

LAMPIRAN A SPESIFIKASI BAHAN PENELITIAN

1. Susu Sapi

Susu yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar yang diperoleh dari “UD. Barokah” milik Bapak Hadi yang berada di Jalan Lidah Kulon, Wiyung Surabaya. Susu sapi segar yang digunakan terdapat pada Gambar A.1. Kondisi susu yang digunakan yaitu :

- a. Susu diperah pada pukul 05.00 dan dibeli pada pukul 06.30
- b. Pemerahan susu dilakukan secara manual.
- c. Susu berwarna putih kekuningan.
- d. pH susu berkisar 6,40 – 6,60

Spesifikasi susu sapi segar “UD. Barokah” menurut penelitian yang pernah dilakukan Kumala (2011) yaitu :

- a. Kadar protein susu : 2,00 %
- b. Kadar lemak susu : 1,87 %
- c. Berat jenis : 1,028
- d. Total asam : 6,84 °SH
- e. Total bakteri : $1,1 \times 10^6$ CFU/mL



Gambar A.1. Susu Sapi Segar “UD Barokah”

2. Buah Anggur Bali (*Vitis vinifera* L. kultivar *Alphonso lavelle*)

Buah Anggur Bali yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari satu penjual di Blauran Baru, Surabaya.

Ciri-ciri buah:

1. Kulit berwarna ungu kehitaman
2. Memiliki diameter 1,0 – 1,5 cm

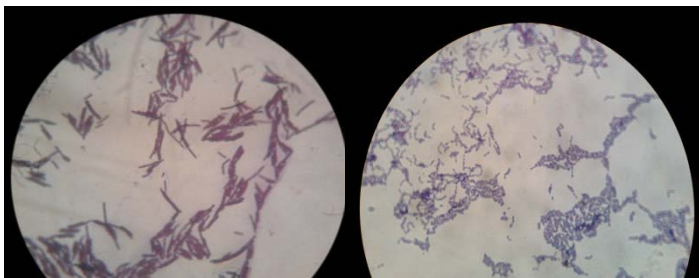
Setelah dilakukan proses ekstraksi pada keseluruhan buah, warna ekstrak yang diperoleh adalah ungu tua dengan rasa yang masam dan agak sepat. pH ekstrak anggur yang diperoleh berkisar 3,5-4,0.



Gambar A.2. Buah Anggur Bali (*Vitis vinifera* L.)

3. Kultur Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat yang digunakan dalam pembuatan *yogurt* dapat dilihat pada Gambar A.3 yang merupakan hasil pengecatan gram.



Gambar A.3. *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* (kiri) dan *Streptococcus salivarius* ssp. *Thermophilus* (kanan).

4. Susu Skim Bubuk “Sunlac”



Gambar A.4. Susu Skim Bubuk “Sunlac”

Komponen	Jumlah (%)
Air	3,60
Protein	34,50
Lemak	0,80
Karbohidrat	53,30
Mineral	7,80

Vitamin (/100g)		Mineral (/100g)	
Energi	1480kj	Kalsium	1243 mg
Vitamin C	15,00 mg	Potassium	1813 mg
Pantotenat	2,90 mg	Fosfor	1000 mg
Vitamin B ₁	0,25 mg	Sodium	390 mg
Vitamin B ₂	1,80 mg	Magnesium	119 mg
Vitamin B ₃	0,84 mg	Seng (Zn)	3,80 mg
Vitamin B ₆	0,30 mg	Besi (Fe)	0,21 mg
Biotin	0,21 µg	Tembaga (Cu)	43,00 µg
Folat	59,00 µg	Mangan	32,00 µg
Vitamin B ₁₂	4,00 µg		

5. Susu UHT *Full Cream* “Ultra Milk” Ultra Jaya

Takaran saji 1 kotak (200 mL) Jumlah sajian per kemasan: 1	
Komponen	Jumlah (per 200 mL)
Lemak total	6g
Lemak jenuh	3g
Kolesterol	15mg
Protein	6g
Karbohidrat total	10g
Gula	0g
Natrium	40mg
Kalium	390mg

6. Pepton *from Meat* (Merck 1.07224.1000)

Komponen	Jumlah (g/L)
<i>Amino nitrogen (as N)</i>	3.0-5.0%
<i>Appearance</i>	<i>Light brownish-yellow granulate</i>
<i>Expiration date</i>	<i>Exp 60 months from mfg date</i>
<i>Loss on drying (105°C)</i>	6.0% max
<i>Nitrite (NO₂)</i>	<i>Passes test</i>
<i>pH (5%, water)</i>	6.5-7.5
<i>Suitability for microbiology</i>	<i>Passes test</i>
<i>Sulfated ash (800°C)</i>	15.0% max
<i>Test date</i>	<i>Per Merck CofA</i>
<i>Total nitrogen (N)</i>	11.0-14.0%

Cara pembuatan :

- Pelarutan 0,1 % (b/b) bubuk pepton *from meat* dengan akuades.
- Pemipetan 4,5 mL larutan pepton *from meat* ke dalam tabung reaksi.
- Sterilisasi dengan autoklaf 121°C (15 psi) selama 15 menit.

7. Agar “Bacto Agar 214010”

<i>Physical and Chemical Properties</i>	
<i>Ash %</i>	3.6
<i>Clarity, 1.5% Soln (NTU)</i>	4.3
<i>Loss on Drying (%)</i>	17.3
<i>pH, 1.5% Solution</i>	6.5
<i>Gel Strength (g/cm²)</i>	600
<i>Gelation Point (°C)</i>	35°C
<i>Melting Point (°C)</i>	88°C
<i>Inorganics (%)</i>	
<i>Calcium</i>	0.179
<i>Chloride</i>	0.021
<i>Cobalt</i>	<0.001
<i>Copper</i>	<0.001
<i>Iron</i>	0.002
<i>Lead</i>	<0.001
<i>Magnesium</i>	0.068
<i>Manganese</i>	<0.001
<i>Nitrate</i>	<0.005
<i>Phosphate</i>	<0.005
<i>Potassium</i>	0.121
<i>Sodium</i>	0.837
<i>Sulfate</i>	1.778
<i>Sulfur</i>	0.841
<i>Tin</i>	<0.001
<i>Zinc</i>	<0.001
<i>Biological Spore Count, CFU/g</i>	
<i>Spore Count</i>	<1,000
<i>Standard Plate Count</i>	<1,000

Keterangan :

- Media untuk penghitungan ALT menggunakan agar 1,2% (b/v).
- Media untuk kultur stok LB dan ST menggunakan agar 0,9% (b/v).

Cara pembuatan:

- Pelarutan bubuk agar dan bubuk MRS *broth* (MRS *broth* sebanyak 52,2 gram untuk 1 L akuades).
- Pemanasan larutan hingga mendidih dan jernih.
- Penyuntikan 5 mL larutan ke dalam tabung reaksi.

- d. Sterilisasi dengan autoklaf 121°C (15 psi) selama 15 menit.

8. MRS Broth (Pronadisa Cat. 1215.00)

Komponen	Jumlah (g/L)
<i>Bacteriological peptone</i>	10,00
<i>Beef extract</i>	8,00
<i>Yeast extract</i>	4,00
<i>Dextrose</i>	20,00
<i>Tween-80</i>	1,00
<i>Dipotassium phosphate</i>	2,00
<i>Sodium acetate</i>	5,00
<i>Ammonium citrate</i>	2,00
<i>Magnesium sulfate</i>	0,20
<i>Manganese sulfate</i>	0,05

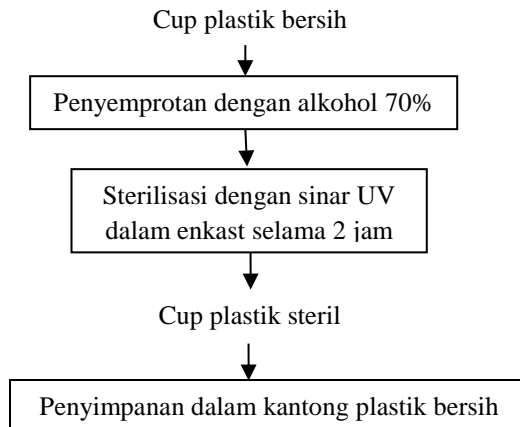
Cara pembuatan:

- Pelarutan 52,2 gram bubuk MRS Broth (untuk 1 liter akuades).
- Pemipetan 5 mL larutan ke dalam tabung reaksi.
- Sterilisasi dengan autoklaf 121°C (15 psi) selama 15 menit.

LAMPIRAN B SPESIFIKASI DAN PROSES STERILISASI CUP

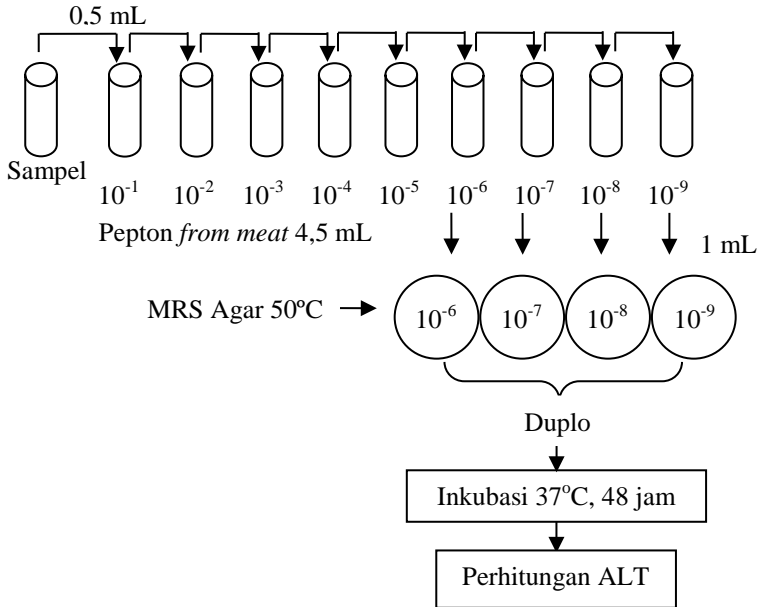
Spesifikasi cup yang digunakan adalah :

- a. Merek : Lionstar
- b. Produsen : PT. Cahaya Perdana Plastics, Jakarta, Indonesia.
- c. Kapasitas : 145 mL
- d. Bahan : Polipropilen
- e. Ukuran : 74 (D) x 69 (t) mm



Gambar B.1. Diagram Alir Proses Sterilisasi Cup

LAMPIRAN C
PENGUJIAN ALT KULTUR *STARTER* DAN *STARTER* SUSU



Gambar C.1. Diagram Alir Pengujian Jumlah Bakteri pada Kultur *Starter* dan *Starter* Susu dengan Angka Lempeng Total (ALT)

Keterangan :

Sampel : Kultur *starter* LB/ ST atau *Starter* susu LB/ ST

LAMPIRAN D
HASIL ANALISA pH DAN TOTAL ASAM

D.1. Hasil Analisa pH dan Total Asam Susu Sapi Segar

		Susu Sapi Segar	
		pH	Total Asam (% asam laktat)
Ulangan	1	6,570	0,16
	2	6,473	0,17
	3	6,431	0,16
Rata-Rata		6,491	0,16
SD		0,071	0,01

D.2. Hasil Analisa pH dan Total Asam Sari Buah Anggur Bali

		Sari Buah Anggur Bali	
		pH	Total Asam (% asam sitrat)
Ulangan	1	3,697	1,75
	2	3,670	1,78
	3	3,621	1,90
Rata-Rata		3,663	1,81
SD		0,0385	0,0794

D.3. Hasil Analisa pH Starter Susu LB dan ST

		pH	
		Starter Susu LB	Starter Susu ST
Ulangan	1	3,840	5,181
	2	3,928	5,159
	3	3,967	5,210
Rata-Rata		3,912	5,183
SD		0,065	0,026

LAMPIRAN E
HASIL PENGUJIAN ANGKA LEMPENG TOTAL (ALT)

E.1. Uji ALT pada MRS-Broth

		Angka Lempeng Total			
		Kultur LB (cfu/mL)	Kultur LB (log cfu/mL)	Kultur ST (cfu/mL)	Kultur ST (log cfu/mL)
Repl	1	$1,1 \times 10^9$	9,0414	$1,0 \times 10^9$	9,0000
	2	$8,2 \times 10^8$	8,9138	$4,0 \times 10^9$	9,6021
	3	$6,1 \times 10^8$	8,7853	$7,3 \times 10^9$	9,8633
Total			26,7405		28,4654
Rata-rata			8,9135		9,4885

E.2. Uji ALT pada Starter Susu

		Angka Lempeng Total			
		Starter LB (cfu/mL)	Starter LB (log cfu/mL)	Starter ST (cfu/mL)	Starter ST (log cfu/mL)
Repl	1	$2,1 \times 10^9$	9,3222	$5,1 \times 10^{10}$	10,7076
	2	$5,4 \times 10^9$	9,7324	$1,4 \times 10^{10}$	10,1461
	3	$1,5 \times 10^9$	9,1761	$1,8 \times 10^{10}$	10,2553
Total			28,2307		31,1090
Rata-rata			9,4102		10,3697

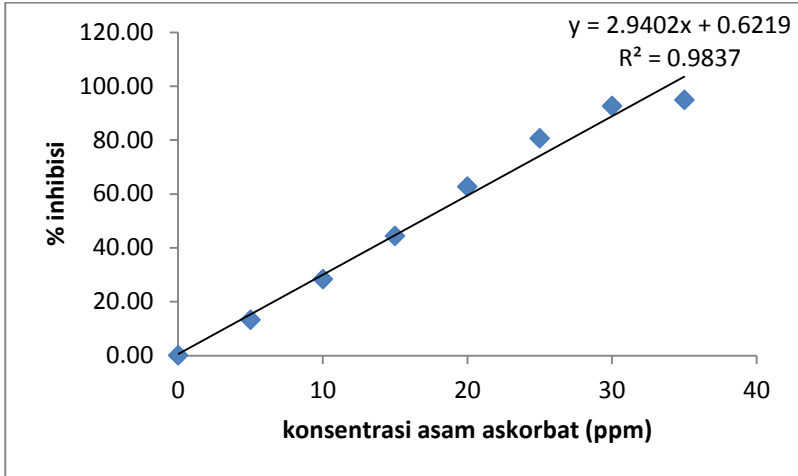
		Angka Lempeng Total			
		Starter Susu LB (5%)	Starter Susu ST (5%)	Total LB dan ST (cfu/mL)	Total LB dan ST (log cfu/mL)
Repl	1	$1,1 \times 10^8$	$2,6 \times 10^9$	$2,7 \times 10^9$	9,4314
	2	$2,7 \times 10^8$	$7,0 \times 10^8$	$9,7 \times 10^8$	8,9868
	3	$7,5 \times 10^7$	$9,0 \times 10^8$	$9,8 \times 10^8$	8,9912
Total					27,4094
Rata-Rata					9,1365

E.3. Uji ALT Yogurt Anggur

			Angka Lempeng Total (log cfu/mL)		
			S1	S2	S3
L1	Repl	1	10,2429	10,1611	10,0330
		2	10,1300	10,0603	9,9795
		3	10,1450	10,0000	9,9054
	Total		30,5179	30,2214	29,9179
	Rata-Rata		10,1726	10,0738	9,9726
L2	Repl	1	10,0966	10,0207	9,7236
		2	10,0163	9,8512	9,6901
		3	9,9294	9,9163	9,8630
	Total		30,0423	29,7882	29,2767
	Rata-Rata		10,0141	9,9294	9,7589
L3	Repl	1	9,6717	9,5680	9,5792
		2	9,7279	9,5619	9,5378
		3	9,5851	9,5792	9,4169
	Total		28,9847	28,7091	28,5339
	Rata-Rata		9,6616	9,5697	9,5113

	Angka Lempeng Total (log cfu/mL)			Rata-rata Taraf L
	S1	S2	S3	
L1	10,1726	10,0738	9,9726	10,0730
L2	10,0141	9,9294	9,7589	9,9008
L3	9,6616	9,5697	9,5113	9,5809
Rata-rata Taraf S	9,9494	9,8576	9,7476	29,5547

LAMPIRAN F
HASIL KURVA STANDAR AKTIVITAS ANTIOKSIDAN



Gambar D.1 Grafik Kurva Standar Asam Gallat

Konsentrasi (ppm)	0	10	15	20	25	30	35
%inhibisi	0	13,25	28,36	44,4	62,69	92,54	94,78

LAMPIRAN G
HASIL ANALISA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN FISIKOKIMIA
YOGURT

G.1. Hasil Analisa Aktivitas Antioksidan Sari Buah Anggur Bali

		Aktivitas Antioksidan
Ulangan	1	87,08
	2	86,79
	3	85,09
Rata-Rata		86,32
SD		1,075

Keterangan :

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam % inhibisi.

G.2. Hasil Analisa Aktivitas Antioksidan Yogurt Anggur Bali

			Aktivitas Antioksidan (%inhibisi)		
			S1	S2	S3
L1	Ulangan	1	18,08	21	25,49
		2	18,42	21,35	25,31
		3	17,82	21,59	25,04
	Rata-Rata		18,11	21,31	25,28
	SD		0,3008	0,2967	0,2264
L2	Ulangan	1	15,36	18,24	21,61
		2	15,38	18,92	21,26
		3	15,44	18,93	21,57
	Rata-Rata		15,39	18,70	21,48
	SD		0,0416	0,3955	0,1915
L3	Ulangan	1	11,07	13,72	15,3
		2	11,01	13,12	15,89
		3	11,06	13,54	15,69
	Rata-Rata		11,05	13,46	15,63
	SD		0,0321	0,3078	0,3000

			Aktivitas Antioksidan ($\mu\text{g AAE} / \text{g yogurt}$)		
			S1	S2	S3
L1	Ulangan	1	56.4084	65.8431	80.3506
		2	57.507	66.974	79.769
		3	55.5683	67.7495	78.8967
	Rata-Rata		56.4946	66.8555	79.6721
	SD		0,0972	0,0958	0,0731
L2	Ulangan	1	47.6199	56.9254	67.8141
		2	47.6845	59.1225	66.6832
		3	47.8784	59.1548	67.6848
	Rata-Rata		47.7276	58.4009	67.3940
	SD		0,0134	0,1278	0,0619
L3	Ulangan	1	33.7586	42.3209	47.426
		2	33.5647	40.3823	49.3323
		3	33.7263	41.7393	48.6861
	Rata-Rata		33.6832	41.4808	48.4815
	SD		0,0103	0,0994	0,0969

Contoh perhitungan proporsi sari buah 10% lama penyimpanan 4 hari:

➤ % inhibisi

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A \text{ kontrol} - A \text{ sampel}}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

$$\text{Data I : } \% \text{ inhibisi} = \frac{0,531 - 0,439}{0,531} \times 100\% = 17,33\%$$

$$\text{Data II : } \% \text{ inhibisi} = \frac{0,531 - 0,431}{0,531} \times 100\% = 18,83\%$$

$$\text{Rata-rata ulangan I : } \% \text{ inhibisi} = \frac{17,33 + 18,83}{2} = 18,08\%$$

➤ Asam askorbat ekivalen (AAE)

Persamaan : $Y = 2,9402x + 0,6219$

$$AAE = \frac{\% \text{inhibisi} - 0,6219}{2,9402} \times \frac{\text{vol sampel}}{\text{brt sampel}} \times FP$$

$$\text{Ulangan I : } AAE = \frac{18,08 - 0,6219}{2,9402} \times \frac{9,3\text{ml}}{10\text{g}} \times 10 = 56,4084 \mu\text{g AAE/g yogurt}$$

	Aktivitas Antioksidan (%inhibisi)			Rata-rata Taraf L
	S1	S2	S3	
L1	18,11	21,31	25,28	21,57
L2	15,39	18,70	21,48	18,52
L3	11,05	13,46	15,63	13,38
Rata-rata Taraf S	14,85	17,82	20,80	53,47

Hasil Uji ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	473.112 ^a	10	47.311	644.913	.000
Intercept	8576.410	1	8576.410	116907.497	.000
Proporsi (S)	159.133	2	79.566	1084.592	.000
Lama simpan (L)	308.390	2	154.195	2101.873	.000
Interaksi (S*L)	5.543	4	1.386	18.888	.000
Kelompok	.047	2	.024	.323	.728
Error	1.174	16	.073		
Total	9050.696	27			
Corrected Total	474.286	26			

Kesimpulan :

1. Faktor S :

Ada pengaruh proporsi sari buah dan susu sapi terhadap aktivitas antioksidan yogurt anggur Bali (Sig < 0,05).

2. Faktor L :

Ada pengaruh lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan yogurt anggur Bali (Sig < 0,05).

3. Interaksi Faktor S dan L :

Ada pengaruh interaksi proporsi sari buah dan susu sapi dengan lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan yogurt anggur Bali (Sig < 0,05).

Hasil Uji DMRT

Perlakuan	μ	Notasi
S1L3	11.05	a
S2L3	13.46	b
S1L2	15.39	c
S1L3	15.63	c
S2L3	18.11	d
S1L2	18.70	e
S1L3	21.31	f
S2L3	21.48	f
S1L2	25.28	g

Keterangan :

*) Huruf yang berbeda menunjukkan ada beda nyata antar perlakuan.

G.3. Hasil Analisa Sifa Fisikokimia Yogurt Anggur Bali

G.3.1. pH Yogurt Anggur Bali

			pH		
			S1	S2	S3
L1	Ulangan	1	4.281	4.206	4.16
		2	4.262	4.228	4.177
		3	4.302	4.193	4.199
	Rata-Rata		4,282	4,209	4,179
	SD		0,02	0,0176	0,0195
L2	Ulangan	1	4.134	3.962	3.912
		2	4.142	3.975	3.854
		3	4.164	4.225	4.079
	Rata-Rata		4,147	4,054	3,948
	SD		0,0155	0,1482	0,1168
L3	Ulangan	1	3.939	3.869	3.844
		2	3.953	3.891	3.879
		3	3.955	3.939	3.875
	Rata-Rata		3,949	3,900	3,866
	SD		0,0087	0,0357	0,0191

	pH			Rata-rata Taraf L
	S1	S2	S3	
L1	4,282	4,209	4,179	4,223
L2	4,147	4,054	3,948	4,050
L3	3,949	3,900	3,866	3,905
Rata-rata Taraf S	4,126	4,054	3,998	12,178

Hasil Uji ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.570 ^a	10	.057	17.948	.000
Intercept	444.887	1	444.887	140125.472	.000
Kelompok	.027	2	.013	4.183	.035
Proporsi (S)	.074	2	.037	11.684	.001
Lama simpan (L)	.457	2	.228	71.959	.000
Interaksi (S*L)	.012	4	.003	.958	.457
Error	.051	16	.003		
Total	445.507	27			
Corrected Total	.621	26			

Kesimpulan :

1. Faktor S :

Ada pengaruh proporsi sari buah dan susu sapi terhadap pH yogurt anggur Bali (Sig.<0,05).

2. Faktor L :

Ada pengaruh lama penyimpanan terhadap pH yogurt anggur Bali (Sig.<0,05).

3. Interaksi Faktor S dan L :

Tidak ada pengaruh interaksi proporsi sari buah dan susu sapi dengan lama penyimpanan terhadap pH yogurt anggur Bali (Sig.>0,05).

Hasil Uji DMRT

Proporsi Sari Buah dan Susu Sapi

Duncan^{a,b}

S	N	Subset		
		1	2	3
S3	9	3.99767		
S2	9		4.05422	
S1	9			4.12578

Lampa Penyimpanan

Duncan^{a,b}

L	N	Subset		
		1	2	3
L3	9	3.90489		
L2	9		4.04967	
L1	9			4.22311

Keterangan :

*) Huruf yang berbeda menunjukkan ada beda nyata antar perlakuan.

G.3.2. Tingkat Keasaman Yogurt Anggur Bali

			Tingkat Keasaman (°SH)		
			S1	S2	S3
L1	Ulangan	1	35	46.67	46.67
		2	38.33	46.67	50
		3	40	46.67	51.67
	Rata-Rata		37,78	46,67	49,45
	SD		2,5166	0,0000	2,5455
L2	Ulangan	1	38.33	46.67	55
		2	53.33	53.33	68.33
		3	48.33	51.67	51.67
	Rata-Rata		46,66	50,56	58,33
	SD		7,6376	3,4667	8,816
L3	Ulangan	1	61.67	78.33	91.67
		2	63.33	71.67	93.33
		3	68.33	76.67	91.67
	Rata-Rata		64,44	75,56	92,22
	SD		3,4667	3,4667	0,9584

	Tingkat Keasaman (°SH)			Rata-rata Tarf L
	S1	S2	S3	
L1	37,78	46,67	49,45	44,63
L2	46,66	50,56	58,33	51,85
L3	64,44	75,56	92,22	77,41
Rata-rata Tarf S	49,63	57,60	66,67	173,89

Contoh perhitungan proporsi sari buah 10% dan penyimpanan 4 hari:

$$SH = jmlh \text{ vol NaOH} \times \frac{100}{\text{vol sampel}}$$

$$\text{Ulangan I : } SH = 0,35 \times \frac{100}{1} = 35$$

Hasil Uji ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7032.290 ^a	10	703.229	39.306	.000
Intercept	90713.196	1	90713.196	5070.288	.000
Proporsi (S)	1308.464	2	654.232	36.567	.000
Lama simpan (L)	5338.744	2	2669.372	149.201	.000
Interaksi (S*L)	299.362	4	74.840	4.183	.017
Kelompok	85.720	2	42.860	2.396	.123
Error	286.258	16	17.891		
Total	98031.745	27			
Corrected Total	7318.548	26			

Kesimpulan :

1. Faktor S :

Ada pengaruh proporsi sari buah dan susu sapi terhadap tingkat keasaman yogurt anggur Bali (Sig.<0,05).

2. Faktor L :

Ada pengaruh lama penyimpanan terhadap tingkat keasaman yogurt anggur Bali (Sig.<0,05).

3. Interaksi Faktor S dan L :

Ada pengaruh interaksi proporsi sari buah dan susu sapi dengan lama penyimpanan terhadap tingkat keasaman yogurt anggur Bali (Sig.<0,05).

Hasil Uji DMRT

Perlakuan	μ	Notasi
S1L1	37.78	a
S1L2	46.66	b
S2L1	46.67	b
S3L1	49.45	b
S2L2	50.56	b
S3L2	58.33	c
S1L3	64.44	c
S2L3	75.56	d
S3L3	92.22	e

Keterangan :

*) Huruf yang berbeda menunjukkan ada beda nyata antar perlakuan.

G.3.3. Sineresis Yogurt Anggur Bali

			Sineresis (%)		
			S1	S2	S3
L1	Ulangan	1	2.51	6.04	8.13
		2	4.41	7.42	9.96
		3	3.01	5.03	7.74
	Rata-Rata		3,31	6,16	8,61
	SD		0,9848	1,1997	1,1852
L2	Ulangan	1	5.2	7.51	10.07
		2	7.36	10.27	12.22
		3	5.15	8.8	10.43
	Rata-Rata		5,90	8,86	10,91
	SD		1,2617	1,3809	1,1515
L3	Ulangan	1	7.4	9.81	12.15
		2	10.34	12.42	14.49
		3	7.5	10.16	12.32
	Rata-Rata		8,41	10,80	12,98
	SD		1,5692	1,4166	1,3046

	pH			Rata-rata Taraf L
	S1	S2	S3	
L1	3,31	6,16	8,61	6,03
L2	5,9	8,86	10,91	8,56
L3	8,41	10,80	12,98	10,73
Rata-rata Taraf S	5,88	8,61	10,83	25,32

Contoh perhitungan :

$$\text{Sineresis} = \frac{\text{Berat awal} - \text{berat akhir}}{(\text{berat awal} - \text{berat cup kosong})} \times 100\%$$

$$\text{Data I : Sineresis} = \frac{79,54 - 78,16}{(79,54 - 25,8)} \times 100\% = 2,57\%$$

$$\text{Data II : Sineresis} = \frac{77,09 - 75,77}{(77,09 - 25,57)} \times 100\% = 2,56\%$$

$$\text{Data III : Sineresis} = \frac{78,16 - 76,90}{(78,16 - 25,68)} \times 100\% = 2,40\%$$

$$\text{Rata-rata ulangan I : Sineresis} = \frac{2,57 + 2,56 + 2,40}{3} = 2,51\%$$

Hasil Uji ANOVA

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: data

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	239.358 ^a	10	23.936	168.968	.000
Intercept	1922.801	1	1922.801	13573.510	.000
Proporsi (S)	111.038	2	55.519	391.921	.000
Lama simpan (L)	99.780	2	49.890	352.187	.000
Interaksi (S*L)	.536	4	.134	.946	.463
Kelompok	28.004	2	14.002	98.844	.000
Error	2.267	16	.142		
Total	2164.425	27			
Corrected Total	241.624	26			

Kesimpulan :

1. Faktor S :
Ada pengaruh proporsi sari buah dan susu sapi terhadap sineresis yogurt anggur Bali (Sig.<0,05).
2. Faktor L :
Ada pengaruh lama penyimpanan terhadap sineresis yogurt anggur Bali (Sig.<0,05).
3. Interaksi Faktor S dan L :
Tidak ada pengaruh interaksi proporsi sari buah dan susu sapi dengan lama penyimpanan terhadap sineresis yogurt anggur Bali (Sig.>0,05).

Hasil Uji DMRT

Proporsi Sari Buah dan Susu Sapi

Duncan^{a,b}

S	N	Subset		
		1	2	3
S1	9	5.87556		
S2	9		8.60667	
S3	9			10.83444

Lama Penyimpanan

Duncan^{a,b}

L	N	Subset		
		1	2	3
L1	9	6.02778		
L2	9		8.55667	
L3	9			10.73222

Keterangan :

*) Huruf yang berbeda menunjukkan ada beda nyata antar perlakuan.

LAMPIRAN H HASIL SINERESIS



(A)



(B)



(C)

Proporsi sari buah : susu sapi = 10%:90% dengan lama penyimpanan (A) 4 hari, (B) 11 hari, dan (C) 21 hari



(A)



(B)



(C)

Proporsi sari buah : susu sapi = 15%:85% dengan lama penyimpanan (A) 4 hari, (B) 11 hari, dan (C) 21 hari



(A)



(B)



(C)

Proporsi sari buah : susu sapi = 20%:80% dengan lama penyimpanan (A) 4 hari, (B) 11 hari, dan (C) 21 hari

PEMBUATAN YOGURT ANGGUR BALI (*VITIS VINIFERA VAR. ALFONSO LAVALLE*): PROPORSI SARI BUAH DENGAN SUSU SAPI TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN SIFAT FISIKOKIMIA YOGURT SELAMA PENYIMPANAN

Bali's Grape (*Vitis vinifera var. Alfonso Lavalle*) Yogurt Production: Proportion of Fruit Juice and Cow's Milk on Antioxidant Activity and Yogurt Physicochemical during Storage

Michael Ryant C.^{1,*}, Indah Kuswardani^{1,2}, Netty Kusumawati^{1,2}

¹Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

²Staff Pengajar

*Michael.ryant.91@gmail.com

Abstract

Fruit yogurt is the yogurt added with fruit juice as a flavor enhancer, giving colors and scents that improving organoleptic properties of yogurt. Fruit juice that can be added is a Bali's grape juice. The addition of Bali's grape juice is expected can be beneficial as a source of antioxidants, but does not change the physicochemical properties of yogurt.

The design of the study is a factorial randomized block design (RBD) consisting of two factors: the proportion of grape juice with cow's milk (10:90; 15:85; 20:80) and storage time (4, 11, and 21 days), with each treatment was repeated 3 times. Parameters that examined are antioxidant activity, pH, total acidity, and syneresis. The data obtained were statistically analyzed by ANOVA (Analysis of Variance) at $\alpha = 5\%$ and continued with DMRT (Duncan's Multiple Range Test) to determine the level of treatment which gives a real difference.

The purpose of this study was to determine the influence of proportion of Bali's grape juice - cow milk and storage time to the antioxidant activity and physicochemical properties of yogurt. Difference in proportion of Bali's grape juice-cow milk and storage time had a significant effect to the antioxidant activity, syneresis, pH and acidity. There are interaction effect between proportion of fruit juice and storage time to the antioxidant activity and acidity. The higher proportion of Bali's grape juice, the higher antioxidant activity, syneresis, and acidity, and the lower pH. After 21 days storage, the antioxidant activity of Bali's grape yogurt has a

range value between 11.05%-25.28% (% inhibition) equivalent to 33,6832-79,6721 μg AAE/g *yogurt*, pH ranged 3.905-4.223, acidity ranged 37.78-92.22 °SH, and syneresis ranged 5.88%-10.83%.

Key word: fruit yogurt, Bali's grapes, antioxidant activity, yogurt physicochemical properties

Abstrak

Fruit yogurt adalah yogurt yang dalam proses pembuatannya ditambahkan sari buah sebagai penambah citarasa, warna, aroma. Sari buah yang digunakan adalah sari buah anggur Bali. Penambahan sari buah anggur Bali diharapkan dapat bermanfaat sebagai sumber antioksidan namun tidak mengubah sifat fisikokimia dari yogurt.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial terdiri dari dua faktor yaitu proporsi sari buah anggur dengan susu sapi (10:90; 15:85; 20:80) dan lama penyimpanan (4, 11, dan 21 hari), dengan pengulangan 3 kali tiap perlakuan. Parameter yang diuji yaitu aktivitas antioksidan, pH, total asam, dan sineresis. Data yang diperoleh dianalisa secara statistik dengan uji ANOVA (*Analysis of Varians*) pada $\alpha = 5\%$ dan dilanjutkan dengan uji Beda Jarak Nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk menentukan taraf perlakuan yang memberikan beda nyata.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh proporsi sari buah anggur Bali-susu sapi dan lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan dan sifat fisikokimia dari *yogurt* anggur Bali. Perbedaan proporsi sari buah anggur Bali-susu sapi dan lama penyimpanan memberi pengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan, sineresis, pH dan tingkat keasaman. Terdapat interaksi antar proporsi sari buah dan lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan dan total asam. Proporsi sari buah anggur Bali semakin tinggi akan menyebabkan aktivitas antioksidan, sineresis, dan tingkat keasaman semakin meningkat serta pH yang semakin menurun. Selama penyimpanan hingga 21 hari, aktivitas antioksidan *yogurt* anggur Bali berkisar antara 11,05%-25,28% (%inhibisi) setara dengan 33,6832-79,6721 μg AAE/g *yogurt*, pH berkisar 3,905-4,223, tingkat keasaman 37,78-92,22°SH, dan sineresis berkisar antara 5,88% - 10,83%.

Kata kunci: *fruit* yogurt, anggur Bali, aktivitas antioksidan, fisikokimia yogurt

PENDAHULUAN

Yogurt merupakan produk yang diperoleh dari fermentasi susu dan atau susu rekonstitusi dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus*

bulgaricus dan *Streptococcus thermophilus* atau bakteri asam laktat lain yang sesuai, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan. *Fruit yogurt* adalah *yogurt* yang dalam proses pembuatannya dilakukan penambahan sari buah sebagai penambah cita rasa, warna dan aroma sehingga meningkatkan sifat organoleptik *yogurt*. Penambahan sari buah juga dapat meningkatkan sifat fungsional *yogurt* terkait dengan efek kesehatan yang ditimbulkan. Sifat fungsional yang ditimbulkan berasal dari komponen bioaktif sari buah yang bersifat sebagai antioksidan (Smith dkk., 2000).

Penambahan sari buah anggur Bali (*vitis vinifera* var. *alfonso lavelle*) diharapkan dapat memberikan sifat antioksidan setinggi mungkin dan tidak mengubah karakteristik *yogurt*. Anggur Bali merupakan buah yang kaya akan kandungan antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan dan memberi efek kesehatan bagi tubuh. Penelitian Jobstl dkk., (2006) mengatakan bahwa senyawa flavonoid yang ada dalam buah dapat berinteraksi dengan kasein susu sehingga berpengaruh terhadap kestabilan sifat antioksidatifnya. Hal tersebut dikhawatirkan terjadi pada senyawa antosianin anggur yang juga merupakan senyawa flavonoid. Penurunan kandungan komponen fenolik yang tinggi selama fermentasi dapat menyebabkan hilangnya aktivitas antioksidan yang diharapkan.

Penambahan sari buah dan lama penyimpanan juga akan mempengaruhi karakteristik yogurt. Semakin tinggi konsentrasi buah dan waktu penyimpanan maka pH akan semakin rendah seperti dalam penelitian yang dilakukan oleh Zainoldin dan Baba (2009), yang menambahkan buah naga putih dan merah dalam yogurt dan menyatakan tingkat sineresis akan semakin tinggi pada konsentrasi buah yang tinggi juga. Penambahan sari buah menyebabkan pH awal campuran susu sapi lebih rendah, berada pada kisaran pH optimum BAL, yaitu (5,5-6,5) sehingga aktivitas BAL lebih cepat dan total asam laktat yang dihasilkan lebih banyak dengan waktu fermentasi yang sama dengan yogurt tanpa penambahan sari buah dan menyebabkan sineresis yang lebih banyak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh proporsi sari buah dan susu sapi (10:90 ; 15:85 dan 20:80) terhadap aktivitas antioksidan dan sifat fisikokimia yogurt selama penyimpanan (4, 11, dan 21 hari).

BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian

Susu sapi segar dari “UD.Barokah”, susu skim “Sunlac” dari supermarket “Hokky”, susu UHT “Ultramilk” dari supermarket “Carrefour”, gula pasir “Gulaku” dari supermarket “Carrefour”, buah

anggur Bali dari pasar Tanjung Sari, akuades dari “Surabaya Aqua Industry”, kultur tunggal beku *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 dan *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041, media MRS Broth (Pronadisa Cat. 1215.00), Agar “Bacto Agar”, pektin, dan Pepton water base dari Laboratorium FTP-UKWMS.

Pembuatan Yogurt Anggur Bali

Buah anggur Bali disortasi, dicuci dan disimpan pada suhu -20°C. Buah dilakukan proses *thawing* dan *blanching uap* pada suhu 80°C 1 menit. Buah dihancurkan dengan blender, disaring dan dilakukan pasteurisasi pada suhu 72°C 15 menit sehingga diperoleh sari buah yang siap digunakan.

Susu sapi segar dicampur dengan susu skim 2%, gula pasir 5%, dan pektin 0,05% dan dihomogenisasi kecepatan 8000 rpm selama 2 menit. Susu dipanaskan suhu 90°C 5 menit kemudian didinginkan hingga suhu ±42°C dan ditambahkan sari buah sesuai dengan perlakuan, setelah itu ditambahkan *starter* yang telah ditumbuhkan pada media susu secara terpisah yaitu ST 5% dan LB 5%. Pengemasan pada cup steril dan dilakukan inkubasi selama 4 jam pada suhu 42°C. Penyimpanan yogurt dilakukan pada suhu 4-5°C.

Preparasi Supernatan Sampel untuk Pengujian

Preparasi mengacu pada Zainolidin dan Baba (2012). Penimbangan 10 gram yogurt kemudian ditambahkan 2,5 mL akuabides. Atur pH dengan HCL 1 M (Merck) hingga pH 4,0. Sentrifugasi 20 menit 10000 rpm (T=4°C). Pisahkan supernatan kemudian dinetralkan dengan NaOH 1M (Mallinckrodt). Sentrifugasi 20 menit 10000 rpm (T=4°C), pisahkan supernatan dan supernatan sampel siap diuji.

Aktivitas Antioksidan Scavenging Activity Metode DPPH

Pengujian mengacu pada Zainolidin dan Baba (2012). Supernatan sebanyak 500 µL ditambahkan dengan 3 mL DPPH 60 µM yang telah dilarutkan dalam metanol p.a. Pengukuran absorbansi pada λ 517 nm dan dibandingkan dengan kontrol yang berisi 250 µL dan 3 mL DPPH. Hasil pengukuran dinyatakan dalam % inhibisi yang dihitung dengan rumus :

$$\%inhibisi = \frac{A_{kontrol} - A_{supernatan}}{A_{kontrol}} \times 100\%$$

Pengukuran pH

Pengukuran mengacu pada Apriyantono (1989). Elektroda pHmeter dibilas dengan akuades dan dikeringkan dengan *tissue*. Elektroda

dicelupkan pada sampel yogurt dan didiamkan hingga didapatkan pembacaan yang stabil.

Pengukuran Tingkat Keasaman

Pengukuran mengacu pada Standar Nasional Indonesia (SNI 01-2782-1998). Supernatan sebanyak 1,0 mL ditambahkan 100 mL akuades dan 3 tetes indikator *phenolphthalein* 2%. Titrasi dengan NaOH 0,25N sampai larutan tepat berubah menjadi merah muda. Tingkat keasaman dinyatakan dengan °SH per 100 mL.

$$\text{derajat SH} = V_{\text{titrasi}} \times \frac{100 \text{ mL}}{1 \text{ mL}}$$

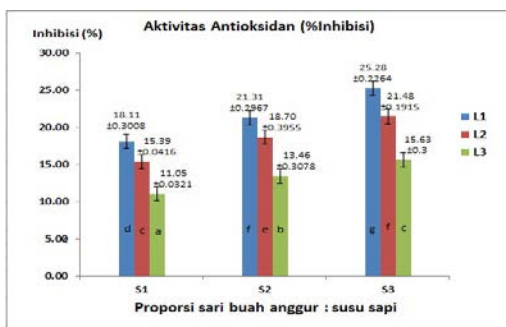
Pengukuran Sineresis

Penghitungan mengacu pada Amatayakul *et al.* (2006). Yogurt dalam cup ditimbang beratnya (berat awal), kemudian dimiringkan ±45° agar cairan *whey* terkumpul. Cairan *whey* yang terpisah dari padatan yogurt dipipet dengan menggunakan pipet tetes. Yogurt ditimbang kembali beserta cupnya (berat akhir). Sineresis dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ sineresis} = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

PEMBAHASAN

Aktivitas Antioksidan Scavenging Activity Metode DPPH



Gambar 1. Grafik Interaksi Antara Proporsi Sari Buah Anggur Bali dan Susu Sapi dengan Lama Penyimpanan terhadap Aktivitas Antioksidan.

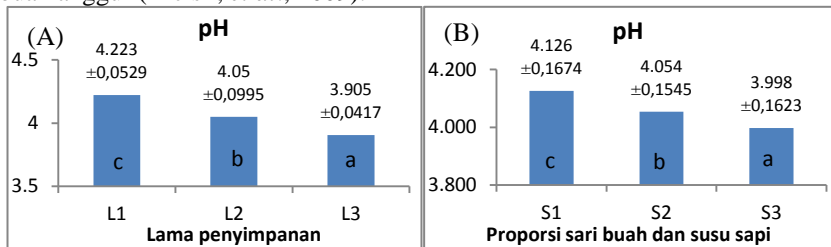
Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat atau mencegah terjadinya oksidasi. Senyawa antioksidan biasanya digunakan

untuk mencegah kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh senyawa radikal bebas.

Aktivitas antioksidan yogurt anggur Bali berkisar antara 11,05% - 25,28%. Gambar 1. menunjukkan adanya interaksi waktu penyimpanan (L) dan proporsi sari buah anggur (S). Waktu penyimpanan yang sama dan semakin tinggi proporsi sari buah anggur yang ditambahkan maka aktivitas antioksidan semakin besar. Zainoldin dan Baba (2012), menyebutkan dengan semakin tinggi konsentrasi buah naga merah dan putih yang digunakan pada pembuatan yogurt, aktivitas antioksidan juga semakin tinggi. Proporsi sari buah dan susu sapi yang sama (S) dengan waktu penyimpanan yang semakin lama (L) aktivitas antioksidan akan semakin menurun. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh adanya senyawa fenolik yang berasal dari buah anggur terutama senyawa antosianin yang merupakan turunan dari senyawa fenolik. Senyawa antosianin (peonidin, melvidin, delphinidin, dan petunidin) dan senyawa fenolik lain yang ada pada anggur dapat mendonorkan atom hidrogen yang akan berikatan dengan radikal DPPH membentuk senyawa non-radikal difenil pikrilhidrazin (DPPH-H) (Mazza, 2007).

pH dan Tingkat Keasaman

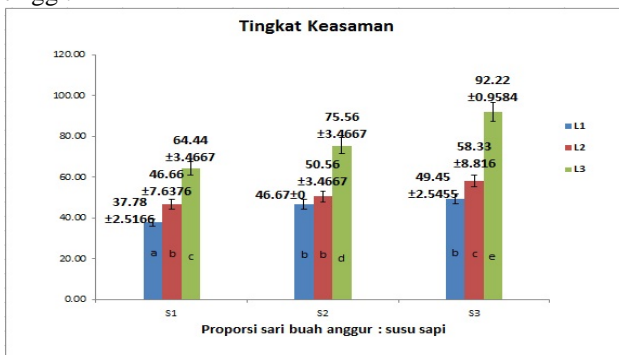
Nilai pH yogurt anggur Bali pada semua kombinasi perlakuan berkisar antara 4,223 – 3,998 dan tingkat keasaman berkisar antara 37,78 - 92,22 °SH. Nilai pH dan tingkat keasaman pada yogurt anggur Bali lebih rendah daripada kontrol karena adanya sejumlah asam organik dalam sari buah anggur (Ercisli, *et al.*, 2009).



Gambar 2. Pengaruh Lama Penyimpanan (A) dan Proporsi Sari Buah Anggur Bali dan Susu Sapi (B) terhadap pH yogurt Anggur Bali.

Gambar 2. menunjukkan semakin banyak sari buah anggur yang ditambahkan, maka semakin rendah pH yang dicapai pada akhir fermentasi. Asam-asam organik pada buah anggur menyebabkan pH yogurt semakin rendah sehingga mendekati pH optimal ST dan LB. Beberapa asam pada anggur seperti asam malat dan sitrat (Prihatman, 2000) dapat digunakan

sebagai substrat oleh bakteri asam laktat (Salminen dan Wright, 1993). Penyimpanan yogurt juga mempengaruhi pH akhir yogurt, semakin lama yogurt disimpan maka pH akan semakin rendah. Bakteri masih melakukan proses fermentasi selama penyimpanan meskipun penyimpanan dilakukan di dalam refrigerator dengan suhu 5°C. Pada suhu yang rendah bakteri asam laktat masih mampu untuk melakukan fermentasi walaupun aktivitasnya sangat kecil. Dapat dilihat pada Gambar 3. nilai tingkat keasaman berbanding terbalik dengan pH, semakin rendah pH maka tingkat keasaman semakin tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa pH yang semakin rendah akan menyebabkan keasaman yogurt meningkat sehingga tingkat keasaman semakin tinggi.



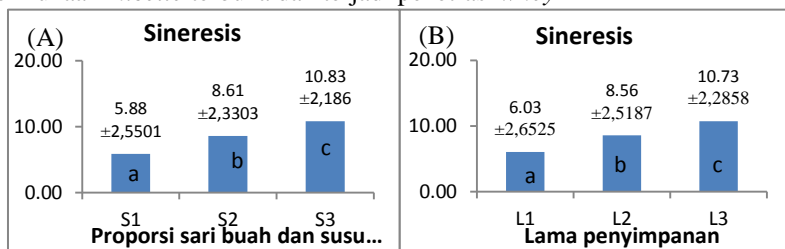
Gambar 3. Grafik Interaksi Antara Proporsi Sari Buah Anggur Bali dan Susu Sapi dengan Lama Penyimpanan terhadap Tingkat Keasaman Yogurt Anggur Bali.

Sineresis

Sineresis dapat didefinisikan sebagai fase cair yang terlepas secara spontan dari fase gel (*curd*) akibat adanya kontraksi pada fase gel (Bakirci dan Kavaz, 2008). Pembentukan *curd* pada proses pembuatan yogurt terjadi karena adanya asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat selama fermentasi dan asam-asam organik yang berasal dari sari buah anggur.

Semakin tinggi proporsi sari buah anggur yang ditambahkan, sineresis yogurt juga meningkat dari 5,88% menjadi 10,83%. Selama penyimpanan, sineresis juga mengalami peningkatan dari 6,03% menjadi 10,73%. Semakin banyak sari buah anggur yang ditambahkan menyebabkan jumlah total padatan pada yogurt akan semakin berkurang. Penambahan sari buah dapat menurunkan kandungan kasein pada yogurt sehingga kemampuan pengikatan air (WHC) mejadi berkurang. Hal ini menyebabkan penurunan viskositas dan peningkatan sineresis dari yogurt buah (Celik, *et al.*, 2005). Salwa, *et al.*, (2004) menyatakan semakin banyak sari buah

wortel yang digunakan maka kekokohan *curd* akan semakin menurun. Selama penyimpanan, pH yogurt meurun dan berada di bawah titik isoelektris kasein sehingga terjadi penyusunan kembali kasein dalam jaringan gel. Ketika penyusunan terjadi, partikel kasein yang merupakan penyusun jaringan gel mengalami deformasi dan membentuk ikatan baru sehingga terjadi sineresis. Menurut Foda (1985), penyimpanan pada suhu rendah dan dalam kondisi pH yang rendah dapat merusak ikatan antara β laktoglobulin (β -LG) dan kasein sehingga filamen yang menyusun permukaan *micelle* terbuka dan terjadi penetrasi *whey*



Gambar 4. Pengaruh Proporsi Sari Buah Anggur Bali dan Susu Sapi (A) dan Lama Penyimpanan (B) terhadap sineresis yogurt Anggur Bali.

KESIMPULAN

Perbedaan proporsi sari buah dan susu sapi, serta lama penyimpanan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan dan sifat fisikokimia yogurt. Semakin tinggi proporsi sari buah, aktivitas antioksidan akan semakin meningkat dan sifat fisikokimia semakin menurun. Semakin lama waktu penyimpanan, aktivitas antioksidan dan sifat fisikokimia semakin menurun. Perlu dilakukan pengujian organoleptik untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Program Penelitian Desentralisasi 2013 yang telah membiayai penelitian ini sebagai bagian dari Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi yang berjudul “Pengembangan Yogurt Kaya Antioksidan : Kajian Kandungan dan Aktivitas Antioksidan, Optimasi Produksi dan Perancangan Industri Kecil.”

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N. L. Puspitasari, Sedarnawati, dan S. Budiyo. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- Amatayakul, T., F. Sherkat, dan N. P. Shah. 2006. Syneresis in Set Yogurt As Affected by EPS Starter Cultures and Levels of Solids. *International Journal of Dairy Technology Vol. 59, No 3*.
- Badan Standardisasi Nasional. 1998. *Metoda Pengujian Susu Segar (SNI 01-2782-1998/Rev)*. Dewan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- Foda, M. S., Salama, H. S., Selim, M. (1985). Factors Affecting the Growth Physiology of *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22, 50-52.
- Lee, W. J. dan J. A. Lucey. 2004. Structure and Physical Properties of Yogurt Gels: Effect of Inoculation Rate and Incubation Temperature. *J. Dairy Sci.* 87:3153-3164.
- Mazza, G. 2007. *Anthocyanins and Heart Health*. Canada: Pacific Agri-Food Research Centre, Agriculture and Agri-Food.
- Pokorny J.N., M. Yanishlieva, Gordon. 2001. *Antioxidants in Food*. Boca Raton Boston New York Washington, DC: CRC Press.
- Prihatman K. 2000. *Budidaya Pertanian: Anggur*. Sistem Informasi Manajemen Pembangunan di Pedesaan. Jakarta: BAPPENAS.
- Salminen, S. dan A. Von-Wright. 1993. *Lactic Acid Bacteria*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Smith M, K. Marley, D. Seigler, K. Singletary dan B. Meline. 2000. Bioactive properties of wild blueberry fruits. *Journal of Food Science* (65) : 352– 356