

Optimasi Konsentrasi Fruktooligosakarida untuk Meningkatkan Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Starter Yoghurt

(CONCENTRATION OPTIMIZATION OF FRUCTOOLIGOSACCHARIDES TO INCREASE GROWTH OF LACTIC ACID BACTERIA YOGHURT STARTER)

Raden Haryo Bimo Setiarto¹, Nunuk Widhyastuti¹,
Nimas Ayu Rikmawati²

¹Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Bidang Mikrobiologi,
Pusat Penelitian Biologi LIPI
Jalan Raya Jakarta-Bogor Km 46,

Kawasan CSC Cibinong 16911, Jawa Barat, Indonesia

²Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan IPA,
Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia

Email: haryobimo88@gmail.com

ABSTRAK

Fruktooligosakarida adalah sumber prebiotik yang banyak digunakan dalam produk pangan olahan seperti susu fermentasi dan susu formula. Prebiotik adalah komponen bahan pangan fungsional yang tidak dapat dicerna di dalam saluran pencernaan secara enzimatik sehingga akan difermentasi oleh bakteri probiotik dalam usus besar. Penelitian ini bertujuan menentukan konsentrasi optimum fruktooligosakarida untuk meningkatkan pertumbuhan bakteri asam laktat starter yoghurt (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*). Konsentrasi optimum fruktooligosakarida pada pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dapat ditentukan berdasarkan OD (*optical density*), TPC (*Total Plate Count*), total asam laktat tertitrasi dan nilai pH. Penambahan fruktooligosakarida 1% (b/v) pada media MRSB (*Man, Rogosa Sharpe Broth*) dapat meningkatkan secara signifikan pertumbuhan *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*. Bakteri asam laktat *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* mengalami fase pertumbuhan eksponensial selama masa inkubasi 6-18 jam. Fermentasi *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* pada MRSB dengan penambahan fruktooligosakarida dapat menurunkan nilai pH dari kisaran 6,00 hingga 4,00 karena pembentukan asam-asam organik.

Kata-kata kunci: Fruktooligosakarida; *Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus bulgaricus*; Prebiotic; *Streptococcus thermophilus*

ABSTRACT

Fructooligosaccharides are prebiotic source that widely used in food products, such as: fermented milk and infant formula. Prebiotics are food components that cannot be digested in the digestive tract enzymatically. However, they can be fermented by probiotic bacteria in the colon. This study aimed to determine the optimum concentrations of fructooligosaccharides in order to increase the growth of lactic acid bacteria yogurt starter (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*). Optimization concentration of fructooligosaccharides on the growth of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* can be determined based on OD (*optical density*), TPC (*Total Plate Count*), total lactic acid content and pH value. Supplementation of fructooligosaccharides 1% (w/v) on the media MRSB increased significantly the growth of *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*. Furthermore, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* experienced exponential growth phase during incubation period from 6 to 18 hours. Fermentation of *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* in MRSB medium supplemented by fructooligosaccharides decreased the pH value of the formation of organic acids from 6.00 to 4.00.

Keywords: fructooligosaccharides; *Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus bulgaricus*; Prebiotic; *Streptococcus thermophilus*

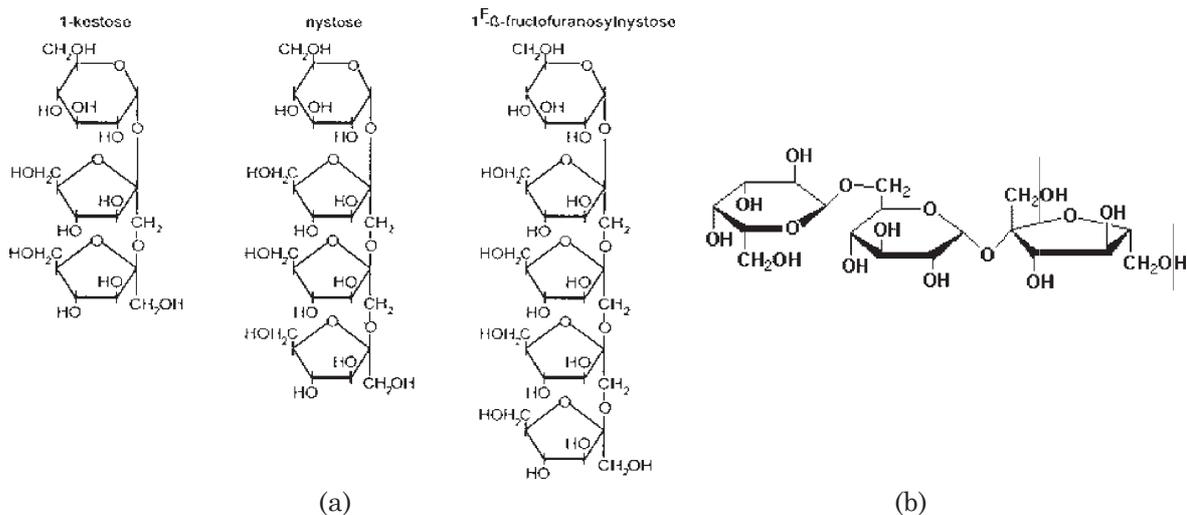
PENDAHULUAN

Penggunaan fruktooligosakarida sebagai sumber prebiotik yang ditambahkan ke dalam makanan diawali dengan penelitian terkait pangan fungsional di Jepang. Prebiotik merupakan bahan pangan yang tidak dapat dicerna di dalam saluran pencernaan sehingga dapat menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri probiotik pada kolon manusia (Robertfroid 2007). Prebiotik diyakini sebagai bahan pangan yang dapat memberikan dampak positif bagi kesehatan karena terbukti mengurangi risiko beberapa penyakit, seperti diare, osteoporosis, obesitas dan kanker kolon (Faudjar *et al.* 2016, O' Bryan *et al.* 2013, Russel *et al.* 2013). Selain itu, prebiotik juga dianggap mampu meningkatkan imunitas dan proteksi sistem urogenital manusia (Duncan dan Flint 2014).

Terdapat beberapa kriteria yang digunakan untuk menggolongkan sebuah bahan pangan sebagai prebiotik, diantaranya tidak dihidrolisis maupun diserap pada saluran gastrointestinal, mampu meningkatkan metabolisme bakteri probiotik, dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Al-Sheraji *et al.* 2013, Guamer dan Malagelada 2003). Berdasarkan kriteria tersebut diketahui beberapa sumber prebiotik yaitu, fruktooligosakarida, galaktooligosakarida, arabinosa, galaktosa, inulin, rafinosa, manosa, laktulosa, xilooligosakarida, dan isomaltooligosakarida (Su *et al.* 2007, Grimoud *et al.* 2010). Secara umum, terdapat prebiotik yang terkandung pada bahan alami maupun dibentuk dengan reaksi tertentu atau dengan bantuan mikroorganisme (Machado *et al.* 2015).

Sumber prebiotik yang banyak diteliti saat ini antara lain inulin dan Frukto Oligosakarida (FOS) (Gibson dan Robertfroid 1995, Adebola *et al.* 2014). Studi klinis menunjukkan bahwa FOS memiliki fungsi sangat penting bagi kesehatan karena bermanfaat untuk meningkatkan jumlah bakteri *Bifidobacterium bifidum* dan *Lactobacillus sp.*, menekan pertumbuhan bakteri patogen yang merugikan, meningkatkan daya tahan saluran cerna, mencegah sembelit dan membantu penyerapan makanan menjadi lebih baik (Gibson dan Robertfroid 1995, Cycroft *et al.* 2001). Berdasarkan eksperimen secara *in-vivo* terhadap hewan percobaan, FOS terbukti dapat menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes dan menekan peningkatan kadar kolesterol darah (Lopes *et al.* 2016).

Fruktooligosakarida (FOS) merupakan jenis prebiotik yang secara alami terdapat pada bahan pangan. FOS terdapat di dalam buah dan sayuran, misalnya bawang merah (2.8 %), bawang putih (1 %), gandum (0.7 %) dan pisang (0.3 %) (Robertfroid 2000, Murphy 2001). Fruktooligosakarida (FOS) merupakan senyawa polisakarida rantai pendek yang tersusun dari tiga hingga sepuluh monomer glukosa dan fruktosa (Hussein *et al.* 1998). Formula fruktooligosakarida umumnya tersusun dari 1-kestosa (GF2), 1-nystosa (GF3), dan 1F-fructofuranosyl nystosa (GF4) dengan unit fructosyl (F) yang terikat pada sukrosa dengan posisi α -2.1 (Falony *et al.*, 2009). Monomer-monomer tersebut disatukan dengan ikatan α -glukosidik (Sousa *et al.*, 2011). Ikatan α -glukosidik menyebabkan FOS memiliki ketahanan tinggi terhadap hidrolisis oleh asam maupun enzim pada saluran gastrointestinal



Gambar 1. Struktur kimia (a) Frukto Oligosakarida dan (b) Rafinosa

manusia dan hanya dapat dicerna oleh probiotik dan menghasilkan asam lemak rantai pendek seperti asetat, laktat dan butirrat (Roberfroid 2000). Oleh karena itu, FOS juga digolongkan sebagai prebiotik karena tergolong sebagai sumber karbon yang mendukung pertumbuhan bakteri probiotik (Wang & Gibson 1993).

Saat ini penggunaan FOS di Indonesia masih sangat terbatas terutama karena harganya yang tinggi (mencapai USD 20/kg) dan merupakan produk import (terutama dari Thailand). Untuk itu diperlukan studi penelitian untuk menganalisis pengaruh konsentrasi prebiotik fruktooligosakarida yang optimum dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik starter yoghurt. Informasi yang dihasilkan dari penelitian ini selanjutnya akan diaplikasikan untuk melakukan fortifikasi senyawa fruktooligosakarida dalam pembuatan yoghurt sinbiotik. Penelitian ini bertujuan melakukan optimasi terhadap konsentrasi fruktooligosakarida yang dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik starter yogurt *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*.

METODE PENELITIAN

Pembuatan media MRSB dan MRSA kultur fermentasi (instant)

Media MRSB *instant* ditimbang sebanyak 52 gram untuk selanjutnya dilarutkan dalam 1 liter akuades. Selanjutnya diaduk sampai homogen dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya, MRSB dituang ke dalam erlenmeyer masing-masing 25 ml, sesuai jumlah perlakuan dan ulangan. Pada masing-masing erlenmeyer yang berisi MRSB tersebut ditambahkan FOS dengan konsentrasi 0 %, 1 %, 3 %, dan 5 %.

Pembuatan MRSB modifikasi

Komposisi media MRSB modifikasi (1L) ditimbang dengan neraca digital yaitu yeast extract 20 gram (sumber N), Beef extract 4 gram (sumber N), Bacto pepton 10 gr, Sodium acetat 5 gram, $K_2H_2PO_4$ 2 gram, $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ 0,2 gr, Ammonium citrate tribasic 2 gr, Tween 80 1 ml, $MnSO_4 \cdot 7 H_2O$ 0,05 gram. Semua bahan dilarutkan dengan *aquadest* didalam gelas piala sedikit demi sedikit hingga volume mencapai 1 L. Campuran diaduk hingga homogen menggunakan magnetic stirrer. Setelah campuran homogen, campuran MRSB modifikasi dipin-

dahkan ke labu Erlenmeyer lalu disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*

Koloni isolat *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dibiakkan pada media MRSB baru, dengan cara masing-masing bakteri diambil sebanyak 2 % (v/v) dari volume MRSB baru dan diinkubasi suhu 37° C selama 24 jam. Setelah inokulasi berumur 24 jam, suspensi bakteri siap diinokulasi pada media fermentasi MRS modifikasi yang mengandung FOS 0 %, 1 %, 3 % dan 5 %.

Pembuatan larutan stok Fruktooligosakarida standar

Larutan stok Fruktooligosakarida standar dibuat dengan konsentrasi 10 % (b/v). Fruktooligosakarida ditimbang sebanyak 10 g dan dilarutkan dalam 100 mL media MRSB, kemudian diaduk sampai homogen, difilter dengan millipor 0,45 μ m. Selanjutnya dilakukan pengenceran untuk memperoleh konsentrasi FOS 1 %, 3 % dan 5 % (b/v).

Uji pengaruh variasi konsentrasi FOS terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*

Uji pengaruh variasi konsentrasi FOS terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dilakukan dengan beberapa cara antara lain perhitungan jumlah total sel dengan menggunakan prinsip turbidimetrik OD (*optical density*), perhitungan jumlah total koloni dengan TPC (*Total Plate Count*) di MRSA serta mengetahui kadar total asam laktat dengan cara titrasi dan pengukuran pH menggunakan pH meter. Jumlah sel bakteri uji dihitung pada masing-masing lama inkubasi (0, 6, 12, 18, dan 24 jam) diambil sebanyak 1 ml untuk dilakukan pengukuran OD pada panjang gelombang 600 nm. Sebanyak 1 ml sampel hasil fermentasi (0, 6, 12, 18 dan 24 jam) diambil untuk dilakukan pengenceran dengan 9 ml akuades steril. Dua pengenceran paling akhir dari masing-masing sampel hasil fermentasi (0, 6, 12, 18 dan 24 jam) diambil 1 ml untuk diinokulasikan pada MRS agar plate dengan metode drop plate, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 48 jam.

Jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* yang tumbuh dihitung dan dinyatakan dalam logaritmik *colony forming unit/ml* (Log CFU/ml).

Pengukuran Nilai Optical Density (OD)

Nilai *optical density* diukur pada setiap beda perlakuan konsentrasi variasi Fruktooligosakarida setelah inkubasi selama 0, 6, 12, 18, dan 24 jam dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm.

Analisis Kadar Total Asam Laktat dan Pengukuran Nilai Derajat Keasaman (pH)

Nilai derajat keasaman (pH) diukur pada setiap perlakuan beda konsentrasi Fruktooligosakarida setelah masa inkubasi 0, 6, 12, 18, dan 24 jam dengan menggunakan pH meter. Sebelum digunakan pH meter dikalibrasi dengan buffer fosfat (pH 6,86) dan buffer asetat (pH 4,00). Sementara itu pengukuran kadar total asam laktat dilakukan dengan cara, sampel diambil 25 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Campuran ini ditambahkan indikator PP (phenolphtalein) untuk uji total asam sebanyak 2 hingga 3 tetes. Sampel kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda yang menandakan telah tercapai titik akhir titrasi.

Analisis Statistik

Data hasil penelitian diolah secara statistik dengan menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA), yang dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf signifikansi 5% apabila hasil yang diperoleh berbeda nyata antar

sampel dengan menggunakan Software SPSS 17.0. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Fruktoligosakarida terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*

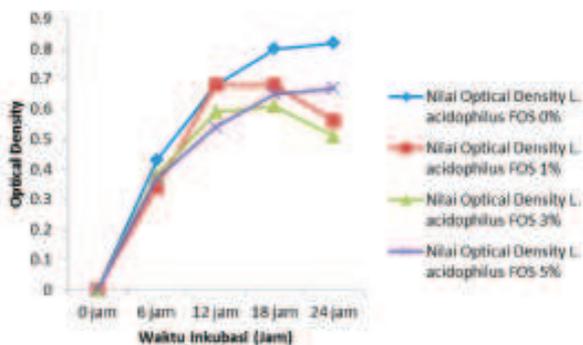
Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dipengaruhi oleh jumlah konsentrasi FOS yang ditambahkan ke dalam media MRSB modifikasi, meskipun nilainya tidak terlalu signifikan ($p < 0,05$). Pada masa inkubasi 24 jam telah terjadi peningkatan pertumbuhan sebanyak 3-4 log (CFU/mL) koloni *L. acidophilus* baik pada perlakuan tanpa pemberian FOS maupun dengan pemberian FOS 1%, 3%, dan 5% (Tabel 1). Jumlah konsentrasi FOS yang ditambahkan dalam media MRSB modifikasi berpengaruh dalam meningkatkan pertumbuhan jumlah total koloni *L. acidophilus*.

Bakteri *L. acidophilus* memasuki fase eksponensial pertumbuhannya mulai dari masa inkubasi jam ke-6 hingga jam ke-12, sebagaimana yang digambarkan oleh grafik peningkatan nilai optical density (OD) *L. acidophilus* (Gambar 1). Selanjutnya pertumbuhan *L. acidophilus* memasuki fase stasioner pada periode masa inkubasi jam ke-12 hingga jam ke-18. Pada akhir masa inkubasi 24 jam pertumbuhan *L. acidophilus* telah memasuki fase kematian (*death*). Penambahan konsentrasi FOS 1% ke dalam media MRSB modifikasi paling efektif dalam meningkatkan pertumbuhan *L. acidophilus* jika dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Hal ini disebabkan perlakuan tersebut mampu menghasilkan peningkatan pertumbuhan jumlah total koloni

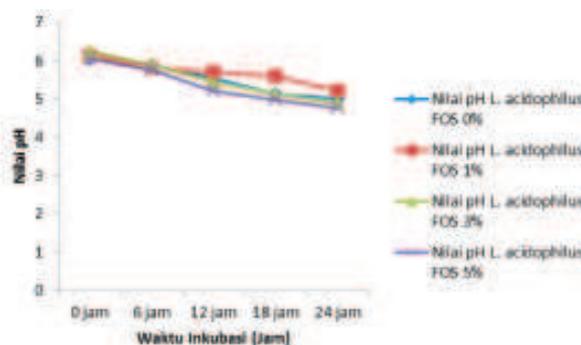
Tabel 1. Jumlah total koloni *Lactobacillus acidophilus* (log CFU/ml sampel) pada beberapa variasi kadar FOS (0%, 1 %, 3%, 5%) selama 24 jam

Interval Masa Inkubasi	Interval lama Jumlah total koloni <i>Lactobacillus acidophilus</i> (log CFU/ml)			
	FOS 0%	FOS 1%	FOS 3%	FOS 5%
0 jam	7,28±0,04 ^a	7,15±0,03 ^a	7,15±0,02 ^a	7,18±0,04 ^a
6 jam	8,08±0,03 ^b	8,04±0,02 ^b	8,20±0,02 ^b	8,20±0,06 ^b
12 jam	8,70±0,02 ^c	8,62±0,04 ^c	8,78±0,01 ^c	8,64±0,03 ^c
18 jam	9,76±0,05 ^d	10,00±0,06 ^f	9,49±0,02 ^d	8,89±0,01 ^c
24 jam	11,15±0,01 ^e	11,41±0,05 ^e	11,26±0,03 ^e	10,34±0,02 ^f

Keterangan : Huruf yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, ($\alpha = 5\%$)



Gambar 1. Nilai *optical density* (OD) *Lactobacillus acidophilus* dengan beberapa variasi kadar FOS (0%, 1 %, 3%, 5%) selama 24 jam



Gambar 2. Nilai pH *Lactobacillus acidophilus* dengan beberapa variasi kadar FOS (0%, 1 %, 3%, 5%) selama 24 jam

Tabel 2. Kadar total asam laktat tertitiasi *Lactobacillus acidophilus* dengan beberapa variasi kadar FOS (0%, 1 %, 3%, 5%) selama 24 jam

Interval lama Inkubasi	Nilai kadar total asam laktat <i>Lactobacillus acidophilus</i> (%)			
	FOS 0%	FOS 1%	FOS 3%	FOS 5%
0 jam	0,27±0,01 ^a	0,27±0,02 ^a	0,22±0,02 ^d	0,18±0,01 ^d
6 jam	0,29±0,01 ^b	0,32±0,02 ^b	0,27±0,02 ^a	0,27±0,02 ^a
12 jam	0,36±0,01 ^c	0,36±0,02 ^c	0,32±0,04 ^b	0,34±0,01 ^b
18 jam	0,38±0,02 ^c	0,38±0,01 ^c	0,36±0,02 ^c	0,39±0,01 ^c
24 jam	0,41±0,02 ^c	0,40±0,01 ^c	0,39±0,02 ^c	0,41±0,03 ^c

Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, ($\alpha= 5\%$)

L. acidophilus tertinggi yaitu sebesar 4,26 log (CFU/mL).

Selama masa inkubasi 24 jam pada bakteri *L. acidophilus*, terjadi peningkatan kadar total asam laktat meskipun nilainya tidak signifikan ($p<0,05$) (Tabel 2). Peningkatan kadar total asam laktat tersebut menyebabkan terjadinya penurunan nilai pH dari kisaran 6,0 menjadi 5,0 (Gambar 2). Peningkatan yang tidak signifikan tersebut terjadi karena asam laktat sebagai asam lemak rantai pendek dimanfaatkan sebagai sumber karbon oleh *Lactobacillus acidophilus* untuk pertumbuhannya melalui jalur metabolisme β -oksidasi, sehingga asam laktat hasil metabolisme FOS langsung dimanfaatkan sebagai sumber energi oleh *Lactobacillus acidophilus*.

Pengamatan terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dibatasi sampai jam ke-24 untuk mencegah penurunan kualitas sensorik produk yoghurt akibat produksi asam laktat berlebih. Hal ini disebabkan tujuan fermentasi FOS ini adalah untuk diaplikasikan

pada produksi yoghurt sinbiotik. Di samping itu setelah memasuki fase stasioner dan kematian sebagian besar asam laktat hasil fermentasi FOS akan mengalami fermentasi alkohol oleh enzim laktat dehidrogenase sehingga dapat menimbulkan cita rasa pahit (Karimi, *et al.*, 2015). Penentuan konsentrasi optimum FOS untuk meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* ditentukan berdasarkan peningkatan jumlah total koloni tertinggi setelah masa inkubasi 24 jam. Semakin tinggi jumlah total koloni bakteri menunjukkan peningkatan pertumbuhan bakteri asam laktat secara signifikan.

Fruktooligosakarida (FOS) merupakan komponen prebiotik yang dapat difermentasi secara selektif oleh kelompok bakteri probiotik yang berasal dari genus *Lactobacillus* sp. dan *Bifidobacterium bifidum* (Modzelewska-Kapitu³a *et al.* 2007, Pokusaeva *et al.* 2011). Berdasarkan hasil penelitian Lopes *et al.* (2016) diketahui bahwa FOS mampu meningkatkan pertumbuhan kelompok bakteri probiotik *Lactobacillus*

sp. lebih baik daripada *Bifidobacterium bifidum*. Produk fermentasi utama FOS adalah asam laktat dan asam asetat (Karimi *et al.* 2015, Rossi *et al.* 2005).

Peningkatan produksi asam laktat yang dihasilkan selama fermentasi berhubungan dengan kenaikan nilai *optical density* pertumbuhan *L. acidophilus*. Tingkat fermentabilitas berbagai karbohidrat berkaitan dengan sistem hidrolisis secara enzimatis oleh bakteri. Sebagai contohnya, fruktofuranosidase adalah enzim yang menghidrolisis gugus fruktosa dari FOS pada posisi ujung-2,1 sehingga memberikan kontribusi dalam metabolisme fruktan (Karimi *et al.* 2015). Beberapa faktor yang mempengaruhi fermentabilitas FOS diantaranya adalah struktur sakarida (tingkat percabangan molekul dan ikatan glikosidik yang terbentuk), derajat polimerisasi (ukuran panjang rantai) (Al-Sheraji *et al.* 2013).

Salah satu manfaat FOS sebagai prebiotik adalah pH di dalam saluran pencernaan sedikit lebih asam sehingga menguntungkan untuk pertumbuhan bakteri probiotik. Penurunan pH kolon dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri probiotik dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Van Loo 2004). Prebiotik FOS dapat meningkatkan pertumbuhan probiotik dengan menurunkan pH usus ke tingkat optimal, yang dipengaruhi oleh sifat fisikokimia asam empedu (Rodrigues *et al.* 1998). Konsentrasi tinggi prebiotik FOS dapat menurunkan kelarutan asam empedu yang dapat menurunkan toksisitasnya. Huebner *et al.* (2007) telah melakukan penelitian untuk memilih prebiotik dengan penambahan FOS (fruktooligosakarida), inulin dan GOS (galaktooligosakarida) yang terbukti ketiganya mampu meningkatkan pertumbuhan *Lactobacillus* sp. dan *Bifidobacteria*. Kombinasi tertentu antara probiotik dan prebiotik memberi peningkatan tertinggi. Hal ini termasuk *Lactobacillus paracasei* 1195 yang dapat ditumbuhkan pada media yang mengandung FOS (Huebner *et al.* 2007).

FOS diproduksi dengan aktivitas transfruktosilasi oleh enzim fruktosil transferase (FTase). Sumber enzim untuk sintesis FOS terbagi menjadi dua yaitu berasal dari tumbuhan dan berasal dari mikroorganisme seperti *Arthrobacter* sp., *Fusarium* sp., dan *Aspergillus* sp. FOS yang diproduksi dengan bantuan enzim tumbuhan memiliki keterbatasan jumlah produk karena bergantung pada kondisi musim tumbuhan terkait sehingga produktivitasnya

terbatas. Sementara FOS yang diproduksi dengan bantuan enzim dari mikroorganisme lebih terjamin ketersediaannya meskipun dengan biaya produksi yang lebih tinggi (Rossi *et al.* 2005). FOS memiliki karakter larut dalam air, memiliki tingkat kemanisan 30% dari sukrosa, memiliki tingkat kekentalan dan stabilitas terhadap perubahan suhu yang lebih tinggi dibandingkan dengan sukrosa. FOS stabil pada pH normal (4.0 - 7.0) sehingga cenderung digunakan sebagai bahan tambahan pada makanan karena karakternya sesuai dengan karakter penyimpanan makanan kemasan khususnya untuk makanan beku (Buriti *et al.* 2007). Selain itu, karakter FOS yang tidak dapat dicerna secara langsung pada saluran gastrointestinal manusia menyebabkan FOS berperan sebagai prebiotik (Cardarelli *et al.* 2008).

Optimasi Fruktoligosakarida terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus*

Pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* dipengaruhi oleh konsentrasi FOS yang ditambahkan ke dalam media MRSB modifikasi ($p < 0,05$). Hal ini ditunjukkan dengan meningkatnya pertumbuhan jumlah total koloni *L. bulgaricus* selama masa inkubasi 24 jam sebanyak 3-4 log (CFU/mL) baik pada perlakuan tanpa pemberian FOS maupun pemberian FOS 1%, 3% dan 5% (Tabel 3). *L. bulgaricus* memasuki fase eksponensial pertumbuhannya mulai dari masa inkubasi jam ke-6 hingga jam ke-18, sebagaimana yang digambarkan dalam grafik peningkatan nilai *optical density* (OD) *L. bulgaricus* (Gambar 3). Setelah memasuki jam ke-24 pertumbuhan *L. bulgaricus* telah memasuki fase kematian (*death*) karena habisnya substrat FOS dan nutrisi sumber karbon maupun sumber nitrogen yang terkandung dalam media MRSB. Penambahan konsentrasi FOS 1% ke dalam media MRSB modifikasi paling efektif dalam meningkatkan pertumbuhan *L. bulgaricus* jika dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Hal ini disebabkan perlakuan tersebut mampu menghasilkan peningkatan pertumbuhan jumlah total koloni *L. bulgaricus* tertinggi yaitu sebesar 4,77 log (CFU/mL). Selain itu perlakuan tersebut juga mempercepat *L. bulgaricus* masuk ke fase pertumbuhan eksponensial selama periode inkubasi pada jam ke-6 sampai jam ke-18.

Gambar 3 memperlihatkan grafik pola pertumbuhan *L. bulgaricus* yang berbeda jika dibandingkan dengan grafik pola pertumbuhan

L. acidophilus pada Gambar 1. Pertumbuhan *L. bulgaricus* meningkat secara signifikan setelah pemberian konsentrasi FOS 1 %, 3 %. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi FOS yang difortifikasi ke dalam media MRSB, maka akan semakin mempercepat laju pertumbuhan *L. bulgaricus*. Kecepatan pertumbuhan sel *L. bulgaricus* berbanding lurus dengan kebutuhan energi metabolisme yang diperlukan oleh bakteri tersebut untuk melakukan pembelahan sel. Kebutuhan energi yang tinggi ini akan menginduksi sel untuk mempercepat proses metabolismenya sehingga nutrisi yang terkandung dalam media pertumbuhan *L. bulgaricus* lebih cepat habis. Hal inilah yang membuat *L. bulgaricus* lebih cepat masuk ke fase stasioner dan kematian pada pemberian konsentrasi FOS 1 % dan 3 %. Pada perlakuan tanpa pemberian konsentrasi FOS (0%) laju pertumbuhan *L. bulgaricus* justru lebih lambat, sehingga pada akhir jam ke-24 *L. bulgaricus*

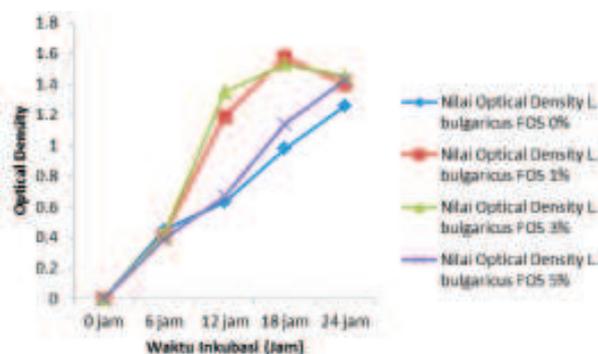
masih terus mengalami fase eksponensial dan belum mencapai fase stasioner (Gambar 3). Hal ini semakin membuktikan bahwa prebiotik FOS merupakan sumber nutrisi penting dan esensial yang dibutuhkan oleh *L. bulgaricus* dalam meningkatkan dan mempercepat laju pertumbuhannya.

Selama masa inkubasi 24 jam pada fermentasi FOS oleh bakteri *L. bulgaricus* terjadi peningkatan kadar total asam laktat secara signifikan ($p < 0,05$) (Tabel 4). Peningkatan kadar total asam laktat tersebut menyebabkan terjadinya penurunan nilai pH yang juga signifikan dari kisaran 6,0 menjadi 4,0 (Gambar 4). Peningkatan yang terjadi secara signifikan tersebut menunjukkan bahwa bakteri *L. bulgaricus* mampu menghasilkan enzim fruktofuranosidase dengan aktivitas tinggi, sehingga dapat menghidrolisis FOS menjadi fruktosa yang selanjutnya akan diubah menjadi produk asam laktat oleh enzim laktat dehidrogenase. Semakin tinggi jumlah

Tabel 3. Jumlah total koloni *Lactobacillus bulgaricus* (log CFU/ml sampel) pada beberapa variasi kadar FOS (0%, 1 %, 3%, 5%) selama 24 jam

Interval lama Inkubasi	Jumlah total koloni <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (log CFU/ml)			
	FOS 0%	FOS 1%	FOS 3%	FOS 5%
0 jam	7,02±0,01 ^a	6,99±0,04 ^a	7,02±0,06 ^a	6,83±0,02 ^a
6 jam	7,69±0,03 ^b	7,55±0,06 ^b	7,72±0,03 ^b	7,77±0,04 ^b
12 jam	8,18±0,04 ^c	8,93±0,02 ^f	8,90±0,05 ^f	8,36±0,07 ^c
18 jam	9,69±0,02 ^d	9,80±0,03 ^d	10,11±0,02 ^d	9,80±0,03 ^d
24 jam	10,98±0,05 ^e	11,76±0,05 ^g	10,76±0,01 ^e	10,38±0,02 ^e

Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, ($\alpha = 5\%$)



Gambar 3. Nilai optical density (OD) *Lactobacillus bulgaricus* dengan beberapa variasi kadar FOS (0%, 1 %, 3%, 5%) selama 24 jam

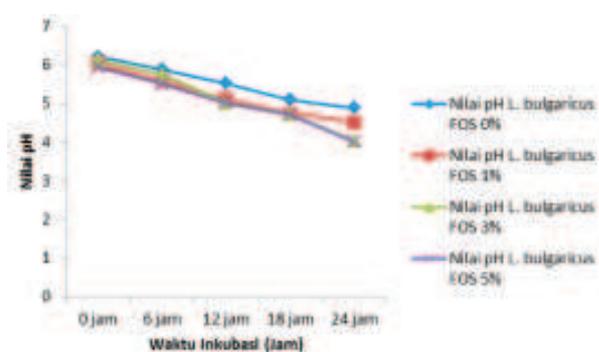
konsentrasi FOS yang ditambahkan dalam media MRS modifikasi akan semakin meningkatkan jumlah kadar total asam laktat yang terakumulasi sehingga penurunan nilai pH juga terjadi secara signifikan dengan seiring lamanya waktu inkubasi.

Rata-rata nilai pH pada awal fermentasi untuk semua perlakuan adalah 6,0 dan nilai pH menurun sejalan dengan lamanya waktu fermentasi. Perubahan nilai pH disebabkan karena terbentuknya asam-asam organik dengan produk utamanya adalah asam laktat. Sebagaimana dilaporkan oleh Alvarez-Olmas & Oberhelman (2001) bahwa dalam fermentasi karbohidrat oleh bakteri asam laktat menghasilkan asam-asam organik seperti laktat

Tabel 4. Kadar total asam laktat tertitrisasi *Lactobacillus bulgaricus* dengan beberapa variasi kadar FOS (0%, 1 %, 3%, 5%) selama 24 jam

Interval lama Inkubasi	Nilai kadar total asam laktat <i>Lactobacillus bulgaricus</i> (%)			
	FOS 0%	FOS 1%	FOS 3%	FOS 5%
0 jam	0,18±0,02 ^a	0,27±0,02 ^b	0,36±0,01 ^c	0,23±0,02 ^b
6 jam	0,20±0,02 ^a	0,59±0,02 ^d	0,81±0,01 ^g	0,59±0,01 ^d
12 jam	0,26±0,01 ^b	0,64±0,01 ^e	1,08±0,02 ^h	0,81±0,01 ^g
18 jam	0,32±0,01 ^c	0,72±0,01 ^f	1,26±0,02 ⁱ	0,86±0,03 ^g
24 jam	0,36±0,01 ^c	0,81±0,01 ^g	1,44±0,02 ^j	1,17±0,02 ^h

Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, ($\alpha= 5\%$)



Gambar 4. Nilai pH *Lactobacillus bulgaricus* dengan beberapa variasi kadar FOS (0%, 1 %, 3%, 5%) selama 24 jam

dan asetat yang membuat asam pH di sekitarnya sehingga organisme patogen tidak mampu hidup. Dengan demikian perubahan pH menjadi asam akan menyebabkan efek antimikroba bagi mikroba patogen, sebaliknya bakteri asam laktat masih dapat hidup dalam suasana asam dengan pH optimum 3–5 (Djaafar *et al.* 1996).

Lactobacillus acidophilus, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* merupakan kelompok jenis bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif. Bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif dapat memproduksi asam laktat sebagai produk mayoritas dari fermentasi karbohidrat dan sebagian kecil asetat melalui jalur heksosa difosfat (HDP) atau disebut juga Embden – Meyerhoff Pathway (Cummings, *et al.*, 2001). Sementara itu bakteri asam laktat bersifat heterofermentatif dapat menghasilkan asam laktat dari fermentasi karbohidrat melalui jalur heksosa monofosfat (HMP) atau biasa juga disebut jalur fosfoketolase dan jalur pentosa fosfat (Cummings, *et al.*, 2001). Karimi *et al.*,

(2015) melaporkan bahwa asam laktat yang terbentuk pada proses fermentasi sebagian besar diubah menjadi asam asetat, asam propionat dan butirrat melalui jalur asetil-KoA.

Optimasi Fruktoligosakarida terhadap Pertumbuhan *Streptococcus thermophilus*

Hampir serupa dengan *L. acidophilus* dan *L. bulgaricus*, pertumbuhan *Streptococcus thermophilus* dipengaruhi oleh konsentrasi FOS yang ditambahkan ke dalam media MRSB modifikasi ($p < 0,05$). Hal ini ditunjukkan dengan meningkatnya pertumbuhan jumlah total koloni *Streptococcus thermophilus* selama masa inkubasi 24 jam sebanyak 3-4 log (CFU/mL) koloni *Streptococcus thermophilus* pada perlakuan pemberian FOS 1%, 3% dan 5 % (Tabel 5). Hampir menyerupai pola pertumbuhan *L. acidophilus* dan *L. bulgaricus*, bakteri *Streptococcus thermophilus* memasuki fase eksponensial pertumbuhannya mulai dari masa inkubasi jam ke-6 hingga jam ke-18, sebagaimana yang digambarkan oleh grafik peningkatan nilai *optical density* (OD) (Gambar 5). Pada periode jam ke-18 sampai jam ke-24, pertumbuhan *Streptococcus thermophilus* telah memasuki fase stasioner. Setelah jam ke-24 pertumbuhan *Streptococcus thermophilus* telah memasuki fase kematian karena telah habisnya substrat FOS dan nutrisi sumber karbon maupun sumber nitrogen lainnya yang terkandung dalam media MRSB.

Penambahan konsentrasi FOS 1 % ke dalam media MRSB modifikasi paling efektif dalam meningkatkan pertumbuhan *Streptococcus thermophilus* jika dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Hal ini disebabkan perlakuan tersebut mampu menghasilkan peningkatan pertumbuhan jumlah total koloni

Streptococcus thermophilus tertinggi yaitu sebesar 4,1 log (CFU/mL). Selain itu perlakuan tersebut juga mempercepat *Streptococcus thermophilus* masuk ke fase pertumbuhan eksponensial selama periode inkubasi jam ke-6 sampai jam ke-18. Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bahwa perlakuan pemberian konsentrasi FOS 1 % paling optimal untuk meningkatkan dan mempercepat pertumbuhan *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*, jika dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya.

Gambar 5 memperlihatkan grafik pola pertumbuhan *S. thermophilus* yang hampir serupa jika dibandingkan dengan grafik pola pertumbuhan *L. bulgaricus* pada gambar 3, namun sangat berbeda dengan grafik pola pertumbuhan *L. acidophilus* (gambar 1). Pertumbuhan *S. thermophilus* meningkat secara signifikan setelah pemberian konsentrasi FOS 1 % dan 3 %. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi FOS yang

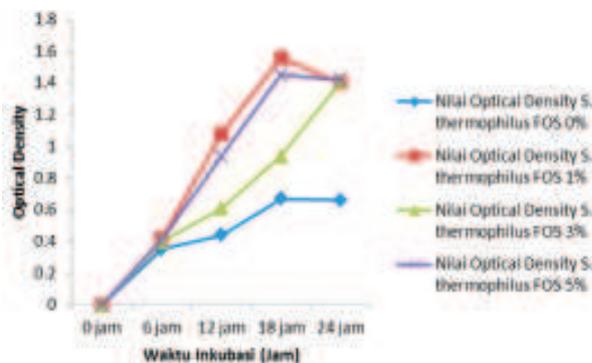
difortifikasi ke dalam media MRSB, maka akan semakin mempercepat laju pertumbuhan *S. thermophilus*.

Kecepatan pertumbuhan sel *S. thermophilus* berbanding lurus dengan kebutuhan energi metabolisme yang diperlukan oleh bakteri tersebut untuk melakukan pembelahan sel. Kebutuhan energi yang tinggi ini akan menginduksi sel untuk mempercepat proses metabolismenya sehingga nutrisi yang terkandung dalam media pertumbuhan *S. thermophilus* lebih cepat habis. Hal inilah yang membuat *S. thermophilus* lebih cepat masuk ke fase stasioner dan kematian pada pemberian konsentrasi FOS 1 % dan 5 %. Pada perlakuan tanpa pemberian konsentrasi FOS (0%) laju pertumbuhan *S. thermophilus* justru lebih lambat, sehingga pada akhir jam ke-24 *S. thermophilus* masih terus mengalami fase eksponensial dan belum mencapai fase stasioner (Gambar 5). Hal ini semakin membuktikan bahwa prebiotik FOS merupakan sumber nutrisi

Tabel 5. Jumlah total koloni *Streptococcus thermophilus* (log CFU/ml sampel) pada beberapa variasi kadar FOS (0%, 1%, 3%, 5%) selama 24 jam

Interval lama Inkubasi	Jumlah total koloni <i>Streptococcus thermophilus</i> (log CFU/ml)			
	FOS 0%	FOS 1%	FOS 3%	FOS 5%
0 jam	7,24±0,02 ^a	6,94±0,03 ^f	6,90±0,03 ^f	6,93±0,01 ^f
6 jam	7,57±0,04 ^b	7,62±0,05 ^b	7,49±0,01 ^b	7,74±0,02 ^b
12 jam	8,23±0,01 ^c	8,49±0,01 ^d	9,48±0,03 ^e	8,32±0,04 ^d
18 jam	8,43±0,03 ^d	9,35±0,04 ^e	10,18±0,04 ^h	9,36±0,03 ^e
24 jam	9,18±0,02 ^e	11,04±0,02 ^f	10,23±0,03 ^h	10,58±0,06 ^h

Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, ($\alpha = 5\%$)



Gambar 5. Nilai *optical density* (OD) *Streptococcus thermophilus* dengan beberapa variasi kadar FOS (0%, 1 %, 3%, 5%) selama 24 jam

penting dan esensial yang dibutuhkan oleh *S. thermophilus* untuk meningkatkan dan mempercepat laju pertumbuhannya.

Penurunan pH selama fermentasi FOS oleh *Streptococcus thermophilus* dipengaruhi oleh adanya aktivitas bakteri tersebut dalam menghidrolisis FOS menjadi asam laktat (Gambar 6 dan Tabel 6). Dihasilkannya asam laktat sebagai hasil metabolisme FOS menyebabkan penurunan nilai pH yang signifikan dari kisaran 6,0 menjadi 4,0. Hal tersebut terkait dengan semakin meningkatnya jumlah populasi bakteri asam laktat yang menggunakan FOS sebagai sumber karbon untuk pertumbuhannya. Semakin banyak sumber karbon yang dapat dimetabolisme maka

semakin banyak pula asam laktat yang dihasilkan sehingga secara otomatis pH juga akan semakin rendah. Duncan dan Flint (2013) melaporkan bahwa bakteri jenis *Streptococcus sp.* bertanggung jawab atas penurunan pH awal yogurt menjadi sekitar 5,0. Kemudian jenis *Lactobacillus sp.* bertanggung jawab atas penurunan lebih lanjut sampai pH mencapai 4,5. *S. thermophilus* menghasilkan enzim fruktofuranosidase yang menghidrolisis FOS menjadi fruktosa untuk selanjutnya diubah menjadi produk asam laktat oleh enzim laktat dehidrogenase. Konsentrasi FOS 1 % yang ditambahkan dalam media MRS modifikasi memberikan peningkatan tertinggi terhadap kadar total asam laktat selama pertumbuhan bakteri *S. thermophilus* (Tabel 6).

Menurut Cummings et al. (2001) manfaat asam lemak rantai pendek hasil metabolisme FOS terhadap kesehatan, antara lain adalah senyawa tersebut dapat diabsorpsi oleh mukosa usus dan berperan dalam pemenuhan kebutuhan energi. Asam laktat akan menjadikan kondisi

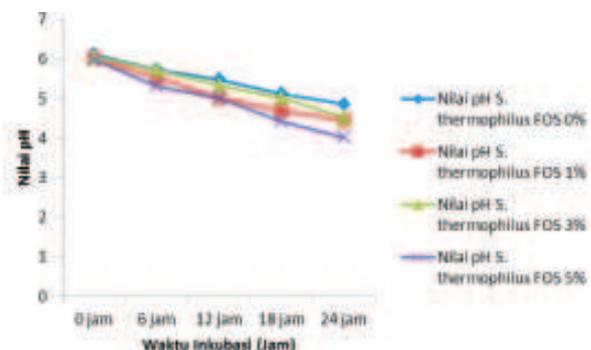
usus menjadi asam sehingga bakteri patogen yang tidak tahan asam akan mati. Asam asetat akan dimetabolisme pada sel otot, ginjal, jantung dan otak. Asam propionat merupakan prekursor glukoneogenik yang menekan sintesis kolesterol dalam hati. Hal ini dibuktikan dengan percobaan *in vitro* oleh Pereira et al. (2003) terhadap penurunan kadar kolesterol yang disebabkan tingginya kadar propionat oleh *Lactobacillus fermentum*. Naruszewicz et al. (2002) membuktikan bahwa *Lactobacillus plantarum* dapat menurunkan tekanan darah, fibrinogen dan kolesterol LDL serta menaikkan kolesterol HDL. Sementara itu asam butirat merupakan sumber energi utama untuk kolonosit, dimana butirat dimetabolisme oleh epitel kolon dan berfungsi sebagai regulator pertumbuhan dan deferensiasi sel (Russel, et al., 2013). Di samping itu asam butirat memegang peranan penting dalam mencegah kanker (Topping dan Clifton, 2001).

Macfarlane dan Cummings, (1999) melaporkan bahwa fermentasi fruktooligosakarida

Tabel 6. Kadar total asam laktat tertitiasi *Streptococcus thermophilus* dengan beberapa variasi kadar FOS (0%, 1%, 3%, 5%) selama 24 jam

Interval lama Inkubasi	Nilai kadar total asam laktat <i>Streptococcus thermophilus</i> (%)			
	FOS 0%	FOS 1%	FOS 3%	FOS 5%
0 jam	0,15±0,02 ^a	0,20±0,01 ^c	0,27±0,02 ^d	0,25±0,01 ^d
6 jam	0,21±0,02 ^a	0,54±0,02 ^b	0,58±0,01 ^e	0,59±0,01 ^e
12 jam	0,29±0,01 ^a	0,81±0,02 ^c	0,77±0,02 ^e	0,72±0,02 ^g
18 jam	0,32±0,01 ^a	0,99±0,02 ^a	0,81±0,01 ^f	0,77±0,03 ^h
24 jam	0,36±0,02 ^b	1,08±0,01 ^d	0,99±0,02 ^e	0,99±0,02 ^g

Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan nilai yang berbeda nyata dengan taraf nyata 95 %, (α= 5 %)



Gambar 6. Nilai pH *Streptococcus thermophilus* dengan beberapa variasi kadar FOS (0%, 1 %, 3%, 5%) selama 24 jam

merupakan sumber energi utama bagi bakteri probiotik seperti *Lactobacillus sp.* dan *Bifidobacterium*. Seiring dengan kebutuhan energi untuk pertumbuhannya, ketersediaan karbohidrat akan berkurang, sehingga protein dan asam amino akan menjadi sumber energi metabolik dominan untuk bakteri probiotik di kolon (Salem et al. 2007). Hal ini akan menyebabkan meningkatnya bakteri patogen di usus sebab protein dan asam amino adalah merupakan sumber nutrisi utama bagi bakteri patogen. Oleh karena itu, konsumsi FOS sebagai senyawa karbohidrat yang sulit dicerna sangat dibutuhkan untuk menjaga keseimbangan mikroflora di usus. Hal inilah yang pada akhirnya memunculkan konsep prebiotik (Alves

et al. 2013). Pada produksi asam lemak rantai pendek, senyawa FOS akan dihidrolisis oleh enzim fruktofuranosidase yang dihasilkan oleh *Lactobacillus acidophilus* menjadi fruktosa (Makras *et al.*, 2005). Selanjutnya fruktosa yang merupakan pentosa akan mengalami proses glikolisis menjadi asam piruvat. Dalam proses metabolisme selanjutnya asam piruvat akan diubah menjadi asam laktat, asam asetat, asam propionat, asam butirat dan CO₂ (Wang dan Gibson, 1993).

SIMPULAN

Kadar optimal FOS yang perlu ditambahkan ke dalam media MRSB untuk meningkatkan pertumbuhan *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* secara signifikan adalah sebesar 1 % (b/v). *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* mengalami fase eksponensial pertumbuhannya mulai dari masa inkubasi jam ke-6 hingga jam ke-18 dan mulai mengalami fase stasioner serta fase kematian pada akhir jam ke-24. Selama pertumbuhan *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* dalam media MRSB yang disuplementasi FOS terjadi penurunan nilai pH dari kisaran 6,00 menjadi 4,00 karena terjadinya pembentukan asam laktat.

SARAN

Untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan studi komparatif dengan membandingkan kemampuan pertumbuhan ketiga isolat bakteri asam laktat starter yoghurt tersebut terhadap sumber prebiotik yang lain seperti rafinosa dan pati resisten.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kegiatan penelitian ini didanai oleh kegiatan Inkubasi Teknologi Pusat Inovasi LIPI 2016. Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada bapak Dr. Iwan Saskiawan, ibu Kasirah, Dewi Rista, Rina Marita Safitri dan Nety Agustin yang telah membantu baik secara teknis maupun non teknis sehingga penelitian ini berjalan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Adebola OO, Corcoran O, Morgan WA. 2014. Synbiotics: the impact of potential prebiotics inulin, lactulose and lactobionic acid on the survival and growth of lactobacilli probiotics. *Journal of Functional Foods* 10: 75–84.
- Al-Sheraji SH, Ismaila A, Manap MY, Mustafa S, Yusof RM, Hassan FA. 2013. Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Foods* 5: 1542–1553.
- Alvarez-Olmos MI, Oberhelman RA. 2001. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clinical Infectious Diseases* 32: 1567–1576.
- Alves LL, Richards NSPS, Mattanna P, Andrade DF, Rezer APS, Milani LIG. 2013. Cream cheese as a symbiotic food carrier using *Bifidobacterium animalis* Bb-12 and *Lactobacillus acidophilus* La-5 and inulin. *International Journal of Dairy Technology* 66: 63–69.
- Buriti FCA, Cardarelli HR, Filisetti TMCC, Saad SMI. 2007. Symbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. *Food Chemistry* 104: 1605–1610.
- Cardarelli HR, Buriti FCA, Castro IA, Saad SMI. 2008. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable counting potentially symbiotic petisuisse cheese. *LWT – Food Science and Technology* 41: 1037–1046.
- Cummings JH, Macfarlane GT, Englyst HN. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. *American Journal of Clinical Nutrition* 73: 415–420.
- Cycroft CE, Jones MR, Gibson GR, Rostall RA. 2001. A Comparative In Vitro Evaluation on the Fermentation properties of Prebiotic Oligosaccharides. *Journal of Applied Microbiology* 91: 878–897.
- Djaafar TF, Rahayu ES, Wibowo, Sudarmadji. 1996. Substansi Antimikroba Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Makanan Hasil Fermentasi Tradisional Indonesia. *Jurnal Pertanian Indonesia* 1: 15–21.

- Duncan SH, Flint HJ. 2013. Probiotics and prebiotics and health in ageing populations. *Maturitas* 75(1): 44–50.
- Falony G, Lazidou K, Verschaeren A, Weckx S, Maes D, De Vuyst L. 2009. In vitro kinetic analysis of fermentation of prebiotic inulin-type fructans by *Bifidobacterium* species reveals four different phenotypes. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 454–461.
- Faudjar SS, Mehrishi P, Bishnoi S, Sharma A. 2016. Role of Probiotics in human health and disease: an update. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 5(3): 328–344.
- Gibson GR, Roberfroid MB. 1995. Dietary modulation of human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutrition* 125 (6): 1401-1412.
- Grimoud J, Durand H, Courtin C, Monsan P, Ouarné F, Theodorou V, Roques C. 2010. In vitro screening of probiotic lactic acid bacteria and prebiotic glucooligosaccharides to select effective synbiotics. *Anaerobe* 16: 493–500.
- Guamer F, Malagelada JR. 2003. Gut flora in health and disease. *European Nutrition Research* 361 (9356): 512-519.
- Huebner J, Wehling RL, Hutkins RW. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal* 17: 770–775.
- Hussein H, Campbell JM, Bauer LL, Fahey GC, Hogarth AJCL, Wolf BW, Hunter DE. 1998. Selected fructooligosaccharide composition of pet-food ingredients. *Journal Nutrition* 128: 2803–2803.
- Karimi R, Azizi MH, Ghasemlouc M, Vaziri M. 2015. Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydrate Polymers* 119: 85–100.
- Lopes SMS, Francisco MG, Higashi B, de Almeida RTR, Krausová G, Pilau EJ, Goncalves JE, Goncalves RAC, de Oliveira AJB. 2016. Chemical characterization and prebiotic activity of fructo-oligosaccharides from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) roots and in vitro adventitious root cultures. *Carbohydrate Polymers* 152: 718–725.
- Macfarlane GT, Cumming JH. 1999. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health. *Br. Med. J.* 318: 999–1003.
- Machado MTC, Kalia SE, Vieira GS, Menegalli FC, Martínez J, Hubinger MD. 2015. Prebiotic oligosaccharides from artichoke industrial waste: evaluation of different extraction methods. *Industrial Crops and Products* 76: 141–148.
- Makras L, Van Acker G, De Vuyst L. 2005. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* 8700:2 degrades inulin-type fructans exhibiting different degrees of polymerization. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 6531–6537.
- Modzelewska-Kapitula ML, Klebukowska, Kornacki K. 2007. Influence of inulin and potentially probiotic *Lactobacillus plantarum* strain on microbiological quality and sensory properties of soft cheese. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 57: 143–146.
- Murphy O. 2001. Non-polyol low-digestible carbohydrates: Food applications and functional benefits. *British Journal of Nutrition* 85 (1): 547–553.
- Naruszewicz M, Johansson ML, Zapolska-Downar D, Bukowska H. 2002. Effect of *Lactobacillus plantarum* on cardiovascular disease risk factors in smokers. *American Journal of Clinical Nutrition* 76: 1249–1255.
- O' Bryan CA, Pak D, Crandall PG, Lee SO, Ricke SC. 2013. The role of prebiotic and probiotics in human health. *J Prob Health* 1(2): 1-8.
- Pereira DIA, McCartney AL, Gibson GR. 2003. An in vitro study of the probiotic potential of a bile-salt-hydrolysing *Lactobacillus fermentum* strain, and determination of its cholesterol-lowering properties. *J. Applied and Environmental Microbiology* 69: 4743–4752.
- Pokusaeva K, Fitzgerald GF, van Sinderen D. 2011. Carbohydrate metabolism in bifidobacteria. *Genes & Nutrition* 6: 285–306.
- Roberfroid MB. 2000. Chicory fructooligosaccharides and the gastrointestinal tract. *Journal Nutrition* 16: 677-679.

- Roberfroid MB. 2007. Prebiotic: the concept revisited. *The Journal of Nutrition* 137: 830-837.
- Rodrigues D, Rocha-Santos TAP, Pereira CI, Gomes AM, Malcata FX, Freitas AC. 2011. The potential effect of FOS and inulin upon probiotic bacterium performance in curdled milk matrices. *LWT – Food Science and Technology* 44: 100–108.
- Rossi M, Corradini C, Amaretti A, Nicolini M, Pompei A, Zanoni S. 2005. Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: A comparative study of pure and fecal cultures. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 6150–6158.
- Russell WR, Duncan SH, Flint HJ. 2013. The gut microbial metabolome: Modulation of cancer risk in obese individuals. *The Proceedings of the Nutrition Society* 72: 177–188.
- Salem MME, Abd El-Gawad MAM, Hassan FAM, Effat BA. 2007. Use of symbiotics for the production of functional low-fat Labneh. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 57: 151–159.
- Sousa VMC, Santos EFD, Sgarbieri VC. 2011. The importance of prebiotics in functional foods and clinical practice. *Food and nutrition sciences* 2: 133-144.
- Su P, Henriksson A, Mitchell H. 2007. Selected prebiotics support the growth of probiotic monocultures in vitro. *Anaerobe* 13: 134–139.
- Topping DL, Clifton PM. 2001. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and non starch polysaccharides. *Physiological Reviews* 81: 1031–1064.
- Van Loo J. 2004. The specificity of the interaction with intestinal bacterial fermentation by prebiotic determine their physiological efficacy. *Nutrition Research Reviews* 17: 89–98.
- Wang X, Gibson GR. 1993. Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *J. Appl. Bacteriol* 75: 373–380.