**PENGARUH LAMA FERMENTASI STARTER *LACTOCOCCUS LACTIS* DENGAN *STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS* TERHADAP KARAKTERISTIK MINUMAN PROBIOTIK *FRUITGHURT BLACK MULBERRY* (*Morus nigra L*.)**

**TUGAS AKHIR**

Diajukan untuk Memenuhi Syarat Sidang Sarjana

Jurusan Teknologi Pangan

**Oleh :**

**Yosi Hertianto**

**12.302.0337**

****

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN**

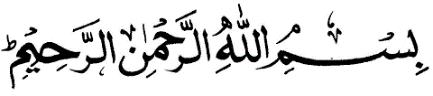
**FAKULTAS TEKNIK**

**UNIVERSITAS PASUNDAN**

**BANDUNG**

**2017**

# KATA PENGANTAR

****

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas berkat, rahmat dan nikmat-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan Bandung. Shalawat dan salam semoga senantiasa terlimpah curahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabatnya, Aamiin.

Laporan tugas akhir dengan judul **“Pengaruh Lama Fermentasi Starter *Lactococcus lactis* dengan *Streptococcus thermophilus* Terhadap Karakteristik Minuman Probiotik *Fruitghurt Black Mulberry* (*Morus nigra L*.)”** disusun untuk memenuhi persyaratan Tugas Akhir pada Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan Bandung.

Penulisan proposal ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Yusman Taufik, MP. selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, saran dan pengarahan kepada penulis selama penyusunan laporan penelitian tugas akhir.
2. Prof. Dr. Ir. H. M. Iyan Sofyan, M.Si. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, saran dan pengarahan kepada penulis selama penyusunan laporan penelitian tugas akhir,
3. Dra. Hj. Ela Turmala Sutrisno, M.Sc. selaku koordinator tugas akhir Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan Bandung.
4. Istiyati Inayah, S.Si., M,Si. Sebagai penguji yang telah banyak memberikan saran dan masukan kepada penulis.
5. Dosen, Karyawan, dan Staf Tata Usaha Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan Bandung.
6. Kedua orang tuaku Bapak Joko Aprianto dan Ibu Zulherti Zalaili yang senantiasa berdoa, memberikan motivasi dan tidak pernah lelah mendukung penulis baik secara moril maupun materil.
7. Kakak dan adikku tersayang Yogi Setiawan Vadhli dan Yoga Prabowo serta seluruh keluarga besar yang senantiasa memberikan perhatian, doa dan dukungannya.
8. Sahabat tersayang Teh Ayesha Nilam, Tiara Kurnia, Harfiana daristi, Dara Fonna, Gita Regina, Trisna Megawati, Dinda granitha, Dwi Putra Ardiriyanto, Alnabila Fasha, Habiburrohman, Yossy Aryanti, Habibah, Riska Wandi serta rekan-rekan di Laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan yang selalu meluangkan waktu untuk membantu, mendukung, menghibur dan memberikan motivasi serta memberi tawa dan warna setiap hari.

Semoga laporan Tugas Akhir ini dapat memberikan informasi sebagai kajian yang bermanfaat, khususnya untuk mahasiswa Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan, Bandung. Aamiin Ya Robbal ‘Alamin

Bandung, 20 Januari 2017

Penulis

# DAFTAR ISI

**Halaman**

[KATA PENGANTAR i](#_Toc472495149)

[DAFTAR ISI iii](#_Toc472495150)

[DAFRAR TABEL v](#_Toc472495151)

[DAFTAR GAMBAR vii](#_Toc472495152)

[DAFTAR LAMPIRAN ix](#_Toc472495153)

[ABSTRAK x](#_Toc472495154)

[ABSTRACT xi](#_Toc472495155)

[I PENDAHULUAN 1](#_Toc472495156)

[1.1. Latar Belakang 1](#_Toc472495157)

[1.2. Identifikasi Masalah 6](#_Toc472495158)

[1.3. Maksud dan Tujuan 6](#_Toc472495159)

[1.4. Manfaat Penelitian 6](#_Toc472495160)

[1.5. Kerangka Pemikiran 6](#_Toc472495161)

[1.6. Hipotesis 9](#_Toc472495162)

[1.7. Waktu dan Tempat 9](#_Toc472495163)

[II TINJAUAN PUSTAKA 10](#_Toc472495164)

[2.1. Buah Murbei (Morus nigra L.) 10](#_Toc472495165)

[2.2. Bakteri Asam Laktat 17](#_Toc472495166)

[2.2.1. *Streptococcus thermophilus* 17](#_Toc472495167)

[2.2.2. *Lactobacillus bulgaricus* 18](#_Toc472495168)

[2.2.3. *Lactococcus Lactis* 20](#_Toc472495169)

[2.3. Fermentasi 22](#_Toc472495170)

[2.4. Probiotik 23](#_Toc472495171)

[2.5. Fruitghurt 26](#_Toc472495172)

Halaman

[III BAHAN DAN METODE PENELITIAN 30](#_Toc472495173)

[3.1. Bahan dan Alat Percobaan 30](#_Toc472495174)

[3.1.1. Bahan-bahan yang digunakan 30](#_Toc472495175)

[3.1.2. Alat Yang Digunakan 30](#_Toc472495176)

[3.2. Metode Penelitian 31](#_Toc472495177)

[3.2.1. Penelitian Pendahuluan 32](#_Toc472495178)

[3.2.2. Penelitian Utama 32](#_Toc472495179)

[3.2.3. Rancangan Perlakuan 33](#_Toc472495180)

[3.2.4. Rancangan Percobaan 33](#_Toc472495181)

[3.2.5. Rancangan Analisis 35](#_Toc472495182)

[3.2.6. Rancangan Respon 36](#_Toc472495183)

[3.2.6.1. Respon Fisik 36](#_Toc472495184)

[3.2.6.2. Respon Kimia 36](#_Toc472495185)

[3.2.6.3. Respon Mikrobiologi 36](#_Toc472495186)

[3.3. Prosedur Penelitian 36](#_Toc472495187)

[IV HASIL DAN PEMBAHASAN 46](#_Toc472495188)

[4.1. Penelitian Pendahuluan 46](#_Toc472495189)

[4.1.1. Pembuatan Starter 46](#_Toc472495190)

[4.1.2. Penentuan Formulasi 54](#_Toc472495191)

[4.2. Penelitian Utama 58](#_Toc472495192)

[4.2.1. Fermentasi Dengan Starter Murni *L. lactis* dan *S. thermophilus* 58](#_Toc472495193)

[4.2.2. Fermentasi Dengan menggunakan Plain Yoghurt 67](#_Toc472495194)

[V. KESIMPULAN DAN SARAN 76](#_Toc472495195)

[5.1. Kesimpulan 76](#_Toc472495196)

[5.2. Saran 76](#_Toc472495197)

[DAFTAR PUSTAKA 77](#_Toc472495198)

[LAMPIRAN 81](#_Toc472495199)

# DAFRAR TABEL

**Halaman**

[1. Kandungan Nutrisi Buah Murbei dalam 100 gram 15](#_Toc470763205)

[2. Varietas Tanaman Murbei di Jawa Barat 16](#_Toc470763206)

[3. Kapasitas Produksi Beberapa Jenis Tanaman Murbei 16](#_Toc470763207)

[4. Syarat Mutu Produk Yogurt Menurut SNI 01-2981-1992 25](#_Toc470763208)

[5. Rancangan Pola Penelitian 34](#_Toc470763209)

[6. Pendataan Nilai Variabel Bebas dan Tidak Bebas 35](#_Toc470763210)

[7. Hasil Pembuatan Starter Kultur Murni 46](#_Toc470763211)

[8. Hasil Analisis Bahan Baku Murbei Hitam 48](#_Toc470763212)

[9. Analisis aktivitas jumlah sel bakteri pada starter kultur murni fruitghurt 50](#_Toc470763213)

[10. Konstribusi metabolisme *L. Lactis* untuk produk susu fermentasi dan kualitas mikrobiologi 52](#_Toc470763214)

[11, Hasil Analisis Penentuan Formulasi 54](#_Toc470763215)

[12. Hasil Analisi penelitian Utama Menggunakan Starter Kuktur *L. lactis* dengan *S. thermophilus* 58](#_Toc470763216)

[13. Analisi Lama Fermentasi Terhadap Asam Laktat 58](#_Toc470763217)

[14. Analisis Lama Fermentasi terhadap pH 61](#_Toc470763218)

[15,Analisi Lama Fermentasi terhadap Viskositas 66](#_Toc470763219)

[16. Hasil Penelitian Utama Menggunakan Starter Plain Yoghurt 67](#_Toc470763220)

[17. Analisis waktu fermentasi terhadap asam laktat menggunakan starter plain yoghurt 68](#_Toc470763221)

[18. Analisis waktu fermentasi terhadap pH menggunakan starter plain yoghurt 70](#_Toc470763222)

**Halaman**

[19. Analisis waktu fermentasi terhadap viskositas menggunakan plain yoghurt 71](#_Toc470763223)

[20. Analisis vitamin C Fruitghurt murbei hitam dengan starter alami dan starter plain yoghurt 72](#_Toc470763224)

[21. Hasil Analisis Penelitian Utama 95](#_Toc470763225)

# DAFTAR GAMBAR

**Halaman**

[1. Buah Murbei (Sunanto, 1997) 12](#_Toc472453920)

[2. Murbei Hitam (Grant, 2016) 13](#_Toc472453921)

[3. Murbei Merah (Grant, 2016) 13](#_Toc472453922)

[4 Murbei Putih (Grant, 2016) 14](#_Toc472453923)

[5 Bentuk Morfologi *Streptococcus thermophilus* (Waspodo,2001) 17](#_Toc472453924)

[6 Bentuk morfologi *Lactobacillus bulgaricus* (Chaitow dan Trener, 1990) 19](#_Toc472453925)

[7 Bentuk morfologi *Lactococcus lactis* 21](#_Toc472453926)

[8. Pemecahan Fruktosa Menjadi Asam Laktat 28](#_Toc472453927)

[9. Grafik. Regresi Linier 34](#_Toc472453928)

[10. Diagram Alir Penelitian Secara Umum 41](#_Toc472453929)

[11. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Tahap 1 Analisis Bahan Baku 42](#_Toc472453930)

[12. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Tahap 2 Pembuatan Starter 43](#_Toc472453931)

[13. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Tahap 3 Penentuan Formulasi 44](#_Toc472453932)

[14. Diagram Alir Penelitian Utama 45](#_Toc472453933)

[15. Kurva pertumbuhan mikroorganisme 49](#_Toc472453934)

[16. Grafik Pertumbuhan L.lactis dan S.thermophilus 49](#_Toc472453935)

[17. Grafik Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Asam Laktat 59](#_Toc472453936)

[18. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap pH 62](#_Toc472453937)

**Halaman**

[19. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Viskositas 66](#_Toc472453938)

[20.Grafik Kolerasi waktu fermentasi terhadap asam laktat 68](#_Toc472453939)

[21. Grafik kolerasi waktu fermentasi terhadap pH 70](#_Toc472453940)

[22. Grafik Kolerasi waktu fermentasi terhadap viskositas 71](#_Toc472453941)

[23. Grafik Pertumbuhan *L.lactis* dan *S.thermophilus* pada substrat cair 89](#_Toc472453942)

[24. Grafik korelasi asam laktat dan waktu fermentasi 95](#_Toc472453943)

[25. Grafik kolerasi waktu fermentasi dan pH 97](#_Toc472453944)

[26. Grafik kolerasi waktu fermentasi dan viskositas 99](#_Toc472453945)

[27. Grafik Jumlah Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* pada fermentasi susu pada 24 jam 103](#_Toc472453946)

# DAFTAR LAMPIRAN

**Halaman**

[1. Prosedur Penelitian 81](#_Toc470763251)

[2. Lampiran Hasil Analisis 86](#_Toc470763252)

[3. Formulasi Bahan 90](#_Toc470763253)

[4. Analisis Penentuan Kadar Asam Laktat setiap Formulasi 91](#_Toc470763254)

[5. Hasil Analisis Kadar Asam Laktat (Penelitian Utama) Menggunakan Starter Murni 93](#_Toc470763255)

[6. Hasil Analisis Kadar Vitamin C Penelitian Utama (Sampel Terpilih) 101](#_Toc470763256)

[7. Hasil Analisis Kadar Vitamin C Penelitian Utama (Sampel Terpilih Hari ke-3) 102](#_Toc470763257)

[8. Hasil Analisis Kadar Asam Laktat Menggunakan Starter Plain Yoghurt 104](#_Toc470763258)

[9. Hasil Analisis Kadar Vitamin C Penelitian Utama Menggunakan Starter Plain Yoghurt (Sampel Terpilih Hari ke-5) 109](#_Toc470763259)

[10. Analisis Uji Alkohol 112](#_Toc470763260)

# ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari waktu fermentasi yang optimum pada starter *Lactococcus lactis* dan *Streptococcus thermophillus* terhadap karakteristik minuman probiotik *fruitghurt* *black mulberry*.

Metode penelitian yang digunakan yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan yang dilakukan yaitu pembuatan starter *Lactococcus lactis* dan *Streptococcus thermophilus*, analisis bahan baku *black mulberry* (gula total) dan penentuan formulasi bahan. Penelitian utama yang dilakukan yaitu proses fermentasi formulasi buah murbei hitam yang terpilih dari penelitian pendahuluan serta menggunakan starter yang telah dibuat yaitu *Lactococcus lactis* dan *Streptococcus thermophilus*. terhadap lamanya proses fermentasi selama 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam, 120 jam, dan 144 jam. Respon dari penelitian ini adalah mengukur kandungan asam laktat, pH (derajat keasaman), dan viskositas yang dipengaruhi oleh lamanya fermentasi

Hasil penelitian menunjukkan bahwa analisis bahan baku buah murbei hitam memiliki kandungan gula total sebesar 15,65%. Berdasarkan pada pembuatan starter *Lactococcus lactis* dan *Streptococcus thermophilus* didapatkan bahwa jumlah sel mengalami kenaikan pada setiap jamnya. Formulasi yang terpilih pada penelitian pendahuluan yaitu dengan perbandingan 2 : 1 (buah murbei hitam : air) yang di dapatkan dengan nilai kadar asam laktat sebesar 1,796%. Perbedaan lamanya fermentasi berpengaruh pada kandungan asam laktat, pH, dan viskositas. Dimana waktu fermentasi yang optimum adalah pada waktu 72 jam dengan kadar asam laktat 1,08%, pH 3,86 dan viskositas 125 mPas.

Kata kunci : *black mulberry, Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, lama fermentasi, fruitghurt.

# ABSTRACT

*The purpose of this research was to find the optimum fermentation time of starter Lactococcus lactis and Streptococcus thermophillus toward the characteristics of probiotic drinks fruitghurt black mulberry.*

*The reasearch methods consists of two phases : a preliminary study and main study. The preliminary study did starter Lactococcus lactis and Streptococcus thermophiles, did the analysis raw materials of black mulberry (total sugars) and the determination of black mulberries formulations. The main study did the fermentation process of formulation selected from the preliminary study and the use the starter Lactococcus lactis and Streptococcus thermophilus has been made, the duration of the fermentation process for 24 hours, 48 hours, 72 hours, 96 hours, 120 hours and 144 hours. The response of this study was to measure the lactic acid content, pH (acidity), and viscosity are influenced by the duration of fermentation*

*The results of this research showed that the analysis of the raw materials of black mulberries have a total sugar content of 15.65%. Based on th starter Lactobacillus lactis and Streptococcus thermophilus was found that the total number of cells has increased in every hour. Formulations were selected in the preliminary study that is a ratio of 2: 1 (mulberry black: water) is in getting the value of lactic acid levels of 1.796%. Differences in duration of effect on the fermentation of lactic acid content, pH and viscosity. Where the optimum fermentation time is at a time of 72 hours with 1.08% lactic acid levels, pH 3.86 and viscosity 125 mPas.*

*Keywords: black mulberry, Lactococcus lactis, Streptococcus thermophilus, long fermentation, fruitghurt.*

# I PENDAHULUAN

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Latar Belakang, (2) Identifikasi Masalah, (3) Tujuan Penelitian, (4) Manfaat Penelitian, (5) Kerangka Pemikiran, (6) Hipotesis Penelitian, dan (7) Tempat dan Waktu.

## Latar Belakang

*Yoghurt* adalah salah satu produk olahan pangan bersifat probiotik yang mengandung bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophillus*. *Yoghurt* merupakan produk berbahan baku susu yang di dalamnya telah ditambahkan bentuk padatan susu bukan lemak yang kemudian dipasteurisasi dan difermentasi oleh campuran bakteri asam laktat (BAL), yang biasa digunakan adalah *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* (LB) dan *Streptococcus salivarus ssp. thermophilus* (ST), sehingga diperoleh tekstur semisolid, tingkat keasaman, bau, dan rasa yang khas (Wong et al., 1988).

Saat ini, produk *yoghurt* semakin digemari oleh masyarakat karena masyarakat semakin menyadari arti kesehatan. Oleh karena itu, permintaan terhadap *yoghurt* sebagai minuman probiotik berkembang pesat. Tingginya tingkat konsumsi masyarakat akan *yoghurt* menyebabkan produsen *yoghurt* mencoba memproduksi *yoghurt* dengan berbagai rasa yang dapat menarik perhatian konsumen. Salah satu alternatif yang dapat digunakan ialah melakukan diversifikasi terhadap buah murbei hitam yang diambil ekstraknya dan ditambahkan ke dalam *yoghurt* sebagai pewarna alami, penambah aroma, dan *flavor* pada *yoghurt*.

Penelitian kali ini memilih untuk membuat minuman probiotik yang mengandung bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophillus*. Minuman probiotik umumnya menggunakan susu tetapi seiring berjalannya waktu banyak kalangan yang memilih untuk menjadi vegetarian sehingga tidak dapat mengkonsumsi minuman yang berasal dari hewani.

Minuman probiotik saat ini tinggi akan permintaan pasar. Contoh dari minuman probiotik yaitu *yoghurt*. *Yoghurt* merupakan hasil dari fermentasi susu menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophillus* menghasilkan asam laktat. Semakin tinggi permintaan pasar maka masyarakat semakin sadar akan pentingnya menjaga kesehatan usus untuk pencernaan.

Pembuatan *yoghurt* umumnya memerlukan waktu 3-5 jam untuk memfermentasi yang dapat mengubah laktosa pada susu menjadi asam laktat yang lebih sederhana sehingga mudah untuk dicerna. Waktu fermentasi sangat mempengaruhi keberhasilan dari bakteri asam laktat dalam merubah struktur laktosa maupun karbohidrat yang terkandung pada bahan.

Salah satu faktor yang mempengaruhi mutu *yoghurt* adalah mutu kultur starter yang digunakan, dalam hal ini adalah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophillus.* Kedua bakteri ini aktivitasnya sangat dipengaruhi oleh pH dan suhu inkubasi (Anjarsari, 2010).

Starter yang ditambahkan pada pengolahan *yoghurt* mempunyai dua peranan, yaitu sebagai pembentuk asam yang menyebabkan rasa dan aroma yang khas, serta sebagai pembentuk komponen-komponen cita rasa seperti karbonil, asetaldehid, aseton, asetoin, dan diasetil (Anjarsari, 2010).

Kedua jenis bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophillus* selalu digunakan untuk mempercepat pembentukan asam, banyaknya asam laktat yang diproduksi, konsistensi koagulum dan intensitas citarasa (*flavor)*. Kerja sama antara dua organisme itu merupakan suatu simbiosis. Pembentukan asam lebih besar bila digunakan kultur-kultur campuran kedua bakteri itu dalam rasio 1:1 daripada kultur itu sendiri-sendiri (Anjarsari, 2010).

Umumnya *yoghurt* berbahan dasar susu sehingga bagi kelompok vegetarian tidak dapat mengkonsumsi *yoghurt*. Sehingga alternatif yang digunakan agar *yoghurt* dapat dikonsumsi semua kalangan yaitu dengan pembuatan minuman probiotik *non diary milk*.

Salah satu produk pangan fungsional yang banyak beredar luas di pasaran adalah produk pangan fermentasi yang mengandung probiotik. Probiotik merupakan mikrobia hidup yang dapat mempengaruhi kesehatan dengan cara menyeimbangkan mikrobia dalam usus serta menghambat pertumbuhan mikrobia patogen. Adanya asam laktat sebagai metabolit bakteri asam laktat dapat menghalangi pertumbuhan bakteri pathogen (Retnowati, 2014).

Minuman probiotik mengandung mikroba yang bermanfaat dan turut berfungsi dalam pencernaan manusia, yaitu *Befidobacterium* yang banyak di jumpai pada produk-produk pangan dan minuman seperti salami, yakult, yoghurt, keju dan lain-lain. Bakteri lain yang termasuk bakteri probiotik dan sudah melalui uji klinis adalah *Lactobacillus casei* dan *L. acidophilus* (Sukotjo, 2003).

Mikroba probiotik tahan terhadap enzim air liur dan enzim pemecah dinding sel, serta asam dan asam empedu, sehingga mampu sampai ke usus dalam keadaan hidup. Selanjutnya, mikroba tersebut akan melekat pada sel epithelial pada saluran pencernaan dan berperan dalam proses pencernaan (Sukotjo, 2003).

Selain kandungan mikroba, minuman probiotik juga sangat bermanfaat dalam menambah nutrisi dan mineral yang dibutuhkan oleh tubuh. Hal tersebut dapat terpenuhi karena bahan dasar yang digunakan yaitu whey masih mengandung materi-materi (nutrisi dan mineral) yang dibutuhkan tubuh (Sukotjo, 2003).

Minuman probiotik *Fruitghurt* Murbei merupakan kombinasi dari sari buah murbei dengan bakteri probiotik. Bakteri probiotik yang umumnya digunakan yaitu bakteri asam laktat *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus.*

Murbei hitam (*Morus nigra L*.) merupakan buah yang banyak ditemukan di Indonesia. Tanaman murbei dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian 300–800 meter diatas permukaan laut sehingga tanaman murbei ini banyak dibudidayakan di propinsi Jawa Barat dengan kapasitas produksi 10-12 ton pertahun dengan varietas Multicaulis, varietas Kanya tersebar di Jawa Barat dan Sulawesi Selatan dengan jumlah produksi 12-18 ton pertahun, varietas Nigra tersebar di Jawa Timur dan Sulawesi Selatan dengan jumlah produksi 5-8 ton pertahun, varietas katayana tersebar di Jawa Barat dan Sulawesi Selatan dengan jumlah produksi 10-12 ton pertahun, serta varietas Alba tersebar di Sulawesi Selatan dengan jumlah produksi 8-10 ton pertahun (Dalimartha, 2002).

Buah murbei hitam (*Morus nigra*) kaya akan vitamin,seperti vitamin B, B, dan C dan juga mengandung antosianin yang dapat berperan sebagai antioksidan bagi tubuh manusia. Antosianin adalah pewarna alami yang berasal dari familia flavonoid yang larut dalam air yang menimbulkan warna merah, biru, violet.

Pemilihan murbei hitam sebagai bahan dasar pembuatan fruitghurt yaitu untuk memanfaatkan buah murbei menjadi olahan yang lebih beragam. Selain itu buah murbei memiliki kandungan nutrisi yang cukup baik dan memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi sehingga dapat terfermentasi menjadi asam laktat.

Murbei (*Morus nigra L.*) adalah tanaman berumur panjang (*perennial*) dan secara alami dapat beradaptasi dengan baik pada berbagai jenis tanah. Murbei selalu dihubungkan dengan industri serikultur di mana kualitas dan jumlah produksi daunnya adalah sangat penting untuk ulat sutra. Daun murbei sangat disukai dan mudah dicerna oleh ternak herbivora dan dapat pula digunakan sebagai pakan ternak monogastrik. Murbei (*Morus nigra l.*) adalah tanaman pohon yang mempunyai nilai gizi yang sangat bagus dan mempunyai kandungan protein kasar yang tinggi yaitu 22,9-25,6% (Saddul *et al.*, 2004).

Buah murbei hitam ini dapat diolah menjadi berbagai macam produk pangan maupun ditambahkan ke dalam produk pangan. Salah satu produk pangan yang dapat ditambah murbei hitam adalah yogurt. Penambahan ekstrak buah murbei hitam dalam pembuatan produk yogurt akan memberikan warna ungu, dan memberikan cita rasa asam yang khas. Pada pembuatan fruitghurt bubur buah murbei hitam ditambahkan starter *Lactobacillus bulgaricus dan Streptococcus thermophilus* sehingga dapat menghasilkan minuman probiotik

## 1.2. Identifikasi Masalah

Apakah lama fermentasi starter *Lactococcus lactis* dan *Streptococcus thermophilus* dapat berpengaruh terhadap karakteristik minuman probiotik *fruitghurt* Murbei ?

## 1.3. Maksud dan Tujuan

Maksud dari penelitian ini adalah melakukan kajian terhadap bubur buah murbei dengan starter Bakteri asam laktat dalam menghasilkan minuman probiotik.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari waktu fermentasi yang optimum pada starter *Lactococcus lactis* dan *Streptococcus thermophillus* terhadap karakteristik minuman probiotik *fruitghurt* *black mulberry*.

## 1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian tersebut meliputi :

1. Memanfaatkan buah murbei sebagai buah yang memiliki kandungan nutrisi yang tinggi.
2. Memberi alternatif minuman probiotik kepada masyarakat untuk yang tidak dapat mengkonsumsi susu maupun berbahan dasar hewani.
3. Dapat meningkatkan daya guna murbei yang terlewat masak sehingga dapat diolah menjadi produk yang memiliki umur simpan lebih lama
4. Meminimalkan zat allergen dan rendah lemak

## 1.5. Kerangka Pemikiran

Menurut Ardiyawati dan Fitriyah, 2015 dalam penelitian pengaruh waktu inkubasi terhadap kadar asam laktat dalam pembuatan fruitghurt dari kulit buah semangka, menyatakan bahwa *Fruitghurt* merupakan produk makanan hasil fermentasi sari buah-buahan yang berupa cairan kental hingga semi padat dengan cita rasa asam yang tertentu.

Penentuan waktu inkubasi fermentasi *fruitghurt* dari kulit buah semangka dihasilkan waktu inkubasi optimum selama hari ke-5 yaitu terjadinya pembentukan gas dimulai pada hari kedua dan bau asam yang khas dimulai pada hari kedua. Kadar asam laktat maksimum sebesar 1,31 %. Hasil ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk kadar asam laktat probiotik susu (*Yoghurt*) yaitu sebesar 0,5 % - 2,0 %. Keasaman dari sari buah yang difermentasi pada umumnya cukup untuk mencegah kerusakan oleh bakteri proteolitik yang tidak tahan asam (Kusmayadi, 1994).

Hasil penelitian silalahi (2009) yang berjudul fermentasi *fruitghurt* dengan variasi kulit buah upaya dalam pemanfaatan limbah cair buah, menyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi *fruitghurt*, maka asam laktat yang dihasilkan semakin banyak sehingga kesempatan aktivitas mikroba dalam menghasilkan asam laktat semakin besar.

Menurut Retnowati (2014) dalam penelitian yang berjudul Pembuatan Minuman Probiotik Sari Buah Kurma (*Phoenix Dectylifera*) dengan Isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. Produk yang dikatakan sebagai probiotik harus mengandung bakteri probiotik dengan jumlah minimal 107cfu/ml. Bakteri tersebut harus tahan terhadap pengolahan, tahan terhadap garam empedu, mampu melewati asam lambung dengan pH berkisar 3-5, dan mampu bertahan hidup di dalam saluran pencernaan sehingga dapat memberikan efek kesehatan yang baik bagi tubuh. Potensi inilah yang menjadi alasan bakteri asam laktat, khususnya *Lactobacillus* digunakan sebagai agensi probiotik (Retnowati, 2014).

Menurut Azmi dkk, (2015) dalam penelitian Ekstraksi Antosianin Buah Murbei Metode MAE menunjukkan Kadar antosianin pada buah murbei cukup tinggi berkisar antara 147.68 hingga 2725.46 mg/100gr. Tumbuhan ini dibudidayakan karena daunnya digunakan untuk makanan ulat sutra sehingga buah murbeinya sendiri kurang termanfaatkan.

Menurut sumantri (2004) dalam penelitian yang berjudul pemanfaatan mangga lewat masak menjadi *fruitghurt* dengan mikroorganisme *Lactobacillus bulgaricus,* menyatakan bahwa kadar asam laktat yang dicapai paling maksimal pada pembuatan fruitghurt mangga dengan fermentor *Lactobacillus bulgaricus* terjadi pada suhu 40oC dengan waktu fermentasi 24 jam, sedangkan kadar asam laktat paling rendah terjadi pada suhu 30oC dengan waktu fermentasi 24 jam.

Menurut Ikhsan dan Yulyanti (2015) dalam penelitian berjudul fermentasi fruitghurt dengan varias kulit buah, menyatakan bahwa campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan perbandingan 1:1 dalam fruitghurt kulit mangga dengan waktu 96 jam menghasilkan asam laktat yang lebih banyak yaitu dengan kadar asam laktat 1,36% dibanding asam laktat yang dihasilkan oleh campuran starter dengan perbandingan 0:1 dan 1:0.

Menurut Azmi dkk (2015) dalam penelitian Ekstraksi Antosianin Buah Murbei Metode MAE menyatakan murbei sangat berpotensi, yaitu pada bagian buah yang memiliki zat aktif antosianin sebagai antioksidan. Ditinjau dari komposisi kimiawi buahnya, tanaman murbei memiliki senyawa-senyawa penting yang menguntungkan bagi kesehatan manusia. Diantaranya adalah kandungan cyanidin yang berperan sebagai antosianin, insoquercetin, sakarida, asam linoleat, asam stearat, asam oleat, dan vitamin (karotin, B1, B2, C). Keunggulan yang dimiliki tersebut menjadikan tanaman ini berpotensi untuk diolah menjadi produk pangan fungsional yang memiliki nilai tambah di masyarakat.

## 1.6. Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran diatas dapat ditarik hipotesis penelitian ini terdapat pengaruh lamanya waktu fermentasi starter *Lactococcus lactis* dan *Streptococcus thermophilus* terhadap karakteristik minuman probiotik *Fruitghurt* Murbei (Morus nigra L.).

## 1.7. Waktu dan Tempat

Tempat yang akan digunakan untuk penelitian pembuatan Minuman Probiotik Fruitghurt Murbei akan dilakukan di Laboratorium Penelitian Universitas Pasundan Bandung. Waktu penelitian dibulan Oktober-November.

# II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Buah Murbei (2) *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*, (3) Fermentasi, (4) *Fruitghurt,*  dan (5) Probiotik.

## 2.1. Buah Murbei (*Morus nigra L*.)

Murbei merupakan tumbuhan yang berasal dari cina dan tumbuh baik , pada ketinggian lebih dari 100 m dari permukaan laut, dan memerlukan cukup sinar matahari. Tumbuhan ini telah banyak dibudidayakan dan menyukai daerah-daerah yang cukup basah seperti lereng gunung, tetapi pada tanah yang berdrainase baik (Dalimartha, 2002).

Tumbuhan murbei kadang ditemukan tumbuh liar. Tinggi pohon tumbuhan ini maksimal 9 m, percabangan banyak, cabang muda berambut halus, daun tunggal, letak berseling, dan bertangkai yang panjangnya 1-4 cm. Helai daun tumbuhan murbei bulat telur sampai berbentuk jantung, ujung meruncing, pangkal tumpul, tepi bergigi, pertulangan menyirip agak menonjol, permukaan atas dan bawah kasar, panjang 2,5-20 cm, lebar 1,5-12 cm, dan berwarnanya hijau. Bunga tanaman murbei majemuk bentuk tandan, keluar dari ketiak daun, mahkota berbentuk taju, warnanya putih. Dalam satu pohon tanaman murbei terdapat bunga jantan, bunga betina dan bunga sempurna yang terpisah. Murbei berbunga sepanjang tahun. Buahnya banyak berupa buah buni, berair dan rasanya enak, buah muda berwarna hijau, setelah masak jadi hitam (Dalimartha, 2002).

Sedangkan menurut Dalimartha (2000) bahwasanya tumbuhan murbei (Morus alba L.) dapat tumbuh hingga 9 meter, percabangannya banyak, cabang muda, berambut halus, daun tunggal, letak berselang dan bertangkai dengan panjang 1-4 cm. Helai daun berbentuk bulat telur sampai berbentuk jantung, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, pertulangan menyirip, agak menonjol, permukaan atas dan bawah kasar, panjang 2,0-2,5 cm serta berwarna hijau. Bunga majemuk berbentuk tandan, keluar dari ketiak daun, mahkota berbentuk tajuk dan berwarna putih. Dalam satu pohon terdapat bunga jantan, bunga betina dan bunga

sempurna yang terpisah, selain itu tanaman murbei dapat berbunga sepanjang tahun.

Pada saat masa pertumbuhan, panjang daunnya dapat mencapai 30 cm dan terdapat banyak lobus sedangkan pada saat dewasa, panjang daunnya hanya mencapai 5-15 cm serta tidak memiliki lobus. Daunnya selalu gugur di musim gugur serta selalu hijau di daerah beriklim tropis.

Sistematika tanaman murbei (*Morus sp*.) menurut Sunanto (1997) adalah sebagai berikut :

Divisi : *Spermatophyta*

Sub-Divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledenoleae*

Ordo : *Urticalis*

Family : *Moreceae*

Genus : *Morus*

Spesies : *Morus nigra L.*

Murbei dikenal dengan nama umum sebagai besaran Jawa Tengah, Jawa Timur dan Bali), kertu (Sumatera Utara), gertu (sulawesi), kitaoc (Sumatera Selatan), kitau (Lampung), moerbei (Belanda), mulberri (Inggris), gelsa (Italia), Murles Prancis) (Sunanto, 1997). Buah murbei dapat dilihat pada Gambar 1.

|  |
| --- |
| http://1.bp.blogspot.com/-gdFR8iRuI0k/UttwAPbmHkI/AAAAAAAABXg/WhSozO5kJZA/s1600/daun-murbei1.jpg |

Gambar 1. Buah Murbei (Sunanto, 1997)

Menurut Duke, 1983 tanaman murbei dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah dengan kadar keasaman yang tidak terlalu tinggi (pH optimum 6,5). Selain itu, kelembaban udara sekitar 65-68%. Jenis murbei kanva dapat tumbuh subur pada daerah dengan curah hujan 635-2500 mm/th.

Murbei dikenal juga sebagai tumbuhan sutra karena dapat dijadikan tempat hidup ulat sutra. Selain bermanfaat dalam memproduksi sutra, secara empiris masyarakat telah memanfaatkan murbei sebagai obat tradisional untuk flu, malaria, hipertensi, asma, obat hipertensi, palpitasi, iabetes, insomnia, vertigo, anemia, hepatitis dan diabetes melitus (Hariana, 2008).

Murbei mengandung antosianin, yakni sejenis antioksidan tinggi yang dapat membantu mempertahankan kekebalan tubuh, mencegah kanker, dan diabetes.  Tingginya kadar vitamin C dan flavonoid merupakan suplemen yang baik untuk mengatasi penyakit flu dan kekebalan tubuh.

Ada tiga spesies buah murbei yang banyak ditanam di berbegai dunia, diantaranya :

1. Murbei hitam : buah jenis berry yang paling banyak mengeluarkan aroma berasal dari murbei hitam (*Morus nigra*). Pohon-pohon ini adalah tanaman asli Asia barat dan hanya beradaptasi dengan USDA zona 6 dan beriklim hangat. Buah murbei hitam dapat dilihat pada Gambar 2.

|  |
| --- |
| https://lh6.googleusercontent.com/-D42w_OB3O_Y/VMJGj0Y8KPI/AAAAAAAAFFA/QL2Cl-u99go/w350-h335/murbei.jpg |

Gambar 2. Murbei Hitam (Grant, 2016)

1. Murbei merah

|  |
| --- |
| http://g01.a.alicdn.com/kf/HTB1i89ZKFXXXXbdXpXXq6xXFXXXO/500pcs-a-lot-rare-font-b-red-b-font-font-b-mulberry-b-font-font-b.jpg |

Gambar . Murbei Merah (Grant, 2016)

Enis murbei ini lebih tahan terhadap iklim dari *mulberry* hitam, *mulberry* merah (*Morus rubra*) adalah asli Amerika Utara dimana mereka berkembang di dalam tanah yang kaya mineral. Murbei merah banyak ditemukan di sepanjang Bottomlands dan sungai. Buah murbei merah dapat dilihat pada Gambar 3.

1. Murbei putih : mulberry putih (Morus alba tatarica) yang diimpor dari China, diperkenalkan ke Amerika kolonial untuk produksi ulat sutera. murbei putih diperuntukan untuk pangan ulat sutra sejak naturalisasi dan hibridisasi dengan murbei merah asli. Selain itu, Murbei putih mengandung asam organik, vitamin C, karoten, pektin dan serat. Satu studi yang dilakukan di University of Texas mengungkapkan bahwa murbei putih mengandung resveratol yang fenol alami dan efisien dalam memerangi beberapa bentuk kanker dan penyakit jantung. Buah murbei putih dapat dilihat pada Gambar 4.

|  |
| --- |
| http://i00.i.aliimg.com/wsphoto/v0/32270816414_1/Garden-Fruit-font-b-Tree-b-font-Rare-Plants-Gifts-White-font-b-Mulberry-b-font.jpg |

Gambar 4 Murbei Putih (Grant, 2016)

Tabel 1. Kandungan Nutrisi Buah Murbei dalam 100 gram

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| See the table below for in depth analysis of nutrientsn Mulberry (*Morus nigra .L*), Fresh, raw, Nutrition Value per 100 g, ([www.nutrition-and-you.com](http://www.nutrition-and-you.com))  (Source: USDA National Nutrient data base) | | |
| **Rinciple** | **Nutrient Value** | **Percentage of RDA** |
| Energy | 43 Kcal | 2% |
| Carbohydrates | 9.80 g | 7.5% |
| Protein | 1.44 g | 2.5% |
| Total Fat | 0.39 g | 2% |
| Cholesterol | 0 mg | 0% |
| Dietary Fiber | 1.7 g | 4.5% |
| **Vitamins** |  |  |
| Folates | 6 µg | 1.5% |
| Niacin | 0.620 mg | 4% |
| Pyridoxine | 0.050 mg | 4% |
| Riboflavin | 0.101 mg | 8% |
| Vitamin A | 25 IU | 1% |
| Vitamin C | 36.4 mg | 61% |
| Vitamin E | 0.87 mg | 6% |
| Vitamin K | 7.8 µg | 6.5% |
| **Electrolytes** |  |  |
| Sodium | 10 mg | 0.75% |
| Potassium | 194 mg | 4% |
| **Minerals** |  |  |
| Calcium | 39 mg | 4% |
| Copper | 60 µg | 6.5% |
| Iron | 1.85 mg | 23% |
| Magnesium | 18 mg | 4.5% |
| Selenium | 0.6 µg | 1% |
| Zinc | 0.12 mg | 1% |
| **Phyto-nutrients** |  |  |
| Carotene-ß | 9 µg | -- |
| Carotene, a | 12 µg | -- |
| Lutein-zeaxanthin | 136 µg | -- |

(Sumber : USDA National Nutrient data base, 2009)

Murbei mengandung nutrisi penting yang dapat meningkatkan kesehatan. Nutrisi dalam murbei meliputi protein, karbohidrat serta vitamin dan mineral seperti kalsium, fosfor, kalium, magnesium, potassium, dan serat. Kandungan air yang tinggi pada murbei juga menjadikannya sebagai buah yang rendah kalori. Satu cangkir murbei sama dengan 60 kalori.

Beberapa varietas tanaman murbei yang tumbuh dan berkembang dengan baik di Jawa Barat disajikan dalam tabel 3.

Tabel 2. Varietas Tanaman Murbei di Jawa Barat

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| No | Varietas | Species | Negeri asal | Tinggi dpl |
| 1 | Kanva-2 | *M. bombycis* | India | 400 – 1200 |
| 2 | Cathayana | *M. alba* | Jepang | 200 – 500 |
| 3 | Multicaulis | *M. multicaulis* | Jepang | 700 – 1200 |
| 4 | Lembang | *M. bombycis* | Indonesia | 200 – 500 |
| 5 | Khunpai | *M. bombycis* | Tahilan | 200 – 500 |

(Sumber : Sunanto, 1997)

Tabel 3. Kapasitas Produksi Beberapa Jenis Tanaman Murbei

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| No. | Varitas | Prod (ton/ha) | Sebaran | Asal |
| 1. | Multicaulis | 10-12 | Jabar | Jepang |
| 2. | Kanva 2 | 12-18 | Jabar dan Sulsel | India |
| 3. | Nigra | 5-8 | Sulsel | Indonesia |
| 4. | Katayana | 12-15 | Jabar sulsel | Indonesia |
| 5. | Alba | 8-10 | Sulsel | Indonesia |

(Sumber : Sunanto, 1997)

## 2.2. Bakteri Asam Laktat

Proses fermentasi asam laktat untuk menghasilkan suatu produk umumnya melibatkan berbagai jenis organisme yang berbeda, maka dalam pembiakan atau propagasi bersama dalam satu kultur akan terdapat suatu kesesuaian dan saling menunjang antara satu organisme dengan organisme yang lainnya.

### 2.2.1. *Streptococcus thermophilus*

*Streptococcus thermophilus* merupakan bakteri termofilik yang dapat tumbuh pada suhu 45oC. Perbedaan suhu tersebut membedakan bakteri ini dari spesies *Streptococci* lainnya. Akan tetapi menurut Waspodo (2001) *Streptococcus thermophilus* tidak digolongkan ke dalam bakteri probiotik karena tidak dapat hidup dalam usus manusia. Bentuk morfologi *Streptococcus thermophilus* dapat dilihat pada Gambar 2.

|  |
| --- |
| http://vivatfor.com/61-108-large/streptococcus-thermophilus-n008.jpg |

Gambar 5 Bentuk Morfologi Streptococcus thermophilus (Waspodo,2001)

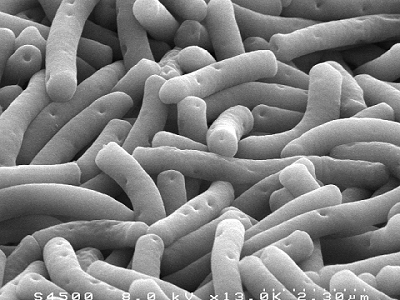
Menurut Chaitow dan Trener, 1990 dalam penelitian Kuntarso, (2007) Karakteristik *S. thermophilus* antara lain : berbentuk bulat yang membentuk rantai, Gram positif, katalase negatif, dapat mereduksi litmus milk, tidak toleran terhadap konsentrasi garam yang lebih besar dari 6.5 %, tidak berspora, bersifat termodurik, tidak dapat tumbuh pada suhu 10oC, dan menyukai suasana mendekati netral dengan pH optimum untuk pertumbuhan adalah 6.5 (Helferich dan Westhoff, 1980). Selain itu suhu pertumbuhannya berkisar antara 40 - 45oC.

*Streptococcus thermophiles* merupakan pasangan dari *L. bulgaricus* dalam pembuatan yogurt secara tradisional. Bakteri ini bukan mikroflora alami dari usus manusia dan tidak tergolong bakteri probiotik karena hanya mampu bertahan selama sekitar 2 jam setelah masuk ke dalam usus bersama dengan yogurt yang diminum (Tirtasujana, 1998).

*S. thermophiles* merupakan BAL homofermentatif yang menghasilkan asam laktat sebagai produk utama. S. thermophilus merupakan satu-satunya spesies bakteri dalam genus Streptococci yang menghasilkan enzim laktase (Chaitow dan Trener, 1990). Efek menguntungkan dari *S. thermophiles* selain menghasilkan asam laktat, yaitu menghasilkan enzim laktase yang berfungsi mencerna laktosa dalam susu.

### 2.2.2. *Lactobacillus bulgaricus*

*Lactobacillus bulgaricus* seperti halnya dengan bakteri termofilik lainnya memiliki suhu optimum pertumbuhan pada suhu 45̊C. *Lactobacillus bulgaricus* memiliki karakteristik sebagai berikut : (1) Gram positif ; (2) berukuran 0.5 - 0.8 μm x 2.0 - 9.0 μm, dan berbentuk batang tumpul ; (3) bersifat homofermentatif, dengan menghasilkan D(-)-Lactic acid mencapai level 1.7 - 2. 1 % di dalam susu; (4) tidak berspora; dan (5) non-motil. Bentuk morfologi *Lactobacillus bulgaricus* dapat dilihat pada Gambar 3. Berbeda dengan *Streptococcus thermophilus*, bakteri *Lactobacillus bulgaricus* bersifat toleran terhadap asam, selain itu *L.bulgaricus* dapat memetabolisme laktosa, fruktosa, glukosa, dan beberapa strain tertentu dapat memetabolisme galaktosa (Chaitow dan Trener, 1990)



Gambar 6 Bentuk morfologi Lactobacillus bulgaricus (Chaitow dan Trener, 1990)

Klasifikasi bakteri Lactobacillus bulgaricus adalah sebagai berikut :

Kingdom         : Prokariotik

Divisio             : Schizophyta

Kelas               : Eubacteriales

Familia            : Lactobacillaceae

Genus              : Lactobacillus

Spesies            : Lactobacillus bulgaricus

Kultur ini dapat menghasilkan enzim yang mejadikan susu memiliki tingkat keasaman yang rendah. Kerja dari kultur tersebut saling melengkapi antara bakteri Lactobacillus bulgaricus dengan Streptococcus thermopilus. Kultur ditambahkan setelah susu dipanaskan pada suhu 90OC selama 15-30 menit dan kemudian didinginkan hingga suhu 43OC. Fermentasi dimulai ketika aktifitas dari bakteri Streptococcus thermopilus 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 beraktifitas mensekresikan enzimnya untuk menurunkan keasaman hingga 3,8-4,4 dan menciptakan cita rasa khas yoghurt setelah keasaman mencapai 5-5,5 (Astri, 2012).

### 2.2.3. *Lactococcus Lactis*

Karakteristik *Lactococcus lactis* merupakan bakteri gram positif, bersifat mesofilik dan fakultatif anaerob. Bakteri ini tidak membentuk spora, tidak motil, selnya berbentuk bulat atau ovoid dengan ukuran 0,5 – 1,5 µm serta susunan selnya berpasangan atau berantai. L. Lactis melakukan metabolisme karbohidrat secara homofermentasi dan menghasilkan L(+)- asam laktat dari glukosa.

Taksonomi dari *Lactococcus lactis* dapat dilihat sebagai berikut :

Kingdom : *Monera*

Filum : *Firmicutes*

Kelas : *Bacilli*

Ordo : *Lactobadalles*

Family : *Streptococcaceae*

Genus : *Lactococcus*

Spesies :*Lactococcus lactis*

*Lactococcus lactis* mempunyai dua subspesies yang sangat berperan dalam fermentasi susu diantaranya *L. Lactis subsp. lactis* dan *cremoris*. Subspesies *L. lactis* mempunyai perbedaan pada karakteristik *phenotypic. L. lactis subsp. lactis* tumbuh pada suhu 400C dan 4% NaCl serta menghasilkan amonia dari arginin sedangkan *L. lactis subsp. cremoris* tidak dapat tumbuh pada suhu 40oC dan 4% NaCl serta tidak menghasilkan amonia dari arginin. Pada subspesies *L. lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis* dibedakan dengan kemampuannya untuk metabolisme sitrat.

|  |
| --- |
| Image result for lactococcus lactis gambar |

Gambar 7 Bentuk morfologi Lactococcus lactis

*Lactococcus lactis* biasanya tumbuh pada lingkungan yang kaya sumber karbon dan nitrogen seperti susu segar dan material tanaman. Strain L.lactis merupakan auxotrophic untuk asam amino. L.lactis tidak mampu mensintesis asam amino spesifik sehingga biasanya asam amino (isoleusin, valin, leusin, histidin, metionin, arginin, prolin, glutamat, serin, dan treonin) harus ditambahkan ke dalam media untuk pertumbuha L. lactis. Vitamin (biotin, piridoksal, asam folik, riboflavin, niasin, tiamin, dan asam pentotenik) diperlukan untuk pertumbuhan optimum. Selain itu glukosa, buffer, dan berbagai mineral juga diperlukan bagi pertumbuhan L. Lactis (Pazra, 2014).

*Lactococcus lactis* digunakan secara luas sebagai kultur starter pada fermentasi susu di seluruh dunia. Strain *L. lactis* digunakan untuk menghasilkan produk makanan seperti keju, kefir, *sour cream*, dan *butter milk*. *L. lactis* tidak hanya berperan dalam memberikan karakteristik rasa, aroma, dan tekstur dari produk tetapi juga membantu pengawetan produk dengan mengahsilkan asam organik, bakteriosin dan hidrogen peroksida (Hutkins, 2006).

## 2.3. Fermentasi

Fermentasi pada awalnya hanya menunjukkan pada Suatu peristiwa alami pada pembuatan anggur yang menghasilkan buih (ferment berarti buih). Beberapa ahli mendefinisikan kata fermentasi dengan pengertian yang berbeda. Fardiaz (1992) mendefinisikan fermentasi sebagai proses pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anerobik, yaitu tanpa memerlukan oksigen. Senyawa yang dapat dipecah dalam proses fermentasi terutama karbohidrat, sedangkan asam amino hanya dapat difermentasi oleh beberapa jenis bakteri tertentu.

Fermentasi dapat meningkatkan nilai gizi bahan yang berkualitas rendah serta berfungsi dalam pengawetan bahan dan merupakan suatu cara untuk menghilangkan Zat antinutrisi atau racun yang terkandung dalam suatu bahan makanan (Satiawihardja, 1992).

Lama fermentasi dipengaruhi oleh faktor­-faktor yang secara langsung maupun tidak langsung berpengaruh terhadap proses fermentasi. Menurut Kunaepah (2008), ada banyak faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain substrat, suhu, pH, oksigen, dan mikroba yang digunakan. Substrat merupakan bahan baku fermentasi yang mengandung nutrient­-nutrien yang dibutuhkan oleh mikroba untuk tumbuh maupun menghasilkan produk fermentasi. Nutrient yang paling dibutuhkan oleh mikroba baik untuk tumbuh maupun untuk menghasilkan produk fermentasi adalah karbohidrat. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang berfungsi sebagai penghasil energi bagi mikroba, sedangkan nutrient lain seperti protein dibutuhkan dalam jumlah lebih sedikit daripada karbohidrat.

## 2.4. Probiotik

Menurut penelitian Kuntarso, 2007 dalam judul pengembangan teknologi pembuatan *low-fat-fruity bio-yogurt* (*Lo-Bio F*) menyatakan bahwa Probiotik berasal dari bahasa Yunani yang berarti “untuk hidup”. Istilah ini pertama kali digunakan oleh Lilley & Stillwell pada tahun 1965 untuk menjelaskan substansi yang disekresikan oleh mikroorganisme yang mampu merangsang pertumbuhan mikroorganisme. Fuller (1992) mendefinisikan probiotik sebagai makanan tambahan berupa mikroorganisme yang mempunyai pengaruh menguntungkan untuk induk semangnya melalui keseimbangan mikroorganisme usus. Makanan probiotik adalah makanan yang mengandung mikroorganisme hidup sebagai probiotik yang tumbuh dalam makanan berupa produk fermentasi atau secara sederhana ditambahkan kedalam makanan (Hull.et.al.,1992).

Menurut penelitian Kuntarso, 2007 dalam judul pengembangan teknologi pembuatan *low-fat-fruity bio-yogurt* (*Lo-Bio F*) menyatakan fungsi probiotik didalam tubuh manusia sama dengan antibodi, yaitu meningkatkan laju pertumbuhan dan meningkatkan kesehatan, namun keduanya memiliki perbedaan dalam mekanisme kerja. Probiotik memiliki peran yang sangat penting untuk kesehatan, yaitu :

(1) Menciptakan keseimbangan mikroflora usus;

(2) Mengurangi laktosa intoleran;

(3) Menurunkan kadar kolesterol serum dan

(4) Mengaktifkan sistem kekebalan tubuh (San et.al.,1996)

Menurut Fuller (1992) dalam penelitian Kuntarso (2007) dalam judul pengembangan teknologi pembuatan *low-fat-fruity bio-yogurt* (*Lo-Bio F*) bakteri yang digunakan sebagai probiotik adalah bakteri yang termasuk kedalam golongan GRAS mikroorganisme, yaitu mikroorganisme yang secara umum telah direkomendasikan sebagai mikroorganisme yang aman digunakan dalam pengolahan pangan, seperti *L.casei, L.bulgaricus, S.thermophilus, B.longum, dan B.bifidum*. Menurut Kurmann (1988) didalam *Microbiology of Fermented Foods* oleh J.B Wood (1998), ada beberapa kriteria yang harus dipenuhi oleh Bakteri Asam Laktat agar dapat digunakan sebagai produk susu probiotik, antara lain :

(1) memiliki hasil penelitian yang positif sebagai bakteri probiotik;

(2) dapat memfermentasi susu dalam waktu yang cukup cepat, baik dalam bentuk kultur tunggal ataupun kultur gabungan;

(3) mampu membelah diri sehingga mencapai jumlah yang cukup besar pada produk fermentasi serta memiliki toleransi yang tinggi terhadap asam laktat;

(4) strain yang terpilih harus dapat menghasilkan rasa atau sifat organoleptik yang dapat diterima oleh konsumen; dan

(5) strain terpilih harus dapat bertahan hidup dalam usus besar padajumlah yang cukup besar.

Menurut Antrini (2011) dalam penelitian berjudul Sinbiotik antara prebiotik dan probiotik. Menjelaskan bahwa Prebiotik merupakan komposisi pangan yang tidak dapat dicerna. Ini meliputi Inulin, fructo oligosakarida (FOS), galaktooligosakarida, dan laktosa. FOS secara alami terjadi pada karbohidrat yang tidak dapat dicerna oleh manusia. FOS ini juga mendukung pertumbuhan bakteri *Bifidobacteria*.

Tabel 4. Syarat Mutu Produk Yogurt Menurut SNI 01-2981-1992

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Kriteria Uji** | **Satuan** | **Persyaratan** |
| 1  2  3  4  5  6  7  8  9 | Keadaan :   * 1. Penampakan   2. Bau   3. Rasa   4. Konsistensi   Lemak, %, b/b  Bahan kering tanpa lemak, %, b/b  Protein (N x 6.37), %, b/b  Abu  Jumlah asam (dihitung sebagai  laktat), %, b/b  Cemaran logam :  7.1 Timbal (Pb), mg/kg  7.2 Tembaga (Cu), mg/kg  7.3 Seng (Zn), mg/kg  7.4 Timah (Sn), mg/kg  7.5 Raksa (Hg), mg/kg  Arsen (As), mg/kg  Cemaran mikroba :  9.1 Bakteri coliform  9.2 E.coli  9.3 Salmonella | APM/g  APM/g | Cairan kental sampai semi padat  Normal/khas  Asam/khas  Homogen  Maks 3.8  Min 8.2  Min 3.5  Maks 1.0  0.5 – 2.0  Maks 0.3  Maks 20.0  Maks 40.0  Maks 40.0  Maks 0.03  Maks 0.1  Maks 10  Maks 10  < 3  Negatif/100 |

(Sumber : SNI 01-2981-1992)

Prebiotik didefinisikan sebagai ingredient yang tidak dapat dicerna yang menghasilkan pengaruh menguntungkan terhadap inang dengan cara menstimulir secara selektif pertumbuhan satu atau lebih sejumlah mikroba terbatas pada saluran pencernaan sehingga dapat meningkatkan kesehatan inang (Antrini,2011).

Sedangkan Antibiotik adalah obat yang berasal dari seluruh atau bagian tertentu mikroorganisme dan digunakan untuk mengobati infeksi bakteri. Antibiotika tidak efektif untuk melawan virus. Antibiotik selain membunuh mikroorganisme atau menghentikan reproduksi bakteri juga membantu sistem pertahanan alami tubuh untuk mengeleminasi bakteri tersebut (Fernandez, 2013).

Minuman probiotik semakin tahun semakin bertambah permintaan pasarnya seiring perkembangan zaman dimana masyarakat mulai menyadari akan pentingnya kesehatan pencernaan. Sehingga berbagai jenis minuman probiotik beraneka ragam, mulai dari *plant yoghurt* hingga beraneka variant rasa, yakult, kefir, dan sebagainya.

## 2.5. *Fruitghurt*

Menurut SNI 01-2981-1992, yogurt didefinisikan sebagai produk yang diperoleh dari susu yang telah dipasteurisasi, kemudian difermentasi dengan bakteri sampai diperoleh keasaman bau dan rasa yang khas, dengan atau tanpa penambahan bahan lain yang diizinkan. Definisi lain mengenai yogurt dikemukakan oleh Nakazawa dan Hosono (1992) bahwa yogurt adalah produk koagulasi susu yang dihasilkan melalui proses fermentasi bakteri asam laktat, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*, dengan atau tanpa penambahan bahan lain yang diizinkan. Dikatakan bahwa produk akhir yogurt haruslah mengandung kedua bakteri tersebut dalam jumlah besar.

Pembuatan yogurt pada prinsipnya meliputi pemanasan (pasteurisasi) susu, pendinginan, inokulasi, dan inkubasi (Bramayadi,1986). Pemanasan susu dalam pembuatan yogurt sangat bervariasi, baik dalam penggunaan suhu maupun lama pemanasan. Pada dasarnya variasi suhu dan lama pemanasan memiliki tujuan yang sama yaitu untuk menurunkan populasi mikroba dalam susu dan memberikan kondisi yang baik bagi pertumbuhan biakan yogurt. Selain itu juga bertujuan untuk mengurangi kandungan air susu sehingga diperoleh yogurt dengan tekstur yang kompak (Bramayadi, 1986).

Yoghurt merupakan salah satu produk hasil fermentasi susu yang paling tua cukup popular di seluruh dunia. Bentuknya mirip bubur atau es krim tetapi dengan rasa yang agak asam. Selain dibuat dari susu segar, yoghurt juga dapat dibuat dari susu skim (susu tanpa lemak) yang dilarutkan dalam air dengan perbandingan tertentu bergantung pada kekentalan produk yang diinginkan. Selain susu hewani, belakangan ini yoghurt juga dapat dari campuran susu skim dengan susu nabati (susu kacang-kacangan). Sebai contoh, yoghurt dapat dibuat dari santan kelapa, yang disebut “miyoghurt”, yoghurt yang dibuat dari kedelai yang sangat popular dengan sebutan “soyghurt”. Sedangkan yoghurt yang dibuat dari buah-buahan disebut dengan “fruitghurt” (Ikhsan, 2015).

*Fruitghurt* merupakan produk hasil fermentasi dari buah-buahan. Prinsip pembuatah fruitghurt adalah fermentasi buah dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcos thermophillus*. Kedua macam bakteri tersebut akan menguraikan glukosa dan fruktosa menjadi asam laktat dan berbagai komponen aroma dan citarasa. *Lactobacillus bulgaricus* lebih berperan pada pembentukan aroma, sedangkan *Streptococcos thermophillus* lebih berperan pada pembentukan pada cita rasa fruitghurt. Fruitghurt yang baik mempunyai total asam laktat sekitar 0.85-0.89%. Sementara itu.derajat keasaman (pH) yang sebaiknya dicapai oleh fruitghurt adalah 4,5 (Ikhsan, 2015).

*Lactobacillus bulgaricus* telah diketahui memegang peranan penting dalam menghasilkan asam laktat yang tinggi pada pembuatan fruitghurt. Prinsip pembuatan fruitghurt adalah fermentasi buah dengan menggunakan bakteri. Fruitghurt yang baik mempunyai total asam laktat sekitar 0,85-0,89 % dan derajat keasaman (pH) sekitar 4,5 (Silalahi, 2009).

Pembuatan minuman probiotik fruitghurt buah murbei menggunakan bakteri asam laktat untuk memecah fruktosa sehingga menghasilkan asam laktat. Berikut adalah pemecahan fruktosa menjadi asam laktat dapat dilihat pada Gambar 7 ([bioscienceportal](https://bioscienceportal.wordpress.com/author/bioscienceportal/), 2013).

|  |
| --- |
|  |

Gambar 8. Pemecahan Fruktosa Menjadi Asam Laktat

Faktor-faktor yang perlu diperhatikan pada saat proses fermentasi agar fermentasi berjalan dengan baik adalah :

1. Langkah-langkah proses

a. Persiapan bahan baku

b. Pembuatan starter

c. Fermentasi

2. Konsentrasi glukosa 10-18%

Jika konsentrasi glukosa lebih besar maka kecepatan fermentasi akan menurun, dan akan menghambat aktivitas BAL, sehingga waktu fermentasi berjalan lebih lama. Hal ini terjadi karena apabila konsentrasi glukosa terlalu besar akan terjadi plasmolisis pada dinding sel pada dinding sel mikroorganisme yang mengakibatkan dinding selnya akan pecah. Jika konsentrasi lebih kecil 10%, produk yang dihasilkan akan lebih sedikit karena nutrisi dan medianya terlalu sedikit.

4. pH media antara 4 – 7

Setiap mikroorganisme memiliki karakteristik pH masing-masing didalam kisaran yang mampu untuk berkembang. Beberapa bakteri dapat berkembang pada keadaan pH yang ekstrim. Dua aspek yang menghubungkan mikroorganisme dengan pH adalah bahwa perubahan pH dari medianya disebabkan karena aktivitasnya mikroorganisme itu sendiri, beberapa mikroorganisme dapat memproduksi asam yang membuat keadaan pH yang demikian rendah sehingga dapat menghambat aktivitas dari mikroorganisme lainnya. Pada range pH 4,4-9,6 bakteri asam laktat dapat tumbuh dengan baik. (Ikhasan, 2015).

# III BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Bahan dan Alat Percobaan, (2) Metode Penelitian, (3) Rancangan Perlakuan, (4) Rancangan Percobaan dan (5) Rancangan Respon.

## 3.1. Bahan dan Alat Percobaan

### 3.1.1. Bahan-bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian pembuatan fruitghurt buah murbeimeliputi buah murbei hitam yang berumur dua bulan setelah pemasakan , air mineral, *allumnium foil*, kertas saring, plain yoghurt, starter *Lactococucs lactis* dan *Streptococcus thermophillus* yang sebelumnya telah di biakan melalui bubur buah murbei dengan perbandingan 1:1.

Bahan-bahan yang digunakan dalam analisis meliputi aquadest, indikator *phenolphthalein*, NaOH 0,1 N, amylum, I2 0,01 N, larutan Luff Schoorl, H2SO4 6 N, KI, Na2S2O3 1 N, HCl 9,5 N, HCl pekat, NaOH 30%, PDA, YGA, air steril, N-Heksan.

### 3.1.2. Alat Yang Digunakan

Alat yang digunakan dalam pembuatan fruitghurt adalah timbangan, panci, kompor, inkubator, sendok, thermometer, jar kaca, labu erlenmeyer 250 ml dan corong.

Alat-alat yang digunakan untuk analisis kimia yaitu labu erlenmeyer 100 ml, gelas ukur, batang pengaduk, pipet volumetri, pipet tetes, neraca digital, biuret, gelas kimia, corong, labu takar, kompor, bunsen, statif, klem, penangas, viskotester dan pH meter.

## 3.2. Metode Penelitian

Penelitian yang digunakan yaitu penelitian pendahuluan serta penelitian utama. Penelitian pendahuluan terdiri dari tiga tahap yaitu pendahuluan tahap 1 pembuatan starter *Lactococcus lactis* dan *Streptococcus thermophiles*, pendahuluan tahap 2 analisis bahan baku kandungan gula total pada buah murbei. Pembuatan starter ini bertujuan sebagai persiapan starter yang akan digunakan untuk proses fermentasi di penelitian utama, dengan cara terlebih dahulu menentukan kandungan gula total pada buah murbei, serta menentukan jumlah sel hidup pada minuman probiotik fruitghurt . Pendahuluan tahap 3 berikutnya yaitu menentukan perbandingan formulasi antara buah murbei dan air. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan antara buah murbei dan air yang tepat untuk digunakan dalam fermentasi dengan parameter analisis kandungan asam laktat dan menggunakan starter mikroba yang telah dibuat sebelumnya.

Penelitian utama yaitu dilakukan proses fermentasi buah murbei yang terpilih dari penelitian pendahuluan terhadap lamanya proses fermentasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan asam laktat, pH (derajat keasaman), dan viskositas yang dipengaruhi oleh lamanya waktu fermentasi menggunakan starter yang telah dibuat yaitu *Lactobacillus lactis* dan *Streptococcus thermophilus*. Tujuan penelitian utama yaitu untuk mengetahui apakah kandungan asam laktat, pH (derajat keasaman), dan viskositas yang dihasilkan berkorelasi dengan aktifitas starter *Lactobacillus lactis* dan *Streptococcus thermophilus.* Viskositas di waktu yang berbeda apakah berpengaruh dan juga pH yang terkandung pada minuman probiotik fruitghurt.

### 3.2.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan yang dilakukan yaitu melakukan analisis kadar gula total pada buah murbei. Kemudian membuat starter *Lactobacillus lactis* dan *Streptococcus thermophilus* yang berasal dari biakan murni kemudian difermentasi menggunakan media bubur buah murbei dengan perbandingan bakteri asam laktat 1:1. Setelah itu dilakukan analisis mikrobiologi berupa pengecekan jumlah sel hidup dengan TPC. Kemudian menentukan formulasi bubur buah dengan perbandingan antara buah murbei dengan air. Formulasi terbaik diperoleh dengan menentukan kandungan asam laktat. Formulasi perbandingan buah murbei dengan air yaitu 3:1, 2:1, 1:1, dan 1:0. Pada penelitian pendahuluan formulasi perbandingan buah dan air yang telah ditentukan akan dilakukan fermentasi menggunakan starter *Lactobacillus lactis* dan *Streptococcuc thermophilus* (1:1) sebanyak 5 % dengan waktu fermentasi 96 jam dan suhu 40oC.

Respon yang akan dilakukan pada penelitian pendahuluan yaitu analisis kandungan asam laktat pada fruitghurt yang telah difermentasi. Sehingga akan diperoleh formulasi terbaik yang ditentukan dari tingginya kandungan asam laktat yang dihasilkan setelah fermentasi selama 96 jam. Formulasi yang terpilih akan dilakukan analisis glukosa terhadap bubur buah perbandingan buah dan air. Analisi karbohidrat menggunakan metode luff school, dan melakukan analisis mikrobiologi metode TPC (*total plate count*).

### 3.2.2. Penelitian Utama

Penelitian utama merupakan penelitian lanjutan dari penelitian pendahuluan yang meliputi: rancangan perlakuan, rancangan percobaan, rancangan analisis dan rancangan respon yaitu melakukan pengamatan terhadap kadar asam laktat selama pembuatan fruitghurt serta pengukuran pH dan viskositas. Hasil penelitian utama akan ditentukan sampel terpilih dengan cara analisis kadar Vitamin C pada fruitghurt buah murbei. Tujuan dari penelitian utama untuk mengetahui waktu optimum pertumbuhan starter dalam menghasilkan asam laktat yang sesuai dengan standar.

## 3.2.3. Rancangan Perlakuan

Rancangan perlakuan terdiri dari satu faktor yaitu perbedaan waktu fermentasi, dengan taraf :

Waktu fermentasi yang digunakan dengan 6 taraf dan suhu 40oC, yaitu :

t1 = 24 jam

t2 = 48 jam

t3 = 72 jam

t4 = 96 jam

t5 = 120 jam

t6 = 144 jam

## 3.2.4. Rancangan Percobaan

Model rancangan percobaan yang digunakan dalam pembuatan Fruitghurt buah murbei adalah Regresi Linier Sederhana dengan ulangan sebanyak empat kali.

Metode percobaan untuk penelitian ini adalah sebagai berikut :

Y = a + bx

Keterangan :

Y = Variabel Terikat

x = Variabel Bebas

a = Bilangan Konstan (intersep garis regresi)

b = Koefisien Regresi (slope garis regresi)

Nilai a maupun nilai b dapat dihitung melalui rumus yang sederhana. Untuk memperoleh nilai a dapat digunakan rumus :

a =   (Σy) (Σx²) – (Σx) (Σxy)  
               n(Σx²) – (Σx)²

Sedangkan nilai b dapat dihitung menggunakan rumus:

b =   n(Σxy) – (Σx) (Σy)  
           n(Σx²) – (Σx)²

(Sumber : Sudjana, 2005).

Denah layout penelitian dan pendataan variabel bebas serta terikat dapat dilihat di bawah ini.

Tabel 5. Rancangan Pola Penelitian

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Waktu (t)  Formulasi | t1 | t2 | t3 | t4 | t5 | t6 |
| S1 (2:1) | S1t1 | S1t2 | S1t3 | S1t4 | S1t5 | S1t6 |

|  |
| --- |
| Y (variable terikat) |

y = a + bx

X (variabel bebas)

Gambar 9. Grafik. Regresi Linier

Tabel 6. Pendataan Nilai Variabel Bebas dan Tidak Bebas

|  |  |
| --- | --- |
| **Variabel tidak bebas (Y)** | **Variabel bebas (X)** |
| y1  y2  yn | x1  x2  xn |

Sumber : Sudjana, 2005.

## 3.2.5. Rancangan Analisis

Menurut Sudjana (2005), rancangan analisis dilakukan untuk mencari atau menentukan hubungan antara variabel bebas terhadap variabel tidak bebas akan dilakukan dengan menghitung kolerasi antara kedua variabel tersebut terhadap respon yang diukur. Nilai koefisien korelasi atau r dapat dihitungkan dengan rumus :

r =

Nilai r berlaku 0 ≤ r2 ≤ 1 sehingga untuk koefisien kolerasi didapat hubungan -1 ≤ r ≤ +1. Harga r = -1 menyatakan adanya hubungan linier sempurna tak langsung antara X dan Y. Ini berarti bahwa titik-titik yang ditentukan oleh (Xi, Yi) seluruhnya terletak pada garis regresi linier dan harga X yang besar menyebabkan atau berpasangan dengan Y yang kecil sedangkan harga X yang kecil berpasangan dengan Y yang besar. Harga r = +1 menyatakan adanya hubungan linier sempurna langsung antara X dan Y. Letak titik-titik ada pada garis regresi linier dengan sifat bahwa X yang besar berpasangan dengan harga Y yang besar, sedangkan harga X yang kecil berpasangan dengan Y yang kecil pula. Harga-harga r lainnya bergerak antara -1 dan +1 dengan tanda negatif menyatakan adanya kolerasi tak langsung atau kolerasi negatif dan tanda positif menyatakan kolerasi langsung atau kolerasi positif. Khusus untuk r = 0, maka hendaknya ini ditafsirkan bahwa tidak terdapat hubungan linier antara variabel-variabel X dan Y.

## 3.2.6. Rancangan Respon

Rancangan respon yang digunakan untuk penelitian ini adalah respon fisik, kimia dan mikrobiologi.

### 3.2.6.1. Respon Fisik

Respon Fisik yang dilakukan pada penelitian utama adalah penentuan viskositas dari fruitghurt. Pengukuran viskositas dilakukan sesudah proses fermentasi.

### 3.2.6.2. Respon Kimia

Respon Kimia yang dilakukan pada penelitian utama adalah analisis kadar asam laktat dengan metode titrasi asam basa (alkalimetri) dan pada sampel terpilih dilakukan penentuan kadar vitamin C menggunakan metode Iodimetri. penentuan derajat keasaman dari fruitghurt buah murbei menggunakan pH Meter. Dengan mengukur derajat keasaman dari minuman fruitghurt buah murbei maka dapat diketahui perubahan yang terjadi dari hasil fermentasi. Mengukur kadar alkohol menggunakan metode destilasi.

### 3.2.6.3. Respon Mikrobiologi

Respon mikrobiologi yang dilakukan pada penelitian pendahuluan dengan metode TPC (*Total Plate Count*).

## Prosedur Penelitian

Penelitian dalam pembuatan minuman probiotik fruitghurt buah murbei dilakukan dengan beberapa tahapan. Tahap pelaksanaan penelitian dan cara kerja penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu tahap penelitian pendahuluan dan tahap penelitian utama.

* + 1. Penelitian Pendahuluan

Deskripsi Pembuatan starter *Lactococcus lactis* dengan *Streptococcuc thermophilus* meliputi :

1. *Trimming* : buah murbei hitam disortasi terlebih dahulu. Dipisahkan antara ranting dan daging buah. Kemudian dipilih buah murbei yang memliki warna ungu kehitaman yang merata.
2. Pencucian : buah murbei hitam yang telah disortasi selanjutnya dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang ada di buah.
3. Penimbangan : bahan-bahan yang telah siap kemudian dilakukan penimbangan sesuai basis dan formulasi yang telah ditetapkan.
4. Pencampuran : setelah dilakukan penimbangan, buah murbei, air, dan gula dicampurkan ke dalam *chopper* untuk kemudian di blender.
5. Penghancuran : Buah murbei yang telah dicuci dan dicampurkan selanjutnya dilakukan penghancuran menggunakan *chopper* dan ditambahkan sedikit air
6. Pasteurisasi : bahan-bahan yang telah dicampurkan kemudian dilakukan pasteurisasi dengan suhu 62-70oC selama 15 menit degan menggunakan api kecil.
7. Tempering : tujuan dilakukannya tempering untuk menurunkan suhu pada bubur buah murbei yang telah di pasteurisasi sebelumnya. Suhu yang di capai yaitu 42oC. Tempering hanya dilakukan pada suhu ruang.
8. Pencampuran II : setelah suhu bubur buah murbei mencapai 42oC kemudian dilakukan pencampuran dengan kultur murni *Lactococcus lactis* dengan *Streptococcus thermophilus* yang telah di adaptasikan pada air steril selama 5 menit. Kemudian di homogenkan hingga tercampur rata.
9. Fermentasi : pencampuran selesai proses selanjutnya yaitu fermentasi fruitghurt dengan suhu inkubator 40oC selama 3 hari. Sebelum di fermentasi bubur buah di simpan di dalam jar steril dan di tutup rapat dengan menggunakan *allumunium foil.*

Deskripsi mengenai pembuatan bubur buah terpilih meliputi:

1. *Trimming :* Buah murbei yang akan di buat *fruitghurt* harus dalam keadaan segar . Tidak semua buah murbei yang didapat memiliki kualitas baik, sehingga perlu dilakukan sortasi dan *trimming* terlebih dahulu. Buah murbei yang dipilih memiliki warna ungu kehitaman yang merata dan dalam kondisi baik serta di pisahkannya antara buah yang akan digunakan dan ranting pohon.
2. Pencucian : Setelah buah murbei dilakukan sortasi selanjutnya di cuci dengan menggunakan air mengalir untuk membersihkan buah dari kotoran dan benda yang tidak di inginkan seperti daun dan ranting.
3. Penimbangan : bahan-bahan yang telah siap kemudian dilakukan penimbangan sesuai basis dan formulasi yang telah ditetapkan.
4. Pencampuran : setelah dilakukan penimbangan, buah murbei, air, dan gula dicampurkan ke dalam *chopper* untuk kemudian di blender.
5. Penghancuran : Buah murbei yang telah dicuci dan dicampurkan selanjutnya dilakukan penghancuran menggunakan *chopper* dan ditambahkan sedikit air sesuai dengan formulasi yang telah di tetapkan.
6. Pasteurisasi : Bubur buah yang telah hancur selanjutnya dilakukan pasteurisasi di atas penangas air hingga suhu mencapai 68oC- 70oC dengan dilakukan pengecekan terus menerus menggunakan thermometer.
7. *Tempering :* Bubur buah yang telah dipasteurisasi sebelumnya dilakukan tempering untuk menurunkan suhu menjadi 40 oC sesuai dengan suhu pertumbuhan bakteri asam laktat
8. Pencampuran II : Setelah dilakukan pemanasan selanjutnya bubur buah dicampurkan dengan starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus.* Setelah di campur sampel tadi kemudian dilakukan pengadukan hingga starter tercampur rata dengan bubur buah.
9. Fermentasi : Proses selanjutnya yaitu fermentasi asam laktat. Sebelum di fermentasi, sampel yang telah di simpan dalam Erlenmeyer di tutup menggunakan *allumunium foil*. Kemudian di fermentasi dengan suhu 40oC dan waktu yang telah di tentukan yaitu 96 jam.
   * 1. Penelitian Utama

Deskripsi mengenai pembuatan minuman probiotik fruitghurt dengan bubur buah terpilih meliputi :

1. Pemanasan

Bubur buah yang terpilih selanjutnya dilakukan pemanasan di atas penangas air hingga suhu mencapai 40oC - 43oC dengan dilakukan pengecekan terus menerus menggunakan thermometer.

1. Pencampuran

Setelah dilakukan pemanasan selanjutnya bubur buah dicampurkan dengan starter *Lactococcus lactis* dan *Streptococcus thermophilus.* Setelah di campur sampel tadi kemudian dilakukan pengadukan hingga starter tercampur rata dengan bubur buah.

1. Fermentasi

Proses selanjutnya yaitu fermentasi asam laktat secara anaerob. Sebelum di fermentasi, sampel yang telah di simpan dalam Erlenmeyer di tutup menggunakan allumunium foil. Kemudian di fermentasi dengan suhu 40oC dan waktu yang telah di tentukan yaitu 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam, 120 jam, dan 144 jam.

* 1. **Diagram Alir Penelitian**

Diagram alir penelitian tentang cara penentuan pembuatan bubur buah murbei terbaik dan pembuatan minuman fruitghurt buah murbei dengan waktu fermentasi yang berbeda sehingga didapat waktu terbaik dapat dilihat pada Gambar 9 dan 10.



Gambar 10. Diagram Alir Penelitian Secara Umum

|  |
| --- |
|  |

Gambar 11. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Tahap 1 Analisis Bahan Baku

|  |
| --- |
|  |

Gambar 12. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Tahap 2 Pembuatan Starter

|  |
| --- |
|  |

Gambar 13. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Tahap 3 Penentuan Formulasi

|  |
| --- |
|  |

Gambar 14. Diagram Alir Penelitian Utama

# IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dan pembahasan menguraikan serta membahas data hasil penelitian yang telah dilakukan. Hasil dan pembahasan tersebut dibagi menjadi hasil dan pembahasan penelitian pendahuluan dan penelitian utama

## Penelitian Pendahuluan

### Pembuatan Starter

Tabel 7. Hasil Pembuatan Starter Kultur Murni

|  |  |
| --- | --- |
| Jenis | Jumlah |
| Buah murbei hitam | 93 gram |
| Starter Kultur Murni | *Lactococcuc lactis* dan *Streptococcus thermophilus* (1:1) |
| Air steril | 5 ml |
| Kandungan gula total | 15, 65 % |
| Sukrosa | 2 gram |

Bakteri *S. thermophilus (Streptococcus salivarius subsp. thermophilus)* merupakan salah satu bakteri yang berperan dalam proses pembuatan yogurt seperti halnya *Lactobacillus delbruekii subsp. bulgaricus*. Bakteri laktat *S. thermophiles* juga hanya dapat bertahan hidup dalam usus manusia dalam rentang waktu yang tidak lama (Goktepe et al., 2006). Bakteri *S. thermophiles* merupakan bakteri yang berbentuk bulat dengan susunan membentuk rantai panjang atau pendek, termasuk dalam golongan bakteri Gram-positif, dapat mereduksi litmus milk dan katalase negatif. Bakteri ini tidak toleran terhadap konsentrasi garam lebih dari 6,5% dengan pH optimal untuk pertumbuhan adalah 6,5. *S. thermophiles* dibedakan dari genus *Streptococcus* lainnya berdasarkan pertumbuhan pada suhu 45oC, dan tidak dapat tumbuh pada suhu 10oC (Jay, 2000).

Pada penelitian pendahuluan dibuat starter terlebih dahulu dengan tujuan sebagai persiapan starter yang akan digunakan untuk proses fermentasi di penelitian utama, dengan cara terlebih dahulu menentukan kandungan gula total pada buah murbei, serta menentukan jumlah sel hidup pada minuman probiotik fruitghurt. Starter dibuat untuk memberikan waktu adaptasi pada pertumbuhan bakteri dari media agar ke media cair. Sehingga fermentasi yang akan dihasilkan berjalan lebih optimal.

Fungsi bahan yang digunakan pada penelitian pendahuluan yaitu buah murbei hitam sebagai bahan baku utama dalam pembuatan fruitghurt sehingga nutrisi yang terdapat pada buah murbei hitam dapat membantu pertumbuhan bakteri asam laktat. Air steril berfungsi sebagai media transfer dari kultur murni yang di tumbuhkan pada agar miring ke dalam media cair. Fungsi sukrosa pada pembuatan starter yaitu sebagai nutrisi pertumbuhan bakteri.

Tujuan dari analisis gula total pada buah murbei hitam yaitu untuk mengetahui kandungan gula total pada buah sehingga dapat diketahui apakah kandungan gula yang terkandung dalam buah murbei sudah memenuhi syarat fermentasi yoghurt. Penambahan gula yang ideal pada pembuatan yoghurt adalah sebesar 10%- 18% (Silalahi, 2009). Pada buah murbei hitam terdapat kandungan gula total sebesar 15,65% artinya jumlah karbohidrat buah murbei sudah memenuhi syarat fermentasi.

Tabel 8. Hasil Analisis Bahan Baku Murbei Hitam

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No** | **Jenis Karbohidrat** | **Kadar Gula (%)** |
| 1 | Monosakarida | 6,84 |
| 2 | Disakarida | 8,80536 |
| 3 | Gula total | 15,65 |

Penelitian pendahuluan tahap 1 bertujuan untuk menentukan kadar gula total pada bahan baku *black mulberry,* sehingga dapat diketahui jumlah gula sukrosa yang akan ditambahkan untuk menyesuaikan dengan jumlah karbohidrat pada syarat fermentasi yoghurt.

Kandungan gula total pada buah *black mulberry* sebesar 15,65% yang artinya telah memenuhi syarat kebutuhan karbohidrat untuk fermentasi. Pada formulasi ditambahkan 2% gula sukrosa untuk menaikkan kandungan karbohidrat agar memoptimumkan kerja starter pada saat fermentasi. Jika konsentrasi glukosa lebih besar maka kecepatan fermentasi akan menurun dan menghambat aktivitas mikroba *Lactobacillus bulgaricus, lactococcus lactis, dan Streptococcus* thermophilus sehingga proses fermentasi akan lebih lama. Hal ini terjadi karena apabila konsentrasi glukosa terlalu besar akan terjadi plasmolisis pada dinding sel mikroorganisme mengakibatkan dinding sel akan pecah. Jika glukosa lebih rendah dari 10% maka produk yang dihasilkan akan lebih sedikit karena nutrisi dan media untuk mikroorganisme terlalu sedikit (Ardiyawati dan Fitriyah, 2015).

|  |
| --- |
| *Hasil gambar untuk grafik pertumbuhan mikroorganisme* |

Gambar 15. Kurva pertumbuhan mikroorganisme

Pertumbuhan mikroorganisme terdiri dari beberapa fase diantaranya fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase logaritmik, fase pertumbuhan lambat, fase pertumbuhan statis, fase menuju kematian dan fase kematian.

Gambar 16. Grafik Pertumbuhan L.lactis dan S.thermophilus

Tabel 9. Analisis aktivitas jumlah sel bakteri pada starter kultur murni fruitghurt

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Waktu (J)** | **Pengenceran** | | | **∑ sel** |
| **10-1** | **10-2** | **10-3** |
| **J1** | 15 | 3 | 3 | 150 |
| **J2** | 13 | 5 | 3 | 130 |
| **J3** | 9 | 3 | 1 | 90 |
| **J4** | 20 | 7 | 4 | 200 |
| **J5** | 23 | 8 | 6 | 230 |
| **J6** | 76 | 31 | 16 | 760 |
| **J7** | 37 | 9 | 11 | 900 |
| **J8** | 131 | 70 | 17 | 1310 |
| **J9** | 169 | 89 | 23 | 1690 |
| **J10** | 42 | 19 | 12 | 1900 |
| **J11** | 225 | 106 | 57 | 2250 |
| **J12** | 281 | 96 | 61 | 2810 |

Pembuatan kurva pertumbuhan bertujuan untuk mengukur perubahan jumlah bakteri asam laktat yang terdapat didalam fruitghurt *black murbei* selama 24 jam.

Berdasarkan grafik pertumbuhan diatas menunjukkan bahwa terjadi perubahan kenaikan pertumbuhan bakteri *L.lactis* dan *S.thermophilus* pada setiap jamnya. Pada jam pertama hingga jam ketiga mengalami penurunan pertumbuhan. Hal tersebut dikarenakan perlunya bakteri asam laktat beradaptasi pada media cair yang sebelumnya berada pada media agar. Pada jam ke empat hingga jam ke 12 mengalami peningkatan. Grafik pertumbuhan menunjukkan bahwa bakteri asam laktat mengalami peningkatan jumlah secara logaritmik hal tersebut mengindikasikan bakteri asam laktat dapat memanfaatkan substrat yang ada secara optimal. Bakteri asam laktat memanfaatkan karbohidrat yang terdapat pada buah *black mulberry* berupa glukosa dan fruktosa sebagai sumber energi. Selain itu penambahan sukrosa sebesar 2% mempengaruhi pertumbuhan bakteri asam laktat karena adanya penambahan sumber energi sebagai pengganti laktosa. *Streptococcus thermophilus* diduga merupakan satu-satunya bakteri asam laktat yang dapat menggunakan sukrosa untuk menghasilkan energi. Sukrosa diduga akan dipecah menjadi glukosa dan fruktosa, kemudian *Lactococcus* diduga akan menggunakan glukosa yang terbentuk untuk menghasilkan energi.

Starter merupakan cmpuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan perbandingan 1:1 (Kusmayadi, 1994). Kemudian dibuat perbandingan antara starter alami *Lactococcus lactis* dan *Streptococcus thermophilus* perbandingan 1:1 dengan starter plain yoghurt *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus.*

Menurut Madigan dkk, (2011) menyatakan pertumbuhan logaritmik adalah suatu fase pertumbuhan dimana terjadinya pertambahan bakteri secara eksponensial disertai dengan pembelahan sel secara konstan pada jangka waktu tertentu. Berdasarkan granito & A’lvarez, (2006) penambahan sukrosa pada proes fermentasi perlu dilakukan sebagai sumber energi bagi bakteri asam laktat.

Tabel 10. Konstribusi metabolisme L. Lactis untuk produk susu fermentasi dan kualitas mikrobiologi

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Sifat Metabolik | Kontribusi untuk cita rasa, aroma dan tekstur | Kontribusi untuk pengawetan |
| Metabolisme karbohhidrat | Menghasilkan asam laktat, etanol, asetat, diacetil, eksopolisakarida dan senyawa lainnya. Konsumsi laktosa | Menghasilkan asam laktat, asam organik lainnya dan diacetil |
| Metabolisme protein | Menghasilkan peptida, asam amino dan turunan asam amino. Konsumsi *bitter peptides* |  |
| Metabolisme lemak | Menghasilkan asam lemak volatil |  |
| Metabolisme oksigen |  | Hidrogen peroksida |
| Menghasilkan bakteriosin |  | Bakteriosin |

(Sumber : Mozzi, 2010)

Metabolisme cepat laktosa menjadi asam laktat adalah sifat yang diinginkan dalam kultur starter susu. Pada kondisi kelebihan karbon *L. lactis* memfermentasi gula dengan fermentasi homolactic dan menghasilkan L (+)-asam laktat dari laktosa dalam susu. Produksi asam laktat merupakan kontribusi yang utama untuk pengawetan pada produk susu fermentasi. pH rendah yang dihasilkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan bakteri patogen. Pada kondisi karbon yang terbatas, fermentasi homolactic dapat beralih kepada fermentasi asam campuran yang menghasilkan asetat, etanol dan CO2 di samping asam laktat.

*Lactococcus lactis* dapat mengasimilasi gula sederhana menjadi polisakarida komplek yang diekspor dan tetap berhubungan dengan permukaan sel (eksopolisakarida). EPS diekskresikan dalam medium pertumbuhan sebagai lendir atau tetap melekat pada dinding sel bakteri sehingga membentuk EPS kapsular. EPS merupakan bakteri anaerob, tidak memiliki siklus asam trikarboksilat dan sistem transpor elektron. Namun mereka mentolerir oksigen karena beberapa oksigen memetabolisme enzim. Dengan oksidase NADH dan superoksida dismutase, L.lactis dapat mengkonversi O2 atau radikal oksigen (O2-) ke dalam hodrogen peroksida atau air. Hidrogen peroksida yang dihasilkan oleh superoxide dismutase dan NADH: H2O2 oksidase terakumulasi dalam medium pertumbuhan karena L.lactis tidak memiliki katalase atau aktivitas NADH peroksidase untuk menghilangkannya. H2O2 yang dihasilkan dapat memiliki efek penghambatan pada bakteri lain yang menyediakan efek pengawet tambahan pada produk susu fermentasi.

Semua bakteri yang tumbuh pada makanan bersifat heterotropik, yaitu membutuhkan zat organik untuk pertumbuhannya. Dalam metabolismenya bakteri heterotropik menggunakan protein, karbohidrat, lemak dan komponen makanan lainnya sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya. Beberapa bakteri dapat mengoksidasi karbohidrat secara lengkap menjadi CO2 dan H2O, atau memecahnya menjadi asam, alkohol, aldehid atau keton. Bakteri juga dapat memecah protein yang tedapat di dalam makanan menjadi polipeptida, asam amino, amonia, dan amin (Fardiaz, 1992).

### Penentuan Formulasi

Formulasi yang digunakan pada penelitian pendahuluan berikutnya ada empat formulasi yang diantaranya :

Tabel 11. Hasil Analisis Penentuan Formulasi

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Buah Murbei (gram) | Air (gram) | Jenis Perbandingan | Starter  (ml) | Sukrosa (gram) | % Asam Laktat |
| 69,75 | 23,25 | 3 : 1 | 4,75 | 2 | 4,5 % |
| 62 | 31 | 2 : 1 | 4,75 | 2 | 1,796 |
| 46,5 | 46,5 | 1 : 1 | 4,75 | 2 | 0,89 |
| 93 | 0 | 1 : 0 | 4,75 | 2 | 0,63 |

Murbei merupakan tumbuhan yang berasal dari cina dan tumbuh baik , pada ketinggian lebih dari 100 m dari permukaan laut, dan memerlukan cukup sinar matahari. Tumbuhan ini telah banyak dibudidayakan dan menyukai daerah-daerah yang cukup basah seperti lereng gunung, tetapi pada tanah yang berdrainase baik (Dalimartha, 2002).

Tahapan pembuatan fruitghurt dengan perbandingan yang berbeda-beda diantaranya :

1. Sortasi : buah murbei hitam disortasi terlebih dahulu. Dipisahkan antara ranting dan daging buah. Kemudian dipilih buah murbei yang memliki warna ungu kehitaman yang merata.
2. Pencucian : buah murbei hitam yang telah disortasi selanjutnya dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang ada di buah.
3. Penimbangan : bahan-bahan yang telah siap kemudian dilakukan penimbangan sesuai basis dan formulasi yang telah ditetapkan.
4. Pencampuran : setelah dilakukan penimbangan, buah murbei, air, dan gula dicampurkan ke dalam chopper untuk kemudian di blender hingga membentuk bubur buah.
5. Pasteurisasi : bahan-bahan yang telah dicampurkan kemudian dilakukan pasteurisasi dengan suhu 62-70oC selama 15 menit degan menggunkan api kecil.
6. Tempering : tujuan dilakukannya tempering untuk menurunkan suhu pada bubur buah murbei yang telah di pasteurisasi sebelumnya. Suhu yang di capai yaitu 42oC.
7. Pencampuran II : setelah suhu bubur buah murbei mencapai 42oC kemudian dilakukan pencampuran dengan starter alami dan starter plain yoghurt. Starter alami sebelumnya telah dicampur dengan sir steril dan di diamkan ± 7 menit. Kemudian di homogenkan hingga tercampur rata.
8. Fermentasi : pencampuran selesai proses selanjutnya yaitu fermentasi fruitghurt dengan suhu inkubator 40oC selama 3 hari. Sebelum di fermentasi bubur buah di simpan di dalam jar steril dan di tutup rapat dngan menggunakan allumunium foil.

Perbandingan dibedakan menjadi empat macam yaitu 3:1, 2:1, 1:1, dan 1:0.

Berdasarkan hasil fermentasi di atas dapat dipilih perbandingan 2 : 1 yang memiliki asam laktat terbaik selama difermentasi 3 hari. Kadar asam laktat ditetapkan dengan titrasi titrimetri menggunakan NaOH 0,1 N. Kadar asam laktat pada perbandingan 2 : 1 sebesar 1, 796%. Hasil ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk kadar asam laktat probiotik susu (yoghurt) yaitu sebesar 0,5% - 2,0%.

Formulasi yang ditetapkan dengan hasil kadar asam laktat sudah memenuhi semua Standar Nasional Indonesia. Pemilihan 2 : 1 dikarenakan dalam pembuatan fruitghurt konsistensi bubur buah tidak terlalu kental dan tidak terlalu cair. Hal ini dikarenakan semakin lama waktu fermentasi konsistensi bubur buah akan semakin mencair. Jika mengambil konsentrasi buah yang terlalu besar maka waktru fermentasi akan semakin cepat dan kadar asam laktat akan terus meningkat. Jika terjadi hal ini ditakutkan yang akan terombak bukan hanya asam laktat tetapi dapat menghasilkan alkohol.

Menurut winarno, (1992) kandungan air dalam bahan makanan mempengaruhi daya tahan bahan makanan terhadap serangan mikroba yang dinyatakan dengan aw, yaitu jumlah air bebas yang dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Berbagai mikroorganisme mempunyai aw minimum agar dapat tumbuh dengan baik, misalnya bakteri memiliki aw 0,90.

Parameter yang digunakan dalam pemilihan sampel terpilih dengan analisis kandungan asam laktat. Selama proses pembuatan yoghurt, biasanya susu akan mengalami perubahan sifat kimia terutama total asamnya. Asam yang terkandung dalam yoghurt merupakan produk utama yang memberikan ciri khas rasa pada yoghurt. Asam ini terbentuk dari hasil fermentasi laktosa oleh bakteri biakan menjadi asam laktat (Purwanti, 2013). Hal ini pula yang melatar belakangi minuman probiotik fruitghurt cukup menggunakan asam laktat saja untuk parameternya. Pada fruitghurt kandungan gula yang terdapat pada buah murbei hitam dapat dipecah menjadi asam laktat oleh bakteri alami asalm laktat.

Pemeriksaan asam laktat ecara kuantitatif dilakukan dengan menimbang 5 gram sampel dilakukan pengenceran didalam labu ukur 100 ml menggunakan aquadest, kemudian dipipet 10 ml ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 2-3 tetes indikator PP. Selanjutnya asam laktat dititrasi dengan NaOH 0,1 N hingga titik akhir warna merah muda seulas (AOAC, 1980).

Bakteri asam laktat homofermentatif menghasilkan mayoritas asam laktat dengan sedikit produk samping, yaitu gliserol, etanol, asam asetat, asam formiat, dan CO2. Bakteri asam laktat homofermentatif mengoksidasi glukosa menjadi 2 piruvat melalui jalur EMP. Pada jalur EMP menghasilkan 4 ATP + NADH yang dipakai untuk mereduksi piruvat menjadi asam laktat. Reaksi keseluruhan sebagai berikut :

Glukosa + 2 ADP + 2 P 2 Laktat + 2 ATP

Adanya produk samping, karena bakteri asam laktat homofermentatif mempunyai berbagai enzim yang dapat mengubah piruvat menjadi etanol dan CO2, asetat dan formiat, serta laktat. Jika piruvat tidak segera diubah menjadi produksi diatas, NADH dipakai untuk mereduksi dihidroksi aseton fosfat menjadi gliserol (Setya, 2009).

Perubahan nilai pH pada media dapat mengubah komposisi produk fementasi asam laktat homofermentatif Lactobacillus. Fermentasi asam laktat idealnya dilakukan pada kondisi asam. Ketika kondisi diubah menjadi netral, sebagai piruvat dioksidasi menjadi asetil KoA dan format. Asetil KoA kemudian tereduksi menjadi asetat dan etanol (Setya, 2009).

## Penelitian Utama

### Fermentasi Dengan Starter Murni *L. lactis* dan *S. thermophilus*

Hasil dari penelitian utama yaitu memfermentasi fruitghurt murbei hitam dengan faktor lama fermentasi.

Tabel 12. Hasil Analisi penelitian Utama Menggunakan Starter Kuktur L. lactis dengan S. thermophilus

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Asam Laktat (%)** | **pH** | **Viskositas (mPa.s)** |
| 24 | 0,81 | 4,23 | 175 |
| 48 | 0,99 | 4,07 | 140 |
| 72 | 1,08 | 3,86 | 125 |
| 96 | 1,345 | 3,71 | 121 |
| 120 | 1,44 | 3,48 | 115 |
| 144 | 1,62 | 3,13 | 102 |

Berdasarkan tabel 12. dapat disimpulkan hasil regresi linier tiap parameter :

Tabel 13. Analisi Lama Fermentasi Terhadap Asam Laktat

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Asam Laktat (%)** |
| 24 | 0,81 |
| 48 | 0,99 |
| 72 | 1,08 |
| 96 | 1,345 |
| 120 | 1,44 |
| 144 | 1,62 |

|  |
| --- |
|  |

Gambar 17. Grafik Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Asam Laktat

Grafik yang menggambarkan kolerasi waktu inkubasi terhadap pembentukan asam laktat adalah grafik polinomial orde 2. Hal ini karena asam laktat dipengaruhi oleh 2 faktor yaitu waktu inkubasi dan perilaku mikroba yang tidak dapat diduga.

Kadar asam laktat yang terbentuk meningkat seiring dengan semakin lama waktu inkubasi sehingga bau asam yang di timbulkan juga semakin menyengat. Kadar asam laktat meningkat sampai 6 hari inkubasi sehingga bau asam yang di timbulkan juga semakin menyengat.

Dalam produksi, asam laktat didefinisikan sebagai campuran dari asam laktat dan hibrida asam laktat yang mengandung tidak kurang dari 85% dan tidak lebih dari 92% asam laktat. Prinsip utama pembuatan asam laktat dengan proses fermentasi adalah pemecahan laktosa menjadi bentuk monosakaridanya dan dari monosakarida tersebut dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh Lactobacillus sp. Akan di ubah menjadi asam laktat. Asam laktat murni tidak berbau, tidak berwarna, dan bersifat higroskopis pada suhu kamar. Dalam keadaan tidak murni asam laktat berwarna kekuningan karena mengandung pigmen karoten. Sifat fisik asam laktat antara lain adalah bobot jenisnya 1,249 ; bobot molekulnya 90,08 ; titik beku 16,8oC, dan titik didihnya 122oC pada tekanan 14 mmHg. Sedang sifat kimiawi diantaranya adalah dapat larut dalam eter, alkohol, gliserin, dan air. Asam laktat tidak larut dalam kloroform, eter disulfida, dan karbon disulfida (Budiyanto, 2002).

Asam laktat yang dihasilkan akan menurunkan nilai pH dari lingkungan pertumbuhannya dan menimbulkan rasa asam. Ini juga menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis mikroorganisme lainnya. Dua kelompok kecil mikroorganisme dikenal dari kelompok ini yaitu organisme-organisme yang bersifat homofermentatif dan heterofermentatif. Jenis-jenis homofermentatif yang terpenting menghasilkan hanya asam laktat dari metabolisme gula sedang jenis-jenis heterofermentatif menghasilkan karbondioksida dan sedikit asam volatil lainnya, alkohol dan ester di samping asam laktat.

Tinggi rendahnya kadar asam laktat dipengaruhi oleh kemampuan bakteri asam laktat dalam membentuk asam laktat yang ditentukan oleh jumlah starter, jenis starter yang digunakan dan keadaan lingkungan fermentasi selama inkubasi (Kosikowski dalam Murti, 2010).

Menurut Murti, 2010. Bahwa *Lactobacillus bulgaricus* adalah bakteri yang lebih dominan memecah gula sederhana untuk sumber energinya karena hanya diperlukan satu jenis enzimsedangkan untuk memetabolisir polisakarida dibutuhkan dua atau lebih enzim. Lebih lanjut Dwidjoesaputra, 2005. Menyatakan bahwa enzim yang memecah polisakarida terdiri dari amilase (enzim yang menguraikan amilum menjadi maltosa), maltase (enzim yang menguraikan maltosa menjadi glukosa), sukrase (enzim yang memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa), laktase (enzim yang memecah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa).

Bakteri asam laktat pada pertumbuhan awal akan menggunakan gula sederhana (monosakarida) sebagai sumber energi sampai semua monosakarida habis, selanjutnya akan disintesis enzim untuk keperluan memecah polisakarida yang kemudian digunakan untuk fase pertumbuhan selanjutnya.

Bakteri asam laktat dapat menghambat pertumbuhan bakteri lain dengan memproduksi protein yang disebut bakteriosin. Salah satu contoh bakteriosin yang dikenal luas adalah nisin, diproduksi oleh Lactobacillus lactis ssp.lactis. Nisin dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, yaitu *Bacillus,* *Clostridium, Staphylococcus,* dan *Listeria.* Senyawa bakteriosin yang diproduksi BAL dapat bermanfaat karena menghambat bakteri patogen yang dapat merusak makanan ataupun membahayakan kesehatan manusia, sehingga keamanan makanan lebih terjamin (Walstra dan Geurts, 2005).

Tabel 14. Analisis Lama Fermentasi terhadap pH

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **pH** |
| 24 | 4,23 |
| 48 | 4,07 |
| 72 | 3,86 |
| 96 | 3,71 |
| 120 | 3,48 |
| 144 | 3,13 |

|  |
| --- |
|  |

Gambar 18. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap pH

Gambar 18. di atas menunjukkan semakin lama waktu inkubasi maka kadar pH semakin menurun. Hal ini dikarenakan perubahan nilai pH pada media dapat mengubah komposisi nutrisi yang terdapat pada buah murbei. Bakteri asam laktat akan memecah glukosa yang terdapat pada bahan menghasilkan asam laktat.

Peningkatan total asam ditunjukkan dengan penurunan pH. Semakin lama fermentasi semakin banyak mikroorganisme yang aktif, sehingga menghasilkan asam lktat yang lebih banyak. Asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri akan diekskresikan keluar sel sehingga terakumulasi dalam cairan fermentasi (Aswatan, 2008).

Semakin lama fermentasi dan semakin banyak glukosa yang ditambahkan, mikroorganisme berkembang biak semakin banyak, sehingga kemampuan bakteri asam laktat memecah glukosa menghasilkan metabolit primer (asam laktat) dan metabolit sekunder (aktivitas antibakteri) semakin banyak.

Efek bakterisidal dari asam laktat berkaitan dengan penurunan pH lingkungan menjadi 4 sampai 2 sehingga pertumbuhan bakteri lain termasuk bakteri pembusuk akan terhambat. Pada umumnya mikrorganisme patogen dapat tumbuh dengan kisaran pH 6-8 (Buckle et all, 2007). Metabolisme Lactobacillus bulgaricus untuk fermentasi asam laktat secara homofermentatif yaitu fermentasi membentuk laktat murni atau hampir 90% laktat murni dengan glukosa sebagai substrat.

Medium pertumbuhan (disingkat medium) adalah tempat untuk menumbuhkan mikroba. Mikroba memerlukan nutrisi untuk memenuhi kebutuhan energi dan untuk bahan pembangun sel, untuk sintesa protoplasma dan bagian-bagian sel lain. Setiap mikroba mempunyai sifat fisiologi tertentu, sehingga memerlukan nutrisi tertentu pula.

Susunan kimia sel mikroba relatif tetap, baik unsur kimia maupun senyawa yang terkandung di dalam sel. Dari hasil analisis kimia diketahui bahwa penyusun utama sel adalah unsur kimia C, H, O, N, dan P, yang jumlahnya ± 95% dari berat kering sel, sedangkan sisanya tersusun dari unsur-unsur lain. Air merupakan bagian terbesar dari sel sebanyak 80-90%, dan bagian lain sebanyak 10-20% terdiri dari protoplasma, dinding sel, lipida untuk cadangan makanan, polisakarida, polifosfat dan senyawa lain.

Jasad hidup dapat menggunakan makanannya dalam bentuk padat maupun cair (larutan). Jasad yang dapat menggunakan makanan dalam bentuk padat tergolong tipe *holozoik,* sedangkan yang menggunakan makanan dalam bentuk cair tergolong tipe *holofitik.* (Suriawiria, 1999).

Bahan makanan yang digunakan oleh jasad hidup dapat berfungsi sebagai sumber energi, bahan pembangun sel, dan sebagai aseptor atau donor elektron. Dalam garis besarnya bahan makanan dibagi menjadi tujuh golongan yaitu air, sumber energi, sumber karbon, sumber aseptor elektron, sumber mineral, faktor tumbuh, dan sumber nitrogen.

* 1. Air

Air merupakan komponen utama sel mikroba dan medium. Fungsi air adalah sebagai sumber oksigen untuk bahan organik sel pada respirasi. Selain itu air berfungsi sebagai pelarut dan alat pengangkut dalam metabolisme.

* 1. Sumber energi

Ada beberapa sumber energi untuk mikroba yaitu senyawa organik atau anorganik yang dapat dioksidasi dan cahaya terutama cahaya matahari.

* 1. Sumber karbon

Sumber karbon untuk mikroba dapat berbentuk senyawa oerganik maupun anorganik. Senyawa organik meliputi karbohidrat, lemak, protein, asam amino, asam organik, garam asam organik, polialkohol, dan sebagainya. Senyawa anorganik misalnya karbonat dan gas CO2 yang merupakan sumber karbon utama terutama tumbuhan tingkat tinggi.

* 1. Sumber aseptor elektron

Proses oksidasi biologi merupakan proses pengambilan dan pemindahan elektron dari substrat. Karena elektron dalam sel tidak berada dalam bentuk bebas, maka harus ada suatu zat yang dapat menangkap elektron tersebut. Penangkapan elektron ini disebut aseptor elektron. Aseptor elektron ialah agensi pengoksidasi. Pada mikrobia yang dapat berfungsi sebagai aseptor elektron ialah O2 senyawa organik, NO3-, NO2-, N2O, SO4-, CO2, dan Fe3+.

* 1. Sumber mineral

Mineral merupakan bagian dari sel. Unsur penyusun utama sel ialah C, O, N, H, dan P. Unsur yang digunakan dalma jumlah besar disebut unsur makro, dalam jumlah sedang unsur oligo, dan dalam jumlah sangat sedikit unsur mikro. Selain berfungsi sebagai penyususn sel, unsur mineral juga berfungsi untuk mengatur tekanan osmose, kadar ion H+ (keasaman, pH), dan potensial oksidasi reduksi (*redox potential*) medium.

* 1. Faktor tumbuh

Berdasarkan struktur dan fungsinya dalam metabolisme, faktor tumbuh digolongkan menjadi asam amino, sebagai penyusun protein; basa purin dan pirimidin, sebagai penyusun asam nukleat; dan vitamin sebagai gugus prostetis atau bagian aktif dari enzim.

* 1. Sumber nitrogen

Mikroba dapat menggunakan nitrogen dalam bentuk amonium, nitrat, asam amino, protein, dan sebagainya. Jenis senyawa nitrogen yang digunakan tergantung pada jenis jasadnya (Suriawiria, 1999).

Tabel 15,Analisi Lama Fermentasi terhadap Viskositas

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Viskositas (mPa.s)** |
| 24 | 175 |
| 48 | 140 |
| 72 | 125 |
| 96 | 121 |
| 120 | 115 |
| 144 | 102 |

|  |
| --- |
|  |

Gambar 19. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Viskositas

Berdasarkan Gambar 19. diatas menunjukkan semakin lama fermentasi akan menghasilkan viskositas yang rendah. Pembuatan fruitghurt tidak membuat viskositas meningkat dikarenakan pada pemecahan reaksinya hanya glukosa yang menghasilkan asam laktat. Sedangkan pada fermentasi yoghurt semakin lama fermentasi maka viskositas akan semakin meningkat. Hal tersebut dikarenakan protein yang terdapat pada susu akan di ganggu keseimbangannya hingga membentuk gumpalan koagulan yang mengakibatkan peningkatan viskositas dan tekstur susu akan mengental.

Menurut fernandez, (2007). Bahwa produk fermentasi yang mengacu pada yoghurt mempunyai viskositas antara 8,23-13,00 cP. Hal ini mungkin disebabkan karena kondisi pH yang asam. Nilai pH dapat menurunkan kelarutan kasein, sehingga terjadi interaksi hidrofobik antara misel kasein membentuk struktur dan konsistensi yoghurt drink yang menyebabkan yoghurt drink makin kental sehingga viskositas naik.

### Fermentasi Dengan menggunakan Plain Yoghurt

Tabel 16. Hasil Penelitian Utama Menggunakan Starter Plain Yoghurt

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Asam Laktat (%)** | **pH** | **Viskositas (mPa.s)** |
| 24 | 0,47 | 4,54 | 156 |
| 48 | 0,66 | 4,31 | 132 |
| 72 | 0,76 | 3,92 | 115 |
| 96 | 0,85 | 3,46 | 102 |
| 120 | 1,04 | 3,37 | 83 |
| 144 | 1,23 | 3,23 | 80 |

*Lactobacillus bulgaricus* adalah salah satu BAL yang digunakan sebagai starter kultur untuk susu fermentasi. Bakteri ini dapat ditemukan di dalam vagina dan sistem pencernaan, dimana mereka bersimbiosis dan merupakan sebagian kecil dari flora usus. Menurut feliatra et al (2004) *Lactobacillus* tersebar luas di lingkungan terutama pada hewan dan prosuk makanan sayur-sayuran. Mereka biasanya mendiami saluran usus burung dan mmalia, tidak bersifat patogen. Dalam susu, *Lactobacillus bulgaricus* akan mengubah laktosa menjadi asam laktat. Bakteri ini bersifat termodurik (dapat hidup pada suhu pasteurisasi 63-75oC.

Tabel 17. Analisis waktu fermentasi terhadap asam laktat menggunakan starter plain yoghurt

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Asam Laktat (%)** |
| 24 | 0,47 |
| 48 | 0,66 |
| 72 | 0,76 |
| 96 | 0,85 |
| 120 | 1,04 |
| 144 | 1,23 |

|  |
| --- |
|  |

Gambar 20.Grafik Kolerasi waktu fermentasi terhadap asam laktat

Berdasarkan tabel 17 dan Gambar 20 di atas fermentasi fruitghurt murbei hitam dengan menggunakan starter plain yoghurt menunjukan bahwa waktu fermentasi berpengaruh terhadap kandungan asam laktat yang terbentuk. Semakin lama fermentasi berlangsung maka jumlah asam laktat yang terbentuk akan semakin meningkat.

Jumlah asam laktat yang terbentuk menggunakan starter plain yoghurt dengan starter kultur murni *Lactococcus lactis* dengan *Streptococcus thermophilus* berbeda nyata. Kadar asam laktat fruitghurt dengan menggunakan starter kultur murni akan memiliki jumlah yang lebih tinggi pada tiap jamnya daripada fruitghurt yang difermentasi menggunakan plain yoghurt.

Pembuatan fruitghurt yang menggunakan starter plain yoghurt, bakteri asam laktat akan terlebih dahulu memecah substrat yang terkandung pada plain. Dikarenakan *lactobacillus* akan memecah laktosa yang masih terdapat pada plain sehingga untuk pemecahan glukosa pada buah akan berjalan lambat.

Fruitghurt dengan menggunakan kultur murni memiliki asam laktat yang lebih tinggi, bakteri asam laktat akan memecah struktur kompleks dari gula pereduksi pada buah murbei menjadi lebih sederhana lagi sehingga menghasilkan asam laktat yang lebih optimum. Suhu inkubasi mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Lactococcus lactis* dengan *Streptococcus thermophilus.*

Hasil fermentasi menunjukkan viskositas dari fruitghurt dengan menggunakan plain yoghurt akan lebih cair daripada yang menggunakan kultur murni. Aroma yang dihasilkan akan berbeda pula.

Tabel 18. Analisis waktu fermentasi terhadap pH menggunakan starter plain yoghurt

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **pH** |
| 24 | 4,54 |
| 48 | 4,31 |
| 72 | 3,92 |
| 96 | 3,46 |
| 120 | 3,37 |
| 144 | 3,23 |

|  |
| --- |
|  |

Gambar 21. Grafik kolerasi waktu fermentasi terhadap pH

Berdasarkan Gambar 21. diatas menunjukkan semakin lama waktu fermentasi maka pH (derajat keasaman) pada fruitghurt akan semakin menurun. Hal ini menunjukkan bahwa pembentukan asam laktat akan terus meningkat seiring dengan pH yang terbentuk. Penurunan pH pada fruitghurt dengan menggunakan starter alami dan starter plain yoghurt memiliki nilai yang berbeda.

Pembuatan fruitghurt menggunakan plain yoghurt memiliki pH yang tidak terlalu rendah dan rasa yang asam. Berbeda dengan fruitghurt menggunakan kultur murni. Aroma yang terbentuk juga berbeda, fruitghurt dengan kultur murni memiliki aroma asam yang kuat daripada fruitghurt dengan starter plain yoghurt. Deajat keasaman pada buah dan susu berbeda hal ini menentukan pH yang terbentuk pada produk.

Pengukuran nilai pH dilakukan menggunakan pH meter. Sebelum dilakukan pengukuran, pH meter harus dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan penyangga (buffer) 7,0. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap larutan sampel dengan mencelupkan elektroda pada pH meter ke dalam larutan sampel dan di biarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil.

Tabel 19. Analisis waktu fermentasi terhadap viskositas menggunakan plain yoghurt

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Viskositas (mPa.s)** |
| 24 | 156 |
| 48 | 132 |
| 72 | 115 |
| 96 | 102 |
| 120 | 83 |
| 144 | 80 |

|  |
| --- |
|  |

Gambar 22. Grafik Kolerasi waktu fermentasi terhadap viskositas

Berdasarkan tabel 19 dan gambar 22. Menunjukkan waktu fermentasi sangat mempengaruhi viskositas yang terbentuk pada minuman fruitghurt murbei hitam. Semakin lama waktu fermentasi maka viskositas yang terbentuk akan semakin menurun dan rendah. Hal tersebut dikarenakan pada fruitghurt tidak terkandung protein yang dapat terkoagulasi pada saat fermentasi berlangsung sehingga menggumpal dan memberikan tekstur kental pada produk.

Viskositas yang terbentuk antara fruitghurt dengan yoghurt sangatlah berbeda. Pada yoghurt semakin lama waktu fermentasi maka viskositas akan semakin meningkat dan mengental. Sedangkan pada fruitghurt semakin lama waktu fermentasi makan viskositas ynag terbentuk akan semakin mencair. Dikarenakan komponen yang terdapat pada buah akan disederhanakan oleh bakteri asam laktat membentuk asam laktat dan asam-asam organik lainnya.

Tabel 20. Analisis vitamin C Fruitghurt murbei hitam dengan starter alami dan starter plain yoghurt

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Starter** | **Jumlah Vitamin C** | **Jumlah Alkohol** |
| *Lactococcus lactis* dengan *Streptococcus thermophilus* | 532,4215 mg vit C/100 | 0,00 % |
| Plain yoghurt (*Lactobacillus bulgaricus)* | 324, 959 mg vit C/100 | 0,33 % |

Berdasarkan tabel 20. menunjukkan jumlah vitamin C yang terbentuk selama fermentasi berlangsung. Pada fruitghurt dengan menggunakan kultur murni vitamin C yang terbentuk lebih besar daripada fruitghurt dengan menggunakan plain yoghurt. Karena pada pembuatan fruitghurt menggunakan kultur murni tanpa adanya campuran susu sehingga vitamin C pada buah dapat terukur. Sedangkan fruitghurt menggunakan plain yoghurt memiliki kandungan susu meskipun dengan kadar sangat kecil.

Fermentasi fruitghurt yang menggunakan plain yoghurt kandungan vitamin C pada fruitghurt lebih rendah dibandingkan dengan yang menggunakan kultur murni hal ini memungkinkan terjadi dikarenakan di plain yoghurt ada bakteri lain yang menguraikan vitamin C mirip dengan karbohidrat.

Berdasarkan tabel 20. kadar alkohol pada fruitghurt dengan menggunakan kultur murni dan plain yoghurt berbeda. Uji alkohol dilakukan dengan menggunakan fruitghurt yang telah terfermentasi selama 6 hari. Dari Tabel 20 dapat dilihat kandungan alkohol pada starter kultur murni sebesar 0,00% sedangkan pada starter plain yoghurt sebesar 0,33 %. Pada fruitghurt menggunakan bakteri campuran *Lactococcus lactis* dengan *Streptococcus thermophilus.* Fruitghurt dengan menggunakan starter plain yoghurt hanya terdapat bakteri *Lactobacillus bulgaricus*. Dengan penggunakan satu jenis bakteri pada plain akan memiliki kadar alkohol lebih tinggi di bandingkan dengan yang menggunakan kultur campuran.

Perbedaan antara fruitghurt dan yoghurt yaitu dari bahan baku yang digunakan. Yoghurt merupakan sebagai produk yang diperoleh dari susu yang telah dipasteurisasi, kemudian difermentasi dengan bakteri sampai diperoleh keasaman bau dan rasa yang khas, dengan atau tanpa penambahan bahan lain yang diizinkan. Sedangkan fruitghurt yaitu produk hasil fermentasi dari buah-buahan. Prinsip pembuatah fruitghurt adalah fermentasi buah dengan menggunakan bakteri asam laktat (BAL), BAL yang biasa digunakan yaitu bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcos thermophillus.*

Istilah bakteri asam laktat pertama kali dikenal sebagai organisme pengasam susu. Kultur murni pertama yang berhasil diisolasi oleh J. Lister pada tahun 1873 adalah *Bacterium lactis (*kemungkinan *Lactococcus lactis*) (Salminen et al. 2004). Bakteri asam laktat merupakan bakteri gram positif tidak berbentuk spora akan tetapi selnya berbentuk batang atau bulat, baik tunggal berpasangan atau berantai. BAL bersifat mikroaerofilik sampai anaerob, tidak motil atau sedikit motil dan kompleks, serta bersifat mesofilik atau menyukai suhu 10-40oC (Stamer, 1980).

Menurut Salminen (2004), syarat yang harus dipenuhi oleh bakteri asam laktat yang berfungsi sebagai probiotik antara lain:

1. Suatu probiotik harus nonpatogenik yang mewakili mikroorganisme normal usus dari inang tertentu dan masih aktif pada kondisi asam lambung dan konsentrasi garam empedu yang tinggi di dalam usus,
2. Suatu probiotik yang baik harus mampu tumbuh dan bermetabolisme dengan cepat dan terdapat dalam jumlah yang tinggi pada usus,
3. Probiotik yang ideal dapat mengkolonisasi beberapa bagian saluran usus untuk sementara,
4. Probiotik dapat memproduksi asam-asam organik secara efisien dan memilki antimikroba terhadap bakteri yang merugikan,
5. Mudah diproduksi, mampu tumbuh dalam sistem produksi skala besar, dan dapat hidup selama kondisi penyimpanan.

Fermentasi glukosa pada prinsipnya terdiri dari dua tahap, yaitu :

1. Pemecahan rantai karbon dari glukosa dan pelepasan paling sedikit dua pasang atom hidrogen, menghasilkan senyawa karbon lainnya yang lebih teroksidasi daripada glukosa.
2. Senyawa yang teroksidasi tersebut direduksi kembali oleh atom hidrogen yang dilepaskan dalam tahap pertama, membentuk senyawa-senyawa lain sebagai hasil fermentasi. Reaksi oksidasi tidak dapat berlangsung tanpa reaksi reduksi yang seimbang. Oleh karena itu, jumlah atom hidrogenyang dilepaskan dalam tahap pertama fermentasi selalu seimbang dengan jumlah yang digunakan dalam tahap kedua (Fardiaz, 1992),

# V. KESIMPULAN DAN SARAN

Bab ini menguraikan mengenai (1) Kesimpulan dan (2) Saran.

## 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Lama fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan asam laktat dengan menggunakan starter murni *Lactococcus lactis* dan *Streptococcus thermophilus* (1:1) sebesar1,08 %. Lama Fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan asam laktat dengan menggunakan plain yoghurt sebesar 0,76% pada waktu yang terpilih yaitu jam ke 72.
2. Lama fermentasi berpengaruh terhadap penurunan pH fruitghurt murbei hitam dengan menggunalan starter alami *L. Lactis* dengan *S.thermophilus* (1:1) dan dengan fermentasi mengguankan plain yoghurt.
3. Lama fermentasi berpengaruh terhadap viskositas fruitghurt murbei hitam. Semakin lama waktu fermentasi maka viskositas akan semakin menurun.

## 5.2. Saran

1. Pada penelitian selanjutnya untuk adanya penambahan *Bifidobacteria* sebagai probiotik. Sehingga bakteri yang dihasilkan akan sampai pada usus untuk membantu pencernaan manusia.
2. Perlu adanya uji sensori untuk mengatahui apakah produk dapat diterima oleh konsumen atau tidak.
3. Penelitian dapat dilakukan dengan kosentrasi sukrosa yang beragam.

# DAFTAR PUSTAKA

Aliefa Nur Azmi dan Yunianta, 2015. “*Ekstraksi antosianin dari buah murbei (morus alba. L) metode microwave assisted extraction (kajian waktu ekstraksi dan rasio bahan: pelarut)*”**.** Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang

Anjarsari Bonita, 2010. *“Pangan Hewani : Fisiologi Pasca Mortem dan Teknologi”.* Graha Ilmu. Yogyakarta

Antrini Nanak, 2011. “*Sinbiotik Antara Prebiotik dan Probiotik*”. Dosen Jurusan Gizi. Poltekes. Denpasar

AOAC. 1980. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry*. Association of Official Analytical Chemist. Washington D.C.

Ardiyawati dan Fitriyah, 2015. “*Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Kadar Asam Laktat dalam Pembuatan Fruitghurt dari Kulit Buah Semangka*”. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Muhamadiyah Jakarta

Badan Standardisasi Nasional. 1992 . *Yogurt*. SNI 01-2981-1992. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.

Bio[scienceportal](https://bioscienceportal.wordpress.com/author/bioscienceportal/), 2013. *Lactic Acid Bacteria*. <https://bioscienceportal.wordpress.com>. Diakses : 25 Agustus 2016

Bramayadi. 1986 . *Stabilisasi Minuman Yogurt dengan Homogenisasi dan Penambahan CMC dan Tween 40*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB. Bogor.

Budiyanto, A. K. . 2002. *Mikrobiologi Terapan.* Malang: Universitas Muhamaddiyah Malang Press.

Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H. dan Wootton, M. 2009. Ilmu Pangan. UI Press. Jakarta.

Chaitow, L dan N. Trener. 1990. *Probiotics*. Thorsons. London.

Dalimartha, S. 2002. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid I. Jakarta : Trubus Agriwidya.

Dwidjoseputro, D. 2005. Dasar-dasar Mikrobiologi. Djambatan: Jakarta

Fernandez Maria, 2013. “*Studi Penggunaan Antibiotik Tanpa Resep Di Kabupaten Manggarai dan Manggarai Barat – NTT*”. Jurusan Farmasi. Universitas Surabaya.

Fardiaz. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

Feliatra, I Efendi, E Suryadi. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari

Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. Jurnal Natur Indonesia 6(2): 75-80.

Fernandes, C. F. and Shahani, K. M. 2007. *Anticarcinogenic and Immunological*

Properties of Dietary *Lactobacilli*. J. Food Prot. 53:704.

Fuller, R. 1992 . *Probioti*c : The Scientific Basic. Chapman and Hall. London.

Granito, M & G. A’Ivarez, 2006. Lactic acid fermentation of black beans (phaseolus vulgaris): micribiological and chemical characterization. Journal of the Science of Food and Agriculture. 86:1164-1171

Grant Amy, 2016. *Mulberry Tree Care – Learn How To Grow Mulberry Trees*. <http://www.gardeningknowhow.com>. Diakses : 9 Agustus 2016

Hoier, E. 1991. *Use Probiotic Starter Cultures in Dairy Product*. Food Australia

44(9): 418-420.

Hull, R.R., P.L. Conway dan A.J.Evans. 1992. *Probiotic Foods a New Opportunity.* Food Australia 44(3):112-113.

Ikhsan,M,F dan Yulianti, F, S. 2015. *“Fermentasi Fruitghurt Dengan Variasi Kult Buah”.* Jurusan Teknik Kimia, Fakultas teknik, Universitas Diponegoro. Semarang.

Jay, J.M. 2000. *Modern Food Microbiology*. 6th ed. Aspen Publisher. Las Vegas Nevada. hal. 113-130

Kartika, Bambang. 1988. *Pedoman Uji Inderawi Bahan Pangan*. Penerbit Pusat Antar Universitas pangan dan Gizi. Yogyakarta

Kunaepah, U. 2008. *Pengaruh Lama Fermentasi Dankonsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total Dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah*. Tesis. Universitas Diponegoro, Semarang

Kuntarso Andal, 2007. “*Pengembangan Teknologi Pembuatan Low-Fat Fruity Bio-Yogurt (Lo-Bio F)”.* Department Ilmu dan Teknologi Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.

Kusmayadi, S. 1994. *Pengaruh Imbangan Starter Streptococcus Thermophillus dan Lactobacillus Bulgaricus terhadap Beberapa Karakteristik Fruitghurt.* Laporan Penelitian. Bandung: FP UNPAD.

Madigan, M.T.,J.M.Martinko & D.A. Stahl, 2011. Biology of microorganism. 13th ed. Benjamin Cummings, San Francisco

Mozzi F, Raya RR, Vignolo GM. 2010. Biotechnology of Lactic Acid bacteria. USA: Blackwell Publishing.

Mulberries nutrition facts, 2009. [www.nutrion-and-you.com/mulberries.hmtl](http://www.nutrion-and-you.com/mulberries.hmtl)

Murti, Bisma. 2010. Penerapan Metode Statistik Non-Parametrik Dalam Ilmu-Ilmu Kesehatan. Jakarta: Gramedia Putaka.

Orihara, O.I, I. Sakauchi, dan Y. Nakazawa. 1992 . *Methods for Fermented Milks*

*and Lactic Drinks. In : Functions Health Science*. Y. Nakazawa and A.

Hasono (eds.). Elsevier Science Publishers. England

Purwanti ira, 2013. Uji Total Asam dan Organoleptik Dalam Pembuatan Yoghurt Susu Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus*) Dengan Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L*). Prodi Pendidikan Biologi. Universitas Muhammadiyah. Surakarta.

Retnowati, P.Anggun,dan J.Kusnadi. 2014. *Pembuatan Minuman Probiotik Sari Buah Kurma (Phoenix Dectylifera) dengan Isolat Lactobacillus casei dan Lactobacillus plantarum*. Jurnal Pangan dan Agroindustri Universitas Brawijaya. 2(2):1-6.

Saddul, D., Z.A. Jelan, J.B. Liang and R.A. Halim. 2004a. *The potential of mulberry (Morus alba) as a foddercrop: The effect of plant maturity on yield, persistence and nutrient composition of plant fractions*. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 17(12): 1657 – 1662.

Salminen, S., Wright, AV., Ouwehand, A. 2004. Lactic Acid Bacteria. Marckel

Dekker. New York.

San, H.S, W.J. Kim, S.K.Cha dan B.H. Lee. 1996 . *Growth of Lactobacillus Acidophilus in Whey Based Medium and Preparation of Cell Concentrate for Production of Probiotic.* Journal of Microbiology and Biotechnology 6 (2) : 128-131.

Satiawihardja. 1992. *Teknologi Pemanfaatan Limbah untuk Pakan: Fermentasi.* <http://satiawihardjajajo66.files.wordpress.com/2008/03/6fermentasi.pdf>. Diakses pada 20 Agustus 2016

Setya Rizal, 2009. *Pengaruh Fermentasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Kadar Protein Susu Kedelai*. Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan IPA. Universitas Negeri Semarang. Semarang

Silalahi, F.Y. 2009. *Fermentasi Fruitghurt dengan Variasi Kulit Buah Sebagai Upaya dalam Pemanfaatan Limbah cair Buah*. Skripsi. Semarang: FT UNDIP.

Sudjana. 2005. *Metode Statistika*, Edisi Keenam. Tarsito. Bandung.

Sumantri, Indro. 2004. “*Pemanfaatan Mangga Lewat Masak Menjadi Fruitghurt dengan Mikroorganisme Lactobacillus bulgaricus*”. <http://docs.google.com/Pemanfaatan-mangga-fruitghurt.pdf>. Diakses 10 Mei 2016

Sunanto Hatta. 1997. *Budidaya Murbei dan Usaha Persuteraan Alam.  Penerbit Kanisius,* Yogyakarta

Suriawiria, unus, 1999. Pengantar mikrobiologi Umum. Aksara : Bandung

Taufik, Yusman. 2016. *The effect of drying temperature on the antioxidant activity of black mulberry leaf tea (Morus Nigra).* <http://www.rasayanjournal.co.in>. Akses : 18 januari 2017

Tirtasujana, D.R. 1998. *Aktivitas Antimikroba Susu yang Difermentasi Menggunakan Kultur Campuran Bifidobakteria dan BAL*. Skripsi. Fateta,

IPB. Bogor.

Waspodo, I.S. 2001 . *Efek Probiotik Sinbiotik Bagi Kesehatan., Prebiotik*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. FTP Universitas Brawijaya. Malang

Wong, N.P., R. Jennes, M. Keeney, dan E.H. Marth. 1988. *Fundamental of Dairy Chemistry*. 3rd Edition. Van Nostrand Reinhold, New York.

Yunita Ardiyawati, Nurul Hidayati Fithriyah, 2015. “Pengaruh Waktu InkubAsi Terhadap Kadar Asam Laktat Dalam Pembuatan Fruitghurt”. Dari Kulit Buah Semangka. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Jakarta

# LAMPIRAN

**Lampiran 1. Prosedur Penelitian**

1. **Analisis Kadar Karbohidrat Metode Luff Schoorl (AOAC, 1995)**

Sampel yang dihaluskan, ditimbang sebanyak 2 gram. Kemudian dilarutkan pada labu 100 ml dan ditanda bataskan dengan aquadest dan namakan larutan ini sebagai larutan A.

Sebelum Inversi : Dipipet 10ml larutan dari labu A ke erlenmeyer, ditambahkan 15ml aquadest dan 10ml larutan Luff Schoorl. Kemudian direfluks selama 10 menit pada kondensor. Setelah itu didinginkan dengan air mengalir, ditambahkan 10ml H­2SO4 dan 1 gram KI padat. Kemudian dititrasi dengan larutan bakun Na2S2O3 hingga terbentuk TET (Titik Ekuivalen Titrasi) berwarna kuning jerami yang kemudian ditambahkan 1 ml amilum dan dititrasdi kembali hingga TAT berwarna biru hilang.

Sesudah Inversi : Dipipet 10ml larutan dari labu A ke dalam erlenmeyer, ditambahkan 15ml aquadest dan 10ml HCl 9,5N. Kemudian direfluks selama 15 menit dan didinginkan dengan air mengalir. Setelah itu, ditambahkan 2 tetes PP dan NaOH 30% hingga merah muda (netral). Jika kelebihan basa, tambahkan HCl 9,5N. Kemudian larutan dipindahkan kelabu takar 100ml dan ditandabataskan dengan aquadest. Larutan ini dinamakan larutan B. Dipipet 10ml dari labu B ditambahkan 15ml aquadest dan 10ml larutan *Luff Schoorl*. Kemudian direfluks selama 10 menit pada kondensor. Setelah itu didinginkan dengan air mengalir, ditambahkan 10ml H­2SO4 dan 1 gram KI padat. Kemudian dititrasi dengan larutan baku Na2S2O3 hingga terbentuk TET (Titik Ekuivalen Titrasi) berwarna kuning jerami yang kemudian ditambahkan 1 ml amilum dan dititrasdi kembali hingga TAT berwarna biru hilang.

Perhitungan :

|  |
| --- |
| mL Na2S2O3 = (Vb – Vs) N. Na2S2O3  0,1  Kadar gula sebelum inversi = (mg gula (tabel) x Fp x 100%  Ws x 1000  Kadar gula sebelum inversi I = (mg gula (tabel) x Fp x 100%  Ws x 1000  Kadar disakarida (sukrosa) = [% gula setelah inversi - % gula sebelum inversi] x 0,95]  Kadar gula total = % gula sebelum inversi + kadar sukrosa |

1. **Analisis Vitamin C metode Iodimetri**

Sampel di timbang sebanyak 5 gram kemudian ditambahkan 100 ml aquadest dimasukkan kedalam Erlenmeyer. Kemudian ditambahkan 5 ml amylum 1%. Kemudian dititrasi dengan I2 baku. Titik Akhir Titrasi (TAT) ditandakan dengan warna biru.

|  |
| --- |
| Perhitungan :  Kadar Vitamin C = V I2 x N I2 x BE Vitamin C x 100%  Ws |

1. **Analisis Kadar Asam Laktat**

Sampel dipipet 10 mL, kemudian dimasukkan kedalam Erlenmeyer 100 mL. lalu ditambah dua tetes indicator Phenolpthalein. Kemudian dititrasi dengan larutan baku NaOH Titik Akhir Titrasi (TAT) sampai terbentuk warna merah muda.

|  |
| --- |
| Perhitungan :  % asam laktat = (V x N)NaOH x Fp x BE Asam laktat x 100%  Ws x 1000  BE asam laktat= 90 |

1. **Analisis Mikrobiologi TPC (*Total Plate Count*)**

Prinsip dari metode TPC adalah jika sel jasad renik yang masih hidup di tumbuhkan pada medium agar, maka sel jasad renik tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan di hitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop.

Prosedur Pengerjaanya :

Dalam metode hitungan cawan, bahan pangan yang di perkirakan mengandung lebih dari 300 sel jasad renik per ml atau per gram atau per cm , memerlukan perlakuan pengenceran sebelum ditumbuhkan pada medium agar di dalam cawan petri. Setelah inkubasi akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung. Larutan yang digunakan untuk pengenceran dapat berupa larutan bufer fosfat, 0,85% NaCl, atau larutan Ringer. Dari pengenceran yang dikehendaki dimasukan ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan agar cair steril yang telah didinginkan (45-47OC) sebanyak 15-20 ml dan digoyangkan supaya menyebar rata.

Perhitungan :

Koloni/ml atau per gram = Jumlah Koloni per cawan X

1. **Analisis Fisik kadar pH menggunakan pH meter**

Prosedur:

Keringkan dengan kertas tissue selanjutnya bilas elektroda dengan air suling. Bilas elektroda dengan contoh uji, Celupkan elektroda ke dalam contoh uji sampai pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap, Catat hasil pembacaan skala atau angka pada tampilan dari pH meter.

1. **Prosedur Pengukuran Viskositas dengan Viskometer**

Prosedur:

Sampel sebanyak 100 ml dimasukan kedalam gelas kimia plastik sampai tanda batas dan diaduk terlebih dahulu, bandul (spidel) denganukuran yang sesuai dimasukkan kedalam sampel yang akan diukur kekentalannya, kemudian batang pengaduk diatur berdasarkan nomor spidel 1,2, dan 3. Alat viskometer dinyalakn dan dicatat berapa nilai yang ditunjukkan oleh alat tersebut berdasarkan spidel yang digunakan, nilai dicatat dalam satuan mPa.s.

**Lampiran 2. Lampiran Hasil Analisis**

1. **Gula Total Metode Luff Schoorl**

**Tahap 1 (sebelum inversi)**

Blanko Luff school

Ws = 0,5 gram

Vb = 11,00 ml Na2S2O3 = 0,1017

V1  = 9,6 mL

V2 = 9,6 ml

= 1,4238 ml

1. a = 1 d = 2,4

b = 1,4238 x

c = 2 e = 4,8

= 3,42 mg

Jadi, mg glukosa sebelum inversi 1 sebesar 3,42 mg

= 6,84 %

**Tahap 2 (Setelah inversi)**

Vs = 9,35 ml

= 1,678 ml

1. a = 1 d = 2,4

b = 1,678 x

c = 2 e = 4,8

= 4,0272 mg

Jadi, mg glukosa sesudah inversi 4,0272 mg

= 16,1088 %

1. Kadar gula disakarida = (%gula stlh inversi - %gula sebelum inversi) x 0,95

= (16,1088 – 6,84) x 0,95

= 8,80536 %

1. Kadar gula total = (%gula sebelum inversi + % kadar gula sukrosa)

= 6,84 + 8,80536

= 15,65 %

**Perhitungan jumlah sel pada 2 jam sekali selama 24 jam**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Waktu (J)** | **Pengenceran** | | | **∑ sel (CFU/ml)** |
| **10-1** | **10-2** | **10-3** |
| **J1** | 15 | 3 | 3 | 150 |
| **J2** | 13 | 5 | 3 | 130 |
| **J3** | 9 | 3 | 1 | 90 |
| **J4** | 20 | 7 | 4 | 200 |
| **J5** | 23 | 8 | 6 | 230 |
| **J6** | 76 | 31 | 16 | 760 |
| **J7** | 37 | 9 | 11 | 900 |
| **J8** | 131 | 70 | 17 | 1310 |
| **J9** | 169 | 89 | 23 | 1690 |
| **J10** | 42 | 19 | 12 | 1900 |
| **J11** | 225 | 106 | 57 | 2250 |
| **J12** | 281 | 96 | 61 | 2810 |

Gambar 23. Grafik Pertumbuhan L.lactis dan S.thermophilus pada substrat cair

**Lampiran 3. Formulasi Bahan**

1. Perbandingan 3 : 1

Basis : 100 gram

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Buah Murbei | 93 % | 93 gram |
| Buah murbei : air | 3 : 1 | 69,75 : 23,25 |
| Starter *L. lactis dan S. thermophiles* | 5 % | 5 gram (4,75 ml) |
| Gula | 2 % | 2 gram |

1. Perbandingan 2 : 1

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Buah Murbei | 93 % | 93 gram |
| Buah murbei : air | 2 : 1 | 62 : 31 |
| Starter *L. lactis dan S. thermophiles* | 5 % | 5 gram (4,75 ml) |
| Gula | 2 % | 2 gram |

1. Perbandingan 1 : 1

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Buah Murbei | 93 % | 93 gram |
| Buah murbei : air | 1 : 1 | 46,5 : 46,5 |
| Starter *L. lactis dan S. thermophiles* | 5 % | 5 gram (4,75 ml) |
| Gula | 2 % | 2 gram |

1. Perbandingan 1 : 0

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Buah Murbei | 93 % | 93 gram |
| Buah murbei : air | 1 : 0 | 93 : 0 |
| Starter *L. lactis dan S. thermophiles* | 5 % | 5 gram (4,75 ml) |
| Gula | 2 % | 2 gram |

**Lampiran 4. Analisis Penentuan Kadar Asam Laktat setiap Formulasi**

1. Perbandingan 3:1

Ws = 5,00 gram

Vs = 2,50 ml

= 4,5 %

1. Perbandingan 2 : 1

Ws =5,01 gram

Vs = 1, 00 ml

= 1, 796 %

1. Perbandingan 1 : 1

Ws = 5,01 gram

Vs = 0,50 ml

= 0,89 %

1. Perbandingan 1 : 0

Ws = 5,00 gram

Vs = 0,35 ml

= 0,63 %

**Lampiran 5. Hasil Analisis Kadar Asam Laktat (Penelitian Utama) Menggunakan Starter Murni**

**Formulasi yang terpilih yaitu perbandingan 2 : 1**

1. Fermentasi Hari 1

Diketahui : Ws = 5,00 gram

Vs = 0,45 ml

= 0,81 %

1. Fermentasi Hari 2

Diketahui : Ws = 5,01 gram

Vs = 0,55 ml

= 0,99 %

1. Fermentasi Hari 3

Diketahui : Ws = 5,00 gram

Vs = 0,60 ml

= 1,08 %

1. Fermentasi Hari 4

Diketahui : Ws = 5,02 gram

Vs = 0,75 ml

= 1,345 %

1. Fermentasi Hari 5

Diketahui : Ws = 5,01 gram

Vs = 0,80 ml

= 1,44 %

1. Fermentasi Hari 6

Diketahui : Ws = 5,00 gram

Vs = 0,90 ml

= 1,62 %

Tabel 21. Hasil Analisis Penelitian Utama

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Asam Laktat (%)** | **pH** | **Viskositas (mPa.s)** |
| 24 | 0,81 | 4,23 | 175 |
| 48 | 0,99 | 4,07 | 140 |
| 72 | 1,08 | 3,86 | 125 |
| 96 | 1,345 | 3,71 | 121 |
| 120 | 1,44 | 3,48 | 115 |
| 144 | 1,62 | 1,52 | 102 |

**Data setiap perlakuan**

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Asam Laktat (%)** |
| 24 | 0,81 |
| 48 | 0,99 |
| 72 | 1,08 |
| 96 | 1,345 |
| 120 | 1,44 |
| 144 | 1,62 |

Gambar 24. Grafik korelasi asam laktat dan waktu fermentasi

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Fermentasi jam ke-**  **(Xi)** | **Kadar asam laktat**  **(Yi)** | **(Xi2)** | **(Yi2)** | **(Xi.Yi)** |
| 24 | 0,81 | 576 | 0,6561 | 19,44 |
| 48 | 0,99 | 2304 | 0,9801 | 47,52 |
| 72 | 1,08 | 5184 | 1,1664 | 77,76 |
| 96 | 1,345 | 9216 | 1,809025 | 129,12 |
| 120 | 1,44 | 14400 | 2,0736 | 172,8 |
| 144 | 1,62 | 20736 | 2,6244 | 233,28 |
| ∑ = 504 | ∑ = 7,285 | ∑ = 52416 | ∑ = 9,309625 | ∑ = 679,92 |

= (7,285) (52416) – (504) (679,92)

6 (52416) – (504)2

a = 6,476

= 6 (679,92) – (504) (7,285)

6 (**52416**) – (**504**)2

b = 0,006744

= 4079,52 – 3671,64

r = 0,99356217

r2 = 0,9872

Y = a + bx

Y = **6,476**+ 0,006744x

Y = 0,006744x + 6,476

**Korelasi terhadap pH fruitghurt**

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **pH** |
| 24 | 4,23 |
| 48 | 4,07 |
| 72 | 3,86 |
| 96 | 3,71 |
| 120 | 3,48 |
| 144 | 3,13 |

Gambar 25. Grafik kolerasi waktu fermentasi dan pH

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Fermentasi jam ke-**  **(Xi)** | **Kadar pH**  **(Yi)** | **(Xi2)** | **(Yi2)** | **(Xi.Yi)** |
| 24 | 4,23 | 576 | 17,8929 | 101,52 |
| 48 | 4,07 | 2304 | 16,5649 | 195,36 |
| 72 | 3,86 | 5184 | 14,8996 | 277,92 |
| 96 | 3,71 | 9216 | 13,7641 | 356,16 |
| 120 | 3,48 | 14400 | 12,1104 | 417,6 |
| 144 | 3,13 | 20736 | 9,7969 | 450,72 |
| ∑ = 504 | ∑ = 22,48 | ∑ = 52416 | ∑ =85,0288 | 1799,28 |

= (22,48) (52416) – (504) (1799,28)

6 (52416) – (504)2

a = 4,4887

= 6 (1799,28) – (504) (22,48)

6 (**52416**) – (**504**)2

b = - 0,00883

= 10795,68 – 11329,92

r = -0,9892

r2 = 0,9786

Y = a + bx

Y = 4,4887 - 0,00883x

Y = - 0,00883 + 4,4887

**Kolerasi terhadap viskositas fruitghurt**

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Viskositas (mPa.s)** |
| 24 | 175 |
| 48 | 140 |
| 72 | 125 |
| 96 | 121 |
| 120 | 115 |
| 144 | 102 |

Gambar 26. Grafik kolerasi waktu fermentasi dan viskositas

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Fermentasi jam ke-**  **(Xi)** | **Viskositas (mPa.s)**  **(Yi)** | **(Xi2)** | **(Yi2)** | **(Xi.Yi)** |
| 24 | 175 | 576 | 30625 | 4200 |
| 48 | 140 | 2304 | 19600 | 6720 |
| 72 | 125 | 5184 | 15625 | 9000 |
| 96 | 121 | 9216 | 14641 | 11616 |
| 120 | 115 | 14400 | 13225 | 13800 |
| 144 | 102 | 20736 | 10404 | 14688 |
| ∑ = 504 | ∑ = 778 | ∑ = 52416 | ∑ = 104120 | ∑ = 60024 |

= (778) (**52416**) – (**504**) (60024)

6 (**52416**) – (**504**)2

a = 174,06667

= 6 (60024) – (504) (778)

6 (**52416**) – (**504**)2

b = -0,5286

= 360144 – 392112

r = -0,932408

r2 = -0,86938

Y = a + bx

Y = 174,06667+ -0,5286x

Y = -0,5286x + 174,06667

**Lampiran 6. Hasil Analisis Kadar Vitamin C Penelitian Utama (Sampel Terpilih)**

Diketahui: N : 0,01692

BE Vitamin C: 88,065

V : 3,60 ml

Ws: 1,00 gram

Vitamin C =

=

= 536,4215 mg Vit C/ 100 gram sampel

**Lampiran 7. Hasil Analisis Kadar Vitamin C Penelitian Utama (Sampel Terpilih Hari ke-3)**

Diketahui: N : 0,01692

BE Vitamin C: 88,065

V : 3,60 ml

Ws: 1,00 gram

Vitamin C =

=

= 536,4215 mg Vit C/ 100 gram sampel

|  |
| --- |
|  |

Gambar 27. Grafik Jumlah Bakteri Lactobacillus bulgaricus pada fermentasi susu pada 24 jam

**Lampiran 8. Hasil Analisis Kadar Asam Laktat Menggunakan Starter Plain Yoghurt**

**Formulasi yang terpilih yaitu perbandingan 2 : 1**

1. Fermentasi Hari 1

Diketahui : Ws = 5,00 gram

Vs = 0,25 ml

N NaOH = 0,1053 N

= 0,47 %

1. Fermentasi Hari 2

Diketahui : Ws = 5,01 gram

Vs = 0,35 ml

= 0,66 %

1. Fermentasi Hari 3

Diketahui : Ws = 5,00 gram

Vs = 0,40 ml

= 0,76 %

1. Fermentasi Hari 4

Diketahui : Ws = 5,03 gram

Vs = 0,45 ml

= 0,85 %

1. Fermentasi Hari 5

Diketahui : Ws = 5,00 gram

Vs = 0,55 ml

= 1,04 %

1. Fermentasi Hari 6

Diketahui : Ws = 5,00 gram

Vs = 0,65 ml

= 1,23 %

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Asam Laktat (%)** | **pH** | **Viskositas (mPa.s)** |
| 24 | 0,47 | 4,54 | 156 |
| 48 | 0,66 | 4,31 | 132 |
| 72 | 0,76 | 3,92 | 115 |
| 96 | 0,85 | 3,46 | 102 |
| 120 | 1,04 | 3,37 | 83 |
| 144 | 1,23 | 3,23 | 80 |

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Asam Laktat (%)** |
| 24 | 0,47 |
| 48 | 0,66 |
| 72 | 0,76 |
| 96 | 0,85 |
| 120 | 1,04 |
| 144 | 1,23 |

|  |
| --- |
|  |

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **pH** |
| 24 | 4,54 |
| 48 | 4,31 |
| 72 | 3,92 |
| 96 | 3,46 |
| 120 | 3,37 |
| 144 | 3,23 |

|  |
| --- |
|  |

Korelasi lama fermentasi terhadap pH

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Viskositas (mPa.s)** |
| 24 | 156 |
| 48 | 132 |
| 72 | 115 |
| 96 | 102 |
| 120 | 83 |
| 144 | 80 |

|  |
| --- |
|  |

**Lampiran 9. Hasil Analisis Kadar Vitamin C Penelitian Utama Menggunakan Starter Plain Yoghurt (Sampel Terpilih Hari ke-5)**

Diketahui: N : 0,01476

BE Vitamin C: 88,065

V : 2,50 ml

Ws: 1,00 gram

Vitamin C =

=

= 324,959 mg Vit C/ 100 gram sampel

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **Asam Laktat (%)** |
| 24 | 0,81 |
| 48 | 0,99 |
| 72 | 1,08 |
| 96 | 1,345 |
| 120 | 1,44 |
| 144 | 1,62 |

|  |
| --- |
|  |

Grafik Kadar Asam laktat

|  |  |
| --- | --- |
| **Waktu (jam)** | **pH** |
| 24 | 2,2 |
| 48 | 2 |
| 72 | 1,85 |
| 96 | 1,83 |
| 120 | 1,57 |
| 144 | 1,52 |

|  |
| --- |
|  |

**Lampiran 10. Analisis Uji Alkohol**

Diketahui : W pikno kosong = 13, 47 gram

W pikno + air = 38,25 gram

W pikno + sampel = 38,25 gram

= 1,000

Kadar alkohol pada sampel fruitghurt dengan menggunakan starter kultur murni berdasarkan tabel sebesar 0,00 %

Diketahui : W pikno kosong = 13, 46 gram

W pikno + air = 38,24 gram

W pikno + sampel = 38,23 gram

= 0,9995

Kadar alkohol pada sampel fruitghurt dengan starter plain yoghurt berdasarkan tabel sebesar 0,33 %