



# PENGARUH AKTIVITAS ENZIM $\beta$ -GALAKTOSIDASE DAN WAKTU REAKSI TERHADAP SINTESA OLIGOSAKARIDA BERBASIS SUSU

## Laporan Penelitian

Disusun untuk memenuhi tugas akhir guna memperoleh gelar sarjana dalam bidang ilmu  
teknik/teknologi kimia

Oleh:

**Virginia Divani Fristyantika**

2014620048

Pembimbing:

**Dr. Judy Retti Witono, Ir., M.App.Sc.**



**JURUSAN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI  
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN  
BANDUNG  
2018**

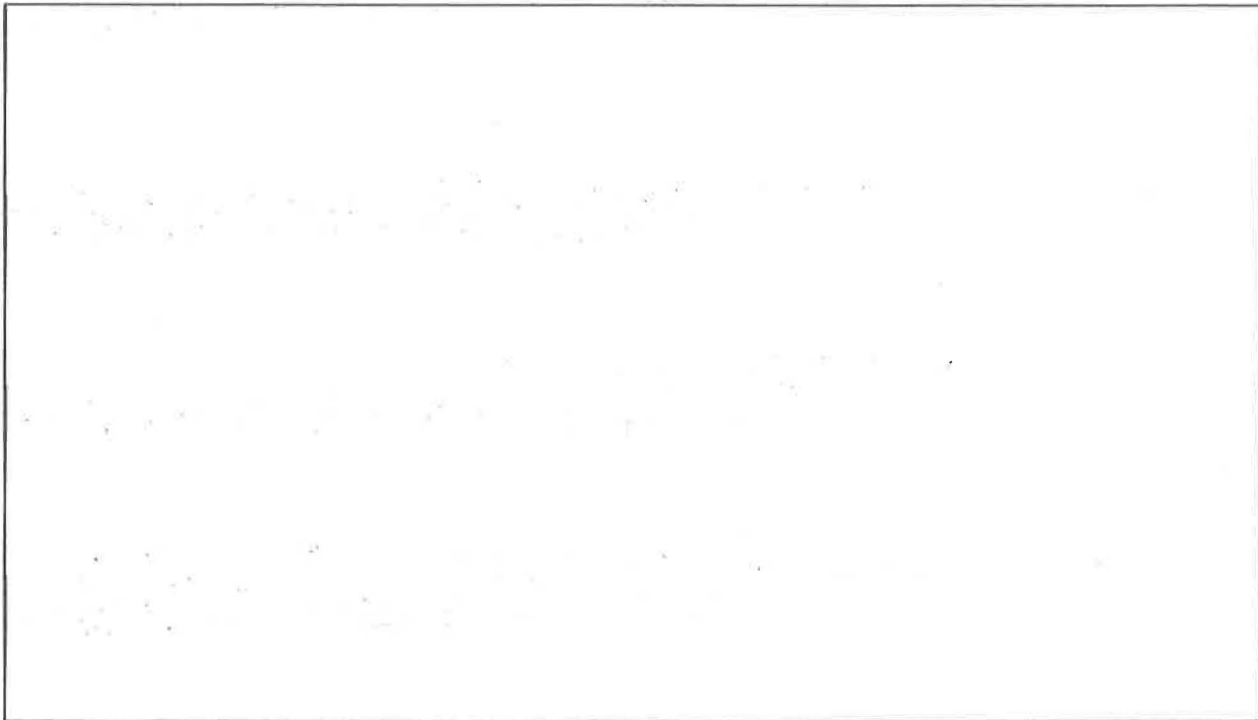
No. Kode	: TK FRI p/18
Tanggal	: 8 Februari 2019
No. Ind.	: 4366-FTI /SKP 36834
Divisi	:
Madah / Gali	:
Dari	: FTI

**LEMBAR PENGESAHAN**



**JUDUL : PENGARUH AKTIVITAS ENZIM  $\beta$ -GALAKTOSIDASE DAN WAKTU REAKSI TERHADAP SINTESA OLIGOSAKARIDA BERBASIS SUSU**

**CATATAN :**



**Telah diperiksa dan disetujui,**

**Bandung, 10 Juli 2018**

**Pembimbing**

**Dr. Judy Retti Witono, Ir., M.App.Sc.**



PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI  
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN



### SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Virginia Divani Fristyantika

NRP : 6214048

Dengan ini menyatakan bahwa laporan penelitian dengan judul **Pengaruh Aktivitas Enzim  $\beta$ -galaktosidase dan Waktu Reaksi Terhadap Sintesa Oligosakarida Berbasis Susu** adalah hasil pekerjaan saya. Seluruh ide, pendapat, data ilmiah, dan materi dari sumber lain telah dikutip dengan cara penulisan referensi yang sesuai.

Pernyataan tertulis ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan sejujur-jujurnya. Jika pernyataan ini tidak sesuai dengan kenyataan yang ada, maka saya bersedia menanggung sanksi akademik dan non akademik sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bandung, 10 Juli 2018

Virginia Divani Fristyantika

(6214048)



## LEMBAR REVISI

**JUDUL : PENGARUH AKTIVITAS ENZIM  $\beta$ -GALAKTOSIDASE DAN WAKTU REAKSI TERHADAP SINTESA OLIGOSAKARIDA BERBASIS SUSU**

**CATATAN :**

Telah diperiksa dan disetujui,  
Bandung, 10 Juli 2018

Penguji 1

**Y.I.P Arry Miryanti, Ir.,M.Si.**

Penguji 2

**Dr. Ir. Budi Husodo Bisowarno, M.Eng**



## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan berkat-Nya, penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian yang berjudul Pengaruh Aktivitas Enzim  $\beta$ -galaktosidase dan Waktu Reaksi Terhadap Sintesa Oligosakarida Berbasis Susu. Adapun penulisan laporan penelitian ini bertujuan untuk memenuhi salah satu syarat tugas akhir dalam meraih gelar sajana dalam bidang ilmu teknik kimia.

Tak lupa penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Judy Retti Witono, Ir., M.App.Sc. selaku dosen pembimbing penulis yang telah membimbing dan menuntun penulis dalam penyusunan laporan penelitian.
2. Orang tua penulis yang telah memberi dukungan dan kasih sayang sehingga penyusunan laporan penelitian ini dapat berjalan dengan baik.
3. Teman-teman terdekat penulis yang telah menemani dan menyemangati penulis selama penyusunan proposal penelitian ini berlangsung.
4. Pihak-pihak lainnya yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Besar harapan penulis agar laporan penelitian ini dapat memberikan ilmu bagi masyarakat, khususnya dalam lingkungan pembelajaran Universitas Katolik Parahyangan. Penulis menyadari bahwa laporan penelitian ini masih jauh dari sempurna. Maka dari itu, penulis dengan lapang dada menerima kritik dan saran yang akan menjadi masukan penulis untuk penulisan laporan di masa yang akan datang. Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih.

Bandung, 10 Juli 2018

Penulis



## DAFTAR ISI

COVER DALAM.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
INTISARI.....	xiii
<i>ABSTRACT</i> .....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tema Sentral Masalah.....	4
1.3 Identifikasi Masalah.....	4
1.4 Premis.....	4
1.5 Hipotesis.....	5
1.6 Tujuan Penelitian.....	5
1.7 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Susu.....	9
2.1.1 Sumber Susu.....	9
2.1.1.1 Susu Manusia.....	9
2.1.1.2 Susu Sapi.....	10
2.1.1.3 Susu Kerbau.....	10
2.1.2 Komponen pada Susu.....	10
2.1.2.1 Protein Susu.....	11

2.1.2.2	Lemak Susu.....	11
2.1.2.3	Vitamin .....	11
2.1.2.4	Mineral.....	13
2.2	Laktosa.....	14
2.3	Glukosa .....	15
2.4	Galaktosa .....	16
2.5	Galaktooligosakarida .....	16
2.5.1	Sifat Galaktooligosakarida .....	17
2.5.2	Galaktooligosakarida sebagai Prebiotik .....	17
2.5.3	Manfaat Galaktooligosakarida Bagi Kesehatan .....	18
2.5.4	Proses Produksi Galaktooligosakarida .....	19
2.5.5	Aplikasi Galaktooligosakarida di Industri.....	21
2.6	$\beta$ -Galaktosidase.....	23
2.6.1	Sintesis Galaktooligosakarida Menggunakan $\beta$ -Galaktosidase.....	23
2.6.2	$\beta$ -Galaktosidase <i>Aspergillus Oryzae</i> .....	26
2.6.3	$\beta$ -Galaktosidase <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	27
2.7	Enzim.....	29
2.7.1	Sumber dan Komponen Penyusun Enzim .....	30
2.7.2	Mekanisme aktivitas enzim .....	30
2.7.3	Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim.....	31
BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....		33
3.1	Bahan Penelitian .....	33
3.2	Alat Penelitian.....	33
3.3	Variabel Penelitian.....	33
3.4	Prosedur Penelitian .....	34
3.4.1	Penentuan Aktivitas Enzim .....	34
3.4.2	Reaksi Transgalaktosilasi dengan Enzim $\beta$ -Galaktosidase .....	35

3.5	Analisa Produk.....	35
3.5.1	Penentuan Aktivitas Enzim.....	35
3.5.2	HPLC.....	36
3.6	Jadwal Kerja Penelitian.....	36
BAB IV PEMBAHASAN.....		38
4.1	Penentuan Aktivitas Enzim.....	38
4.2	Penentuan Densitas Susu.....	38
4.3	Transgalaktosilasi.....	39
4.3.1	Pengaruh Aktivitas Enzim.....	41
4.3.1.1	Pengaruh Aktivitas Enzim terhadap Kadar Glukosa.....	41
4.3.1.2	Pengaruh Aktivitas Enzim terhadap Kadar Galaktosa.....	43
4.3.1.3	Pengaruh Aktivitas Enzim terhadap Kadar Oligosakarida.....	45
4.3.2	Pengaruh Waktu Reaksi.....	48
4.3.2.1	Pengaruh Waktu Reaksi terhadap Kadar Glukosa.....	48
4.3.2.2	Pengaruh Waktu Reaksi terhadap Kadar Galaktosa.....	48
4.3.2.3	Pengaruh Waktu Reaksi terhadap Kadar Oligosakarida.....	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		51
5.1	Kesimpulan.....	51
5.2	Saran.....	51
6	DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN A PROSEDUR ANALISIS.....		56
A.1	Spektrofotometer UV-Vis.....	56
A.2	Penentuan Kadar Glukosa, Galaktosa, dan Laktosa dengan HPLC.....	56
A.2.1	Kurva Standar Glukosa, Galaktosa, dan Laktosa.....	56
A.2.2	Analisis Hasil Transgalaktosilasi (Glukosa, Galaktosa, dan Laktosa).....	57
A.3	Penentuan Kadar Oligosakarida dengan HPLC.....	57
A.3.1	Kurva Standar Oligosakarida.....	57



A.3.2. Analisis Hasil Transgalaktosilasi (Oligosakarida) .....	58
LAMPIRAN B <i>MATERIAL SAFETY DATA SHEET</i> .....	59
B.1 $\beta$ -Galaktosidase.....	59
B.2 Laktosa .....	60
B.3 ONPG.....	62
B.4 Galaktosa .....	63
B.5 Glukosa .....	64
LAMPIRAN C HASIL ANTARA .....	66
C.1 Penentuan Aktivitas Enzim .....	66
C.2 Penentuan Densitas Susu.....	66
C.3 Kurva Standar.....	66
C.1.1 Kurva Standar Glukosa.....	66
C.3.2 Kurva Standar Galaktosa.....	66
C.3.3 Kurva Standar Laktosa .....	67
C.3.4 Kurva Standar Oligosakarida.....	67
C.4 Kadar Glukosa.....	68
C.5 Kadar Galaktosa .....	69
C.6 Kadar Oligosakarida.....	70
LAMPIRAN D GRAFIK .....	71
D.1 Kurva Standar Glukosa .....	71
D.2 Kurva Standar Galaktosa .....	71
D.3 Kurva Standar Laktosa.....	72
D.4 Kurva Standar Oligosakarida.....	72
D.5 Kromatogram Sampel Analisa Glukosa, Galaktosa, dan Laktosa .....	73
D.6 Kromatogram Glukosa.....	77
D.7 Kromatogram Galaktosa .....	77
D.8 Kromatogram Laktosa.....	77

D.9 Kromatogram Sampel Analisa Oligosakarida .....	78
D.10 Kromatogram Oligosakarida.....	78
D.11 Grafik Pengaruh Aktivitas Enzim terhadap Kadar Glukosa .....	78
D.12 Grafik Pengaruh Aktivitas Enzim terhadap Kadar Galaktosa .....	79
.....	79
D.13 Grafik Pengaruh Aktivitas Enzim terhadap Kadar Oligosakarida .....	79
D.14 Grafik Pengaruh Waktu Reaksi terhadap Kadar Glukosa.....	79
D.15 Grafik Pengaruh Waktu Reaksi terhadap Kadar Galaktosa .....	80
D.16 Grafik Pengaruh Waktu Reaksi terhadap Kadar Oligosakarida.....	80
D.17 Grafik Perbandingan Kadar Glukosa, Galaktosa, dan Oligosakarida.....	80
LAMPIRAN E DOKUMENTASI .....	82
E.1 Larutan Buffer Sitrat, Susu, dan Enzim .....	82
E.2 Proses Reaksi di <i>Waterbath Shaker</i> .....	82
E.3 Larutan Buffer Sitrat, Susu, dan Enzim setelah Reaksi .....	82
E.4 Proses Menghentikan Aktivitas Enzim .....	83
E.5 Larutan setelah Proses Penghentian Aktivitas Enzim .....	83
E.6 Larutan setelah di <i>Centrifuge</i> .....	83
E.6 Proses Pengambilan Sampel.....	83
E.7 Sampel Dimasukkan ke dalam <i>Microtube</i> .....	84
E.8 Sampel Dimasukkan ke dalam vial HPLC .....	84
E.6 Penentuan Massa Piknometer + Susu.....	84
LAMPIRAN F CONTOH PERHITUNGAN .....	85
F.1 Perhitungan Aktivitas Enzim .....	85
F.2 Perhitungan Densitas Susu.....	85
F.3 Perhitungan Kadar Glukosa .....	86
F.4 Perhitungan Kadar Galaktosa .....	86
F.5 Perhitungan Kadar Oligosakarida.....	87



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.1</b> Data Statistik Penderita Intoleransi Laktosa Kawasan Asia.....	3
<b>Tabel 1.2</b> Produksi Susu Indonesia.....	4
<b>Tabel 1.3</b> Premis .....	6
<b>Tabel 2.1</b> Komponen Susu.....	11
<b>Tabel 2.2</b> Kadar Vitamin pada Kelompok Sapi dan Manusia .....	12
<b>Tabel 2.3</b> Kadar Mineral pada Kelompok Sapi dan Manusia.....	13
<b>Tabel 2.4</b> Perbandingan Kelarutan dan Tingkat Kemanisan Laktosa.....	15
<b>Tabel 2.5</b> Hasil Sintesis Galaktooligosakarida dengan $\beta$ -galaktosidase dari Berbagai Sumber.....	25
<b>Tabel 3.1</b> Rancangan Percobaan.....	34
<b>Tabel 3.2</b> Jadwal Kerja .....	37



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.1</b> Perbandingan Konsumsi Susu.....	1
<b>Gambar 2.1</b> Struktur Molekul Laktosa .....	14
<b>Gambar 2.2</b> Struktur Molekul Glukosa.....	15
<b>Gambar 2.3</b> Struktur Molekul Galaktosa .....	16
<b>Gambar 2.4</b> Struktur Molekul Galaktooligosakarida .....	16
<b>Gambar 2.5</b> Proses Transgalaktosilasi .....	20
<b>Gambar 2.6</b> <i>Aspergillus oryzae</i> .....	27
<b>Gambar 2.7</b> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	28
<b>Gambar 2.8</b> Komponen Penyusun Enzim .....	30
<b>Gambar 2.9</b> Proses Kerja Enzim Lock and Key .....	31
<b>Gambar 3.1</b> Diagram Alir Cara Kerja Menentukan Aktivitas Enzim .....	34
<b>Gambar 3.2</b> Diagram Alir Cara Kerja Proses Transgalaktosilasi .....	35
<b>Gambar 4.1</b> Kromatogram Laktosa Murni.....	39
<b>Gambar 4.2</b> Kromatogram Susu Kolom Aminex HPX-87P .....	40
<b>Gambar 4.3</b> Kromatogram Sampel Kolom Aminex HPX-87P.....	40
<b>Gambar 4.4</b> Kurva Standar Laktosa.....	41
<b>Gambar 4.5</b> Kromatogram Glukosa Murni.....	42
<b>Gambar 4.6</b> Kurva Standar Glukosa .....	42
<b>Gambar 4.7</b> Perbandingan Aktivitas Enzim dan Kadar Glukosa.....	43
<b>Gambar 4.8</b> Kromatogram Galaktosa Murni .....	44
<b>Gambar 4.9</b> Kurva Standar Galaktosa .....	44
<b>Gambar 4.10</b> Perbandingan Aktivitas Enzim terhadap Kadar Galaktosa .....	45
<b>Gambar 4.11</b> Kromatogram Larutan Standar Yakult.....	45
<b>Gambar 4.11</b> Kromatogram Larutan Standar Yakult.....	46
<b>Gambar 4.12</b> Kromatogram Sampel Kolom YMC-Pack NH2 .....	46
<b>Gambar 4.13</b> Kurva Standar Oligosakarida .....	47
<b>Gambar 4.14</b> Pengaruh Aktivitas Enzim terhadap Kadar Oligosakarida.....	47
<b>Gambar 4.15</b> Perbandingan Waktu Reaksi terhadap Kadar Glukosa .....	48
<b>Gambar 4.16</b> Perbandingan Waktu Reaksi terhadap Kadar Galaktosa.....	49
<b>Gambar 4.17</b> Perbandingan Kadar Glukosa, Galaktosa, dan Oligosakarida .....	49
<b>Gambar 4.18</b> Perbandingan Waktu Reaksi terhadap Kadar Oligosakarida .....	50



## INTISARI

Indonesia merupakan salah satu negara dengan penderita intoleransi laktosa yang besar. Intoleransi laktosa adalah ketidakmampuan usus kecil untuk menghidrolisis laktosa. Laktosa merupakan komponen utama penyusun susu, oleh karena itu para penderita intoleransi laktosa tidak dapat mengonsumsi susu. Hal tersebut sangat merugikan, karena susu merupakan sumber nutrisi bagi manusia. Salah satu cara agar para penderita intoleransi laktosa tetap mendapatkan nutrisi dari susu adalah laktosa di dalam susu diolah terlebih dahulu menjadi glukosa, galaktosa, dan oligosakarida. Salah satu jenis oligosakarida adalah galaktooligosakarida yaitu, oligosakarida tak tercerna yang terdiri dari 2-20 molekul galaktosa dan 1 molekul glukosa. Galaktooligosakarida termasuk pangan fungsional yang dapat berperan sebagai prebiotik.

Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh aktivitas enzim dan waktu reaksi terhadap produksi oligosakarida berbasis susu dengan menggunakan enzim  $\beta$ -galaktosidase. Manfaat penelitian bagi industri pangan adalah untuk meningkatkan dan mengembangkan produksi susu rendah laktosa dan kaya akan prebiotik, sehingga produk pangan yang dihasilkan dapat diterima dan dinikmati oleh berbagai kalangan secara lebih luas. Metode penelitian yang dilakukan terdiri dari dua tahap, yaitu penentuan aktivitas enzim dan reaksi transgalaktosilasi. Variabel yang digunakan pada percobaan ini adalah variasi aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase (112 ; 336 ; 560 ; 784 ; dan 1008 U/mg enzim) dan waktu reaksi transgalaktosilasi (2 ; 3 ; 4 ; 5 jam). Analisis kimia yang diterapkan adalah analisa glukosa, analisa galaktosa, dan analisa oligosakarida menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin besar aktivitas enzim maka kadar glukosa, galaktosa, dan oligosakarida cenderung meningkat. Semakin lama waktu reaksi maka kadar glukosa cenderung meningkat, namun kadar galaktosa dan oligosakarida cenderung fluktuatif. Kadar oligosakarida tertinggi sebesar 14,75% diperoleh saat aktivitas enzim sebesar 1008 U/mg enzim dan waktu reaksi selama 4 jam.

**Katakunci** : susu, intoleransi laktosa, galaktooligosakarida, transgalaktosilasi, enzim  $\beta$ -galaktosidase



## **ABSTRACT**

*Indonesia is one of the countries with a large amount of lactose intolerance sufferers. Lactose intolerance is inability of human beings to digest lactose. Lactose is the main component of milk, therefore lactose intolerance sufferers can not consume milk. It is harmful because milk is one of the source of nutrition for humans. One way to solve the problem is lactose in milk will be processed first into glucose, galactose, dan galactooligosaccharide. Galactooligosaccharide is nondigestible oligosaccharides and is comprised of 2 to 20 molecules of galactose and 1 molecule of glucose. They are recognized as functional food and prebiotics.*

*The purpose of this research is to learn the effect of enzyme activity and reaction time on milk-based galactooligosaccharide production using  $\beta$ -galactosidase enzyme. The research benefits for food industry is to develop low-lactose milk production, so it can be accepted by the wider circles. The method used in this research is divided into two major sections. First, initial research is done by analyzing the activity of the enzyme. The primary research is transgalactosilation reaction. The variables used in this experiment were variations of  $\beta$ -galactosidase enzyme activity (112; 336; 560; 784; and 1008 U/mg enzyme) and reaction time of transgalactosilation (2, 3, 4; 5 hours). Chemical analysis that will be applied are the usage of HPLC (High Performance Liquid Chromatography).*

*The experimental result showed that the greater the enzyme activity, the glucose, galactose, and oligosaccharide levels tended to increase. The increasing of reaction time will give both of glucose, galactose, an oligosaccharide fluctuative content. The optimum content of oligosaccharide was 14,75%. It obtained when 1008 U/mg enzyme of enzyme activity and reaction time for 4 hours.*

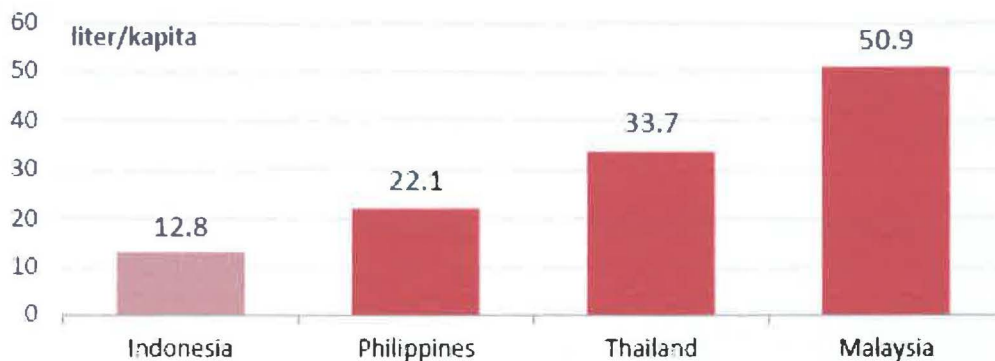
**Katakunci** : *milk, lactose intolerance, galactooligosaccharide, transgalactosilation,  $\beta$ -galactosidase enzyme*



## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Susu dapat didefinisikan sebagai cairan yang dihasilkan oleh mamalia sebagai sumber makanan bagi keturunannya. Susu berfungsi untuk menyediakan komponen penting yang dibutuhkan oleh bayi yang baru lahir. (1) Susu sangat penting bagi manusia karena merupakan sumber nutrisi yang menyehatkan tubuh. Menurut situs *Food and Agriculture Organization of United Nations*, lebih dari enam miliar orang di dunia mengonsumsi susu. (1) Berdasarkan artikel dari *International Milk Genomics Consortium*, masyarakat di negara dengan pendapatan tinggi meminum susu sebanyak 170 ml per hari, sedangkan rata-rata masyarakat di negara dengan pendapatan rendah meminum susu sebanyak 71 ml per hari. (2) Dibandingkan dengan negara lain di kawasan Asean, Indonesia merupakan negara dengan tingkat konsumsi susu yang masih rendah. Departemen Pertanian AS menyatakan bahwa konsumsi susu per kapita di Indonesia hanya 12,8 liter. Dapat dilihat pada **Gambar 1.1** bahwa jumlah tersebut berbeda secara signifikan dengan negara Filipina, Thailand, dan Malaysia. (3)



**Gambar 1.1** Perbandingan Konsumsi Susu (3)

Menurut dokter spesialis gizi klinik dari Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Dr. dr. Fiastuti Witjaksono, MSc. MS. Sp.GK, salah satu penyebab rendahnya konsumsi susu di Indonesia adalah susu tidak dapat dikonsumsi oleh orang-orang tertentu yang menderita intoleransi laktosa. (4) Intoleransi laktosa adalah ketidakmampuan usus kecil untuk menghidrolisis laktosa. Hal ini disebabkan oleh jumlah enzim laktase yang sedikit bahkan tidak ada sama sekali. (5) Sedikitnya jumlah enzim laktase menyebabkan laktosa

tidak dapat terpecah menjadi glukosa dan galaktosa. Dengan begitu, laktosa yang terkandung dalam susu tidak akan mengalami proses pencernaan dan akan dipecah oleh bakteri di dalam usus halus. Proses fermentasi yang terjadi dapat menimbulkan gas yang menyebabkan kembung dan rasa sakit di perut. Sebagian laktosa yang tidak tercerna akan tetap berada dalam saluran pencernaan dan menyebabkan tidak terjadinya penyerapan air dari feses sehingga penderita akan mengalami diare. (6) Berdasarkan data dari *Cure Research* yang disajikan pada **Tabel 1.1**, di kawasan Asia, Indonesia termasuk negara dengan penderita intoleransi laktosa yang besar. (7)

Terdapat tiga penyebab lain dari intoleransi laktosa. Pertama, gastroenteritis, yang menyebabkan penguraian enzim laktase selama berminggu-minggu. Kedua, infeksi parasit, yang menyebabkan kurangnya jumlah enzim laktase sementara waktu. Ketiga, defisiensi besi, yaitu kurangnya asupan besi yang kemudian mengganggu pencernaan dan penyerapan laktosa. (6) Gejala awal yang dialami oleh intoleransi laktosa adalah penyusutan berat badan, diare, dan dehidrasi kronis. (5)

Susu mengandung kurang lebih 7,4 % laktosa, sehingga merupakan hal yang sangat fatal jika seorang penderita intoleransi laktosa meminum susu. (5) Sangat disayangkan apabila orang tidak dapat mengonsumsi susu karena bagi manusia terutama anak-anak, susu merupakan hal yang penting karena kaya akan nutrisi. Salah satu cara agar para penderita intoleransi laktosa tetap mendapatkan nutrisi dari susu, laktosa di dalam susu dapat diolah terlebih dahulu menjadi glukosa, galaktosa, dan galaktooligosakarida (GOS). Melihat jumlah produksi susu di Indonesia yang tinggi, maka peluang sintesis GOS sangat besar. Dengan adanya sintesis GOS, produksi susu dapat semakin berkembang dan menjadi produk dengan nilai tambah. Dapat dilihat pada **Tabel 1.2** bahwa produksi susu di Indonesia mengalami peningkatan selama empat tahun terakhir.

Galaktooligosakarida (GOS) dianggap sebagai prebiotik karena dapat melewati usus sampai ke usus besar tanpa tercerna. Prebiotik menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri baik di dalam usus. Manfaat dari prebiotik yang sudah terbukti adalah mencegah kanker usus besar, menghilangkan patogen pada saluran pencernaan, meningkatkan adsorpsi kalsium, dan meningkatkan keseimbangan mikroba dalam usus. (9)

Dewasa ini, kesadaran masyarakat untuk menjaga kesehatan semakin besar dengan meningkatnya permintaan terhadap suplemen makanan yang mengandung GOS. Dengan manfaat yang begitu banyak, kini GOS yang merupakan pangan fungsional yang banyak digunakan sebagai bahan baku pembuatan suplemen prebiotik. Tidak hanya untuk prebiotik,



aplikasi galaktooligosakarida di dunia industri sangat luas, yaitu sebagai bahan makanan, kosmetik, pakan ternak, dan *agrochemicals*.

**Tabel 1.1** Data Statistik Penderita Intoleransi Laktosa Kawasan Asia (7)

<b>Negara</b>	<b>Jumlah (Orang)</b>
Bangladesh	15.589.022
Bhutan	241.055
China	143.255.246
East Timor	112.417
Hong Kong	756.079
India	117.471.018
Indonesia	26.299.956
Japan	14.044.080
Laos	669.277
Macau	49.112
Malaysia	2.594.391
Mongolia	303.453
Philippines	9.511.951
Papua New Guinea	597.824
Vietnam	9.117.220
Singapore	480.208
Pakistan	17.558.418
Korea Utara	2.503.406
Korea Selatan	5.319.899
Sri Lanka	2.195.422
Taiwan	2.509.173
Thailand	7.154.285

Di Indonesia, industri yang memproduksi galaktooligosakarida belum begitu berkembang. Masyarakat belum mengetahui apa itu galaktooligosakarida dan apa manfaat yang dihasilkan oleh galaktooligosakarida. Padahal, galaktooligosakarida dapat menjadi jawaban atas permasalahan kesehatan pencernaan dan pangan di Indonesia.

**Tabel 1.2** Produksi Susu Indonesia (8)

<b>Tahun</b>	<b>Produksi Susu (Ton)</b>
2009	827.249
2010	909.533
2011	974.694
2012	959.694
2013	786.849
2014	800.749
2015	835.125
2016	852.951

## **1.2 Tema Sentral Masalah**

Intoleransi laktosa membuat penderitanya tidak dapat mengonsumsi susu, padahal susu sangat kaya manfaatnya bagi tubuh manusia. Hal tersebut sangat merugikan penderita intoleransi laktosa, oleh karena itu dibutuhkan susu dengan kandungan laktosa yang rendah. Namun, di Indonesia, produksi Galaktooligosakarida (GOS) belum berkembang dengan baik, sehingga perlu dipelajari agar nantinya dapat diterapkan pada industri pangan Indonesia. Pada penelitian ini dipelajari faktor-faktor yang mempengaruhi sintesa oligosakarida yaitu aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase dan waktu reaksi transgalaktosilasi. Selain oligosakarida, kadar glukosa dan galaktosa juga akan ditinjau kecenderungannya.

## **1.3 Identifikasi Masalah**

Permasalahan yang teridentifikasi dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase terhadap kadar glukosa, galaktosa, dan oligosakarida pada sintesa oligosakarida berbasis susu ?
2. Bagaimana pengaruh waktu reaksi transgalaktosilasi terhadap kadar glukosa, galaktosa, dan oligosakarida pada sintesa oligosakarida berbasis susu ?

## **1.4 Premis**

Variabel-variabel yang berkaitan dengan identifikasi masalah diperoleh dari studi literatur. Premis-premis disajikan pada **Tabel 1.3** di bagian akhir bab ini.

## 1.5 Hipotesis

Hipotesis yang dapat diambil pada penelitian yang akan datang adalah sebagai berikut:

1. Semakin besar aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase maka kadar glukosa, galaktosa, dan oligosakarida akan meningkat.
2. Semakin lama waktu reaksi transgalaktosilasi maka kadar glukosa, galaktosa, dan oligosakarida akan meningkat.

## 1.6 Tujuan Penelitian

Tujuan utama dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh aktivitas enzim  $\beta$ -galaktosidase dan waktu reaksi transgalaktosilasi terhadap kadar glukosa, galaktosa, dan oligosakarida dalam sintesa oligosakarida berbasis susu.

## 1.7 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. Bagi peneliti

Penelitian ini dapat menambah wawasan peneliti mengenai intoleransi laktosa dan bagaimana cara untuk mengatasinya. Peneliti menjadi tahu akan manfaat galaktooligosakarida (GOS) sebagai prebiotik yang bermanfaat bagi tubuh manusia. Peneliti juga mengetahui bagaimana proses pembuatan GOS dalam skala laboratorium.

2. Bagi industri

Penelitian ini akan membantu industri pangan dalam meningkatkan dan mengembangkan produksi susu rendah laktosa dan kaya akan prebiotik, sehingga produk pangan yang dihasilkan dapat diterima dan dinikmati oleh berbagai kalangan secara lebih luas.

3. Bagi lingkungan

Penelitian ini akan membantu masyarakat, terutama masyarakat di bawah umur 5 tahun yang menderita intoleransi laktosa untuk dapat mengkonsumsi susu sehingga mampu memperbaiki kondisi gizi anak-anak Indonesia yang tentunya akan berdampak pada meningkatnya kesehatan masyarakat.

Tabel 1.3 Premis

No	Judul, Peneliti	Bahan Baku	Variabel Penelitian	Analisa	Hasil Penelitian
1	Synthesis of galacto-oligosaccharides by B-galactosidase from <i>Aspergillus oryzae</i> using partially dissolved and supersaturated solution of lactose <b>Carlos Vera et al. (2012) (10)</b>	- Laktosa monohidrat - $\beta$ -galaktosidase	- Rasio E/S (5-300 IUT/g) - Konsentrasi awal laktosa (40%;50%;60%) - Suhu (40°C;47.5°C;55°C)	Analisa galaktooligosakarida (HPLC)	Hasil yield tertinggi didapatkan saat konsentrasi awal laktosa 50% dan suhu 47,5°C
2	Galactooligosaccharides formation during enzymatic hydrolysis of lactose: Towards a prebiotic-enriched milk <b>Barbara Rodriguez-Colinas et al. (2014) (11)</b>	- Biolactase - Lactozym Pure - Lactase F - Susu skim	- $\beta$ -galaktosidase (Biolactase; Lactozym Pure; Lactase F) - Suhu (40°C;4°C)	Analisa galaktooligosakarida (HPA-PAD)	Hasil GOS tertinggi didapatkan dari $\beta$ -galaktosidase <i>Bacillus circulans</i> (Biolactase) pada suhu 4°C
3	Synthesis of oligosaccharides with lactose and N-acetylglucosamine as substrates by using b-D-galactosidase from <i>Bacillus circulans</i> <b>Wei Li et al. (2010) (12)</b>	- $\beta$ -D-galaktosidase - Laktosa	- Suhu (30°C;40°C;50°C;60°C) - Konsentrasi substrat (0.50 M;0.75 M;1.00 M;1.25 M) - Rasio molar donor (1:2;1:1;2:1;3:1) - Konsentrasi enzim (0.5 U/mL; 1 U/mL; 1.5 U/mL; 2 U/mL)	Analisa oligosakarida (HPLC)	- Yield terbesar terjadi saat rasio molar donor equimolar 1:1 - Produksi oligosakarida tertinggi dihasilkan pada kondisi suhu 40°C
4	Production of lactulose oligosaccharides by isomerisation of transgalactosylated cheese whey permeate obtained by $\beta$ -galactosidases from dairy <i>Kluyveromyces</i> <b>Beatriz Padilla et al. (2015) (13)</b>	- $\beta$ -galaktosidase - Laktosa	Waktu reaksi isomerisasi (0-24 jam)	Analisa galaktooligosakarida (Kromatografi Gas)	Semakin lama waktu isomerisasi (24 jam) maka akan semakin banyak galaktooligosakarida yang dihasilkan

Tabel 1.3 Premis (lanjutan)

5	<p>High-efficiency synthesis of oligosaccharides with a truncated <math>\beta</math>-galactosidase from <i>Bifidobacterium bifidum</i>  <b>F. Jørgensen et al. (2001) (14)</b></p>	<p><math>\beta</math>-galaktosidase                      - Laktosa</p>	<p>Konsentrasi awal laktosa (10%;20%;40%)</p>	<p>Analisa galaktooligosakarida (TLC)</p>	<p>Semakin besar konsentrasi awal laktosa (40%), semakin besar pula yield oligosakarida yang dihasilkan</p>
6	<p>Kinetics and design relation for enzymatic conversion of lactose into galacto-oligosaccharides using commercial grade <math>\beta</math>-galactosidase  <b>Tapas Palai et al. (2012) (15)</b></p>	<p><math>\beta</math>-galaktosidase                      - Laktosa</p>	<p>- Suhu (30°C; 40°C;50°C)                      - Konsentrasi awal laktosa (55-525 g/L)                      - Konsentrasi <math>\beta</math>-galaktosidase (0,05-1,575 g/L)                      - pH (5-6)</p>	<p>Analisa galaktooligosakarida (HPLC)</p>	<p>-Semakin tinggi suhu (50°C), semakin tinggi pula yield galaktooligosakarida yang terbentuk                      -Konsentrasi awal laktosa yang tinggi (525 g/L ) menghasilkan GOS yang besar                      -Peningkatan konsentrasi enzim akan membuat yield GOS menjadi besar lalu pada titik tertentu menjadi konstan</p>

Tabel 1.3 Premis (lanjutan)

7	<p>Simultaneous synthesis and purification (SSP) of galactooligosaccharides in batch operation  <b>Carla Aburto et al. (2016) (16)</b></p>	<p>-<math>\beta</math>-galaktosidase                      - Laktosa</p>	<p>- Efek <i>yeast genus (Saccharomyces cerevisiae dan Kluyveromyces marxianus)</i>                      - Konsentrasi awal laktosa (20;30%;40%;50%)                      - Rasio Enzim-substrat (10; 25; 50; 100; 200 IU/g laktosa)</p>	<p>Analisa galaktooligosakarida (HPLC)</p>	<p>Konsentrasi awal laktosa yang tinggi (50%) dapat menghasilkan yield GOS yang tinggi pula</p>
8	<p>Optimization of galactooligosaccharide production by <i>Bifidobacterium infantis</i> RW-8120 using response surface methodology  <b>D Roy et al. (2002) (17)</b></p>	<p>- Susu skim                      - <i>B. infantis</i></p>	<p>- Temperatur (36°C;40°C;50°C;60°C;6°C)                      -Konsentrasi laktosa (15%; 25%; 35%; 39%)                      - Waktu reaksi (3; 4; 6; 8; 9 jam)                      - Volume sel (0,14; 0,6; 1,72; 2,84; 3,31 ml)                      - Konsentrasi sel</p>	<p>Analisa galaktooligosakarida (HPLC)</p>	<p>Kondisi optimum yang menghasilkan yield GOS terbesar, yaitu 43,04 % adalah saat 8 jam reaksi, 60°C, volume sel 0,6 ml, konsentrasi laktosa 35%</p>
9	<p>Synthesis of <math>\beta</math>-Galactooligosaccharides from Lactose Using Microbial <math>\beta</math>-Galactosidases  <b>Daniel Obed Otieno (2010) (18)</b></p>	<p>Laktosa dari susu dan yogurt</p>	<p>Tidak tercantum</p>	<p>Analisa galaktooligosakarida (HPLC)</p>	<p>Tidak tercantum</p>
10	<p>Synthesis of Galacto-oligosaccharide From Lactose Using h-Galactosidase From <i>Kluyveromyces lactis</i>: Studies on Batch and Continuous UF Membrane-Fitted Bioreactors  <b>Suwimol Chockchaisawasdee et al. (2004) (19)</b></p>	<p>-<math>\beta</math>-galaktosidase                      -Laktosa</p>	<p>- Konsentrasi awal laktosa (220;280;340;400 mg/mL)                      - Konsentrasi enzim (2,9;5,8;8,7 U/ml)                      - Waktu reaksi (0-240 menit)</p>	<p>Analisa galaktooligosakarida (HPAE-PAD)</p>	<p>-Semakin besar konsentrasi awal laktosa (400mg/ml) maka semakin besar konsentrasi GOS yang didapatkan                      -Semakin besar konsentrasi enzim (7 U/ml) maka semakin besar perolehan konsentrasi GOS</p>