,010	1,00E+07	1,00E+07	1,00E+07	+		
	0,5	6,50	6,75	6,62	0,061	0,070	0,066	3,83E+07	4,57E+07	4,20E+07	++		
	1	6,38	6,53	6,45	0,111	0,129	0,120	7,93E+07	9,40E+07	8,66E+07	+++		
	1,5	6,31	6,41	6,36	0,159	0,185	0,172	1,19E+08	1,41E+08	1,30E+08	+++		
	2	6,26	6,32	6,29	0,205	0,239	0,222	1,57E+08	1,85E+08	1,71E+08	+++		
	4	6,21	6,15	6,18	0,516	0,546	0,531	4,14E+08	4,39E+08	4,26E+08	++++		
	6	6,02	6,03	6,03	0,477	0,531	0,504	3,82E+08	4,26E+08	4,04E+08	++++		
	9	6,00	6,01	6,01	0,591	0,675	0,633	4,76E+08	5,45E+08	5,11E+08	++++		
	18	5,94	5,62	5,78	0,693	0,984	0,839	5,60E+08	8,01E+08	6,81E+08	++++		
24	5,80	5,60	5,70	0,609	0,636	0,623	4,91E+08	5,13E+08	5,02E+08	++++			

Lampiran 3.

Hasil Pengamatan Pengujian Senyawa Homo-GalOS dalam Media MRS-Broth pada *Lactobacillus casei*.

GalOS (%)	Waktu (jam)	pH		Rata-rata		Absorbansi		Rata-rata		Total mikroba		Pertumbuhan
		1	2	pH	1	2	Absorbansi	1	2	Total mikroba		
0	0	0,00	0,00	0,00	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+	
	0,5	6,23	6,97	6,59	0,056	0,054	0,055	3,53E+06	3,35E+06	3,44E+06	++	
	1	6,21	6,78	6,49	0,100	0,096	0,098	7,55E+06	7,21E+06	7,38E+06	+++	
	1,5	6,20	6,67	6,43	0,142	0,137	0,140	1,14E+07	1,09E+07	1,12E+07	+++	
	2	6,19	6,59	6,39	0,183	0,176	0,180	1,52E+07	1,45E+07	1,49E+07	+++	
	4	6,18	6,45	6,32	0,567	0,459	0,513	5,02E+07	4,03E+07	4,53E+07	++++	
	6	6,11	6,41	6,26	0,492	0,525	0,509	4,33E+07	4,64E+07	4,48E+07	++++	
	9	6,06	6,33	6,20	0,537	0,495	0,516	4,74E+07	4,36E+07	4,55E+07	++++	
	18	6,31	5,74	6,03	0,402	0,516	0,459	3,51E+07	4,55E+07	4,03E+07	++++	
24	6,02	6,08	6,05	0,567	0,621	0,594	5,02E+07	5,51E+07	5,26E+07	++++		
20	0	0,00	0,00	0,00	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+	
	0,5	6,72	6,91	6,81	0,068	0,054	0,061	4,63E+06	3,37E+06	4,00E+06	++	
	1	6,50	6,69	6,60	0,124	0,097	0,111	9,80E+06	7,27E+06	8,53E+06	+++	
	1,5	6,38	6,57	6,47	0,180	0,138	0,159	1,49E+07	1,11E+07	1,30E+07	+++	
	2	6,30	6,48	6,39	0,185	0,179	0,182	1,53E+07	1,48E+07	1,51E+07	+++	
	4	6,10	6,40	6,25	0,606	0,495	0,551	5,37E+07	4,36E+07	4,87E+07	++++	
	6	6,14	6,45	6,30	0,501	0,489	0,495	4,42E+07	4,31E+07	4,36E+07	++++	
	9	6,06	6,25	6,16	0,777	0,714	0,746	6,93E+07	6,36E+07	6,65E+07	++++	
	18	5,67	5,67	5,67	1,503	0,513	1,008	1,36E+08	4,53E+07	9,04E+07	++++	
24	5,47	5,64	5,56	1,566	1,071	1,319	1,41E+08	9,62E+07	1,19E+08	++++		
30	0	0,00	0,00	0,00	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+	
	0,5	6,63	7,20	6,91	0,059	0,060	0,060	3,83E+06	3,93E+06	3,88E+06	++	
	1	6,44	6,91	6,67	0,107	0,108	0,108	8,18E+06	8,34E+06	8,26E+06	+++	
	1,5	6,33	6,75	6,54	0,153	0,155	0,154	1,24E+07	1,26E+07	1,25E+07	+++	
	2	6,25	6,63	6,44	0,198	0,200	0,199	1,65E+07	1,67E+07	1,66E+07	+++	
	4	6,09	6,42	6,26	0,432	0,480	0,456	3,79E+07	4,22E+07	4,01E+07	++++	
	6	6,12	6,39	6,26	0,489	0,369	0,429	4,31E+07	3,21E+07	3,76E+07	++++	
	9	6,00	6,24	6,12	0,609	0,594	0,602	5,40E+07	5,26E+07	5,33E+07	++++	
	18	5,61	5,79	5,70	0,861	0,726	0,794	7,70E+07	6,47E+07	7,08E+07	++++	
24	5,55	5,55	5,55	0,861	0,486	0,674	7,70E+07	4,28E+07	5,99E+07	++++		
40	0	0,00	0,00	0,00	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+	
	0,5	6,53	7,13	6,83	0,055	0,062	0,058	3,49E+06	4,07E+06	3,78E+06	++	
	1	6,38	6,86	6,62	0,100	0,112	0,106	7,54E+06	8,64E+06	8,08E+06	+++	
	1,5	6,29	6,71	6,50	0,143	0,160	0,152	1,15E+07	1,31E+07	1,23E+07	+++	
	2	6,23	6,60	6,41	0,235	0,207	0,221	1,99E+07	1,74E+07	1,86E+07	+++	
	4	6,06	6,36	6,21	0,414	0,435	0,425	3,62E+07	3,81E+07	3,72E+07	++++	
	6	6,13	6,37	6,25	0,495	0,549	0,522	4,36E+07	4,85E+07	4,61E+07	++++	
	9	6,08	6,27	6,18	0,498	0,489	0,494	4,39E+07	4,31E+07	4,35E+07	++++	
	18	5,72	5,69	5,71	1,107	0,993	1,050	9,95E+07	8,91E+07	9,43E+07	++++	
24	5,61	5,72	5,67	1,116	0,681	0,899	1,00E+08	6,06E+07	8,04E+07	++++		
50	0	0,00	0,00	0,00	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+	
	0,5	6,63	7,07	6,85	0,064	0,061	0,063	4,33E+06	4,00E+06	4,16E+06	++	
	1	6,44	6,83	6,63	0,118	0,110	0,114	9,17E+06	8,49E+06	8,82E+06	+++	
	1,5	6,33	6,69	6,51	0,169	0,157	0,163	1,39E+07	1,28E+07	1,33E+07	+++	
	2	6,25	6,59	6,42	0,220	0,203	0,211	1,85E+07	1,70E+07	1,77E+07	+++	
	4	6,07	6,36	6,22	0,534	0,486	0,510	4,72E+07	4,28E+07	4,50E+07	++++	
	6	6,10	6,38	6,24	0,672	0,369	0,521	5,98E+07	3,21E+07	4,59E+07	++++	
	9	6,06	6,25	6,16	0,627	0,573	0,600	5,57E+07	5,07E+07	5,32E+07	++++	
	18	5,68	5,84	5,76	0,981	0,726	0,854	8,80E+07	6,47E+07	7,63E+07	++++	
24	5,48	5,69	5,59	1,160	0,492	0,840	1,07E+08	4,33E+07	7,51E+07	++++		

Lampiran 4.

Hasil Pengamatan Pengujian Senyawa Homo-GalOS dalam Media MRS-Broth pada *Lactobacillus acidophilus*.

GalOS (%)	Waktu (jam)	pH			Rata-rata pH			Absorbansi			Rata-rata absorbansi			Total mikroba			Rata-rata TM	Pertumbuhan
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3		
0	0						0,010	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+		
	0,5	6,49	6,79	5,99	6,42	0,070	0,077	0,058	0,068	9,42E+06	1,13E+07	5,88E+06	8,87E+06	++				
	1	6,44	6,62	5,98	6,35	0,129	0,142	0,104	0,125	2,60E+07	2,97E+07	1,91E+07	2,49E+07	+++				
	1,5	6,41	6,53	5,98	6,30	0,185	0,204	0,149	0,179	4,20E+07	4,74E+07	3,18E+07	4,04E+07	+++				
	2	6,39	6,47	5,97	6,27	0,240	0,182	0,171	0,198	5,75E+07	4,12E+07	3,80E+07	4,57E+07	+++				
	4	6,31	6,29	5,95	6,18	0,495	0,792	0,498	0,595	1,30E+08	2,14E+08	1,31E+08	1,58E+08	++++				
	6	6,30	6,26	6,00	6,19	0,723	0,594	0,489	0,602	1,95E+08	1,58E+08	1,28E+08	1,60E+08	++++				
	9	6,30	6,29	5,96	6,18	0,756	0,672	0,504	0,644	2,04E+08	1,80E+08	1,33E+08	1,72E+08	++++				
	18	6,24	5,95	5,95	6,05	0,831	0,984	0,675	0,830	2,25E+08	2,69E+08	1,81E+08	2,25E+08	++++				
24	6,19	5,86	5,93	5,99	0,903	0,831	0,888	0,874	2,46E+08	2,25E+08	2,42E+08	2,38E+08	++++					
20	0					0,010	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+				
	0,5	6,48	6,73	6,05	6,41	0,064	0,055	0,062	0,060	7,74E+06	4,98E+06	7,14E+06	6,62E+06	++				
	1	6,42	6,57	6,02	6,34	0,117	0,098	0,113	0,109	2,27E+07	1,73E+07	2,16E+07	2,05E+07	+++				
	1,5	6,39	6,48	6,01	6,29	0,168	0,141	0,162	0,157	3,73E+07	2,94E+07	3,56E+07	3,41E+07	+++				
	2	6,37	6,42	6,00	6,26	0,218	0,187	0,210	0,205	5,15E+07	4,26E+07	4,92E+07	4,77E+07	+++				
	4	6,33	6,27	5,97	6,19	0,504	0,492	0,534	0,510	1,33E+08	1,29E+08	1,41E+08	1,34E+08	++++				
	6	6,32	6,27	5,98	6,19	0,480	0,516	0,528	0,508	1,26E+08	1,36E+08	1,39E+08	1,34E+08	++++				
	9	6,28	6,26	5,97	6,17	0,843	0,402	0,510	0,585	2,29E+08	1,04E+08	1,34E+08	1,56E+08	++++				
	18	6,21	5,92	5,94	6,02	0,861	0,969	1,053	0,961	2,34E+08	2,65E+08	2,88E+08	2,62E+08	++++				
24	6,14	5,80	5,88	5,94	1,071	1,056	0,909	1,012	2,94E+08	2,89E+08	2,48E+08	2,77E+08	++++					
30	0					0,010	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+				
	0,5	6,52	6,76	6,06	6,44	0,058	0,056	0,054	0,056	5,89E+06	5,46E+06	4,80E+06	5,38E+06	++				
	1	6,45	6,59	6,02	6,35	0,104	0,101	0,097	0,101	1,91E+07	1,82E+07	1,70E+07	1,81E+07	+++				
	1,5	6,41	6,50	6,01	6,30	0,150	0,145	0,138	0,144	3,21E+07	3,06E+07	2,88E+07	3,05E+07	+++				
	2	6,38	6,43	5,99	6,27	0,194	0,209	0,179	0,194	4,47E+07	4,88E+07	4,03E+07	4,46E+07	+++				
	4	6,32	6,27	5,96	6,18	0,498	0,621	0,462	0,527	1,31E+08	1,66E+08	1,21E+08	1,39E+08	++++				
	6	6,30	6,28	5,97	6,18	0,660	0,417	0,405	0,494	1,77E+08	1,08E+08	1,04E+08	1,30E+08	++++				
	9	6,29	6,26	5,98	6,18	0,483	0,387	0,552	0,474	1,27E+08	9,94E+07	1,46E+08	1,24E+08	++++				
	18	6,17	5,89	5,93	6,00	0,975	0,834	0,813	0,874	2,66E+08	2,26E+08	2,20E+08	2,38E+08	++++				
24	6,10	5,80	5,82	5,91	1,066	0,918	0,702	0,902	2,98E+08	2,50E+08	1,89E+08	2,46E+08	++++					
40	0					0,010	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+				
	0,5	6,42	6,72	6,04	6,39	0,057	0,062	0,052	0,057	5,59E+06	7,20E+06	4,27E+06	5,68E+06	++				
	1	6,38	6,57	6,01	6,32	0,102	0,113	0,093	0,103	1,85E+07	2,16E+07	1,58E+07	1,86E+07	+++				
	1,5	6,35	6,48	6,00	6,28	0,146	0,162	0,132	0,147	3,10E+07	3,55E+07	2,71E+07	3,12E+07	+++				
	2	6,34	6,41	5,99	6,25	0,189	0,264	0,193	0,215	4,32E+07	6,45E+07	4,43E+07	5,05E+07	+++				
	4	6,30	6,26	5,96	6,17	0,480	0,549	0,423	0,484	1,26E+08	1,45E+08	1,10E+08	1,27E+08	++++				
	6	6,29	6,29	5,99	6,19	0,690	0,552	0,423	0,555	1,85E+08	1,46E+08	1,10E+08	1,47E+08	++++				
	9	6,29	6,28	5,96	6,18	0,438	0,468	0,459	0,455	1,14E+08	1,22E+08	1,20E+08	1,19E+08	++++				
	18	6,22	5,88	5,94	6,01	0,756	0,798	0,693	0,749	2,04E+08	2,16E+08	1,86E+08	2,02E+08	++++				
24	6,13	5,81	5,87	5,94	0,909	0,675	0,676	0,754	2,48E+08	1,81E+08	1,82E+08	2,04E+08	++++					

Lampiran 5.

Hasil Pengamatan Pengujian Senyawa Homo-GalOS dalam Media MRS-Broth pada *Streptococcus thermophilus*

GalOS (%)	Waktu (jam)	pH			Rata-rata pH	Absorbansi			Rata-rata absorbansi	Total mikroba			Rata-rata TM	Pertumbuhan
		1	2	3		1	2	3		1	2	3		
0	0				0,00	0,010	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+
	0,5	6,42	6,49	6,35	6,42	0,059	0,055	0,055	0,056	4,04E+06	3,72E+06	3,70E+06	3,82E+06	++
	1	6,27	6,33	6,24	6,28	0,106	0,099	0,099	0,102	8,29E+06	7,68E+06	7,66E+06	7,88E+06	+++
	1,5	6,18	6,24	6,17	6,19	0,152	0,142	0,142	0,145	1,24E+07	1,15E+07	1,15E+07	1,18E+07	+++
	2	6,11	6,17	6,12	6,14	0,154	0,183	0,183	0,173	1,26E+07	1,52E+07	1,52E+07	1,43E+07	+++
	4	5,96	5,96	5,99	5,97	0,406	0,336	0,429	0,390	3,52E+07	2,90E+07	3,74E+07	3,38E+07	++++
	6	5,91	5,92	6,13	5,99	0,561	0,537	0,480	0,526	4,92E+07	4,71E+07	4,19E+07	4,61E+07	++++
	9	5,85	5,87	5,87	5,86	0,459	0,585	0,528	0,524	4,01E+07	5,14E+07	4,63E+07	4,59E+07	++++
	18	5,64	5,78	5,82	5,75	0,765	0,651	0,864	0,760	6,78E+07	5,73E+07	7,66E+07	6,71E+07	++++
24	5,55	5,55	5,62	5,57	0,519	0,642	0,840	0,667	4,55E+07	5,65E+07	7,43E+07	5,88E+07	++++	
20	0				0,00	0,010	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+
	0,5	6,41	6,47	6,44	6,44	0,057	0,053	0,055	0,055	3,83E+06	3,50E+06	3,71E+06	3,68E+06	++
	1	6,25	6,30	6,28	6,28	0,102	0,095	0,099	0,099	7,89E+06	7,25E+06	7,69E+06	7,61E+06	+++
	1,5	6,16	6,20	6,19	6,18	0,145	0,135	0,142	0,141	1,18E+07	1,09E+07	1,16E+07	1,14E+07	+++
	2	6,09	6,13	6,13	6,12	0,161	0,174	0,184	0,173	1,32E+07	1,44E+07	1,53E+07	1,43E+07	+++
	4	5,96	5,96	6,01	5,98	0,378	0,360	0,411	0,383	3,28E+07	3,11E+07	3,57E+07	3,32E+07	++++
	6	5,91	5,95	5,92	5,93	0,549	0,558	0,462	0,523	4,82E+07	4,90E+07	4,00E+07	4,58E+07	++++
	9	5,82	5,84	5,85	5,84	0,600	0,570	0,630	0,600	5,27E+07	5,00E+07	5,54E+07	5,27E+07	++++
	18	5,59	5,62	5,66	5,62	0,564	0,606	0,873	0,681	4,95E+07	5,33E+07	7,73E+07	6,00E+07	++++
24	5,53	5,49	5,54	5,52	0,726	0,810	1,017	0,851	6,41E+07	7,16E+07	9,03E+07	7,53E+07	++++	
30	0				0,00	0,010	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+
	0,5	6,42	6,46	6,50	6,46	0,048	0,057	0,057	0,054	3,02E+06	3,90E+06	3,83E+06	3,58E+06	++
	1	6,25	6,28	6,32	6,29	0,084	0,103	0,102	0,096	6,32E+06	8,04E+06	7,89E+06	7,41E+06	+++
	1,5	6,15	6,18	6,22	6,19	0,120	0,148	0,146	0,138	9,52E+06	1,21E+07	1,18E+07	1,11E+07	+++
	2	6,08	6,11	6,15	6,12	0,188	0,191	0,172	0,184	1,57E+07	1,59E+07	1,42E+07	1,53E+07	+++
	4	5,95	5,99	6,00	5,98	0,375	0,450	0,408	0,411	3,25E+07	3,92E+07	3,55E+07	3,57E+07	++++
	6	5,88	5,91	5,99	5,93	0,501	0,564	0,576	0,547	4,38E+07	4,95E+07	5,09E+07	4,80E+07	++++
	9	5,78	5,84	5,85	5,82	0,438	0,585	0,570	0,531	3,82E+07	5,14E+07	5,00E+07	4,66E+07	++++
	18	5,53	5,61	5,59	5,58	0,561	0,702	0,729	0,664	4,92E+07	6,19E+07	6,44E+07	5,85E+07	++++
24	5,51	5,46	5,51	5,49	0,768	0,813	0,834	0,805	6,79E+07	7,19E+07	7,38E+07	7,12E+07	++++	
40	0				0,00	0,010	0,010	0,010	0,010	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	1,00E+06	+
	0,5	6,31	6,33	6,31	6,25	0,050	0,057	0,053	0,053	3,21E+06	3,86E+06	3,47E+06	3,51E+06	++
	1	6,18	6,19	6,19	6,18	0,088	0,102	0,094	0,095	6,66E+06	7,94E+06	7,18E+06	7,25E+06	+++
	1,5	6,10	6,11	6,12	6,14	0,125	0,146	0,134	0,135	1,00E+07	1,19E+07	1,08E+07	1,09E+07	+++
	2	6,05	6,05	6,07	6,12	0,196	0,188	0,188	0,190	1,64E+07	1,57E+07	1,57E+07	1,58E+07	+++
	4	5,96	5,92	6,00	5,96	0,459	0,465	0,411	0,445	4,01E+07	4,06E+07	3,57E+07	3,88E+07	++++
	6	5,88	5,94	5,92	5,91	0,471	0,543	0,423	0,479	4,11E+07	4,78E+07	3,68E+07	4,19E+07	++++
	9	5,83	5,80	5,87	5,83	0,471	0,504	0,546	0,507	4,11E+07	4,41E+07	4,79E+07	4,44E+07	++++
	18	5,61	5,62	5,70	5,64	0,414	0,528	0,600	0,514	3,60E+07	4,63E+07	5,27E+07	4,50E+07	++++
24	5,58	5,54	5,64	5,59	0,642	0,552	0,636	0,610	5,65E+07	4,84E+07	5,60E+07	5,36E+07	++++	

Lampiran 6. Data Pengamatan Pengujian Hetero-GalOS Pada *Lactobacillus bulgaricus*

Jenis GalOS	waktu inkubasi 3 jam															
	pertumbuhan			pH			OD (absorbansi)			total mikroba						
	1	2	3	rata-rata	1	2	3	rata-rata	1	2	3	rata-rata				
1. Galaktosil - Laktosa	+	+	+	+	5.57	5.62	5.57	5.59	0.654	0.651	0.606	0.637	5.28E+08	5.26E+08	4.88E+08	5.14E+08
2. Galaktosil - Glukosa	+	+	+	+	5.51	5.59	5.56	5.55	1.116	1.254	0.789	1.053	9.10E+08	1.02E+09	6.40E+08	8.58E+08
3. Galaktosil - Manosa	+	+	+	+	5.44	5.43	5.48	5.45	1.695	1.602	1.512	1.603	1.39E+09	1.31E+09	1.24E+09	1.31E+09
4. Galaktosil - Maltosa	+	+	+	+	5.54	5.54	5.48	5.52	1.560	1.446	1.761	1.589	1.28E+09	1.18E+09	1.44E+09	1.30E+09
5. Galaktosil - Sukrosa	+	+	+	+	5.52	5.45	5.44	5.47	1.371	1.278	1.320	1.323	1.12E+09	1.04E+09	1.08E+09	1.08E+09
6. Galaktosil - Trehalosa	+	+	+	+	5.36	5.40	5.37	5.38	0.768	0.879	1.908	1.185	6.22E+08	7.14E+08	1.56E+09	9.67E+08

Jenis GalOS	waktu inkubasi 24 jam															
	pertumbuhan			pH			OD (absorbansi)			total mikroba						
	1	2	3	rata-rata	1	2	3	rata-rata	1	2	3	rata-rata				
1. Galaktosil - Laktosa	+	+	+	+	5.55	5.59	5.63	5.59	0.846	0.786	0.852	0.828	6.87E+08	6.37E+08	6.92E+08	6.72E+08
2. Galaktosil - Glukosa	++	++	++	++	4.98	5.00	4.88	4.95	2.112	2.460	1.881	2.151	1.73E+09	2.02E+09	1.54E+09	1.77E+09
3. Galaktosil - Manosa	+	+	+	+	5.31	5.38	5.27	5.32	1.833	1.935	2.196	1.988	1.50E+09	1.59E+09	1.80E+09	1.63E+09
4. Galaktosil - Maltosa	+	+	+	+	5.61	5.82	5.54	5.66	2.028	2.316	2.280	2.208	1.66E+09	1.90E+09	1.87E+09	1.81E+09
5. Galaktosil - Sukrosa	++	++	++	++	5.38	5.58	5.24	5.40	2.532	2.538	2.442	2.504	2.08E+09	2.09E+09	2.01E+09	2.06E+09
6. Galaktosil - Trehalosa	+++	+++	+	++	5.61	5.53	5.54	5.56	2.019	2.688	2.028	2.245	1.66E+09	2.21E+09	1.66E+09	1.84E+09

