

**PENGARUH PERBANDINGAN KACANG MERAH  
(*Phaseolus vulgaris* Linn.) DENGAN AIR TERHADAP MUTU  
YOGHURT KACANG MERAH**

**NOVIANTY YONATHAN  
N111 06 006**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

**PENGARUH PERBANDINGAN KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris*  
Linn.) DENGAN AIR TERHADAP MUTU YOGHURT KACANG MERAH**

**SKRIPSI**

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**NOVIANTY YONATHAN  
N111 06 006**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2010**

## PERSETUJUAN

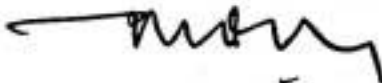
**PENGARUH PERBANDINGAN KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris*  
Linn.) DENGAN AIR TERHADAP MUTU YOGHURT KACANG MERAH**

Oleh :

**NOVIANTY YONATHAN  
N111 06 006**

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, M.S., Apt.  
NIP. 19500817 197903 1 003

Pembimbing Pertama,



Prof. Dr. H. Faisal Attamimi, M.S.  
NIP.19440428 197110 1 001

Pada tanggal

November 2010

## PENGESAHAN

### PENGARUH PERBANDINGAN KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* Linn.) DENGAN AIR TERHADAP MUTU YOGHURT KACANG MERAH

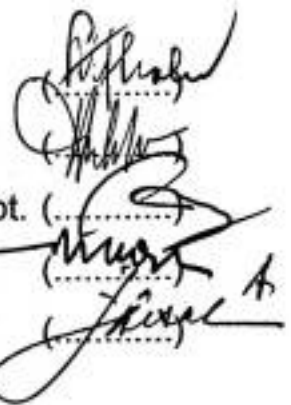
Oleh :

**NOVIANTY YONATHAN**  
**N111 06 006**

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
Pada Tanggal 10 November 2010

#### Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua : Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS, Apt.
2. Sekretaris : Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt.
3. Anggota : Prof. Dr. Amran Ilyas Tandjung, M.Sc., Apt. (.....)
4. Anggota (Ex Off) : Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, M.S., Apt. (.....)
5. Anggota (Ex Off) : Prof. Dr. H. Faisal Attamimi, M.S. (.....)



Mengetahui :  
Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. Ely Wahyudin, DEA, Apt.  
NIP. 19560114 198601 2 001

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, Nopember 2010

Penyusun



Novianty Yonathan

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala pujian, hormat, serta kemuliaan hanya untuk Tuhan Yang Maha Kuasa atas berkat dan pemeliharaan-Nya kepada penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Rasa bangga, hormat, dan terima kasih dengan tulus penulis haturkan kepada Bapak Prof. Dr. H. M. Natsir Djide, MS., Apt. sebagai pembimbing utama dan sekaligus sebagai penasehat akademik, Bapak Prof. Dr. H. Faisal Attamimi, MS., Apt. sebagai pembimbing pertama atas segala bimbingan, arahan, dan pelajaran yang diberikan kepada penulis. Terima kasih yang tulus penulis haturkan kepada Dekan Fakultas Farmasi Unhas, Bapak dan Ibu Dosen Farmasi Unhas, Seluruh Staf dan karyawan Fakultas Farmasi Unhas atas segala perhatian dan nasehatnya selama perkuliahan.

Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada :

- Ayahanda Yonathan, S.E dan Ibunda Dra. Venci Rante atas dukungan moral, materi dan doa yang diberikan selama penulis menuntut ilmu hingga terselesaikannya skripsi ini.
- Adik Yunita Yonathan dan Richard Sesa yang telah memberi dukungan dan doa serta teman berbagi selama kuliah.
- Rekan seperjuangan dan teman-teman penulis Natalia Ada', Sherling Lisangan, Tinny Ham Anto, Sandra Aulia, Nirwana Anwar, Eka Suciningsih, Baraya Crew, dan teman-teman Elixir 2006 yang tak

dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah memberi banyak sumbangsih sehingga skripsi ini selesai.

- kak Lia, Kak Dewi, Ibu Adri yang telah banyak menolong selama penulis mengerjakan penelitian sampai penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, tanggapan, saran, maupun kritik sangat diharapkan dalam penyempurnaan skripsi ini. Semoga karya kecil ini bermanfaat dalam pengembangan farmasi ke depan. Amin.

Makassar, September 2010

Novianty Yonathan

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh perbandingan kacang merah dengan air terhadap mutu yoghurt kacang merah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dapat memfermentasi susu kacang merah dan berapa perbandingan kacang merah dengan air untuk menghasilkan yoghurt dengan mutu yang baik. Parameter yang diukur adalah kadar total asam laktat, organoleptik, nilai pH, efek antibakteri, jumlah bakteri asam laktat dan kadar gula reduksi. Penelitian ini menggunakan lima perbandingan kacang merah dan air yaitu 1 : 4, 1 : 6,1 : 8, 1 : 10 dan 1 : 12. Total asam laktat ditentukan dengan metode alkalimetri, gula reduksi dilakukan dengan metode luff schoorl, organoleptik dengan uji hedonik, nilai pH dengan menggunakan kertas pH universal, efek antibakteri dengan metode difusi kemudian diukur zona hambatnya dan jumlah bakteri asam laktat dengan medium Glucose Yeast Pepton Agar (GYPA) yang ditambahkan  $\text{CaCO}_3$  kemudian dihitung dengan menggunakan metode Standard Plate Count (SPC). Berdasarkan hasil analisis, konsentrasi asam laktat tertinggi dan gula reduksi terendah diperoleh pada perbandingan 1:4 yaitu 0,75% dan 0,49%. Untuk asam laktat terendah dan gula reduksi tertinggi pada perbandingan 1:12 yaitu 0,61% dan 1,31%. Dari uji hedonik paling disenangi yoghurt kacang merah pada perbandingan 1 : 8 dengan rata-rata skor 14,7. Sedangkan jumlah bakteri asam laktat paling tinggi pada perbandingan 1 : 12 yaitu  $3,0 \times 10^8$  sel/ml.



## ABSTRACT

A research on the effect of water ratio of red beans and red beans for the quality of yoghurt had been done. This study aimed to know can *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* ferment milk and red beans on what is the ratio of red beans and water that produces a good quality yoghurt. Parameters measured were the total concentration of lactic acid, organoleptic, pH value, antibacterial effects, the amount of lactic acid bacteria and reducing sugar content. This study uses five red beans and water ratio is 1: 4, 1: 6, 1: 8, 1: 10 and 1: 12. Total lactic acid is determined using alkalimetri, reducing sugar analysis was conducted using Schoorl Luff, organoleptic the hedonic test, the pH value using universal pH paper, the antibacterial effect by diffusion method and then measured the resisting zone and the amount of lactic acid bacteria with medium Peptones Glucose Yeast Agar (GYPA) were added  $\text{CaCO}_3$  then calculated using the Standard Plate Count (SPC). Based on the analysis, the concentration for total lactic acid and reducing sugar was obtained at the lowest ratio of 1:4 that is 0.75% and 0.49%. For the result, the lowest lactic acid and reducing sugar with the highest ratio of 1:12 is 0.61% and 1.31%. Hedonic test of the most popular of red beans in comparison yoghurt 1: 8 with an average score of 14.7. While the amount of lactic acid bacteria on the highest ratio of 1: 12 is  $3.0 \times 10^8$  cells/ml.

## DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vi
ABSTRAK .....	viii
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
II.1 Kacang Merah .....	4
II.1.1 Klasifikasi Kacang Merah .....	8
II.1.2 Morfologi Tanaman Kacang Merah .....	8
II.2 Yoghurt .....	8
II.3 Manfaat Produk Susu Fermentasi .....	10
II.4 Teknologi Fermentasi .....	11
II.5 Fermentasi Asam Laktat .....	13
II.6 Bakteri Asam Laktat .....	16
II.7 Metabolisme Bakteri Asam Laktat .....	20
II.8 <i>L.bulgaricus</i> dan <i>S.thermophilus</i> .....	26

BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN .....	28
III.1 Alat dan Bahan .....	28
III.2 Metode Kerja .....	28
III.2.1 Pengambilan Sampel .....	28
III.2.2 Penyiapan Alat .....	29
III.2.3 Rancangan Formula Yoghurt Kacang Merah .....	29
III.2.4 Pembuatan Medium Starter .....	30
III.2.5 Pembuatan Kultur Bakteri .....	30
III.2.6 Pembuatan Susu Kacang Merah .....	30
III.2.7 Pembuatan Yoghurt Kacang Merah .....	31
III.2.8 Penyiapan Pereaksi .....	31
III.3 Analisis Yoghurt Kacang Merah .....	34
III.3.1 Uji pH .....	34
III.3.2 Analisis Organoleptik .....	34
III.3.3 Analisis Kadar Total Asam .....	34
III.3.4 Analisis Jumlah Bakteri Asam Laktat .....	35
III.3.5 Analisis Kadar Gula Reduksi .....	35
III.3.6 Analisis Efek Antibakteri .....	36
III.4 Pengumpulan dan Analisis Data .....	37
III.5 Pembahasan .....	37
III.6 Kesimpulan .....	37

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	38
IV.1 Hasil Penelitian .....	39
IV.2 Pembahasan .....	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	46
V.1 Kesimpulan .....	46
V.2 Saran .....	46
DAFTAR PUSTAKA .....	47
LAMPIRAN .....	57

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Komposisi zat gizi per 100 gram kacang merah kering .....	4
2. Komposisi formula sediaan yoghurt kacang merah .....	29
3. Hasil uji organoleptis dengan menggunakan panelis .....	50
4. Hasil perhitungan kadar total asam dengan menggunakan metode titrasi asam basa dengan larutan natrium hidoksida 0,1115 N .....	51
5. Total bakteri asam laktat menggunakan metode SPC .....	52
6. Hasil pengukuran zona hambatan menggunakan mikroba uji <i>Escherichia coli</i> dan media MHA dengan metode difusi .....	53

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja .....	57
2. Hasil perhitungan total asam berdasarkan analisis statistik dengan metode RAL .....	59
3. Hasil perhitungan kadar gula reduksi berdasarkan analisis statistik dengan metode RAL .....	63
4. Hasil perhitungan efek antimikroba berdasarkan analisis dengan metode RAL .....	67
5. Hasil perhitungan uji hedonik berdasarkan analisis statistik dengan metode RAK .....	71

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Reaksi aktivitas glukosa .....	21
2. Reaksi enzim aldolase dari trifosfat isomerase .....	22
3. Reaksi pembentukan asam laktat .....	23
4. Susu kacang merah fermentasi .....	54
5. Koloni bakteri asam laktat dalam yoghurt kacang merah .....	55
6. Efek antibakteri yoghurt kacang merah .....	56

# BAB I

## PENDAHULUAN

Selama ini pemenuhan kebutuhan susu cenderung berupa susu hewani, terutama yang berasal dari ternak sapi dan sebagian kecil dari ternak kambing. Sementara dari sisi lain, orang belum terbiasa memanfaatkan atau minum susu nabati misalnya susu kedelai. Kacang-kacangan dapat diolah menjadi berbagai produk pangan, seperti tepung, susu, konsentrat protein, dan lain-lain. Kacang-kacangan merupakan sumber protein yang baik, dengan kandungan protein berkisar antara 20-35%. Selain itu kacang-kacangan juga merupakan sumber lemak, vitamin, mineral dan serat pangan (1, 2).

Kacang merah terkenal sebagai sumber protein nabati, karena itu peranannya dalam usaha perbaikan gizi sangatlah penting. Disamping kaya akan protein, biji kacang merah juga merupakan sumber karbohidrat, mineral dan vitamin. Dibandingkan kacang-kacangan lainnya, kacang merah memiliki kadar karbohidrat yang tertinggi, kadar protein yang setara kacang hijau, kadar lemak yang jauh lebih rendah dibandingkan kacang kedelai dan kacang tanah, serta memiliki kadar serat yang setara dengan kacang hijau, kedelai dan kacang tanah (2).

Kacang merah kering memiliki kandungan protein yang sangat tinggi, yaitu mencapai 22,3 %. Dibandingkan dengan sumber protein hewani, keunggulan kacang merah adalah bebas kolesterol, sehingga aman untuk dikonsumsi oleh semua golongan masyarakat dari berbagai



kelompok umur. Protein kacang merah juga dapat digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol LDL, serta meningkatkan kadar kolesterol HDL yang bersifat baik bagi kesehatan (2).

Yoghurt merupakan salah satu produk makanan yang sangat populer saat ini. Selain sebagai makanan, produk yang dibuat dari susu ini dianggap sebagai produk yang dapat membantu pencernaan, mencegah diare dan mencegah peningkatan kadar kolesterol darah yang terlalu tinggi. Fermentasi dapat menimbulkan cita rasa baru dan membentuk tekstur berupa makanan sehingga mampu memperbaiki penerimaan produk. Selama fermentasi akan terbentuk asam-asam organik yang menimbulkan citarasa khas pada yoghurt (3).

Keseimbangan mikroflora usus dapat menjadi tolak ukur kondisi kesehatan manusia yang dapat diperbaiki dengan meningkatkan keseimbangan bakteri usus ke arah yang menguntungkan dengan bantuan probiotik. Bakteri asam laktat merupakan probiotik yang mempunyai berbagai manfaat bagi kesehatan, antara lain dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen, virus dan jamur, mampu membantu menurunkan kadar kolesterol darah, meningkatkan kekebalan tubuh dan dapat menghambat perkembangan beberapa sel kanker (4).

Meskipun kacang-kacangan dan biji-bijian berminyak banyak mengandung protein dalam jumlah relatif tinggi (> 15%), tetapi yang telah dimanfaatkan untuk konsumsi manusia baru sedikit sekali. Diantara sekian

banyak jenis kacang-kacangan, nampaknya baru kedelai yang telah digunakan secara luas sebagai sumber protein nabati (5).

Sesuai uraian di atas maka masalah yang timbul yaitu apakah bakteri asam laktat dapat memfermentasi susu kacang merah dan berapa perbandingan kacang merah dengan air yang menghasilkan yoghurt kacang merah dengan kriteria yaitu pH 4 – 5, jumlah bakteri asam laktat  $10^8 - 10^{11}$  koloni/ml dan total asamnya adalah tidak kurang dari 0,5% (6).

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka akan dilakukan penelitian pengaruh perbandingan kacang merah dengan air terhadap mutu yoghurt kacang merah dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan tujuan mengetahui apakah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dapat memfermentasi susu kacang merah dan berapa perbandingan kacang merah dengan air untuk menghasilkan yoghurt dengan mutu yang baik.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Kacang Merah

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) atau biasa disebut kacang jogo bukan merupakan tanaman asli Indonesia. Tanaman ini berasal dari Meksiko Selatan, Amerika Selatan dan dataran Cina. Selanjutnya tanaman tersebut menyebar ke daerah lain seperti Indonesia, Malaysia, Afrika Timur, dan Afrika Barat. Di Indonesia, daerah yang banyak ditanami kacang merah adalah Lembang (Bandung), Pacet (Cipanas), Bogor, dan Pulau Lombok (2).

Biji kacang jogo berwarna merah atau merah berbintik-bintik putih. Oleh karena itu dalam kehidupan sehari-hari kacang jogo juga disebut sebagai kacang merah. Biasanya yang dimanfaatkan dari kacang merah adalah bijinya. Biji kacang merah merupakan bahan makanan yang mempunyai energi tinggi dan sekaligus sumber protein nabati yang potensial (2).

Tabel 1. Komposisi zat gizi per 100 gram kacang merah kering

Zat Gizi	Kadar per 100 g
Protein (g)	22,3
Karbohidrat (g)	61,2
Lemak (g)	1,5
Vitamin A (SI)	30

Thiamin / vitamin B1 (mg)	0,5
Riboflavin / vitamin B2 (mg)	0,2
Niacin (mg)	2,2
Kalsium (mg)	260
Fosfor (mg)	410
Besi (mg)	5,8
Mangan (mg)	194
Tembaga (mg)	0,95
Natrium (mg)	15

Tanaman kacang merah terkenal sebagai sumber protein nabati, karena itu peranannya dalam usaha perbaikan gizi sangatlah penting. Disamping kaya akan protein, biji kacang merah juga merupakan sumber karbohidrat, mineral dan vitamin (2).

Dibandingkan kacang-kacangan lainnya, kacang merah memiliki kadar karbohidrat yang tertinggi, kadar protein yang setara kacang hijau, kadar lemak yang jauh lebih rendah dibandingkan kacang kedelai dan kacang tanah, serta memiliki kadar serat yang setara dengan kacang hijau, kedelai, dan kacang tanah. Kadar serat pada kacang merah jauh lebih tinggi dibandingkan beras, jagung, sorgum dan gandum. Dibandingkan dengan sumber protein hewani, keunggulan kacang merah adalah bebas kolesterol, sehingga aman untuk dikonsumsi oleh semua golongan masyarakat dari berbagai kelompok umur. Protein kacang

merah juga dapat digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol LDL yang bersifat jahat bagi kesehatan manusia, serta meningkatkan kadar kolesterol HDL yang bersifat baik bagi kesehatan manusia (2).

Menurut *Advisory Committee on Technology Innovation* (1979), konsumsi kacang merah dalam jumlah yang cukup akan menyuplai kebutuhan asam amino lisin dan leusin di dalam tubuh. Menurut rekomendasi dari *Institute of Medicine's Food and Nutrition*, salah satu indikator protein berkualitas baik adalah kandungan leusinya minimal 25 mg per gram protein. Pada kacang merah kadar leusinya adalah 76,16 mg per gram protein. Leusin sangat diperlukan untuk pertumbuhan anak-anak dan menjaga keseimbangan nitrogen pada orang dewasa. Leusin juga berguna untuk perombakan dan pembentukan protein otot. Oleh karena itu, kacang merah dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan protein nabati (2).

Kandungan karbohidrat pada kacang merah juga sangat tinggi yaitu 61%. Kadar lemak pada kacang merah relatif rendah, yaitu 1,5%. Adapun komponen lemak dari kacang merah terdiri dari asam lemak jenuh 19% dan asam lemak tidak jenuh 63,3%. Kacang merah merupakan sumber mineral yang baik. Komposisi mineral kacang merah kering adalah fosfor, kalsium, mangan, besi, tembaga, dan natrium (2).

Kacang merah merupakan sumber fosfor yang baik. Namun, sebagian besar fosfor pada kacang merah mentah berada dalam bentuk asam fitat, yang umumnya terdistribusi merata dalam semua bagian biji.

Senyawa fitat sulit dicerna, sehingga fosfor dalam asam fitat tidak dapat digunakan oleh tubuh. Kemampuan asam fitat untuk mengikat ion-ion metal akan hilang bila grup fosfatnya terhidrolisis oleh enzim fitase, menghasilkan inositol dan asam fosfat sehingga meningkatkan ketersediaan fosfor bagi tubuh. Perlakuan perendaman dan perebusan dapat menurunkan kadar asam fitat kacang merah. Perlakuan lain yang dapat menghilangkan asam fitat dan meningkatkan ketersediaan fosfor adalah fermentasi (2).

Kacang merah mentah juga mengandung tripsin inhibitor (antitripsin). Antitripsin adalah senyawa protein yang bersifat sebagai antinutrisi, yaitu mempunyai kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim tripsin di dalam saluran pencernaan. Proses pemanasan dapat menginaktifkan antitripsin tersebut. Perebusan lebih efektif untuk menghancurkan antitripsin dibandingkan dengan pengukusan, terutama bila direndam terlebih dahulu dalam air selama beberapa waktu (2).

Masalah utama dalam pengolahan kacang merah adalah terdapatnya senyawa anti gizi dan senyawa off-flavor (menimbulkan bau langu, rasa pahit dan rasa kapur). Cara yang dapat dilakukan untuk menghilangkan bau langu yaitu (2) :

- a. Menggunakan air panas (suhu 80 – 100<sup>0</sup>C) pada penggilingan
- b. Perendaman dalam air panas selama 10 – 15 menit sebelum digiling

### II.1.1 Klasifikasi (7)

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Anak Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Anak Kelas	: Dialypetalae
Bangsa	: Rosales
Suku	: Papilionaceae
Marga	: Phaseolus
Jenis	: <i>Phaseolus vulgaris</i> L.

### II.1.2 Morfologi Tanaman Kacang Merah (7)

Habitus semak, berakar tunggang, daun majemuk beranak daun tiga, pertulangan anak daun menyirip, bunga majemuk berbentuk kupu-kupu. Buah polong-polongan, warna biji merah kecoklatan.

## II.2 Yoghurt

Istilah "yoghurt" berasal dari bahasa Turki, yang berarti susu asam. Yoghurt adalah produk susu fermentasi semi solid yang dihasilkan melalui proses fermentasi susu dengan menggunakan bakteri asam laktat. Melalui perubahan kimiawi yang terjadi selama proses fermentasi dihasilkan suatu produk yang mempunyai tekstur, flavor dan rasa yang khas. Selain itu juga mengandung nilai nutrisi yang lebih baik dibandingkan susu segar. Pada pembuatan yoghurt digunakan kultur starter campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan perbandingan 1:1 (8).

Berdasarkan pada tingkat keasamannya produk-produk fermentasi susu dikelompokkan menjadi 4 jenis, yaitu (9) :

- a. Berasam rendah misalnya, susu krim dan susu mentega
- b. Berasam sedang misalnya, yoghurt, yakult dan susu asidofilus
- c. Berasam tinggi misalnya, susu bulgarikus
- d. Mengandung campuran asam dan alkohol misalnya, kefir

Yoghurt mempunyai rasa asam yang sedang dengan konsistensi lembut dari gel kental dengan citarasa almon. Citarasa yang enak adalah hasil kerjasama proto kooperatif antara kedua bakteri yoghurt, yang dipengaruhi oleh suhu inkubasi dan asam yang dihasilkan. Senyawa-senyawa volatile dalam jumlah kecil termasuk asam asetat, diasetil dan asetaldehida dihasilkan oleh *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* membentuk citarasa khas yoghurt (10).

Pada dasarnya dapat dibedakan 3 jenis yoghurt ditinjau dari karakteristik struktur fisiknya, yaitu (8) :

#### 1. Firm yoghurt

Yoghurt dengan konsistensi gel padat yang dikemas sehingga untuk mengonsumsinya harus menggunakan sendok.

#### 2. Stirred yoghurt

Pada saat proses dilakukan pengadukan sehingga gel pecah dan kemudian didinginkan dan dikemas setelah terjadi penggumpalan kembali. Selama dalam kemasan akan terjadi peningkatan viskositas dan produk



mempunyai tekstur yang cukup padat. Biasanya ditambahkan bahan pengental.

### 3. Drinking yoghurt

Hampir sama dengan *Stirred yoghurt* tetapi produk telah dihomogenisasi sehingga konsistensi menjadi encer, selanjutnya dikemas. Pada yoghurt jenis ini tidak ditambahkan bahan pengental tetapi ditambahkan stabiliser.

## II.3 Manfaat Produk Susu Fermentasi

Selama proses fermentasi terjadi perubahan biokimia dari substrat akibat aktivitas bakteri starter. Kandungan gizi produk fermentasi hampir sama dengan gizi susu bahan baku. Kelebihannya adalah asam yang terbentuk dapat memperpanjang masa simpan, mencegah pertumbuhan mikroorganisme pembusuk sehingga mencegah kerusakan produk, dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme patogen sehingga meningkatkan keamanan produk. Di samping itu metabolit-metabolit yang dihasilkan selama proses fermentasi, terutama peptida-peptida, dilaporkan mempunyai efek terapeutik (8).

Bakteri asam laktat dalam produk fermentasi mempunyai berbagai manfaat untuk kesehatan karena mikroba-mikroba probiotik yang digunakan dapat memperbaiki keseimbangan mikroflora saluran pencernaan. Salah satu mekanismenya adalah sebagai probiotik yang dapat menekan pertumbuhan bakteri penyebab penyakit saluran pencernaan, karena bakteri asam laktat memproduksi senyawa

antimikroba, antara lain bakteriosin, hidrogen peroksida, dan berbagai antibiotik. Bakteri asam laktat membentuk koloni dan menciptakan lingkungan dalam saluran pencernaan sedemikian rupa sehingga terjadi kompetisi dalam pemenuhan kebutuhan nutrisi, di samping juga tempat perlekatan yang kemudian mengakibatkan pertumbuhan bakteri patogen yang masuk ke tubuh dapat terhambat (8).

Keuntungan dan manfaat dari yoghurt yaitu (11) :

1. Yoghurt dapat menghasilkan zat-zat gizi yang diperlukan oleh hati sehingga berguna untuk mencegah penyakit kanker.
2. Mikroba pada yoghurt bermanfaat untuk membantu proses pencernaan di dalam tubuh.
3. Yoghurt memiliki gizi yang lebih tinggi dibanding susu segar. Kandungan lemaknya jauh lebih rendah sehingga cocok bagi mereka yang sedang menjalankan diet rendah kalori.
4. Yoghurt juga dapat membantu proses penyembuhan lambung dan usus yang luka.
5. Yoghurt secara teratur dapat membantu menurunkan kadar kolesterol dalam darah.

#### **II.4 Teknologi Fermentasi**

Teknologi fermentasi telah membuka lembaran baru dalam upaya manusia untuk memanfaatkan bahan-bahan yang murah harganya dan bernilai tinggi dan berguna bagi kesejahteraan umat manusia. Lebih lanjut lagi kemajuan-kemajuan yang dicapai dibidang teknologi fermentasi telah

memungkinkan manusia untuk memproduksi berbagai jenis produk yang tidak dapat atau sulit diproduksi melalui proses kimia (12).

Teknologi fermentasi merupakan ilmu dan teknik terapan yang saat ini berkembang pesat. Teknologi fermentasi mempunyai bidang cakupan yang luas, yaitu mulai dari teknik produksi makanan fermentasi, minuman beralkohol, produksi biomassa (inokulum, protein sel tunggal), produksi asam-asam organik, asam-asam amino, enzim, vitamin, antibiotik, dan sebagainya sampai pada teknik penanganan limbah (12).

Fermentasi berasal dari bahasa latin *fervere* yang artinya mendidihkan, yaitu berdasarkan ilmu kimia terbentuknya gas-gas dari suatu cairan kimia yang pengertiannya berbeda dengan air mendidih. Gas yang terbentuk adalah karbondioksida (11).

Berkat banyaknya penelitian yang dilakukan para ahli maka fermentasi adalah reaksi oksidasi reduksi, dimana zat yang dioksidasi (pemberi elektron) maupun zat yang direduksi (penerima elektron) adalah zat organik dengan melibatkan mikroorganisme seperti bakteri, kapang dan ragi (11).

Proses fermentasi dalam pengolahan pangan mempunyai beberapa keuntungan-keuntungan, antara lain (9) :

1. Proses fermentasi dapat dilakukan pada kondisi pH dan suhu normal, sehingga tetap mempertahankan (atau sering bahkan meningkatkan) nilai gizi dan organoleptik produk pangan

2. Karakteristik flavor dan aroma produk yang dihasilkan bersifat khas, tidak dapat diproduksi dengan teknik/metoda pengolahan lainnya
3. Memerlukan konsumen energi yang relatif rendah karena dilakukan pada kisaran suhu normal

Pada saat ini, industri farmasi dibagi menjadi empat kelompok (13) :

1. Industri fermentasi yang menghasilkan biomassa sel mikroorganisme seperti industri ragi roti dan produk sel tunggal
2. Industri fermentasi yang menghasilkan enzim mikrobial seperti amilase, protease, katalase, lipase, selulase, dan lain-lain
3. Industri fermentasi yang menghasilkan metabolit tertentu, misalnya alkohol, gliserol, asam cuka, glutamat, lisin, polisakarida, vitamin, dan lain-lain
4. Industri fermentasi yang menghasilkan senyawa-senyawa kimia tertentu dengan proses transformasi seperti steroida, antibiotika, prostaglandin, dan lain-lain

## **II.5 Fermentasi Asam Laktat**

Fermentasi terbagi dua tipe berdasarkan tipe kebutuhan akan oksigen yaitu tipe aerobik dan anaerobik. Tipe aerobik adalah fermentasi yang pada prosesnya memerlukan oksigen. Semua organisme untuk hidupnya memerlukan sumber energi yang diperoleh dari hasil metabolisme bahan pangan, dimana organisme itu berada. Mikroorganisme adalah organisme yang memerlukan energi tersebut. Bahan energi yang paling banyak digunakan mikroorganisme untuk

tumbuh adalah glukosa. Dengan adanya oksigen maka mikroorganisme dapat mencerna glukosa menghasilkan air, karbondioksida dan sejumlah besar energi (11).

Sedangkan tipe anaerobik adalah fermentasi yang pada prosesnya tidak memerlukan oksigen. Beberapa mikroorganisme dapat mencerna bahan energinya tanpa adanya oksigen. Jadi hanya sebagian bahan energi itu dipecah, yang dihasilkan adalah sebagian dari energi, karbondioksida dan air, termasuk sejumlah asam laktat, asetat, etanol, asam *vilatile*, alkohol dan ester (11).

Asam laktat dibedakan atas dua isomer, yaitu bentuk D(-) dan L(+). Kedua bentuk isomer asam laktat dapat dipolimerisasi dan polimer dengan sifat yang berbeda dapat dihasilkan tergantung pada komposisinya. Produksi asam laktat dihasilkan oleh bakteri asam laktat melalui fermentasi. Produksi fermentasi memiliki keuntungan, yakni oleh karena kemampuan strain bakteri asam laktat akan dihasilkan satu isomer yang secara optik akan dapat diperoleh produk yang murni. Produk secara sintesis akan selalu menghasilkan campuran asam laktat (8).

Prinsip fermentasi asam laktat secara umum yaitu (14) :

#### 1. Dari Lakton

- a. Laktosa berubah menjadi glukosa atau fruktosa 1,6 difosfat yang kemudian dirombak menjadi gliseraldehid 3-fosfat dan dihidrogen aseton fosfat, selanjutnya gliseraldehid akan diubah berturut-turut menjadi 1,3 difosfat, asam gliserat, 3 fosfat asam gliserat, 2 fosfat

tumbuh adalah glukosa. Dengan adanya oksigen maka mikroorganisme dapat mencerna glukosa menghasilkan air, karbondioksida dan sejumlah besar energi (11).

Sedangkan tipe anaerobik adalah fermentasi yang pada prosesnya tidak memerlukan oksigen. Beberapa mikroorganisme dapat mencerna bahan energinya tanpa adanya oksigen. Jadi hanya sebagian bahan energi itu dipecah, yang dihasilkan adalah sebagian dari energi, karbondioksida dan air, termasuk sejumlah asam laktat, asetat, etanol, asam *volatile*, alkohol dan ester (11).

Asam laktat dibedakan atas dua isomer, yaitu bentuk D(-) dan L(+). Kedua bentuk isomer asam laktat dapat dipolimerisasi dan polimer dengan sifat yang berbeda dapat dihasilkan tergantung pada komposisinya. Produksi asam laktat dihasilkan oleh bakteri asam laktat melalui fermentasi. Produksi fermentasi memiliki keuntungan, yakni oleh karena kemampuan strain bakteri asam laktat akan dihasilkan satu isomer yang secara optik akan dapat diperoleh produk yang murni. Produk secara sintesis akan selalu menghasilkan campuran asam laktat (8).

Prinsip fermentasi asam laktat secara umum yaitu (14) :

#### 1. Dari Lakton

- a. Laktosa berubah menjadi glukosa atau fruktosa 1,6 difosfat yang kemudian dirombak menjadi gliseraldehid 3-fosfat dan dihidrogen aseton fosfat, selanjutnya gliseraldehid akan diubah berturut-turut menjadi 1,3 difosfat, asam gliserat, 3 fosfat asam gliserat, 2 fosfat

tumbuh adalah glukosa. Dengan adanya oksigen maka mikroorganisme dapat mencerna glukosa menghasilkan air, karbondioksida dan sejumlah besar energi (11).

Sedangkan tipe anaerobik adalah fermentasi yang pada prosesnya tidak memerlukan oksigen. Beberapa mikroorganisme dapat mencerna bahan energinya tanpa adanya oksigen. Jadi hanya sebagian bahan energi itu dipecah, yang dihasilkan adalah sebagian dari energi, karbondioksida dan air, termasuk sejumlah asam laktat, asetat, etanol, asam *vilatile*, alkohol dan ester (11).

Asam laktat dibedakan atas dua isomer, yaitu bentuk D(-) dan L(+). Kedua bentuk isomer asam laktat dapat dipolimerisasi dan polimer dengan sifat yang berbeda dapat dihasilkan tergantung pada komposisinya. Produksi asam laktat dihasilkan oleh bakteri asam laktat melalui fermentasi. Produksi fermentasi memiliki keuntungan, yakni oleh karena kemampuan strain bakteri asam laktat akan dihasilkan satu isomer yang secara optik akan dapat diperoleh produk yang murni. Produk secara sintesis akan selalu menghasilkan campuran asam laktat (8).

Prinsip fermentasi asam laktat secara umum yaitu (14) :

#### 1. Dari Lakton

- a. Laktosa berubah menjadi glukosa atau fruktosa 1,6 difosfat yang kemudian dirombak menjadi gliseraldehid 3-fosfat dan dihidrogen aseton fosfat, selanjutnya gliseraldehid akan diubah berturut-turut menjadi 1,3 difosfat, asam gliserat, 3 fosfat asam gliserat, 2 fosfat

asam gliserat, fosfoenol asam piruvat dan terakhir terbentuk asam laktat.

- b. Laktosa menjadi laktosa fosfat, kemudian galaktosa fosfat, selanjutnya dirombak menjadi gliseraldehid 3 fosfat dan dihidrogen aseton fosfat seperti pada prinsip pertama. Perubahan dari gliseraldehid 3 fosfat menjadi asam laktat berlangsung seperti pada prinsip pertama tersebut diatas.

## 2. Dari Asam Sitrat

Asam sitrat berubah menjadi oksaloasetat dari asam asetat. Dengan mengeluarkan  $\text{CO}_2$ , oksaloasetat akan berubah menjadi asam piruvat yang selanjutnya menjadi asam laktat.

## 3. Dari Glukosa

Glukosa akan berubah berturut-turut menjadi glukosa 6 fosfat, gliseraldehid fosfat,  $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ . Dari  $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$  akan dirombak menjadi asam piruvat dan asetaldehid. Asam piruvat akan diubah menjadi asam laktat, sedangkan asetaldehid akan menjadi etanol. Selanjutnya etanol akan diubah menjadi asam laktat.

Beberapa manfaat dari makanan produk fermentasi asam adalah

(10) :

1. Makanan menjadi lebih awet dari bentuk segarnya karena kondisi asam tidak disukai oleh bakteri kontaminan serta mencegah berkembangnya toksin pada makanan.
2. Kemungkinan makanan sebagai media mikroba patogen berkurang.



3. Makanan mengalami perubahan citarasa yang digemari dan sering meningkatkan nilai gizinya, karena umumnya lebih mudah dicerna karena telah mengalami penguraian selama proses fermentasi dan terbentuk molekul-molekul yang lebih sederhana dan lebih mudah dicerna.

## II.6 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat mempunyai peranan esensial hampir dalam semua proses fermentasi makanan dan minuman. Peran utama bakteri ini dalam industri makanan adalah untuk pengasam bahan mentah dengan memproduksi sebagian besar asam laktat (bakteri homofermentatif) atau asam laktat, asam asetat, etanol dan  $\text{CO}_2$  (bakteri heterofermentatif). Bakteri asam laktat banyak digunakan dalam produk susu seperti yogurt, *sour cream* (susu asam), keju, mentega, dan produksi asam-asaman, serta asinan (15).

Bakteri asam laktat dan Bifidobakteria termasuk dalam kelompok bakteri "baik" bagi manusia, dan umumnya memenuhi status GRAS (Generally Recognized As Safe) yaitu aman bagi manusia. Kelompok bakteri ini tidak membusukkan protein dan dapat memetabolisme berbagai jenis karbohidrat secara fermentatif menjadi asam laktat sehingga disebut bakteri asam laktat. Jadi, makanan yang tercemar oleh bakteri asam laktat menjadi rusak karena asam dan akan menjadi busuk kalau kemudian juga dicemari oleh bakteri pembusuk (10).

Asam-asam organik dari produk fermentasi merupakan hasil hidrolisis asam lemak dan juga sebagai hasil aktivitas pertumbuhan bakteri. Penentuan kuantitatif asam organik pada produk fermentasi adalah penting untuk mempelajari kontribusi bagi aroma sebagian besar produk fermentasi, alasan gizi, dan sebagai indikator aktivitas bakteri. Asam-asam organik juga sering digunakan sebagai *acidulants* (bahan pengasam) yang dapat menurunkan pH. Sehingga pertumbuhan mikroba berbahaya pada produk fermentasi akan terhambat (15).

Bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif, katalase negatif, tidak membentuk spora, tidak mempunyai *cytochrome*, anaerobik hingga mikroaerofilik, membutuhkan nutrisi yang kompleks seperti asam-asam amino, vitamin (B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> dan biotin), purine, pyrimidin. Bakteri asam laktat membutuhkan nutrisi yang sangat kompleks, oleh karena itu umumnya habitatnya kaya akan nutrisi seperti berbagai jenis makanan (susu, daging, minuman dan sayuran), namun beberapa juga merupakan warga dari bakteri dalam mulut, saluran usus, vagina dari mamalia (10).

Sifat yang terpenting dari bakteri asam laktat adalah kemampuannya untuk memfermentasi gula menjadi asam laktat. Sifat ini penting dalam pembuatan produk-produk fermentasi seperti fermentasi sayur-sayuran (sauerkraut, pickel), fermentasi susu (keju, yogurt, susu asam), dan fermentasi ikan. Yang termasuk bakteri asam laktat adalah famili Lactobacillaceae, yaitu *Lactobacillus*, dan famili Streptococaceae, terutama *Leuconostoc*, *Streptococcus* dan *Pediococcus*. *Streptococcus*,

*Pediococcus* dan beberapa spesies *Lactobacillus* bersifat homofermentatif, sedangkan *Leuconoctoc* dan spesies *Lactobacillus* lainnya bersifat heterofermentatif (16).

Penggunaan kultur mikroorganisme dalam pengolahan pangan misalnya dalam pembuatan makanan fermentasi, terutama ditujukan untuk mengubah bahan pangan asalnya selain tujuan utama tersebut, penggunaan kultur mikroorganisme mempunyai beberapa keuntungan lainnya, diantaranya adalah (17) :

1. Penggunaan kultur mikroorganisme dapat mengawetkan dan meningkatkan keamanan makanan karena beberapa diantaranya dapat memecah substrat menjadi asam dan menurunkan pH makanan sehingga mikroorganisme pembusuk dan patogen tidak dapat tumbuh. Selain itu beberapa mikroorganisme yang digunakan sebagai kultur dalam pengolahan makanan dapat membentuk senyawa-senyawa antimikroba.
2. Penggunaan kultur mikroorganisme dapat meningkatkan nilai gizi makanan karena mikroorganisme dapat memecah komponen-komponen makanan menjadi senyawa lain yang lebih sederhana sehingga lebih mudah dicerna atau diabsorpsi oleh tubuh.
3. Kultur mikroorganisme yang digunakan dalam pengolahan pangan dapat memecah substrat menjadi senyawa-senyawa yang berpengaruh terhadap citarasa produk.

Bakteri asam laktat memberikan banyak pengaruh yang menguntungkan dalam makanan yang ditumbuhi bakteri tersebut yaitu (10) :

1. Bakteri asam laktat memberikan pengaruh yang menghambat pertumbuhan bakteri yang tidak dikehendaki sedangkan bakteri asam laktat sendiri pada umumnya tidak berbahaya, dengan cara ini bakteri asam laktat mengawetkan susu.
2. Bakteri asam laktat menghasilkan modifikasi tekstur dan aroma atau citarasa yang sangat disenangi di dalam produk susu.
3. Bakteri asam laktat juga terkenal karena efek kesehatannya yang menguntungkan terhadap mikroflora usus.

Secara fisiologis dan berdasarkan aktivitas metabolismenya, bakteri asam laktat dikelompokkan ke dalam dua sub grup yaitu Homofermentatif dan Heterofermentatif (10).

Jenis-jenis homofermentatif yang terpenting hanya menghasilkan asam laktat dari metabolisme gula, sedangkan jenis-jenis heterofermentatif menghasilkan karbondioksida dan sedikit asam-asam volatile lainnya, alkohol dan ester disamping asam laktat (18).

Bakteri asam laktat homofermentatif melibatkan jalur Embden Meyerhof, yaitu glikolisis menghasilkan asam laktat, 2 mol ATP dari 1 molekul glukosa/heksosa dalam kondisi normal, tidak menghasilkan CO<sub>2</sub> dan menghasilkan biomassa sel dua kali lebih banyak daripada bakteri asam laktat heterofermentatif. Sedangkan bakteri asam laktat

heterofermentatif, melalui jalur 6-fosfoglukonat/fosfoketolase selain menghasilkan asam laktat juga menghasilkan etanol, CO<sub>2</sub>, asam asetat, senyawa citarasa dan mannitol serta 1 mol ATP dari heksosa dan tidak mempunyai enzim aldolase. Bakteri asam laktat heterofermentatif banyak dimanfaatkan dalam industri susu untuk menghasilkan keju dan senyawa flavour, senyawa citarasa maupun pengental, yaitu eksopolisakarida (10).

## **II.7 Metabolisme Bakteri Asam Laktat**

Berbagai monosakarida dimetabolisme oleh bakteri asam laktat menjadi glukosa-6-fosfat atau fruktosa-6-fosfat dan kemudian terjadi metabolisme melalui jalur EMP. Pola fermentasi ini menjadi basis taksonomi bakteri dan identifikasi bakteri asam laktat (10).

Pada prinsipnya fermentasi glukosa terdiri dari dua tahap, yaitu (13) :

1. Pemecahan rantai karbon dari glukosa dan pelepasan sedikit dua pasang atom hidrogen, menghasilkan senyawa karbon lainnya yang teroksidasi dari pada glukosa
2. Senyawa yang teroksidasi tersebut direduksi kembali oleh atom hidrogen yang dilepaskan dalam tahap pertama, membentuk senyawa-senyawa lain sebagai hasil fermentasi.

Reaksi oksidasi tidak dapat berlangsung tanpa reaksi reduksi yang seimbang, oleh karena itu jumlah atom hidrogen yang dilepaskan dalam tahap pertama fermentasi selalu seimbang dengan jumlah yang digunakan dalam tahap kedua.

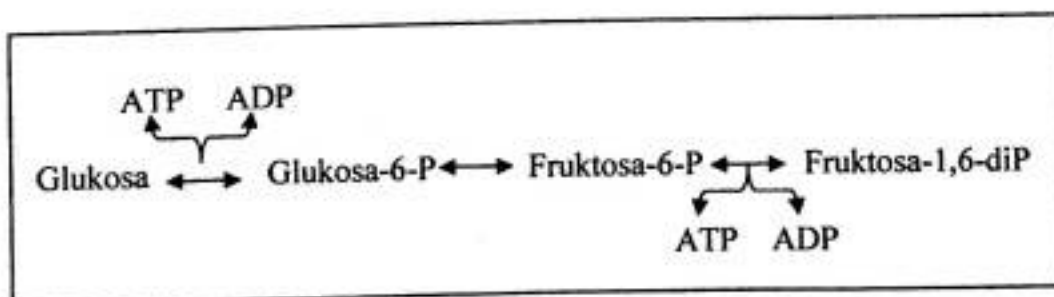
Dalam tahap pertama fermentasi glukosa selalu terbentuk asam piruvat. Pada jasad renik dikenal empat jalur pemecahan glukosa menjadi asam piruvat, yaitu (19) :

1. Jalur *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP) atau glikolisis ditemukan pada fungi dan kebanyakan bakteri, serta pada hewan dan manusia.
2. Jalur *Entner-Doudoroff* (ED) hanya ditemukan pada beberapa bakteri.
3. Jalur *Heksosamonofosfat* (HMF) ditemukan pada berbagai organisme.
4. Jalur Fosfoketolase (FK) hanya ditemukan pada bakteri yang tergolong *Lactobacilli* heterofermentatif.

Jalur *Embden Meyerhoff Parnas* dibagi tiga tahap, yaitu (10) :

#### 1. Aktivasi glukosa

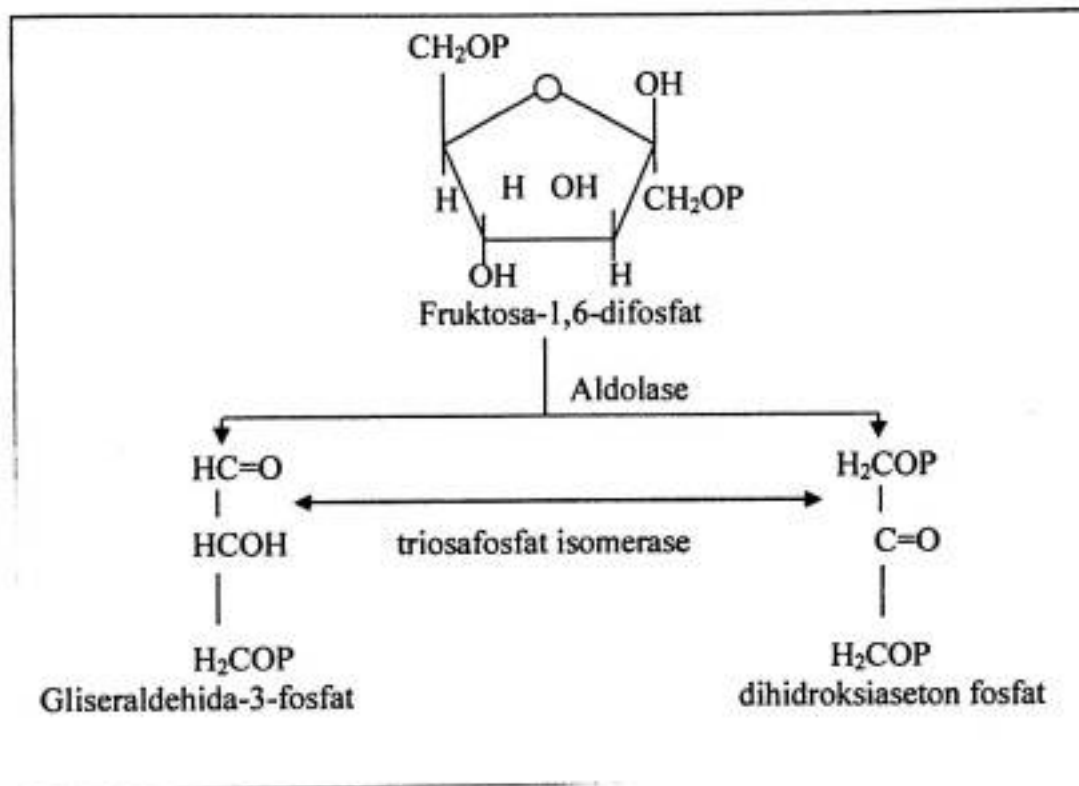
Sebagaimana diketahui, glukosa merupakan molekul yang relatif stabil, sehingga untuk mendegradasinya perlu ditambahkan fosfat energi tinggi agar tidak stabil. Pada tahap awal fosfat disumbangkan dari ATP atau fosfoenolpiruvat pada glukosa sehingga terbentuk glukosa-6-fosfat untuk selanjutnya diisomerisasikan menjadi fruktosa-6-fosfat, dan fosfat kedua ditambahkan sehingga terbentuk fruktosa-1,6-bifosfat, yang lebih mudah diuraikan ketimbang glukosa.



Gambar 1. Reaksi aktivasi glukosa (10)

## 2. Penguraian glukosa (Heksosa)

Fruktosa-1,6 difosfat selanjutnya diurai oleh enzim fruktosa bifosfat aldolase menjadi dua senyawa berkarbon 3, yaitu gliseraldehida 3 fosfat (GAP). Ini merupakan tahap yang penting dalam jalur EMP, yaitu mengubah glukosa yang berkarbon 6 menjadi dua molekul senyawa berkarbon 3 yang menjadi cikal bakal piruvat.

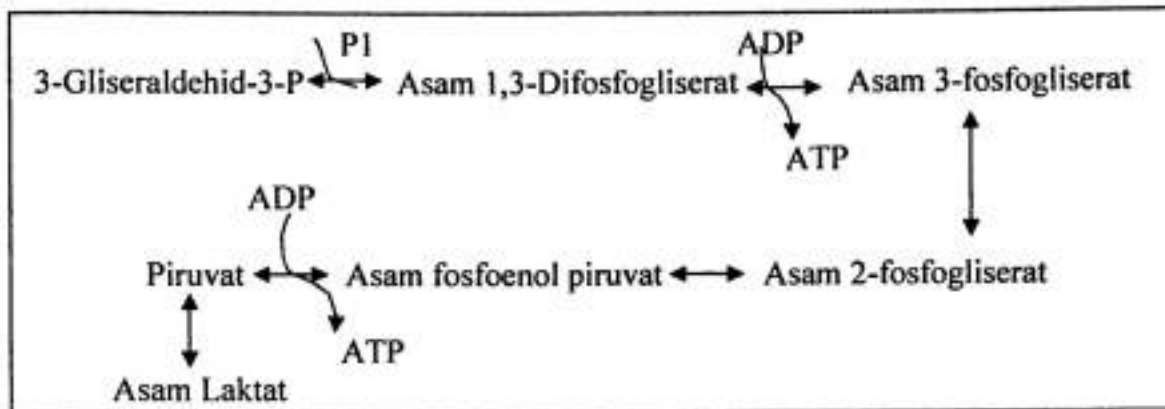


Gambar 2. Reaksi enzim aldolase dari trifosfat isomerase

## 3. Ekstraksi energi

Pada reaksi tahap berikutnya DAP diubah menjadi GAP, yang akan berperan pada jalur EMP selanjutnya. Tahap berikutnya sangat penting. Fosfat organik ditambahkan pada GAP untuk membentuk 1,3-biphosphoglycerate (BPG), setelah terjadi berbagai reaksi enzimatik,

produk akhir dari jalur EMP adalah piruvat, seperti yang dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Reaksi Pembentukan Asam Laktat

Secara umum senyawa metabolit bakteri asam laktat dikelompokkan menjadi 5 kelompok senyawa yang juga berfungsi sebagai antimikroba, sebagai berikut (10) :

#### 1. Asam organik

Proses fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat mempunyai ciri khas yaitu terakumulasinya asam organik yang disertai dengan penurunan nilai pH. Jenis dan jumlah asam organik yang dihasilkan selama proses fermentasi tergantung pada spesies bakteri asam laktat, komposisi kultur dan kondisi pertumbuhannya.

Efek antimikroba dari asam organik merupakan akibat dari turunnya nilai pH dan juga bentuk tidak terdisosiasi dari molekul asam organik. Sebagaimana diketahui bahwa pH eksternal yang rendah mengakibatkan asidifikasi sel sitoplasma, sementara asam tidak terdisosiasi menjadi lipofilik, dapat berdifusi ke dalam membran. Asam tidak berdisosiasi akan melumpuhkan elektrokimia proton gradien atau



dengan mengubah permeabilitas sel membran yang akan mengganggu sistem transport substrat.

Bakteri asam laktat mempunyai enzim-enzim  $\beta$ -galaktosidase, glikolase dan laktat dehidrogenase (LDH) yang menghasilkan asam laktat dari laktosa. Asam laktat merupakan senyawa metabolit utama pada fermentasi bakteri asam laktat. Asam laktat memberikan manfaat fisiologis sebagai berikut :

- Memperbaiki daya cerna protein susu dengan mengendapkannya sebagai gumpalan yang halus
- Memperbaiki pemanfaatan kalsium, fosfor dan zat besi
- Menstimulir sekresi asam lambung
- Meningkatkan pergerakan isi lambung
- Berfungsi sebagai sumber energi dalam proses respirasi

## 2. Hidrogen peroksida dan karbon dioksida

Enzim piruvat oksidase mengkonversi piruvat menjadi  $\text{CO}_2$  dan asetil fosfat dengan diikuti pembentukan  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Enzim piruvat oksidase tertinggi aktivitasnya pada fase stasioner dan pada media yang mengandung laktosa terbentuk enzim piruvat oksidase yang lebih banyak dibanding dengan media yang mengandung glukosa.

Efek bakterisidal senyawa  $\text{H}_2\text{O}_2$  adalah karena terjadinya oksidasi pada gugus sulfhidril dari protein sel bakteri sehingga mendenaturasi sejumlah enzim dan terjadinya peroksidasi pada lipid membran sehingga meningkatkan permeabilitas membran.

$H_2O_2$  juga bisa bertingkat sebagai prekursor bagi pembentukan radikal bebas yang bersifat bakterisidal seperti senyawa radikal superoksida ( $O_2$ ) dan hidoksil (OH) yang dapat merusak DNA. Disamping itu, reaksi pembentukan  $H_2O_2$  akan mengikat oksigen sehingga membentuk suasana anaerob yang tidak nyaman bagi bakteri aerob.

Karbondioksida hanya diproduksi oleh bakteri asam laktat heterofermentatif. Mekanisme daya antimikrobanya masih belum diketahui dengan pasti. Namun demikian,  $CO_2$  berperan dalam menciptakan kondisi anaerob lingkungan yang menghambat dekarboksilasi secara enzimatik dan akumulasi  $CO_2$  dalam membran *lipid bilayer* akan mengganggu permeabilitas membran.

### 3. Komponen aroma

Senyawa diasetil dihasilkan oleh semua genus bakteri asam laktat yang melakukan fermentasi asam sitrat dan senyawa diasetil memberi aroma mentega. Senyawa ini berefek antimikroba menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif akibat reaksinya dengan protein yang mengikat arginin sehingga mempengaruhi pemanfaatan arginin.

### 4. Asam lemak

Dalam kondisi tertentu beberapa genus *Lactobacilli* dan *Lactococci* mempunyai aktivitas lipofilik dan bisa menghasilkan asam lemak dalam jumlah yang signifikan, seperti misalnya pada fermentasi sosis dan fermentasi susu. Asam lemak tak jenuh mempunyai daya

antibakteri terhadap bakteri gram positif dan daya antifungi asam lemak tergantung pada panjang rantai, konsentrasi dan pH medium. Daya antimikroba asam lemak disebabkan oleh molekul yang tidak terdisosiasi, bukan anionnya, karena pH mempengaruhi aktivitasnya, semakin rendah pH semakin kuat dan cepat efek antibakterinya.

#### 5. Asam amino dan peptida

Bakteri asam laktat yang terlibat dalam fermentasi keju memiliki aktivitas proteolitik lemah. Hidrolisis protein susu terjadi secara bertahap, yaitu tahap pertama melibatkan enzim proteinase menghasilkan polipeptida dan tahap kedua dilanjutkan oleh aktivitas peptidase menghasilkan asam amino.

### 11.8 *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*

#### 1. *Lactobacillus bulgaricus*

Klasifikasi (20) :

Kingdom : Plantae

Divisio : Firmicutes

Class : Bacilli

Ordo : Lactobacillales

Famili : Lactobacillaceae

Genus : Lactobacillus

Spesies : *Lactobacillus bulgaricus*

### Morfologi *Lactobacillus bulgaricus* (20) :

*Lactobacillus bulgaricus* merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang dan tidak membentuk endospora. Bersifat homofermentatif, dengan suhu optimum untuk pertumbuhannya sekitar 30 – 40°C. Kondisi optimal untuk pertumbuhannya adalah sekitar pH 5,5 – 5,8.

### 2. *Streptococcus thermophilus*

#### Klasifikasi (20) :

- Kingdom : Plantae
- Divisio : Firmicutes
- Class : Bacilli
- Ordo : Lactobacillales
- Famili : Streptococcaceae
- Genus : *Streptococcus*
- Spesies : *Streptococcus thermophilus*

### Morfologi *Streptococcus thermophilus* (20) :

*Streptococcus thermophilus* merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat, sering pertumbuhannya berbentuk rantai. Bakteri ini bersifat homofermentatif dengan pH optimum sekitar 6,5, temperatur optimum sekitar 40 – 45°C.

## BAB III

### PELAKSANAAN PENELITIAN

#### III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah alat gelas, botol putih 150 ml, buret 50 ml (*Whatman*), blender (*Miyako*), corong kaca, inkubator anaerob, jangka sorong, kain kasa, labu alas bulat, labu tentu ukur 100ml dan 200 ml, otoklaf, oven, seperangkat alat refluks, "stopwatch", termometer, dan timbangan analitik .

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, asam sitrat, asam sulfat, alkohol 70%, agar, bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, bakteri *Streptococcus thermophilus*, ekstrak ragi, fenolftalein, gelatin, glukosa, kalium bikromat p.a (*Merck*), kalium iodida, kalium biftalat, kalsium karbonat, kacang merah (*Phaseolus vulgaris*), kertas pH universal, laktosa, MHA, natrium karbonat, natrium bikarbonat, natrium hidroksida, natrium tiosulfat, pati, pepton, sukrosa, tembaga (II) sulfat dan timbal (II) asetat.

#### III.2 Metode Kerja

##### III.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel berupa biji kacang merah diambil dari pasar tradisional daya.

### III.2.2 Penyiapan Alat

Alat-alat yang digunakan dicuci dengan deterjen, kemudian dibilas dengan air dan dikeringkan. Alat-alat gelas disterilkan menggunakan oven pada suhu  $180^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam. Untuk alat-alat logam disterilkan dengan cara dipijarkan dengan menggunakan bunsen dan alat-alat yang terbuat dari karet dan plastik serta alat-alat ukur disterilkan dengan otoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.

### III.2.3 Rancangan Formula Yoghurt Kacang Merah

Yoghurt kacang merah diformulasi mengandung starter, sukrosa, gelatin dan variasi kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) dengan air.

Tabel 2. Komposisi Formula Sediaan Yoghurt Kacang Merah

No.	Bahan	Formula	Formula	Formula	Formula	Formula
		1	2	3	4	5
1.	Kacang merah (g)	25	16,67	12,5	10	8,33
2.	Sukrosa (g)	10	10	10	10	10
3.	Gelatin (g)	1	1	1	1	1
4.	Starter (ml)	10	10	10	10	10
5.	Aquades (ml)	100	100	100	100	100

### III.2.4 Pembuatan Medium Starter

Komposisi :

Ekstrak ragi	5 g
Laktosa	5 g
Glukosa	5 g
CaCO <sub>3</sub>	0,2 g
Air suling hingga	1000 ml
pH	4 – 5

Cara pembuatan :

Semua bahan ditimbang sesuai dengan kebutuhan dan dilarutkan dengan air suling kemudian dipanaskan hingga larut, pH diatur sampai 4,0 dan disterilkan dengan menggunakan otoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C tekanan 2 atmosfer selama 15 menit.

### III.2.5 Pembuatan Kultur Bakteri

Kultur bakteri dibuat dengan cara menginokulasikan masing-masing 1 ose biakan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* yang telah diremajakan ke dalam 50 ml medium starter dan diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 1x24 jam.

### III.2.6 Pembuatan Susu Kacang Merah

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) ditimbang sebanyak 50 g, 60 g, 75 g, 100 g dan 150 g, dicuci bersih, direndam dalam air selama 8 jam. Air diganti setiap 2 – 3 jam. Kemudian kacang merah dimasukkan ke dalam air mendidih. Perendaman di dalam air panas ( 85<sup>0</sup> – 90<sup>0</sup>C )

berlangsung selama 10 menit. Kacang merah di giling menggunakan Blender dengan penambahan air panas dengan perbandingan 1:4, 1:6, 1:8, 1:10, 1:12, kemudian disaring menggunakan kain saring rangkap dua. Cairan yang diperoleh disebut sebagai susu kacang merah.

### III.2.7 Pembuatan Yoghurt Kacang Merah

Sebanyak 100 ml susu kacang merah dipanaskan pada suhu 70 – 100°C selama 15 menit sambil diaduk-aduk dan ditambahkan sukrosa 10 g dan gelatin 1 g. Kemudian dimasukkan ke dalam botol steril dan ditutup rapat. Setelah itu dipanaskan lagi pada suhu 80°C selama 15 menit kemudian didinginkan sampai suhu 40°C. Selanjutnya ditambahkan 10 ml kultur bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada tiap - tiap perbandingan (1:4, 1:6, 1:8, 1:10, 1:12). Inkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam.

### III.2.8 Penyiapan Pereaksi ( 21, 22, 23, 24, 25)

Pereaksi yang dibutuhkan dalam penelitian dibuat sesuai dengan prosedur pembuatan pereaksi.

#### 1. Amilum 0,5% b/v

Pati ditimbang sebanyak 0,5 gram dan disuspensikan dalam beberapa ml air suling, didihkan sampai hampir jernih dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml. Kemudian pendidihan dilanjutkan sampai larutan benar-benar jernih.



2. Asam Sulfat 26,5% b/b

Asam sulfat pekat diukur sebanyak 68 ml kemudian ditambahkan perlahan-lahan pada 100 ml air suling dalam erlenmeyer sambil terus diaduk. Jika campuran menjadi panas, tunggu selama 5 menit sebelum meneruskan pengenceran. Bila campuran telah dingin, diencerkan dengan air suling sampai menjadi 250 ml dan dipindahkan ke dalam botol kaca tertutup rapat.

3. Fenolftalein 1% b/v

Fenolftalein P ditimbang sebanyak 1 gram dan dilarutkan dalam 100 ml etanol.

4. Kalium Iodida 20% b/v

Kalium iodida sebanyak 20 gram ditimbang dan dilarutkan dalam 100 ml air suling.

5. Larutan Luff Schoorl

Natrium bikarbonat anhidrat ditimbang sebanyak 143,8 gram dan dilarutkan dalam 300 ml air suling. Sambil diaduk, tambahkan 50 gram asam sitrat yang telah dilarutkan dengan 50 ml air suling. Tambahkan 25 gram tembaga (II) sulfat yang telah dilarutkan dengan 100 ml air suling. Pindahkan larutan tersebut ke dalam labu tentu ukur 1 liter dan tepatkan sampai tanda garis dengan air suling dan kocok. Dibiarkan semalam dan kemudian disaring.

## 6. Natrium Hidroksida, NaOH 0,1 N

Pembuatan : Natrium Hidroksida P ditimbang sebanyak 2,25 gram dan dilarutkan dalam 475 ml air suling bebas karbondioksida, tambahkan larutan jenuh barium hidroksida P segar, hingga tidak lagi terbentuk endapan, kocok dan biarkan semalam dalam botol bersumbat, saring.

Pembakuan : kalium biftalat yang sebelumnya telah dikeringkan di dalam oven pada suhu  $128^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam ditimbang seksama sebanyak 5 gram. Kemudian dilarutkan dalam 75 ml air suling bebas karbondioksida . Titrasi dengan larutan NaOH menggunakan indikator larutan fenolftalein P hingga terjadi warna merah jambu yang mantap. Pembakuan diulang 2 kali, dan dihitung normalitas larutan.

## 7. Natrium Tiosulfat, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N

Pembuatan : Natrium tiosulfat P ditimbang sebanyak 26 gram dan natrium karbonat sebanyak 200 mg, dilarutkan dalam air suling bebas karbondioksida segar secukupnya hingga 1000 ml dalam labu tentukur.

Pembakuan : Kalium bikromat yang sebelumnya telah dikeringkan di dalam oven pada suhu  $120^{\circ}\text{C}$  selama 4 jam ditimbang seksama sebanyak 210 mg. Kemudian dilarutkan

dalam 100 ml air suling pada erlemneyer bersumbat kaca dan dihomogenkan. Kemudian ditambahkan dengan cepat 3 gram kalium iodida P, 2 gram natrium bikarbonat P dan 5 ml asam klorida P, ditutup kembali dan digoyang hingga tercampur, dibiarkan di tempat gelap selama 10 menit. Selanjutnya dititrasi dengan natrium tiosulfat menggunakan indikator larutan kanji. Pembakuan diulang 2 kali, dan dihitung normalitas larutan.

#### 8. Timbal (II) Asetat, $Pb(CH_3COO)_2$ jenuh

Timbal asetat ditimbang sebanyak 25 gram dan dilarutkan dengan 50 ml air suling.

### III.3 Analisis Yoghurt Kacang Merah

#### III.3.1 Uji pH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan kertas pH universal. Yoghurt kacang merah dikocok secara merata lalu diukur pHnya menggunakan kertas pH universal.

#### III.3.2 Analisis Organoleptik

Uji ini dilakukan pada 10 orang panelis untuk melihat penampakan tekstur, bau, warna dan rasa. Pengujian organoleptis ini dilakukan setelah yoghurt kacang merah diinkubasi dan disimpan dalam lemari pendingin.

Penilaian diberikan dengan angka 1 – 5 yaitu :

1 = sangat tidak suka

2 = tidak suka

3 = cukup

4 = suka

5 = sangat suka

### III.3.3 Analisis Kadar Total Asam (27)

Sebanyak 10 ml yoghurt kacang merah dipipet, ditambahkan dengan 1 – 2 tetes indikator fenolftalein kemudian dititrasi dengan larutan baku NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna menjadi warna merah muda. Selanjutnya dihitung kadar total asam laktat dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Asam Laktat} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times 0,09}{\text{ml contoh}} \times 100\%$$

### III.3.4 Analisis Jumlah Bakteri Asam Laktat

Medium GYPA + CaCO<sub>3</sub>

Komposisi :

Glukosa 1%, ekstrak yeast 1%, pepton 1%, mineral solution 1 ml per 200 ml media, agar 1,5%, CaCO<sub>3</sub> 1%, pH 6 – 7

Komposisi Mineral Solution :

MnSO<sub>4</sub> 200 mg, FeSO<sub>4</sub> 200 g, NaCl 200 g, MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O 400 mg, HCl 1 tetes, air suling ad 100 ml.

Yoghurt kacang merah dipipet 1 ml kemudian diencerkan ke dalam 9 ml air suling steril, lalu dikocok sampai homogen. Dari campuran ini diperoleh pengenceran 10<sup>-1</sup>. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga tingkat pengenceran yang diinginkan (10<sup>-11</sup>). 1 ml dari masing-masing 7

pengenceran terakhir di masukkan ke dalam cawan petri dan dituang medium GYPA +  $\text{CaCO}_3$  sebanyak 10 – 15 ml, dihomogenkan dengan cara diputar beberapa kali dengan membentuk angka 8. Selanjutnya dibiarkan memadat dan diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 1 x 24 jam. Koloni bakteri yang berbentuk bulat dikelilingi zona bening. Dihitung dengan metode *Standart Plate Count* (SPC).

### III.3.5 Analisis Kadar Gula Reduksi (22)

Ditimbang yoghurt kacang merah sebanyak 25 g dan dipindahkan ke dalam labu takar 100 ml, lalu ditambahkan 50 ml air suling. Ditambahkan larutan Pb-asetat (sebagai bahan penjernih) tetes demi tetes sampai penetesan dari reagensia tidak menimbulkan pengeruhan lagi. Kemudian ditambahkan air suling sampai tanda dan disaring. Filtrat ditampung dalam labu takar 200 ml. Untuk menghilangkan kelebihan Pb-asetat, ditambahkan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  anhidrat secukupnya. Kemudian ditambah air suling sampai tanda, digojog dan disaring. Filtrat bebas Pb bila ditambah  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  anhidrat tetap jernih. Diambil 25 ml filtrat bebas Pb-asetat dan ditambahkan 25 ml larutan Luff-Schoorl dalam erlenmeyer. Dibuat pula perlakuan blanko yaitu 25 ml larutan Luff-Schoorl dengan 25 ml air suling. Setelah ditambah dengan beberapa butir batu didih, erlenmeyer dihubungkan dengan pendingin balik, kemudian dididihkan selama 10 menit. Selanjutnya segera didinginkan dan ditambahkan 15 ml KI 20% dan dengan hati-hati ditambahkan 25 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  26,5%. Yodium yang dibebaskan dititrasi dengan Na-thiosulfat 0,0865 N sampai warna

kuning pucat. Ditambahkan indikator amilum sebanyak 2 – 3 ml dan titrasi dilanjutkan sampai titik akhir titrasi tercapai dimana warna biru tepat menghilang.

### **III.3.6 Uji Efek Antibakteri**

Uji efek antibakteri terhadap mikroorganisme *Escherichia coli* dilakukan dengan metode difusi agar. Metode ini menggunakan medium MHA, yang pada permukaannya telah diinokulasikan mikroba uji. Kemudian paper disc, yang telah ditetesi dijenuhkan dengan yoguht kacang merah selama 5 menit dengan variasi perbandingan kacang merah dengan air dan juga tetrasiklin (kontrol positif), diletakkan pada permukaan media tersebut. Selanjutnya diinkubasi selama 1 x 24 jam pada inkubator aerob. Setelah itu diamati dan diukur zona hambatan yang terbentuk. Pengukuran diameter zona hambatan menggunakan jangka sorong.

### **III.4 Pengumpulan dan Analisis Data**

Data hasil penelitian dikumpulkan, kemudian ditabulasi dan dilakukan analisis statistik menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

### **III.5 Pembahasan**

Pembahasan dilakukan berdasarkan hasil penelitian dan analisis data.

### **III.6 Kesimpulan**

Kesimpulan diambil berdasarkan hasil pembahasan

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Penelitian

Perbandingan Kacang Merah dengan Air	Nilai pH	Uji Hedonik		Total Bakteri Asam Laktat			Kadar Asam Laktat (%)	Zona Hambatan		Kard G Red (%)	
		Total Skor	Rata-rata	Tingkat Pengenceran				SPC	Diameter Rata-rata tiap ulangan (mm)		Rata-rata (mm)
				10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>					
1 : 4	5	117	11,7	2 1	1 3	1 2	2,0x10 <sup>8</sup> 1,0x10 <sup>8</sup>	0,75	9,5 9,6 9,4	9,5	0,
1 : 6	5	130	13	2 1	1 1	2 2	2,0x10 <sup>8</sup> 1,0x10 <sup>8</sup>	0,72	11,4 11,1 11,1	11,2	0
1 : 8	5	147	14,7	2 2	2 2	1 2	2,0x10 <sup>8</sup> 2,0x10 <sup>8</sup>	0,67	13,1 13,3 13,2	13,2	0
1 : 10	5	136	13,6	3 1	1 1	1 2	3,0x10 <sup>8</sup> 1,0x10 <sup>8</sup>	0,64	12,2 12,2 12,6	12,3	
1 : 12	5	131	13,1	3 3	1 3	2 1	3,0x10 <sup>8</sup> 3,0x10 <sup>8</sup>	0,61	12,2 12,4 12,4	12,3	

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### IV.1 Hasil Penelitian

Perbandingan Kacang Merah dengan Air	Nilai pH	Uji Hedonik		Total Bakteri Asam Laktat					Kadar Asam Laktat (%)	Zona Hambatan		Kadar Gula Reduksi (%)
		Total Skor	Rata-rata	Tingkat Pengenceran			SPC	Diameter Rata-rata tiap ulangan (mm)		Rata-rata (mm)		
				10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						
1 : 4	5	117	11,7	2	1	1	2,0x10 <sup>8</sup>	0,75	9,5 9,6 9,4	9,5	0,49	
1 : 6	5	130	13	2	1	2	2,0x10 <sup>8</sup>	0,72	11,4 11,1 11,1	11,2	0,69	
1 : 8	5	147	14,7	2	2	1	2,0x10 <sup>8</sup>	0,67	13,1 13,3 13,2	13,2	0,87	
1 : 10	5	136	13,6	3	1	1	3,0x10 <sup>8</sup>	0,64	12,2 12,2 12,6	12,3	1,10	
1 : 12	5	131	13,1	3	1	2	3,0x10 <sup>8</sup>	0,61	12,2 12,4 12,4	12,3	1,31	



## IV.2 Pembahasan

### 1. Pembuatan Susu Kacang Merah dan Yoghurt Kacang Merah

Susu kacang merah dibuat dengan perbandingan 1 : 4, 1 : 6, 1 : 8, 1 : 10 dan 1 : 12 antara biji kacang merah dengan air. Susu kacang merah sebelum dipasteurisasi ditambahkan dengan sukrosa 10% dari volume susu kacang merah. Tujuan penambahan sukrosa adalah untuk meningkatkan sumber energi bagi mikroba (3). Ke dalam susu kacang merah juga ditambahkan gelatin 1% dari volume susu kacang merah dengan tujuan untuk meningkatkan stabilitas dan konsistensi fisik produk yang dihasilkan (8).

Hasil fermentasi menunjukkan bahwa yoghurt kacang merah yang dibuat dengan bahan dasar susu kacang merah yang ditambahkan dengan gelatin dan sukrosa mempunyai tekstur yang lebih halus, lebih homogen dan memberikan gumpalan.

Dari hasil pengamatan setelah dilakukan fermentasi selama 18 jam diperoleh bahwa pH yoghurt kacang merah menurun dari 6 menjadi 5. Untuk tekstur perbandingan 1 : 4 memiliki tekstur sangat kental, perbandingan 1 : 6 dan 1 : 8 memiliki tekstur yang kental, perbandingan 1 : 10 agak kental dan 1 : 12 teksturnya agak encer. Perbandingan 1 : 4 memiliki rasa yang sangat asam, 1 : 6 rasa asam, 1 : 8 dan 1 : 10 rasa cukup asam dan sedikit manis, 1 : 12 memiliki rasa sedikit asam dan sedikit manis.

Berdasarkan hasil penelitian dengan menggunakan panelis sebanyak 10 orang dengan parameter berupa tekstur, aroma, rasa dan warna, yang mana pengujian organoleptis ini tanpa dilakukan penambahan perasa dan pengaroma. Dari hasil pengujian yang dilakukan rata-rata skor yang tertinggi adalah 14,7 pada perbandingan kacang merah dengan air, 1 : 8. Kemudian disusul oleh perbandingan 1 : 10 sebanyak 13,6; 1 : 12 sebanyak 13,1; 1 : 6 sebanyak 13 dan 1 : 4 sebanyak 12. Dengan demikian yoghurt kacang merah dengan perbandingan 1 : 8 paling dapat diterima dari segi tekstur yang kental, rasa cukup asam dan sedikit manis.

## 2. Pengujian Jumlah Bakteri Asam Laktat

Suatu susu fermentasi untuk digunakan sebagai probiotik salah satunya adalah mengandung bakteri asam laktat  $10^8 - 10^{11}$  koloni/ml. Dari perhitungan nilai ALT bakteri tiap-tiap perlakuan diperoleh rata-rata koloni bakteri untuk perbandingan 1 : 4 yaitu  $1,5 \times 10^8$ , 1 : 6 yaitu  $1,5 \times 10^8$ , 1 : 8 yaitu  $2,0 \times 10^8$ , 1 : 10 yaitu  $2,0 \times 10^8$  dan 1 : 12 yaitu  $3,0 \times 10^8$  (tabel 10). Dari hasil yang diperoleh bakteri asam laktat yang ada pada tiap perbandingan yoghurt kacang merah tidak ada perbedaan karena memiliki pangkat yang sama, jadi dapat disimpulkan bahwa variasi perbandingan kacang merah dengan air tidak memberikan pengaruh.

Pengujian jumlah bakteri asam laktat ini dilakukan dengan metode tuang menggunakan medium GYPA +  $\text{CaCO}_3$  merupakan medium spesifik untuk menghitung bakteri asam laktat yang ada pada susu. Setelah

dilakukan pengenceran  $10^{-1}$  –  $10^{-10}$ , berdasarkan hasil penelitian, susu asam diuji pada pengenceran  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ , dan  $10^{-10}$ .

Pengamatan dilakukan setelah dilakukan inkubasi selama 1x24 jam, diperoleh koloni yang dikelilingi zona bening, karena asam laktat yang dihasilkan bereaksi dengan kalsium karbonat yang tidak larut dalam medium membentuk kalsium laktat yang larut dalam air sehingga terbentuk zona bening.

### 3. Pengujian pH

Pengukuran pH terhadap yoghurt kacang merah dilakukan dengan menggunakan kertas pH universal. Hasil yang diperoleh yaitu pH untuk perbandingan 1 : 4, 1 : 6, 1 : 8, 1 : 10 dan 1 : 12 yaitu pH 5. Penurunan pH disebabkan karena adanya asam-asam organik terutama asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi.

Menurut Tamime dan Robinson (1985) fermentasi karbohidrat oleh bakteri asam laktat dilakukan melalui konversi karbohidrat ke glukosa dan kemudian glukosa difermentasi melalui jalur heksosa difosfat untuk memproduksi asam laktat sebagai produk utama. Asam-asam organik ini akan menyebabkan pH yoghurt kacang merah menjadi rendah. Semakin banyak sumber gula yang ditambahkan maka semakin banyak asam-asam organik yang dihasilkan sehingga secara otomatis pH akan semakin rendah. Penurunan pH menyebabkan juga penghambatan tumbuhnya mikroorganisme lain yang tidak diinginkan.

#### 4. Pengujian Kadar Total Asam

Tujuan dilakukannya uji kadar total asam pada yoghurt kacang merah adalah untuk mengetahui apakah starter bakteri dapat memberikan pengaruh terhadap total asam dari produk fermentasi susu kacang merah. Berdasarkan hasil perhitungan jumlah total asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang ada dalam yoghurt kacang merah diperoleh hasil untuk perbandingan 1 : 4 yaitu 0,7543%, untuk 1 : 6 yaitu 0,7175%, untuk 1 : 8 yaitu 0,6740%, untuk 1 : 10 yaitu 0,6405%, dan untuk 1 : 12 yaitu 0,6121% (tabel 9). Berdasarkan persyaratan yang ada bahwa yoghurt yang baik harus memiliki kadar total asam tidak kurang dari 0,5% (29). Pada prinsipnya pembentukan asam laktat dengan proses fermentasi merupakan hasil pemecahan glukosa menjadi fruktosa 1,6 difosfat kemudian menjadi asam laktat dengan bantuan enzim  $\beta$ -galactosidase, glycolase, dan lactate dehydrogenase yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat akan diubah menjadi asam laktat (10).

Jadi dapat dikatakan yoghurt kacang merah ini memenuhi syarat karena jumlah kadar total asamnya lebih dari 0,5% . Berdasarkan hasil perhitungan kadar total asam laktat secara statistik dengan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap) menunjukkan bahwa perbandingan kacang merah dengan air memiliki hasil yang signifikan pada taraf 1% dan 5%. Ini tampak dari nilai F hitung yang lebih besar dibandingkan dengan nilai F tabel. Selanjutnya dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Dari hasil uji BNT ini pada perbandingan kacang merah dan air 1 : 4, 1 : 6, 1 : 8, 1 : 10

dan 1 : 12 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Artinya pada kelima perbandingan ini menunjukkan peningkatan asam laktat yang hampir sama.

### 5. Pengujian Efek Antibakteri

Dari hasil yang diperoleh yoghurt kacang merah dengan perbandingan 1 : 4 memberikan zona hambat dengan rata-rata yaitu 9,5 mm, untuk perbandingan 1 : 6 yaitu 11,2 mm, untuk perbandingan 1 : 8 yaitu 13,2 mm, untuk perbandingan 1 : 10 yaitu 12,33 mm, dan untuk perbandingan 1 : 12 yaitu 12,33 mm. Sedangkan berdasarkan hasil analisis statistik dengan metode RAL diperoleh data yang sangat signifikan. Ini tampak dari nilai F hitung yang lebih besar dari nilai F tabel. Namun pada uji BNT diketahui bahwa perbandingan 1 : 10 dan 1 : 12 tidak berbeda nyata. Ini berarti bahwa pada kedua perbandingan tersebut efek antimikrobanya hampir sama.

Berbagai jenis senyawa metabolit yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, baik berupa senyawa metabolit primer, seperti misalnya asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, maupun metabolit sekunder, misalnya bakteriosin, senyawa flavour. Hidrogen peroksida, asam organik dalam hal ini terutama asam laktat dan bakteriosin bersifat antibakteri terhadap bakteri patogen sehingga berfungsi sebagai senjata pemungkas bakteri kompetitor yang tidak dikehendaki misalnya bakteri patogen dalam saluran pencernaan (10).

## 6. Pengujian Gula Reduksi

Untuk penentuan kadar gula reduksi digunakan metode Luff Schoorl. Penentuan gula reduksi ini bertujuan untuk menentukan sejauh mana aktivitas starter dalam mengubah sukrosa yang ditambahkan menjadi asam laktat dengan cara menghitung sisa gula reduksi yang terdapat dalam susu fermentasi.

Dalam penentuan gula reduksi dengan menggunakan metode Luff Schoorl terjadi 2 tahap reaksi oksidasi reduksi. Yang pertama gugus aldehyd pada glukosa akan mereduksi kuprioksida sehingga terbentuk endapan kuprioksida dan gugus aldehydnya menjadi gugus karboksilat. Selanjutnya kuprioksida akan bereaksi dengan asam sulfat yang ditambahkan menjadi kuprisulfat, dan kuprisulfat ini membebaskan iod dari garam kalium iodida. Banyaknya iod yang dibebaskan ekuivalen dengan kuprioksida. Banyaknya iod dapat diketahui dengan titrasi menggunakan Natrium tiosulfat. Disini terjadi reaksi oksidasi reduksi yang kedua. Untuk mengetahui bahwa titrasi sudah cukup maka diperlukan indikator amilum. Apabila larutan berubah warna dari biru hingga larutan biru hilang berarti titrasi sudah selesai. Agar hasilnya tepat maka penambahan indikator sebaiknya pada saat mendekati titik akhir titrasi (22).

Hasil yang diperoleh adalah gula reduksi tertinggi pada perbandingan kacang merah : air 1 : 12 yaitu sebesar 1,3086%, perbandingan 1 : 10 yaitu 1,1048%, 1 : 8 yaitu 0,8666%, 1 : 6 yaitu

0,6942%, dan 1 : 4 yaitu 0,4936%. Sedangkan berdasarkan hasil analisis statistik dengan metode RAL diperoleh data yang sangat signifikan (lihat lampiran 3) yaitu berbeda nyata baik pada taraf 1% maupun 5%. Namun uji BNT diketahui bahwa perbandingan 1 : 4, 1 : 6, 1 : 8, 1 : 10 dan 1 : 12 berbeda nyata . Ini berarti bahwa pada perbandingan kacang merah dengan air tersebut gula reduksi yang dihasilkan berbeda.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil pembahasan dan analisis statistik maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dapat memfermentasi susu kacang merah menjadi yoghurt kacang merah.
2. Perbandingan kacang merah dengan air 1:4, 1:6, 1:8, 1:10 dan 1:12 memiliki kadar asam laktat yang memenuhi persyaratan yaitu  $> 0,5\%$
3. Perbandingan kacang merah dengan air 1:4, 1:6, 1:8, 1:10 dan 1:12 memiliki jumlah bakteri asam laktat yang memenuhi persyaratan yaitu  $10^8 - 10^{11}$  koloni/ml.
4. Yoghurt kacang merah yang paling disenangi oleh panelis adalah yoghurt kacang merah dengan perbandingan kacang merah dengan air 1 : 8

#### V.2 Saran

Disarankan dilakukan penelitian lebih lanjut untuk jenis sumber energi, variasi lama dan suhu fermentasi dalam pembuatan yoghurt kacang merah.



## DAFTAR PUSTAKA

1. Santoso HB. *Susu dan Yoghurt Kedelai*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. 1994. hal. 13
2. Astawan M. *Sehat dengan Hidangan Kacang dan Biji-bijian*. Penebar Swadaya. Jakarta. 2009. hal. 4-8, 20-4, 107
3. Yusmarini & Raswe E. Evaluasi Mutu Soygurt yang dibuat dengan Penambahan beberapa Jenis Gula. *Jurnal Natur Indonesia*, Vol 6, No 2. 2004. hal. 104. [diakses 22 Januari 2010]
4. Winarno FG. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 1997. hal. 248-53
5. Muchtadi, D. *Prinsip Teknologi Pangan Sumber Protein*. Alfabeta. Bandung. 2009. hal. 9-10
6. Sardjoko. *Bioteknologi: Latar Belakang dan Beberapa Penerapannya*. Gramedia. Jakarta. 1991. hal. 103
7. Tambaru E. & Sri Suhadiyah. *Yayasan Keragaman Hayati Sulawesi (KHAS)*. Sekretariat KHAS. Makassar. 2010.
8. Hidayat, dkk. *Mikrobiologi Industri*. Penerbit ANDI. Yogyakarta. 2006. hal. 142, 146, 152, 169
9. Ebookpangan Proses dan Produk Fermentasi Pangan. 2006. [diakses 22 Januari 2010]
10. Surono IS. *Probiotik : Susu Fermentasi dan Kesehatan*. YAPMMI. Tri Cipta Karya. Jakarta. 2004. hal. 4-5, 15, 24-7, 31-43, 79
11. Effendi MS. *Teknologi Pengolahan dan Pengawetan Pangan*. Alfabeta. Bandung. 2009. hal. 165-6, 168, 194.
12. Rahman A. *Teknologi Fermentasi*. Penerbit Arcan. Bogor. 1992
13. Djide MN. & Sartini. *Dasar-dasar Bioteknologi Farmasi*. Laboratorium Mikrobiologi FMIPA. Universitas Hasanuddin. Makassar. 2005. hal. 304-5
14. Susilorini TE. & Sawitri ME. *Produk Olahan Susu*. Swadaya . 2006

5. Nur HS. *Pembentukan Asam Organik Oleh Isolat Bakteri Asam Laktat Pada Media Ekstrak Daging Buah Durian (Durio zibethinus Murr.)*. Program Studi Biologi. Vol 2, No 1. 2005. hal. 2. <http://bioscientiae.tripod.com>. [diakses 19 Juni 2010]
6. Buckle KA. *Mikrobiologi Pangan I*. Terjemahan Hari Purnomo Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 1987. hal. 172
7. Fardiaz S. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan Lanjut*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian. Bogor. 1992. hal. 139
8. Buckle KA. *Ilmu Pangan*. Terjemahan Hari Purnomo Adiono. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 1987. hal. 94
9. Fardiaz S. *Fisiologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas IPB-Lembaga Sumberdaya Informasi IPB. Bogor. 1987. hal. 46
10. Buchanan RE & Gibbons NE. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Eighth Edition. 1974. hal. 503-4, 576-7
11. Standar Nasional Indonesia 01-2892-1992. *Cara Uji Gula*. Dewan Standardisasi Nasional. Jakarta. 1992. hal. 1-11
12. Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan Dan Pertanian*. Ed.4. penerbit Liberty. Yogyakarta. 1997. hal. 34, 145, 152
13. Svehla G. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Kalman Media Pustaka. Jakarta. 1985. hal. 621, 624, 625
14. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Farmakope Indonesia*. Ed.3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1979. hal. 748
15. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. *Farmakope Indonesia*. Ed.4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1995. hal. 1217
16. Wunas Y & Susanti S. *Analisa Kimia Farmasi Kuantitatif*. Laboratorium Kimia Farmasi. Universitas Hasanuddin. Makassar. 2010. hal. 39, 45-6
17. Ace IS & Supriyanto. Pengaruh Konsentrasi Starter Terhadap Karakteristik Yoghurt. *Jurnal Penyuluhan Pertanian*, Vol 1, No 1. 2006. hal. 30. [diakses 22 Januari 2010]

28. Tamime AY & Robinson RK. *Yoghurt Science and Technology*. New York. Pargamon Press. 1985
29. Sardjoko. *Bioteknologi : Latar Belakang dan Beberapa Penerapannya*. Penerbit PT.Gramedia. jakarta. 1991. hal. 103

Tabel 3. Hasil Uji Organoleptis Dengan Menggunakan Panelis

Panelis	1 : 4				1 : 6				1 : 8				1 : 10				1 : 12			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
X1	3	4	4	2	3	4	4	2	3	4	4	3	3	3	3	3	4	5	3	
X2	3	4	4	2	3	3	4	2	3	3	2	3	2	3	3	4	2	4	3	4
X3	2	4	3	2	2	5	3	2	2	5	4	4	2	5	5	4	2	5	5	4
X4	2	4	4	1	3	3	4	2	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3
X5	2	3	3	1	3	4	4	3	3	5	5	4	3	3	3	3	3	4	3	2
X6	4	3	3	2	4	4	4	3	3	3	4	2	3	3	3	3	3	3	3	2
X7	3	4	4	2	3	4	4	2	4	5	5	4	3	4	4	4	4	3	3	3
X8	2	3	3	3	3	3	4	2	4	4	4	3	4	5	5	3	4	4	4	3
X9	4	4	4	3	3	3	4	3	4	3	3	4	3	4	3	3	3	3	3	2
X10	2	3	3	1	3	4	4	3	4	4	4	3	4	4	3	3	4	3	3	3
Jumlah	117				130				147				136				131			
Rata-rata	11,7				13				14,7				13,6				13,1			

**Keterangan :**

A = Bau

B = Warna

C = Tekstur

D = Rasa

1 = Sangat tidak suka

2 = Tidak suka

3 = Cukup

4 = Suka

5 = Sangat suka

Tabel 4. Hasil Perhitungan Kadar Total Asam Laktat Dengan Menggunakan Metode Titrasi Asam Basa Dengan Larutan Natrium Hidroksida 0,1115 N

Perbandingan Kacang Merah dengan Air	Berat Sampel (ml)	Volume Titran (ml)	Kadar Asam Laktat (%)	Rata - rata (%)
1 : 4	10	7	0,70	0,75
	10	7,7	0,78	
	10	7,8	0,78	
1 : 6	10	6,5	0,65	0,72
	10	7,4	0,74	
	10	7,55	0,76	
1 : 8	10	6,8	0,68	0,67
	10	6,3	0,63	
	10	7,05	0,71	
1 : 10	10	5,75	0,58	0,64
	10	6,7	0,67	
	10	6,7	0,67	
1 : 12	10	6	0,60	0,61
	10	5,9	0,59	
	10	6,4	0,64	

$$\text{Perhitungan \% kadar total asam} = \frac{\text{volume titran} \times N \text{ titran} \times 0,09}{\text{jumlah sampel}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Total asam} = \frac{7 \times 0,1115 \text{ N} \times 0,09}{10} \times 100\%$$

$$= 0,70\%$$

Tabel 5. Hasil Perhitungan Bakteri Asam Laktat Dengan Metode SPC

Perbandingan Kacang Merah dan Air	Tingkat Pengenceran		
	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$
1 : 4	2	1	1
	1	3	2
1 : 6	2	1	2
	1	1	2
1 : 8	2	2	1
	2	2	2
1 : 10	3	1	1
	1	1	2
1 : 12	3	1	2
	3	3	1

Perhitungan ALT bakteri, syarat koloni 30 – 300 koloni  
 Misalnya, perbandingan 1 : 4 replikasi pertama, jumlah koloni :

$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$
2	1	1

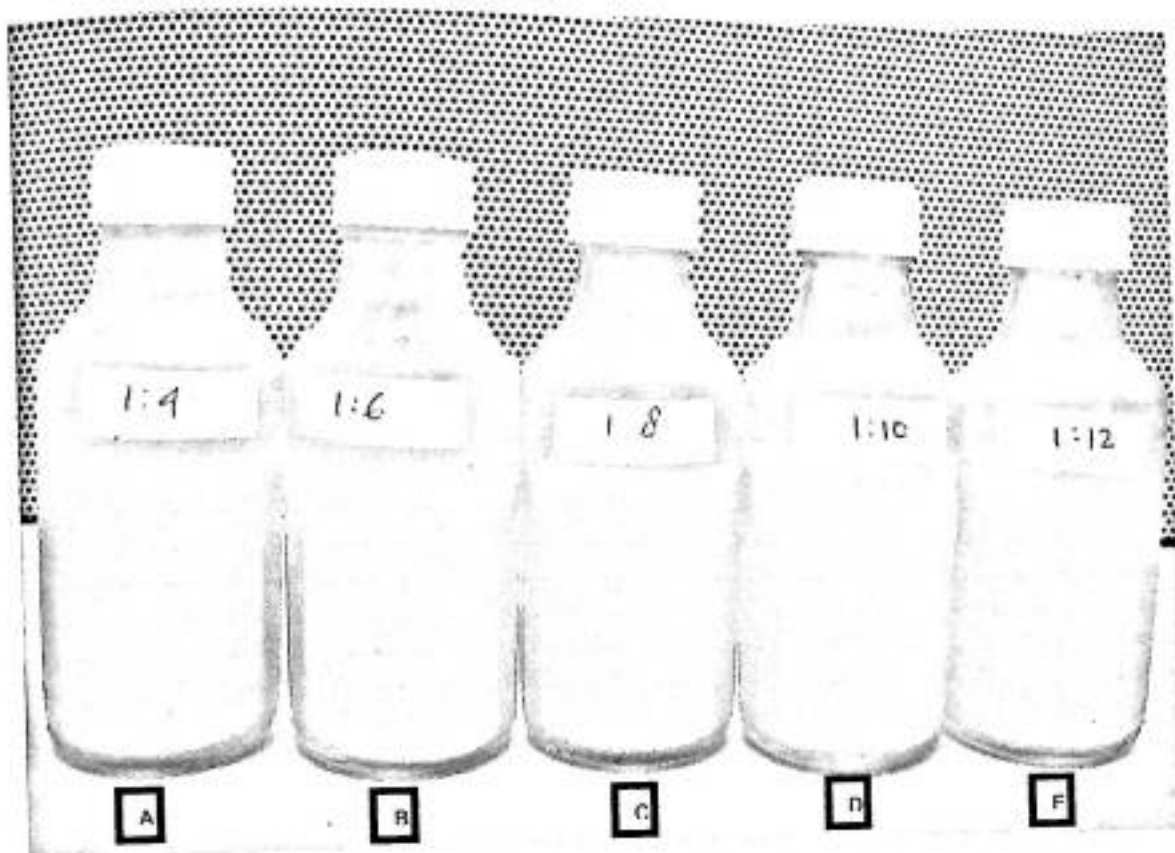
Dari data di atas tidak ada yang masuk dalam range, semuanya berada dibawah 30 koloni, maka yang diambil adalah pengenceran terendah.  
 Jadi pelaporannya =  $2 \times 1/10^{-8} = 2,0 \times 10^{-8}$  koloni/ml

Tabel 5. Nilai ALT Bakteri Masing-masing Yogurt Kacang Merah

Nilai ALT	1 : 4	1 : 6	1 : 8	1 : 10	1 : 12
I	$2,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$
II	$1,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$
Rata-rata	$1,5 \times 10^8$	$1,5 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$

**Tabel 6. Hasil Pengukuran Zona Hambatan Menggunakan Mikroba Uji Escherichia coli dan Medium MHA Dengan Metode Difusi**

Perbandingan Kacang Merah dan Air	Replikasi			Jumlah (mm)	Rata-rata (mm)
	I	II	III		
1 : 4	9,5 mm	9,6 mm	9,4 mm	28,5	9,5
1 : 6	11,4 mm	11,1 mm	11,1 mm	33,6	11,2
1 : 8	13,1 mm	13,3 mm	13,2 mm	39,6	13,2
1 : 10	12,2 mm	12,2 mm	12,6 mm	37	12,33
1 : 12	12,2 mm	12,4 mm	12,4 mm	37	12,33

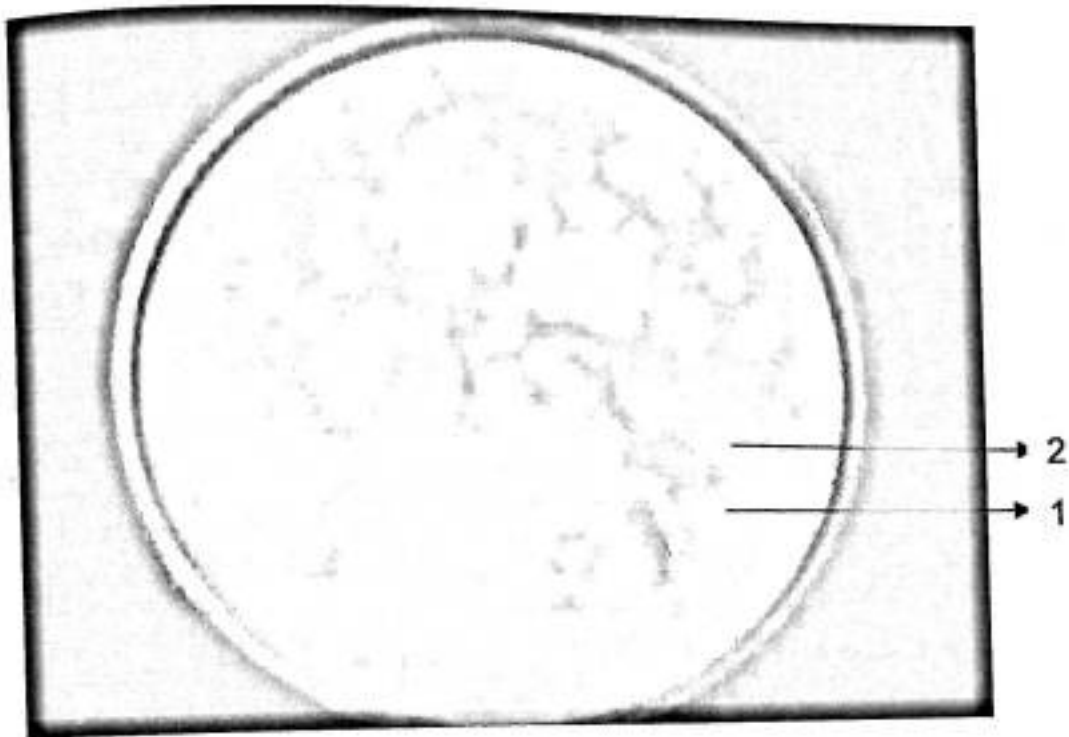


Gambar 4. Susu Kacang Merah Hasil Fermentasi oleh *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*

Keterangan :

- A = Perbandingan kacang merah dengan air 1 : 4
- B = Perbandingan kacang merah dengan air 1 : 6
- C = Perbandingan kacang merah dengan air 1 : 8
- D = Perbandingan kacang merah dengan air 1 : 10
- E = Perbandingan kacang merah dengan air 1 : 12



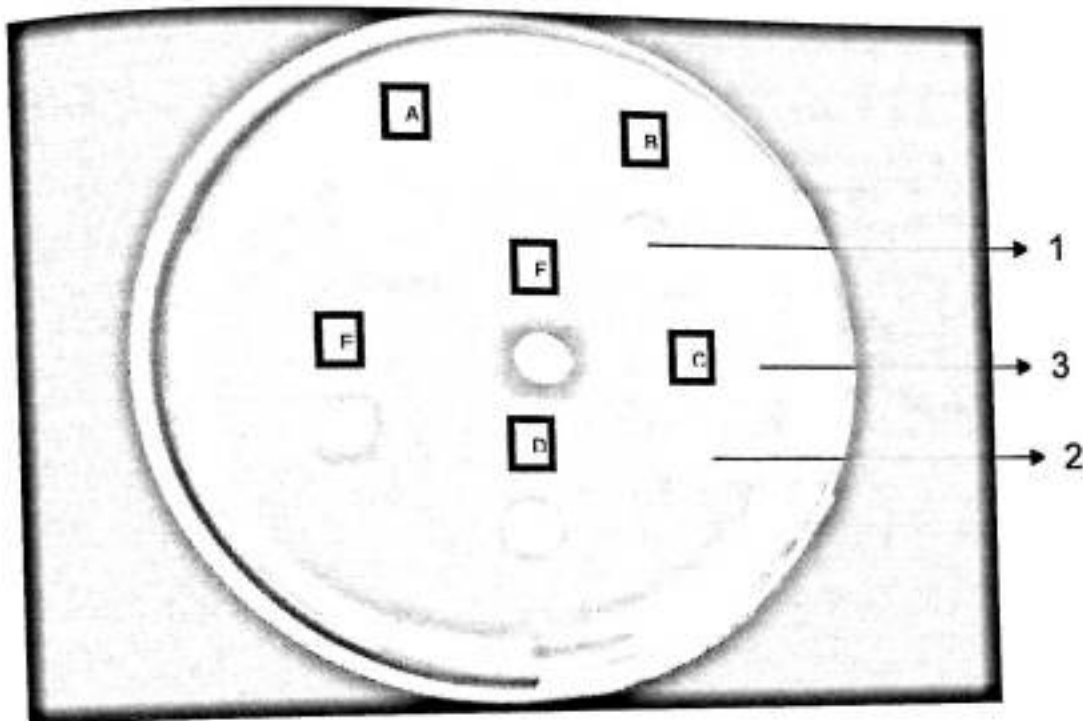


Gambar 5. Koloni Bakteri Asam Laktat dalam Yoghurt Kacang Merah dengan menggunakan medium GYPA + CaCO<sub>3</sub>

Keterangan :

1 = Medium GYPA + CaCO<sub>3</sub>

2 = Koloni Bakteri Asam Laktat



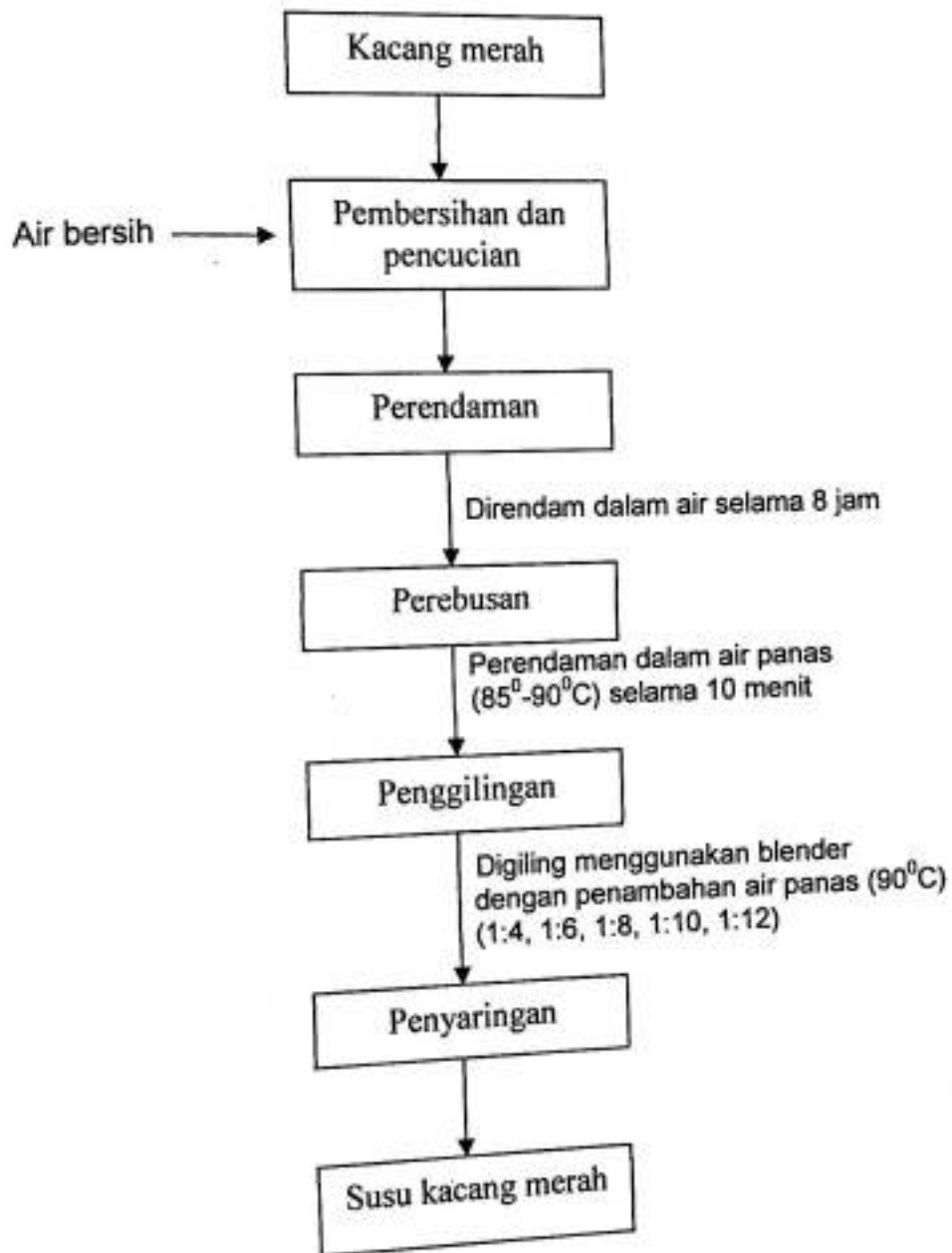
Gambar 6. Efek Antibakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Yang Dihasilkan Dengan Menggunakan Medium MHA

Keterangan :

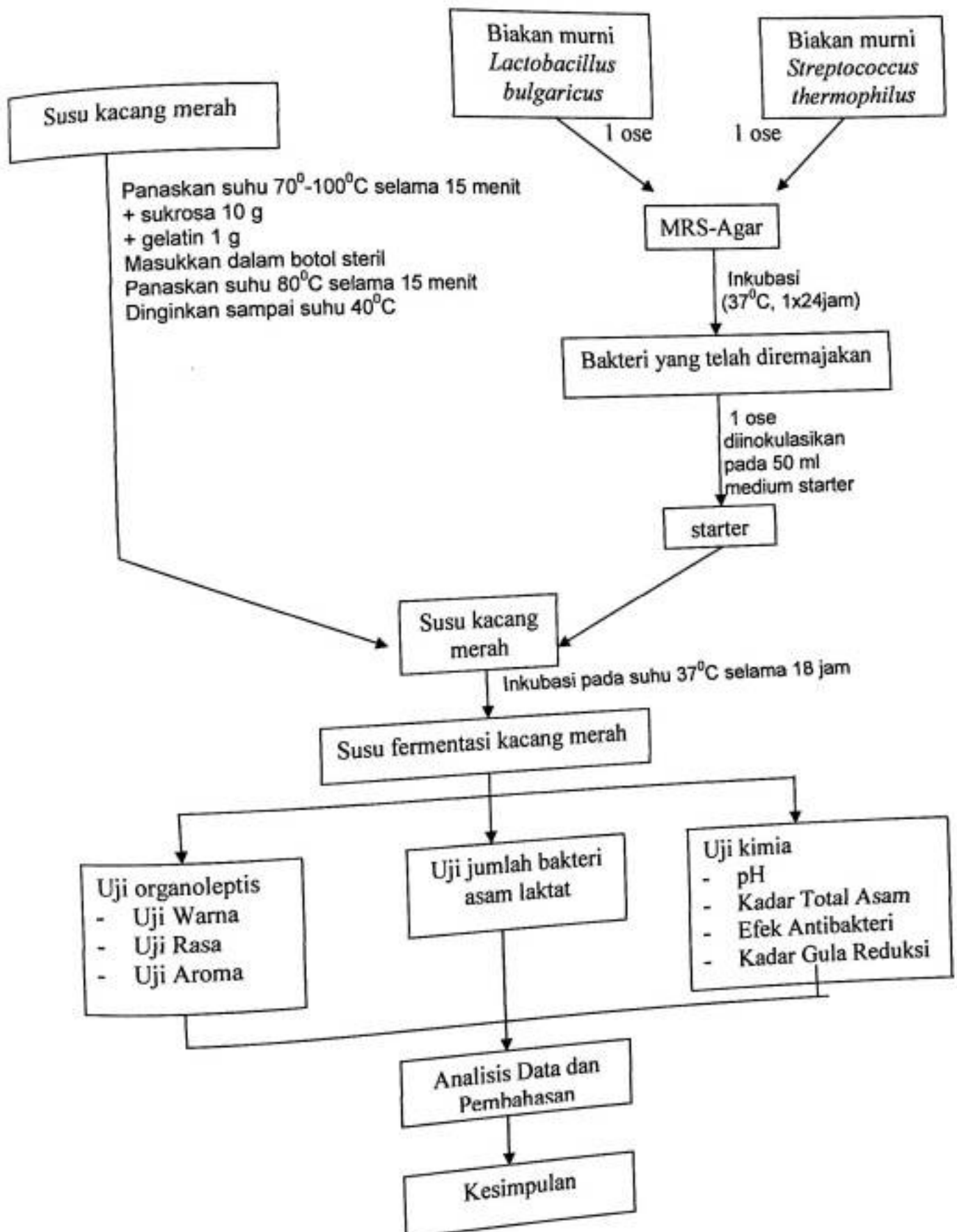
- A = perbandingan kacang merah dengan air = 1 : 4
- B = perbandingan kacang merah dengan air = 1 : 6
- C = perbandingan kacang merah dengan air = 1 : 8
- D = perbandingan kacang merah dengan air = 1 : 10
- E = perbandingan kacang merah dengan air = 1 : 12
- F = kontrol
- 1 = paper disc
- 2 = zona hambatan
- 3 = medium MHA + bakteri *Escherichia coli*

## Lampiran 1. Skema Kerja

### Skema Pembuatan Susu Kacang Merah



## Skema Pembuatan Yoghurt Kacang Merah



**Lampiran 2. Hasil Perhitungan Total Asam Laktat Berdasarkan Analisis Statistik Dengan Metode RAL**

Perbandingan Kacang Merah dengan Air	Replikasi			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
1 : 4	0,70	0,78	0,78	2,26	0,75
1 : 6	0,65	0,74	0,76	2,15	0,72
1 : 8	0,68	0,63	0,71	2,02	0,67
1 : 10	0,58	0,67	0,67	1,92	0,64
1 : 12	0,60	0,59	0,64	1,83	0,61
Jumlah				10,18	

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi (Fk)} &= \frac{(10,18)^2}{15} \\
 &= \frac{103,63}{15} \\
 &= 6,91
 \end{aligned}$$

Derajat Bebas (DB)

- DB Perlakuan =  $5 - 1 = 4$
- DB Total =  $15 - 1 = 14$
- DB Galat = DB Total - DB Perlakuan  
=  $14 - 4 = 10$

### Jumlah Kuadrat (JK)

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{\{(2,26)^2+(2,15)^2+(2,02)^2+(1,92)^2+(1,83)^2\}}{3} - 6,91$$

$$= \frac{(5,11+4,62+4,08+3,69+3,35)}{3} - 6,91$$

$$= \frac{20,85}{3} - 6,91$$

$$= 6,95 - 6,91$$

$$= 0,04$$

$$\text{JK Total} = \{(0,70)^2 + (0,78)^2 + (0,78)^2 + \dots + (0,64)^2\} - 6,91$$

$$= (0,49 + 0,61 + 0,61 + \dots + 0,41) - 6,91$$

$$= 6,97 - 6,91$$

$$= 0,06$$

$$\text{JK Galat} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan}$$

$$= 0,06 - 0,04$$

$$= 0,02$$

### Kuadrat Tengah (KT)

$$\text{KT} = \text{JK} / \text{DB}$$

$$\text{KT Perlakuan} = 0,04 / 4 = 0,01$$

$$\text{KT Galat} = 0,02 / 10 = 0,002$$

$$\text{F hitung} = \frac{0,01}{0,002} = 5$$

Tabel Anova

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F hitung	F Tabel	
					1%	5%
Perlakuan	4	0,04	0,01	5	5,99	3,48
Galat	10	0,02	0,002			
Total	14	0,06	-	-		

Karena F hitung berada diantara F tabel 5% dan 1% maka Signifikan

Analisis lanjutan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{Rumus umum nilai BNT} = t_{\alpha/2, N-a} \sqrt{\frac{2 \text{ KT Galat}}{n}}$$

Dimana :  $\alpha$  = Taraf signifikan 5%

$N-a$  = Derajat bebas galat

KT Galat = Kuadrat tengah galat

$n$  = Banyaknya perlakuan

$$\text{BNT 5\%} = 0,05/2, 10 \sqrt{\frac{2 \times 0,002}{5}}$$

$$= 2,228 \times 0,03$$

$$= 0,07$$

## Hasil Uji BNT

Konsentrasi Kacang Merah	1 : 4 (A)	1 : 6 (B)	1 : 8 (C)	1 : 10 (D)	1 : 12 (E)
Rata-rata	0,75	0,72	0,67	0,64	0,61

Konsentrasi Kacang Merah	Selisih	Taraf 5%
A - B	0,03	NS
A - C	0,08	S
A - D	0,11	S
A - E	0,14	S
B - C	0,05	NS
B - D	0,08	S
B - E	0,11	S
C - D	0,03	NS
C - E	0,06	NS
D - E	0,03	NS

Keterangan :

S = Signifikan

NS = NonSignifikan



**Lampiran 3. Hasil Perhitungan Kadar Gula Reduksi Berdasarkan Analisis Statistik dengan Metode RAL**

Perbandingan Kacang Merah dan Air	Replikasi			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
1 : 4	0,52	0,48	0,48	1,48	0,49
1 : 6	0,71	0,71	0,67	2,09	0,69
1 : 8	0,86	0,83	0,91	2,60	0,87
1 : 10	1,19	1,08	1,04	3,31	1,10
1 : 12	1,36	1,31	1,26	3,93	1,31
Jumlah				13,41	

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi (Fk)} &= \frac{(13,41)^2}{15} \\
 &= \frac{179,8281}{15} \\
 &= 11,99
 \end{aligned}$$

Derajat Bebas (DB)

- DB Perlakuan =  $5 - 1 = 4$
- DB Total =  $15 - 1 = 14$
- DB Galat = DB Total - DB Perlakuan  
=  $14 - 4$   
= 10

### Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{[(1,48)^2 + (2,09)^2 + (2,60)^2 + (3,31)^2 + (3,93)^2]}{3} - 11,99 \\
 &= \frac{(2,1904 + 4,3681 + 6,76 + 10,9561 + 15,4449)}{3} - 11,99 \\
 &= \frac{39,7195}{3} - 11,99 \\
 &= 13,24 - 11,99 \\
 &= 1,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total} &= \{(0,52)^2 + (0,48)^2 + (0,48)^2 + \dots + (1,26)^2\} - 11,99 \\
 &= (0,2704 + 0,2304 + 0,2304 + \dots + 1,5876) - 11,99 \\
 &= 13,26 - 11,99 \\
 &= 1,27
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 1,27 - 1,25 \\
 &= 0,02
 \end{aligned}$$

### Kuadrat Tengah (KT)

$$\text{KT} = \text{JK} / \text{DB}$$

$$\text{KT Perlakuan} = 1,25 / 4 = 0,3125$$

$$\text{KT Galat} = 0,02 / 10 = 0,002$$

$$\text{F hitung} = \frac{0,3125}{0,002} = 156,25$$

Tabel Anova

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F hitung	F Tabel	
					1%	5%
Perlakuan	4	1,25	0,3125	156,25	5,99	3,48
Galat	10	0,02	0,002			
Total	14	1,27	-	-		

F hitung > F tabel = sangat signifikan

Analisis lanjutan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{Rumus umum nilai BNT} = t_{\alpha/2, N-a} \sqrt{\frac{2 \text{ KT Galat}}{n}}$$

Dimana :  $\alpha$  = Taraf signifikan 5%  
 $N-a$  = Derajat bebas galat  
 KT Galat = Kuadrat tengah galat  
 $n$  = Banyaknya perlakuan

$$\text{BNT 5\%} = 0,05/2, 10 \sqrt{\frac{2 \times 0,002}{5}}$$

$$= 2,228 \times 0,028$$

$$= 0,06$$

## Hasil Uji BNT

Konsentrasi Kacang Merah	1 : 4 (A)	1 : 6 (B)	1 : 8 (C)	1 : 10 (D)	1 : 12 (E)
Rata-rata	0,49	0,69	0,87	1,10	1,31

Konsentrasi Kacang Merah	Selisih	Taraf 5%
B - A	0,2	S
C - A	0,38	S
C - B	0,18	S
D - A	0,61	S
D - B	0,41	S
D - C	0,23	S
E - A	0,82	S
E - B	0,62	S
E - C	0,44	S
E - D	0,21	S

Keterangan :

S = Signifikan

**Lampiran 4. Hasil Perhitungan Efek Antimikroba Berdasarkan Analisis Statistik dengan Metode RAL**

Perbandingan Kacang Merah dan Air	Replikasi			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
1 : 4	9,5	9,6	9,4	28,5	9,5
1 : 6	11,4	11,1	11,1	33,6	11,2
1 : 8	13,1	13,3	13,2	39,6	13,2
1 : 10	12,2	12,2	12,6	37	12,33
1 : 12	12,2	12,4	12,4	37	12,33
Jumlah				175,7	

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi (Fk)} &= \frac{(175,7)^2}{15} \\
 &= \frac{30870,49}{15} \\
 &= 2058,03
 \end{aligned}$$

Derajat Bebas (DB)

- DB Perlakuan =  $5 - 1 = 4$
- DB Total =  $15 - 1 = 14$
- DB Galat = DB Total - DB Perlakuan  
=  $14 - 4$   
=  $10$

Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{\{(28,5)^2 + (33,6)^2 + (39,6)^2 + (37)^2 + (37)^2\}}{3} - 2058,03 \\
 &= \frac{(812,25 + 1128,96 + 1568,16 + 1369 + 1369)}{3} - 2058,03 \\
 &= \frac{6247,37}{3} - 2058,03 \\
 &= 2082,46 - 2058,03 \\
 &= 24,43
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total} &= \{(9,5)^2 + (9,6)^2 + (9,4)^2 + \dots + (12,4)^2\} - 2058,03 \\
 &= (90,25 + 92,16 + 88,36 + \dots + 153,76) - 2058,03 \\
 &= 2082,69 - 2058,03 \\
 &= 24,66
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 24,66 - 24,43 \\
 &= 0,23
 \end{aligned}$$

Kuadrat Tengah (KT)

$$\text{KT} = \text{JK} / \text{DB}$$

$$\text{KT Perlakuan} = 24,43 / 4 = 6,11$$

$$\text{KT Galat} = 0,23 / 10 = 0,023$$

$$\text{F hitung} = \frac{6,11}{0,023} = 265,65$$

Tabel Anova

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F hitung	F Tabel	
					1%	5%
Perlakuan	4	24,43	6,11	265,65	5,99	3,48
Galat	10	0,23	0,023			
Total	14	24,66	-	-		

F hitung > F tabel 1% = sangat signifikan

Analisis lanjutan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{Rumus umum nilai BNT} = t_{\alpha/2, N-a} \sqrt{\frac{2 \text{ KT Galat}}{n}}$$

Dimana :  $\alpha$  = Taraf signifikan 5%

$N-a$  = Derajat bebas galat

KT Galat = Kuadrat tengah galat

$n$  = Banyaknya perlakuan

$$\text{BNT 5\%} = 0,05/2, 10 \sqrt{\frac{2 \times 0,023}{5}}$$

$$= 2,228 \times 0,096$$

$$= 0,21$$

## Hasil Uji BNT

Konsentrasi Kacang Merah	1 : 4 (A)	1 : 6 (B)	1 : 8 (C)	1 : 10 (D)	1 : 12 (E)
Rata-rata	9,5	11,2	13,2	12,33	12,33

Konsentrasi Kacang Merah	Selisih	Taraf 5%
B - A	1,7	S
C - A	3,7	S
C - B	2	S
C - D	0,87	S
C - E	0,87	S
D - A	2,83	S
D - B	1,13	S
D - E	0	NS
E - A	2,83	S
E - B	1,13	S

Keterangan :

S = Signifikan

NS = NonSignifikan



Lampiran 5. Hasil Perhitungan Uji Hedonik Berdasarkan Analisis Statistik Dengan Metode RAK

Perbandingan Kacang Merah Dengan Air	Replikasi				Jumlah	Rata-rata
	A	B	C	D		
1 : 4	27	36	35	19	117	29,25
1 : 6	30	37	39	24	130	32,5
1 : 8	34	40	39	34	147	36,75
1 : 10	31	37	35	33	136	34
1 : 12	31	36	35	29	131	32,75
Jumlah	153	186	183	139	661	

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi (Fk)} &= \frac{(661)^2}{20} \\
 &= \frac{436921}{20} \\
 &= 21846,05
 \end{aligned}$$

Derajat Bebas (DB)

- DB Perlakuan =  $5 - 1 = 4$
- DB Total =  $20 - 1 = 19$
- DB Galat = DB Total - DB Perlakuan  
=  $19 - 4 = 15$

Jumlah Kuadrat (JK)

$$\text{JK Perlakuan} = \frac{\{(117)^2 + (130)^2 + (147)^2 + (136)^2 + (131)^2\}}{4} - 21846,05$$

$$= \frac{(13689 + 16900 + 21609 + 18496 + 17161)}{4} - 21846,05$$

$$= \frac{87855}{4} - 21846,05$$

$$= 21963,75 - 21846,05$$

$$= 117,7$$

$$\text{JK Total} = \{(27)^2 + (36)^2 + (35)^2 + \dots + (29)^2\} - 21846,05$$

$$= (729 + 1296 + 1225 + \dots + 841) - 21846,05$$

$$= 22377 - 21846,05$$

$$= 530,95$$

$$\text{JK Kelompok} = \frac{\{(153)^2 + (186)^2 + (183)^2 + (139)^2\}}{5} - 21846,05$$

$$= 22163 - 21846,05$$

$$= 316,95$$

$$\text{JK Galat} = \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} - \text{JK Kelompok}$$

$$= 530,95 - 117,7 - 316,95$$

$$= 96,3$$

Kuadrat Tengah (KT)

$$\text{KT} = \text{JK} / \text{DB}$$

$$\text{KT Perlakuan} = 117,7 / 4 = 29,425$$

$$\text{KT Kelompok} = 316,95 / 3 = 105,65$$

$$KT \text{ Galat} = 96,3 / 12 = 8,025$$

$$F \text{ hitung untuk Perlakuan} = \frac{29,425}{8,025} = 3,67$$

$$F \text{ hitung untuk Kelompok} = \frac{105,65}{8,025} = 13,165$$

### Tabel Anova

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F hitung	F Tabel	
					1%	5%
Perlakuan	4	117,7	29,425	3,67	5,55	3,26
Kelompok	3	316,95	105,65	13,165	6,098	3,49
Galat	12	96,3	8,025			
Total	19	530,95	-	-		

F hitung kelompok lebih besar dari F tabel 1% maka berbeda sangat nyata.

F hitung perlakuan lebih besar dari F tabel 5% maka berbeda nyata.

Analisis lanjutan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

$$\text{Rumus umum nilai BNT} = t_{\alpha/2, N-a} \sqrt{\frac{2 \text{ KT Galat}}{n}}$$

Dimana :  $\alpha$  = Taraf signifikan 5%

$N-a$  = Derajat bebas galat

KT Galat = Kuadrat tengah galat

$n$  = Banyaknya perlakuan

$$\text{BNT } 5\% = 0,05/2, 12 \sqrt{\frac{2 \times 8,025}{5}}$$

$$= 2,179 \times 1,79$$

$$= 3,90$$

Hasil Uji BNT

Konsentrasi Kacang Merah	1 : 4 (A)	1 : 6 (B)	1 : 8 (C)	1 : 10 (D)	1 : 12 (E)
Rata-rata	29,25	32,5	36,75	34	32,75

Konsentrasi Kacang Merah	Selisih	Taraf 5%
B - A	3,25	NS
C - A	7,5	S
C - B	4,25	S
C - D	2,75	NS
C - E	4	S
D - A	4,75	S
D - B	1,5	NS
D - E	1,25	NS
E - A	3,5	NS
E - B	0,25	NS

Keterangan :

S = Signifikan

NS = NonSignifikan

## Kuisoner Panelis

Panelis :

1:4				1:6				1:8				1:10				1:12			
A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D

**Keterangan :**

A = Bau

B = Warna

C = Tekstur

D = Rasa

1 = Sangat tidak suka

2 = Tidak suka

3 = Cukup

4 = Suka

5 = Sangat suka