

BAB IV

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

4.1. Bahan

4.1.1. Bahan Untuk Proses

Bahan utama yang akan digunakan dalam pembuatan yogurt kedelai jagung adalah susu kedelai jagung, kultur *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040, kultur *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041, dan isolat protein kedelai merk Supro yang diperoleh dari CV Tristar Chemical, Surabaya.

Bahan-bahan yang digunakan dalam membuat susu kedelai jagung adalah kedelai, jagung manis, gula pasir dan xanthan gum. Kedelai yang digunakan adalah kedelai kuning merk “Finna”. Spesifikasi produk yang ditetapkan untuk biji kedelai adalah memiliki ukuran diameter biji 4-5 mm; warna coklat muda, masih terbungkus kulit; tidak pecah serta tidak menunjukkan tanda-tanda kerusakan seperti busuk atau berubah warna. Jagung yang digunakan adalah jagung merk “Bromo Horti” yang diperoleh dari “Giant Supermarket” varietas *Sweet-Boy* dengan spesifikasi memiliki ukuran panjang tongkol 15-17 cm; diameter 4-5 cm dan bulir jagung berwarna kuning. Gula pasir yang digunakan adalah gula pasir merk “Gulaku”, dan untuk *xanthan gum* diperoleh dari PT Halim Sarana Cahaya Semesta, Surabaya.

Bahan pembantu yang digunakan adalah media *de Man Rogosa Sharpe Broth* (MRS *Broth*) sebagai media untuk peremajaan kultur. Media MRS *Broth* yang digunakan dalam penelitian ini adalah merk “Merck” (“Merck 1.10661.0500”). Spesifikasi MRS *Broth* dan isolat protein kedelai dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.1.2. Bahan Analisa

Bahan-bahan yang digunakan untuk menganalisa yogurt kedelai jagung adalah MRS *Broth* (“Merck 1.10661.0500”), agar teknik (“Oxoid LP 0013”), pepton *from meat* (“Merck 1.07224”), NaOH 0,1N, asam oksalat 0,1N, indikator *phenolphthalein*, spiritus, akuades, alkohol 96% teknis.

4.2. Alat

4.2.1. Alat Proses

Alat yang digunakan pada pembuatan yogurt kedelai jagung adalah Soy Bean Milk Maker (“Akebono”), kompor (“Rinnai”), timbangan digital (“Mettler Toledo”), *refrigerator*, gelas ukur plastik, termometer, panci, dandang pengukus, sendok, pengaduk kayu, nampan, saringan, kain saring, *cup* plastik (“Lion Star”) yang terbuat dari plastik jenis *Polypropylene* (PP), enkast, autoklaf (“All American” Model no. 25 X), inkubator (“WTC Binder”), oven (“WTC Binder”), alat-alat gelas, pipet ukur 1mL dan 5mL, kawat ose, sendok tanduk, batang pengaduk, Bunsen, sumbat kapas, aluminium foil, kertas coklat, dan korek api.

4.2.2. Alat Analisa

Alat-alat yang digunakan untuk analisa adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, bunsen, penyangga kaki tiga, termometer, pipet ukur 1 mL dan 5 mL, alat-alat gelas, timbangan (“Mettler Toledo” PG 5001-S), , inkubator (“WTC Binder”), pH meter (merk “schott”), buret (“Assistant”), statif, corong, kertas saring kasar, botol timbang, labu takar 100 mL, pipet tetes.

4.3. Waktu dan Tempat Penelitian

4.3.1. Waktu Penelitian

Penelitian pendahuluan dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan April 2011. Penelitian utama akan dilaksanakan pada bulan Mei sampai dengan Juni 2011.

4.3.2. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, yaitu di Laboratorium Mikrobiologi Industri Pangan, Laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan, Laboratorium Gizi Pangan dan Laboratorium Pengawasan Mutu Pangan & Uji Sensoris.

4.4. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan faktor tunggal, yaitu konsentrasi kalsium laktat yang ditambahkan dengan enam taraf perlakuan dan diulang sebanyak empat kali ulangan. Faktor konsentrasi kalsium laktat (X) yang terdiri dari enam taraf adalah:

X_1 = konsentrasi kalsium laktat 0% (b/v)

X_2 = konsentrasi kalsium laktat 0,2% (b/v)

X_3 = konsentrasi kalsium laktat 0,4% (b/v)

X_4 = konsentrasi kalsium laktat 0,6% (b/v)

X_5 = konsentrasi kalsium laktat 0,8% (b/v)

X_6 = konsentrasi kalsium laktat 1% (b/v)

Parameter yang diuji yaitu perhitungan angka lempeng total (ALT) untuk mengetahui viabilitas bakteri asam laktat, pengukuran kadar total asam, pengukuran nilai pH, sineresis, dan pengujian organoleptik meliputi kesukaan terhadap kenampakan, rasa, tekstur dan aroma. Data dari hasil pengujian akan dianalisa dengan menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Varians*) pada $\alpha = 5\%$ untuk mengetahui apakah perbedaan perlakuan memberikan pengaruh yang nyata terhadap parameter penelitian. Apabila hasil uji ANOVA menunjukkan ada pengaruh nyata, maka dilanjutkan

dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan $\alpha = 5\%$ untuk menentukan taraf perlakuan mana yang memberikan perbedaan nyata.

4.5. Pelaksanaan Penelitian

4.5.1. Pembuatan Susu Kedelai Jagung

Pelaksanaan penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui formulasi yang tepat dan lama inkubasi dalam pembuatan yogurt kedelai jagung. Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui pengaruh penambahan kalsium laktat terhadap nilai pH, total asam, sineresis, viabilitas bakteri yogurt dan organoleptik yogurt kedelai jagung serta berapa konsentrasi kalsium yang digunakan agar dapat menghasilkan sifat fisikokimia dan organoleptik yogurt kedelai jagung yang terbaik.

Tahap-tahap pembuatan susu kedelai jagung pada penelitian utama adalah sebagai berikut:

1. Preparasi kedelai

- Sortasi dan Pencucian

Kedelai kering yang akan digunakan disortasi untuk memisahkan kotoran, kerikil kecil dan kedelai yang rusak. Setelah itu, kedelai yang telah disortasi dicuci dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada kedelai.

- Perendaman dan Pembilasan

Kedelai yang telah dicuci direndam selama 8 jam di dalam air bersih pada suhu kamar. Perbandingan kedelai dengan air yaitu 1:4. Selama perendaman maka kacang kedelai akan menyerap air sehingga ukurannya menjadi lebih besar, penyerapan air juga menyebabkan pelonggaran ikatan antar partikel pada kacang kedelai sehingga ketika penghancuran dapat mengekstraksi zat-zat

gizi secara maksimal. Perendaman dapat juga menyebabkan terlarutnya sebagian senyawa antitripsin, dan memudahkan pengupasan kulit ari dan biji kedelai. Selain itu, selama perendaman akan terjadi proses fermentasi langsung oleh bakteri asam laktat, yang akan membantu dalam proses pembuatan yogurt. Setelah kedelai direndam selama 8 jam, dilanjutkan dengan pembilasan untuk menghilangkan sisa-sisa air perendaman.

- Perebusan

Perebusan dilakukan pada suhu 100°C selama 10 menit setelah air mendidih. Perbandingan kedelai dan air adalah 1:8. Perebusan ini bertujuan untuk menghilangkan zat antitripsin, hemaglutinin dan enzim lipoksigenase yang menyebabkan *beany flavour* pada susu kedelai. Serta, mencegah kerusakan protein dalam kedelai lebih lanjut.

- Penirisan

Kedelai yang telah direbus ditiriskan untuk memisahkan air yang tersisa pada kedelai rebus.

2. Preparasi jagung

- Pengupasan dan Pencucian

Jagung manis yang akan digunakan dikupas kulitnya dan dipisahkan rambut jagungnya. Setelah itu jagung manis dicuci dengan air bersih.

- Pengukusan

Pengukusan jagung manis dilakukan selama 30 menit. Pengukusan ini bertujuan untuk proses gelatinisasi parsial jagung manis sehingga memudahkan dan memaksimalkan ekstraksi.

- Penyerutan

Jagung manis yang telah dikukus diserut terlebih dahulu dan siap untuk dicampurkan.

3. Kedelai rebus dan jagung manis hasil serutan dicampurkan dengan perbandingan 70% kedelai dan 30% jagung manis.
4. Campuran kedelai dan jagung tersebut selanjutnya dihancurkan dengan menambahkan air dengan perbandingan kedelai jagung: air sebesar 1:5. Campuran kedelai jagung tersebut dihancurkan dengan menggunakan alat *soy bean milk maker* dengan 5 kali penghancuran.
5. Kemudian filtrat yang didapatkan dilakukan penyaringan dan penghomogenisasian terlebih dahulu.
6. Setelah susu kedelai jagung disaring maka segera ditambahkan gum xanthan , yaitu pada konsentrasi 0,03%.
7. Setelah ditambahkan gum xanthan susu kedelai jagung tersebut dipanaskan pada suhu 70°C selama 10 menit. Kemudian ditambahkan dengan isolat protein dengan konsentrasi 4%. Penambahan *xanthan gum* dilakukan untuk meningkatkan stabilitas koloid dan mencegah terjadinya pengendapan, sedangkan penambahan isolat protein kedelai adalah untuk meningkatkan kandungan protein pada susu kedelai jagung sehingga saat pembuatan yogurt dihasilkan yogurt dengan *curd* yang kokoh. Kemudian suhu diturunkan sampai 50°C untuk pengkayaan kalsium menggunakan kalsium laktat.
8. Susu kedelai jagung dikemas pada plastik dan disimpan pada suhu 10°C.

Diagram alir pembuatan susu kedelai jagung hingga menghasilkan filtrat susu kedelai jagung pada Gambar 4.1. Pengekstraksian dilakukan sebanyak enam kali, karena ada enam level konsentrasi gum xanthan yang

ditambahkan. Formulasi susu kedelai jagung untuk tiap unit percobaan pada Tabel 4.2. Berat kedelai dan jagung manis pada formulasi tersebut merupakan berat basah setelah perebusan.

Tabel 4.2. Formulasi Bahan Susu Kedelai Jagung pada Tiap Unit Percobaan

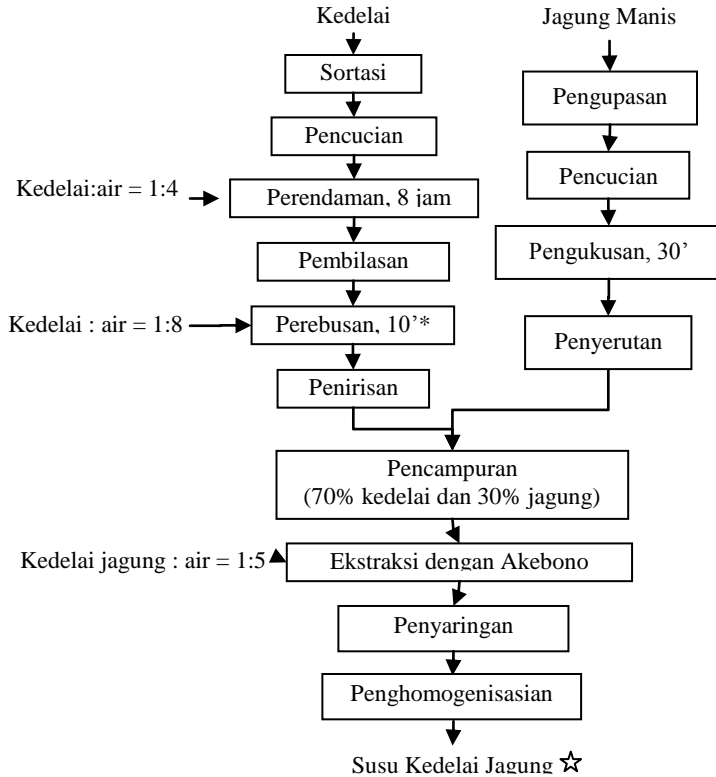
Bahan	Jumlah
Kedelai	140 g
Jagung manis	60 g
Air	1000 ml
Gula pasir	3,5% b/v
Bubuk Glukosa	3,5% b/v
ISP	4% b/v
Gum Xanthan	0,03% b/v

Perbandingan berat kedelai basah (kedelai yang sudah direndam dan direbus) dan jagung yang telah dikukus untuk menghasilkan susu kedelai jagung adalah 30% jagung dan 70% kedelai. Air yang digunakan untuk ekstraksi pada masing-masing perlakuan memiliki perbandingan air:campuran kedelai dan jagung = 5:1. Persentase gula dihitung dari banyaknya filtrat susu kedelai jagung yang dihasilkan setelah penyaringan (% b/v). Gula, glukosa, ISP dan gum xanthan ditambahkan ketika filtrat telah direbus dan saring, kemudian diaduk hingga larut.

Pengekstraksian dilakukan sebanyak enam kali, karena ada enam level konsentrasi kalsium laktat yang ditambahkan. Formulasi susu kedelai jagung untuk tiap perlakuan pada tiap unit percobaan pada Tabel 4.3. Persentase kalsium laktat yang ditambahkan berdasarkan volume filtrat yang dihasilkan (b/v).

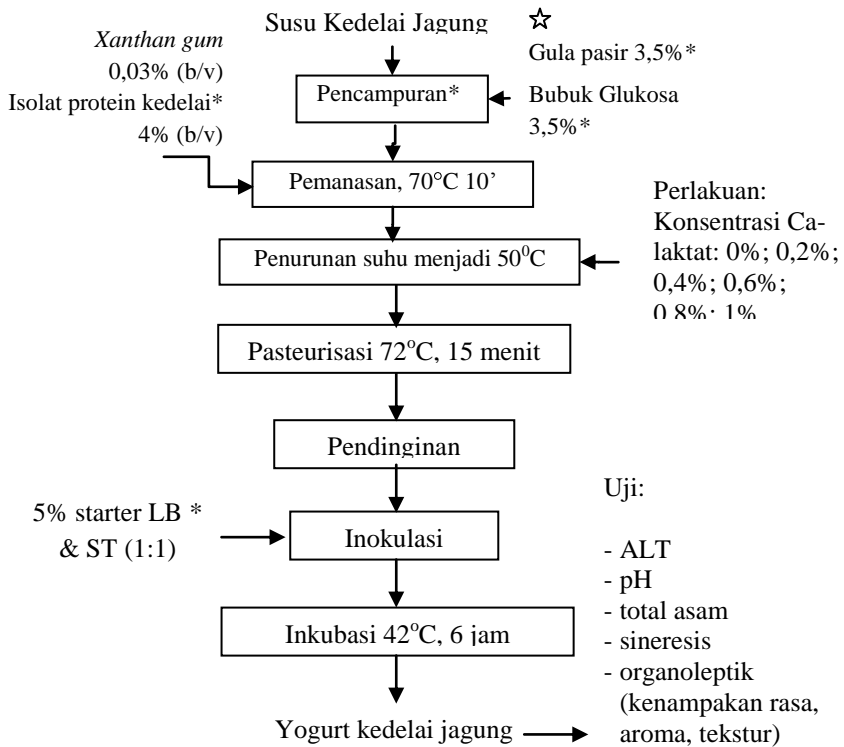
Tabel 4.3. Formulasi Yogurt Kedelai Jagung untuk Tiap Unit Percobaan

Perlakuan	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆
Volume filtrat (mL)	800	800	800	800	800	800
Gum Xanthan (g)	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
Gula Pasir (g)	28	28	28	28	28	28
Glukosa (g)	28	28	28	28	28	28
ISP (g)	32	32	32	32	32	32
Kalsium Laktat (g)	0	1,6	3,2	4,8	6,4	8



Gambar 4.1. Diagram Alir Proses Pembuatan Susu Kedelai Jagung
Sumber: Handoko 2011,*modifikasi

4.5.2 Pembuatan Yogurt Kedelai Jagung



Gambar 4.5. Diagram Alir Penelitian Yogurt Kedelai Jagung
Sumber: Lestiyani 2010,* modifikasi

Tahapan pembuatan yogurt kedelai jagung adalah sebagai berikut:

1. Mempasteurisasi susu kedelai jagung dengan suhu 72°C selama 15 menit untuk membunuh mikroba pencemar yang tidak tahan panas.
2. Memasukkan susu kedelai jagung ke dalam wadah steril dan mendinginkan hingga mencapai suhu 43-45°C yaitu suhu optimum untuk pertumbuhan BAL.

3. Menginokulasi campuran starter LB dan ST (1:1) pada susu kedelai jagung sebanyak 3% kemudian membagi susu kedelai jagung tersebut ke dalam beberapa *cup-cup* plastik.
4. Menginkubasi pada suhu 42°C selama 7 jam.

4.6. Pengamatan dan Pengujian

4.6.1. Pengujian Total BAL (Fardiaz, 1989)

Tahapan pengujian ALT adalah sebagai berikut:

1. Yogurt kedelai jagung diambil sebanyak 5 mL dengan menggunakan pipet steril, kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer 100 mL yang berisi air pepton 0,1% sebanyak 45 mL dan dihomogenkan (pengenceran 10^{-1}).
2. Memipet 0,5 mL dari pengenceran 10^{-1} dan masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 4,5 mL air pepton 0,1% (pengenceran 10^{-2}). Ulangi langkah ini sampai pengenceran 10^{-10} . Pada pengenceran 10^{-6} - 10^{-10} , ambil 1 mL kemudian masukkan cawan petri steril.
3. Mencairkan media MRS agar kemudian didinginkan pada suhu 50°C selama 5 (lima) menit.
4. Menuangkan media MRS agar yang sudah didinginkan ke dalam masing-masing cawan petri kemudian dirotasi angka delapan dan didiamkan hingga media memadat.
5. Menginkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24-48 jam
6. Melakukan penghitungan Angka Lempeng Total (ALT)

4.6.2. Pengukuran pH dengan pH meter (Apriyantono dkk., 1989)

1. Sebelum digunakan pH meter dikalibrasi dengan mencelupkan elektroda pH meter ke dalam larutan buffer pH 4,0 atau pH 7,0.
2. Elektroda pH meter dicuci dengan akuades menggunakan botol semprot. Sisa akuades yang masih menempel pada sisi-sisi elektroda dikeringkan dengan *tissue*.

3. Elektroda dicelupkan dalam larutan sampel dan dibiarkan beberapa saat untuk memperoleh pembacaan yang stabil.
4. Elektroda pH meter dicuci kembali dengan akuades menggunakan botol semprot. Sisa akuades yang masih menempel pada sisi-sisi elektroda dikeringkan dengan *tissue*.
5. Pengukuran pH dilakukan sebanyak tiga kali. Rata-rata nilai dari ketiganya merupakan nilai pH sampel terukur.

4.6.3. Total Asam Titrasi (AOACa. 947.05)

Tahapan pengukuran total asam titrasi adalah sebagai berikut:

1. Mengambil 10 mL sampel kemudian ditambah akuades sebanyak 100 mL dan memasukkannya ke dalam erlenmeyer 250 mL.
2. Menambahkan 2-3 tetes indikator *Phenolphthalein* 1%.
3. Menitrasi sampel dengan NaOH 0,1 N sampai larutan berwarna merah muda stabil.
4. Menghitung total asam dengan rumus:

$$\text{Total asam} = \frac{\text{volume NaOH (mL)} \times N \text{ NaOH} \times \text{BM asam} \times \text{FP}}{\text{volume bahan (mL)} \times 1000} \times 100\%$$

Total asam dinyatakan sebagai total asam laktat (BM = 90)

4.6.4. Pengukuran Sineresis (Supavitpatana *et al.*, 2007)

1. Menimbang *cup* plastik steril dalam keadaan kosong (dicatat sebagai x).
2. Memasukkan sampel ke dalam *cup* plastik steril tersebut sebanyak ± 50 mL secara aseptis.
3. Menimbang *cup* plastik yang telah diisi dengan sampel (dicatat sebagai y).
4. Menginkubasi dalam inkubator dengan suhu 42°C selama 6 jam.
5. Menyimpan sampel dalam refrigerator selama 1 hari.

6. Memisahkan air dan padatan yang terbentuk dengan menggunakan pipet.
7. Menimbang kembali *cup* plastik berisi sampel yang telah dipisahkan sineresisnya (dicatat sebagai *z*).
8. Menghitung persen sineresis dengan rumus:

$$\% \text{Sineresis} = \frac{\text{berat air yang terpisah} (z - y)}{\text{berat sampel} (y - x)} \times 100\%$$

4.6.5. Pengujian Organoleptik (Kartika dkk., 1988)

Pengujian organoleptik dilakukan untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen terhadap produk yogut kedelai jagung. Jenis pengujian yang digunakan adalah uji kesukaan skala garis. Tipe pengujian ini sering digunakan untuk menilai mutu produk dan intensitas sifat tertentu. Setiap panelis dihadapkan pada keenam sampel yang akan diuji dan diminta untuk mengisi kuesioner uji kesukaan yang telah disediakan. Parameter yang diamati meliputi kenampakan, rasa, tekstur dan aroma. Kuesioner untuk uji kesukaan panelis pada Lampiran 2.

4.6.6. Uji Pembobotan (deGarmo *et. al.*, 1993)

Uji pembobotan ini dilakukan untuk menentukan perlakuan terbaik berdasarkan nilai rata-rata kesukaan panelis terhadap empat parameter pengujian organoleptik (kenampakan, aroma, tekstur dan rasa). Uji pembobotan ini menggunakan teknik *additive weighting* dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Menentukan *ordinal ranking* masing-masing parameter pengujian (jumlah BAL, sineresis, kehomogenan curd, rasa dan kelembutan curd) berdasarkan kepentingannya dalam menentukan kualitas produk.
2. Menentukan nilai tak berdimensi (B) masing-masing perlakuan pada tiap parameter dengan rumus:

$$\text{Nilai tak berdimensi} = \frac{\text{nilai perlakuan} - \text{nilai terburuk}}{\text{nilai terbaik} - \text{nilai terburuk}}$$

3. Skor masing-masing perlakuan diperoleh dengan menjumlahkan nilai tak berdimensi pada tiap parameter pengujian. Perlakuan terpilih adalah perlakuan yang memiliki skor tertinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Buchanan, R. E. dan N. E. Gibson. 1974. *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology 8th edition*. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.
- Chandra, Eddo YS. 2011. Pengaruh Penambahan Gum Xanthan Terhadap Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Susu Kedelai Jagung Yang Diperkaya Kalsium
- DeGarmo, E. P., W. G. Sullivan dan J. A. Bontadelli. 1993. *Engineering Economy 9th Edition*. USA: Macmillan Publishing Company.
- Erkus, O. 2007. *Isolation, Phenotypic, and Genotypic Caharacterization of Yoghurt Starter Bacteria*. <http://library.iyte.edu.tr/tezler/master/gidamuh/T000641.pdf>. (20 September 2009)
- Estevez, A. M., J. Mejia, F. Figuerola dan B. Escobar. 2008. *Effect of Solid Content and Sugar Combinations on The Quality of Soymilk-Based Yogurt*. J. of Food Processing and Preservation 34:87-97.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan: Penuntun Praktek Laboratorium*. Bogor: IPB Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi.
- Favaro, C. S., Terzi, S. C., L. C. Trugo, R. C. Della Modesta dan S. Couri. 2001. *Development and Sensory Evaluation of Soy Milk Based Yoghurt*. Archivos Latinoamericanos de Nutricion 51(1):100-104.
- Flynn A dan K Cashman, 1999. Calcium. Di dalam R Hurrel (ed). *The Mineral Fortification of Foods*. Leatherhead International Ltd, Surrey, England.
- Hajirostamloo, 2009. *The challenge of calcium fortification in beverages. Innovations in Food Technology*. National Institutes of Health, Bethesda.

- Handoko, Winda S. 2011. Pengaruh Pengkayaan Kalsium dengan Kalsium Laktat Terhadap Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Susu Kedelai Jagung.
- Hudaya, C., dan S. Setiasih, 1988. Fungsi Kalsium pada Tubuh Manusia. Kanisius: Yogyakarta.
- Hui, Y. H., (Ed). 1992. *Dairy Science and Technology Handbook Vol.1: Principles and Properties*. New York: VCH Publishers.
- Kartika, B. 1988. *Pedoman Uji Inderawi Bahan Pangan*. Yogyakarta : PAU Pangan dan Gizi UGM.
- Kohyama, K., Y. Sano, dan E. Doi, 1995. *Rheological Characteristics and Gelation Mechanism of Tofu (Soybean Curd)*. *J. of Agricultural and Food Chemistry*. 43(7), 1808–1812.
- Kolapo, A. L. dan G. R. Oladimeji. 2008. *Production and Quality Evaluation of Soy Corn Milk*. *J. of Applied Biosciences*. 1(2):40-45.
- Lestiyani, Angelia D. 2010. Pengaruh Proporsi Kedelai dan Jagung Terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laltat, Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Yogurt Kedelai Jagung
- Nitkowski, J. 2004. *All You Wanted to Know About Calcium*. Available at: <http://allcalcium.htm.com> (10 Januari 2010)
- Sandine, W. E. 1976. *New Techniques in Handling Lactic Cultures to Enhance Their Performance*. *J. Dairy Sci*. 60 (5): 822-828.
- Scilingo, A.A., .2002. *Characterization of Soybean Protein Isolates. The Effect of Calcium Presence*. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Scimat. 2006. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. http://www.magma.ca/~pavel/science/L_bulgaricus.htm (28 September 2009)
- Supavititpatana, P., T. I. Wirjantoro, A. Apichartsrangkoon dan P. Raviyan. 2007. *Addition of Gelatin Enhanced Gelation of Corn-Milk Yogurt*. *Food Chemistry* 106:211-216.