

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP SIFAT
KIMIA DAN ORGANOLEPTIK YOGHURT
KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.)**

SKRIPSI



Disusun Oleh:

M. AGUSFIAN
NIM : 31511A0025

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
MATARAM
2019**

HALAMAN PENJELASAN

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP SIFAT
KIMIA DAN ORGANOLEPTIK YOGHURT
KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.)**

SKRIPSI



**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana
Teknologi Pertanian Pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram**

Disusun Oleh:

M. AGUSFIAN
NIM: 31511A0025

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
JURUSAN TEKNOLOGI PERTANIAN**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MATARAM
MATARAM
2019**

PERNYATAAN KEASLIAN

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana, magister, dan/atau doktor), baik di Universitas Muhammadiyah Mataram maupun diperguruan tinggi lain.
2. Skripsi ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing.
3. Skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Mataram, 24 Juli 2019

Yang membuat pernyataan,



M. AGUSFIAN
NIM. 31511A0025

HALAMAN PERSETUJUAN

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP SIFAT
KIMIA DAN ORGANOLEPTIK YOGHURT
KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.)**

SKRIPSI


Disusun oleh:

M. AGUSFIAN
NIM: 31511A0025

Setelah Membaca dengan Seksama Kami Berpendapat Bahwa Skripsi Ini Telah
Memenuhi Syarat Sebagai Karya Tulis Ilmiah

Telah Mendapat Persetujuan Pada Tanggal, 24 Juli 2019

Pembimbing Utama,


Ir. Nazaruddin, MP
NIP :19590305 198403 1 012

Pembimbing Pendamping,


Syirril Ihroni, SP.MP
NIDN: 0828108201

Mengetahui:

**Universitas Muhammadiyah Mataram
Fakultas Pertanian
Dekan,**


Ir. Amayati, MP
NIDN: 0916046601

HALAMAN PENGESAHAN




PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP SIFAT
KIMIA DAN ORGANOLEPTIK YOGHURT
KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.)

Disusun oleh:

M. AGUSEFAN
NIM: 31511A0025

Pada Hari Sabtu, 24 Juli 2019
Telah Dipertahankan Di Depan Tim Penguji.

Tim Penguji :

- 1 **Ir. Nazaruddin, MP**
Ketua  (.....)
- 2 **Syiril Ihromi, SP, MP**
Anggota  (.....)
- 3 **Ir. Asmawati, MP**
Anggota  (.....)

Skripsi ini telah diterima sebagai bagian dari persyaratan yang diperlukan untuk mencapai kebulatan studi program strata satu (S1) untuk mencapai tingkat sarjana pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram

Mengetahui :
Universitas Muhammadiyah Mataram
Fakultas Pertanian

Dekan

Ir. Asmawati, MP
NIDN: 0816046601

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

“Raihlah Ilmu Dengan Penuh Semangat Hingga Terukir Dalam Lembaran Sejarah yang Tak Pernah Kusam ”

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobil'alamin, puji syukur kehadirat Allah SWT yang senantiasa mencurahkan Rahmat, Hidayah dan Taufik-Nya, serta Kasih SayangNya kepada diri penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan tepat waktu. Salawat salam kepada Junjungan Nabi Besar Muhammad SAW yang membawa kita dari alam kejahilan menuju alam yang terang benerang yang dihiasi oleh ilmu pengetahuan.

Karya ini ku persembahkan kepada orang – orang tercinta dan tersayang atas kasihnya dan motivasi kepada ku hingga mengantarkan ku untuk mengenal ilmu.

Untuk Bapak dan Mama ku tercinta (Umar dan Rukayah), terima kasih atas pengorbanannya, ketabahan, kasih sayang dan do'a yang selalu membasahi bibir untuk anak mu ini. Kalian menjadi alasan untuk diriku tetap tegar ketika aku mulai goyah. Terima kasih sudah mendidiku dengan penuh rasa sabar. Nasehat yang selalu menyertai ku menjadi cambukan untuk tetap maju dan berusaha menjadi anak yang shaleh. Saya hanya bisa berdo'a dan meneteskan air mata saat mengingat perjuangan kalian yang begitu besar. Semoga Allah SWT mengampuni dosa mu wahai Bapak dan Mama, semoga kita senantiasa dilimpahkan Taufik dan Hidayah-Nya hingga kita disatukan dalam kehidupan abadi *jannah*-Nya. Ananda berharap semoga karya ini menjadi semangat Bapak dan Mama untuk menyekolahkan anak-anak mu setinggi-tingginya demi menuntut ilmu dan semoga menjadi *hujjah* kelak di akhirat.

Tak lupa ku ucapkan terima kasih kepada kakak dan adik ku yang mendukung secara langsung maupun tidak langsung kepada ku. Apapun demi kebaikan kuliah ku mereka mensupportnya. Terutama adik ku Doni Setiawan, makasih dek setiap barang-barang mu yang kakak ambil untuk kebutuhan kuliah, kau diam dan memberinya dengan ikhlas. Begitupun kepada kakak ku tercinta

Nur Oktaviani, Amd. Kes. Terima kasih telah membantu apapun kebutuhan kuliah ku walau sekedar yang kakak mampu.

Terima kasih saya ucapkan untuk semua keluarga besar (Kakek, Nenek, Paman, Bibi dan Sepupu) yang selalu menanyakan “Udah berapa tahun kuliahnya?”, “Kapan selesai kuliah?”. Kalimat itu bagi tamparan yang amat keras bahwa saya harus menyelesaikan studi secepatnya. Terutama kepada *Almarhum* Ismail Yadam yang sempat menanyakan kepada bapak kapan selesai studi ku dan menyuruh untuk lanjut S2. Pertanyaan serupa terucap dari lisan paman Jul di Jakarta, Nur Mastura, Baba Imi, Fatimah dll. Sekali lagi makasih telah peduli kepada ku.

Untuk ustadz-ustadz Darul Huffadz, saya berterima kasih yang amat besar atas motivasi dan bimbingan kepada saya selama menempuh pendidikan ini. Siraman rohani yang mewarnai ku dan teman-teman lainnya menjadi bahan untuk belajar dan menimbang segala kehidupan demi mengharap ridha-Nya. Terutama Ust. Faqih, Ust. Rifki, Ust. Farid, kalian mengajarkan esensi hidup sesungguhnya, menasehati kami bagai angin berhembus ayu, perlahan dan membawa kesejukan hingga hati pun tenang dan semangat.

Kepada teman-teman ku, Fahrudin calon M.Pdi, terima kasih telah memberi motivasi untuk segera menyelesaikan skripsi dan semoga cepat menyelesaikan studi Magisternya kawan. Untuk Idris Sodikin, terima kasih menjadi kawan setia yang selalu menasehati dan memberi masukan yang inspiratif. Kemudian Iklimin dan Erwin, Jain, Ahlu, Bang Syem, Julkarnain, Muhtar, Ikbal Fajrin, Akbar dan Abdurrahman. Saya ucapkan rasa bangga kepada kalian semua. Terima kasih sudah menjadi teman ku dalam mengajak kebaikan. Terutama, Ust. Juliyadin yang selalu memberi pencerahan.

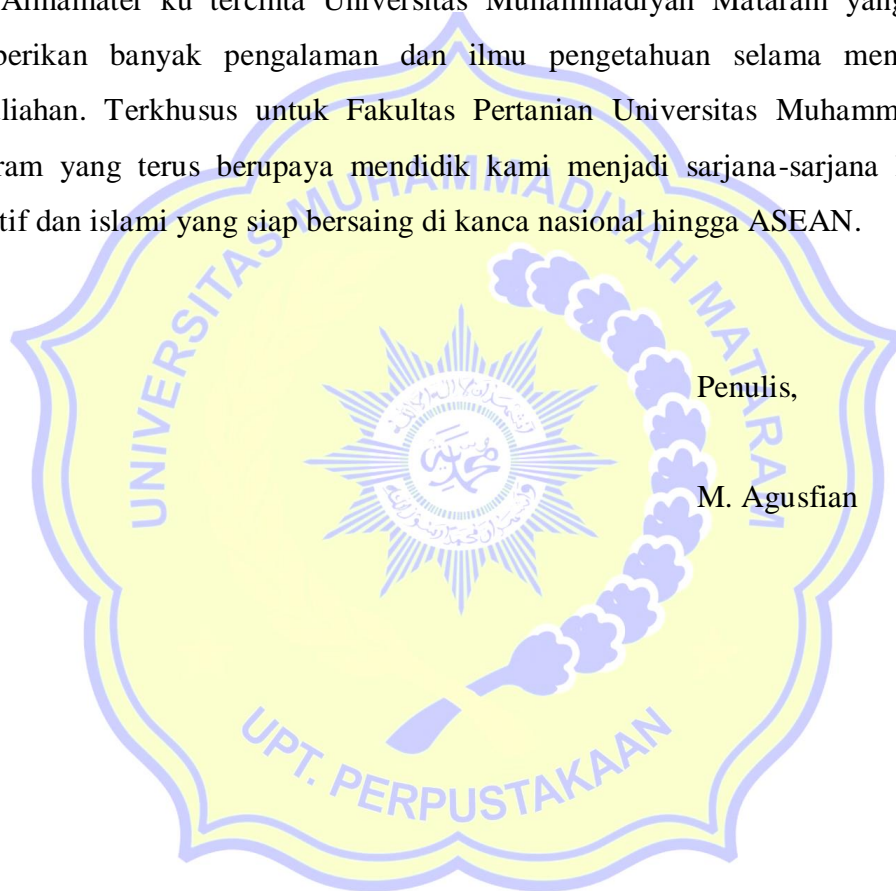
Untuk senior-senior ku terhebat, Bang Nikman Azmi, M.Pd., Bang Agus Suratman, S.Pd, Bang Julkifli calon M.Pd., Bang Irfan M.Pd., Bang Irfan Falani, S.Pd yang memberi sejuta cerita tentang pengalaman kuliah sehingga memberi motivasi berharga bagi penulis.

Rasa bangga ku sampaikan pada organisasi FUSI dan MPI sebagai laboratorium belajar ku yang amat berharga. Pesan ku pada generasi FUSI dan

MPI untuk mengembangkan lahan dakwah. Setelah itu ada LPM DIMENSI, yang mengajarkan ku tentang persaudaraan dan perjuangan di dunia pers. Oleh karenanya, karya ini tidak terlepas dari semangat menulis yang pernah ku jalani saat belajar di lembaga tersebut.

Teman-teman seperjuangan di kelas THP 2015, terima kasih atas segala kebersamaan yang terukir selama ini. Mi'raj, Kak Erni, Ardi, Ikbal, Wadet, Nurul, Kabul dan lain-lain yang tak bisa ku sebut satu persatu.

Almamater ku tercinta Universitas Muhammadiyah Mataram yang telah memberikan banyak pengalaman dan ilmu pengetahuan selama menempuh perkuliahan. Terkhusus untuk Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram yang terus berupaya mendidik kami menjadi sarjana-sarjana kreatif, inovatif dan islami yang siap bersaing di kanca nasional hingga ASEAN.



Penulis,

M. Agusfian

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobil 'alamin, segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat, Taufiq, dan Hidayah-Nya kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa setiap hal yang tertuang dalam skripsi ini tidak akan terwujud tanpa adanya bantuan materi, moril serta masukan dan saran dari banyak pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Ir. Asmawati, MP selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram, sekaligus sebagai penguji netral.
2. Ibu Ir. Hj. Marianah, M.Si selaku Wakil I Dekan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram.
3. Bapak Syirril Ihromi, SP., MP selaku Wakil Dekan II Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram sekaligus dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis.
4. Bapak Adi Saputrayadi, SP., M.Si selaku Ketua Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram.
5. Bapak Ir. Nazaruddin, MP selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis.
6. Semua Civitas Akademika Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram termasuk Staf Tata Usaha.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahan yang ada pada tulisan ini, oleh karena itu kritik dan saran yang akan menyempurnakannya sangat penulis harapkan.

Mataram, 24 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

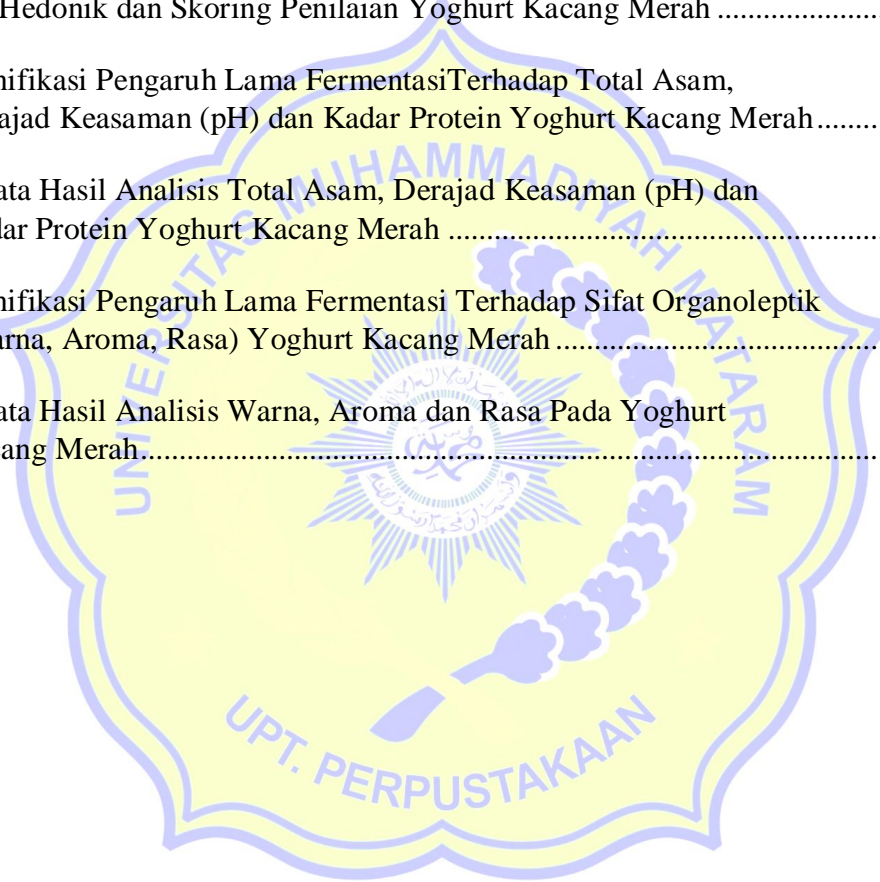
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENJELASAN	ii
HALAMAN KEASLIAN	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Penelitian	1
1.2. Rumusan Masalah Penelitian	5
1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian	5
1.4. Hipotesis	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Morfologi Tanaman Kacang Merah	7
2.2. Komposisi Kimia Kacang Merah	9

2.3. Manfaat Kacang Merah	12
2.4. Susu Nabati	13
2.5. Yoghurt	15
2.6. Mikrobiologi Yoghurt.....	18
2.7. Fermentasi	21
2.8. Proses Pembuatan Yoghurt	22
2.9. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Fermentasi Yoghurt	24
3.0. Perubahan Selama Fermentasi Yoghurt	27
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	30
3.1. Metode Penelitian	30
3.2. Rancangan Percobaan.....	30
3.3. Waktu dan Tempat.....	33
3.4. Bahan dan Alat Penelitian	31
3.5. Pelaksanaan Penelitian	32
3.5.1. Pembuatan Kultur Stater Tunggal.....	32
3.5.2. Pembuatan Pembuatan Kultur Induk.....	34
3.5.3. Pembuatan Susu Kacang Merah	35
3.5.4. Pembuatan Kultur Siap Pakai	38
3.5.5. Pembuatan Yoghurt Kacang Merah.....	39
3.6. Parameter Pengamatan dan Cara Pengamatan	41
3.6.1. Parameter Pengamatan	41
3.6.2. Cara Pengamatan	42
a. Uji Total Asam	42

b. Uji Kadar Protein	42
c. Uji Derajat Keasaman (pH)	44
d. Uji Sifat Organoleptik Yoghurt Kacang Merah	44
3.7. Analisis Data	46
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	47
4.1. Hasil Penelitian.....	47
4.2. Pembahasan	51
4.2.1. Sifat Kimia Yoghurt Kacang Merah.....	51
a. Total Asam.....	51
b. Derajat Keasaman (pH).....	54
c. Total Protein.....	56
4.2.2. Sifat Organoleptik Yoghurt Kacang Merah.....	58
a. Warna	58
b. Aroma.....	59
c. Rasa	61
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	63
5.1. Simpulan.....	63
5.2. Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	65
LAMPIRAN	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Gizi Kacang Merah Kering	9
2. Komposisi Asam Amino (mg/gram protein) Kacang Merah.....	10
3. Syarat Mutu Minuman Susu Fermentasi.....	17
4. Uji Hedonik dan Skoring Penilaian Yoghurt Kacang Merah	45
5. Signifikasi Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Asam, Derajat Keasaman (pH) dan Kadar Protein Yoghurt Kacang Merah.....	47
6. Purata Hasil Analisis Total Asam, Derajat Keasaman (pH) dan Kadar Protein Yoghurt Kacang Merah	48
7. Signifikasi Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Sifat Organoleptik (Warna, Aroma, Rasa) Yoghurt Kacang Merah	49
8. Purata Hasil Analisis Warna, Aroma dan Rasa Pada Yoghurt Kacang Merah.....	50



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kacang Merah	8
2. Diagram Proses Pembuatan Yoghurt	24
3. Diagram Alir Proses Pembuatan Kultur Murni	33
4. Diagram Alir Proses Pembuatan Kultur Induk	35
5. Diagram Alir Proses Pembuatan Susu Kacang Merah	37
6. Diagram Alir Proses Pembuatan Kultur Siap Pakai	39
7. Diagram Alir Proses Pembuatan Yoghurt Kacang Merah.....	41
8. Grafik Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Asam Yoghurt Kacang Merah	52
9. Grafik Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Derajat Keasaman (pH) Yoghurt Kacang Merah	54
10. Grafik Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein Yoghurt Kacang Merah	56
11. Grafik Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Uji Warna Yoghurt Kacang Merah	58
12. Grafik Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Uji Aroma Yoghurt Kacang Merah	59
13. Grafik Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Uji Rasa Yoghurt Kacang Merah	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Lembar Kuesioner Uji Warna Yoghurt Kacang Merah	74
2. Lembar Kuesioner Uji Aroma Yoghurt Kacang Merah	75
3. Lembar Kuesioner Uji Rasa Yoghurt Kacang Merah	76
4. Data Hasil Pengamatan Total Asam dan Analisis Keragaman Yoghurt Kacang Merah.....	77
5. Data Hasil Pengamatan Derajat Keasaman (pH) dan Analisis Keragaman Yoghurt Kacang Merah	78
6. Data Hasil Pengamatan Kadar Protein dan Analisis Keragaman Yoghurt Kacang Merah	79
7. Data Hasil Pengamatan Organoleptik dan Analisis Keragaman Warna Yoghurt Kacang Merah	80
8. Data Hasil Pengamatan Organoleptik dan Analisis Keragaman Aroma Yoghurt Kacang Merah	81
9. Data Hasil Pengamatan Organoleptik dan Analisis Keragaman Rasa Yoghurt Kacang Merah	82
10. Dokumentasi Pembuatan Susu Kacang Merah	83
11. Dokumentasi Pembuatan Yoghurt Kacang Merah.....	84
12. Dokumentasi Prosedur Analisis dan Pengujian Parameter Pengamatan	85

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP SIFAT KIMIA DAN
ORGANOLEPTIK YOGHURT KACANG MERAH
(*Phaseolus vulgaris* L.)**

M. Agusfian¹, Nazaruddin², Syirril Ihromi³

ABSTRAK

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) merupakan salah satu komoditas kacang-kacangan atau kelompok *Leguminosa* yang dikenal masyarakat Indonesia. Kandungan gizi pada kacang merah sangat potensial karena mengandung jumlah protein yang hampir sama dengan protein daging 24,9 gram. Selain dikonsumsi sebagai sayur dan tambahan pada proses pembuatan kue, kacang merah dapat diolah menjadi susu fermentasi salah satunya yaitu yoghurt. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap sifat kimia dan organoleptik yoghurt kacang merah. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Metode Ekperimental dengan percobaan dilaboratorium, disusun menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor tunggal yaitu lama fermentasi yang terdiri atas 5 perlakuan yaitu ; F1 (4 jam), F2 (6 jam), F3 (8 jam), F4 (10 jam), dan F5 (12 jam). Data hasil penelitian dianalisis menggunakan analisis keragaman (ANOVA). Jika berbeda nyata, diuji lanjut menggunakan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh secara nyata pada parameter sifat kimia (total asam, pH dan protein) serta sifat organoleptik aroma dan rasa, namun tidak berpengaruh nyata terhadap sifat organoleptik warna pada yoghurt kacang merah. Perlakuan terbaik diperoleh pada perlakuan F3 (lama fermentasi 8 jam) dengan kadar protein 2,53%, kadar total asam 0,67%, nilai pH 4,050, skor nilai aroma 4,0 dengan kriteria khas yoghurt dan skor nilai rasa 3,40 dengan kriteria agak disukai.

Kata kunci : Kacang Merah, Yoghurt, Probiotik, Fermentasi.

1. Mahasiswa/Peneliti
2. Pembimbing Utama
3. Pembimbing Pendamping

EFFECT OF TIME FERMENTATION ON THE CHEMICAL AND ORGANOLEPTIC PROPERTIES OF RED BEANS YOGHURT

(*Phaseolus vulgaris* L.)

M. Agusfian¹, Nazaruddin², Syirril Ihromi³

ABSTRACT

Kidney beans (*Phaseolus vulgaris* L.) are one of the legume commodities or legume groups known to the Indonesian people. The nutritional content of kidney beans is very potential because it contains almost the same amount of protein as 24.9 gram meat protein. Besides being consumed as a vegetable and additional to the process of making cakes, red beans can be processed into fermented milk, one of which is yogurt. This study aims to know the effect of fermentation time on the chemical and organoleptic properties of red bean yogurt. The method used in this study is the Experimental Method with laboratory experiments, arranged using a Completely Randomized Design (CRD) with a single factor that is fermentation time consisting of 5 treatments namely; F1 (4 hours), F2 (6 hours), F3 (8 hours), F4 (10 hours), and F5 (12 hours). Data were analyzed using diversity analysis (ANOVA). If significantly different, further tested using the Honestly Significant Difference Test (BNJ) at a 5% significance level. The results showed that the length of fermentation treatment significantly affected the parameters of chemical properties (total acid, pH and protein) and organoleptic properties of aroma and taste, but did not significantly affect the organoleptic properties of color on red bean yogurt. The best treatment was obtained in the F3 treatment (8 hours fermentation time) with a protein content of 2.53%, a total acid level of 0.67%, a pH value of 4.050, a flavor value score of 4.0 with typical yogurt criteria and a taste value score of 3.40 with the criteria are rather preferred.

Keywords: Red Bean, Yoghurt, Probiotics, Fermentation.

-
1. Students/Researcher
 2. Supervisor I
 3. Supervisor II

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) merupakan salah satu komoditas kacang-kacangan atau kelompok *Leguminosa* yang dikenal masyarakat Indonesia. Menurut Badan Pusat Statistik (2011), produksi kacang merah di Indonesia tergolong cukup tinggi dibandingkan dengan kacang lainnya dan salah satu daerah yang menghasilkan kacang merah ialah Nusa Tenggara Barat (NTB) khususnya pulau Lombok (Aswatan, 2009). Hasil produksi kacang merah di NTB pada tahun 2013 mencapai 196 ton dengan luas area lahan 141 Ha (BAPPEDA NTB, 2013). Angka tersebut merupakan jumlah produksi yang cukup besar dalam produksi kacang-kacangan yang ada di NTB. Namun penggunaan kacang merah saat ini masih terbatas (Astawan, 2009). Kacang merah hanya dijadikan sebagai sayur dan tambahan pada proses pembuatan kue, padahal kacang merah adalah bahan pangan yang sangat potensial karena mengandung jumlah protein yang hampir sama dengan protein daging. Kandungan gizi pada kacang merah (per 100 g) ialah protein 24,37 g, karbohidrat 59,80 g, serat 24,9 g dan lemak 0,25 g. Selain itu kacang merah mengandung vitamin B1, kalsium, fosfor, zat besi, folasin (USDA, 2007) dan senyawa antioksidan berupa isoflavon (Pramesti, 2015). Oleh karena itu, perlu dilakukan suatu alternatif penggunaan yang lain dalam upaya diversifikasi olahan pangan agar memaksimalkan produksi kacang merah. Salah satu upaya pengolahan kacang merah yaitu melalui teknologi fermentasi sehingga menjadi produk pangan yang berkualitas tinggi karena dapat

meningkatkan nilai cerna dan gizi yang dimiliki dalam kacang merah tersebut yaitu dapat diolah menjadi yoghurt kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.).

Yoghurt merupakan minuman hasil fermentasi susu dengan bantuan bakteri asam laktat (BAL) yang mempunyai peran penting bagi kesehatan tubuh (Haryani dan Aisyah, 2012). Secara umum yoghurt merupakan produk berbasis susu yang telah dikonsumsi selama berabad-abad yang mempunyai efek menguntungkan bagi kesehatan. Yoghurt dijadikan sebagai salah satu makanan bergizi pengganti susu. Namun yoghurt susu hewan mempunyai kelemahan yaitu tidak dapat dikonsumsi oleh orang yang mengalami alergi terhadap susu hewan. Hal ini karena kurangnya enzim laktase pada saluran pencernaan konsumen tersebut untuk mendegradasi laktosa yang terdapat dalam susu. Ketidakmampuan tersebut disebut dengan *lactose intolerance*. Penderita *lactose intolerance* akan mengalami gangguan pencernaan apabila mengkonsumsi susu segar (Scrimshaw dan Murray, 1988). Pada proses fermentasi yoghurt, laktosa akan dipecah menjadi asam laktat sehingga tidak akan menyebabkan gangguan pencernaan pada manusia (Tamime, 2006).

Yoghurt digolongkan sebagai minuman probiotik yang memberikan efek positif bagi tubuh terutama di saluran pencernaan. Minuman probiotik merupakan produk minuman hasil fermentasi bakteri probiotik dari asam laktat (BAL) yang memiliki aroma dan rasa khas serta memiliki khasiat untuk mencegah penyakit infeksi saluran pencernaan karena mengandung bakteri hidup dalam saluran pencernaan. Aroma dan rasa khas minuman fermentasi laktat terutama disebabkan oleh perombakan karbohidrat oleh BAL menjadi

asam-asam organik dan asetaldehid, sedangkan kemampuannya dalam mencegah penyakit infeksi saluran pencernaan disebabkan oleh kemampuannya memproduksi senyawa-senyawa anti mikroba selama fermentasi seperti asam organik (asam laktat dan asetat), hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin (Galves, 2007).

Pengolahan kacang merah dengan cara fermentasi akan menghasilkan senyawa isoflavon bebas yang terbanyak. Pada proses pengolahan kacang merah akan menghidrolisis isoflavon menjadi senyawa isoflavon bebas atau disebut aglikon (Pramesti, 2015). Isoflavon bebas adalah senyawa antioksidan yang berperan menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas, sehingga menghambat proses penuaan dini, mencegah *diabetes militus* dan kanker (Hodgson *et al.*, 2000). Oleh karenanya, susu fermentasi kacang merah juga disebut sebagai salah satu pangan fungsional karena mampu memberi kesehatan dan mencegah penyakit bagi tubuh manusia. Pangan fungsional merupakan makanan yang tidak hanya mengenyangkan tetapi berdampak positif pada tubuh manusia karena dapat meredam radikal bebas (Wijaya, 2007)

Bahan dasar dalam pembuatan yoghurt biasanya adalah susu sapi murni. Namun selain susu sapi murni, bahan lain yang bisa digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan yoghurt adalah susu nabati dari kacang-kacangan seperti kacang merah. Susu kacang merah digunakan sebagai substrat dalam pembuatan susu fermentasi atau yoghurt (Soebroto, 2012).

Terdapat faktor-faktor penting yang mempengaruhi perkembangbiakan bakteri asam laktat pada proses pembuatan yoghurt. Seperti lama fermentasi, inkubasi perlu diperhatikan agar dapat mencegah terjadinya dominasi salah satu galur biakan atau spesies lain (Reid, 2000). Fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Terjadinya fermentasi ini dapat menyebabkan perubahan sifat bahan pangan sebagai akibat dari pemecahan kandungan-kandungan bahan pangan (Winarno *et al.*, 1980). Menurut Agustina *et al.* (2009), lama fermentasi yoghurt adalah proses dekomposisi susu oleh mikroorganisme dalam waktu tertentu yang dapat mengubah glukosa menjadi asam laktat, sehingga menghasilkan produk minuman fermentasi (yoghurt).

Waktu fermentasi merupakan salah satu faktor yang sangat penting pada proses pembuatan susu fermentasi yang menyebabkan perubahan terhadap sifat fisik, kimia dan organoleptik yoghurt kacang merah. Lamanya waktu fermentasi akan mempengaruhi tekstur, kualitas dan hasil akhir dari yoghurt dan akan mempengaruhi tingkat penerimaan konsumen terhadap produk yang dihasilkan. Herawati dan Andang (2011) menyatakan bahwa *soyghurt* yang difermentasi hingga 6 jam meningkatkan kadar protein, kadar lemak, kadar abu, kadar total asam laktat dan kadar berat kering tanpa lemak. Sedangkan menurut Muawanah (2007) lama fermentasi yoghurt dengan waktu 0 sampai 10 jam menghasilkan yoghurt susu kedelai dengan kadar asam laktat 0.1%-0.4%. Berdasarkan uraian diatas, maka telah dilakukan

penelitian tentang “**Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Sifat Kimia dan Organoleptik Yoghurt Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*)**”.

1.2. Rumusan Masalah Penelitian

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

- a. Bagaimanakah pengaruh lama fermentasi terhadap sifat kimia dan organoleptik yoghurt kacang merah ?
- b. Berapakah lama fermentasi yang tepat untuk menghasilkan yoghurt kacang merah dengan mutu yang baik dan disukai panelis ?

1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian

1.3.1. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

- a. Mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap sifat fisikokimia dan organoleptik dari yoghurt kacang merah.
- b. Mendapatkan waktu fermentasi yang tepat dalam pembuatan yoghurt kacang merah dengan mutu yang baik dan disukai panelis.

1.3.2. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai :

- a. Merekomendasi dalam pembuatan yoghurt kacang merah yang memenuhi SNI mengenai minuman probiotik. SNI 01-2981-1992 dari segi organoleptik dan kandungan kimianya.
- b. Penambah dan meningkatkan nilai gizi produk yoghurt dengan bahan baku kacang merah.
- c. Diversifikasi produk olahan kacang merah.
- d. Informasi bagi peneliti selanjutnya.

1.4. Hipotesis

Untuk mengarahkan jalannya penelitian ini, maka diajukan hipotesis sebagai berikut: Diduga bahwa lama fermentasi berpengaruh terhadap sifat kimia dan organoleptik yoghurt kacang merah.



BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Morfologi Kacang Merah

Indonesia merupakan negara agraris yang dikenal kaya akan keanekaragaman hayati. Berbagai macam tanaman tumbuh subur menghasilkan varietas hasil pertanian. Salah satu tanaman tersebut ialah kacang merah. Kacang merah (*Phaseolus vulgaricus*) merupakan salah satu jenis kelompok polong-polongan yang berada satu famili dengan kacang hijau, kacang kedelai dan kacang tolo. Kacang merah mempunyai batang pendek dengan tinggi sekitar 30 cm. Batang tanaman umumnya berbuku-buku, yang sekaligus merupakan tempat untuk melekat tangkai daun. Daun bersifat majemuk tiga (trifoliolatus) dan helai daunnya berbentuk jorong segitiga (Rukmana, 2009).

Tanaman ini memiliki akar tunggang yang sebagian membentuk bintil-bintil (nodula) yang merupakan sumber nitrogen dan sebagian lagi tanpa nodula yang fungsinya antara lain menyerap air dan unsur hara. Bunga tersusun dalam karangan berbentuk tandan dengan pertumbuhan karangan bunga yang serempak/bersamaan. Biji berwarna merah atau merah berbintik-bintik putih (Rukmana, 2009).

Saat ini penggunaan kacang merah hanya sebatas sebagai sayur dan tambahan pada proses pembuatan kue (Maryam, 2016). Kacang merah sebenarnya merupakan biji dari buncis yang tumbuh tegak atau tidak merambat. Kacang merah hanya dimakan bijinya dari buah yang telah tua, baik dalam keadaan segar maupun yang telah dikeringkan (Ayuningrum,

2015). Namun seiring perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi dibidang pangan, banyak produk olahan hasil pertanian yang berbahan dasar kacang merah berupa tepung, tempe dan minuman probiotik hasil fermentasi susu kacang merah.

Nama ilmiah dan klasifikasi tanaman kacang merah yaitu sebagai berikut (USDA, 2013):

Kingdom	: <i>Plantae</i> – Tumbuhan
Sub kingdom	: <i>Tracheobionta</i> – Tumbuhan berpembuluh
Super divisi	: <i>Spermatophyta</i> – Tumbuhan berbiji
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> – Dikotil
Sub Kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Fabales</i>
Familia	: <i>Fabaceae</i> – Polong-polongan
Genus	: <i>Phaseolus L.</i> – Kacang
Species	: <i>Phaseolus vulgaricus L.</i> – kacang merah.



Gambar 1. Kacang Merah (*Dark Red Kidney Beans*)

2.2. Komposisi Kimia Kacang Merah

Kacang merah mengandung karbohidrat kompleks, vitamin B, asam amino esensial, kalsium, fosfor, zat besi dan sumber serat pangan yang tinggi (Astawan, 2009). Dilihat dari kandungan gizinya, dalam 100 gram kacang merah mengandung karbohidrat 59,80 gr ; protein 24,37 gr ; lemak 0,25 gr ; vitamin A 8 IU ; vitamin B-6 0,397 mg dan juga mineral seperti kalsium, belerang, mangan, dan besi (USDA, 2007).

Berikut adalah tabel komposisi zat gizi dalam kacang merah per 100 gram.

Tabel 1. Komposisi Gizi Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris*)

Zat Gizi	Satuan	Nilai per 100 gram
Proksimat		
Air	g	11,75
Energi	Kkal	330
Energi	KJ	1381
Protein	g	24,37
Lemak	g	0,25
Abu	g	3,83
Karbohidrat	g	59,80
Serat	g	24,9
Mineral		
Kalsium, Ca	mg	195
Besi, Fe	mg	9,35
Magnesium, Mg	mg	160
Phospor, P	mg	405
Kalium, K	mg	1490
Natrium Na	mg	11
Seng, Zn	mg	2,55
Tembaga, Cu	mg	1,100
Mangan, Mn	mg	1,000
Selenium, Se	µg	3,2
Vitamin		
Vitamin C, total asam askorbat	mg	4,5
Thiamin	mg	0,529
Riboflavin	mg	0,219
Niacin	mg	2,060

Asam pantotenat	mg	0,780
Vitamin B-6	mg	0,397
Folat (total)	µg	394
Vitamin B-12	µg	0,00
Vitamin A, IU	IU	8

Sumber : USDA (2007).

Kandungan protein dalam 100 gram kacang merah mencapai 24,37g (USDA, 2007). Kacang merah memiliki keunggulan yang tidak dimiliki oleh protein hewani, yaitu bebas kolesterol sehingga aman untuk dikonsumsi masyarakat dari berbagai kelompok umur. Selain itu, protein kacang merah juga dapat digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol LDL yang bersifat jahat bagi kesehatan manusia, serta meningkatkan kadar HDL yang bersifat baik bagi kesehatan manusia (Aswatan, 2009). Jika dibandingkan dengan jenis kacang-kacangan yang lain, kacang merah memiliki susunan asam amino yang lengkap (Aswatan, 2009).

Tabel 2. Komposisi Asam Amino (mg/gram protein) Kacang Merah

Asam Amino	mg/g protein
Isoleusin	41,92
Leusin	76,12
Lisin	72,00
Metionin	10,56
Sistein	8,48
Fenilalanin	53,16
Tirosin	25,28
Treonin	39,68
Triptofan	10,08
Valin	45,92
Arginin	56,80
Hisidin	28,32
Alanin	52,16

Sumber : Kay (1978) dalam Aswatan (2009).

Kadar lemak yang terkandung dalam kacang merah relatif rendah yaitu 1,1 g per 100 g bahan. Pada umumnya kacang-kacangan mengandung

asam lemak tak jenuh yang tinggi. Komponen lemak kacang merah terdiri atas asam lemak jenuh sebanyak 19% dan asam lemak tak jenuh sebanyak 63,3% (Aswatan, 2009). Asam lemak utama yang terkandung dalam kacang merah adalah asam linolenat (Salunkhe dalam Suciono, 1995). Asam linolenat atau biasa dikenal dengan omega 3 merupakan asam amino esensial tak jenuh ganda yang dapat membersihkan plasma dari lipoprotein kilomikron dan kemungkinan juga dari VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) serta dihubungkan dengan pencegahan penyakit jantung koroner dan arthritis (Almatsier, 2004).

Kandungan karbohidrat dalam 100 gram kacang merah mencapai 59,80g (USDA, 2007). Menurut Aswatan (2009), komponen karbohidrat dalam kacang merah terdiri dari gula 1,6%, dekstrin 2,7%, pati 35,2%, pentose 8,4%, galaktan 1,3%, dan pektin 0,7%. Kandungan karbohidrat yang tinggi ini menyebabkan kacang merah menjadi salah satu sumber energi yang baik. Sementara itu, kacang-kacangan umumnya memiliki indeks glikemik (IG) yang relatif rendah antara 25-45. Namun, diantara jenis kacang-kacangan, kacang merah memiliki IG yang paling rendah sehingga baik untuk dikonsumsi oleh orang yang menderita diabetes (Marsono *et al.*, 2002).

Kacang merah juga memiliki kapasitas antioksidan yang tinggi. Kapasitas antioksidan kulit kacang merah EC_{50} mencapai 294,78 mg/ml (Fidriannyi *et al.*, 2014). Kacang merah memiliki kandungan senyawa fungsional golongan polifenol yaitu porisianidin 7% - 9%. Dalam penelitian Pratiwi dan Panunggal (2016), substitusi sari kacang merah mampu

meningkatkan aktivitas antioksidan dan kadar total fenol yoghurt ganyong. Pengolahan kacang merah dengan cara fermentasi akan menghasilkan senyawa isoflavon bebas yang terbanyak. Pada proses pengolahan kacang merah akan menghidrolisis isoflavon menjadi senyawa isoflavon bebas atau disebut aglikon (Pramesti, 2015). Isoflavon bebas adalah senyawa antioksidan yang berperan menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas, sehingga menghambat proses penuaan dini, mencegah *diabetes militus* dan kanker (Hodgson *et al.*, 2000).

2.3. Manfaat Kacang Merah

Konsumsi serat pangan secara teratur dapat berkontribusi terhadap penurunan penyakit seperti penyakit jantung, stroke dan kegemukan serta membantu dalam penurunan kadar kolesterol darah (Anderson *et al.*, 2009). Menurut Afriansyah (2007), kacang merah memiliki beberapa manfaat diantaranya, adalah :

- a. Mencegah kolestrol jahat dan memperlancar pencernaan (anti sembelit).
Kandungan fibernya yang tinggi difermentasi dalam usus besar dan menghasilkan asam-asam lemak rantai-pendek, yang dapat menghambat sintesis koleletrol hati.
- b. Mencegah resiko diabetes karena kandungan karbohidrat kompleksnya berindek glikemik rendah termasuk lamban cerna.
- c. Membantu pematangan sel darah merah, membantu sintesa DNA dan RNA, serta menurunkan level homosistein dalam pembuluh arteri

(sehingga mengurangi resiko penyakit jantung) dengan kandungan folat dan vitamin B6.

- d. Membantu pembentukan komponen sel utama sel-sel darah merah, pembentukan enzim, pembentukan tulang, mencegah resiko anemia (darah rendah) dengan kandungan zat mineral zinc, besi dan tembaga.

2.4. Susu Nabati

Susu nabati dapat digunakan sebagai pengganti susu sapi karena komposisi dan mutu proteinnya hampir sama. Komposisi asam amino metionin dan sistein dalam protein susu kedelai lebih sedikit dari pada susu sapi. Susu ini baik dikonsumsi oleh mereka yang alergi susu sapi, yaitu orang-orang yang tidak memiliki atau kurang enzim laktase dalam saluran pencernaannya, sehingga tidak mampu mencerna laktosa dalam susu sapi (Gulo, 2006).

Kebanyakan susu yang beredar di pasaran sekarang ini adalah susu hewani atau susu sapi, namun harganya relatif mahal sehingga daya beli masyarakat kurang. Untuk memecahkan permasalahan kurangnya produksi susu dalam negeri dan meningkatkan daya beli masyarakat terhadap susu, sebenarnya telah lama dikenal adanya susu nabati, seperti susu kedelai (soymilk). Susu kedelai merupakan susu yang memiliki kadar protein yang tinggi, bebas laktosa dan kasein, memiliki kadar natrium yang rendah, tidak mengandung kolesterol, dan mengandung beberapa gram asetat (Andriani, 2002).

Untuk mengurangi ketergantungan susu nabati terhadap kedelai, maka perlu adanya pengenalan tanaman kacang-kacangan lainnya yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan susu nabati. Salah jenis kacang-kacangan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan susu nabati adalah kacang merah. Pada dasarnya semua kacang-kacangan dapat diproses menjadi susu, termasuk kacang merah. Kacang merah memiliki kandungan protein yang tinggi 24,37 gr per 100 gr (USDA, 2007).

Pengolahan kacang merah menjadi susu tidak menghasilkan bau langu. Hasil penelitian Widowati dan Misgiyarta (2004) menyatakan bahwa hasil olahan kacang merah memiliki cita rasa yang lebih enak untuk dikonsumsi dibandingkan susu kedelai, kacang tanah, kacang hijau dan kacang tunggak. Kacang merah dapat digunakan sebagai salah satu bahan pilihan dalam pembuatan yoghurt nabati karena rasanya enak dan tidak menghasilkan aroma langu.

Proses awal pembuatan susu kacang merah yaitu, penyortiran terhadap kacang merah kering dengan tujuan untuk memisahkan kacang merah dengan komponen pengotor (non kacang merah) dan kacang merah yang kisut. Kacang merah hasil sortasi tersebut selanjutnya ditimbang dengan basis yang telah ditetapkan. Selanjutnya kacang merah dicuci dan direndam selama lebih kurang 8 jam untuk menghilangkan komponen pengotor yang melekat dan juga meningkatkan kadar air agar mempermudah proses penggilingan. Kemudian kacang merah tersebut dikukus selama 45 menit untuk melunakkannya dan mengurangi kontaminasi awal mikroba. Kacang merah

yang telah dikukus kemudian digiling menggunakan *blender* selama 2 menit. Pada penggilingan dilakukan penambahan air. Hasil proses penyaringan menggunakan kain saring mori (Kunaepah, 2008).

2.5. Yoghurt Kacang Merah

Yoghurt merupakan minuman hasil fermentasi susu dengan bantuan bakteri asam laktat (BAL) yang mempunyai peran penting bagi kesehatan tubuh (Haryani dan Aisyah, 2012). Sedangkan menurut SNI (2009), yoghurt merupakan produk yang diperoleh dari susu yang telah dipasteurisasi, kemudian difermentasi dengan bakteri hingga diperoleh keasaman, aroma dan rasa yang khas tanpa penambahan lain yang diizinkan. Secara umum, yoghurt merupakan produk berbasis susu yang telah dikonsumsi selama berabad-abad yang mempunyai efek menguntungkan bagi kesehatan. Seiring waktu berjalan, yoghurt terus menerus dimodifikasi untuk mendapatkan karakteristik dan nutrisi yang lebih baik (Routray dan Mishra, 2011).

Menurut Buckle *et al.* (2013), yoghurt adalah susu yang dibuat melalui fermentasi bakteri. Yoghurt dapat dibuat dari susu apa saja, termasuk susu kacang merah. Tetapi produksi modern saat ini didominasi dari susu sapi. Fermentasi gula susu (laktosa) menghasilkan asam laktat yang berperan dalam protein susu untuk menghasilkan tekstur seperti gel dan bau yang unik pada yoghurt.

Manfaat yoghurt dapat memelihara organ pencernaan karena pada penelitian yang dilakukan oleh para ahli ditemukan fakta bahwa berbagai masalah pencernaan bisa teratasi dengan mengkonsumsi yoghurt seperti

masalah diare, kanker usus, atau intoleransi laktosa dan radang usus. Bagi yang beresiko darah tinggi, yoghurt perlu dikonsumsi karena bisa menurunkan resiko darah tinggi dengan aturan konsumsi 2 - 3 porsi setiap harinya (Elva, 2012).

Yoghurt juga dapat mencegah terjadinya osteoporosis karena yoghurt berbahan dasar susu yang memiliki kandungan kalsium dan vitamin D. Kaya protein untuk menjaga stamina tubuh. Menjaga kesehatan pencernaan. Berbagai penyakit dapat dicegah, seperti maag, susah buang air besar, diare dan potensi mencegah kanker kolon. Meningkatkan daya tahan tubuh atau imunitas dari probiotik bakteri dalam yoghurt (Elva, 2012).

Bahan dasar pembuatan yoghurt adalah susu sapi murni dan susu skim. Selain susu sapi murni, susu kacang merah juga bisa digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan yoghurt. Susu kacang merah digunakan sebagai substrat dalam pembuatan minuman fermentasi atau yoghurt (Soebroto, 2012). Proses fermentasi yang dilakukan oleh bakteri asam laktat dengan memanfaatkan oligosakarida sebagai substrat yang terkandung dalam kacang merah. Kacang merah mengandung oligosakarida seperti rafinosa dan stakiosa (Zakaria, 2005).

Keuntungan yang didapatkan dari yoghurt kacang merah adalah dihasilkan kandungan bioaktif yang bersifat fungsional. Namun biasanya pada pembuatan yoghurt kacang merah perlu penambahan air untuk mengekstrak kacang merah dan susu skim untuk memicu pertumbuhan dari bakteri *S. thermophilus* (Gulo, 2006), serta penambahan susu segar dalam

memperbaiki rasa dan tekstur. Susu skim juga berfungsi meningkatkan total padatan terlarut, memperbaiki konsistensi dan viskositas serta berperan dalam pembentukan koagulan (Gulo, 2006).

Tabel 3. Syarat Mutu Minuman Susu Fermentasi.

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan	
			Tanpa perlakuan panas setelah fermentasi	Dengan perlakuan panas setelah fermentasi
1.	Keadaan		Normal	Normal tanpa lemak
a.	Penampakan	-	Cair	Cair
b.	Bau	-	Normal/khas	Normal/khas
c.	Rasa	-	Homogen	Homogen
d.	Homogenitas	-	Homogen	Homogen
2	Lemak (b/b)	%	min 0,6 mak 0,5	min 0,6 mak 0,5
3	Padatan susu tanpa lemak (b/b)	%	min 3,0	min 3,0
4	Protein (Nx6,38) (b/b)	%	min 1,0	min 1,0
5	Abu (b/b)	%	maks 1,0	maks 1,0
6	Keasaman tertitrasi (dihitung sebagai asam laktat)	%	0,2 s.d 0,9	0,2 s.d 0,9
7	Cemaran logam			
a.	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,02	maks. 0,02
b.	Merkuri (Hg)	mg/kg	maks. 0,03	maks. 0,03
8	Cemaran arsen (As)	mg/kg	maks. 0,1	maks. 0,1
9	Cemaran mikroba			
a.	Bakteri <i>coliform</i>	APM / ml	maks. 10	maks. 10
b.	<i>Salmonella sp</i> / 25 ml	-	Negative	Negatif
c.	<i>Listeria monocytogenes</i> / 25 ml	-	Negative	Negatif
10	Kultur starter	Koloni/ ml	min. 1 x 10 ⁶	-

Sumber :Standar Nasional Indonesia (2009)

2.6. Mikrobiologi Yoghurt

2.6.1. *Lactobacillus bulgaricus*

Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dikenal pertama kali pada 1905 oleh Stamen Grigorov, seorang dokter asal Bulgaria, saat menganalisis yoghurt. Pada penelitian tersebut, Grigorov mengidentifikasi sejenis mikroba yang memakan laktosa dan mengeluarkan asam laktat. Asam laktat tersebut tidak hanya berperan mengawetkan susu, tetapi mendegradasi laktosa hingga susu bisa dikonsumsi oleh orang-orang yang intoleran terhadap susu (Yulianti, 2015).

Manfaat bakteri *Lactobacillus bulgaricus* untuk kesehatan manusia adalah sebagai berikut :

1. Meningkatkan kemampuan usus besar menyerap zat mutagenic mencegah kanker.
2. Meningkatkan kekebalan tubuh dengan kandungan zat anti tumor.
3. Alternatif untuk diet sehat karena memiliki kandungan gizi sangat tinggi, sedangkan kandungan lemaknya justru rendah.
4. Menurunkan risiko infeksi candida pada penderita diabetes.
5. Mencegah osteoporosis.

Klasifikasi bakteri *Lactobacillus bulgaricus* adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Prokariotik*

Division : *Schizophyta*

Kelas : *Eubacteriales*

Familia : *Lactobacillaceae*

Genus : *Lactobacillus*

Spesies : *Lactobacillus bulgaricus*

Kultur ini dapat menghasilkan enzim yang menjadikan susu memiliki tingkat keasaman yang rendah. Kerja dari kultur tersebut saling melengkapi antara bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dengan *Streptococcus thermophilus*. Kultur ditambahkan setelah susu dipanaskan pada suhu 90°C selama 15-30 menit dan kemudian didinginkan sehingga suhu 43°C. Fermentasi dimulai ketika aktivitas dari bakteri *Streptococcus thermophilus* merubah laktosa (gula susu) menjadi asam laktat dan menurunkan keasaman susu hingga 5-5,5. Pada saat itu juga kecenderungan untuk terjadinya reaksi-reaksi kimia yang dapat merugikan pada produk akhir mulai dihambat. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* mulai beraktivitas mensekresikan enzimnya untuk menurunkan keasaman hingga 3,8-4,4 dan menciptakan cita rasa khas yoghurt (Yulianti, 2015).

2.6.2. *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus memiliki bentuk sel yang bulat dan elips dengan diameter 0,7-0,9 μ m, tumbuh secara berpasangan atau berbentuk rantai pendek. Suhu pertumbuhan optimum untuk *Streptococcus thermophilus* adalah 37-42°C. *Streptococcus thermophilus* merupakan bakteri gram positif, katalase negatif, tidak

berspora, uniseluler, anaerob, heterotropik, tumbuh baik pada media berisi karbohidrat dan ekstrak yeast. Tumbuh optimum pada pH 6,5 dan akan terhenti pertumbuhannya pada pH 4,2-4,4 (Mahmuda, 2015).

Kalsifikasi *Streptococcus thermophilus* adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Bacteria*

Divisi : Fimicutes

Kelas : *Bacilli*

Order : *Lactobacillales*

Family : *Streptococcaceae*

Genus : *Streptococcus*

Spesies : *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus memfermentasi gula terutama menjadi asam laktat, karena itu ia termasuk golongan bakteri asam laktat. Ia merupakan salah satu dari dua bakteri yang dibutuhkan untuk memproduksi yoghurt dan susu fermentasi lainnya dan memiliki peran penting terutama dalam pembentukan tekstur dan cita rasa yoghurt. *Streptococcus thermophilus* menghasilkan ATP (*adenosine trifosfat*) dari respirasi serta menghasilkan senyawa nitrogen dari hidrolisis protein susu. *Streptococcus thermophilus* memiliki peran sebagai probiotik, mengurangi gejala intoleransi laktosa dan gangguan gastrointestinal lainnya (Mahmuda, 2015).

Campuran atau kombinasi dari *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* sering digunakan pada beberapa macam

produksi yoghurt. Walaupun kedua mikroorganisme tersebut dapat digunakan secara terpisah, namun penggunaan keduanya dalam kultur stater yoghurt secara bersama-sama terbukti telah bersimbiosis dan meningkatkan efisiensi kerja kedua bakteri tersebut. Selain menyebabkan tingkat produksi asam yang lebih tinggi, *Streptococcus thermophilus* tumbuh lebih cepat dan menghasilkan asam dan karbondioksida (Mahmuda, 2015).

Streptococcus thermophilus berperan dahulu untuk menurunkan pH sampai sekitar 5,0 dan baru kemudian disusul menurunkan lagi sampai mencapai 4,0. Selain itu beberapa zat hasil fermentasi mikroorganisme yang berperan dalam menentukan rasa produk adalah asam laktat, asetaldehida, asam asetat dan diasetil. Intinya adalah jenis dan jumlah mikroorganisme dalam stater yang digunakan sangat berperan dalam pembentukan dan formasi rasa serta tekstur yoghurt. Selain tentunya lama fermentasi dan suhu lingkungan (Mahmuda, 2015).

2.7. Fermentasi

Fermentasi adalah salah satu kegiatan mikrobial untuk menggunakan senyawa organik atau sumber karbon guna memperoleh tenaga bahan metabolismenya dengan hasil ikutan berupa gas sebagai sumber karbon dalam fermentasi adalah lipida. Mikrobia yang berperan dalam fermentasi dapat diklasifikasi dalam golongan bakteri, kapang, dan khamir (Priyanto, 2012).

Pengolahan susu melalui proses fermentasi telah banyak dilakukan untuk mendapat susu yang bersifat asam. Buckle *et al.* (2013), menyatakan bahwa salah satu produk susu fermentasi adalah yoghurt. Berabad-abad yang lalu masyarakat di Eropa membiarkan susu tercemar secara alami oleh bakteri sehingga menjadi asam pada suhu 40-50°C, cara tersebut telah berevolusi dengan menambahkan bakteri asam laktat secara sengaja pada susu sehingga susu mengalami fermentasi menjadi asam.

2.8. Proses pembuatan yoghurt

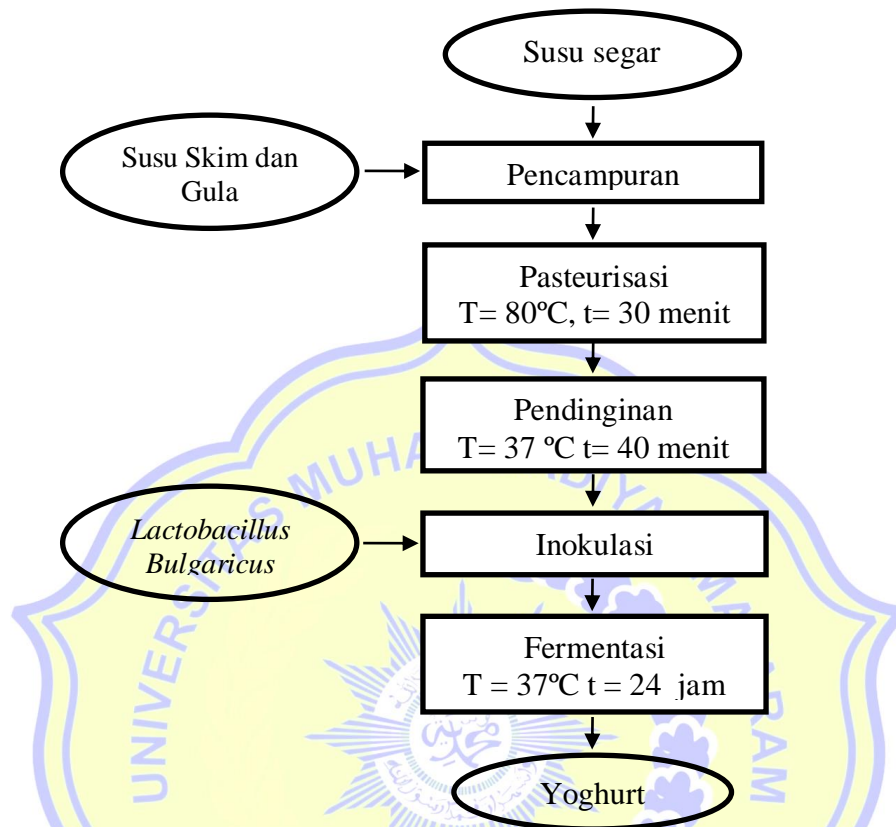
Yoghurt adalah minuman susu fermentasi yang dibuat dengan cara memfermentasi susu bubuk skim dengan bakteri asam laktat hidup *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus Thermophilus*, serta susu kacang merah yang baru. Seperti halnya susu sapi, susu kacang merah juga dapat dibuat menjadi yoghurt. Proses pembuatan yoghurt kacang merah dan kultur (biakan murni) stater yang digunakan pada dasarnya sama seperti pada pembuatan yoghurt. Tetapi proses fermentasi pada pembuatan yoghurt kacang merah sangat berbeda dengan karbohidrat yang terdapat dalam susu sapi. Karbohidrat yang digunakan sebagai energi maupun sebagai karbon oleh kultur stater. Hasil penelitian Teja (1991), mengatakan sari kacang merah yang difermentasi tanpa penambahan susu skim tidak menghasilkan yoghurt kacang merah yang berkualitas. Proses fermentasi berhasil ketika susu kacang merah ditambahkan sumber gula, sebelum diinokulasi. Penambahan sumber gula yang dapat ditambah diantaranya, sukrosa (gula pasir), glukosa, laktosa, fruktosa atau susu skim (Antara, 2016).

Yang pertama kali harus disiapkan dalam pembuatan yoghurt adalah bibit bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus Thermophilus*. Ada dua cara mendapatkan stater yoghurt, yaitu yogurt yang belum dipasteurisasi dan bibit (biakan) murni. Perlu diketahui ada dua macam yoghurt dijual dipasar, yoghurt dengan mikrobia masih hidup dan yang sudah dipasteurisasi atau mikrobianya yang sudah dimatikan. Ukuran satu setengah sendok yoghurt cukup untuk fermentasi tiga gelas susu (Irwanyanto, 2009).

Proses pembuatan yoghurt dapat diuraikan sebagai berikut (Setiawan dan Nugroho 1991) :

1. Pertama-tama susu dipasteurisasi dengan merebusnya pada suhu antara 80°C dan 90°C selama 30 menit.
2. Susu ditambahkan gula pasir 4-5 persen dari susu skim sebanyak 5%. Gelatin juga sering ditambahkan (tetapi tidak mutlak) sebanyak 0,5 sampai 1,5 persen untuk menjaga yoghurt yang dihasilkan stabil dan baik teksturnya. Untuk menambah aroma, dapat pula ditambahkan esen seperti vanili, orange, strawberry atau lemon secukupnya.
3. Hasil campuran ini didinginkan sampai 43°C, lalu diinokulasi (ditambah) stater campuran dengan perbandingan yang sama (1:1) antara *Lactobacillus bulgaricus* dengan *Streptococcus Thermophilus*, sebanyak 5% dari volume susu.
4. Kemudian diinkubasi suhu 45°C selama 3 jam atau suhu ruang selama 12 jam yang hasil akhirnya merupakan yoghurt. Untuk bisa bertahan lama

yoghurt disimpan pada suhu dingin dalam lemari es. Diagram alir proses pembuatan yoghurt dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 2. Diagram Alir Proses Pembuatan Yoghurt (Setiawan dan Nugroho, 1991)

2.9. Faktor - Faktor Yang Mempengaruhi Fermentasi Yoghurt

Proses fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor –faktor yang mempengaruhi fermentasi adalah :

1. Substrat (Medium)

Substrat/medium fermentasi menyediakan zat gizi yang diperlukan oleh mikroba untuk memperoleh energi, pertumbuhan, bahan pembentuk sel dan biosintesa produk-produk metabolisme. Berbagai macam substrat dapat dipakai untuk melangsungkan fermentasi yaitu serealia, pati, laktosa, glukosa

dan sukrosa sebagai sumber karbon, sedangkan asam amino, protein, nitrat, garam amonium, tepung kedelai dan sisa fermentasi sebagai sumber nitrogen. Selain untuk memenuhi pertumbuhan sel dan 14 pembentukan produk fermentasi, medium yang digunakan akan berpengaruh terhadap pH (Rahman, 1989).

2. Suhu

Suhu fermentasi menentukan jenis mikroba yang dominan selama fermentasi. Contohnya *Lactobacillus bulgaricus* yang termasuk dalam kelompok Bakteri Asam laktat, pada umumnya suhu pertumbuhan optimum 40° - 45°C, sedangkan khamir mempunyai suhu pertumbuhan optimum pada 20° - 30°C mempunyai pertumbuhan optimum fermentasi pada pembuatan 15 sayur asin sangat sensitif terhadap perubahan suhu. Jika konsentrasi asam yang diinginkan telah tercapai, maka suhu dapat dinaikkan untuk menghentikan fermentasi (Rahman, 1989).

3. Oksigen

Oksigen selama proses fermentasi diatur untuk memperbanyak atau menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Setiap mikroba memerlukan oksigen yang jumlahnya berbeda pertumbuhan atau membentuk sel-sel baru, dan untuk fermentasi. Misalnya ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) akan tumbuh lebih baik pada keadaan aerobik, tetapi akan melakukan fermentasi terhadap gula jauh lebih cepat pada keadaan anaerobik (Winarno *et al.*, 1980). *Lactobacillus bulgaricus* merupakan bakteri yang bersifat fakultatif anaerob (Ray, 2004).

4. Mikroba

Proses Fermentasi pada umumnya dilakukan dengan menggunakan kultur murni. Kultur ini dapat disimpan dalam keadaan kering atau dibekukan, misalnya kultur murni dari bakteri asam laktat untuk membuat keju. Kadang-kadang tidak digunakan kultur murni untuk fermentasi, tetapi menggunakan starter atau 17 laru (Winarno *et al.*, 1980). Mikroba yang digunakan dalam proses fermentasi yoghurt antara lain bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus Thermophilus* (Hidayat, 2006).

BAL dibagi menjadi dua kelompok yaitu bakteri *homofermentatif* dan bakteri *heterofermentatif*. Bakteri *homofermentatif* dengan produk utama adalah asam laktat melalui 18 glikolisis dan bakteri *heterofermentatif* memproduksi asam laktat dan sejumlah etanol, asam asetat, melalui jalur 6-phosphoglukanat/phosphoketolase. *Lactobacillus bulgaricus* termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat (BAL) *homofermentatif* dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat melalui fermentasi 1 mol glukosa menjadi 2 mol asam laktat sebagai berikut:



Lactobacillus bulgaricus merupakan bakteri gram positif, bentuk kokus atau batang yang tidak berspora. Suhu optimum pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* adalah 42°C - 45°C (Hidayat, 2006).

5. Waktu fermentasi

Waktu fermentasi tergantung dari berbagai hal, misalnya jenis mikroba yang digunakan, kondisi media, kadar gula, komposisi media, dan lain sebagainya. Menurut Santoso (2014), proses inkubasi yoghurt dilakukan selama 4-6 jam pada suhu 38-44°C atau selama 12 jam pada suhu 32°C.

3.0. Perubahan Selama Fermentasi Yoghurt

Selama proses fermentasi, bakteri asam laktat berperan aktif dalam proses perombakan pada bahan pembuatan yoghurt. Energi seluler BAL diperoleh dari fermentasi karbohidrat, untuk menghasilkan asam laktat sebagai produk utama. Perolehan energi seluler oleh BAL dilakukan melalui 2 jalur berbeda. Berdasarkan jalur metabolisme glukosa, BAL dibagi menjadi 2 kelompok yaitu BAL homofermenter dan heterofermenter. Homofermenter hanya menghasilkan laktat sebagai produk utama dari fermentasi glukosa. Bakteri homofermenter melakukan jalur glikolisis Emden Meyerhof-Panas (EMP), pada molekul 6 karbon glukosa difosforilasi dan diisomerasi sebelum didegradasi oleh enzim aldolase menjadi gliseraldehid-3-fosfat, kemudian diubah menjadi piruvat. Selama proses fosforilasi, dihasilkan 2 molekul ATP untuk setiap molekul glukosa yang difermentasi. Heterofermenter menghasilkan laktat, etanol atau asetat, dan karbondioksida dari glukosa. Heterofermenter tidak mempunyai enzim aldolase dan mengubah heksosa, glukosa menjadi pentose melalui serangkaian reaksi. Jalur homofermentasi dan heterofermentasi terlibat dalam oksidasi dan dekarboksilasi karbohidrat. Pentosa diuraikan menjadi gliseraldehid fosfat dan asetil fosfat oleh enzim

fosfoketolase. Selanjutnya, triosa fosfat dikonversi menjadi laktat seperti tahapan reaksi yang terjadi pada glikolisis untuk menghasilkan 2 molekul ATP (Sopandi dan Wardah, 2014).

Bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus* termasuk kedalam kelompok bakteri homofermentatif. Bakteri ini menghasilkan enzim aldolase dan menghasilkan biomassa sel dua kali lebih banyak daripada bakteri asam laktat heterofermentatif. Bakteri asam laktat mempunyai enzim *galactocidase*, *glycolase*, dan *lactate dehydrogenase* (LDH) yang menghasilkan asam laktat dari laktosa pada proses fermentasi. Bakteri *S. thermophilus* menghasilkan L-asam laktat dan *Lactobacillus* menghasilkan D-asam laktat (Akmar, 2006).

Kurva pertumbuhan bakteri terdiri dari fase lag, fase log (eksponensial) dan fase stasioner. Setiap fase tersebut akan mempengaruhi produk metabolisme yang dihasilkan. Fase eksponensial merupakan fase bakteri asam laktat menghasilkan produk metabolit primer berupa asam laktat, sedangkan fase stasioner akhir akan dihasilkan produk metabolit sekunder. Fase lag atau fase adaptasi terjadi sampai jam ke-3 masa inkubasi. Mikroba mula-mula akan mengalami fase lag untuk menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan sekitarnya setelah dipindahkan kedalam suatu media. Sel mengalami perubahan dalam komposisi kimia dan bertambahnya ukuran fase lag. Setelah fase lag selesai sel memasuki fase logaritma (eksponensial), pada fase ini reproduksi selular mulai berlangsung. Pada fase logaritmik, bakteri membelah dengan cepat dan konstan, pada fase ini

kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya seperti, pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban. Fase logaritmik pada keempat media berlangsung mulai jam ke-3 sampai jam ke-6, bakteri pada masing-masing media memiliki waktu generasi dan kecepatan pertumbuhan yang spesifik. Bakteri pada semua media memasuki fase akhir logaritmik pada jam ke-6 inkubasi. Saat memasuki fase stasioner, konsentrasi biomassa menjadi maksimal, jumlah sel cenderung stabil, dan peningkatan jumlah sel berhenti. Fase stasioner terjadi mulai jam ke-7 sampai jam ke-30 waktu inkubasi (Safitri, 2016).



BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Metode Eksperimental dengan percobaan di laboratorium.

3.2. Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan faktor tunggal yaitu lama fermentasi dalam pembuatan yoghurt kacang merah yang terdiri atas 5 perlakuan. Setiap perlakuan membutuhkan berat sampel 200 ml susu kacang merah dengan lama fermentasi sesuai perlakuan sebagai berikut :

F1 = 4 Jam

F2 = 6 Jam

F3 = 8 Jam

F4 = 10 Jam

F5 = 12 Jam

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali sehingga diperoleh 20 unit percobaan.

3.3. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan dalam beberapa tahap sebagai berikut :

- a. Tahap pertama, pembuatan kultur murni (inokulum) dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Mataram pada tanggal 01 - 04 Februari 2019.

- b. Tahap kedua, pembuatan susu kacang merah dilakukan di Laboratorium Teknologi Pengolahan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram pada tanggal 05 – 08 Februari 2019.
- c. Tahap ketiga, pembuatan yoghurt kacang merah dilakukan di Laboratorium Teknologi Pengolahan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram pada tanggal 09 Februari 2019
- d. Tahap keempat, uji sifat organoleptik (warna, aroma dan rasa) dilakukan di Laboratorium Teknologi Pengolahan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Mataram pada tanggal 10 Februari 2019.
- e. Tahap kelima, analisa total asam dan kadar pH dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar Universitas Muhammadiyah Mataram pada tanggal 11 Februari 2019 .
- f. Tahap keenam, analisa kadar protein dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik Universitas Mataram pada tanggal 12-18 Februari 2019.

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat Penelitian

a. Peralatan Pembuatan Yoghurt Kacang Merah

Adapun peralatan yang digunakan dalam proses pembuatan yoghurt kacang merah terdiri dari blender, baskom dan kain saring, dandang, sendok pengaduk, botol kaca, kompor, dan lemari pendingin.

b. Peralatan Analisa Yoghurt Kacang Merah

Adapun peralatan yang digunakan dalam analisa yoghurt kacang merah terdiri dari botol sampel, tabung reaksi, sendok, pH meter, timbangan analitik, buret, lampu bunsen, pipet mikro, gelas ukur, erlenmayer, inkubator, autoclave dan kertas pengujian organoleptik.

3.4.2. Bahan Penelitian

a. Bahan – bahan Pembuatan Yoghurt Kacang Merah

Adapun bahan yang digunakan dalam proses pembuatan yoghurt kacang merah terdiri dari biakan bakteri *Lactobacillus casei* dan *Streptococcus Termophilus*, susu skim bubuk merk tropikanaslim, gula merk gulaku dan susu kacang merah (*Dark Red Kidney Beans*).

b. Bahan - bahan Analisa Yoghurt Kacang Merah

Adapun bahan yang digunakan dalam menganalisa yoghurt kacang merah terdiri dari aquades, NaOH, dan indikator phenolphthalein (PP), Na₂SO₄ anhidrat, H₂SO₄, CuSO₄, aquadest, Zn, HCl dan fenolftalein 1 %.

3.5. Pelaksanaan Penelitian

3.5.1. Pembuatan Kultur Stater Tunggal

Adapun prosedur pembuatan kultur murni (Nizori, *et al.*, 2007) sebagai berikut:

a. Penyiapan Kultur Stok

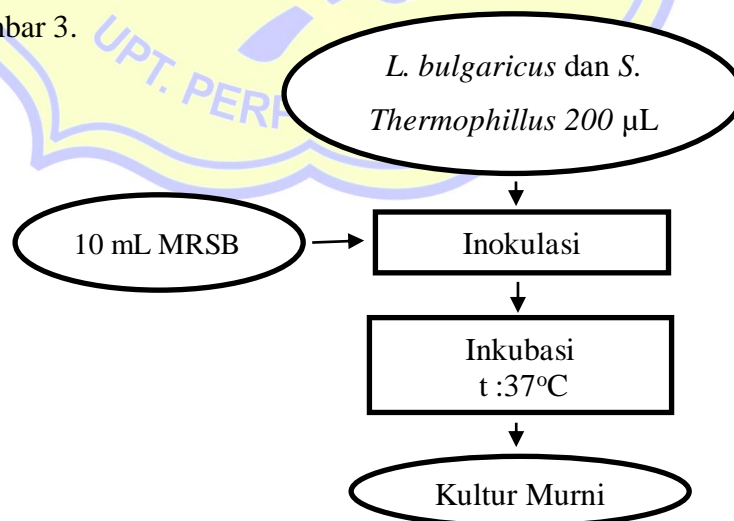
Kultur stok *L. Bulgaricus* dan *S. Thermophilus* diambil masing-masing sebanyak 200 µl menggunakan pipet mikro dan dimasukkan kedalam media *De Man Ragosa And Sharpe Broth* (MRSB) yang telah ada dalam cawan petri.

b. Inokulasi Kultur

Kultur tersebut selanjutnya diinokulasi kedalam 10 ml media *De Man Ragosa And Sharpe Broth* (MRSB) bertujuan untuk mengaktifkan mikroba kembali pada kondisi log fase.

c. Inkubasi

Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam tujuannya agar media yang ditumbuhkan mendapat suhu yang optimum untuk tumbuh dengan baik sehingga didapatkan mikroba yang diinginkan. Setelah inkubasi kemudian dihasikan kultur murni. Diagram alir proses pembuatan kultur murni dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Diagram Alir Proses Pembuatan Kultur Murni (modifikasi metode Nizori, *et al.*, 2007)

3.5.2. Pembuatan Kultur Induk

Adapun prosedur pembuatan kultur murni menurut (Nizori, *et al.*, 2007) sebagai berikut:

a. Pelarutan Kultur

Proses awal pembuatan kultur induk dimulai dengan melarutkan 20% susu skim (b/v) kedalam air sebanyak 200 mL selanjutnya diaduk sampai homogen didalam botol kaca.

b. Pasteurisasi

Selanjutnya dipasteurisasi dengan suhu 90°C selama 15 menit. Dengan tujuan agar media tidak terkontaminasi mikroba patogen yang dapat merusak proses fermentasi.

c. Pendinginan

Susu yang telah dipasteurisasi didinginkan sampai suhu 37°C, tujuannya agar mikroba yang ingin digunakan tidak rusak atau mati karena suhu ini merupakan suhu optimum pertumbuhan dari mikroba *L. Bulgaricus* dan *S. Thermophilus*.

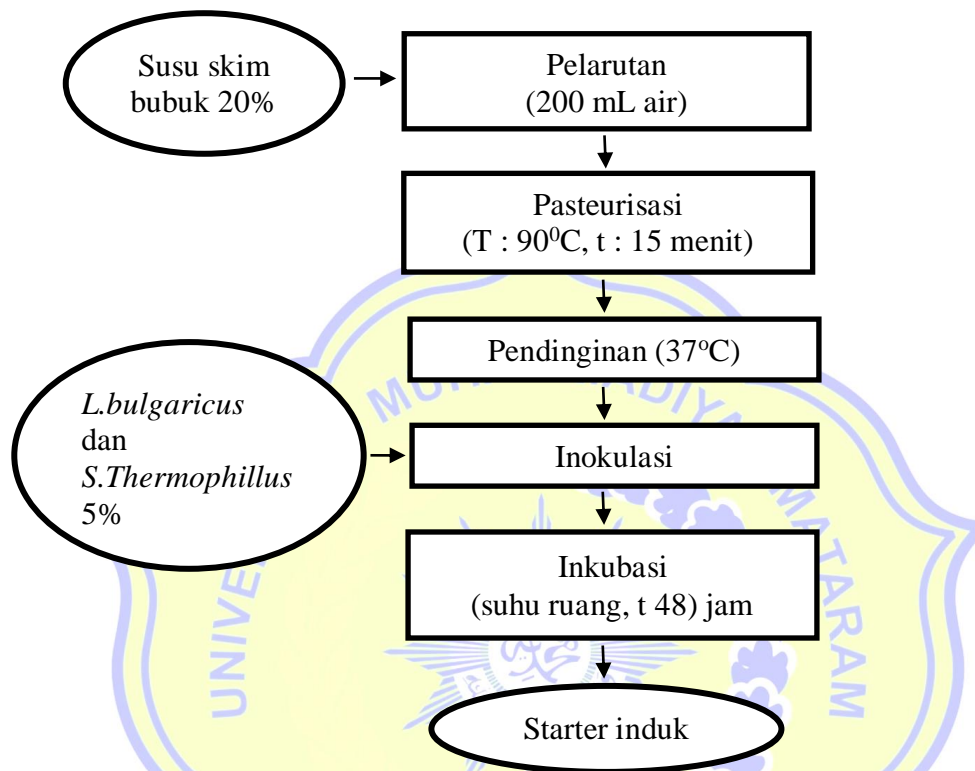
d. Inokulasi

Susu yang sudah bersuhu 37°C diberikan inokulum *Bulgaricus* dan *S. Thermophilus* 10 mL (5% dari volume susu skim) untuk memfermentasi susu skim menjadi kultur murni.

e. Inkubasi

Inokulum selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang, selama 24 jam pada tempat yang steril agar hasil fermentasi tidak mengalami

kerusakan. Setelah dilakukan proses inkubasi diperoleh kultur induk. Diagram alir proses pembuatan kultur induk dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram Alir Proses Pembuatan Kultur Induk (modifikasi metode Nizori, *et al.*, 2007).

3.5.3. Pembuatan Susu Kacang Merah

Tahapan proses pembuatan susu kacang merah sebagai berikut (Kunaepah, 2008) :

a. Penyortiran

Proses awal pembuatan susu kacang merah yaitu biji kacang merah disortir dan timbang sebanyak 500 gram dengan tujuan mendapatkan biji kacang merah dengan kualitas dan mutu terbaik

b. Perendaman

Kacang merah dicuci dan direndam. Proses perendaman dilakukan menggunakan baskom kecil yang berisi 2 liter air selama 8 jam untuk menghilangkan beberapa kotoran yang melekat dan juga meningkatkan kadar air agar mempermudah proses penggilingan.

c. Perebusan

Biji kacang merah yang telah direndam kemudian dikukus selama 45 menit agar melunakkannya dan mengurangi kontaminasi awal mikroba.

d. Penggilingan

Biji kacang merah bersih selanjutnya digiling menggunakan blender dengan air matang sebanyak 3500 ml/ 500 gr biji kacang merah.

e. Penyaringan

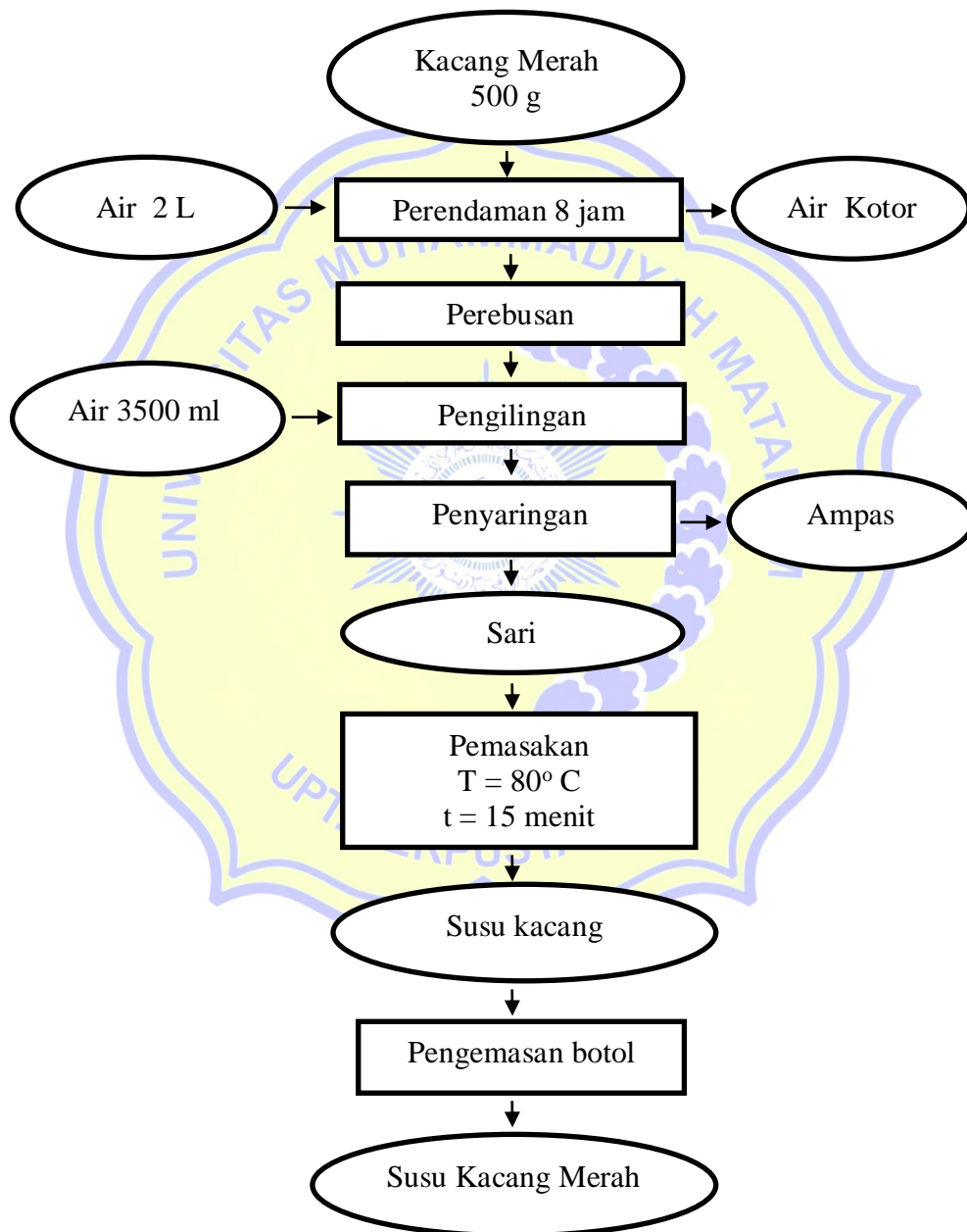
Bubur kacang merah selanjutnya disaring untuk diambil sarinya menggunakan kain saring mori yang sudah disterilkan dengan cara diperas hingga sarinya habis.

f. Pemasakan

Sari kacang merah hasil dari penyaringan dipasteurisasi selama 15 menit. Dengan tujuan mematangkan sari kacang merah sekaligus menginaktifkan enzim penyebab bau langu pada kacang merah.

g. Pengemasan

Susu kacang merah selanjutnya dikemas ke dalam botol kaca agar steril bertujuan untuk menghindari kontaminasi dari luar. Adapun tahapan proses pembuatan susu kacang merah dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Diagram Alir Proses Pembuatan Susu Kacang Merah (Modifikasi Kunaepah, 2008).

3.5.4. Pembuatan Stater Siap Pakai

Adapun tahap proses pembuatan stater siap pakai modifikasi metode (Andriani dan Khasanah, 2010) sebagai berikut :

a. Persiapan Susu kacang merah

Susu kacang merah disiapkan kemudian dipasteurisasi pada suhu 90°C selama 15 menit.

b. Pendinginan

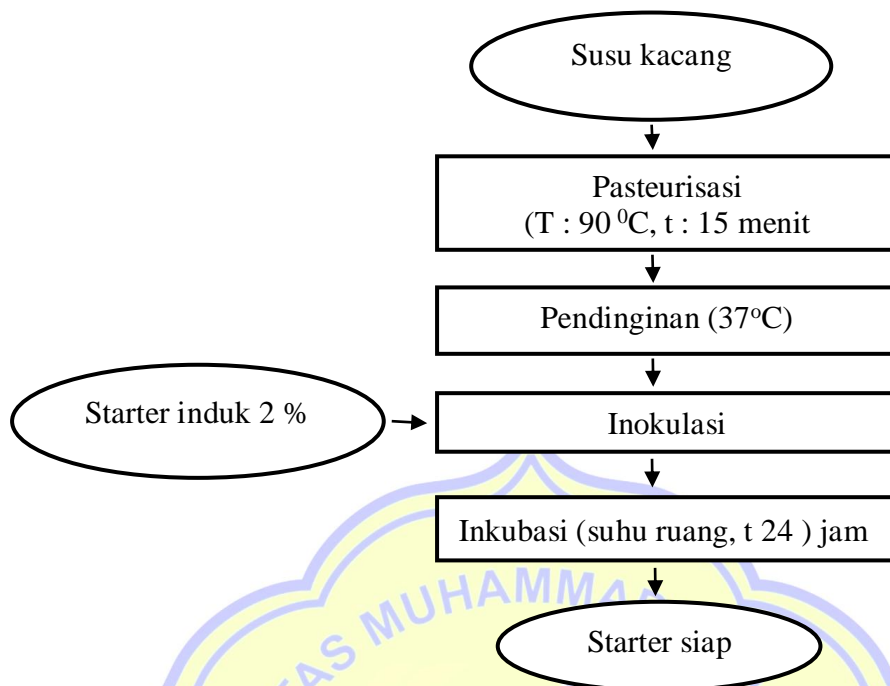
Susu kacang merah kemudian didinginkan sampai suhu 37°C bertujuan agar mikroba yang ingin diinokulasi tidak mengalami kematian karena ketidak sesuaian suhu.

c. Inokulasi

Susu kacang merah yang sudah dingin diinokulasi dengan stater induk 10%.

d. Inkubasi

Susu yang telah diberi starter kemudian di inkubasi selama 24 jam. Tujuannya agar mikroba tumbuh baik sehingga didapatkan mikroba yang diinginkan yaitu produk akhir kultur siap pakai. Diagram alir proses pembuatan kultur siap pakai yoghurt kacang merah dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram Alir Proses Pembuatan Kultur Siap Pakai (Modifikasi Andriani dan Khasanah, 2010)

3.5.5. Pembuatan Yoghurt Kacang Merah

Tahapan proses pembuatan yoghurt kacang merah modifikasi metode (Setiawan dan Nugroho, 1991) sebagai berikut :

a. Persiapan Bahan

Susu kacang merah 200 ml diambil dan dimasukkan dalam botol dengan volume 400 ml.

b. Pencampuran

Susu kacang merah tambahkan 10% (20 g) susu skim dan penambahan gula pasir 4-5% sebagai substrat pertumbuhan bagi *L.Bulgaricus* dan *S. Thermophilus* selama proses fermentasi.

c. Pasteurisasi

Setelah pencampuran, selanjutnya dilakukan proses pasteurisasi pada suhu 95°C selama 15 menit dengan tujuan membunuh mikroba lain yang dapat mengganggu proses fermentasi.

d. Pendinginan

Susu kacang merah selanjutnya didinginkan sampai suhu 37°C, tujuannya agar *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* yang ingin diinokulasi tidak mengalami kematian akibat suhu yang terlalu tinggi melewati batas suhu optimum.

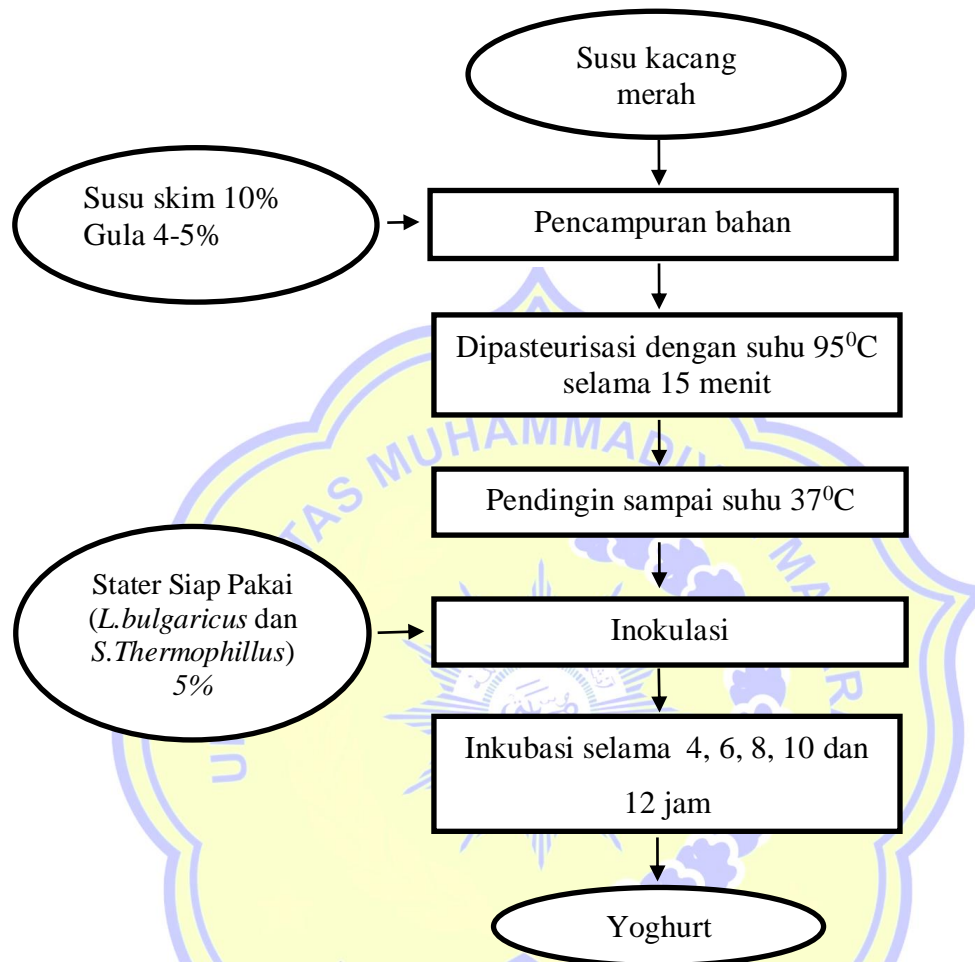
e. Inokulasi

Setelah dingin, susu kacang merah selanjutnya diinokulasi dengan starter siap pakai yaitu hasil penggenerasian *Lactobacillus bulgaricus* dan *S. thermophilus* (bibit baru). Starter siap pakai merupakan hasil campuran susu kacang merah dengan kultur induk. Pada tahap inokulasi ini, digunakan starter siap pakai 5%, tujuannya agar susu kacang merah terfermentasi menjadi produk yoghurt.

f. Inkubasi

Setelah inokulasi, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang sesuai perlakuan yaitu; 4 jam, 6 jam, 8 jam, 10 jam dan 12 jam. Dengan tujuan untuk mengetahui lama waktu proses fermentasi

terbaik. Adapun tahapan proses pembuatan yoghurt kacang merah dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Diagram Alir Proses Pembuatan Yoghurt Kacang Merah (Modifikasi Setiawan dan Nugroho, 1991)

3.6. Parameter Pengamatan dan Cara Pengamatan

3.6.1. Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi sifat kimia berupa total asam, kadar protein, derajat keasaman (pH) dan sifat organoleptik berupa warna, rasa, dan aroma.

3.6.2. Cara Pengamatan

Masing – masing pengamatan dilakukan dengan cara sebagai berikut :

a. Uji Total Asam

Penentuan nilai total asam pelarut dilakukan dengan tahap sebagai berikut (Hadiwiyoto, 1983) :

1. Sampel yoghurt kacang merah diambil masing – masing 10 ml dan ditambahkan 5 tetes indikator phenolphthalein (PP).
2. Masing – masing sampel dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga terbentuk warna merah muda yang stabil.
3. Kadar total asam ditentukan dengan formula sebagai berikut :

$$\text{Total asam} = \frac{V_1 \times N \times B}{V_2 \times 1000} \times 100\%$$

Ket:

V_1 = Volume NaOH (mL)

V_2 = Volume yoghurt (mL)

N = Normalitas

B = Berat molekul asam laktat (90)

b. Uji Kadar Protein

Penentuan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode Kjeldahl (Sudarmadji, *et.al.*, 2010), dengan prosedur sebagai berikut :

1. Diambil 5 ml sampel yoghurt kacang merah
2. Selanjutnya dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl dengan penambahan 10 g Na₂SO₄ anhidrat, 25 ml H₂SO₄ pekat dan 0,5 g CuSO₄ hingga homogen.
3. Selanjutnya destruksi dalam lemari asam sampai larutan berwarna jernih.
4. Hasil destruksi didinginkan dan ditambahkan 100 ml aquadest dan 1 g Zn serta NaOH 45% sampai larutan bersifat basa.
5. Selanjutnya larutan didestilasi pada penangas air, destilat ditampung dalam erlenmeyer 250 ml yang telah berisi 100 ml HCl 0,1 N dan beberapa tetes fenolftalein 1 %.
6. Proses destilasi dihentikan apabila volume destilat telah mencapai 150 ml.
7. Selanjutnya larutan dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N yang telah distandarisasi.
8. Perhitungan:

$$\text{Kadar N total} = \frac{B-S}{W} \times N \times 14,008 \times 100\%$$

$$\text{protein} = \% \text{ N} \times \text{faktor koreksi (6,25)}$$

Keterangan:

B = volume titrasi blanko (ml)

S = volume titrasi sampel (ml)

W = berat sampel (mg)

N = normalitas titran (0,1 N)

c. Uji Derajat Keasaman (pH)

Adapun prosedur mengukur pH suatu larutan (Apriyantino *et.al*, 1988) sebagai berikut :

1. Nilai pH ditentukan menggunakan pH meter.
2. sebelum dilakukan pengukuran, pH meter distandarisasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan penyangga pH 4,0 dan 7,0.
3. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap larutan sampel dengan mencelupkan elektrodanya kedalam larutan sampel dan di biarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil.

d. Uji Sifat Organoleptik

Pengujian organoleptik meliputi parameter warna, rasa dan aroma yang dilakukan secara indrawi. Pengujian organoleptik pada warna, rasa dan aroma dilakukan dengan metode uji hedonic dan skoring yang memiliki tahapan sebagai berikut (Rahayu, 1998):

1. Sampel yoghurt disiapkan dalam gelas plastik yang telah diberi notasi angka 3 digit secara acak.
2. Panelis agak terlatih sebanyak 20 orang dari mahasiswa teknologi hasil pertanian diminta untuk memberikan penilaian terhadap warna, rasa dan aroma dengan mengisi formulir yang telah disediakan.

3. Untuk metode hedonik panelis diminta memberikan penilaian berdasarkan tingkat kesukaan. Skor uji hedonik meliputi warna rasa dan aroma yang dinyatakan dalam angka 1 – 5
4. Sedangkan untuk metode skoring, panelis diminta memberikan penilaian berdasarkan sifat bahan pangan. Skor yang digunakan untuk uji hedonik dan skoring dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 4. Uji Hedonik dan Skoring Penilaian Sifat Organoleptik Yoghurt Kacang Merah

Parameter	Skor
Warna	1 = Putih 2 = Agak Putih 3 = Cream 4 = Agak Cokelat 5 = Cokelat
Aroma	1 = Sangat beraroma kacang merah 2 = Beraroma kacang merah 3 = Agak beraroma kacang merah 4 = Tidak beraroma kacang merah 5 = Sangat tidak beraroma kacang merah

Rasa	1 = Sangat tidak suka
	2 = Tidak suka
	3 = Agak suka
	4 = Suka
	5 = Sangat suka

3.7. Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis dengan menggunakan analisis keragaman (*Analysis of Variance* = ANOVA) pada taraf nyata 5%, bila terdapat perlakuan yang berbeda nyata maka diuji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata yang sama 5% (Yitnosumatro,1991).

