

# Optimasi peningkatan asam gamma-aminobutirat (gaba) susu fermentasi kacang gude (*Cajanus cajan* (L) Mill.sp) menggunakan probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* Dad-13 sebagai minuman kesehatan

*Optimisation of gamma-aminobutyric acid (GABA) in fermented pigeon pea (*Cajanus cajan* (L) Mill.sp) milk using probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* Dad-13 as healthy drink*

SAGO: Gizi dan Kesehatan  
2024, Vol. 5(3b) 949-957  
© The Author(s) 2024



DOI: <http://dx.doi.org/10.30867/gikes.v5i3b.1817>  
<https://ejournal.poltekkesaceh.ac.id/index.php/gikes>



Poltekkes Kemenkes Aceh

Ni Luh Suryani<sup>1</sup>, Ni Wayan Nursini<sup>2</sup>, I Gusti Ayu Wita Kusumawati<sup>3</sup>,  
Ida Bagus Agung Yogeswara<sup>4\*</sup>

## Abstract

**Background:** Pigeon pea (*Cajanus cajan*) is a type of legumes that is underutilized and not widely consumed. The utilization of pigeon pea as GABA-fermented drink have not yet been conducted. The Enhancement of GABA in pigeon pea is carried out by probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* Dad-13. The enhancement of GABA in fermented pigeon pea drink will improve their functional effect and economic value.

**Objectives:** the aim of this study was to enhanced GABA content in fermented pigeon pea drink with various concentration of monosodium glutamate (MSG) using probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* Dad-13.

**Methods:** Randomized complete design was carried out in this study using experimental analysis. GABA content was determined using UPLC, total LAB was determined using spread plate method. Titration method was performed to determine the acidity and pH meter to determine the pH. Antioxidant capacity was determined using DPPH method

**Results:** The study showed a significant increase in GABA production, with the highest concentration reaching 92.07 mg/L in the treatment with 0.75% MSG. Additionally, there was an increase in the total count of lactic acid bacteria, total acidity, and antioxidant capacity, indicating an improvement in the physicochemical quality of the product. Organoleptic evaluation revealed panelists' preference for products with the addition of 0.25% and 0.75% MSG for taste, and 0% for texture.

**Conclusion:** Fermentation of pigeon pea milk with the addition of *Lactiplantibacillus plantarum* Dad 13 and MSG successfully increased GABA production significantly, while also improving several aspects of the physicochemical and sensory quality of the product. These findings have important implications for the development of fermented pigeon pea milk as a new functional product enriched with GABA.

## Keywords :

GABA, fermented milk, pigeon pea, *Lactiplantibacillus plantarum* Dad 13, MSG.

## Abstrak

**Latar Belakang:** Kacang gude (*Cajanus cajan*) adalah jenis kacang-kacangan yang belum dimanfaatkan secara optimal oleh masyarakat. Pemanfaatan kacang gude menjadi minuman fermentasi tinggi GABA belum banyak dilakukan. Peningkatan kadar GABA pada kacang gude menggunakan strain probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* Dad-13. Peningkatan kadar GABA pada minuman fermentasi kacang gude akan meningkatkan efek fungsional dan nilai ekonomis dari produk tersebut.

**Tujuan:** Tujuan penelitian ini adalah melakukan peningkatan GABA melalui berbagai konsentrasi monosodium glutamat pada susu gude menggunakan probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* Dad-13.

<sup>1</sup> Program Studi Ilmu Gizi, Universitas Dhyana Pura, Tegal Jaya, Kuta Utara, Bali, Indonesia. E-mail: [suryani170495@gmail.com](mailto:suryani170495@gmail.com)

<sup>2</sup> Program Studi Ilmu Gizi, Universitas Dhyana Pura, Tegal Jaya, Kuta Utara, Bali, Indonesia. E-mail: [nursini@undhirabali.ac.id](mailto:nursini@undhirabali.ac.id)

<sup>3</sup> Program Studi Ilmu Gizi, Universitas Dhyana Pura, Tegal Jaya, Kuta Utara, Bali, Indonesia. E-mail: [witakusumawati@undhirabali.ac.id](mailto:witakusumawati@undhirabali.ac.id)

<sup>4</sup> Program Studi Ilmu Gizi, Universitas Dhyana Pura, Tegal Jaya, Kuta Utara, Bali, Indonesia. E-mail: [agungyogeswara@undhirabali.ac.id](mailto:agungyogeswara@undhirabali.ac.id)

## Penulis Korespondensi

**Ida Bagus Agung Yogeswara:** Program Studi Ilmu Gizi, Universitas Dhyana Pura, Jl. Raya Padang Luwih, Tegal Jaya, Kuta Utara, Bali, Indonesia.  
E-mail: [agungyogeswara@undhirabali.ac.id](mailto:agungyogeswara@undhirabali.ac.id)

**Metode:** Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acek Lengkap dengan dua kali pengulangan dan menggunakan penelitian eksperimental. Penelitian dilakukan di Laboratorium Sains Dasar Universitas Dhyana Pura pada bulan Juli 2023. Kadar GABA dilakukan menggunakan UPLC, total BAL menggunakan metode sebar, total asam menggunakan metode titrasi, pH menggunakan pH meter, serta metode DPPH untuk pengujian kapasitas antioksidan. Data yang diperoleh diolah menggunakan SPSS, serta dilakukan analisis ANOVA. Jika hasil menunjukkan pengaruh yang nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

**Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan peningkatan signifikan pada produksi GABA, dengan konsentrasi tertinggi mencapai 92.07 mg/L pada perlakuan dengan MSG 0.75%. Selain itu, terdapat peningkatan jumlah total bakteri asam laktat, total asam, dan kapasitas antioksidan, yang menunjukkan peningkatan kualitas fisikokimia produk. Evaluasi organoleptik mengungkapkan preferensi panelis terhadap produk dengan penambahan MSG 0.25% dan 0.75% untuk rasa, serta 0% untuk tekstur ( $p < 0.05$ ).

**Kesimpulan:** Optimasi penambahan MSG dan fermentasi menggunakan *Lactiplantibacillus plantarum* Dad 13 secara signifikan meningkatkan produksi GABA dan memperbaiki fisikokimia dan sensoris produk. Sehingga minuman susu gude terfermentasi memiliki potensi sebagai minuman kesehatan tinggi GABA.

**Kata Kunci :**

GABA, susu fermentasi, kacang gude, *Lactiplantibacillus plantarum* Dad 13, MSG, fermentasi, probiotik.

## Pendahuluan

Makanan dan minuman yang berperan menjadi pangan fungsional menjadi populer saat ini. Pangan fungsional tidak lagi hanya bertujuan untuk mengenyangkan, tetapi kini lebih fokus pada mencapai tingkat kesehatan dan kebugaran optimal. Pemanfaatan susu berfungsi sebagai sumber pangan semakin mendapat perhatian, terutama dengan beragamnya susu fermentasi yang tersedia di pasaran dan memiliki manfaat bagi kesehatan. Kajian terpenting dalam pengembangan pangan fungsional adalah suplementasi probiotik serta metabolitnya dalam susu fermentasi (Rahmayuni et al., 2013). Probiotik, mikroorganisme hidup dalam bahan pangan, telah terbukti memberikan manfaat kesehatan yang signifikan bagi saluran pencernaan (Handayani, 2016).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroorganisme yang digunakan dalam makanan fermentasi, termasuk sebagai suplementasi probiotik. Fermentasi adalah proses penting dalam pengolahan pangan yang dapat meningkatkan daya tahan, rasa, aroma, dan nilai gizi makanan (Hastuti et al., 2020). BAL memiliki peran krusial dalam proses fermentasi dan telah dipelajari karena berbagai potensi komersialnya, seperti sebagai starter untuk produk fermentasi dan kemampuannya dalam mengawetkan makanan serta memberikan manfaat kesehatan, termasuk mempertahankan keseimbangan mikroflora usus serta meningkatkan daya tahan tubuh, dan memiliki dampak antitumor (Ugantsetseg & Batjargal, 2014). Selain itu, BAL juga dapat menghasilkan senyawa antioksidan, seperti

yang terbukti oleh strain *Lactobacillus plantarum* DM5 yang mampu menghasilkan asam gamma aminobutirat (GABA) (Das & Goyal, 2015).

Penggunaan bakteri asam laktat dalam makanan untuk meningkatkan kandungan GABA memiliki manfaat kesehatan yang signifikan. GABA berperan penting dalam mengatur aktivitas neuron, meningkatkan kadar zat dalam darah, hormon pertumbuhan, serta sintesis protein di otak (Handayani, 2016; Cho et al., 2006). mengonsumsi makanan yang dimengandung GABA dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dan meningkatkan kemampuan belajar serta memori (Park & Oh, 2007). Penelitian yang dilakukan oleh Kittibunchakul et al., (2021) menyatakan bahwa fermentasi susu beras merah dengan *Lactobacillus pentosus* 9D3 menunjukkan kandungan GABA sebesar 14.3mg/100mL, serta jumlah probiotik yang signifikan dan aktivitas antioksidan yang tinggi. Sementara pada penelitian oleh Batra, Lomash and Ganguli, (2018) fermentasi getah kacang tanah dengan penambahan *Lactococcus lactis*, konsentrasi GABA meningkat secara signifikan sebesar 816mg/g setelah 24 jam inkubasi.

Kacang gude merupakan kacang-kacangan yang belum dimanfaatkan secara optimal oleh masyarakat. Kandungan protein yang dimiliki kacang gude cukup tinggi dengan kandungan profil asam amino yang mirip dengan kedelai. Kacang gude toleran terhadap kondisi lahan kering sehingga menjadi keunggulan dibanding kacang-kacangan lainnya. Kacang gude memiliki kandungan (protein 20-22%, karbohidrat 65%, lemak 1.2%) FAO dalam (Maulidina, 2021). Kacang gude merupakan sumber serat kasar yang baik, dan juga mengandung mineral

penting besi, sulfur, kalsium, potassium, mangan dan vitamin larut dalam air terutama tiamin, riboflavin, dan niasin (Febriani et al., 2019). Diversifikasi kacang gude menjadi minuman fermentasi fungsional tinggi GABA akan meningkatkan nilai ekonomis dan efek kesehatan dari kacang gude tersebut.

Strain *Lactiplantibacillus plantarum* Dad-13 adalah BAL lokal yang memiliki efek probiotik dan bersifat antimikroba dan mampu berkolonisasi pada saluran cerna manusia (Darmastuti et al., 2021; Rahayu et al., 2021). Kemampuan dan efektifitas strain Dad-13 dalam meningkatkan GABA dengan berbagai konsentrasi MSG pada susu kacang gude belum diketahui, sehingga perlu inovasi baru dalam pembuatan susu fermentasi kacang gude dengan peningkatan kandungan GABA menggunakan strain Dad-13. Pengembangan minuman fungsional berbasis bahan pangan lokal kaya akan GABA akan mendukung pengembangan pangan fungsional di Indonesia. Maka, tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan optimasi peningkatan kandungan asam gamma-aminobutirat (GABA) dalam susu fermentasi kacang gude melalui penambahan MSG dan menggunakan probiotik *Lactiplantibacillus plantarum* Dad-13.

## Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sains Dasar Universitas Dhyana Pura pada bulan Juli 2023. Strain probiotik *L. plantarum* Dad-13 diperoleh dari Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM. Standar Gamma-aminobutirat (GABA) diperoleh dari Sigma Aldrich. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan variasi penambahan MSG 0-0.75% dengan rincian sebagai berikut:

S1 = Penambahan MSG 0%

S2 = Penambahan MSG 0.25%

S3 = Penambahan MSG 0.50%

S4 = Penambahan MSG 0.75%

Pembuatan sari kacang gude dilakukan dengan perendaman selama 6 jam dan selanjutnya dilakukan proses germinasi selama 36 jam. Selanjutnya dilakukan penghalusan kacang gude di dengan penambahan air 7 kali berat kacang. Fermentasi sari kacang gude penambahan gula sebanyak 10%, tambahkan MSG sebanyak 0%, 0.25%, 0.5%, 0.75%. Setelah itu tambahkan 5% kultur stater probiotik *L. plantarum* Dad-13. Sari kacang gude difermentasi di

dalam suhu ruang 37°C selama 24 jam. Parameter yang dilakukan adalah uji total BAL (metode sebar), uji total GABA (UPLC-MS), pH (pH meter), uji total asam (metode titrasi), kapasitas antioksidan (DPPH), dan uji organoleptik.

Alat yang digunakan mencakup kompor gas, panci, sendok, timbangan digital, baskom, gelas ukur, saringan kain, blender, botol kaca 250 ml, shaker totator, laminar air flow, autoklaf, erlenmeyer, bunsen, pH meter, spektrofotometer, microplate vortex, rak tabung, micropipet, dan inkubator UPLC h-class. Bahan baku yang digunakan adalah kacang gude, air, gula, MSG, bakteri probiotik *L. plantarum* Dad-13, buffer pH 4, akuades, metanol, dan etanol. Metode pengumpulan data dalam penelitian meliputi total bakteri asam laktat (BAL), penentuan kadar GABA, pengukuran pH dan total asam, kapasitas antioksidan dan uji daya terima berdasarkan tekstur, warna, aroma, rasa.

### Total Bakteri Asam Laktat

Penghitungan jumlah total BAL diawali dengan sampel diencerkan dalam aquades steril dengan perbandingan 1:9. Pengenceran dilakukan dari  $10^{-1}$ - $10^{-8}$ , pada pengenceran pertama sebanyak 1 ml sampel diencerkan ke dalam 9 ml aquades steril, pengenceran kedua dilakukan dengan 1 ml yang sudah diencerkan pada pengenceran pertama dimasukkan ke dalam 9 ml aquades steril, pengenceran ketiga dan seterusnya dilakukan dengan cara yang sama seperti pengenceran kedua.

Penanaman dilakukan dari pengenceran  $10^{-1}$ - $10^{-8}$  dengan cara dipipet 1 ml sampel ke atas media MRSA padat steril dan disebar dengan menggunakan batang bengkok yang telah disterilkan dengan cara dicelupkan dalam alkohol 70% kemudian dibakar dengan dilewatkan di atas api, biarkan spreader dingin. Cawan petri segera diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam

### Penentuan pH dan Total Asam

Nilai pH selama proses fermentasi diukur menggunakan pH meter. Setiap akan mengukur pH hasil fermentasi, pH meter dikalibrasi menggunakan larutan buffer standar 4.0 dan 7.0. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap 5 sampel dengan mencelupkan elektroda ke dalam larutan sampel dan dibiarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil. Dalam pengujian total asam, sebanyak 10 ml sampel diambil dan dimasukkan ke

dalam labu takar 100 ml dan diencerkan dengan akuades, kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan dipipet 10 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml dan ditambahkan 3 tetes indikator PP kemudian titrasi dilakukan dengan menggunakan NaOH 0.1 N hingga terbentuk warna merah muda yang bertahan 30 detik lalu titrasi dihentikan dan dicatat jumlah ml NaOH yang digunakan.

### Penentuan GABA

Analisis GABA sebanyak 0.1-1.0 g sampel susu fermentasi dimasukkan ke dalam tabung 20 mL dan ditambahkan 5 mL HCL 5N. Kemudian dipanaskan pada suhu 110°C selama 22 jam. Seluruh sampel dipindahkan ke dalam 50 mL labu ukur, dihomogenkan, dan disaring. Filtrat (500 µL) dipindahkan ke dalam tabung 2 mL, ditambah dengan 400 µL larutan ABAA 2.5 mM sebagai standar internal, dan 460 µL air suling. Derivatisasi sampel dilakukan dengan cara mengambil 10 µL larutan standar atau larutan sampel yang telah ditambahkan internal standar ke dalam vial insert, kemudian ditambahkan 70 µL AccQ-Tag flour Borate Buffer, dan dicampur.

Setelah itu, larutan ditambahkan 20 µL AccQ-Tag Reagent 2A dilanjutkan dengan pemanasan pada suhu 60°C selama 10 menit. Setelah pendinginan, 1 µL sampel disuntikkan ke dalam UPLC. Kondisi analitis adalah sebagai berikut. Kolom adalah AccQ-Tag Ultra C18 1.7 µm (2,1×100 mm), yang dijalankan pada 49°C sepanjang waktu deteksi. Itu fase gerak terdiri dari empat solusi yaitu: solusi A, AccQ-Tag Ultra Eluent A 100%; larutan B, campuran AccQ-Tag Ultra Eluent B dengan air suling ganda dengan perbandingan 90:1; larutan C, air suling ganda; dan solusi D, AccQ-Tag Ultra Eluent B 100%. Laju aliran fase gerak diatur pada 0.5 mL/menit. dengan sistem pompa gradien. Volume injeksi sampel adalah 1 µL, dan GABA terdeteksi

menggunakan detektor PDA pada 260 nm (Nursini et al., 2022).

### Kapasitas Antioksidan

Kapasitas antioksidan dilakukan melalui metode DPPH dengan mengencerkan sampel sebanyak 10 ml menggunakan metanol 99.9%, divortek, lalu disentrifuge 3000 rpm selama 15 menit, saring hingga memperoleh filtrat. Filtrat serta standar dipipet 0,5 ml ditambahkan 3.5 ml DPPH 0.1 mM (dalam pelarut metanol 99.9%) pada tabung reaksi, lalu divorteks. Sampel diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit. kemudian mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Hasil uji kapasitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus: (Hanani, Munim and Sekarini, 2005). Analisis data menggunakan perangkat lunak komputer, dengan uji statistic yaitu ANOVA dan bila hasil analisis menunjukkan pengaruh signifikan, maka dilakukan uji lanjut menggunakan metode Duncan dengan tingkat kepercayaan 95%.

### Hasil

#### Efek MSG Terhadap Produksi GABA

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan produksi GABA yang signifikan ( $P < 0.05$ ), dengan konsentrasi tertinggi GABA tercatat sebesar 59.83 mg/L pada perlakuan dengan penambahan MSG 0.75 %. Pada konsentrasi MSG 0.25% dan 0.75% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap peningkatan kadar GABA. hasil ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi MSG maka semakin tinggi peningkatan kadar GABA pada susu gude fermentasi. Selain itu menandakan adanya potensi yang besar dalam penggunaan *Lactiplantibacillus plantarum* Dad 13 dan MSG untuk meningkatkan kadar GABA dalam susu fermentasi kacang gude.

**Tabel 1.** Hasil kadar GABA, total BAL, total asam, pH dan kapasitas antioksidan susu gude fermentasi.

Konsentrasi MSG (%)	Kadar GABA (mg/g)	UJI (CFU/ml)	BAL	Total Asam (%)	Total pH	Kapasitas antioksidan (mg/L GAEAC)
MSG 0	37.51±0.01 <sup>c</sup>	8.57±0.01 <sup>d</sup>	1.51±0.01 <sup>c</sup>	2.61±0.01 <sup>b</sup>	21.88±0.01 <sup>a</sup>	
MSG 0.25	48.93±0.0 <sup>b</sup>	8.73±0.01 <sup>b</sup>	1.51±0.0 <sup>c</sup>	2.61 ±0.01 <sup>b</sup>	19.84±0.01 <sup>c</sup>	
MSG 0.50	48.92±0.01 <sup>b</sup>	8.88±0.01 <sup>a</sup>	1.62±0.01 <sup>b</sup>	2.71±0.01 <sup>a</sup>	21.17±0.00 <sup>b</sup>	
MSG 0.75	59.83±0.01 <sup>a</sup>	8.66±0.01 <sup>c</sup>	1.68±0.01 <sup>a</sup>	2.51±0.01 <sup>c</sup>	21.85±0.00 <sup>a</sup>	

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda menunjukkan pengaruh yang signifikan ( $p < 0.05$ ).

### Hasil Uji Bakteri Asam Laktat

Variasi konsentrasi MSG mempengaruhi peningkatan jumlah total bakteri asam laktat secara signifikan ( $P < 0.05$ ). Pada penambahan MSG 0.25% dan 0.5% menunjukkan peningkatan total BAL sebesar 8.73 cfu/mL dan 8.88 cfu/mL. Hal ini menunjukkan bahwa *Lactiplantibacillus plantarum* Dad 13 dapat tumbuh dan beraktivitas dengan baik dalam medium susu fermentasi kacang gude yang diperkaya dengan MSG.

### Hasil Uji Total Asam

Hasil penelitian sebagaimana disajikan pada Tabel 1, dapat dilihat bahwa Terjadi peningkatan total asam dan pH pada semua perlakuan fermentasi. Pada konsentrasi MSG 0.5% dan 0.75% meningkatkan total asam dan pH secara signifikan ( $P < 0.05$ ) pada susu gude fermentasi. Hal ini menandakan proses fermentasi berjalan efektif dengan adanya transformasi substrat menjadi asam laktat oleh probiotik *L. plantarum* Dad-13.

### Hasil Uji Kapasitas Antioksidan

Penambahan MSG memberikan peningkatan kapasitas antioksidan pada susu fermentasi kacang gude (Tabel 1). Kapasitas antioksidan terbaik terdapat pada penambahan MSG 0.75% dan tanpa penambahan MSG (0%). Penambahan MSG 0.75% dan tanpa MSG meningkatkan kapasitas antioksidan susu gude fermentasi secara signifikan ( $P < 0.05$ ). Akan tetapi penambahan MSG 0.25% dan 0.5% tidak memberikan hasil yang signifikan terhadap peningkatan kapasitas antioksidan pada susu gude fermentasi. Peningkatan kapasitas antioksidan pada susu gude fermentasi akan memberikan efek fungsional yang dapat memberikan manfaat kesehatan tambahan bagi konsumen.

### Hasil Uji Organoleptik

Evaluasi organoleptik yang melibatkan panelis semi terlatih mengindikasikan preferensi yang tinggi terhadap tekstur, rasa, aroma, dan warna susu fermentasi, terutama pada perlakuan dengan penambahan MSG 0.25% dan 0.75% untuk rasa dan penambahan MSG 0% untuk tekstur.

**Tabel 2.** Hasil uji organoleptic pada fermentasi susu kacang gude

Konsentrasi MSG (%)	Warna	Aroma	Tekstur	Rasa
MSG 0%	3.90 ± 0.71 <sup>a</sup>	3.35 ± 0.98 <sup>a</sup>	3.10 ± 0.71 <sup>a</sup>	2.90 ± 1.16 <sup>a</sup>
MSG 0.25%	3.80 ± 0.76 <sup>a</sup>	3.15 ± 0.87 <sup>a</sup>	3.00 ± 0.64 <sup>a</sup>	2.95 ± 0.94 <sup>a</sup>
MSG 0.50%	3.70 ± 0.86 <sup>a</sup>	2.80 ± 1.10 <sup>a</sup>	2.95 ± 0.68 <sup>a</sup>	2.60 ± 0.99 <sup>a</sup>
MSG 0.75%	3.65 ± 0.67 <sup>a</sup>	3.15 ± 0.81 <sup>a</sup>	3.15 ± 0.48 <sup>a</sup>	2.95 ± 0.99 <sup>a</sup>

## Pembahasan

Pemanfaatan BAL untuk meningkatkan kadar GABA pada makanan fermentasi merupakan cara yang aman dan alami. MSG merupakan substrat utama dalam sintesis GABA. Pada Penelitian yang dilakukan oleh Pribadhi et al. (2021) bahwa isolat BAL yang berasal dari cinalok berpotensi menghasilkan GABA, dan menunjukkan bahwa penambahan MSG dapat meningkatkan produksi GABA oleh isolat CIN-3 dengan penambahan MSG 5% memproduksi GABA sebesar 201.472 mM. Sedangkan tanpa MSG menghasilkan sebesar 171.195 mM. Pada penelitian Yogeswara, et al. (2023) menyatakan penambahan L-Glutamat dalam bentuk MSG adalah faktor penting dalam peningkatan produksi GABA selama proses

fermentasi. Penambahan MSG pada susu gude fermentasi sebanyak 1% dapat meningkatkan produksi GABA secara signifikan yaitu sebesar 60 g/L setelah 48 jam fermentasi. Penelitian pada Yogeswara et al. (2021) menyatakan tentang dampak negatif pada peningkatan konsentrasi glutamat yang tinggi (>100 mM) mengakibatkan produksi GABA menurun pada beberapa strain BAL dan serta meningkatkan aktivitas enzim GABA transaminase yang mampu mendegradasi GABA.

Selain memiliki fungsi fisiologis, GABA berperan dalam meningkatkan viabilitas sel BAL selama proses fermentasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Yogeswara et al., (2021) melaporkan bahwa konsentrasi MSG 100 mM dapat meningkatkan viabilitas sel *L. plantarum* FNCC 260 selama masa inkubasi 108 hari. Peningkatan

viabilitas dikarenakan terjadi konsumsi proton ( $H^+$ ) selama sintesis GABA sehingga kondisi diluar sel menjadi netral. (Cotter et al., 2001; Yogeswara et al., 2020). Akan tetapi kemampuan BAL dalam menggunakan MSG sebagai substrat sangat tergantung dari spesies dan strain. Peningkatan konsentrasi MSG yang tinggi mengakibatkan produksi GABA menurun pada beberapa strain BAL seperti *L. brevis* CRL 1942, *S. thermophilus* Y2, dan *L. paracasei* NFRI 7415, maka konsentrasi glutamat yang tinggi menjadi lebih toksik bagi beberapa strain BAL dan menekan ekspresi gen *gadB* (Komatsuzaki et al., 2005; Villegas et al., 2016; Yang et al., 2008)

Dalam penelitian ini terjadi peningkatan total asam dan pH. Hal ini menunjukkan efektifitas BAL selama fermentasi dan mampu mengubah gula menjadi asam laktat dan penurunan pH produk (Le et al., 2020). Peningkatan total asam terjadi karena adanya proses penambahan gula sebanyak 25 gr saat pembuatan susu fermentasi (Mulyani, et al., 2008) mengatakan bahwa peningkatan kadar total asam disebabkan oleh aktivitas bakteri asam laktat yang menguraikan laktosa dan gula sederhana menjadi asam laktat. Sementara pada penelitian Suharto et al. (2021) semakin lama penyimpanan, menunjukkan adanya peningkatan pada nilai total asam susu kambing fermentasi dengan waktu penyimpanan 20 hari penyimpanan pada suhu dingin berkisar antara 1.26% - 1.77%. Fermentasi yogurt jagung manis dengan *Lactobacillus bulgaricus*, *lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* dan *bifidobacterium* dengan lama fermentasi dan peningkatan jumlah bakteri yang menghasilkan asam laktat dapat meningkatkan total asam yang dihasilkan (Muhammad et al., 2019).

Secara umum pH media berubah selama proses fermentasi, oleh sebab itu hasil akhir GABA dipengaruhi oleh pH awal serta pH media harus disesuaikan untuk mempertahankan pH optimum. Terjadi penurunan signifikan pada nilai pH karena pembentukan asam saat fase eksponensial, dimana penurunan pH memfasilitasi aktivitas enzim glutamat dekarboksilase untuk meningkatkan produksi GABA (Nursini & Yogeswara, 2020). Dapat dikatakan kurang dari standar dalam pembuatan susu fermentasi yang baik yaitu 3.8 – 4.6 (Firdaus et al., 2018)

Waktu inkubasi *L. plantarum* Dad 13 dilakukan selama 24 jam dengan suhu  $37^{\circ}C$  dan lama waktu fermentasi berpengaruh pada pH susu

kacang gude, karena semakin lama waktu fermentasi semakin banyak asam yang dihasilkan sehingga pH semakin menurun. Muawanah (2007) menyatakan bahwa seiring bertambahnya waktu inkubasi, aktivitas mikroba meningkat, dan jumlah mikroba bertambah, yang menyebabkan penurunan pH. Perubahan pH terjadi sebagai hasil dari fermentasi, yang disebabkan oleh penumpukan asam laktat sebagai produk utama dari bakteri yang melakukan fermentasi homofermentatif (Utami, 2018).

Penelitian yang dilakukan oleh Nursini & Yogeswara (2020) menunjukkan bahwa *L. plantarum* PH715 mampu menurunkan pH dari pH awal media 6.8 menjadi berkisar antara 3.94 hingga 4.25. Sementara pada penelitian Yogeswara et al (2021) pH dari medium kultivasi dengan cepat menurun dari pH awal 6.5 menjadi pH 4.1 setelah 12 jam kultivasi. Penurunan pH ini disebabkan oleh pembentukan asam laktat dan asam asetat selama kultivasi organisme dari *L. plantarum* FNCC 260. Hal disebabkan oleh aktivitas enzim GABA transaminase, pH dari medium kultivasi terus menurun hingga 84 jam kultivasi, menunjukkan bahwa aktivitas dekarboksilasi glutamat masih terjadi.

Hasil penelitian menemukan bahwa kapasitas antioksidan tertinggi adalah S1 dengan penambahan MSG 0% yaitu 21.88 mg/L GAEAC. Kenaikan aktivitas antioksidan disebabkan oleh kegiatan bakteri probiotik yang menghasilkan senyawa yang memiliki peran sebagai antioksidan. Selama proses perkecambahan, aktivitas antioksidan dapat meningkat seiring dengan peningkatan kandungan senyawa fenolik. Ini disebabkan oleh struktur kimia senyawa fenolik yang mengandung gugus hidroksil, yang mampu menangkap radikal bebas (Issoufou et al, 2010). Radikal bebas dapat diubah menjadi bentuk yang stabil ketika senyawa fenol menyumbangkan protonnya (Tursiman et al., 2012).

Setiap bahan baku yang telah digunakan untuk menghasilkan sampel fermentasi, terdapat komponen antioksidan baik hidrofobik maupun hidrofilik. Fermentasi mengakibatkan transformasi senyawa isoflavon dalam kedelai, menghasilkan aglikon isoflavon bebas seperti genistein, glisitein, dan daidzein. Bentuk bebas ini memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan bentuk terikatnya (Issoufou et al., 2010). Pada penelitian Muthia et al., (2017), susu kedelai dan whey tahu pada konsentrasi 90 ppm masing-

masing dapat menekan aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 23.16% dan 19.26%.

Uji organoleptik adalah suatu metode yang digunakan untuk mengevaluasi sifat-sifat organoleptik dari suatu produk. Panelis yang digunakan dalam pengujian organoleptik pada penelitian ini memiliki tingkat pelatihan sedang yang terdiri dari 20 orang. Parameter yang diamati dalam penelitian ialah warna, aroma, tekstur dan rasa pada susu kacang gude. Pada studi ini perlakuan S1 lebih disukai dalam hal warna dan aroma karena tidak memiliki rasa langu dan warna yang menarik. Timbulnya rasa langu disebabkan karena perendaman dan fermentasi asam laktat yang dapat mengaktifkan enzim lipoksigenase yang terdapat pada kacang-kacangan dan menyebabkan timbulnya bau langu (Tien, 2010)

Menurut Ma et al. (2015), warna adalah atribut sensori yang pertama kali diamati oleh panelis saat melakukan evaluasi organoleptik. Analisis warna dilakukan untuk memahami perubahan baik secara fisik maupun kimia pada produk pangan. Susu fermentasi kacang gude menghasilkan warna coklat keunguan yang berasal dari pigmen kacang gude. Uji organoleptik warna pada susu fermentasi kacang gude berkisar 3.9-3.65 Gambar 6. Warna yang paling disukai panelis adalah warna yang memiliki warna putih kekuningan pada penambahan MSG 0%. Warna mempunyai peranan penting dalam penerimaan produk secara visual. Warna produk pangan menjadi evaluasi pertama yang diperhatikan oleh panelis. Daya tarik warna dapat mempengaruhi penerimaan konsumen terhadap produk pangan karena warna adalah aspek visual yang pertama kali diamati oleh konsumen (Winarno, 2002).

Hasil uji organoleptik aroma dari susu fermentasi kacang gude berkisar antara 3.35-3.15 Gambar 6. Aroma yang disukai panelis pada penambahan MSG 0%. Aroma langu pada susu fermentasi kacang gude dapat disamakan dimungkinkan karena telah melalui proses perendaman dan fermentasi asam laktat. Enzim lipoksigenase yang terdapat pada kacang-kacangan menyebabkan timbulnya bau langu (Muchtadi, 2010).

Tekstur adalah salah satu faktor penentu apakah suatu produk layak untuk dikembangkan atau tidak. Dalam kasus susu fermentasi kacang gude, parameter uji tekstur dilakukan dengan mengajukan pertanyaan kepada panelis, dan hasil penilaian mereka terhadap tekstur susu

fermentasi kacang gude berkisar antara 3.1 hingga 3.15 Gambar 6. Tekstur yang disukai panelis pada penambahan MSG 0% dengan tingkat kekentalan yang menyerupai tekstur yogurt. Dalam pengujian organoleptik, rasa merupakan salah satu aspek yang dievaluasi, dengan fokus utama pada persepsi indera lidah. Susu fermentasi yang memiliki rasa yang kurang disukai diperoleh nilai 2.6 pada susu fermentasi dengan penambahan MSG 0.5% dan yang memiliki rasa yang disukai dengan nilai 2.95 pada penambahan MSG 0.25% dan 0.75%.

Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara sampel penelitian dalam hal indikator warna, aroma, tekstur dan rasa. Dari hasil analisis ini dapat dikatakan bahwa daya terima panelis untuk warna, aroma, tekstur dan rasa yang disukai adalah susu fermentasi kacang gude dengan penambahan 0.25% MSG. Keterbatasan pada penelitian ini adalah belum dilakukan optimasi penambahan sumber karbon dan sumber nitrogen untuk peningkatan kadar GABA.

## Kesimpulan

Penelitian ini mengkonfirmasi bahwa penambahan MSG pada fermentasi susu kacang gude dengan *Lactiplantibacillus plantarum* Dad 13 dengan variasi penambahan MSG dapat meningkatkan produksi GABA secara signifikan, sekaligus meningkatkan total BAL dan kapasitas antioksidan produk. Temuan ini mendukung pengembangan susu fermentasi kacang gude sebagai produk pangan fungsional yang diperkaya GABA, dengan mempertimbangkan konsentrasi MSG yang optimal untuk menghindari efek negatif pada aktivitas bakteri.

Saran, berdasarkan Kesimpulan maka diperlukan untuk penelitian lebih lanjut yaitu perlu dilakukan pengujian profil asam amino dan profil asam lemak pada susu gude terfermentasi.

## Deklarasi Konflik Kepentingan

Penulis menegaskan bahwa tidak ada konflik kepentingan signifikan yang berasal dari institusi atau faktor lain terkait dengan penelitian ini. Selain itu, keputusan-nilai didasarkan pada identitas penulis dan kepentingan publikasi.

## Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada pihak staff Universitas Dhyana Pura yang membantu dalam kelancaran adminitrasi selama penelitian ini berlangsung.

## Daftar Rujukan

- Batra, V., Lomash, H., & Ganguli, A. (2018). Fermentation of groundnut brittle by *Lactococcus lactis* produces  $\gamma$ -amino butyric acid and enhances nutritional quality and safety. *Food Quality and Safety*, 2(2), 83–87. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy002>
- Cho, Yu Ran, Ji Yoon Chang., Et. al. (2006). *Production of gamma-aminobutyric acid (GABA) by Lactobacillus buchneri isolated from kimchi and its neuroprotective effect on neuronal cells. - Abstract - Europe PMC.*
- Cotter, P. D., O'Reilly, K., & Hill, C. (2001). Role of the glutamate decarboxylase acid resistance system in the survival of *Listeria monocytogenes* LO28 in low pH foods. *Journal of Food Protection*, 64(9), 1362–1368.
- Darmastuti, A., Hasan, P. N., Wikandari, R., Utami, T., Rahayu, E. S., & Suroto, D. A. (2021). Adhesion properties of *Lactobacillus plantarum* dad-13 and *Lactobacillus plantarum* mut-7 on sprague dawley rat intestine. *Microorganisms*, 9(11). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112336>
- Das, D., & Goyal, A. (2015). Antioxidant activity and  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) producing ability of probiotic *Lactobacillus plantarum* DM5 isolated from Marcha of Sikkim. *Lwt*, 61(1), 263–268. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.013>
- Febriani, N. L. C., Suparthana, I. P., & Wiadnyani, A. A. I. S. (2019). PENGARUH LAMA FERMENTASI KACANG GUDE (*Cajanus cajan* L.) TERHADAP KARAKTERISTIK “SERE UNDIS.” *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(2), 181. <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i02.p08>
- Hanani, E., Munim, A., & Sekarini, R. (2005). Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia* Sp Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2(3), 127–133. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i3.3389>
- Handayani, R. (2016). *Identifikasi produksi GABA dari kultur Bakteri Asam Laktat (BAL) dengan metode TLC.* 2(iii), 208–213. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m020215>
- Hastuti, L. I., Retnaningrum, E., Biologi, F., Mada, U. G., & Sleman, K. (2020). *manusia dapat mengakibatkan SUSU berbagai KACANG bakteri Khamir Limbah Industri Di Rungkut.,* 116–122. <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v5i1.2795>
- Kittibunchakul, S., Yuthaworawit, N., Whanmek, K., Suttisansanee, U., & Santivarangkna, C. (2021). Health beneficial properties of a novel plant-based probiotic drink produced by fermentation of brown rice milk with GABA-producing *Lactobacillus pentosus* isolated from Thai pickled weed. *Journal of Functional Foods*, 86(July), 104710. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104710>
- Komatsuzaki, N., Shima, J., Kawamoto, S., Momose, H., & Kimura, T. (2005). Production of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus paracasei* isolated from traditional fermented foods. *Food Microbiology*, 22(6), 497–504. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2005.01.002>
- Le, B., Ngoc, A. P. T., & Yang, S. H. (2020). Synbiotic fermented soymilk with *Weissella cibaria* FB069 and xylooligosaccharides prevents proliferation in human colon cancer cells. *Journal of Applied Microbiology*, 128(5), 1486–1496. <https://doi.org/10.1111/jam.14551>
- Ma, L., Li, B., Han, F., Yan, S., Wang, L., & Sun, J. (2015). Evaluation of the chemical quality traits of soybean seeds, as related to sensory attributes of soymilk. *Food Chemistry*, 173, 694–701. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.096>
- Maulidina, K. (2021). Studi Eksperimen Pemanfaatan Tepung Kacang Gude / Undis ( *Cajanus Cajan* ) Menjadi Kue Iwel Khas Bali. *Jurnal Kuliner*, 1(1), 25–36. <https://doi.org/10.23887/jk.v1i1.32824>
- Nugrahadi, Nyoman Puspawati, N., Made Sugitha, I., Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, M., Teknologi Pertanian, F., Udayana, U., Program Studi Ilmu dan



- Teknologi Pangan, D., & Kampus Bukit Jimbaran, U. (2020). Pengaruh Perlakuan 3 Jenis Bakteri Asam Laktat Dan Kombinasinya Terhadap Karakteristik Keju Kedelai the Effect of 3 Different Types of Lactic Acid Bacteria and Their Combination on the Characteristics of Soycheese. *Online) Jurnal Itepa*, 9(4), 412–425.
- Park, K.-B., & Oh, S.-H. (2007). Production of yogurt with enhanced levels of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract. *Bioresource Technology*, 98(8), 1675–1679. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.06.006>
- Rahayu, E. S., Mariyatun, M., Manurung, N. E. P., Hasan, P. N., Therdtatha, P., Mishima, R., Komalasari, H., Mahfuzah, N. A., Pamungkaningtyas, F. H., Yoga, W. K., Nurfiana, D. A., Liwan, S. Y., Juffrie, M., Nugroho, A. E., & Utami, T. (2021). Effect of probiotic *Lactobacillus plantarum* Dad-13 powder consumption on the gut microbiota and intestinal health of overweight adults. *World Journal of Gastroenterology*, 126(1), 107–128. <https://doi.org/10.3748/WJG.V27.I1.107>
- Rahmayuni, Hamzah, F., & Nofiyana, F. (2013). Penambahan Madu Dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Susu Fermentasi Kacang Merah. *Sagu*, 12(1), 25–33.
- Tien R. Muchtadi, dkk. (2010). *Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*.
- Ugantsetseg, E., & Batjargal, B. (2014). Antioxidant activity of probiotic lactic acid bacteria isolated from Mongolian airag. *Mongolian Journal of Chemistry*, 15(41), 73–78. <https://doi.org/10.5564/mjc.v15i0.327>
- Villegas, J. M., Brown, L., Savoy de Giori, G., & Hebert, E. M. (2016). Optimization of batch culture conditions for GABA production by *Lactobacillus brevis* CRL 1942, isolated from quinoa sourdough. *LWT*, 67, 22–26. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.027>
- Yang, S.Y., Lin, Q. Lu, Z.X., Lu, F.X., Bie, X.M., Xou, X.K., and Sun, L. J. (2008). Characterization of a novel glutamate decarboxylase from *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* Y2. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 83(February), 855–861. <https://doi.org/10.1002/jctb>
- Yogeswara, I. B. A., Kittibunchakul, S., Rahayu, E. S., Domig, K. J., Haltrich, D., & Nguyen, T. H. (2021). Microbial production and enzymatic biosynthesis of  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) using *Lactobacillus plantarum* FNCC 260 isolated from Indonesian fermented foods. *Processes*, 9(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pr9010022>
- Yogeswara, I. B. A., Maneerat, S., & Haltrich, D. (2020). Glutamate decarboxylase from lactic acid bacteria—a key enzyme in Gaba synthesis. *Microorganisms*, 8(12), 1–24. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121923>