

INTISARI

Ficus glomerata Roxb merupakan spesies tanaman yang termasuk kedalam family *Moraceae* yang populer diketahui sebagai Cluster fig tree, dan merupakan tanaman asli Australia, Malaysia, Asia Tenggara dan benua India dan menurut Plantamor., (2012) bahwa *Ficus glomerata* Roxb adalah salah satu tanaman yang mampu bertindak sebagai sumber fitokimia (termasuk sebagai sumber senyawa fenolik) dan memiliki aktivitas antioksidan. Potensi *Ficus glomerata* Roxb sebagai ACE I inhibitor adalah didasarkan pada hasil penelitian Elbl dan Wagner., (1991) yang menjelaskan bahwa beberapa senyawa fenolik menunjukkan kemampuan penghambatan ACE secara *in vitro*. Penghambatan ACE oleh senyawa fenolik secara *in vitro* dapat dijelaskan dengan kemampuannya sebagai pengkhelat ion logam oleh gugus hidroksil senyawa flavonoid pada posisi 3, 5, 7, dan 3' dan 4'. Beberapa senyawa fenolik (flavonoid), seperti antosianin, flavanol (dalam bentuk monomer : catechin dan polimer : prosianidin), flavonol (quercetin, kaempferol, dan mirisetin), isoflavon, dan flavon diketahui memiliki kemampuan didalam menghambat *angiotensin I converting enzyme* (Balasuriya dan Rupasinghe, 2011).

Disisi lain, yogurt mampu menghasilkan aktivitas antioksidan yang diperoleh dari hasil fermentasi bakteri asam laktat yang digunakan. Bakteri asam laktat mampu mengkhelat ion metal Fe^{2+} dan Cu^{2+} yang berperan sebagai katalitik dan merupakan ion logam yang paling reaktif. Khelator yang terdapat didalam sel intraseluler bakteri asam laktat mampu menangkap ion metal dan dapat menghalangi ion-ion metal dari mengkatalisis oksidasi, memiliki kemampuan sebagai *scavevenging reactive oxygen species* (ROS), memiliki aktivitas aktivitas reduksi dan memiliki aktivitas superoksida dismutase (SOD). Yogurt juga diketahui menghasilkan peptida-peptida pendek yang mengandung residu asam amino prolin, glisin dan arginin yang memiliki aktivitas ACE inhibitor.

Peran senyawa fenolik yang berasal dari tanaman yang diinklusi didalam yogurt pada beberapa hasil penelitian diketahui telah mampu meningkatkan kandungan senyawa fenolik didalam susu, meningkatkan aktivitas antioksidan dan ACE I inhibitor seperti yang dilakukan oleh Amirdivani, (2008) serta Shori dan Baba (2013). Penelitian aktivitas dan ACE I inhibitor pada tanaman herbal terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan dan ACE I inhibitor juga telah di teliti oleh Baba dkk., (2013) pada *Lycium barbarum*-yogurt. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri asam

laktat *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan adanya *Lycium barbarum* menunjukkan peningkatan dibandingkan dengan plain yogurt yang diduga akibat adanya faktor-faktor pertumbuhan esensial yang terdapat didalam *Lycium barbarum* seperti vitamin, mineral, asam-asam amino dan senyawa fenolik yang memberikan pengaruh penting bagi bagi kelangsungan hidup bakteri asam laktat. Aktivitas antioksidan pada *Lycium barbarum*-yogurt juga menunjukkan peningkatan dibandingkan dengan plain yogurt.

Terkait dengan hal tersebut, maka pada penelitian ini akan dikaji peran ekstrak buah dan daun *Ficus glomerata* Roxb di dalam yogurt dengan batasan masalah yang dirumuskan sebagai berikut (1) Bagaimana pengaruh penambahan ekstrak buah dan daun *Ficus glomerata* Roxb terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat selama proses fermentasi dan penyimpanan yogurt (2) Bagaimana pengaruh penambahan ekstrak buah dan daun *Ficus glomerata* Roxb terhadap aktivitas antioksidan yogurt selama proses fermentasi dan penyimpanan.(3) Bagaimana pengaruh penambahan ekstrak buah dan daun *Ficus glomerata* Roxb terhadap aktivitas ACE I inhibitor yogurt selama proses fermentasi dan penyimpanan.

Beberapa penelitian tentang ekstrak tanaman berkhasiat obat sudah mulai digunakan untuk meningkatkan aktivitas antioksidan dan meningkatkan sebagai *angiotensin I-converting enzyme* inhibitor didalam yogurt, seperti yang telah dilakukan oleh Amirdivani (2008) yang menggunakan *Mentha piperita*, *Anethum graveolence* dan *Ocimum basilicum*, serta hasil penelitian Shori dan Baba (2013) yang menggunakan *Allium sativum* yang diinklusi selama proses fermentasi yogurt, sedangkan potensi *Ficus glomerata* Roxb di dalam yogurt sebagai sumber antioksidan dan sebagai penghasil ACE I inhibitor belum pernah diteliti. Oleh sebab itu untuk menjawab permasalahan tersebut perlu dilakukan perhitungan jumlah bakteri asam laktat selama beberapa pendekatan.

Pendekatan awal dilakukan adalah dengan melakukan penelitian pendahuluan untuk mengetahui kemampuan aktivitas antioksidan dan *angiotensin I- converting enzyme* inhibitor oleh ekstrak buah maupun ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb. Pendekatan selanjutnya adalah melakukan pembuatan yogurt dengan menggunakan konsentrasi ekstrak buah dan ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb masing-masing 5% dan 10%. Pemberian ekstrak buah dan ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb diduga akan mempengaruhi jumlah dan aktivitas proteolitik bakteri asam laktat sehingga perlu dilakukan perhitungan jumlah bakteri asam laktat selama proses fermentasi dan penyimpanan yogurt.

Kajian selanjutnya adalah diperlukan untuk mengetahui perubahan aktivitas antioksidan yogurt selama proses fermentasi dan penyimpanan yogurt, mengingat senyawa fenolik maupun produk susu fermentasi mampu menghasilkan aktivitas antioksidan.

Senyawa fenolik mampu memiliki aktivitas antioksidan melalui gugus hidroksil yang dimilikinya) dan produk susu fermentasi oleh starter bakteri asam laktat memiliki aktivitas antioksidan dengan kemampuannya mengubah kasein oleh enzim proteinase yang akan menghidrolisis protein menjadi peptida, diantaranya peptida bioaktif yang memiliki kemampuan sebagai *scavenging reactive oxygen species* (ROS). Berdasarkan hal ini diduga pemberian ekstrak buah dan ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb akan mempengaruhi aktivitas antioksidan yogurt yang dihasilkan selama fermentasi dan penyimpanan. Bakteri asam laktat diduga memiliki kemampuan didalam memetabolisme senyawa fenolik selama proses fermentasi dan penyimpanan yogurt yang diduga akan mempengaruhi aktivitas antioksidan yogurt yang dihasilkan selama proses fermentasi dan penyimpanan yogurt.

Kajian lebih lanjut adalah untuk mengetahui aktivitas *angiotensin I- converting enzyme* inhibitor pada yogurt yang dihasilkan selama proses fermentasi maupun penyimpanan yogurt. Senyawa fenolik memiliki kemampuan sebagai *angiotensin I- converting enzyme* inhibitor melalui interaksi molekular dengan sisi aktif *angiotensin I- converting enzyme*. Strain bakteri asam laktat juga memiliki enzim proteolitik yang akan menghasilkan peptida-peptida dengan suquence dan fungsi bioaktif yang diantaranya berfungsi sebagai *angiotensin I- converting enzyme* inhibitor, kemungkinan dengan adanya senyawa fenolik yang terdapat didalam ekstrak buah maupun daun *Ficus glomerata* Roxb kemungkinan akan mempengaruhi proteolisis oleh enzim ekstraseluler (proteinase) dalam menghasilkan polipeptida yang pada akhirnya menghasilkan peptida bioaktif dengan aktivitas *angiotensin I- converting enzyme* inhibitor.

Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mempelajari mengenai potensi yogurt dengan penambahan ekstrak *Ficus glomerata* Roxb sebagai sumber antioksidan dan ACE I inhibitor selama proses fermentasi dan penyimpanan. Adapun tujuan khusus adalah sebagai berikut : (1) Mempelajari dan mengevaluasi pengaruh penambahan ekstrak buah dan daun *Ficus glomerata* Roxb terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat selama proses fermentasi dan penyimpanan yogurt (2) Mempelajari dan mengevaluasi pengaruh penambahan ekstrak buah dan daun *Ficus glomerata* Roxb terhadap aktivitas antioksidan yogurt selama proses fermentasi dan penyimpanan (3) Mempelajari dan mengevaluasi pengaruh penambahan ekstrak buah dan daun *Ficus glomerata* Roxb terhadap aktivitas ACE I inhibitor yogurt selama proses fermentasi dan penyimpanan yogurt.

Bahan utama pada penelitian ini yang digunakan sebagai sumber senyawa Fenolik adalah bagian daun dan buah *Ficus glomerata* Roxb yang diperoleh dari desa Leneng- Kabupaten Lombok Tengah , Nusa Tenggara Barat. Starter bakteri yang digunakan dalam

pusat studi pangan dan gizi, Universitas Gajam Mada, yaitu: *Lactobacillus bulgaricus* (atau FNCC 0041) dan *Streptococcus thermophilus* (FNCC 0015). Enzim yang digunakan dalam penelitian ini adalah *angiotensin coverting enzyme* (Sigma-Aldrich), sedangkan reagent standart yang digunakan berupa : Gallic acid, Flavonol (quercetin dan rutin), Flavon, Flavanone, Flavanol, Asam isoferulat (sebagai internal standart) dan 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) yang keseluruhannya diperoleh dari Sigma Aldrich.

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap kegiatan : Tahap I adalah mempelajari dan mengevaluasi pengaruh penambahan ekstrak buah dan daun *Ficus glomerata* Roxb terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat selama proses fermentaasi dan penyimpanan yogurt. Tahap II penelitian adalah mempelajari dan mengevaluasi pengaruh penambahan ekstrak buah dan daun *Ficus glomerata* Roxb terhadap aktivitas antioksidan dan ACE I inhibitor yogurt selama proses fermentasi dan penyimpanan. Penelitian tahap I dimulai mempersiapkan starter kultur bakteri asam laktat, proses pembuatan yogurt, melakukan ekstraksi terhadap perlakuan yogurt dan membuat serta mengamati kurva pertumbuhan BAL dan terhadap yogurt pada setiap perlakuan yogurt dengan interval 1 jam waktu fermentasi yogurt (43°C). dan setiap waktu penyimpanan yogurt didalam refrigerator. Penelitian tahap II dimulai dengan mengamati pH serta TTA yogurt dan selanjutnya adalah mengamati Total Phenolic Content (TPC) yogurt, melakukan evaluasi proses proteoilis menggunakan O-Pthaldialdehyde (OPA) Assay, melakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) radical inhibition assay dan melakukan pengujian ACE I inhibitor secara in vitro terhadap yogurt pada setiap perlakuan yogurt pada setiap waktu fermentasi dan waktu penyimpanan yogurt (4°C

Hasil yang diperoleh terhadap pengujian profil senyawa fenolik pada masing-masing ekstrak buah dan daun diperoleh hasil bahwa pada bagian buah dan daun masing-masing mengandung senyawa asam gallat, katekin, flavanone dan kuersetin, dengan konsentrasi masing-masing diperoleh hasil bahwa masing-masing ekstrak buah dan daun mengandung senyawa asam gallat, katekin dan kuersetin dengan konsentrasi masing-masing 120.02 ± 0.49 µg/g; 15.36 ± 0.24 µg/g; dan 145.52 ± 7.92 µg/g pada ekstrak buah *Ficus glomerata* Roxb dan 94.20 ± 1.75 µg/g; 4.44 ± 0.61 µg/g dan 122.17 ± 3.81 µg/g pada ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb. Kemampuan aktivitas antioksidan pada ekstrak buah *Ficus glomerata* Roxb adalah sebesar $52.53 \pm 1.00\%$ dan pada bagian ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb memiliki kemampuan aktivitas antioksidan sebesar $40.45 \pm 0.84\%$ Aktivitas antioksidan yang terdapat didalam ekstrak buah maupun daun *Ficus glomerata* Roxb sangat terkait dengan kandungan

Hasil pengujian terhadap *angiotensin I converting enzyme*-inhibitor menunjukkan bahwa pada ekstrak buah *Ficus glomerata* menunjukkan aktivitas penghambatan yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb, yaitu sebesar 70.67 ± 0.40 % pada ekstrak buah *Ficus glomerata* Roxb dan sebesar 63.49 ± 0.43 % pada ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb.

Hasil Perhitungan Jumlah Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* Selama Proses Fermentasi dan Selama Proses Penyimpanan Yogurt menunjukkan bahwa selama proses fermentasi diketahui bahwa peningkatan jumlah bakteri asam laktat dimulai dari jam ke-0 hingga jam ke 4 fermentasi dan mulai menurun pada jam ke-5 fermentasi. Fase pertumbuhan bakteri asam laktat didalam penelitian ini menunjukkan pertumbuhan bakteri yang meningkat secara drastis (fase logaritmik) mulai dari jam ke-2 hingga mencapai puncaknya pada jam ke-4 untuk seluruh perlakuan yogurt. Fase pertumbuhan bakteri asam laktat didalam penelitian ini menunjukkan pertumbuhan bakteri yang meningkat secara drastis (fase logaritmik) mulai dari jam ke-2 hingga mencapai puncaknya pada jam ke-4 untuk plain yogurt maupun yogurt dengan perlakuan ekstrak buah dan daun *Ficus glomerta* (masing-masing 5 dan 10%). Singkatnya fase logaritmik disebabkan kondisi pH optimum yang mendukung untuk pertumbuhan bakteri probiotik adalah 6.8 untuk *Streptococcus thermophilus* dan 5.5-6.0. Dengan semakin menurunnya nilai pH selama proses fermentasi yogurt menunjukkan bertambahnya kadar asam pada yogurt. Menurut Herferic dan Westhoff (1983) bahwa *Lactobacillus bulgaricus* dapat menurunkan pH atau menaikkan keasaman begitu pula dalam mensintesa asam piruvat yang dapat merangsang pertumbuhan bakteri *Streptococcus thermophillus* sehingga nilai keasaman juga akan meningkat lebih cepat. Nilai pH berbanding terbalik dengan nilai total asam tertitrasi sehingga dengan semakin tinggi nilai total asam titrasi, maka semakin rendah nilai pH. Menurut Frazier dan Westhoff (1988) bahwa selama proses fermentasi terjadi penguraian laktosa susu menjadi asam laktat yang menyebabkan peningkatan keasaman namun terjadi penurunan pH. Jay (1978) mengatakan bahwa *Streptococcus thermophilus* kurang tahan pada pH 4.2–4.4. Dengan adanya ekstrak buah maupun ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb diduga mampu meningkatkan aktivitas metabolik bakteri asam laktat yang diakibatkan oleh produksi asam-asam organik pada yogurt dengan ekstrak buah maupun ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb adalah lebih tinggi dikaitkan dengan konsentrasi H^+ yang lebih tinggi dibandingkan plain yogurt. Asam-asam organik, seperti asam laktat secara linier terkait dengan akumulasi TTA. Nilai TTA pada jam ke-4 fermentasi adalah berkisar antara 0.48 ± 0.03 (plain yogurt) dan 0.53 ± 0.02 (yogurt dengan ekstrak buah *Ficus glomerata* Roxb

10%), yang tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P>0,05$) antara plain yogurt dan yogurt dengan ekstrak buah maupun ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb, kecuali terhadap yogurt dengan ekstrak buah (5%). Menurut Eissa dkk., (2010) bahwa variasi titratable acidity (TTA) dihubungkan dengan populasi bakteri asam laktat yang berbeda selama fermentasi. Secara umum jumlah bakteri asam laktat mengalami penurunan sejak akhir fermentasi hingga hari ke-28 penyimpanan didalam refrigerator. Menurut Shori dan Baba., (2011) pada penyimpanan yogurt didalam refrigerator menurunkan jumlah viabilitas *Lactobacillus* spp yang signifikan pada hari ke-14 penyimpanan didalam refrigerator (Shah dan Ravula., 2001), ditambahkan bahwa reduksi *Lactobacillus* spp dihubungkan dengan pasca asidifikasi yang mengakibatkan penurunan lebih lanjut dalam nilai pH. Reduksi yang lebih cepat pada *Lactobacillus* spp dikaitkan dengan sifat antibakteri (Shah, 2000). Penurunan yang signifikan terhadap jumlah sel *Streptococcus thermophilus* kemungkinan disebabkan akumulasi asam – asam organik (Ostlie dkk., 2003). Salah satu sifat penting bakteri asam laktat adalah kemampuannya didalam mengurangi kandungan karbohidrat melalui fermentasi (Rotar dkk., 2015). Selama proses penyimpanan yogurt, bakteri asam laktat masih memiliki karbohidrat yang cukup untuk mensistesis asam laktat namun terus mengalami penurunan dengan semakin lama waktu penyimpanan yogurt, baik pada plain yogurt maupun yogurt. Penurunan jumlah bakteri asam laktat selama proses akhir fermentasi hingga hari terakhir penyimpanan yogurt didalam refrigerator akibat akumulasi asam-asam organik. Sebagaimana yang dijelaskan oleh Joung dkk., (2016) bahwa suplementasi ekstrak tanaman mampu mendukung dihasilkannya bakteri asam laktat oleh starter kultur, namun dengan perpanjangan waktu penyimpanan yogurt mengakibatkan akumulasi asam diasetik (*diacetic acid*), asetaldehid, asam format dan asam laktat. Menurut Vuyst dan Vandamme (1994), bahwa selain asam laktat dan asam asetat, bakteri asam laktat memiliki kemampuan untuk menghasilkan substansi inhibitor yaitu diasetil, asetaldehid, asam format, ethanol dan hidrogen peroksida.

Hasil pengujian terhadap aktivitas antioksidan yogurt selama proses fermentasi dan penyimpanan menunjukkan bahwa pada jam ke-0 fermentasi untuk nilai aktivitas antioksidan berkisar antara $18.07 \pm 0.92\%$ (plain yogurt) dan 25.90 ± 0.65 (yogurt dengan ekstrak buah *Ficus glomerata* Roxb 10%) dan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata nyata ($P>0,05$) untuk masing-masing perlakuan. Perbedaan nilai aktivitas antioksidan pada sejak jam ke-0 fermentasi antara yogurt dengan ekstrak *Ficus glomerata* Roxb diduga disebabkan oleh adanya peran senyawa fenolik pada ekstrak *Ficus glomerata* Roxb yang terdapat didalam yogurt yang berperan langsung dalam meningkatkan aktivitas antioksidan. Nilai aktivitas antioksidan terus menunjukkan peningkatan selama proses fermentasi dan pada jam terakhir

fermentasi (jam ke-7) baik pada plain yogurt maupun pada yogurt dengan ekstrak buah maupun ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb. Nilai aktivitas antioksidan pada jam ke-7 fermentasi yang terendah adalah pada perlakuan plain yogurt $26,01 \pm 0,49\%$ (plain yogurt) dan yang tertinggi adalah pada perlakuan yogurt dengan ekstrak buah *Ficus glomerata* (10%), yaitu $34,22 \pm 0,71\%$, namun berdasarkan hasil analisa sidik ragam tidak menunjukkan adanya interaksi antara perlakuan yogurt dan lama waktu fermentasi terhadap aktivitas antioksidan selama fermentasi berlangsung ($P = 1,000$). Akan tetapi meskipun aktivitas antioksidan pada *Ficus glomerata* yogurt adalah lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (plain yogurt) namun karena delta antar perlakuan selama proses fermentasi terhadap aktivitas antioksidan yang sama maka diduga aktivitas antioksidan lebih disebabkan oleh aktivitas bakteri asam laktat yang mengubah protein susu (kasein) yang oleh enzim ekstraseluler (proteinase). Fermentasi susu dengan bakteri asam laktat menghasilkan sejumlah peptida bioaktif yang menunjukkan kapasitas antioksidan (Gjorgievski dkk., 2014). Hasil yang diperoleh untuk masing- masing perlakuan yogurt pada masing- masing waktu penyimpanan didalam refrigerator menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang tertinggi adalah pada hari ke-7 penyimpanan dalam refrigerator, baik untuk plain yogurt maupun untuk yogurt dengan penambahan ekstrak buah maupun ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb, yaitu $50,70 \pm 0,54\%$ dengan peningkatan aktivitas antioksidan sebesar 25,42 % pada hari ke-7 penyimpanan didalam refrigerator dan mengalami penurunan sebesar 35,60%, yaitu $26,04 \pm 4,42\%$ pada hari ke-28 penyimpanan dalam refrigerator dibandingkan dengan hari pertama penyimpanan didalam refrigerator. Sedangkan hasil yang diperoleh selama penyimpanan yogurt menunjukkan nilai *Total phenolic content* yang semakin meningkat dengan semakin lamanya waktu penyimpanan (hari ke-28), dengan nilai masing- masing perlakuan berkisar antara $17,56 \pm 1,71 \mu\text{gGAE/mL}$ (plain yogurt) dan $33,52 \pm 1,86 \mu\text{gGAE/mL}$ (yogurt dengan ekstrak buah *Ficus glomerata* Roxb 10%). Hal ini diduga terkait dengan bakteri asam laktat yang terdapat didalam yogurt yang secara metabolik masih aktif meskipun pada suhu rendah dan akan berpengaruh terhadap beberapa senyawa fenolik. Berdasarkan hasil uji lanjut terhadap *total phenolic content* pada perlakuan yogurt menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,0001$) untuk masing-masing perlakuan yogurt selama proses penyimpanan yogurt namun tidak menunjukkan adanya interaksi antara perlakuan yogurt dan lamanya waktu penyimpanan yogurt terhadap *total phenolic content* yang dihasilkan ($P = 1,0000$). Reduksi aktivitas antioksidan kemungkinan disebabkan oleh meningkatnya degradasi senyawa fenolik dan atau meningkatnya interaksi senyawa fenolik dan protein susu (Amirdivani dan Baba., 2011). Namun karena nilai *total*

phenolic content yang diperoleh didalam penelitian ini menunjukkan peningkatan selama minggu pertama dan minggu ke-2 penyimpanan yogurt dan peningkatan terjadi secara konstan pada minggu ke-3 dan ke-4 penyimpanan, baik yang terdapat didalam plain yogurt maupun yang terdapat didalam yogurt dengan penambahan ekstrak buah maupun ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb maka kemungkinan reduksi aktivitas antioksidan yang terjadi pada seluruh perlakuan yogurt diduga oleh meningkatnya interaksi antara senyawa fenolik dan peptida yang dihasilkan .

Hasil pengujian yang diperoleh terhadap *angiotensin I coverting enzyme* inhibitor oleh masing- masing perlakuan untuk masing- masing waktu fermentasi pada penelitian ini menunjukkan aktivitas ACE I inhibitor pada perlakuan kontrol (plain yogurt) dan yogurt dengan ekstrak *Ficus glomerata* Roxb menunjukkan delta yang sama selama proses fermentasi yogurt. Pada jam ke-0 fermentasi pada perlakuan plain yogurt memberikan aktivitas ACE inhibitor terendah, yaitu $20,82 \pm 0,45\%$ dan $28,87 \pm 0,56\%$ (yogurt dengan ekstrak buah *Ficus glomerata* Roxb 10%) dan nilai *angiotensin I coverting enzyme* inhibitor terus mengalami peningkatan selama proses fermentasi untuk seluruh perlakuan yogurt dan masing-masing menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) antar perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas ACE inhhibitor yang lebih tinggi pada yogurt dengan pada awal fermentasi (jam ke-0) diduga akibat peran senyawa fenolik yang terdapat didalam ekstrak *Ficus glomerata* Roxb. Aktivitas senyawa fenolik (terutama asam gallat, katekin dan kuesrsetin) sejak jam ke-0 fermentasi, sebagaimana pendapat Al shukor dkk., (2013) bahwa asam gallat diketahui memiliki kemampuan sebagai ACE I inhibitor diduga telah mampu membentuk charge-charge interaction dengan ion zink pada sisi aktif ACE. Dan diduga strukrur katekol pada senyawa kuesrsetin mampu berinteraksi dengan ion zink melalui gugus 3 hidroksil pada cincin C senyawa tersebut.

Nilai ACE pada akhir fermentasi yang tertinggi pada yogurt dengan ekstrak buah *Ficus glomerata* Roxb (10%), yaitu adalah $54,48 \pm 0,44\%$ adalah lebih rendah dibandingkan dengan nilai ACE I inhibitor yang terdapat di dalam buah *Ficus glomerata* Roxb, yaitu $70.67 \pm 0.39\%$ dan pada yogurt dengan penambahan ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb (10%) yang memiliki aktivitas ACE I inhibitor $51,47 \pm 0,66\%$, aktivitas ACE I inhibitor yang dimiliki adalah lebih rendah dibandingkan dengan ACE I inhibor pada ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb, yaitu $63,49 \pm 0,43\%$, namun keseluruhan perlakuan *Ficus glomerata* Roxb-yogurt menunjukkan aktivitas penghambatan ACE I inhibitor yang lebih tinggi dibandingkan plain yogurt, yaitu $39.83 \pm 0.78\%$. Hal ini menunjukkan kemungkinan relatif lebih sedikit peptida spesifik yang dihasilkan selama fermentasi baik pada plain yogurt maupun pada

Ficus glomerata-yogurt yang tercermin pada nilai OPA yang dihasilkan.. Berdasarkan hasil yang diperoleh, nilai OPA telah menunjukkan perbedaan sejak awal fermentasi (jam ke-0 fermentasi), yaitu berkisar antara $9,39 \pm 0,41$ mg/g (plain yogurt) dan $18,89 \pm 1,20$ mg/g (yogurt dengan ekstrak buah *Ficus glomerata* 10%) meskipun tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($P > 0,05$) pada masing-masing perlakuan. Hal ini diduga adanya peran asam-asam amino aromatik yang kemungkinan terdapat didalam ekstrak buah maupun ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb sejak awal proses fermentasi. Sebagaimana menurut Tzin dan Galili., (2010) bahwa fenilalanin, tirosin dan triptofan merupakan asam amino esensial yang umumnya terdapat didalam tanaman. Asam-asam amino tersebut merupakan molekul sentral dalam emtabolisme tanaman (Tzin dan Galili., 2010). Nilai OPA semakin meningkat baik pada plain yogurt maupun pada yogurt dengan pemberian ekstrak buah maupun daun *Ficus glomerata* Roxb pada jam ke-7 fermentasi, yaitu berkisar antara $12,47 \pm 0,60$ mg/g (plain yogurt) dan $22,08 \pm 1,54$ mg/g (yogurt dengan ekstrak buah *Ficus glomerata* 10%). Dari hasil yang diperoleh diketahui bahwa nilai OPA terus mengalami peningkatan dan mencapai nilai optimal pada hari ke- 7 penyimpanan OPA baik untuk plain yogurt dan *Ficus glomerata* Roxb yogurt dengan nilai OPA berkisar antara $20,77 \pm 1,43$ mg/g (plain yogurt) dan $33,91 \pm 0,61$ mg/g (yogurt dengan ekstrak buah *Ficus glomerata* Roxb 10%). Masing- masing perlakuan mulai mengalami penurunan setelah hari ke-7 hingga hari terakhir (hari ke-28) penyimpanan didalam refrigerator dengan nilai $12,65 \pm 1,23$ mg/g (plain yogurt) dan tertinggi adalah $23,06 \pm 1,68$ mg/g (yogurt dengan ekstrak buah *Ficus glomerata* Roxb 10%), demikian pula terhadap aktivitas penghambatan ACE I inhibitor selama proses penyimpanan yogurt untuk masing-masing perlakuan yogurt yang juga tertinggi pada hari ke-7 penyimpanan didalam refrigerator, baik untuk plain yogurt maupun yogurt dengan ekstrak buah maupun ekstrak daun *Ficus glomerata* Roxb dengan aktivitas penghambatan ACE I inhibitor sebesar $53,47 \pm 1,07$ % (plain yogurt) dan $69,11 \pm 0,50$ % (yogurt dengan ekstrak buah *Ficus glomerata* Roxb 10%).

Berdasarkan hasil yang diperoleh, penghambatan terhadap ACE pada jam ke-0 fermentasi adalah lebih disebabkan oleh peran senyawa fenolik yang terdapat didalam ekstrak *Ficus glomerata* Roxb, hal ini karena pada masing-masing perlakuan menunjukkan delta yang sama selama proses fermentasi maupun selama proses penyimpanan yogurt. Lamanya waktu penyimpanan (hingga hari ke-28) dan kondisi penyimpanan diketahui memiliki efek penting bagi pembentukan dan pemecahan lebih lanjut protein menjadi peptida-peptida inaktif dan asam-asam amino, sehingga terjadi penurunan aktivitas ACE inhibitor dengan semakin bertambahnya waktu penyimpanan didalam refrigerator.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa penambahan ekstrak buah dan daun *Ficus glomerata* Roxb memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan bakteri asam laktat selama proses fermentasi dan penyimpanan yogurt. Aktivitas antioksidan yogurt yang dihasilkan diduga lebih dipengaruhi oleh peran peptida bioaktif selama proses fermentasi yang kemungkinan berlanjut hingga maksimal berlangsung pada hari ke-7 penyimpanan di dalam refrigerator. Aktivitas ACE I inhibitor yogurt yang dihasilkan adalah seiring dengan peningkatan pembentukan peptida selama proses fermentasi dan mencapai nilai optimal pada hari ke-7 penyimpanan

Kata kunci :*Ficus glomerata* Roxb, Yogurt, *Angiotensin I Coverting Enzyme* Inhibitor.

Ficus glomerata Roxb, an evergreen belonging to the Moraceae family, is known as cluster fig tree, Indian fig tree, and gular fig. *F. glomerata* Roxb. is native to Australia, Malaysia, South East Asia, and Hindi and according to Plantamor (2012), *F. glomerata*Roxb. is one of plants that capable to work as a source of phytochemicals (including phenolic compounds) and has an antioxidant activity. Potency of *F. glomerata*Roxb. as an angiotensin I converting enzyme inhibitor(ACE I-inhibitor) is based on the experimental result of Elbl and Wagner (1991) that explained that several phenolic compound showed its capability in inhibiting ACE in vitro. The inhibitory activity in vitro found in flavonoids worked through the formation of chelate complexes with the metal atom on some potential coordination positions, 3, 5, 7, 3' and 4' hydroxyl group of flavonoid. Several phenolic compounds (flavonoid), such as anthocyanin, catechin in monomeric form,procyanidin in polymeric form, quercetin, kaempferol, and myricetin, isoflavone, and flavone was known to have a capability in inhibiting ACE I(Balasuriya and Rupasinghe, 2011).

Further, yogurt can yield an antioxidant activity from fermentation product of LAB. LAB are able to chelate metal ions (Fe^{2+} and Cu^{2+}) which are as a catalytic ions and classified as the most reactive metal ions. The chelator present in intracellular cell of LAB is able to bind metal ions and hinders those from oxidation catalyzing as well as to have an ability as a scavenging reactive oxygen species (ROS), reduction activity, and superoxide dismutase (SOD) activity. Yogurt is known to yield short chained-peptides containing residue of amino acids, such as proline, glycine, and arginine that have an ACE I-inhibitor activity.

As conducted by Amirdivani (2008) and Shori and Baba (2013), phenolic compounds from plant included in yogurt played a role in increasing phenolic compounds in milk, antioxidant activity, and ACE I-inhibitor. The study performed by Baba *et al.* (2013) about the effect of inclusion of herbal plant in yogurt using *Lyciumbarbarum*on LAB growth, antioxidant activity, and ACE I-inhibitor showed that the growth of LAB (*Lactobacillus bulgaricus*and *Streptococcus thermophilus*) was increased by the presence of *Lyciumbarbarum* compared to that of plain yogurt. It was suspected that essential growth factors contained in *Lyciumbarbarum*, such as vitamins, minerals, amino acids, and phenolic compounds importantly affected LAB life condition. The performance of antioxidant activity of *Lyciumbarbarum*-yogurt also improved compared to that of plain yogurt.

Pertaining to the aforementioned issues, the role of leaf and fruit extract of *F. glomerata*Roxb. in yogurt would be evaluated on this present study with the specific issues

formulated as follows: (1) how the addition of leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. affected the growth of lactic acid bacteria (LAB) during fermentation and storage, (2) how the addition of leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. affected the antioxidant activity of yogurt during fermentation and storage, and (3) how the addition of leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. affected ACE I-inhibitor activity during fermentation and storage.

Some researches on medical plant extract has been conducted to escalate antioxidant activity and the ability as an ACE I-inhibitor of yogurt. Considering this topic, Amirdivani (2008) used *Menthapiperita*, *Anethumgraveolence*, and *Ocimumbasilicum*; while Shori and Baba (2013) used the inclusion of *Allium sativum* in yogurt. In fact, yogurt potential from *F. glomerata* Roxb. extract as a source of antioxidant and ACE I-inhibitor has not been investigated yet. Therefore, the quantification of number of LAB needed some approaches to solve this issue.

The initial approach was done by performing preliminary evaluation to study the antioxidant activity and ACE I-inhibitor in leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. The next stage was to produce yogurt using leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. with two concentrations, 5% and 10%. The addition of leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. was suspected to affect the number of LAB as well as their proteolytic activity so importantly that the quantification of number of LAB during fermentation and storage of yogurt were needed.

The next study was needed to evaluate the antioxidant activity change of yogurt during fermentation and yogurt as both of phenolic compounds and fermented milk products are able to yield the antioxidant activity. Phenolic compounds are capable to have antioxidant activity through their hydroxyl groups, whereas fermented milk products also have antioxidant activity through LAB starter with their ability in converting casein (assisted by proteinase enzyme) that hydrolyzes protein into peptide, such as bioactive peptide with an ability as scavenging reactive oxygen species (ROS). Consequently, it was suspected that the addition of leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. would affect the resulting antioxidant activity of yogurt during fermentation and storage. LAB were suspected to have an ability in metabolizing phenolic compounds during fermentation and storage of yogurt and led to affect the antioxidant activity of yogurt during fermentation and storage.

The final study was to evaluate ACE I-inhibitor activity of yogurt during fermentation and storage. Phenolic compounds have an ability as an ACE I-inhibitor through the molecular interaction on the active side of ACE I. LAB strain also have proteolytic enzyme that will produce peptides with sequences and bioactive functions, such as ACE I-inhibitor. Perhaps, the presence of phenolic compounds in leaf and fruit extract of

F. glomerata Roxb. would possibly affect proteolysis performed by extracellular enzyme (proteinase) in yielding polypeptides and also in producing bioactive peptides with ACE I-inhibitor activity at the end.

The main purpose of this research was to investigate the potential of addition of *F. glomerata* Roxb. extract in yogurt as a source of antioxidant and ACE I-inhibitor during fermentation and storage. Meanwhile, the research was also specially designed to study and evaluate: (1) the effect of addition of leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. on the growth of lactic acid bacteria (LAB) during fermentation and storage, (2) the effect of addition of leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. on the antioxidant activity of yogurt during fermentation and storage, and (3) the effect of addition of leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. on ACE I-inhibitor activity during fermentation and storage.

Primary material used on this present study as a source of phenolic compound was leaf and fruit of *F. glomerata* obtained from Leneng village, Central Lombok, West Nusa Tenggara. Bacteria starter used in yogurt, *Lactobacillus bulgaricus* (FNCC 0041) and *Streptococcus thermophilus* (FNCC 0015) were purchased from Food and Nutrition Culture Collection, Study Center of Food and Nutrition, Universitas Gadjah Mada. Enzyme used was *angiotensin converting enzyme*, whereas standard reagents used, namely gallic acid, flavonol (quercetin and rutin), flavone, flavanone, flavanole, isoferulate acid (as internal standard) and 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) were obtained from Sigma-Aldrich.

The research was divided on two separate experiments. The first experiment was to study and evaluate the effect of the addition of leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. on the growth of LAB during fermentation and storage. The second experiment was to study and evaluate the effect of addition of leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. on antioxidant activity and ACE I-inhibitor activity of yogurt during fermentation and storage. The first experiment was initiated by the preparation of culture starter of LAB, yogurt production, extraction of treated yogurt, followed by observation of LAB growth curve of all treated yogurts every hour of fermentation at 43 °C and some particular times while stored in refrigerator. The second experiment was initiated by the measurement of pH value and titratable acidity (TTA), continued by Total Phenolic Content (TPC) of yogurt. Evaluation of proteolysis using O-Pthaldialdehyde (OPA) assay and antioxidant activity test using 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) radical inhibition assay as well as of inhibitory action of ACE I test in vitro was done on some particular times of yogurt fermentation and storage at 4 °C.

The result obtained for phenolic compounds profile of fruit and leaf extract of *F.glomerata* Roxb.showed that its leaf and fruit contained gallic acid, catechin, and quercetin with the amount of $120.02 \pm 0.49 \mu\text{g/g}$, $15.36 \pm 0.24 \mu\text{g/g}$, and $145.52 \pm 7.92 \mu\text{g/g}$, respectively for fruit extract and $94.20 \pm 1.75 \mu\text{g/g}$, $4.44 \pm 0.61 \mu\text{g/g}$, and $122.17 \pm 3.81 \mu\text{g/g}$, respectively for leaf extract. The antioxidant capacity with the amount of $52.53 \pm 1.00\%$ and $40.45 \pm 0.84\%$ were obtained from fruit and leaf extract of *F. glomerata*Roxb. Antioxidant capacity obtained was highly correlated with phenolic compounds contained in *F. glomerata*Roxb. The experimental result on ACE I-inhibitor showed that the inhibitory activity of *F. glomerata*Roxb. fruit extract was higher than that of leaf extract, with the amount of $70.67 \pm 0.40\%$ compared to $63.49 \pm 0.43\%$.

The quantification result of number of LAB, *Lactobacillusbulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* during fermentation and storage of yogurt showed that an increase of number of LAB occurred from the start of fermentation until first four hours, thence the decrease of number of LAB began to occur (fermentation hour 5). LAB growth phase on this present study showed that drastic growth of LAB (logarithmic phase) started from the first two hours of fermentation. On first 4 hour of fermentation for all treatments, the culmination point of LAB growth was obtained. The abovementioned growth phase pattern of LAB happened for plain yogurt and *F. glomerata*Roxb-yogurt made from 5% and 10% for both leaf and fruit extract. In short, logarithmic phase occurred because of optimum pH which supported probiotic bacteria growth, 6.8 for *Streptococcus thermophilus* and 5.5—6.0 for *Lactobacillus bulgaricus*. The decrease of pH of yogurt during fermentation contributed to the acidity increase of yogurt. According to Herferic and Westhoff (1983), *Lactobacillus bulgaricus* was able to lower pH or to increase the acidity as well as to induce the growth of *Streptococcus thermophilus* in pyruvic acid synthesis, so that the acidity value would increase faster. The pH value is contrast to total acid number. The higher total acid number, the lower pH value. According to Frazier and Westhoff (1988), the decomposition of lactose milk into lactic acid during fermentation caused the increase of acidity followed by the decrease of pH value. Jay (1978) stated that *Streptococcus thermophiles* was intolerant at pH of 4.2—4.4. From this present study, it was suggested that metabolic activity of LAB would increase with the presence of *F.glomerata*Roxb. leaf and fruit extract due to the production of organic acids in *F.glomerata*Roxb.-yogurt made from leaf and fruit extract was high. It was associated to the higher of $[\text{H}^+]$ compared to plain yogurt. Organic acids, such as lactic acid was associated with TTA accumulation in linear. TTA value on the first 4 hour of fermentation ranged from 0.48 ± 0.03 (plain yogurt) to 0.53 ± 0.02 (yogurt made from 10%

F. glomerata Roxb fruit extract). Still, there was not significant difference between plain yogurt and *Ficus glomerata* Roxb-yogurts made from leaf and fruit extract ($p>0.05$), except from 5% fruit extract. According to Eissa *et al.* (2010), TTA variation was correlated to various LAB population during fermentation. In general, the number of LAB decreased since the end of fermentation until storage day 28 in refrigerator. Shori and Baba (2011) informed that yogurt storage in refrigerator significantly lowered viability number of *Lactobacillus* spp. on storage day 14 in refrigerator. In addition, *Lactobacillus* spp. reduction was associated with post acidification which lowered pH value (Shah and Ravula, 2001). The reduction of *Lactobacillus* spp. occurred in faster period was correlated to antibacterial properties in advance (Shah, 2000). Significant inclination for cell number of *Streptococcus thermophiles* may be caused by organic acids accumulation (Ostlie *et al.*, 2003). One of important properties in LAB was the reducing ability carbohydrate content by fermentation (Rotaret *et al.*, 2015). During yogurt storage, LAB still had sufficient amount of carbohydrate to synthesize lactic acid, but it kept decreasing as long as yogurt stored, either on plain yogurt or on *F. glomerata* Roxb-yogurt made from leaf and fruit extract. The number of LAB during fermentation up to the last day of storage in refrigerator decreased due to organic acids accumulation. As well as it was stated by Jounget *et al.* (2016), the plant extract supplement was able to support the production of LAB by culture starter, however, by the time expansion of yogurt storage caused accumulation of diacetic acid, acetaldehyde, formic acid, and lactic acid. According to Vuyst and Vandamme (1994), LAB were able to produce inhibitory substances, namely diacetyl, acetaldehyde, formic acid, ethanol, and hydrogen peroxide as well as well-known compounds such as lactic acid and acetic acid.

The observation of antioxidant activity showed that antioxidant activity on fermentation hour 0 for plain yogurt and *F. glomerata* Roxb-yogurt made from 10% fruit extract were $18.07 \pm 0.92\%$ and $25.90 \pm 0.65\%$ respectively but were not significantly different ($p>0.05$). The different amount of antioxidant activity among *F. glomerata* Roxb-yogurts on fermentation hour 0 was suspected to occur due to specific role of phenolic compounds found in *F. glomerata* Roxb-yogurt which played directly in increasing the antioxidant activity. The antioxidant activity of plain yogurt as well as of yogurt made from leaf and fruit extract of *F. glomerata* Roxb. kept increasing during fermentation and the last hour fermentation (hour 7). The lowest and highest value of antioxidant activity on 7 hours after fermentation were $26.01 \pm 0.49\%$ and $34.22 \pm 0.71\%$, for plain yogurt and *F. glomerata* Roxb-yogurt made from 10% fruit extract, respectively. In fact, a significant interaction between yogurt composition and fermentation storage time was not found based on ANOVA test ($p=1.000$). Despite the

activity of *F.glomerata*Roxb.-yogurt was much higher than that of plain yogurt (control) but supported by the similar gradient on antioxidant activity among treatments during fermentation, it was suspected that the antioxidant activity occurred due to LAB activity that converted milk protein (casein) assisted by extracellular enzyme (proteinase). Milk fermented by LAB resulted a numerous bioactive peptide which showed antioxidant capacity (Gjorgievski *et al.*, 2014).The experimental result for all treatments showed that the highest antioxidant activity on storage day 7 in the refrigerator was $50.70 \pm 0.54\%$ with an increase of 25.42% on day 7 and a decrease of $26.04 \pm 4.42\%$ on day 28 in antioxidant activity of yogurt compared to the storage day 1. However, TPC value increased as a storage day prolonged (day 28), each treatment ranged from $17.56 \pm 1.71 \mu\text{gGAE/mL}$ (plain yogurt) and $33.52 \pm 1.86 \mu\text{gGAE/mL}$ (*F.glomerata*Roxb.-yogurt made from 10% fruit extract). It was suspected that TPC was associated to LAB found in yogurt that metabolism was still active even at low temperature and would affect other phenolic compounds. Statistically, a significant difference among yogurt treatments was found in TPC ($p < 0.0001$), but a significant interaction between yogurt treatment and storage time was not found in TPC ($p = 1.000$).The reduction of antioxidant activity was possibly due to an increase of phenolic compound degradation and/or an increase of interaction between phenolic compound and milk protein (Amirdivani and Baba, 2011). However, TPC obtained on this study demonstrated an increment from the first and second week of yogurt storage and a constant increase for the third and fourth week of yogurt storage, either on plain yogurt or *F.glomerata* Roxb.-yogurt made from leaf and fruit extract. Furthermore, the interaction between phenolic compound and the resulting peptide was possibly contributed to the reduction of antioxidant activity that occurred on all treated yogurts.

The experimental results on ACE I-inhibitor for all yogurts and fermentation time storage showed that there was a same gradient for the inhibitory action of ACE I on plain yogurt (control) and *F.glomerata* Roxb.-yogurt during fermentation. The lowest and highest value of inhibitory action of ACE I were $20.82 \pm 0.45\%$ (plain yogurt) and $28.87 \pm 1.19\%$ (*F.glomerata* Roxb.-yogurt made from 10% fruit extract) on fermentation hour 0. Those ACE I-inhibitor values were significantly different for all treated yogurts ($p < 0.05$). It informed that the higher inhibitory action of ACE I on the beginning of fermentation (hour 0) was possibly due to the role of phenolic compound found in *F.glomerata* Roxb extract. The activity of phenolic compounds (mainly gallic acid, catechin, and quercetin) since fermentation hour 0, as in line with Al Shukoret *al.* (2013), demonstrated that a gallic acid was known to have a capability as an ACE I-inhibitor. This capability was suspected to form

interaction charges with zinc ion on the active side of ACE and suspected that catechol structure on quercetin was able to interact with zinc ion through 3-hydroxyl group on the compound's ring-C.

The highest ACE I-inhibitor value on the last day of fermentation was observed in *F. glomerata* Roxb-yogurt made from 10% fruit extract ($54.48 \pm 0.44\%$), but it was lower than ACE I-inhibitor of *F. glomerata* Roxb. fruit ($70.67 \pm 0.39\%$). It also happened for the highest ACE I-inhibitor value observed in *F. glomerata* Roxb.-yogurt made from 10% leaf extract ($51.47 \pm 0.66\%$) was lower than ACE I-inhibitor of *F. glomerata* Roxb. leaf ($63.49 \pm 0.43\%$). In fact, ACE I-inhibitor of *F. glomerata* Roxb.-yogurt was higher than that of plain yogurt ($39.83 \pm 0.78\%$). It was relatively lower than specific peptides yielded during fermentation both of plain yogurt and of *F. glomerata* Roxb.-yogurt that were depicted on the obtained OPA values. From the results obtained, there was a significant difference on OPA value since the beginning of fermentation (hour 0) ranged from 9.39 ± 0.41 mg/g (plain yogurt) and 18.89 ± 1.20 mg/g (*F. glomerata* Roxb-yogurt made from 10% fruit extract) despite the absence of significant difference among treatments ($p > 0.05$). It was suspected that the presence of aromatic amino acids found in *F. glomerata* Roxb. fruit and leaf extract possibly worked since the beginning of fermentation. As in accordance to Tzin and Galili (2010), phenylalanine, tyrosine, and tryptophan were essential amino acids commonly found in plant. Those amino acids were central molecules in plants metabolism. OPA values was steadily increased both of plain yogurt and of *F. glomerata* Roxb-yogurt on fermentation hour 7 which ranged from 12.47 ± 0.60 mg/g (plain yogurt) and 22.08 ± 1.54 mg/g (*F. glomerata* Roxb.-yogurt made from 10% fruit extract). The experimental result for OPA value showed that it kept increasing and peaked optimally on storage day 7 for all yogurts ranged from 20.77 ± 1.43 mg/g (plain yogurt) to 33.91 ± 0.61 mg/g (*F. glomerata* Roxb-yogurt made from 10% fruit extract). Each treatment started to decrease after storage day 7 until day 28 in refrigerator with the lowest value was 12.65 ± 1.23 mg/g (plain yogurt) and the highest value was 23.06 ± 1.68 mg/g (*F. glomerata* Roxb-yogurt made from 10% fruit extract). The similar trend was also found in the inhibitory action of ACE I as it peaked on storage day 7 in refrigerator with the lowest value was $53.47 \pm 1.07\%$ for ACE I-inhibitor on plain yogurt and the highest value was $69.11 \pm 0.50\%$ for *F. glomerata* Roxb-yogurt made from 10% fruit extract.

From the results obtained, the inhibitory action on ACE on fermentation hour 0 was more caused by the role of phenolic compounds of *F. glomerata* Roxb extracts. It was occurred due to the same gradient during fermentation and storage of yogurt. The storage

time (until day 28) and its condition were able to give a significant effect on the formation and the breaking down process of protein into inactive peptides as well as into amino acids. As a result, the longer yogurt stored in refrigerator, the more activity reduction of ACE I-inhibitor happened.

To sum up, the addition of *Ficus glomerata* Roxb. fruit and leaf extract positively affected the growth of lactic acid bacteria (LAB) during fermentation and storage of yogurt. The resulting antioxidant activity of yogurt was suspected to be more affected by the role of bioactive peptide during fermentation which possibly continued to the maximum level up to storage day 7 in refrigerator. The ACE I-inhibitor activity of yogurt was occurred as long as the increase of peptide formation during fermentation and peaked on storage day 7.

Key words: *Ficus glomerata* Roxb., yogurt, *Angiotensin I Converting Enzyme* Inhibitor.