

**YOGHURT BIJI KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) DENGAN
VARIASI JENIS STARTER DAN LAMA FERMENTASI**



SKRIPSI

Oleh:

WIDA NOVIA LESTARI

15600023

FAKULTAS TEKNOLOGI DAN INDUSTRI PANGAN

UNIVERSITAS SLAMET RIYADI

SURAKARTA

2019

**YOGHURT BIJI KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) DENGAN
VARIASI JENIS STARTER DAN LAMA FERMENTASI**



SKRIPSI

Oleh:

WIDA NOVIA LESTARI

15600023

FAKULTAS TEKNOLOGI DAN INDUSTRI PANGAN

UNIVERSITAS SLAMET RIYADI

SURAKARTA

2019

**YOGHURT BIJI KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) DENGAN
VARIASI JENIS STARTER DAN LAMA FERMENTASI**

SKRIPSI

Diajukan kepada:

Fakultas Teknologi dan Industri Pangan Universitas Slamet Riyadi Surakarta

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan dalam Mencapai Gelar

Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh:

WIDA NOVIA LESTARI

15600023

FAKULTAS TEKNOLOGI DAN INDUSTRI PANGAN

UNIVERSITAS SLAMET RIYADI

SURAKARTA

2019

**YOGHURT BIJI KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) DENGAN
VARIASI JENIS STARTER DAN LAMA FERMENTASI**

Oleh:

WIDA NOVIA LESTARI

15600023

Telah disetujui dan diterima oleh

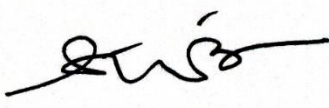
Tim Pembimbing Skripsi

Pembimbing Utama


Dr. Nanik Suhartatik., S.TP.,MP.
NIPY. 0106.0226

Surakarta, 5 September 2019

Pembimbing Pendamping


Yustina Wuri Wulandari., S.TP.,MP.
NIPY. 0106.0227

**YOGHURT BIJI KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) DENGAN
VARIASI JENIS STARTER DAN LAMA FERMENTASI**

Oleh:

WIDA NOVIA LESTARI

15600023

Telah dipertahankan di depan tim penguji

Pada tanggal:

19 Agustus 2019

Dan diterima sebagai persyaratan yang diperlukan untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Surakarta, 5 September 2019

Tim Penguji Skripsi

Ketua

Anggota 1

Anggota 2


Dr. Nanik Sahartatik, S.TP.,MP.
NIPY.0106.0226


Yustina Wuri W., S.TP.,MP.
NIPY.0106.0227


Merkuria Karyantina, SP.,MP.
NIPY.0108.0248

Mengetahui
Dekan Fakultas Teknologi dan Industri Pangan
Universitas Slamet Riyadi Surakarta



Dr. Nanik Sahartatik, S.TP.,MP.
NIPY.0106.0226

HALAMAN PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat, taufik dan hidayah-Nya, sehingga diberi kemudahan dalam pelaksanaan dan penyusunan laporan skripsi. Laporan skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Keluarga tercinta Ibu Jasmiati dan Bapak Slamet Widodo serta kakak saya Vitra Dian Shandra atas semangat, doa dan segala bentuk dukungan yang diberikan kepada saya.
2. Dr. Nanik Suhartatik, STP., MP. dan Yustina Wuri Wulandari, STP.,MP sebagai wujud pertanggungjawaban yang telah membimbing pelaksanaan skripsi hingga akhir.
3. Pradhangga Eka Samudra yang telah memberikan kepercayaan penuh dan penguat dalam jarak.
4. Fatkhiatun Galih Pandamsari, Jimu Prehatin, Annas Surulloh dan Ahmad Gunawan teman berbagi dalam setiap proses.
5. Teman-teman FATIPA angkatan 2015 beserta adik-adik tingkat yang selalu memberikan dukungan, arahan, motivasi dan doanya.
6. Seluruh keluarga, saudara-saudara dan sahabat yang selalu membantu dalam segala hal.

MOTTO

“ Hakekatnya dalam suatu kehidupan ada macam bentuk pertolongan sesama manusia selain berwujudkan uang yaitu: seluruh pikiran dan segenap tenaga, menolong tidak selalu mahal. Maka menolonglah karena menolong dekat dengan rezeki ☺ .”

“Musuh yang paling berbahaya di atas dunia ini adalah penakut dan bimbang. Teman yang paling setia, hanyalah keberanian dan keyakinan yang teguh.”
(Andrew Jackson)

“Tiadanya keyakinanlah yang membuat orang takut menghadapi tantangan; dan saya percaya pada diri saya sendiri.” (Muhammad Ali)

“Bukanlah orang-orang yang paling baik dari pada kamu siapa yang meninggalkan dunianya karena akhirat, dan tidak pula meninggalkan akhiratnya karena dunianya, sehingga ia dapat kedua-duanya semua. Karena di dunia itu menyampaikan akhirat. Dan jangankah kamu jadi memberatkan atas sesama manusia“.
(H.R Muslim)

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan dan menyelesaikan penyusunan laporan skripsi dengan judul **“YOGHURT BIJI KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) DENGAN VARIASI JENIS STARTER DAN LAMA FERMENTASI”**. Penyusunan skripsi ini sebagai salah satu persyaratan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian.

Penulis menyadari karena keterbatasan ilmu dan pengetahuan yang dimiliki sehingga masih banyak kekurangan dalam penyusunan laporan skripsi. Selama proses pelaksanaan hingga selesainya penyusunan laporan skripsi, penulis menerima arahan, bimbingan, doa serta dukungan dari berbagai pihak yang sangat membantu. Oleh karena itu, pada kesempatan kali ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

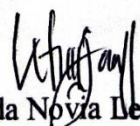
1. Prof. Dr. Ir. Sutardi, MApp.Sc. selaku Rektor Universitas Slamet Riyadi Surakarta.
2. Ibu Dr. Nanik Suhartatik, STP., MP. selaku Dekan Fakultas Teknologi dan Industri Pangan sekaligus Pembimbing Akademik dan Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan arahan dan semangat selama perkuliahan hingga pelaksanaan penelitian.
3. Ibu Yustina Wuri Wulandari, STP., MP. selaku Pembimbing Pendamping skripsi yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan semangat.
4. Bapak Akhmad Mustofa, STP., M.Si. selaku Komisi Sarjana Fakultas Teknologi dan Industri Pangan yang telah memberikan pengarahan selama skripsi.

5. Seluruh Dosen Fakultas Teknologi dan Industri Pangan yang telah memberikan masukan dan arahan.
6. Ibu Suyatmi, SP, Uun Marwati., S.TP, dan Isnri Rindi A, selaku laboran di Fakultas Teknologi dan Industri Pangan yang telah membantu dan memberikan arahan selama pelaksanaan.
7. Ibu Rini S.Sos, Ibu Tatik, dan Ibu Mami, A.Ma.Pust selaku bagian Administratif dan Tata Usaha Fakultas Teknologi dan Industri Pangan yang telah memberikan pelayanan terbaik dalam pengumpulan berkas-berkas persyaratan skripsi sampai akhir wisuda.
8. Teman-teman yang telah membantu dalam bentuk apapun selama proses pelaksanaan hingga penyusunan laporan skripsi yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis berharap laporan skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan sedikit pengetahuan kepada para pembaca dan pihak-pihak yang membutuhkan. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan laporan ini baik dalam hal materi serta teknik penyajiannya. Oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan.

Surakarta, Agustus 2019

Penulis


Wida Novia Destari

SURAT PERNYATAAN

Pada hari ini Senin, 19 Agustus 2019, saya :

Nama : Wida Novia Lestari
NPM : 15600023
Fakultas : Fakultas Teknologi dan Industri Pangan UNISRI
Surakarta
Judul Skripsi : Yoghurt Biji Ketapang (*Terminalia catappa* L.)
dengan Variasi Jenis Starter dan Lama Fermentasi
Pembimbing Utama : Dr. Nanik Suhartatik, STP., MP.
Pembimbing Pendamping : Yustina Wuri Wulandari, STP., MP.

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya tersebut di atas adalah hasil karya saya pribadi dan bukan meniru hasil penelitian siapapun. Saya juga bersedia jika skripsi saya tersebut diterbitkan dalam jurnah ilmiah sesuai kesepakatan dengan pembimbing.

Jika suatu saat nanti ditemukan bahwa skripsi saya ini terbukti secara sah dan sesuai kaidah akademik adalah hasil duplikasi dari penelitian sebelumnya, maka saya bersedia untuk menerima sanksi sesuai hukum yang berlaku.

Yang menyatakan



Wida Novia Lestari

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGAJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING SKRIPSI.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN TIM PENGUJI	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
MOTTO	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
SURAT PERNYATAAN	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
RINGKASAN	xvii
ABSTRAK	xviii
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Yoghurt	5
B. Biji Ketapang	7
C. Fermentasi	10
D. Bakteri Asam Laktat (BAL).....	12
1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	12
2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	14

E. Susu Skim	15
BAB III. METODE PENELITIAN	17
A. Rancangan Penelitian.....	17
B. Alat dan Bahan Penelitian.....	18
1. Alat penelitian	18
2. Bahan penelitian.....	18
C. Tempat dan Jadwal Penelitian	19
D. Tahapan Penelitian	19
1. Pembuatan Kultur Kerja.....	20
2. Pembuatan Starter	21
3. Pembuatan Susu Biji Ketapang.....	22
4. Pembuatan Yoghurt.....	23
E. Parameter Penelitian	25
1. Analisis Kimia.....	25
2. Analisis Mikrobiologi	25
F. Analisis Data	25
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
A. Analisis Proksimat Biji Ketapang.....	26
B. Analisis Kimia Yoghurt Biji Ketapang.....	28
1. Kadar protein.....	28
2. Gula Total.....	31
3. Kadar Lemak.....	33
4. Total Asam.....	35
C. Analisis Total Bakteri Asam Laktat Yoghurt Biji Ketapang	37

D. Rangkuman Hasil Analisis Kimia dan Mikrobiologi Yoghurt Biji Ketapang	40
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	43
A. Kesimpulan	43
B. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Syarat mutu yoghurt SNI 2981-2009	7
Tabel 2.2. Kandungan gizi biji ketapang.....	9
Tabel 3.1. Rancangan percobaan penelitian	17
Tabel 4.1. Hasil analisa proksimat biji ketapang.....	26
Tabel 4.2. Hasil anova kadar protein yoghurt biji ketapang.....	29
Tabel 4.3. Hasil anova gula total yoghurt biji ketapang.....	31
Tabel 4.4. Hasil anova kadar lemak yoghurt biji ketapang	32
Tabel 4.5. Hasil anova total asam yoghurt biji ketapang	35
Tabel 4.6. Hasil anova total bakteri asam laktat yoghurt biji ketapang	38
Tabel 4.7. Rangkuman hasil analisis kimia dan mikrobiologi yoghurt biji ketapang	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Biji ketapang.....	8
Gambar 2.2. Bakteri <i>Streptococcus thermophilus</i>	13
Gambar 2.3. Bakteri <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	15
Gambar 3.1. Diagram alir proses pembuatan kultur kerja yang telah dimodifikasi	20
Gambar 3.2. Diagram alir proses pembuatan starter yang telah dimodifikasi	21
Gambar 3.3. Diagram alir proses pembuatan susu biji ketapang yang telah dimodifikasi	22
Gambar 3.4. Diagram alir proses pembuatan yoghurt biji ketapang yang dimodifikasi	24
Gambar 4.1. Diagram kadar protein yoghurt biji ketapang.....	29
Gambar 4.2. Diagram gula total yoghurt biji ketapang	32
Gambar 4.3. Diagram kadar lemak yoghurt biji ketapang	34
Gambar 4.3. Diagram total asam yoghurt biji ketapang.....	36
Gambar 4.4. Diagram total bakteri asam laktat yoghurt biji ketapang.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Analisis kadar protein dengan metode Lowry-Folin	47
Lampiran 2. Analisis kadar lemak dengan metode Mojonnier	48
Lampiran 3. Analisis total asam dengan metode Mann's acid Test.....	49
Lampiran 4. Analisis kadar gula total dengan metode Nelson Somogyi	50
Lampiran 5. Penentuan jumlah BAL dengan metode TPC	51
Lampiran 6. Pembuatan media plating.....	52
Lampiran 7. Hasil analisis ANOVA dan uji lanjut <i>Duncan</i> yoghurt biji ketapang.....	53
Lampiran 8. Gambar penelitian.....	59

YOGHURT BIJI KETAPANG (*Terminalia catappa* L.) DENGAN VARIASI JENIS STARTER DAN LAMA FERMENTASI

Wida Novia Lestari

RINGKASAN

Yoghurt merupakan produk susu terkoagulasi yang dihasilkan melalui proses fermentasi dengan melibatkan aktivitas *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* sebagai starter. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh dan karakteristik kimia dan mikrobiologi dari penggunaan jenis starter dan lama fermentasi pada yoghurt biji ketapang. Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola 2 faktor. Faktor pertama variasi jenis starter yaitu *S.thermophilus*, *L.bulgarius* dan *S.thermophilus-L.bulgarius*. Faktor kedua lama fermentasi yaitu 4,6 dan 8 jam. Analisis data menggunakan *Duncan Multiple Range Test* didapatkan bahwa terdapat pengaruh nyata terhadap kadar protein, gula, lemak dan total asam namun tidak berpengaruh nyata terhadap total BAL. Kadar protein tertinggi didapat dari perlakuan *Lactobacillus* dengan lama fermentasi 8 jam yaitu 13,56%, kadar gula total 23,27% pada perlakuan jenis starter *Sreptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dengan lama fermentasi 8 jam, total asam 0,93% pada perlakuan *S.thermophilus* – *L.bulgarius* dengan lama fermentasi 8 jam, kadar lemak paling tinggi didapatkan dari perlakuan jenis starter *S.thermophilus* dengan lama fermentasi 4 jam yaitu 0,245%. Rata-rata nilai log dari total bakteri asam laktat cenderung stabil yaitu 7,35 – 7,75 CFU/ml.

Kata kunci: yoghurt, biji ketapang, starter, lama fermentasi

YOGHURT FROM TROPICAL ALMOND (*Terminalia catappa* L.) WITH VARIOUS TYPE OF STARTER AND FERMENTATION TIMES

Wida Novia Lestari

ABSTRACT

Yogurt was a coagulated milk product which produced through a fermentation process. It involves the activity of “*Lactobacillus bulgaricus*” and “*Streptococcus thermophilus*” as starter. The aims of the research was to determine the chemical-microbiological effect of the starter type and the fermentation process in yoghurt from tropical almond. The research method uses factorial Completely Randomized Design (CRD). Those two factors were, the variation of starter types: *Streptococcus thermophilus* (St), *Lactobacillus bulgaricus* (Lb), and *Streptococcus thermophilus-Lactobacillus bulgaricus* (St-Lb); and the fermentation duration (4.6 and 8 hours). The analysis of the data uses Duncan Multiple Range Test; shows that there was significant effect on protein, sugar, fat, and total acid affects by total LAB (Lactic Acid Bacteria). The highest protein amount which obtained from the treatment of Lb 8 hours fermentation process of 13.56%; total sugar amount of 23.27% with the treatment of St and Lb starter types in 8 hours fermentation process; total acid amount of 0.93% with St-Lb starter type in 8 hours fermentation process; and the highest fat amount which obtained from the treatment of St starter type in 4 hours fermentation of 0.245%. The log value average of total Lactic Acid Bacteria (LAB) was stable; about 7.35 - 7.75 CFU/ml.

Keywords: *yoghurt, tropical almond, starter, fermentation process*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kesadaran masyarakat yang semakin meningkat akan pentingnya kesehatan dan berkembang pula ilmu pengetahuan maka banyak masyarakat yang telah beralih pada makanan atau minuman dengan kandungan yang selain bergizi tinggi juga dapat memberikan pengaruh dalam menjaga bahkan meningkatkan kondisi kesehatan. Minuman yang telah dikembangkan untuk menjaga kesehatan salah satunya ialah minuman yang mengandung spesies bakteri usus atau disebut dengan minuman probiotik.

Probiotik merupakan suplemen yang terdapat dalam makanan dimana di dalamnya terdapat bakteri yang menguntungkan salah satunya ialah meningkatkan imunitas dalam tubuh. Penelitian yang sebelumnya pernah dilakukan menunjukkan hasil positif bahwa probiotik akan menyatu membentuk koloni dimana probiotik akan membantu aktivitas tubuh dengan fungsi yang sama dengan mikroflora alami dalam saluran pencernaan (Jaya *et al.*, 2011). Mikroflora yang terdapat di dalam usus selain berfungsi membantu kesehatan pencernaan dan menjaga daya tahan tubuh, juga memiliki manfaat dalam mencegah terjadinya konstipasi, mencegah kesulitan tidur di malam hari, serta memiliki pengaruh yang positif saat stress ketika daya tahan tubuh menurun. Perbaikan fungsi pencernaan tersebut dapat juga membantu mengurangi risiko kanker kolon.

Minuman produk probiotik yang diproduksi pada skala industri pangan salah satunya adalah yoghurt. Yoghurt adalah produk susu yang difermentasi menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*.

Pembentukan asam di dalam yoghurt dikarenakan adanya proses fermentasi yang dilakukan oleh bakteri asam laktat. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* berperan dalam membentuk flavor atau aroma dalam yoghurt sedangkan *Streptococcus thermophilus* berperan dalam menciptakan citarasa dalam yoghurt (Wardhani *et al.*, 2015). Berdasarkan Standar Nasional Indonesia tahun 2009, syarat yoghurt yaitu memiliki kandungan kadar lemak minimal 3,0 %, protein minimal 2,7%, keasaman 0,5-2,0 %. Kandungan senyawa seperti karbohidrat, laktosa dan protein merupakan penyusun utama yang digunakan dalam memfermentasi yoghurt adalah protein, karbohidrat, dan gula (laktosa). Yoghurt selain dibuat menggunakan bahan dasar susu yang berasal dari hewan, susu nabati juga dapat digunakan sebagai pengganti bahan dasar seperti biji-bijian atau kacang-kacangan. Penelitian yang telah dilakukan tentang yoghurt menunjukkan bahwa yoghurt dapat dibuat dengan bahan dasar dari susu kambing (Zain *et al.*, 2017), kedelai hitam (Utaminigrum, 2011) dan jagung manis (Wardhani *et al.*, 2015). Bahan dasar yang digunakan untuk membuat yoghurt pada umumnya berasal dari susu hewani salah satunya susu sapi. Penggunaan bahan dasar ini membuat yoghurt bernilai jual tinggi di pasaran dan berakibat bahwa yoghurt tidak dapat dikonsumsi oleh seluruh lapisan masyarakat, dengan demikian perlu dimanfaatkan bahan dasar lain dalam pembuatan yoghurt seperti biji ketapang.

Ketapang atau katapang (*Terminalia catappa* L.) merupakan tanaman yang tumbuh di tepi pantai maupun di tepi jalan dan dapat tumbuh secara liar. Tumbuhan ini cepat tumbuh dan membentuk tajuk indah bertingkat-tingkat, ketapang sering dijadikan pohon peneduh di taman-taman dan tepi jalan. Semula biji ketapang dapat dimakan mentah atau dimasak, konon lebih enak dari biji

kenari, dan digunakan untuk *toping* sebagai pengganti biji amandel (*almond*) pada kue-kue. Inti dari bijinya dalam keadaan kering setelah dijemur dapat menghasilkan minyak berwarna kuning hingga setengah dari bobot semula. Minyak ini mengandung beberapa asam lemak seperti asam palmitat 55,5%, asam oleat 23,3%, asam linoleat 7,6%, asam stearat 6,3% dan asam miristat. Biji ketapang kering ini juga mengandung protein 25,3%, serat 11,75% dan karbohidrat 5,8% serta mineral seperti kalsium, magnesium, kalium dan natrium (Maghfiroh *et al.*, 2014).

Proses fermentasi yoghurt memanfaatkan bakteri asam laktat dari golongan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Golongan *Streptococcus thermophilus* ini akan lebih cepat berlipat ganda dalam proses perkembangbiakannya dan akan menghasilkan gas CO₂ serta membentuk asam yang mendukung pertumbuhan bakteri *Lactobacillus bulgaricus*. Aktivitas proteolitik dari bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dapat menghasilkan senyawa peptida stimulan dan asam amino yang digunakan oleh *Streptococcus thermophilus*. Bakteri asam laktat ini bertanggung jawab dalam pembentukan tekstur dan juga rasa pada yoghurt (Ginting *et al.*, 2015).

Yoghurt biji ketapang belum diketahui jenis starter dan juga lama fermentasi yang berpengaruh terhadap sifat kimia dan mikrobiologi yang tepat pada produk ini, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang tujuannya untuk mendapatkan informasi yang benar dan dapat dipertanggung jawabkan secara ilmiah.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menentukan pengaruh penggunaan jenis starter dan lama fermentasi pada yoghurt biji ketapang terhadap karakteristik kimia dan mikrobiologi.
2. Menentukan karakteristik kimia dari yoghurt biji ketapang dengan jenis starter dan lama fermentasi yang berbeda.

C. Manfaat Penelitian

1. Mengetahui jenis starter yang paling optimal terhadap produk yang dihasilkan
2. Mengetahui pengaruh jenis starter dan lama fermentasi terhadap karakteristik kimia produk yang dihasilkan.
3. Mengetahui lama fermentasi yang optimal untuk mendapatkan karakteristik kimia yoghurt yang baik

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Yoghurt

Yoghurt ialah produk teragulasi yang dihasilkan melalui proses fermentasi dari bahan dasar susu dan atau susu rekonstitusi dengan melibatkan aktivitas proteolitik dari bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dan atau bakteri asam laktat lain yang sesuai, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan (Badan Standarisasi Nasional, 2009).

Menurut definisi resmi yoghurt merupakan produk susu terkoagulasi yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat tertentu melalui tahap fermentasi dengan melibatkan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*, yang mana dalam produk akhir mikroorganisme yang terkandung di dalamnya harus berlimpah dan dalam kondisi hidup-aktif. Perbedaan masing-masing produk susu fermentasi tergantung dari jenis bakterinya.

Komponen laktosa dan kasein merupakan komponen yang berperan dalam pembuatan yoghurt dimana laktosa diolah menjadi sumber energi dan karbon yang dibutuhkan selama fase pertumbuhan bakteri asam laktat di dalam yoghurt yang akan menghasilkan asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan digunakan untuk mempengaruhi kondisi tingkat keasaman atau pH. Komponen penyusun protein seperti kandungan kasein paling banyak dijumpai di dalam susu dan memiliki pengaruh terhadap perubahan keasaman atau pH, sehingga pH susu dapat menurun hingga 4,6, dan menyebabkan kondisi kasein dalam susu tidak stabil dan mendorong terbentuknya gumpalan yang terjadi karena proses koagulasi sehingga

membentuk padatan yang disebut yoghurt. Yoghurt yang pada umumnya diproduksi dari bahan susu segar, yoghurt dapat juga diproduksi dengan menggunakan susu skim atau disebut susu tanpa lemak dengan penambahan air pada perbandingan skala tertentu sesuai dengan kekentalan yoghurt yang diinginkan. Belakangan ini yoghurt dapat dibuat menggunakan campuran susu skim dengan susu nabati yang berasal dari kacang-kacangan.

Kelebihan yoghurt yang tidak terdapat pada susu murni yaitu memiliki kandungan protein, kalsium, riboflavin, vitamin B6 dan vitamin B12. Yoghurt memiliki manfaat sangat baik karena dapat dikonsumsi oleh seseorang yang memiliki sensitifitas tinggi terhadap kandungan gula susu, karena selama proses fermentasi kandungan gula dalam susu akan menurun, sehingga yoghurt lebih mudah dicerna oleh mereka yang memiliki sensitifitas terhadap gula susu. Para ahli menyebutkan bahwa yogurt telah dicerna terlebih dahulu oleh mikroba sehingga yogurt mengandung sisa-sisa kunyahan dari bakteri. Kemudahan proses pencernaan ini dapat dibandingkan, jika semula 90% susu dapat dicerna dengan waktu rata-rata 3 jam, untuk yoghurt hanya dibutuhkan waktu untuk mencerna selama 1 jam. Selain itu bakteri yang hidup dalam yogurt juga menyumbang enzim laktasenya yang diperlukan untuk mencerna sisa gula susu yang terdapat pada yoghurt.

Yoghurt selain bermanfaat bagi penderita alergi susu juga mampu menghambat kadar kolesterol dalam darah apabila dikonsumsi secara rutin karena yoghurt mengandung bakteri *Lactobacillus*. *Lactobacillus* memiliki manfaat dalam menghambat pembentukan kolesterol dalam darah yang diakibatkan karena mengkonsumsi makanan yang berasal dari jeroan atau daging, karena mengandung bakteri baik dan secara otomatis dapat menyeimbangkan bakteri jahat yang terdapat

dalam susu maka dapat meningkatkan daya tahan tubuh. Syarat mutu yoghurt berdasarkan Standar Nasional Indonesia (BSN) 2981-2009 dapat dilihat pada **Tabel 2.1.**

2.1.

Tabel 2.1. Syarat Mutu Yoghurt SNI 2981-2009

Kriteria	Satuan	Spesifikasi
Keadaan		
- Penampakan	-	Cairan kental-semi
- Bau	-	padat Normal/khas
- Rasa	-	Asam/khas
- Konsentrasi	-	Homogen
Kadar lemak (b/b)	%	Min. 3,0
Total padatan susu bukan lemak	%	Min. 8,2
Protein (Nx6,38) (b/b)	%	Min. 2,7
Kadar abu	%	Maks. 1,0
Keasaman (dihitung sebagai asam laktat) (b/b)	%	0,5 – 2,0
Cemaran Logam		
- Timbal (Pb)	mg/kg	Maks 0,3
- Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks 20,0
- Seng (Zn)	mg/kg	Maks 40,0
- Timah (Sn)	mg/kg	Maks 40,0
- Raksa (Hg)	mg/kg	Maks 0,03
- Arsen (As)	mg/kg	Maks 0,1
Cemaran mikroba		
- Bakteri <i>Coliform</i>	AMP/g atau koloni/g	Maks 10
- <i>Salmonella</i>	AMP/g	Negatif/25 g
<i>Listeria monocytogenes</i>	AMP/g	Negatif/25 g
Jumlah bakteri starter	Koloni/g	Min. 10 ⁷

Sumber: Badan Standarisasi Nasional, 2009.

B. Biji Ketapang

Tanaman atau pohon ketapang memiliki nama latin *Terminalia catappa* merupakan nama sejenis pohon tepi pantai yang rindang. *Terminalia catappa* merupakan pohon besar yang ketinggiannya dapat mencapai 40 m dan besar gemang batang sampai 1,5 m. Bertajuk rindang dengan cabang-cabang yang

tumbuh mendatar dan bertingkat-tingkat. Klasifikasi menurut Sah (2017) tanaman ketapang tersusun dalam sistematika sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Famili	: Combretaceae
Genus	: <i>Terminalia</i>
Spesies	: <i>T. Catappa</i>



Gambar 2.1. Biji Ketapang
Sumber: Data primer

Bagian tumbuhan ketapang ini memiliki banyak manfaat seperti pada bagian kayu yang dapat dimanfaatkan dalam bidang design rumah seperti untuk menutup lantai (venir) dan dapat digunakan dalam pembuatan perahu, bagian daun dapat diolah menjadi tinta, pewarna hitam dan untuk menyamak kulit, sedangkan bagian kulit jaringan kayunya (pepagan) mengandung tanin sebesar 11-23% yang dapat dimanfaatkan sebagai zat pewarna alami. Zat pewarna pegagan yang dihasilkan berwarna kuning hingga kecokelatan menyerupai warna zaitun. Selain bagian tersebut buah dan biji ketapang juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan dengan diolah menjadi susu ketapang (Sumarni *et al.*, 2017), selai biji ketapang (Sah, 2017), tempe (Lelatobur, 2016) dan stik (Darmawan, 2016).

Biji ketapang memiliki kandungan gizi di antaranya karbohidrat, protein, lemak, dan kadar air. Kandungan gizi berupa lemak yang ada di dalam biji ketapang tersusun atas beberapa senyawa asam lemak antara lain: asam palmitat, asam oleat, asam linoleat, asam stearat dan asam miristat. Budi (20016) telah melakukan pengujian terhadap biji ketapang kering yang dipoleh dari lingkungan Fakultas Teknik Universitas Semarang dengan hasil pada **Tabel 2.2**.

Tabel 2.2 Kandungan Gizi Biji Ketapang

Parameter	Satuan	Hasil Uji	Metode Uji
Kadar air	%	4,76	SNI. 01-2891- 92 Butir 5.1
Protein	%	25,17	Kjeldahl
Lemak	%	55,02	SNI. 01-2891- 92 Butir 8.2
Karbohidrat	%	5,52	SNI. 01-2891- 92 Butir 9
dihitung sebagai pati			

Sumber: (Budi, 2016)

Manfaat lain biji ketapang yaitu:

1. Sebagai camilan atau bahan makanan
2. Memiliki sifat afrosidiak

3. Dapat mengobati ejakulasi dini
4. Sumber protein
5. Sumber asam lemak

Asam lemak yang terdapat dalam biji ketapang berupa asam lemak yang sifatnya tak jenuh dan asam lemak jenuh, kedua jenis asam lemak ini sangat bermanfaat, khususnya asam linoleat (omega 6).

C. Fermentasi

Fermentasi telah lama dikenal oleh manusia, dimana dalam proses fermentasi dapat mengurai bahan sehingga membentuk menjadi produk yang dapat dimanfaatkan oleh tubuh, sekarang ini fermentasi sudah mengalami berbagai modifikasi mulai dari proses pembuatannya hingga didapatkan produk fermentasi dengan hasil yang lebih baik. Tamine dan Marshall (1999) *dalam* Prasetyo (2010) menyebutkan bahwa fermentasi merupakan kegiatan yang melibatkan bakteri yang berlangsung secara aerob maupun anaerob sehingga didapatkan beberapa produk yang di dalamnya melibatkan aktivitas mikrobial.

Fermentasi dalam ilmu pangan merupakan proses pemanfaatan bahan pangan dengan tujuan mengawetkan bahan pangan dengan proses yang relatif murah, sederhana dan tidak tergantung pada tempat dan musim. Selain itu juga memiliki sifat yang khas dengan aroma yang spesifik yang menjadi daya tarik konsumen (Rohayati, 2015).

Proses fermentasi yang berperan penting pada umumnya ialah bakteri asam laktat (BAL). Buckle *et al*, 1987 *dalam* Pasetyo, 2010 menyatakan bahwa produk olahan fermentasi dari bahan dasar susu salah satunya adalah yoghurt. Fermentasi pembentukan susu menjadi yoghurt dilakukan dengan bantuan mikroorganisme

Lactobacillus bulgarius dan *Streptococcus thermophilus* yang tumbuh secara optimum pada rentang suhu 40-45°C. Fermentasi tahap awal, *Streptococcus thermophilus* tumbuh dengan cepat sehingga mengakibatkan terakumulasinya asam laktat dan asetat, asetaldehida, diasetil serta format yang memiliki potensi menyebabkan perubahan oksidasi-reduksi pada medium dan dapat merangsang pertumbuhan *Lactobacillus bulgarius* (Muawanah, 1999).

Pembuatan yoghurt dilakukan dengan menginokulasikan bakteri spesifik ke dalam susu dengan mengontrol kondisi serta suhu lingkungan. Bakteri yang diinokulasikan dapat memecah gula dari susu murni dan melepaskan asam laktat sebagai produk sisa. Kandungan asam yang tinggi mengakibatkan protein di dalam susu mengalami proses koagulasi dan membentuk gumpalan yang memadat. Menurut Irwayanto (2009) dalam Ramadhan (2016) Yoghurt di Amerika Serikat dapat dikatakan sebagai yoghurt apabila di dalamnya yoghurt terdapat bakteri *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* dan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

Mutu produk susu terfermentasi seperti yoghurt secara umum ditentukan dengan tekstur atau viskositas yang terbentuk, derajat keasaman (pH atau total asam), dan kandungan senyawa flavor. Hal inilah yang berpengaruh terhadap penerimaan yoghurt oleh masyarakat. Kultur starter yang diinokulasikan dengan susu merupakan faktor utama yang mendukung pembentukan tekstur dan senyawa flavor serta menghasilkan aroma yoghurt.

Aroma yoghurt yang terbentuk secara mendasar diakibatkan karena adanya keberadaan jenis senyawa asam non-volatil, asam volatile, dan karbonil. Banyak peneliti menyatakan bahwa senyawa yang paling dominan dalam menentukan aroma

yoghurt yaitu karena adanya keberadaan senyawa karbonil seperti asetaldehida dan diasetil (Ramadhan, 2016)

Aktivitas *S.thermophilus* dan *L.bulgarius* selama proses fermentasi berlangsung saling bekerjasama dalam memecah gula susu atau laktosa sehingga terbentuk asam laktat yang dapat berpengaruh dalam tingkat keasaman susu dan pH. Kandungan asam laktat yang tinggi membantu mencegah pertumbuhan bakteri pembusuk seperti *Clostridium sp.* dan *Staphylococcus sp.* Keberadaan kedua bakteri ini sangatlah diperlukan karena bakteri *S. thermophilus* membantu menciptakan kondisi lingkungan yang baik bagi *L. bulgarius* untuk menghasilkan enzimnya (Chotimah, 2009).

D. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat tergolong dalam kelompok bakteri gram positif yang tidak dapat membentuk spora serta tahan terhadap kondisi asam dan bersifat bakteri fakultatif anaerob. Produk akhir dari hasil metabolisme bakteri asam laktat dikategorikan menjadi 2 yaitu homofermentatif (menghasilkan produk akhir berupa asam laktat) dan heterofermentatif (selain asam laktat juga menghasilkan asam asetat, etanol dan CO₂). Bakteri hemofermentatif memproduksi asam laktat sebagai produk utama. Asam laktat yang terbentuk terjadi karena perombakan glukosa menjadi piruvat dan selanjutnya akan diubah menjadi asam laktat melalui jalur glikolisis. Bakteri asam laktat juga menghasilkan substansi antibakteri bakteriosin yaitu substansi antibakteri yang disintesis oleh banyak spesies bakteri asam laktat yang bertujuan dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri lain (Widodo, 2002).

Empat genus bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus sp.*, *Leuconostoc sp.*, *Pediococcus sp.* dan *Streptococcus Sp.* Dua bakteri asam laktat yaitu *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* merupakan bakteri yang digunakan dalam proses pembuatan yoghurt.

1. *Streptococcus thermophilus*

Bakteri *Streptococcus thermophilus* memiliki sel dalam bentuk bulat berantai panjang dan tidak berspora, termasuk dalam bakteri gram positif yang bersifat fakultatif anaerob yang dapat tumbuh dalam suhu optimum 40-50°C dengan pH optimum 6,8. Bakteri *Streptococcus thermophilus* tahan pada kondisi asam 0,85-0,89% (Chotimah, 2009).

Menurut Mahmuda (2013) dalam Ramadhan (2016) menyatakan bahwa bakteri *Streptococcus thermophilus* dapat membentuk senyawa ATP (adenosin trifosfat) melalui proses respirasi dan senyawa nitrogen melalui reaksi hidrolisis protein dari susu. *S.thermophilus* berperan sebagai probiotik untuk mengurangi gejala intoleransi laktosa dan gangguan gastrointestinal lainnya.



Gambar 2.2. Bakteri *Streptococcus thermophilus*

Sumber: dillatomlinson.blogspot.com

(<http://dillatomlinson.blogspot.com/2015/01/bakteri-pada-yoghurt.html>.)

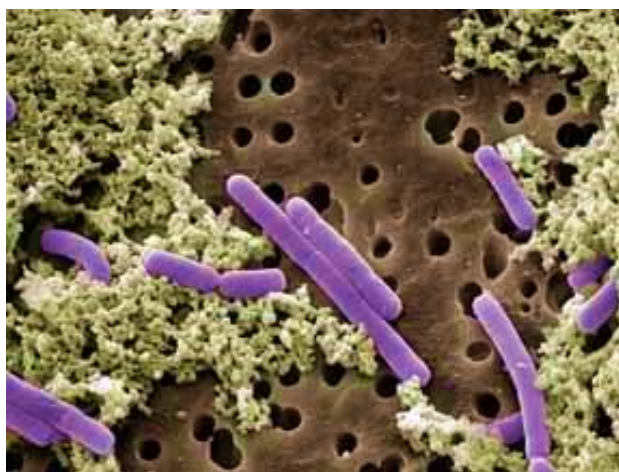
Streptococcus thermophilus selain dapat meningkatkan kandungan asam yang berlebih, melalui aktivitas yang cepat dapat tumbuh dan membentuk asam serta karbondioksida. Bakteri *Streptococcus thermophilus* melakukan aktivitasnya terlebih dahulu dalam menurunkan kondisi asam hingga pH sekitar 5,0 dan kemudian dalam keadaan asam ini digunakan oleh *Lactobacillus bulgaricus* untuk menurunkan pH hingga mencapai 4,0. Zat hasil fermentasi oleh mikrobia digunakan sebagai salah satu faktor untuk menghasilkan rasa dalam produk adalah senyawa asam yang terbentuk seperti asam laktat, asetaldehida, asam asetat dan diasetil (Ramadhan, 2016).

2. *Lactobacillus bulgaricus*

Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* pertama kali dikenal pada tahun 1905 oleh Stamen Grigorov seorang dokter dari Bulgaria ketika menganalisis yoghurt. Pada saat menganalisis Grigorov mengidentifikasi sejenis mikrobia yang memecah laktosa dan menghasilkan asam laktat. Menurut Yuliana (2012) dalam Ramadhan (2016) asam laktat tidak hanya berperan dalam mengawetkan susu melainkan juga dapat memecah gula dalam susu sehingga dapat dikonsumsi oleh seseorang yang memiliki alergi terhadap gula susu (*lactose intoleran*).

Berdasarkan hasil penelitian Khoiriyah dan Ardiningsih (2014) aktivitas bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. RED₄ terdeteksi pada fase eksponensial yaitu jam ke-4 dan mencapai optimal pada awal fase stasioner yaitu jam ke-16. Aktivitas antimikroba bakteriosin tertinggi pada waktu inkubasi 16 jam terhadap *B.cereus*, *B.subtilis*, *Salmonella* sp., *A.hydropila*, *E.coli*, *P.aerogenosa*, dan *C.albicans*.

Lactobacillus bulgaricus termasuk dalam bakteri gram positif yang memiliki bentuk batang dan tidak memiliki spora. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 21-50°C dengan kondisi keasaman 5,4 – 4,6 dan bersifat fakultatif anaerob serta dapat memproduksi asam laktat 1,2 – 1,5 %. Bakteri ini memiliki nutrisi yang kompleks, yang di dalamnya memiliki ketersediaan untuk memfermentasi beberapa jenis gula seperti laktosa (Prasetyo, 2010). Kultur bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dapat menghasilkan enzim yang dapat menjadikan susu memiliki tingkat keasaman yang lebih tinggi (Ramadhan, 2016).



Gambar 2.3. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*

Sumber: galaxi8.blogspot.com

(<http://galaxi8.blogspot.com/2011/10/lactobacillus-bulgaricus-monera.html>.)

E. Susu skim

SNI 01-2970-2006 memuat bahwa susu skim yang berbentuk bubuk merupakan susu yang dihasilkan melalui tahap pengurangan setengah bagian air dari keseluruhan dengan menggunakan panas melewati proses pengeringan susu segar dan susu rekombinasi yang melewati proses pasteurisasi, dengan atau tanpa penambahan vitamin, mineral, dan bahan tambahan pangan yang diizinkan. Susu skim serbuk berdasarkan SNI 01-2970-2006 memiliki kadar air kurang dari 5% lemak 1,5% dan protein 30% (Badan Standarisasi Nasional, 2006).

Susu skim serbuk yang ditambahkan dalam pembuatan yoghurt berpengaruh signifikan terhadap kadar asam laktat dan pH, dimana dalam konsentrasi 5% yoghurt jagung manis yang ditambah dengan ekstrak ubi jalar ungu 15% menunjukkan hasil paling efektif yaitu meningkatkan kadar asam laktat dari 0,314% hingga 1.216% dan pH menurun dari 4,280 hingga 3,623 (Sayuti *et al.*, 2013) .

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Dalam penelitian yang dilakukan menggunakan rancangan percobaan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial, dengan faktor sebagai berikut:

Faktor 1: variasi jenis starter

P1 : *Streptococcus thermophilus*

P2 : *Lactobacillus bulgarius*

P3 : *Streptococcus thermophilus- Lactobacillus bulgarius*

Faktor 2: lama fermentasi

M1 : 4 jam

M2 : 6 jam

M3 : 8 jam

Sesuai faktor yang digunakan maka akan memperoleh 9 kombinasi perlakuan dengan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 2 kali. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pada setiap perlakuan, apabila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* pada tingkat signifikansi 0,05. Secara lengkap rancangan percobaan penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 3.1**.

Tabel 3.1. Rancangan percobaan penelitian

Lama fermentasi	variasi jenis starter		
	P1 (St)	P2 (Lb)	P3 (St-Lb)
M1 (4 jam)	P1M1	P2M1	P3M1
M2 (6 jam)	P1M2	P2M2	P3M2
M3 (8 jam)	P1M3	P2M3	P3M3

Keterangan:

P1M1: Starter *Streptococcus thermophilus* dengan lama fermentasi 4 jam

P1M2: Starter *Streptococcus thermophilus* dengan lama fermentasi 6 jam

P1M3: Starter *Streptococcus thermophilus* dengan lama fermentasi 8 jam

P2M1: Starter *Lactobacillus bulgarius* dengan lama fermentasi 4 jam

P2M2: Starter *Lactobacillus bulgarius* dengan lama fermentasi 6 jam

P3M2: Starter *Lactobacillus bulgarius* dengan lama fermentasi 8 jam

P1M3: Starter *Streptococcus thermophilus*- *Lactobacillus bulgarius* dengan lama fermentasi 4 jam

P2M3: Starter *Streptococcus thermophilus*- *Lactobacillus bulgarius* dengan lama fermentasi 6 jam

P3M3: Starter *Streptococcus thermophilus*- *Lactobacillus bulgarius* dengan lama fermentasi 8 jam

B. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat penelitian

Alat yang digunakan ialah blender merk *philip*, penyaring, panci, kompor, timbangan analitik, waterbath, inkubator *memmert*, *laminer air flow*, buret, pipet, *autoclave*, *vortex merk Memmert*, *coloni counter*, Spektrofotometer UV-VIS, thermometer, cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi dan alat gelas kimia yang lazim digunakan di laboratorium kimia.

2. Bahan penelitian

a. Bahan penelitian

Biji ketapang diperoleh dari wilayah Solo. Spesifikasi ketapang (*Terminalia catappa* L.) yang digunakan ialah warna buahnya sudah

matang/kering yaitu berwarna kuning hingga coklat dan didalamnya terdapat biji ketapang yang langsung digunakan tanpa dilakukan pengeringan, susu skim merk indoprima, gula merk gulaku dan kultur bakteri asam laktat *Lactobacillus bulgaricus* FNCC0040 dan *Streptococcus thermophilus* FNCC0041 yang digunakan sebagai starter diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pusat Antar Universitas, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

b. Bahan analisis

Bahan yang dipakai untuk analisis meliputi kertas saring, aquades, MRS (*de Man Rogosa Sharpe*), agar 1%, CaCO_3 1%, Na Azida, NaCl, Spritus, Alkohol 70%, NaOH 0,1 N, Reagen Nelson, Reagen Arsenomolibdat, Glukosa Anhidrat, BSA (*Bovine Serum Albumin*) 0,03 M/100 mL, Indikator Fenolftalein 1%, NaOH 40%, HCl 30%, Reagen D (Lowry B yang terdiri dari Na-carbonat 2% dalam NaOH 0,1 N, kupri sulfat dan Na-K-tartat 2%) dan Reagen E (Lowry A yang terdiri dari fosfotungstat-fosfomolibdat (1:1)).

C. Tempat dan Jadwal Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret - April tahun 2019 di Laboratorium Rekayasa proses, Kimia dan Biokimia serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi dan Industri Pangan, Universitas Slamet Riyadi Surakarta.

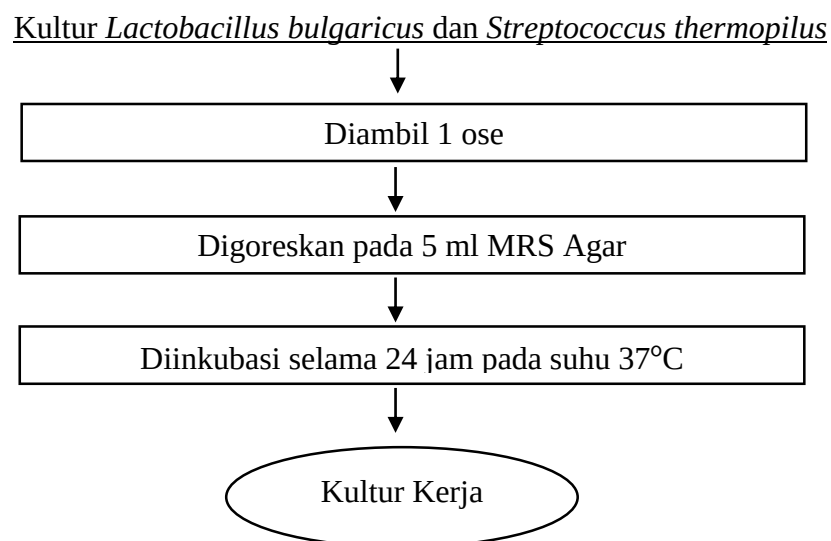
D. Tahapan Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan ialah pembuatan yoghurt biji ketapang dengan menggunakan variasi perlakuan jenis starter yaitu *Lactobacillus bulgaricus*,

Streptococcus thermophilus dan kombinasi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dan lama fermentasi yang dilakukan ialah 4, 6, dan 8 jam dengan tahapan sebagai berikut:

1. Pembuatan kultur kerja (Setioningrum *et al.*, 2004) yang dimodifikasi

Kultur *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* diperbanyak menggunakan media 5 ml MRS agar yang kemudian digoreskan dengan satu ose kultur murni, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu dapat digunakan dalam pembuatan starter atau disebut kultur kerja dan sisanya disimpan pada suhu -4°C sebagai kultur stok. Modifikasi dilakukan pada inkubasi kultur murni selama 24 jam karena waktu inkubasi tersebut terletak pada rentan waktu inkubasi optimal yaitu 18-48 jam dimana pada waktu tersebut kultur sudah dapat dipakai.

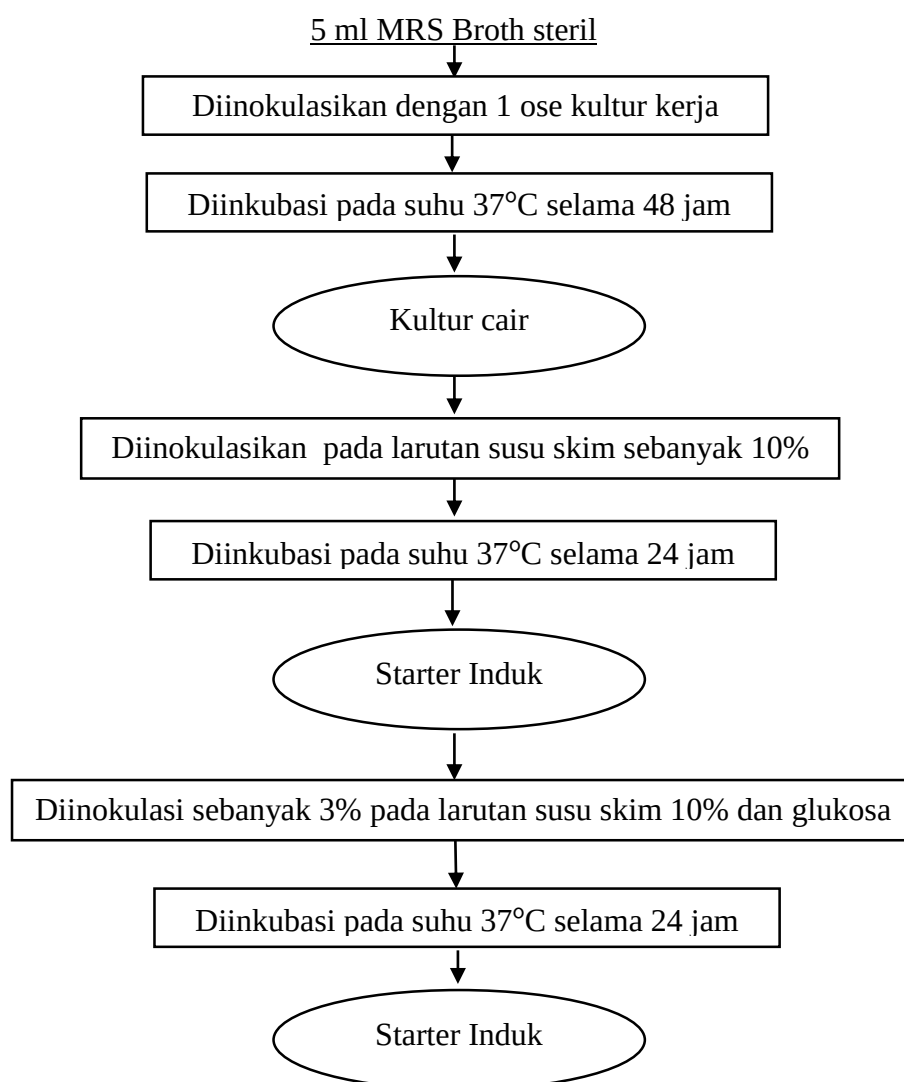


Gambar 3.1.Diagram Alir Proses Pembuatan Kultur Kerja Yang Telah Dimodifikasi (Setioningrum *et al.*, 2004)

2. Pembuatan starter (Setioningrum *et al.*, 2004) yang dimodifikasi

MRS Broth sebanyak 5 ml yang telah disterilkan diinokulasi dengan satu ose kultur kerja kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam hingga

didapatkan kultur cair untuk setiap bakteri. Masing-masing kultur cair diinokulasikan pada larutan susu skim sebanyak 10% yang telah steril, kemudian diinkubasi selama 24 jam sehingga didapatkan starter induk. Starter siap pakai dikerjakan dengan menginokulasikan starter induk sebanyak 3% pada larutan susu skim 10% dan glukosa 3% yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Modifikasi dilakukan pada inkubasi pembuatan strater induk dan siap pakai selama 24 jam karena waktu inkubasi tersebut terletak pada rentan waktu inkubasi optimal yaitu 18-48 jam dimana pada waktu tersebut strarter sudah dapat dipakai.



Gambar 3.2. Diagram Alir Proses Pembuatan starter yang dimodifikasi (Setioningrum *et al.*, 2004)

3. Pembuatan susu biji ketapang (Sumarni *et al.*, 2017) yang dimodifikasi

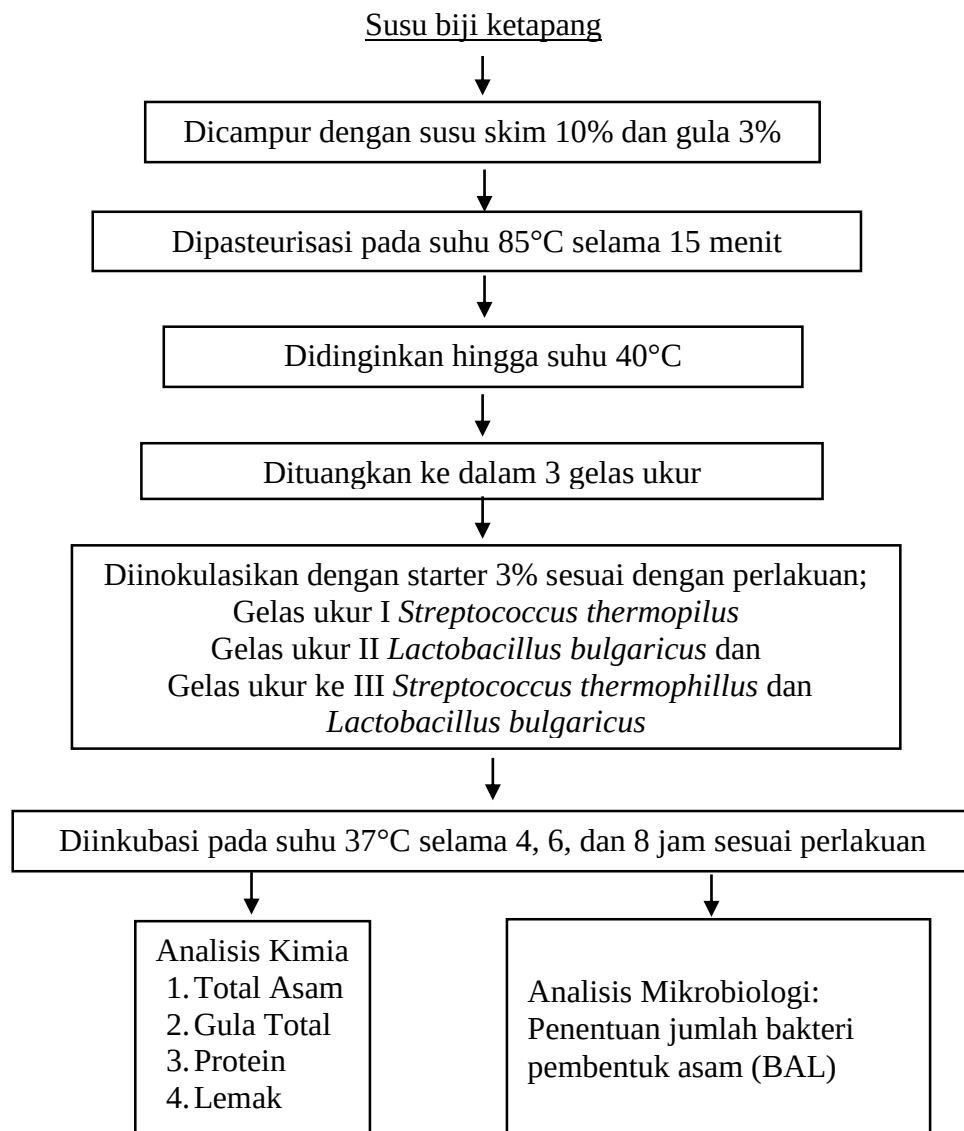
Proses pembuatan susu biji ketapang diawali dengan menyiapkan bahan baku yaitu ketapang, ketapang dibelah biji dalamnya dipisahkan dari kulit luarnya. Biji ketapang dibersihkan dengan air bersih dan dikukus selama 5 menit. Penggilingan biji ketapang dilakukan dengan penambahan air dengan perbandingan 1 : 6 (b/v), disaring dengan tujuan untuk memperoleh sari ketapang dan memisahkan dari ampas. Pemanasan dilakukan dengan suhu 80-85°C selama 3 menit. Modifikasi yang dilakukan ialah dengan melakukan pengukusan selama 5 menit pada air yang telah mendidih, karena dengan adanya pengukusan dapat menonaktivasi enzim-enzim pada biji ketapang sehingga memberikan aroma yang lebih baik.



Gambar 3.3. Diagram alir proses pembuatan susu biji ketapang yang telah dimodifikasi (Sumarni *et al.*, 2017)

4. Pembuatan Yoghurt (Muawanah, 1999) yang dimodifikasi

Susu biji ketapang dicampur dengan susu skim sebanyak (10% w/v) dan glukosa sebanyak (3% w/v). Susu yang telah homogen kemudian dipasteurisasi dengan suhu 85°C selama 15 menit dan didinginkan hingga suhu 40°C. Dibagi ke dalam 3 erlenmeyer 100 ml, kemudian erlenmeyer I diinokulasi dengan Starter *Streptococcus thermophilus*, erlenmeyer II diinokulasikan dengan *Lactobacillus bulgaricus* dan gelas erlenmeyer III diinokulasikan dengan *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* sebanyak (3% v/v) dengan perbandingan 1:1 (1,5 ml : 1,5 ml) untuk masing masing perlakuan, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 4, 6, dan 8 jam. Modifikasi dilakukan pada wadah produk dimana digunakan erlenmeyer 100 ml dengan tujuan untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi.



Gambar 3.4. Diagram alir Proses pembuatan yoghurt biji ketapang yang dimodifikasi (Muawanah, 1999)

D. Parameter Penelitian

1. Analisis Kimia

- a. Analisis kadar protein dengan metode Lowry-Folin (Sudarmadji *et al.*, 1997)
- b. Analisis kadar lemak dengan metode Mojonnier (Mojonnier, 1993)
- a. Analisis total asam dengan metode Mann's acid Test (Hadiwiyoto, 1983)

- b. Analisis gula total dengan metode Nelson-Somogyi (Sudarmadji *et al.*, 1997)

2. Analisis Mikrobiologi

- a. Penentuan jumlah bakteri pembentuk asam dengan metode TPC (Hadiwiyoto, 1983)

E. Analisis Data

Rancangan percobaan yang telah ditentukan maka dapat dibuat analisis variansi (ANOVA) yang bertujuan untuk menyimpulkan apakah dalam setiap perlakuan saling berpengaruh. Selanjutnya ditentukan arah daerah penolakan hipotesisnya (H_0), yaitu :

1. H_0 diterima apabila $F_{hitung} < F_{Tabel\ 5\%}$, H_1 ditolak
2. H_0 ditolak apabila $F_{hitung} > F_{Tabel\ 5\%}$, H_1 diterima

Berdasarkan penjabaran tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa hipotesis (H_1) dapat diterima apabila rata-rata dari masing-masing perlakuan terdapat perbedaan yang nyata atau dapat dikatakan berbeda nyata. Hipotesis (H_1) dapat ditolak dengan alasan jika rata-rata dari masing-masing perlakuan tersebut tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata atau dapat dikatakan berbeda tidak nyata. Hasil hipotesis yang diperoleh kemudian diuji lanjut menggunakan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan terhadap masing-masing perlakuan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Analisis Biji Ketapang

Ketapang atau *Terminalia Catappa* L. merupakan tanaman yang sering digunakan sebagai pohon peneduh di tepi jalan maupun di berbagai instansi, pohon ketapang merupakan tumbuhan tropis yang dapat tumbuh dimanapun termasuk ditepi pantai yang keberadaannya. Ketapang akhir-akhir ini telah dimanfaatkan sebagai sasaran untuk penelitian salah satunya ialah dengan memanfaatkan biji ketapang. Biji ketapang sebelum dimanfaatkan sebagai bahan dasar dalam pembuatan produk yoghurt pada penelitian ini maka terlebih dahulu dilakukan uji proksimat. Uji proksimat pada umumnya dilakukan untuk mengetahui komponen utama pada makanan yaitu kadar air, kadar abu, protein, lemak serta karbohidrat (dihitung sebagai serat), maka analisis ini menjadi perlu karena menyediakan data kandungan utama dari biji ketapang. Biji ketapang yang digunakan sebagai bahan untuk uji proksimat yaitu biji ketapang yang diambil langsung dari buahnya tanpa proses pengeringan. Uji proksimat ini dilakukan pada bulan Maret 2019 di Laboratorium Uji Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Kandungan gizi biji ketapang dapat dilihat pada **Tabel 4.1**.

Tabel 4.1. Hasil Analisa Proksimat Biji Ketapang Basah

Analisa (%)	Hasil Analisa		Rata-Rata	Stadar Deviasi
	Ulangan I	Ulangan II		
Air	20,70	20,27	20,48	± 0,215
Abu	3,84	3,87	3,85	± 0,015
Lemak	19,81	19,87	19,84	± 0,03
Protein	33,63	33,13	33,38	± 0,25
Total	33,63	33,13	33,38	± 0,25
Serat Kasar	13,54	12,78	13,16	± 0,38

Sumber: Data primer

Hasil pengujian pada **Tabel 4.1.** dapat dilihat bahwa biji ketapang (*Terminalia Catappa*.L) memiliki kandungan air sebesar 20,48 %, kadar abu 3,85%, lemak 19,84%, protein total 33,38% dan serat kasar 13,16%.

Diketahui bahwa kadar protein yang terkandung dalam biji ketapang cukup tinggi yaitu sebesar 33,38 %, dalam pembuatan yoghurt kandungan protein dalam bahan baku sangat dibutuhkan untuk membantu meningkatkan pembentukan sel dan perkembangbiakan bakteri asam laktat (*Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*). Seperti yang dinyatakan oleh Yusmarini dan Efendi (2004) dalam Bangun (2009) menyebutkan bahwa selama proses fermentasi, protein akan dihidrolisis menjadi komponen terlarut untuk mendukung pembentukan sel mikrobial. Pernyataan ini didukung oleh McComas dan Gililand (2003) dalam Bangun (2009) dimana protein berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri prebiotik di dalam yoghurt untuk menyediakan sumber nutrisi peptida dan asam amino.

Kandungan lemak dalam pembuatan yoghurt menyumbang peran penting dalam menurunkan derajat keasaman secara cepat. Selama fermentasi berlangsung lemak akan terhidrolisis dan membentuk asam lemak serta gliserol. Semakin tinggi kandungan asam lemak akan berpengaruh terhadap penurunan derajat keasaman yoghurt yang semakin cepat. Asam lemak yang beratom C rantai pendek (asam lemak jenuh) membentuk beberapa senyawa di antaranya lemak bebas dan gliserol, sedang asam lemak dengan atom C rantai panjang (asam lemak tak jenuh) teroksidasi menjadi keton, aldehid, alkohol, dan asam organik yang beratom C pendek. Senyawa ini berperan dalam pembentukan cita rasa dalam yoghurt.

A. Analisis Kimia Yoghurt Biji Ketapang

1. Kadar Protein

Metode analisis kadar protein yang digunakan ialah metode Lowry Folin menggunakan larutan *Bovine Serum Albumine* (BSA) sebagai larutan standarnya, yang bertujuan untuk menghitung jumlah protein yang terlarut di dalam air. Analisis Lowry Folin ini akan terjadi reaksi beberapa tahap. Pertama akan menghasilkan senyawa kompleks Cu (II)-protein yang kemudian dalam suasana alkalis Cu(II) akan tereduksi menjadi Cu(I). Reaksi kedua yaitu Ion Cu^+ kemudian akan mereduksi reagen Folin-Ciocalteu menjadi kompleks phosphomolibdat phosphotungstat (phosphomolybdotungstate) dan menghasilkan heteropoly molybdenum blue akibat dari reaksi oksidasi gugus aromatik yang terkatalis oleh Cu dan memberikan warna biru intensif yang dapat dideteksi secara kolorimetri dengan menggunakan spektrofotometri. Prinsip kerja alat spektrofotometer yaitu sumber cahaya yang ada akan masuk ke dalam monokromator dan terdispersi menjadi cahaya monokromatis. Cahaya monokromatis kemudian ditransmisikan melalui sel sampel dalam tempat sampel dan jatuh pada detektor, kemudian dikonversikan oleh sinyal listrik yang memperkuat dan tercatat pada rekorder atau layar.

Hasil uji anova menunjukkan bahwa kadar protein yoghurt biji ketapang pada perlakuan lama fermentasi tidak berbeda nyata, namun pada perlakuan jenis starter dan interaksi antara perlakuan lama fermentasi dan jenis starter menunjukkan adanya beda nyata. Hasil uji Anova tersebut dapat dilihat pada **Tabel 4.2**.

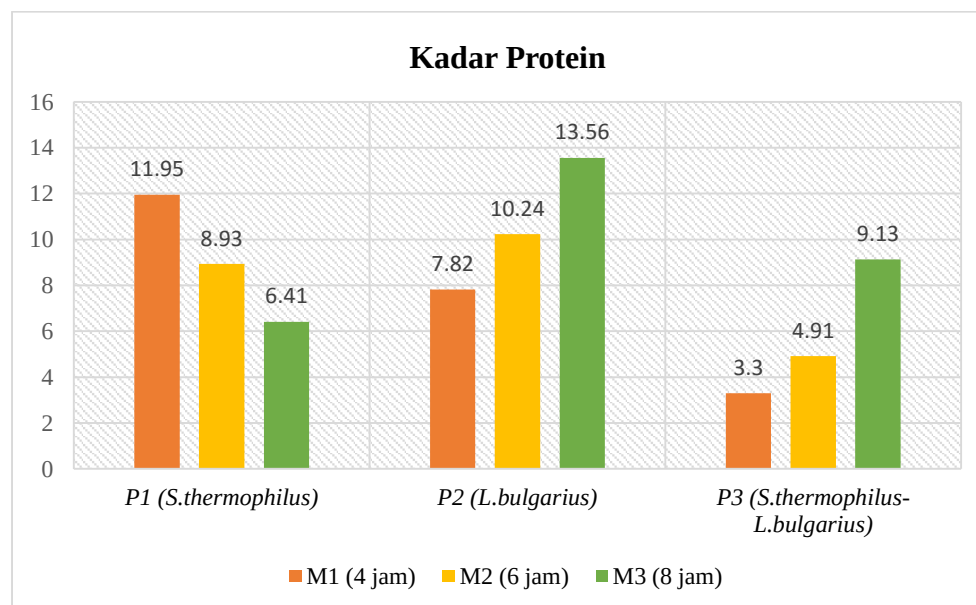
Tabel 4.2 menunjukkan bahwa kadar protein yang paling besar adalah 13,56% yang diperoleh dari perlakuan penggunaan jenis starter yaitu *Lactobacillus*

bulgaricus (P2) dengan lama fermentasi 8 jam (M3), sedangkan kadar protein terendah sebesar 3,3% yang diperoleh dari perlakuan penggunaan jenis starter yaitu *S.thermophilus-L.bulgarius* (P3) dengan lama fermentasi 4 jam (M1). Kadar protein yang terkandung dalam yoghurt sudah memenuhi syarat mutu yoghurt SNI 2981-2009 yaitu 2,7 %. Data tersebut dapat dilihat pada **Gambar 4.1**.

Tabel 4.2. Kadar Protein Yoghurt Biji Ketapang dengan Jenis Starter dan Lama Fermentasi (%)

Lama fermentasi	Jenis starter			Rataan (mean)
	P1 (<i>S.thermophilus</i>)	P2 (<i>L.bulgarius</i>)	P3 (<i>S.thermophilus-L.bulgarius</i>)	
M1 (4 jam)	11,95 ^{cd}	7,82 ^{abc}	3,30 ^a	7,69 ^p
M2 (6 jam)	8,93 ^{bcd}	10,24 ^{bcd}	4,91 ^{ab}	8,02 ^p
M3 (8 jam)	6,41 ^{ab}	13,56 ^d	9,13 ^{bcd}	9,70 ^p
Rataan (mean)	9,09 ^x	10,54 ^x	5,78 ^y	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata taraf nyata 5% pada uji *Duncan Multiple Range Test*



Gambar 4.1. Diagram kadar protein yoghurt biji ketapang

Pada **Gambar 4.1** dapat dilihat bahwa jenis starter dan lama fermentasi yang digunakan dalam pembuatan yoghurt berpengaruh terhadap kadar protein. Pada

starter yang menggunakan bakteri *Streptococcus thermophilus* menunjukkan adanya penurunan kadar protein. Hal ini disebabkan karena bakteri *Streptococcus thermophilus* tidak mendegradasi protein yang menghasilkan enzim protease dimana enzim ini tidak dapat meningkatkan kadar protein pada yoghurt namun menghasilkan gas nitrogen dan adenosin triphosphat (Mahmuda, 2013).

Bakteri asam laktat *Streptococcus thermophilus* ini mampu mendegradasi protein yang menghasilkan enzim protease sehingga pada penggunaan bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, kadar protein mengalami peningkatan. Hafsah dan Astriana (2012) dalam penelitiannya menyatakan bahwa *Lactobacillus bulgaricus* lebih baik dalam memfermentasi susu.

Penggunaan kedua bakteri yaitu *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* kadar protein yang dihasilkan tidak setinggi apabila menggunakan *Lactobacillus bulgaricus* saja, karena kedua bakteri melakukan simbiosis dimana bakteri *Streptococcus thermophilus* terlebih dahulu menghidrolisis protein hingga terbentuk lingkungan yang mempengaruhi *Lactobacillus bulgaricus* untuk lebih mudah menghasilkan enzim protease.

S.thermophilus terlebih dahulu melakukan aktivitasnya dalam menurunkan pH hingga 5,0 setelah kondisi asam tercapai *Lactobacillus bulgaricus* akan melanjutkan menurunkan pH hingga mencapai 4,0. Senyawa hasil fermentasi oleh mikroorganisme yang menghasilkan rasa didalam produk adalah asam laktat, asetaldehida, asam asetat dan diasetil (Ramadhan, 2016).

Protein yang dihasilkan selama fermentasi 4, 6, dan 8 jam masih terus meningkat dikarenakan kandungan substrat dalam bahan masih tersedia untuk bakteri asam laktat dalam melakukan fermentasi.

2. Gula Total

Analisa gula total dalam penelitian ini menggunakan metode Nelson-Somogyi. Metode ini digunakan untuk mengukur kadar gula reduksi dengan menggunakan pereaksi tembaga arseno molibdat. Mula-mula kupri direduksi menjadi bentuk kupro dengan pemanasan larutan gula. Kupro yang terbentuk akan larut bersama arseno molibdat menjadi molibdenum berwarna biru yang menunjukkan ukuran konsentrasi gula dan membandingkannya dengan larutan standar sehingga konsentrasi gula dalam sampel dapat ditentukan. Reaksi warna yang terbentuk dapat menentukan konsentrasi gula dalam sampel dengan mengukur absorbansinya.

Hasil uji anova menunjukkan bahwa kadar gula total yoghurt biji ketapang pada perlakuan lama fermentasi dan interaksi antara lama fermentasi dengan jenis starter terdapat beda nyata namun pada perlakuan jenis starter tidak menunjukkan adanya beda nyata. Hasil uji Anova tersebut dapat dilihat pada **Tabel 4.3**.

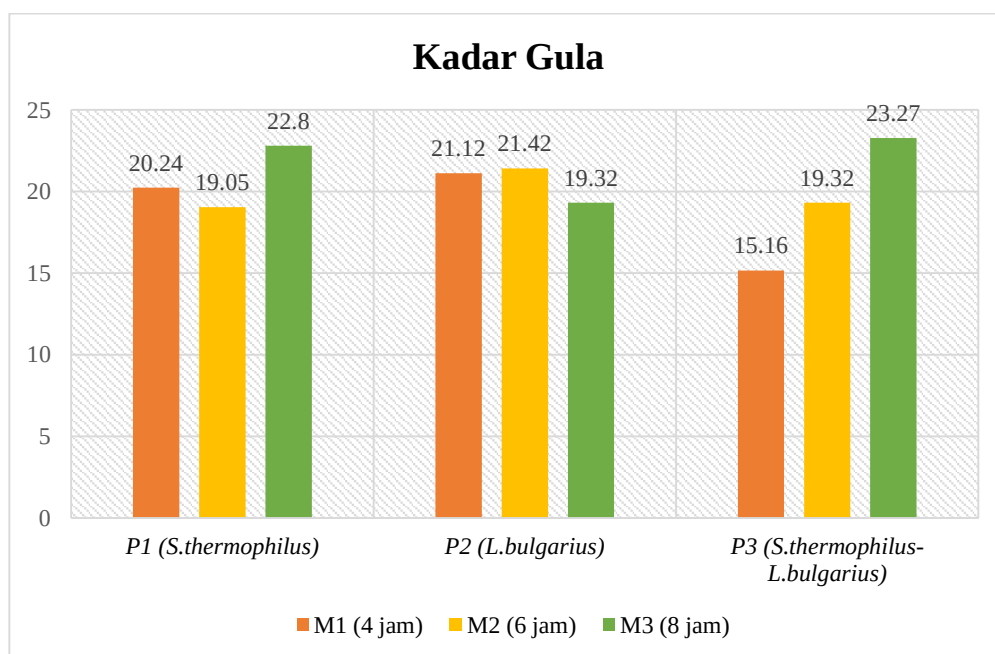
Tabel 4.3. Kadar Gula Total Yoghurt Biji Ketapang dengan Jenis Starter dan Lama Fermentasi (%)

Lama fermentasi	Jenis starter			Rataan (mean)
	P1 (<i>S.thermophilus</i>)	P2 (<i>L.bulgarius</i>)	P3 (<i>S.thermophilus</i> - <i>L.bulgarius</i>)	
M1 (4 jam)	20,24 ^{bc}	21,12 ^{bcd}	15,16 ^a	18,840 ^p
M2 (6 jam)	19,05 ^b	21,42 ^{bcd}	19,32 ^b	19,89 ^p
M3 (8 jam)	22,80 ^{cd}	19,32 ^b	23,27 ^d	21,79 ^q
Rataan (mean)	20,70 ^x	20,62 ^x	19,20 ^x	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata taraf nyata 5% pada uji *Duncan Multiple Range Test*

Jenis starter yang digunakan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap kadar gula pada yoghurt, sedangkan lama fermentasi terlihat memberikan pengaruh nyata terhadap kadar gula total setelah melewati 6 jam lama fermentasi sesuai pada **Tabel 4.3**. Hal ini terjadi karena lama fermentasi memberikan waktu pada bakteri untuk

mengurai sukrosa menjadi asam laktat sehingga lama fermentasi berpengaruh nyata. Kadar gula total yang paling besar adalah 23,27% yang diperoleh dari perlakuan penggunaan jenis starter yaitu *Sreptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* (P3) dengan lama fermentasi 8 jam (M3), sedangkan kadar gula total terendah sebesar 19,05% yang diperoleh dari perlakuan penggunaan jenis starter yaitu *S.thermophilus* (P1) dengan lama fermentasi 6 jam (M2). Data tersebut dapat dilihat pada **Gambar 4.2**.



Gambar 4.2. Diagram Gula Total Yoghurt Biji Ketapang

Gambar 4.2 terlihat bahwa lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar gula yoghurt dimana untuk *S.thermophilus* dan *S.thermophilus-L.bulgaricus* dalam lama fermentasinya mengalami kenaikan jumlah gula, hal ini disebabkan karena starter yang digunakan mengubah gula dalam bahan menjadi asam sedangkan untuk *L.bulgaricus* mengalami penurunan. Kandungan karbohidrat terhitung sebagai serat biji ketapang sebesar 13,16% dan penambahan gula sukrosa sebanyak 3% menyebabkan total gula dari yoghurt tinggi. Semakin banyak bakteri asam laktat

yang terbentuk maka semakin banyak sumber gula yang digunakan selama metabolisme.

3. Kadar Lemak

Hasil uji Anova total asam tersaji dalam **Tabel 4.4** menunjukkan bahwa kadar lemak yoghurt biji ketapang dengan perlakuan lama fermentasi, jenis starter dan interaksi antara jenis starter dengan lama fermentasi menunjukkan adanya beda nyata.

Tabel 4.4.Kadar Lemak Yoghurt Biji Ketapang dengan Jenis Starter dan Lama Fermentasi (%)

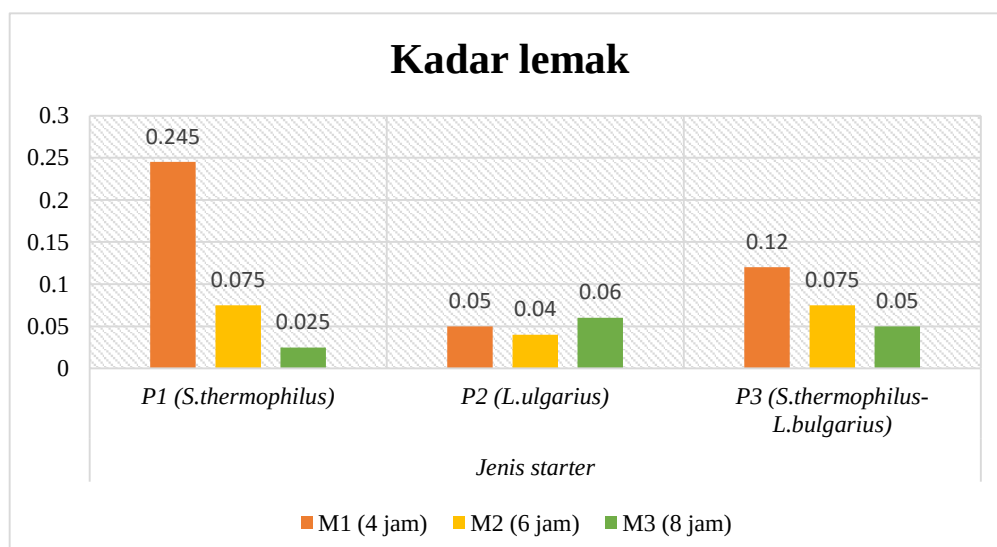
Lama fermentasi	Jenis starter			Rataan (mean)
	P1 (<i>S.thermophilus</i>)	P2 (<i>L.bulgarius</i>)	P3 (<i>S.thermophilus</i> - <i>L.bulgarius</i>)	
M1 (4 jam)	0,245 ^d	0,050 ^{bc}	0,120 ^c	0,138 ^p
M2 (6 jam)	0,075 ^b	0,040 ^{bc}	0,075 ^b	0,063 ^q
M3 (8 jam)	0,025 ^a	0,060 ^{bc}	0,050 ^{bc}	0,045 ^q
Rataan (mean)	0,115 ^x	0,050 ^y	0,081 ^z	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata taraf nyata 5% pada uji *Duncan Multiple Range Test*

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa kadar lemak paling tinggi didapatkan dari perlakuan jenis starter *S.thermophilus* (P1) dengan lama fermentasi 4 jam (M1) yaitu 0,245%, sedangkan untuk kadar lemak yang paling rendah didapatkan dari perlakuan jenis starter *S.thermophilus* (P1) dengan lama fermentasi 8 jam (P3) yaitu 0,025%. Data tersebut dapat dilihat pada **Gambar 4.3**.

Gambar 4.3 menunjukkan bahwa selama proses fermentasi berlangsung pada lama fermentasi 4 jam untuk starter *Lactobacillus bulgaricus* menunjukkan kadar lemak yang relatif rendah jika dibandingkan dengan starter *S.thermophilus* maupun *S.thermophilus-L.bulgarius*. Hasil ini dapat diasumsikan bahwa bakteri *L.bulgarius* lebih berperan dalam menurunkan kadar lemak dalam yoghurt. Hal ini

seperti yang dikatakan oleh Dianita (2005) dalam Ummah (2009) pada penelitiannya bahwa kadar lemak dalam yoghurt yang menggunakan starter *Lactobacillus bulgaricus* akan berbeda dengan *Streptococcus thermophilus*, karena bakteri *Streptococcus thermophilus* lebih berperan dalam pembentukan asam laktat. Berbeda dengan *Lactobacillus bulgaricus* yang mampu menghasilkan dan menghidrolisis enzim lipase.



Gambar 4.3. Diagram Kadar Lemak Yoghurt Biji Ketapang

Perlakuan kombinasi antara *Streptococcus thermophilus-Lactobacillus bulgaricus* dalam penelitian ini menggunakan perbandingan 1:1 dalam 3% volume bahan yang digunakan menunjukkan adanya penurunan kadar lemak hingga 0,05% pada jam ke 8. Jika dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Ummah (2009) mengenai pengaruh konsentrasi starter bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* terhadap kualitas yoghurt susu kambing dihasilkan bahwa perbandingan antara *Lactobacillus bulgaricus* dengan *Streptococcus thermophilus* sebanyak 2:1 mampu menurunkan kadar lemak pada yoghurt susu kambing hingga 3,83%.

Kadar lemak setelah fermentasi mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kadar lemak biji ketapang. Hal ini dapat disebabkan karena proses pembuatan susu biji ketapang yang menggunakan perbandingan 1:6, dimana susu biji ketapang mengalami penurunan kadar konsentrasi lemaknya.

4. Total Asam

Hernawati (2002) dalam Suharyono dan Kurniadi (2010) menyatakan bahwa total asam laktat merupakan hasil pengukuran dari semua komponen-komponen asam, baik yang terdisosiasi maupun yang tidak terdisosiasi, disamping asam laktat juga terkandung asam-asam lain yang mudah terdisosiasi, seperti asam asetat dan asam format.

Hasil uji Anova total asam tersaji dalam **Tabel 4.5.** menunjukkan bahwa keasaman yoghurt biji ketapang dengan perlakuan lama fermentasi, jenis starter dan interaksi antara jenis starter dengan lama fermentasi menunjukkan adanya beda nyata.

Tabel 4.5. Total Asam Yoghurt Biji Ketapang dengan Jenis Starter dan Lama Fermentasi (%)

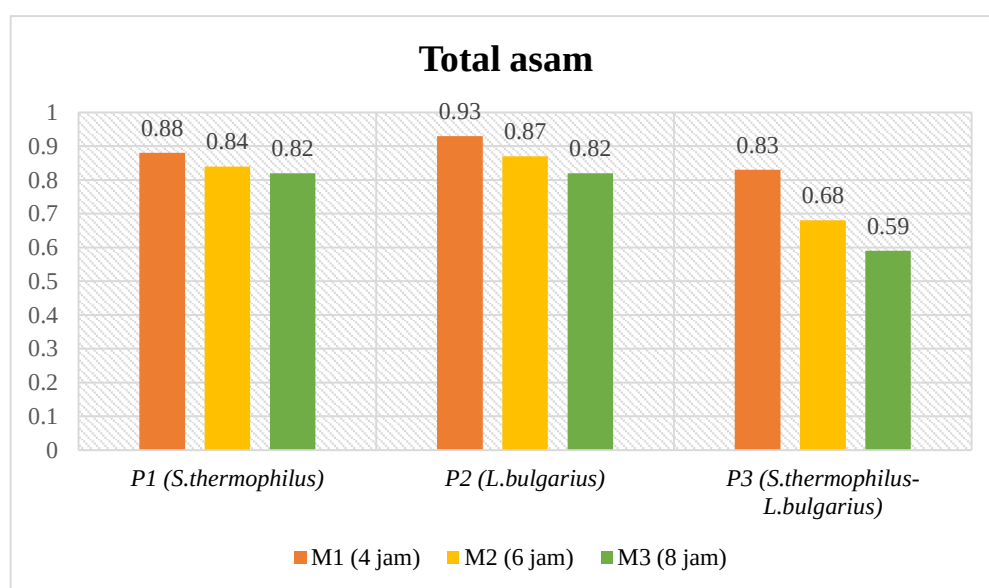
Lama fermentasi	Jenis starter			Rataan (mean)
	P1 (<i>S.thermophilus</i>)	P2 (<i>L.bulgarius</i>)	P3 (<i>S.thermophilus</i> - <i>L.bulgarius</i>)	
M1 (4 jam)	0,88 ^{bc}	0,93 ^c	0,83 ^b	0,88 ^p
M2 (6 jam)	0,84 ^{bc}	0,87 ^{bc}	0,68 ^a	0,80 ^q
M3 (8 jam)	0,82 ^b	0,82 ^b	0,59 ^a	0,74 ^r
Rataan (mean)	0,85 ^x	0,87 ^x	0,70 ^y	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata taraf nyata 5% pada uji *Duncan Multiple Range Test*

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa tingkat keasaman yoghurt terendah pada perlakuan *S. thermophilus* – *L. bulgarius* (P3) dengan lama fermentasi 8 jam (M3) dengan angka 0,59%. Tingkat keasaman tertinggi terdapat pada perlakuan

L.bulgarius (P1) dengan lama fermentasi 4 jam (P1) dengan angka 0,93%. Tingkat keasaman dalam yoghurt sudah memenuhi syarat mutu yoghurt SNI 2981-2009 yaitu 0,5-2,0. Dari data tersebut dapat dilihat pada **Gambar 4.4**.

Gambar 4.4 menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi akan semakin besar pula tingkat keasaman yoghurt yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena adanya aktivitas Bakteri Asam Laktat yang terkandung dalam yoghurt dapat mengubah sebagian laktosa menjadi asam (Prasetyo, 2010).



Gambar 4.4. Diagram Total Asam Yoghurt Biji Ketapang

Gambar 4.4 tersebut dapat dilihat bahwa setiap jenis starter yang digunakan menghasilkan keasaman yang berbeda, jenis starter *S. thermophilus-L. bulgarius* akan menghasilkan suasana asam yang lebih rendah karena pada pembuatan yoghurt kedua bakteri ini saling bersimbiosis. Hasil degradasi protein oleh *S.thermophilus* yang menghasilkan asam format dan CO₂ yang dapat menstimulir pertumbuhan *L.bulgarius* dengan cepat. Karbohidrat yang terdapat dalam bahan merupakan karbohidrat kompleks (polisakarida), bakteri *Lactobacillus bulgaricus* memerlukan waktu untuk adaptasi dan energi untuk menghasilkan enzim yang

memecah polisakarida menjadi monosakarida kemudian akan dipecah menjadi glukosa, sehingga untuk menghasilkan asam laktat membutuhkan waktu yang lebih lama. Kombinasi kedua kultur dalam yoghurt akan menghasilkan asam laktat lebih cepat jika dibandingkan dengan menggunakan salah satu kultur menurut Walstra (1999) dalam Prasetyo (2010).

Aktivitas BAL yang semakin rendah maka dapat diasumsikan bahwa tingkat keasaman semakin rendah. Sesuai dengan pendapat Astawan (2008) yang menyatakan bahwa proses fermentasi yang berlangsung pada yoghurt pada prinsipnya yaitu memecah laktosa (gula susu) menjadi asam laktat dan berbagai komponen aroma dan citarasa. Semakin banyak laktosa maka bakteri akan semakin mampu memproduksi asam laktat, maka semakin tinggi asam yang terbentuk.

B. Analisis Total Bakteri Asam Laktat Yoghurt Biji Ketapang

Perhitungan jumlah bakteri pembentuk asam dilakukan dengan menggunakan metode *total plate count* dengan menanam 1 ml sampel pada setiap pengenceran yang ditentukan pada cawan petri. Pengenceran yang dipakai yaitu pada pangkat pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} . Setiap pengenceran diulang sebanyak dua kali, sehingga setiap pengenceran diperoleh rata-rata jumlah koloni bakteri. Rata-rata jumlah koloni bakteri yang memenuhi syarat yaitu (25-250 CFU/ml) kemudian dihitung untuk mendapatkan jumlah populasi bakteri asam laktat pada setiap perlakuan. Setelah diperoleh jumlah populasi bakteri kemudian dihitung log pertumbuhan bakteri asam laktat.

Hasil uji Anova total BAL tersaji dalam **Tabel 4.6** dapat dilihat bahwa perlakuan lama fermentasi dan jenis starter maupun interaksi antara lama fermentasi dan jenis starter tidak menunjukkan adanya beda nyata. Hal ini

dikarenakan jumlah bakteri asam laktat yang terdapat dalam substrat prosentase yang diinokulasikan adalah sama yaitu sebesar 3% dari volume keseluruhan.

Data hasil perhitungan total bakteri asam laktat pada minuman yoghurt biji ketapang didapat nilai log bakteri asam laktat berkisar antara 7,35 – 7,75 CFU/ml. Hasil analisa Anova pada **Tabel 4.6** menunjukkan bahwa nilai log tertinggi dari total bakteri asam laktat sebesar 7,75 CFU/ml pada perlakuan *S.thermophilus-L.bulgarius* (P3) dengan lama fermentasi 4 jam (P1) sedangkan nilai log terendah sebesar 7,20 CFU/ml pada perlakuan *L.bulgarius* (P2) dan lama fermentasi 4 jam (P1). Data tersebut dapat dilihat dalam diagram batang pada **Gambar 4.5**.

Tabel 4.6.Total Bakteri Asam Laktat Yoghurt Biji Ketapang dengan Jenis Starter dan Lama Fermentasi (%)

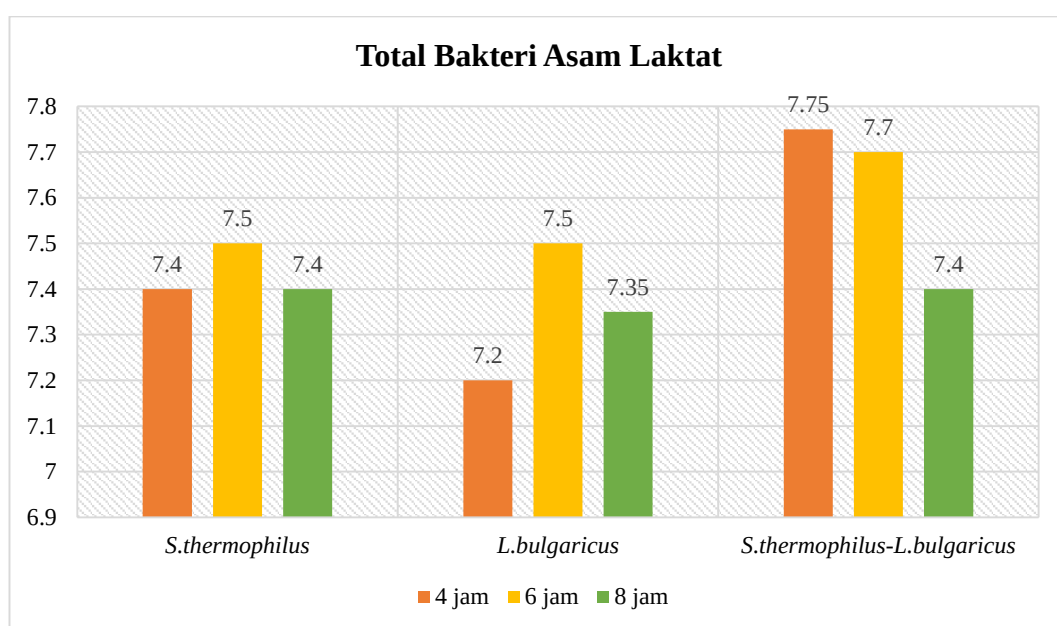
Lama fermentasi	Jenis starter			Rataan (mean)
	P1 (<i>S.thermophilus</i>)	P2 (<i>L.bulgarius</i>)	P3 (<i>S.thermophilus-L.bulgarius</i>)	
M1 (4 jam)	7,40 ^a	7,20 ^a	7,75 ^a	7,45 ^p
M2 (6 jam)	7,50 ^a	7,50 ^a	7,70 ^a	7,56 ^p
M3 (8 jam)	7,40 ^a	7,35 ^a	7,40 ^a	7,38 ^p
Rataan (mean)	7,43 ^x	7,35 ^x	7,62 ^x	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata taraf nyata 5% pada uji *Duncan Multiple Range Test*

SNI 2981-2009 menyatakan bahwa standar minimal dalam yoghurt adalah 10^7 koloni/g. Menurut Sriwidodo (2013) dalam Suharyono dan Muhamad Kurniadi (2010) menyatakan bahwa supaya produk laktat dapat memberikan manfaat kesehatan harus memiliki jumlah mikroba 10^7 - 10^{10} koloni/ml sehingga dapat bersaing dengan mikrobia patogen. Berdasarkan data tersebut, maka dapat dikatakan bahwa yoghurt biji ketapang telah memenuhi standar minuman laktat.

Gambar 4.5. menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan antara ketiga perlakuan dalam selang waktu fermentasi yang berbeda. Pertumbuhan

bakteri yang tidak stabil diduga karena bakteri asam laktat belum memanfaatkan suplai energi dari hasil perobakan karbohidrat, gula dan laktosa dalam susu skim dalam fase pertumbuhannya. Hal ini dinyatakan Sunarlim (2009) dalam Kumalasari, *et al.* (2012) bahwa senyawa yang paling berperan dalam proses fermentasi oleh BAL ialah laktosa yang digunakan sebagai sumber karbon dan energi dengan hasil metabolime asam laktat yang mengakibatkan penurunan pH dalam susu.



Gambar 4.5. Diagram Total Bakteri Asam Laktat Yoghurt Biji Ketapang

C. Rangkuman Hasil Analisis Kimia dan Mikrobiologi

Syarat yoghurt menurut SNI 2981:2009 yaitu yoghurt yang mengandung kadar lemak maksimal 3,8%, kadar protein minimal 3,5%, dan jumlah asam (dihitung sebagai laktat) 0,5-2,0 dan jumlah koloni starter minimal 10^7 koloni/g (Badan Standarisasi Nasional, 2009).

Berdasarkan hasil analisis kimia dan mikrobiologi yang telah dilakukan dapat diringkas bahwa jenis starter yang digunakan dalam pembuatan yoghurt

memberikan pengaruh nyata terhadap kadar protein, lemak dan total asam namun tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap gula total dan jumlah bakteri asam laktat. Sedangkan lama fermentasi yang dilakukan dalam pembuatan yoghurt memberikan pengaruh nyata terhadap kadar gula total, lemak dan total asam namun tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar protein dan jumlah bakteri asam laktat.

Perlakuan yang memiliki hasil optimal pada penelitian ini berdasarkan hasil pengujian kimia dan mikrobiologi yaitu pada perlakuan jenis starter *Lactobacillus bulgaricus* dan lama fermentasi selama 8 jam karena protein yang dihasilkan cukup tinggi dimana syarat mutu yoghurt menurut SNI minimal yaitu 3,5%. Kadar gula total yang dihasilkan sebesar 19,32% mengingat kembali bahwa yoghurt baik dikonsumsi oleh penderita alergi susu dimana semakin banyak kadar gula yang dihasilkan maka kandungan laktosa dalam susu yang dipecah akan semakin banyak.

Tabel 4.7. Rangkuman Hasil Analisis Kimia dan Mikrobiologi Yoghurt Biji Ketapang dengan Variasi Jenis Starter dan Lama Fermentasi

	Jenis starter	Kadar Protein (%)	Kadar Gula Total (%)	Kadar Lemak (%)	Total Asam (%)	Jumlah BAL (log Cfu/ml)
Lama fermentasi 4 jam	<i>Streptococcs thermophillus</i>	11,95 ^{cd}	20,24 ^{bc}	0,245 ^d	0,88 ^{bc}	7,40 ^a
	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	7,82 ^{abc}	21,12 ^{bcd}	0,050 ^{bc}	0,93 ^c	7,20 ^a
	<i>Streptococcus thermophilus</i> dan <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	3,30 ^a	15,16 ^a	0,120 ^c	0,83 ^b	7,75 ^a
Lama fermentasi 6 jam	<i>Streptococcs thermophillus</i>	8,93 ^{bcd}	19,05 ^b	0,075 ^b	0,84 ^{bc}	7,50 ^a
	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	10,24 ^{bcd}	21,42 ^{bcd}	0,040 ^{bc}	0,87 ^{bc}	7,50 ^a
	<i>Streptococcus thermophilus</i> dan <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	4,91 ^{ab}	19,32 ^b	0,075 ^b	0,68 ^a	7,70 ^a
Lama fermentasi 8 jam	<i>Streptococcus thermophilus</i>	6,41 ^{ab}	22,80 ^{cd}	0,025 ^a	0,82 ^b	7,40 ^a
	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	13,56 ^d	19,32 ^b	0,060 ^{bc}	0,82 ^b	7,35 ^a
	<i>Streptococcus thermophilus</i> dan <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	9,13 ^{bcd}	23,27 ^d	0,050 ^{bc}	0,59 ^a	7,40 ^a

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Sesuai penelitian yang telah dilaksanakan mengenai yoghurt biji ketapang (*Terminalia catappa* L) dengan variasi jenis starter *Streptococcus thermophilus*; *Lactobacillus bulgaricus*; dan *Streptococcus thermophilus*-*Lactobacillus bulgaricus* dan lama fermentasi 4, 6 dan 8 jam yang telah dilaksanakan maka dapat disimpulkan:

1. Penggunaan jenis starter dan lama fermentasi pada yoghurt biji ketapang terhadap kadar protein dengan kadar protein tertinggi 13,56% pada perlakuan *Lactobacillus bulgaricus* dengan lama fermentasi 8 jam, kadar gula total 23,27% pada perlakuan jenis starter *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dengan lama fermentasi 8 jam, total asam 0,93% pada perlakuan *S.thermophilus* – *L.bulgarius* dengan lama fermentasi 8 jam, kadar lemak paling tinggi didapatkan dari perlakuan jenis starter *S.thermophilus* dengan lama fermentasi 4 jam yaitu 0,245%. Total bakteri asam laktat pada minuman yoghurt biji ketapang nilai log bakteri asam laktat berkisar antara 7,35 – 7,75 CFU/ml.
2. Penggunaan jenis starter dan lama fermentasi pada yoghurt biji ketapang memiliki pengaruh yang berbeda nyata terhadap kadar protein, gula total , lemak dan total asam namun tidak berbeda nyata terhadap total bakteri asam laktat.

B. Saran

1. Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan jumlah starter bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* yang digunakan.
2. Penambahan flavor untuk inovasi yang lebih baru dan menutup aroma yang menyimpang.
3. Dilakukan perlakuan awal pada biji ketapang untuk mengurangi kandungan lemak.

DAFTAR PUSTAKA

- AS, Suharyono., dan Kurniadi, Muhammad., 2010. Pengaruh Konsentrasi Starter *Streptococcus Thermophilus* dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Minuman Laktat Dari Bengkuang (*Pachyrrhizus erosus*). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, **1**(1): 51-58.
- Astawan, M., 2008. Sehat dengan Hidangan Hewani. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Badan Standarisasi Nasional., 2006. *SNI 01-2970-2006*. Diambil kembali dari <http://online.fliphtml5.com>
- Badan Standarisasi Nasional., 2006. *Cara Uji Kimia Bagian 2: Penentuan Kadar Air pada Produk Perikanan: SNI 01-2354.2-2006*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Badan Standarisasi Nasional., 2009. *47518497-SNI-Yogurt*. Dipetik September 20, 2018, dari Standar Nasional Indonesia: <http://sisni.bsn.go.id>
- Bangun, R. S., 2009. *Pengaruh Fermentasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Kadar Protein Susu Kedelai*. Universitas Negeri Semarang.
- Budi, A.C, 2016., Pemanfaatan Biji Ketapang (*Terminalia catappa*) sebagai Bahan Dasar Tahu dengan Substitusi Kacang Kedelai dan Bahan Penggumpal Asam Cuka dan Batu Tahu untuk Meningkatkan Ketahanan Pangan. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Teknik, Program Studi Pendidikan Kesejahteraan Keluarga, Universitas Negeri Semarang.
- Chotimah, S. C., 2009. Peranan *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dalam Proses Pembuatan Yoghurt. *Jurnal Ilmu Peternakan*. **4**(2):47-52.
- Darmawan, E., 2016. Pemanfaatan Biji Ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai Sumber Protein dan Serat pada Produk Makanan Stik. *Agrotech*, **1**(1):27-33
- Fahmi, A., 2018. Manfaat Daun Ketapang. Diambil dari <https://www.ensiklopedia.com/manfaat-daun-ketapang>. Diakses pada 14 Juni 2019.
- Fajriyah, I., 2010. Regulasi dan Kontrol Metabolisme Bakteri. Depok : Fakultas Pertanian, Universitas Indonesia.
- Ginting, N., dan Pasaribu, E., 2015. Pengaruh Temperatur dalam Pembuatan Yoghurt dari Berbagai Jenis Susu dengan Menggunakan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. *Agribisnis Peternakan*, **1**(2):73-77
- Hadiwiyoto, S., 1983. *Teori dan Prosedur Mutu Susu dan Hasil Olahannya*. Yogyakarta: Liberty.
- Hasfah dan Astriana., 2012. Pengaruh Variasi Starter Terhadap Kualitas Yoghurt Susu Sapi. *Jurnal Bionature*, **13**(2): 96-102.

- Jaya, F., Kusumahadi, D., dan Amertani, D., 2011. Pembuatan Minuman Probiotik (Yoghurt) dari Proporsi Susu Sapi dan Kedelai dengan Isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. *Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*, **6**(1): 13-17.
- Kumalasari, K, E, D., Nurwantoro dan Mulyani, S., 2012. Pengaruh Kombinasi Susu dengan Air Kelapa Terhadap Total Bakteri Asam Laktat (BAL), Total Gula dan Keasaman Drink Yoghurt. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, **1**(2):48-53
- Khoriyah,H., dan Ardiningsih, P., 2014. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Terhadap Aktivitas Bakteriosin *Lactobacillus* Sp. Red4. *JKK*, **3**(4): 52-56.
- Lelatobur, L. E., 2016. Optimalisasi Perebusan Biji Ketapang (*Terminalia catappa* L.) dalam Fermentasi Tempe. *Skripsi*. Salatiga: Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana.
- Maghfiroh, Wijaya, A. A., Sa"adah, E., Valla, M. I., dan Romadhon, F., 2014. Karakteristik Sensoris Susu Ketapang (*Terminalia catappa* L.) Subtitusi Susu Kedelai High Protein. *Agrointek*, **2**(2): 69-74.
- Mahmuda, R., 2013. *Streptococcus thermophilus*. [http: // rifahatul mahmuda.blogspot.co.id/ 2013/12/ bakteri- lezat- streptococcus-thermophilus .html](http://rifahatulmahmuda.blogspot.co.id/2013/12/bakteri-lezat-streptococcus-thermophilus.html). Diakses : 22 Mei 2019.
- Mojohnier, T. D., 1993. *The Technical Control of The Diary Product*. Chicago: Mojohnier Bross.Co.
- Muawanah, A., 1999. Pengaruh Lama Inkubasi dan Variasi Jenis Starter Terhadap Kadar Gula, Asam Laktat, Total Asam dan pH Yoghurt Susu Kedelai. *Artikel Penelitian*. Jakarta: Program Studi Kimia, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Prasetyo, H., 2010. Pengaruh Penggunaan Starter Yoghurt Pada Level Tertentu Terhadap Karakteristik Yoghurt yang dihasilkan. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret.
- Ramadhan, F., 2016. Pengaruh Konsentrasi Susu Skim dan Suhu Fermentasi Terhadap Karakteristik Yoghurt Kacang Koro (*Canavalia Ensiformis* L). *Skripsi*. Bandung: Fakultas Teknik, Universitas Pasundan
- Rohayati, M., 2015. *Pemanfaatan Biji Ketapang Sebagai Bahan Alternatif Pembuatan Tahu Dengan Lama Perendaman dan Koagulan yang Berbeda*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sah, M. A., 2017. Pembuatan Selai Berbahan Dasar Biji Ketapang (*Terminalia catappa* L.). *Karya Tulis*. Balikpapan: Jurusan Tata Boga, Politeknik Negeri Balikpapan.
- Sayuti, I., Wulandari, S., dan Sari, D. K., 2013. Efektivitas Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* Var. *Ayamurasaki*) dan Susu Skim Terhadap Kadar Asam Laktat dan Ph Yoghurt Jagung Manis (*Zea Mays* L. *Saccharata*)

- dengan Menggunakan Inokulum *Lactobacillus Acidophilus* dan *Bifidobacterium Sp. Biogenesis*, **9**(2): 21-27.
- Setioningrum, E., Setyaningsih, R., & Susilowati, A., 2004. Pembuatan Minuman Probiotik dari Susu Kedelai dengan Inokulum *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus*. *Bioteknologi* : **1**(1):1-6.
- Sudarmadji, S., Bambang, H., dan Suhardi., 1997. *Prosedur Analisis Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty
- Sumarni, S., Muzakkar, M. Z., dan Tamrin., 2017. Pengaruh Penambahan CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) Terhadap Karakteristik Organoleptik, Nilai Gizi dan Sifat Fisik Susu Ketapang (*Terminallia catappa* L.). *Sains dan Teknologi Pangan*, **2**(3):604-614.
- Terajani, R., 2011. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*. Diambil dari <http://galaxi8.blogspot.com/2011/10/lactobacillus-bulgaricus-monera.html>. Diakses pada 14 Juni 2019.
- Tomlinson, D.H., 2015. Bakteri *Streptococcus thermophilus*. <http://dillatomlinson.blogspot.com/2015/01/bakteri-pada-yoghurt.html>. Diakses pada 22 Mei 2019.
- Ummah, Iffatul., 2009. Pengaruh Konsentrasi Starter Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* Terhadap Kualitas Yoghurt Susu Kambing. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Utaminingrum, F., 2011. Pengaruh Pemberian Yoghurt Kedelai Hitam (Black Soyghurt) Terhadap Kadar Kolesterol LDL Serum Pada Tikus Dislipidemia. *Artikel Penelitian*. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Wardhani, D. H., Maharani, D. C., dan Prasetyo, E. A., 2015. Kajian Pengaruh Cara Pembuatan Susu Jagung, Rasio dan Waktu Fermentasi Terhadap Karakteristik Yoghurt Jagung Manis. *Momentum*, **11**(1):7-12.
- Widodo, W., 2002. *Bioteknologi Fermentasi Susu*. Media Bioteknologi; 1-29. Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang.
- Zain, W. N., dan Kuntoro, B., 2017. Karakteristik Mikrobiologis dan Fisik Yogurt Susu Kambing dengan Penambahan Probiotik *Lactobacillus Acidophilus*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, **20**(1):1-8.

Lampiran 1. Analisis kadar protein dengan metode Lowry-Folin (Sumardji *et al*, 1997)

A. Pembuatan kurva standar

1. 6 tabung reaksi disiapkan, masing masing diisi dengan 0;0,2;0,4;0,6;0,8 dan 1 ml larutan standar BSA. Tambahkan aquadest sampai volume 1 ml.
2. Diambil 1 ml dan ditambahkan reagen D sebanyak 1 ml kemudian divortex.
3. Diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit.
4. Ditambahkan larutan reagen E sebanyak 3 ml.
5. Diinkubasi pada suhu kamar selama 45 menit.
6. Absorbansi ditera pada panjang gelombang 540 nm dengan spektrofotometer.

B. Preparasi Sampel

1. 0,2 ml sampel diencerkan dengan aquadest hingga volume 100 ml.
2. Diambil 1 ml dan ditambahkan aquadest 9 ml dalam tabung reaksi kemudian divortex.
3. Diambil 1 ml dan ditambahkan reagen D sebanyak 1 ml kemudian divortex.
4. Diinkubasi pada suhu kamar selama 15 menit.
5. Ditambahkan larutan reagen E sebanyak 3 ml.
6. Diinkubasi pada suhu kamar selama 45 menit.
7. Absorbansi ditera pada panjang gelombang 540 nm dengan spektrofotometer.

Kurva standar hubungan antara absorbansi dan konsentrasi dibuat. Persamaan kurva standar ditentukan.

Lampiran 2. Analisis kadar lemak dengan metode Mojonnier (Mojonnier, 1993)

1. Ditimbang sampel sebanyak 10 gram langsung didalam tabung ekstraksi.
2. Ditambah 1,5 ml amonia pekat dan digojog, kemudian ditambah 15 ml etanol 96% dan digojog selama 20 detik.
3. Ditambahkan 15 ml dietil eter dan digojog selama 20 detik.
4. Ditambahkan 15 ml petroleum eter (PE) dan digojog selama 15 menit.
5. Dituangkan larutan dietil eter, PE dan lemak dalam mangkok penampung yang sudah diketahui beratnya.
6. Ditambahkan 15 ml etanol 96% pada larutan yang tersisa pada tabung ekstraksi digojog selama 20 detik, kemudian ditambahkan 15 ml dietil eter dan digojog selama 20 detik dan ditambahkan 15 ml PE lalu digojog selama 15 menit.
7. Dituangkan dalam mangkok penampung.
8. Diuapkan diatas penangas air, kemudian lemak yang tersisa dimangkok penampung dikeringkan dalam oven selama 30 menit. Perlakuan diulang sampai berat konstan.

$$\text{Kadar lemak} = \frac{\text{berat akhir} - \text{berat sampel}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

Lampiran 3. Analisis total asam dengan metode Mann's acid Test (Hadiwiyoto, 1983)

Sampel dimasukkan ke erlenmeyer sebanyak 10 ml ditambahkan lima tetes indikator Fenolftalin 1% kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N sampai berwarna pink. Jumlah larutan NaOH 0,1 N yang dibutuhkan untuk mentitrasi sample dicatat.

$$\% \text{ Keasaman} = \frac{\text{ml NaOH} \times 0,009}{\text{volume sample}} \times 100 \%$$

Lampiran 4. Analisis Kadar Gula Total dengan metode Nelson Somogyi
(Sudarmadji *et al.*, 1997)

A. Kurva Standar

1. 0,01 gram Glukosa Anhidrat diencerkan dengan aquadest hingga volume 100 ml.
2. Diambil dengan konsentrasi 0,2,4,6,8 dan 10 ml kemudian ditambahkan aquadest pada tiap konsentrasi hingga volume 10 ml.
3. Diambil 1 ml kemudian ditambah reagen Nelson 1 ml
4. Dipanaskan selama 20 menit sampai mendidih, didinginkan.
5. Ditambahkan 1 ml larutan arsen dan 7 ml aquadest.
6. Dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer dengan λ 540 nm untuk mendapatkan nilai absorbansi.

B. Preparasi Sampel

1. Pengukuran kadar gula reduksi dilakukan dengan metode Nelson Somogyi, yaitu 2 gram sampel yang telah dihidrolisis asam maupun hidrolisis enzimatis yang telah diberi perlakuan alkali, disaring dengan kertas saring, lalu filtrat yang dihasilkan dilakukan pengujian kadar gula reduksi.
2. Sebanyak 1 ml filtrat yang telah diencerkan dicampur dengan 1 ml larutan reagen Nelson
3. Dipanaskan selama 20 menit sampai mendidih, didinginkan.
4. Ditambahkan 1 ml larutan arsen dan 7 ml aquadest.
5. Dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer dengan λ 540 nm untuk mendapatkan nilai absorbansi.

Lampiran 5. Penentuan jumlah bakteri pembentuk asam dengan metode TPC
(Hadiwiyoto, 1983)

Sampel dilakukan pengenceran dengan mengambil 1 ml dari produk kedalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml NaCL steril untuk pengenceran 10^{-1} , pengenceran 10^{-1} diambil 1ml dicampurkan dengan 9 ml NaCl steril untuk pengenceran 10^{-2} . Pengenceran ini dilakukan hingga 10^{-8} . Untuk pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7} diambil 1 ml kemudian tanam pada cawan petri. Setelah itu dituangkan pada cawan yang telah berisi 1 ml sampel pengenceran dengan media MRS agar kurang lebih 15ml. Petridisk yang telah ditanam bakteri dari produk diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam.

Lampiran 6. Pembuatan Media plating**1. Media Pengencer**

- a. Menimbang NaCl 5,1 gram
- b. Dilarutkan dalam aquadest 600 ml
- c. Dihomogenkan kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi dengan volume 9 ml sebanyak 65 tabung reaksi..
- d. Ditutup dengan kapas.
- e. Disterilkan dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C.

2. Media MRS

- a. Menimbang MRS broth 10,44 gram/200 ml, agar 1,5%, CaCO_3 1 % dan Na Azida seujung spatula.
- b. Dilarutkan dengan aquadest hingga homogen kemudian tutup dengan alumuniun foil dan plastik.
- f. Disterilkan dengan autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C.

Lampiran 7. Hasil Analisis ANOVA dan Uji Lanjut DUNCAN yoghurt biji

ketapang

Tests of Between-Subjects Effects						
Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	protein	85,423 ^a	4	21,356	2,168	,130
	kadar gula yoghurt biji ketapang	35,424 ^b	4	8,856	1,621	,228
	kadar lemak yoghurt biji ketapang	,042 ^c	4	,011	4,204	,021
	kadar asam yoghurt biji ketapang	,159 ^d	4	,040	15,909	,000
	Total Bakteri Pembentuk Asam	,327 ^e	4	,082	,498	,738
Intercept	protein	1292,522	1	1292,522	131,218	,000
	kadar gula yoghurt biji ketapang	7327,762	1	7327,762	1341,020	,000
	kadar lemak yoghurt biji ketapang	,122	1	,122	48,692	,000
	kadar asam yoghurt biji ketapang	11,810	1	11,810	4733,630	,000
	Total Bakteri Pembentuk Asam	1003,520	1	1003,520	6115,200	,000
jenis_starter	protein	71,482	2	35,741	3,628	,056
	kadar gula yoghurt biji ketapang	8,459	2	4,230	,774	,481
	kadar lemak yoghurt biji ketapang	,013	2	,006	2,536	,117
	kadar asam yoghurt biji ketapang	,105	2	,052	20,950	,000
	Total Bakteri Pembentuk Asam	,223	2	,112	,680	,524
fermentasi	protein	13,940	2	6,970	,708	,511
	kadar gula yoghurt biji ketapang	26,965	2	13,483	2,467	,123
	kadar lemak yoghurt biji ketapang	,029	2	,015	5,871	,015
	kadar asam yoghurt biji ketapang	,054	2	,027	10,869	,002
	Total Bakteri Pembentuk Asam	,103	2	,052	,315	,735
Error	protein	128,052	13	9,850		
	kadar gula yoghurt biji ketapang	71,036	13	5,464		
	kadar lemak yoghurt biji ketapang	,032	13	,002		
	kadar asam yoghurt biji ketapang	,032	13	,002		
	Total Bakteri Pembentuk Asam	2,133	13	,164		
Total	protein	1505,997	18			
	kadar gula yoghurt biji ketapang	7434,222	18			
	kadar lemak yoghurt biji ketapang	,196	18			
	kadar asam yoghurt biji ketapang	12,001	18			
	Total Bakteri Pembentuk Asam	1005,980	18			
Corrected Total	protein	213,475	17			
	kadar gula yoghurt biji ketapang	106,460	17			
	kadar lemak yoghurt biji ketapang	,075	17			
	kadar asam yoghurt biji ketapang	,191	17			
	Total Bakteri Pembentuk Asam	2,460	17			

1. Kadar Protein

kadar protein yoghurt biji ketapang

Duncan

kultur yang digunakan	N	Subset	
		1	2
s.thermophilus- l.bulgarius	6	5,7817	
s.thermophilus	6		9,0983
l.bulgarius	6		10,5417
Sig.		1,000	,276

kadar protein yoghurt biji ketapang

Duncan

lama fermentasi	N	Subset
		1
4	6	7,6917
6	6	8,0267
8	6	9,7033
Sig.		,156

kadar protein yoghurt biji ketapang

Duncan

kombinasi perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
P3M1	2	3,3000			
P3M2	2	4,9100	4,9100		
P1M3	2	6,4150	6,4150		
P2M1	2	7,8250	7,8250	7,8250	
P1M2	2		8,9300	8,9300	8,9300
P3M3	2		9,1350	9,1350	9,1350
P2M2	2		10,2400	10,2400	10,2400
P1M1	2			11,9500	11,9500
P2M3	2				13,5600
Sig.		,081	,050	,111	,079

2. Gula Total

kadar gula yoghurt biji ketapang

Duncan

kultur yang digunakan	N	Subset
		1
s.thermophilus- l.bulgarius	6	19,2083
l.bulgarius	6	20,6200
s.thermophilus	6	20,7017
Sig.		,064

kadar gula yoghurt biji ketapang

Duncan

lama fermentasi	N	Subset	
		1	2
4	6	18,8417	
6	6	19,8900	
8	6		21,7983
Sig.		,156	1,000

kadar gula yoghurt biji ketapang

Duncan

kombinasi perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
P3M1	2	15,1600			
P1M2	2		19,0550		
P3M2	2		19,1950		
P2M3	2		19,3200		
P1M1	2		20,2450	20,2450	
P2M1	2		21,1200	21,1200	21,1200
P2M2	2		21,4200	21,4200	21,4200
P1M3	2			22,8050	22,8050
P3M3	2				23,2700
Sig.		1,000	,098	,072	,120

3. Kadar Lemak

kadar lemak yoghurt biji ketapang

Duncan

kultur yang digunakan	N	Subset		
		1	2	3
l.bulgarius	6	,0500		
s.thermophilus-	6		,0817	
l.bulgarius	6			,1150
s.thermophilus	6			
Sig.		1,000	1,000	1,000

kadar lemak yoghurt biji ketapang

Duncan

lama fermentasi	N	Subset	
		1	2
8	6	,0450	
6	6	,0633	
4	6		,1383
Sig.		,126	1,000

kadar lemak yoghurt biji ketapang

Duncan

kombinasi perlakuan	N	Subset			
		1	2	3	4
P1M3	2	,0250			
P2M2	2	,0400	,0400		
P2M1	2	,0500	,0500		
P3M3	2	,0500	,0500		
P2M3	2	,0600	,0600		
P3M2	2		,0750		
P1M2	2		,0750		
P3M1	2			,1200	
P1M1	2				,2450
Sig.		,120	,123	1,000	1,000

4. Total Asam

kadar asam yoghurt biji ketapang

Duncan

kultur yang digunakan	N	Subset	
		1	2
s.thermophilus-l.bulgarius	6	,7033	
s.thermophilus	6		,8500
l.bulgarius	6		,8767
Sig.		1,000	,260

kadar asam yoghurt biji ketapang

Duncan

lama fermentasi	N	Subset		
		1	2	3
8	6	,7483		
6	6		,8000	
4	6			,8817
Sig.		1,000	1,000	1,000

kadar asam yoghurt biji ketapang

Duncan

kombinasi perlakuan	N	Subset		
		1	2	3
P3M3	2	,5950		
P3M2	2	,6800		
P1M3	2		,8250	
P2M3	2		,8250	
P3M1	2		,8350	
P1M2	2		,8450	,8450
P2M2	2		,8750	,8750
P1M1	2		,8800	,8800
P2M1	2			,9300
Sig.		,054	,220	,069

5. Total Bakteri Asam Laktat

Total Bakteri Pembentuk Asam

Duncan

kultur yang digunakan	N	Subset
		1
l.bulgarius	6	7,3500
s.thermophilus	6	7,4333
s.thermophilus-l.bulgarius	6	7,6167
Sig.		,372

Total Bakteri Pembentuk Asam

Duncan

lama fermentasi	N	Subset
		1
8	6	7,3833
4	6	7,4500
6	6	7,5667
Sig.		,534

Total Bakteri Pembentuk Asam

Duncan

kombinasi perlakuan	N	Subset
		1
P2M1	2	7,2000
P2M3	2	7,3500
P1M1	2	7,4000
P1M3	2	7,4000
P3M3	2	7,4000
P1M2	2	7,5000
P2M2	2	7,5000
P3M2	2	7,7000
P3M1	2	7,7500
Sig.		,304

Lampiran 8. Gambar penelitian



Biji ketapang



Susu Skim



Kultur murni



Kultur yang telah diremajakan



Starter yoghurt



Pembuatan yoghurt



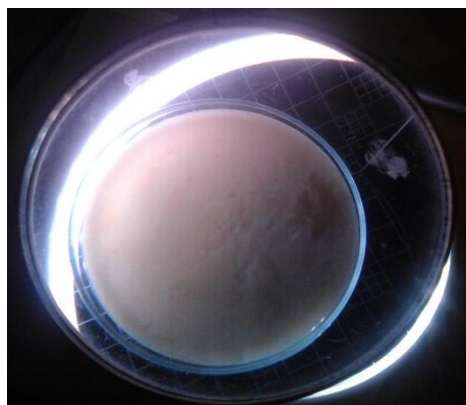
Produk yoghurt



Pengenceran gula total



Pengujian gula total



Perhitungan koloni



Penuangan MRS



Perhitungan koloni



Larutan kurva standart protein
lowry folin