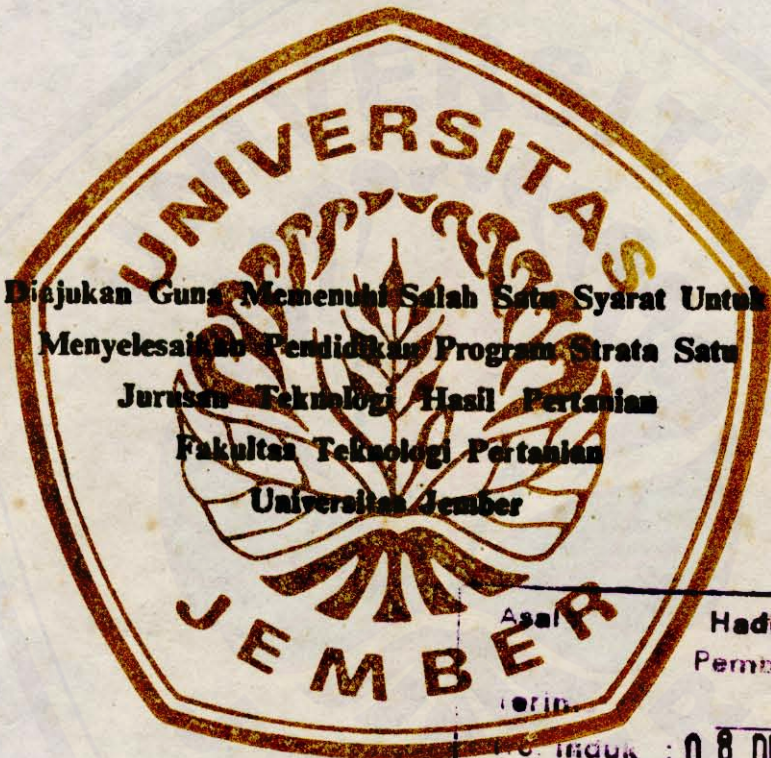




**PENGEMBANGAN PROBIOTIK DALAM STARTER YOGHURT
DENGAN VARIASI JENIS DAN KONSENTRASI
BAKTERI ASAM LAKTAT
(*L. casei*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*)**

S
637.1277
WID
P
c.1 f

**KARYA ILMIAH TERTULIS
(SKRIPSI)**



Asal	Hadiah	Klass
Urip	Pemberian	
Oleh :	Induk : 08 DEC 2004	
Wahyd Widyanto	Pengkatalog :	

WAHYD WIDYANTO
NIM. 001710101007

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2004**

DOSEN PEMBIMBING

Dr. Ir. SONY SUWASONO. MApp. Sc (DPU)

Ir. SUSIJAHADI, MS (DPA I)

Dr. Ir. JAYUS (DPA II)

Diterima oleh :

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

Sebagai Karya Ilmiah Tertulis

Dipertahankan pada :


Hari : Senin

Tanggal : 21 Juni 2004

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua



Dr. Ir. Sony Suwasono, MApp. Sc.

NIP. 131 865 702


Anggota I



Ir. Susijahadi, MS

NIP. 130 287 109

Anggota II

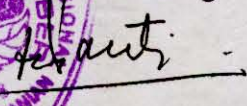


Dr. Ir. Jayus

NIP. 132 003 095

Mengesahkan

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian



Ir. Hj. Siti Hartanti, MS.

NIP. 130 350 763

“Allah akan meninggikan derajat orang-orang beriman dari kamu demikian pula orang-orang yang berilmu beberapa tingkatan derajat” (QS. Mujadalah.11)

Jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu (QS. Al – Baqoroh 45)

“Barang siapa yang membawa kebaikan, maka ia memperoleh (balasan) yang lebih baik daripadanya, sedang mereka itu adalah orang-orang yang aman tenteram dari kejutan yang dahsyat pada hari itu” (An Naml:89)

Yang penting bukan berapakali anda gagal tetapi berapakali anda bangkit dari kegagalan (Abraham Lincoln).

KARYA INI KUPERSEMBAHKAN KEPADA :

- ✦ *Ayahanda Moh. Ersjad dan Ibunda tercinta Yulistina Farida Ningsih, dengan do'a serta restumu sehingga anakmu selalu beristiqomah dalam menghadapi realitas kehidupan.*
- ✦ *My little sister Rusliyana Nuarita yang memberikan kerianan di dalam hidupku (bersikaplah lebih dewasa !!)*
- ✦ *Almamaterku*

Thank's To :

ALLAH SWT Sang Penguasa ALam Semesta, yang telah memberikan kesempatan kepadaku untuk hidup dan menikmati segala ciptaan-Mu.

Junjungan Besar Nabi Muhammad SAW, yang memberikan pedoman hidup selama aku hidup di dunia ini.

My Close Friends Eks My President Wak Kasan 'n Calon Dosen Marzuke, susah senang qta bersama, thank u 4 your integrity.

Yoghurt team (windy 'n Erick) terima kasih atas kerjasama dan bantuannya.

Kost Al-Balkon, Dony gendut (Thanks dah bantu ngedit) & Dur Pelo, Rudi towel (jangan mengeluh mlulu'..), Yoga semoga sukses dalam bercinta, Adi sekali2 beli buku Kuliah donk jangan komik mlulu'..., Paijo (atas kejahilannya...), Amang, Husni, Armand, Angga, Tony, Erick, Aris 'n slatem (tolong bimbing & lindungi mereka) terima kasih atas semua bantuan serta kebersamaannya.

Ahmad Nurdiansyah (Alm), Sahabat pertama kali aku di Jember Sahabat lamaku, Yudhi, Franz, N'dung

Temen2 nongkrong, Pipin, Bogres, Inul (semangat cak!!), Pak Col, Kingkong, Koprak Jono, Cinghe, Subkhan (udh utak-atik comp-q), Ashar Pentol, Lan-lan, Cici, QQ imut (sekarang ngga lagi...), Dono, Feetha, Nani (sbg DPA 4), Reny, Yoyok 'n Ninik, Naning, Devi dan Mbak Yenny (makacih atas masukannya)

Millennium Band 'n Crew, Bayonk, Figur, Yudha, Vembi, Udy, Merry, Leny, Metty, Indra dll.

Ligato Band 'n crew, Angga, Karim, Acek, Eko, Helen, Pak Nugraha dan ibu selaku Manajer serta Om Kabul selaku Manajer Operasional Gudang Garam.

Yamaha Crypton M3859TJ 'n P4 intel 2.0 atas jasanya.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) yang berjudul **“Pengembangan Probiotik Dalam Starter Yoghurt Dengan Variasi Jenis dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat (*L. casei*, *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*)**.

Penulisan Karya Ilmiah Tertulis ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Dalam proses penyelesaian Skripsi ini penulis banyak mendapatkan bantuan moril maupun materiil dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan rasa terima kasih dan hormat sedalam-dalamnya kepada :

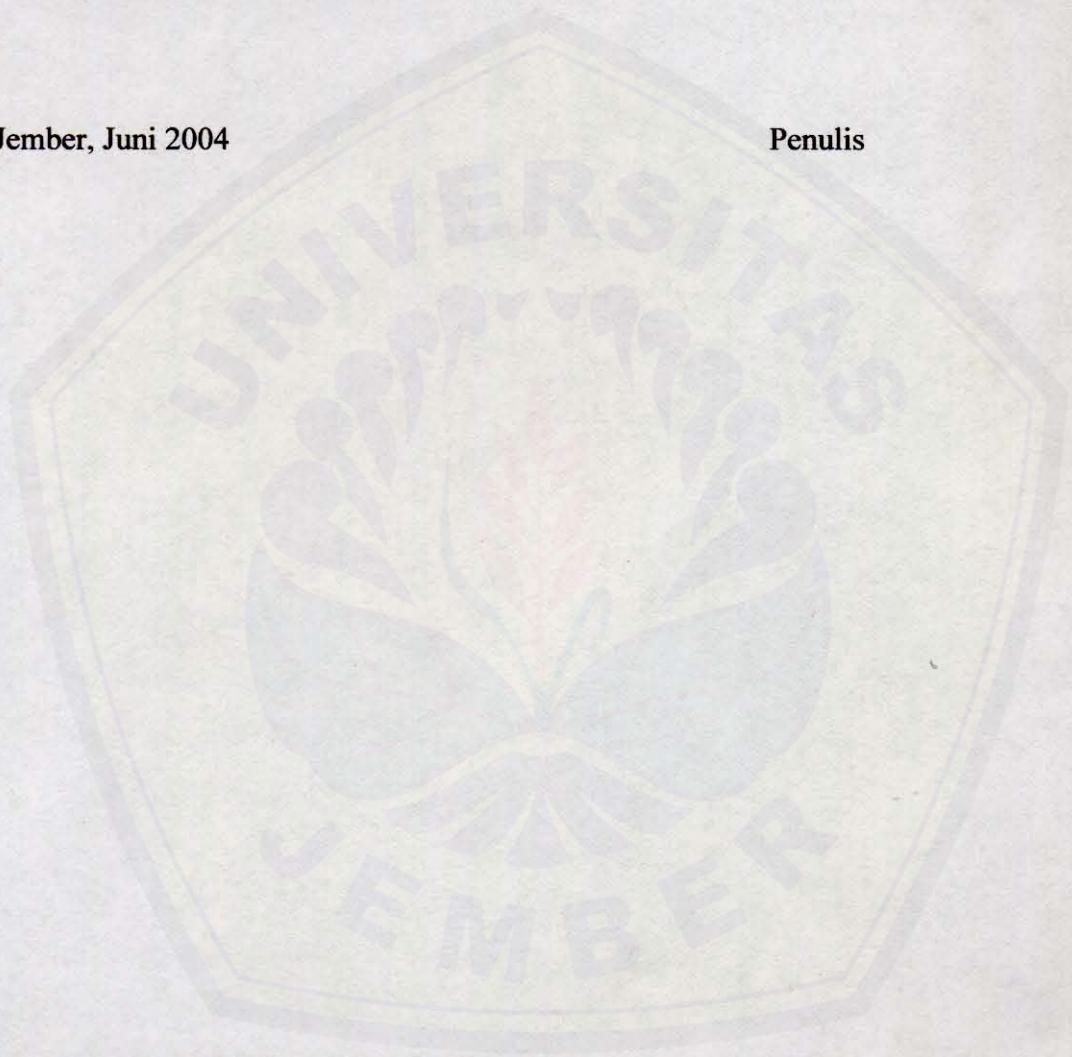
1. Ir. Hj. Siti Hartanti, MS., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
2. Ir. Susijahadi, MS, selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
3. Dr. Ir. Sony Suwasono. MApp. Sc., Selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan serta arahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Ir. Susijahadi, MS., selaku Dosen Pembimbing Anggota I (DPA I).
5. Dr. Ir. Jayus, selaku Dosen Pembimbing Anggota II (DPA II).
6. Dr. Ir. Tejasari, M.Sc., selaku dosen wali yang telah membimbing dan memberi motivasi kepada penulis selama kuliah.
7. Para teknisi laboratorium mbak Widi, mbak Ketut, mbak Sari, mbak Wiem, mas Dian, mas Tasor, mas Mistar dan P. Min.
8. Bapak dan ibu dosen yang memberikan tambahan ilmu dan pengalamannya.
9. Teman-teman angkatan 2000, atas motivasi dan supportnya selama penelitian dan penyusunan karya ilmiah ini.
10. Segenap karyawan dan karyawan yang ikut membantu dalam proses penulis.

Penulis menyadari bahwa Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak yang bersifat membangun.

Tiada harapan lain dari penulis semoga Karya Ilmiah Tertulis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak. Amin.

Jember, Juni 2004

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
DOSEN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
MOTTO.....	iv
PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
RINGKASAN.....	xviii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Probiotik dan Prebiotik.....	5
2.1.1 Probiotik.....	5
2.1.2 Prebiotik	7
2.2 Yoghurt.....	8
2.2.1 Pengertian Yoghurt.....	8
2.2.2 Bahan Utama Yoghurt.....	9
2.3 Bakteri Asam Laktat.....	10
2.4 Kultur Yoghurt	13
2.4.1 <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	14

2.4.2	<i>Streptococcus thermophilus</i>	15
2.4.3	<i>Lactobacillus casei</i>	16
2.5	Aktivitas Kultur Starter	17
2.6	Faktor Yang Mempengaruhi Yoghurt	20
2.7	Nilai Gizi Yoghurt.....	21
2.8	Kualitas Yoghurt	22
2.9	Proses Pembuatan Yoghurt	23
2.9.1	Pemanasan (Pasteurisasi)	23
2.9.2	Pendinginan.....	24
2.9.3	Penambahan Starter (Inokulasi)	24
2.9.4	Inkubasi	24
2.10	Hipotesis	25

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1	Bahan dan Alat Penelitian	26
3.1.1	Bahan Penelitian.....	26
3.1.2	Alat Penelitian	26
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.3	Metode Penelitian.....	26
3.4	Pelaksanaan Penelitian	28
3.4.1	Pembuatan Starter.....	28
3.4.2	Pembuatan Yoghurt.....	28
3.5	Pengamatan	30
3.6	Prosedur Analisa Pengamatan	30
3.6.1	Total Mikroba (Metode Kerapatan Optik)	30
3.6.2	Gula Reduksi	31
3.6.3	Total Asam	32
3.6.4	pH (Derajat Keasaman)	32
3.6.5	Kadar Protein Terlarut.....	33
3.6.6	Warna (Derajat Keputihan)	33
3.6.7	Uji Organoleptik.....	34
3.6.8	Penentuan Terbaik dengan Metode Efektivitas.....	34

IV. PEMBAHASAN

4.1	Total Mikroba.....	35
4.2	Gula Reduksi	38
4.3	Total Asam	40
4.4	Nilai pH (Derajat Keasaman).....	44
4.5	Kadar Protein Terlarut.....	46
4.6	Warna (Derajat Keputihan)	48
4.7	Uji Organoleptik.....	51
4.7.1	Warna	51
4.7.2	Aroma.....	53
4.7.3	Keasaman	55
4.7.4	Kesan Umum.....	57
4.8	Uji Efektifitas	59

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1	Kesimpulan.....	60
5.2	Saran.....	60

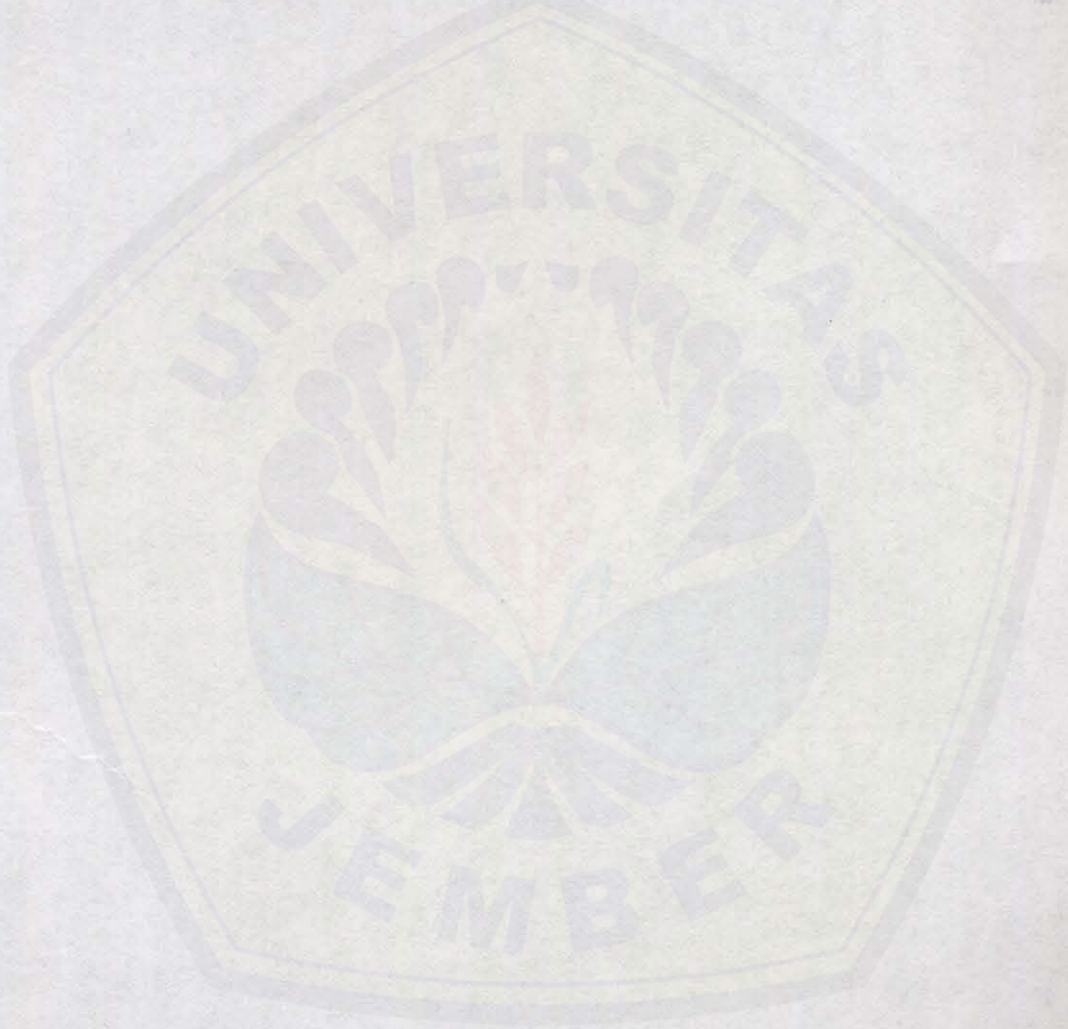
DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Nama Tabel	Halaman
1.	Tipe-Tipe Produk Probiotik dan Bakteri Probiotik yang digunakan	6
2.	Komposisi Kimia Air Susu Sapi per 100 gram bahan.....	10
3.	Kandungan Gizi dalam tiap 100 gram Yoghurt	22
4.	Kualiatas Mikroorganisme Yoghurt.....	23
5.	Spesifikasi Yoghurt	25
6.	Sidik Ragam Total Mikroba Yoghurt Susu Sapi.....	35
7.	Uji Beda Total Mikroba Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat	36
8.	Uji Beda Total Mikroba Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Konsentrasi Bakteri Asam Laktat	37
9.	Sidik Ragam Gula Reduksi Yoghurt Susu Sapi	39
10.	Sidik Ragam Total Asam Yoghurt Susu Sapi	41
11.	Uji Beda Total Asam Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat	41
12.	Sidik Ragam Nilai pH Yoghurt Susu Sapi	44
13.	Uji Beda Nilai pH Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi konsentrasi Bakteri Asam Laktat	45
14.	Sidik Ragam Kadar Protein Terlarut Yoghurt Susu Sapi.....	47
15.	Sidik Ragam Derajat Keputihan Yoghurt Susu sapi	48
16.	Uji Beda Derajat keputihan Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat	49
17.	Sidik Ragam Warna Yoghurt Susu Sapi	51
18.	Uji Beda Nilai Kesukaan Warna Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis Starter (Rasio biakan) dan Konsentrasi Starter	52
19.	Sidik Ragam Aroma Yoghurt Susu Sapi.....	53
20.	Uji Beda Nilai Kesukaan Aroma Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis Starter (Rasio biakan) dan Konsentrasi Starter	54
21.	Sidik Ragam Keasaman Yoghurt Susu Sapi.....	55

22. Uji Beda Nilai Kesukaan Keasaman Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis Starter (Rasio biakan) dan Konsentrasi Starter	56
23. Sidik Ragam Kesan Umum Yoghurt Susu Sapi.....	57
24. Uji Beda Nilai Kesukaan Kesan Umum Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis Starter (Rasio biakan) dan Konsentrasi Starter	58



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Nama Gambar	Halaman
1.	Jalur Fermentasi glukosa (I) Homofermentatif (Glikolisis, Jalur EMP) dan (II) Heterofermentatif (6-Fosfoglukonat/fosfoketolase)	12
2.	Metabolisme Galaktosa pada Bakteri Asam Laktat (I) Jalur Tagatose -6-fosfat dan (II) Jalur Leloir	13
3.	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	15
4.	<i>Streptococcus thermophilus</i>	15
5.	<i>Lactobacillus casei</i>	16
6.	Proses Pembentukan Asam Laktat dari Laktosa	19
7.	Diagram Alir Proses Pembuatan Yoghurt	29
8.	Diagram Total Mikroba Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Starter Yoghurt.....	38
9.	Diagram Gula Reduksi Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Starter Yoghurt.....	40
10.	Diagram Total Asam Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Starter Yoghurt.....	43
11.	Diagram Nilai pH Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Starter Yoghurt.....	45
12.	Diagram Kadar Protein Terlarut Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Starter Yoghurt.....	47
13.	Diagram Warna Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Starter Yoghurt.....	50
14.	Diagram Nilai Kesukaan Warna Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Starter Yoghurt.....	52

15. Diagram Nilai Kesukaan Aroma Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Starter Yoghurt.....	55
16. Diagram Nilai Kesukaan Keasaman Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Starter Yoghurt.....	57
17. Diagram Nilai Kesan Umum Yoghurt Susu Sapi pada Berbagai Variasi Jenis dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat Terhadap Starter Yoghurt.....	59



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Nama Lampiran	Halaman
1.	Pengenceran Sampel Untuk Analisa Total Mikroba	67
2.	Kurva Standart Total Mikroba	68
3.	Kurva Standart Gula Reduksi.....	70
4.	Data Pengamatan Total Mikroba.....	71
5.	Data Pengamatan Gula Reduksi	71
6.	Data Pengamatan Total Asam	73
7.	Data Pengamatan pH (derajat keasaman).....	74
8.	Data Pengamatan Kadar Protein Terlarut.....	75
9.	Data Pengamatan Derajat Keputihan	76
10.	Data Pengamatan Uji Organoleptik Warna	77
11.	Data Pengamatan Uji Organoleptik Aroma.....	79
12.	Data Pengamatan Uji Organoleptik Keasaman	81
13.	Data Pengamatan Uji Organoleptik Keseluruhan	83
14.	Uji Efektivitas.....	85

DAFTAR SINGKATAN

1. DNS = Dinitrosalisinat
2. MRS = Malt Rigorose Sharp
3. PP = Phenolptalein
4. OD = Optical Density
5. BAL = Bakteri Asam Laktat
6. DNMRT = Duncan Multiple Range Test
7. FOS = Frukt Oligosakarida
8. EMP = Embden Meyerhoff Pathway

Wahyd Widyanto (001710101007) Jurusan Teknologi Hasil Peranian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember “**Pengembangan Probiotik Dalam Starter Yoghurt Dengan Variasi Jenis Dan Konsentrasi Bakteri Asam Laktat (*L. casei*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*)**” dibimbing oleh **Dr. Ir. Sony Suwasono. MApp. Sc., Ir. Susijahadi, MS dan Dr. Ir. Jayus.**

RINGKASAN

Susu merupakan bahan pangan sumber protein dan dapat dikatakan sebagai makanan yang sempurna karena kandungan zat gizinya yang lengkap sehingga diperlukan bagi pertumbuhan dan perkembangan tubuh. Tingkat konsumsi masyarakat terhadap susu segar maupun olahan sangat besar. Namun, ada sebagian dari masyarakat kita yang tidak bisa mengkonsumsi susu karena menderita *lactose intolerance*. Salah satu usaha untuk meningkatkan konsumsi susu, khususnya bagi para penderita *lactose intolerance* adalah dengan melakukan fermentasi susu.

Yoghurt merupakan produk susu fermentasi semi solid yang kandungan gizinya tidak berbeda jauh dengan kandungan nutrisi susu sebagai bahan bakunya. Bakteri yoghurt yang umum digunakan adalah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Bakteri inilah yang dapat menguraikan laktosa menjadi glukosa dan galaktosa yang akan diubah menjadi asam laktat. Upaya untuk menghasilkan asam laktat yang lebih banyak dalam yoghurt dengan cara menambahkan kultur starter yaitu *Lactobacillus casei* dalam yoghurt. Kombinasi ketiga bakteri ini diharapkan menghasilkan yogurt yang lebih berkualitas.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh rasio dan konsentrasi starter terhadap sifat-sifat yoghurt serta mengetahui jumlah rasio dan konsentrasi starter yang tepat untuk menghasilkan yoghurt dengan sifat-sifat yang paling baik. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dua faktorial dengan tiga kali ulangan. Faktor A adalah rasio starter dan faktor B adalah konsentrasi starter.

Rasio starter pada proses pembuatan yoghurt berpengaruh sangat nyata terhadap total asam, total mikroba dan derajat keputihan, namun tidak berpengaruh terhadap pH (derajat keasaman), gula reduksi, dan kadar protein yoghurt yang dihasilkan. Konsentrasi starter pada proses pembuatan yoghurt berpengaruh sangat nyata terhadap pH dan total mikroba, namun tidak berpengaruh terhadap total asam, gula reduksi, kadar protein dan derajat keputihan yoghurt yang dihasilkan.

Kombinasi perlakuan A3B3 dengan rasio starter *Lactobacillus casei* : *Lactobacillus bulgaricus* : *Streptococcus thermophilus* = 30% : 35% : 35%, dan penambahan konsentrasi starter sebesar 4% menghasilkan yoghurt susu sapi dengan sifat-sifat yang baik. Yoghurt yang dihasilkan mempunyai total mikroba dengan rata-rata $2,11 \times 10^7$ sel/ml, kadar gula reduksi 8,376%, total asam 0,59%, pH 4,947%, kadar protein 1,905%, dan derajat keputihan 61,42. Sedangkan tingkat kesukaan untuk warna 3,18 (cukup suka), aroma 3,00 (cukup suka), keasaman 2,91 (tidak suka) dan keseluruhan 3,06 (cukup suka).

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Susu merupakan bahan pangan sumber protein dan dapat dikatakan sebagai makanan yang sempurna karena kandungan zat gizinya yang lengkap. Komposisi kimia susu terdiri atas : air (87,4%), lemak (3,9%), protein (3,3%), laktosa (4,7%), dan abu (0,7%) (Tamine dan Robinson, 1999). Kandungan zat gizi yang lengkap menjadikan susu sebagai bahan pangan yang mampu memenuhi kebutuhan zat gizi yang diperlukan bagi pertumbuhan dan perkembangan tubuh.

Tingkat konsumsi masyarakat terhadap susu segar maupun olahan sangat besar. Namun, ada sebagian dari masyarakat kita yang tidak bisa mengonsumsi susu karena menderita *lactose intolerance*. Faktor utama penyebabnya adalah terbatasnya enzim laktase tubuh, sehingga tidak mampu mencerna dan menyerap laktosa dengan sempurna. Hal ini mengakibatkan terjadinya gangguan pencernaan sesaat setelah mengonsumsi susu, misalnya : terjadinya *flatulensi* (sembelit), kram perut, *bloating*, nyeri perut dan diare (Shah, 1994).

Salah satu usaha untuk meningkatkan konsumsi susu, khususnya bagi para penderita *lactose intolerance* adalah dengan melakukan fermentasi susu atau dengan kata lain yaitu menambahkan kultur starter ke dalam susu tersebut. Beberapa contoh produk fermentasi susu adalah *dadih*, *mentega*, *keju*, *yakult*, dan *yoghurt*.

Yoghurt merupakan salah satu produk susu fermentasi semi solid yang sudah menjadi bagian dari diet penduduk di timur laut Eropa dan Timur Tengah selama berabad-abad dan sekarang popularitasnya telah berkembang di banyak negara. Meskipun susu yang digunakan dalam pembuatan yoghurt bervariasi untuk setiap negara, namun yoghurt yang diproduksi dalam skala industri sebagian besar menggunakan susu sapi, baik dalam bentuk segar maupun dalam bentuk produk olahan susu, seperti susu skim dan susu full krim. Yoghurt mengandung bakteri hidup sebagai probiotik, yaitu mikroba dari makanan yang menguntungkan bagi mikroflora di dalam saluran pencernaan. *Bakteri jahat* dalam tubuh mengeluarkan racun yang bisa menyebabkan diare serta mengeluarkan

enzim yang mendorong terbentuknya senyawa karsinogenik dalam saluran pencernaan. Sebaliknya *bakteri baik* akan menghasilkan antibiotika alami yang membantu ketahanan mukosa usus, proses metabolisme, serta meningkatkan kekebalan tubuh. Bakteri baik inilah yang disebut *probiotik*.

Manfaat probiotik dapat dicapai bila probiotik melekat pada sel mukosa usus. Probiotik dari makanan belum banyak dibuktikan bisa melekat di mukosa usus. Karenanya untuk memperoleh manfaat dari makanan probiotik, orang harus terus-menerus mengkonsumsinya. Di dalam yoghurt terkandung jutaan hingga milyaran sel bakteri-bakteri tersebut setiap mililiternya (Legowo, 2002). Begitu juga di dalam lambung dan usus halus manusia hidup bermilyar-milyar mikroflora yang sebagian besar adalah bakteri asam laktat. Bakteri dari yoghurt dapat hidup dan bersimbiose dengan mikroflora tersebut. Pertumbuhan bakteri-bakteri ini memberikan kondisi yang dapat mencegah pertumbuhan mikrobia patogen. Bakteri asam laktat mampu membentuk asam-asam organik serta *hydrogen peroksida* dan *bakteriosin*. Pembentukan senyawa-senyawa ini, khususnya *bakteriosin*, dapat bersifat *mikrosidal* atau mematikan mikrobia patogen, misalnya : *Eschericia coli*, *clostridium*, dan *Bacteriodes* yang sering menyebabkan diare dan sepsis.

Bakteri asam laktat yang terdapat di dalam yoghurt dapat menguraikan laktosa susu menjadi glukosa dan galaktosa. Kedua monosakarida inilah yang mudah dicerna atau diserap oleh tubuh. Selain berkurangnya jumlah laktosa di dalam yoghurt, tersedianya enzim laktase yang disintesis oleh bakteri yoghurt dalam jumlah besar akan dapat menguraikan laktosa yang masuk saluran pencernaan (Legowo, 2002).

Lactobacillus casei strain shirota merupakan salah satu bakteri yang ada dalam tubuh manusia. Bakteri ini mempunyai peranan penting dalam saluran pencernaan manusia. Bersama dengan spesies lain dari galur Laktobasili, bakteri ini banyak ditemukan dalam usus kecil. Keunggulan *Lactobacillus casei* strain shirota adalah bersifat homofermentatif, yaitu mengkonversi hampir semua glukosa menjadi asam laktat, selain itu ia juga menghasilkan sejumlah kecil asam

sitrat, malat, asetat, suksinat, asetaldehid, diasetil dan asetoin yang berperan dalam pembentukan flavor (Speck, 1978).

Jenis bakteri yoghurt yang paling umum adalah bakteri asam laktat dari golongan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* (Legowo, 2002). Pada penelitian ini akan dicoba menggabungkan bakteri *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* dengan bakteri *L. casei*.

Dengan adanya penggabungan ketiga kombinasi bakteri tersebut, maka diharapkan menghasilkan asam yang lebih banyak dibandingkan jika hanya terdiri dari dua bakteri saja. Selain itu juga diharapkan dapat menghasilkan yoghurt dengan sifat-sifat yang lebih baik.

1.2 Perumusan Masalah

Sejauh ini jenis bakteri yoghurt yang paling umum adalah bakteri asam laktat dari golongan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Pada penelitian ini akan dicoba menggabungkan bakteri *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* dengan bakteri *L. casei*. Permasalahan yang timbul adalah belum diketahui seberapa besar pengaruh rasio dan konsentrasi starter yoghurt. Selain itu belum diketahui jumlah rasio dan konsentrasi starter yoghurt yang tepat untuk menghasilkan yoghurt dengan sifat-sifat yang paling baik.

1.3 Tujuan Penelitian

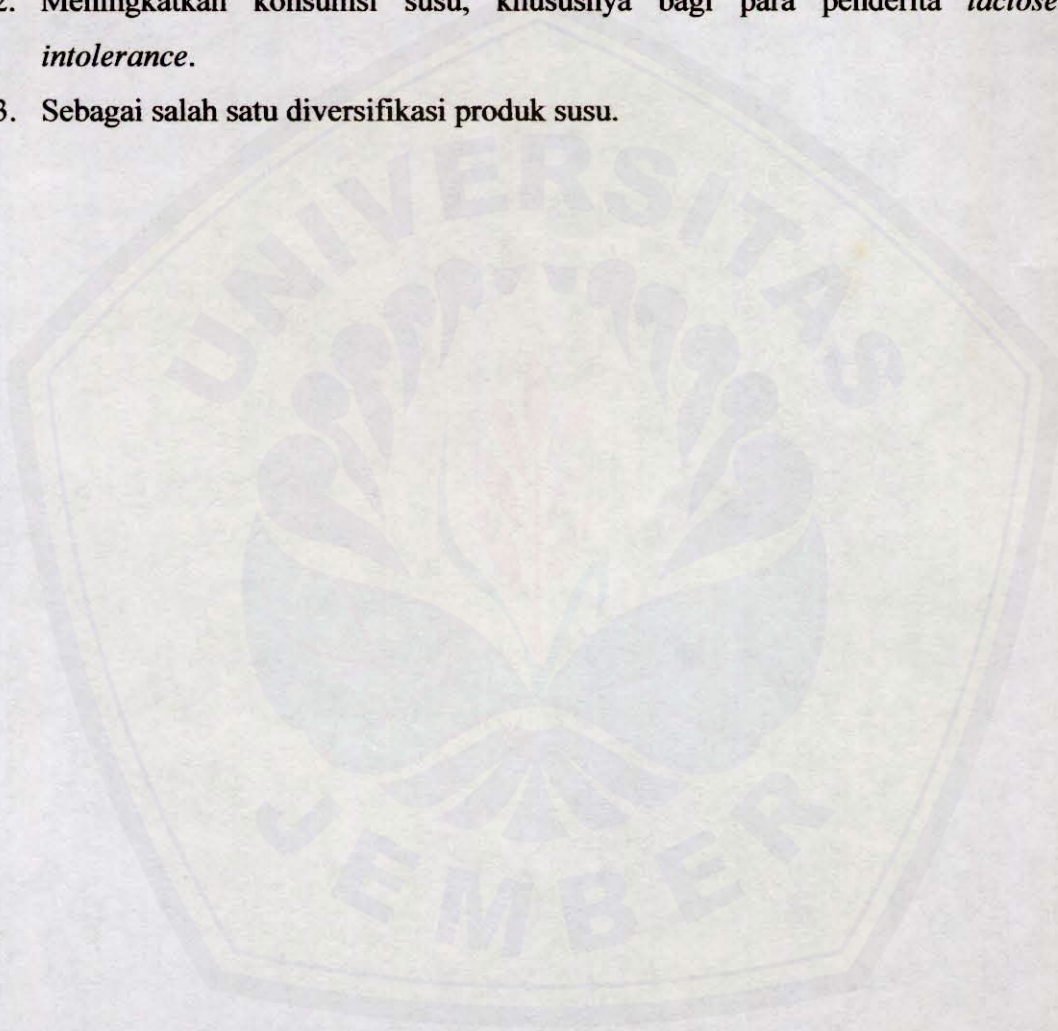
Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui pengaruh rasio starter terhadap sifat-sifat yoghurt.
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi starter terhadap sifat-sifat yoghurt.
3. Menentukan kombinasi rasio dan konsentrasi starter yang optimal untuk menghasilkan yoghurt dengan sifat yang paling baik.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat diadakannya penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang yoghurt yang dihasilkan dari kultur starter *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*.
2. Meningkatkan konsumsi susu, khususnya bagi para penderita *lactose intolerance*.
3. Sebagai salah satu diversifikasi produk susu.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Probiotik dan Prebiotik

2.1.1 Probiotik

Probiotik merupakan bakteri yang masuk dalam keadaan hidup, bertahan hidup dalam saluran pencernaan, tahan terhadap berbagai rintangan dan mampu menjaga keseimbangan mikroflora usus. Bakteri asam laktat merupakan probiotik yang dalam metabolismenya akan menghasilkan senyawa-senyawa seperti asam laktat, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang bersifat anti mikroba bagi bakteri patogen, misalnya : *Eschericia coli*, *clostridium*, dan *Bacteriode* (Kompas, 22 Desember 2002).

Menurut Fuller (1997), probiotik adalah bakteri hidup yang diberikan sebagai suplemen makanan yang mempunyai pengaruh menguntungkan pada kesehatan baik pada manusia dan binatang, dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal. Probiotik juga merupakan bahan tambahan pangan yang berupa bakteri tidak merugikan dan tidak beracun serta keberadaannya tergantung pada kondisi manusia (Macfarlane dan Cummings, 1999).

Konsep probiotik dilakukan dengan cara memasukkan bakteri hidup yang dikehendaki dari luar melalui makanan dan minuman, sehingga di dalam usus terjadi perubahan komposisi populasi bakteri menjadi menguntungkan sebagaimana yang dikehendaki. Contohnya dengan menambahkan bakteri jenis *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* atau *Lactobacillus casei* ke dalam yoghurt yang dapat dikonsumsi oleh manusia (Anonim, 2001).

Menurut Lee Yuan Kun (2002), kriteria pemilihan probiotik selain mampu bertahan terhadap suasana asam dan berfungsi meningkatkan kesehatan juga harus mampu tumbuh cepat dalam medium fermentasi yang sederhana dan murah, maupun bertahan dalam pengolahan tanpa kehilangan kemampuan, serta bisa digabung dengan berbagai jenis makanan.

Menurut Fuller (1997), Probiotik yang efektif harus memenuhi beberapa kriteria seperti :

1. memberikan efek yang menguntungkan bagi tubuh

2. tidak patogenik dan tidak toksik
3. mengandung sejumlah besar sel hidup
4. mampu bertahan dan melakukan kegiatan metabolisme dalam usus
5. tetap hidup selama dalam penyimpanan dan waktu digunakan
6. mempunyai sifat sensoris yang baik
7. diisolasi dari tubuh

Manfaat probiotik dapat dicapai bila probiotik melekat pada sel mukosa usus karenanya untuk memperoleh manfaat dari makanan probiotik orang harus terus menerus mengkonsumsinya (Inggrid, 2002). **Tabel 1** menunjukkan beberapa tipe produk probiotik dan jenis bakteri yang digunakan.

Tabel 1. Tipe-tipe Produk Probiotik dan bakteri Probiotik yang Digunakan

Probiotik	Bakteri (Yang umumnya digunakan)
Produk-produk susu fermentasi (yoghurt, buttermilk, susu acidofilus, dan lain-lain)	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Leunostoc mesenteroides</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Bifidobacteria spp.</i> <i>Lactobacillus reuteri</i>
Pangan yang disuplementasi (susu pasteurisasi, minuman-minuman)	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacteria spp.</i> <i>Lactobacillus reuteri</i>
Parmaceuticals(tablet, kapsul, granula)	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacteria spp.</i>
Produk-produk health food (cairan, kapsul, bubuk)	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacteria</i> <i>Lactobacillus spp.</i>

Sumber : Prangdimurti, 2001

2.1.2 Prebiotik

Menurut Broste (1999), dari dasar probiotik muncul suatu konsep yang lebih menguntungkan yaitu prebiotik. Prebiotik adalah bahan tambahan makanan yang tidak dapat dicerna yang memiliki efek menguntungkan bagi tubuh dengan merangsang pertumbuhan dan atau aktivitas satu atau beberapa jenis bakteri dalam usus secara selektif yang dapat memperbaiki kesehatan tubuh.

Prebiotik dapat diberikan dalam bentuk bahan asli atau dalam makanan yang telah diproses yang dapat memberikan manfaat bagi kesehatan (Gibson, 1998). Menurut Jenie (2003), prebiotik juga dapat berupa serat makanan, baik yang dapat larut air (pektin, gum, alginat) maupun yang tidak larut air (selulosa, hemiselulosa, lignin) dan yang sedang populer sekarang adalah dari kelompok oligosakarida, seperti FOS (frukto oligosakarida), soybean oligosakarida dan isomalto oligosakarida. Bahan lain yang dikembangkan sebagai prebiotik yang lambat diserap, yaitu laktulosa, laktitol, xylitol, sorbitol, dan manitol. Secara alami prebiotik terkandung dalam sayuran, buah-buahan, serta kacang kedelai

Menurut Agus (2001), Zat prebiotik harus memenuhi empat syarat utama sebagai berikut :

1. tidak bereaksi dengan air atau tidak larut dalam air.
2. hanya diragikan oleh bakteri tertentu dalam usus besar.
3. mendorong terciptanya komposisi populasi mikroba usus besar yang lebih menyehatkan.
4. bermanfaat bagi tuan rumah yaitu usus besar itu sendiri

Manusia menambahkan probiotik dan prebiotik pada makanan adalah untuk menambah gas dalam perut. Ini adalah indikasi dimana bakteri-bakteri menguntungkan difermentasi dan merubah perut dalam suasana asam, serta menghilangkan bakteri-bakteri merugikan. Adanya gas dan kembung merupakan tanda bahwa probiotik atau prebiotik sedang bekerja. Baik probiotik maupun prebiotik merupakan bahan yang efektif untuk memelihara fungsi pencernaan (Havenaar, 1992).

Beberapa *strain* bakteri asam laktat berpotensi sebagai agensia probiotik misalnya: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus*

termasuk juga *Lactobacillus casei* karena kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen enterik. Saat ini istilah probiotik lebih diartikan sebagai konsumsi mikroba hidup sebagai aditif makanan untuk meningkatkan kesehatan.

Pada dasarnya konsumsi sel bakteri hidup menurut Ray (1996), dapat diperoleh dari tiga sumber sebagai berikut :

1. produk-produk susu fermentasi, seperti yoghurt yang mengandung *lactobacillus bulgaricus* dan *streptococcus thermophilus* serta susu acidofilus yang mengandung *lactobacillus acidophilus*
2. sebagai suplementasi makanan dan minuman dengan satu, dua atau beberapa macam mikrobial yang bermanfaat seperti *lactobacillus acidophilus*, *lactobacillus reuteri*, *lactobacillus casei*, dan *bifidobacterium*.
3. sebagai produk pharmaceutical yaitu konsentrat sel dalam bentuk tablet, kapsul atau glanula.

2.2 Yoghurt

2.2.1 Pengertian Yoghurt

Yoghurt berasal dari kata yogurt yang berasal dari Bahasa Turki. Nama produk ini bervariasi di berbagai negara (Tamime dan Deeth, 1980). Menurut Koswara (1992), yoghurt sudah lama populer di Eropa, Amerika Serikat, Asia dan Afrika. Yoghurt dikonsumsi karena kesegarannya, aroma dan tekstur yang khas. Di Indonesia, yoghurt telah dikenal tetapi belum populer. Beberapa tahun belakangan ini yoghurt semakin populer tetapi hanya terbatas di daerah ibukota dan kota-kota besar lainnya serta daerah Jawa Barat khususnya Bandung dan Bogor.

Yoghurt merupakan susu asam yang dihasilkan dari fermentasi susu oleh campuran bakteri asam laktat termofilik yaitu *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Dua jenis bakteri ini bersama-sama membentuk rasa asam, memperbanyak asam laktat, meningkatkan intensitas flavor serta kekentalan (Bottazi, 1983).

Menurut Chamdan (1982), yoghurt dikenal sebagai minuman sehat anti diare karena dapat mencegah aktivitas dan pertumbuhan berbagai bakteri patogen penyebab *gastroenteritis* yang dapat menyebabkan penyakit diare. Hal ini disebabkan karena *L. bulgaricus* mempunyai aktivitas anti enteroksin terhadap *Escherichia coli*.

Yoghurt sering digunakan sebagai minuman untuk tujuan diet (*dietetic purposes*) dan pengobatan (*therapeutic purposes*). Orang-orang yang alergi terhadap susu (*lactose intolerance*) sangat baik mengkonsumsi produk susu fermentasi ini, karena kadar laktosa atau gula susunya rendah (Tamime dan Robinson, 1989). Yoghurt merupakan sumber kalsium bagi penderita *lactose intolerance*, selain itu ketersediaan kalsium dalam yoghurt lebih dapat dimanfaatkan daripada kalsium dalam bentuk yang lain. (Tamime dan Robinson, 1999).

2.2.2 Bahan Utama Yoghurt

Bahan utama dalam pembuatan yoghurt adalah susu. Menurut SNI 01-3141-1998 tentang susu segar, susu segar didefinisikan sebagai susu murni yang tidak mendapat perlakuan apapun kecuali proses pendinginan yang tidak mempengaruhi kemurniannya. Susu murni sendiri adalah cairan yang berasal dari ambung sapi yang sehat dan bersih, diperoleh dengan cara pemerahan yang benar, yang kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun.

Susu merupakan bentuk emulsi lemak dalam air (o/w) yang mengandung garam mineral, gula, dan protein. Globula-globula dalam lemak sebagai fase terdispersi menyebar rata di dalam susu, dimana setiap globulanya diselimuti oleh lapisan tipis protein dan fosfolipid (lesitin) sehingga tidak dapat bergabung satu sama lain yang kemudian membentuk emulsi susu yang stabil (Rahman, dkk, 1992). Susu mengandung protein dengan asam amino esensial dalam jumlah yang cukup dan seimbang yang diperlukan untuk pertumbuhan (Winarno, 1982). Komponen yang dikandung dalam air susu sapi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Kimia Susu Sapi per 100 gram bahan

Komposisi	Jumlah
Air (g)	88
Kalori (kal)	61
Protein (g)	3,2
Lemak (g)	3,5
Karbohidrat (g)	4,3
Kalsium (mg)	143
Phosphor (mg)	60
Zat besi (mg)	1,7
Vitamin A (SI)	130
Vitamin B1 (mg)	0,03
Vitamin C/As. askorbat (ng)	1
Bjdd (g)	100

Sumber : Sediaoetama (1985)

Susu segar mempunyai rasa agak manis, cita rasa susu berhubungan dengan kandungan laktosa dan klorida. Kandungan klorida yang tinggi menyebabkan susu berasa asin. Susu mempunyai sifat dapat menyerap aroma kuat dari lingkungan (Anonim, 1995).

2.3 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri Gram-positif yang dikelompokkan berdasarkan kesamaan karakteristik morfologi, metabolisme dan fisiologi. Deskripsi secara umum bakteri yang termasuk kelompok ini adalah Gram-positif, tidak berspora, berbentuk bulat atau batang, anaerob tapi aerotolerant, toleran terhadap asam, memetabolisme karbohidrat secara fermentatif, yang memproduksi asam laktat sebagai produk akhir yang utama selama fermentasi karbohidrat. *Lactobacillus*, *Leunostoc*, *Pediococcus* dan *Streptococcus* termasuk ke dalam kelompok ini. Dalam taksonomi yang diperbarui, bakteri asam laktat terdiri atas : *Aerococcus*, *Alloicoccus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leunostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weisella*. Beberapa penulis memasukkkan

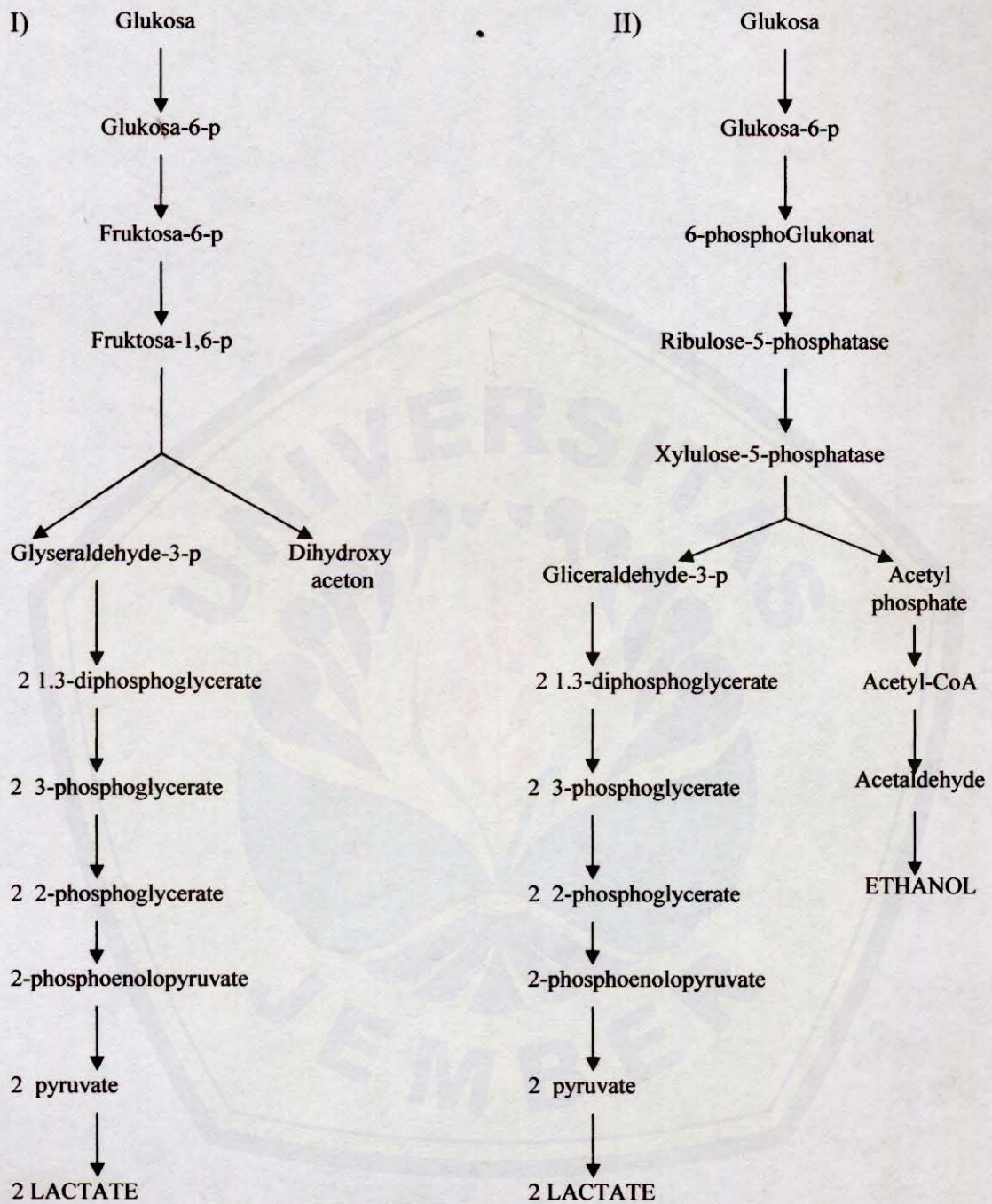
Bifidobacterium spp ke dalam bakteri asam laktat karena kesamaan ekologi dan fungsinya (Axelsson, 1988).

Ciri khas bakteri asam laktat adalah kebutuhannya akan zat-zat suplemen. Tidak ada satupun anggotanya dapat hidup pada media mineral murni dengan glukosa dan ammonium. Sebagian besar membutuhkan sederet vitamin (laktoflavin, tiamina, asam pantotenat, asam nikotinat, asam folat, bitoin) dan asam-asam amino, senyawa purin dan pirimidin. Dengan demikian bakteri ini dibiakkan terutama pada media kompleks yang mengandung ekstrak ragi. Sari tomat, air dadih bahkan darah dalam jumlah relatif besar (Schlegel, 1994).

Bakteri asam laktat digunakan sebagai probiotik untuk mengatasi gangguan usus seperti intolerans laktosa, radang lambung akut dan patogen lainnya, efek merugikan dari radioterapi, konstipasi, radang usus besar dan alergi makanan (Axelsson, 1998). Beberapa spesies bakteri probiotik, diantaranya *Bifidobacteria spp.*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus lactis* dan *Saccharomyces boulardii*. Hanya saja komposisi bakteri probiotik ini berbeda menurut usia. *Bifidobacteria* misalnya lebih dominan pada anak-anak, sedang *Lactobacillus* lebih dominan pada orang dewasa.

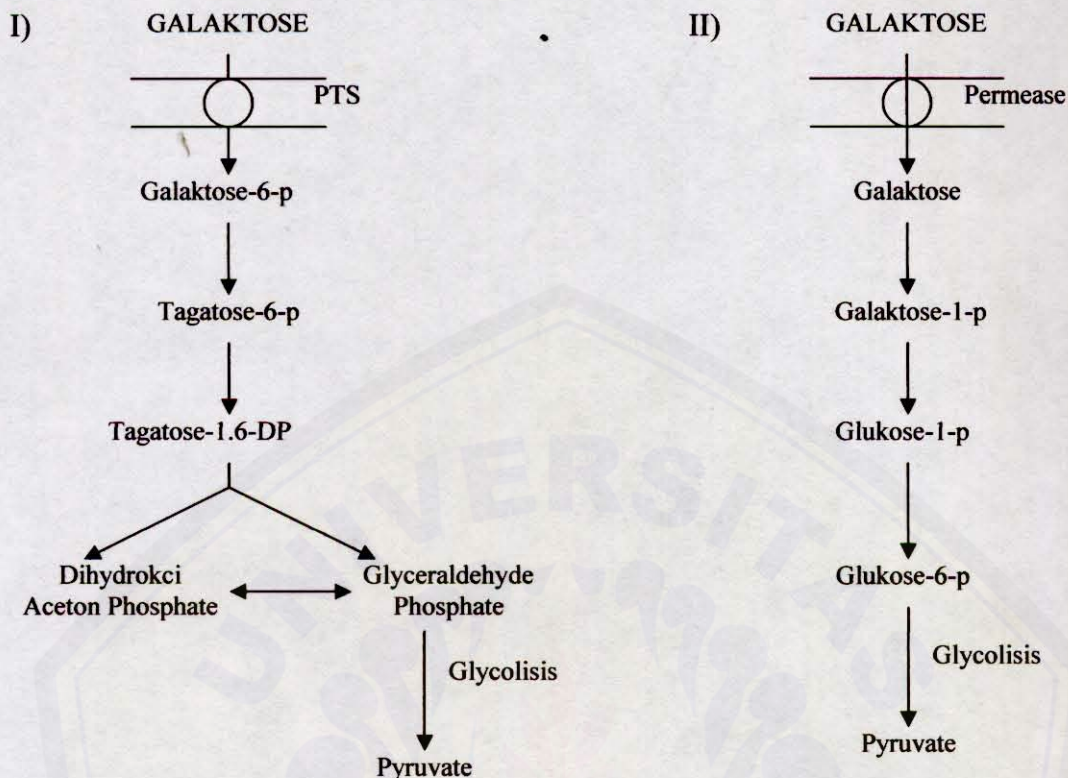
Metabolisme pokok dari asam laktat adalah kemampuannya untuk memfermentasi karbohidrat. Jalur fermentasi gula bakteri asam laktat dapat dibedakan menjadi dua. Jalur glikolisis (Embden-Meyerhoff Pathway) menghasilkan asam laktat (homolactic fermentation/homofermentatif). Jalur 6-fosfoglukonat/fosfoketolase menghasilkan etanol, asetat, CO₂ dan asam laktat (heterolactic fermentation/heterofermentatif) seperti terlihat pada **Gambar 1**.

Monosakarida selain glukosa, seperti manosa, galaktosa dan fruktosa yang difermentasi oleh bakteri asam laktat masuk jalur metabolisme pada glukosa-6-fosfat atau fruktosa-6-fosfat setelah isomerasi dan atau fosforilasi. Galaktosa-6-fosfat dapat menggunakan jalur tagatose-6-fosfat atau jalur Leloir (**Gambar 2**). Sedang disakarida akan dihidrolisa terlebih dahulu menjadi monosakarida, baru kemudian memasuki jalur metabolisme (Axelsson, 1998).



Gambar 1. Jalur Fermentasi Glukosa (I) Homofermentatif (Glikolisis, Jalur EMP) dan (II) Heterofermentatif (6-fosfogluconat/fosfoketolase)

DHA



Gambar 2. Metabolisme Galaktosa pada Bakteri Asam Laktat (I) Jalur Tagatose-6-fosfat dan (II) Jalur Leloir

2.4 Kultur Yoghurt

Kultur starter yang terdiri atas bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* merupakan pasangan bakteri utama yang digunakan dalam pembuatan yoghurt. Bergabungnya dua bakteri ini akan menghasilkan asam yang lebih banyak dibandingkan bila digunakan sendiri-sendiri. Keadaan ini disebabkan adanya aktifitas proteolitik dari *Lactobacillus bulgaricus* antara lain menghasilkan valin yang dapat merangsang pertumbuhan dan produksi asam dari bakteri *Streptococcus thermophilus* dan sebaliknya bakteri *Streptococcus thermophilus* menghasilkan stimulan yang dapat meningkatkan aktifitas *Lactobacillus bulgaricus* (Overby, 1988).

Menurut Oberman (1985), jika kedua bakteri asam laktat ini ditumbuhkan pada suhu sekitar 42° C, maka pada awal inkubasi *Streptococcus thermophilus* akan tumbuh lebih dahulu dan akan memproduksi asam laktat, asam asetat,

asetaldehida dan asam format. Adanya asam format dan penurunan pH dapat merangsang pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus*. Sebaliknya, *Lactobacillus bulgaricus* akan melepaskan asam amino valin, histidin dan glisin yang dibutuhkan oleh *Streptococcus thermophilus* (Helferich dan Westhoff, 1980).

Menurut Frazier dan Westhoff (1988), genus *Lactobacillus* berupa batang, biasanya panjang atau ramping, microaerophilic (beberapa anaerob), katalase negatif dan gram positif dan memfermentasikan gula menjadi asam laktat sebagai hasil utamanya. Genus *Streptococcus*, berbentuk kokus yang dapat berupa rantai pendek atau rantai panjang tergantung dari jenis spesies dan kondisi pertumbuhannya dan semuanya merupakan homofermentatif. Pada penelitian ini digunakan kultur starter campuran dari *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Lactobacillus casei*.

2.4.1 *Lactobacillus bulgaricus*

Lactobacillus bulgaricus merupakan bakteri berbentuk batang atau lonjong, tidak berspora, non motile (tidak bergerak), membentuk koloni dengan diameter 1-3 μm , mengkoagulasi susu pada keasaman sekitar 1,6% asam laktat dan gram positif (Rogosa, 1974). Menurut Tamime dan Robinson (1999) *Lactobacillus bulgaricus* bersifat obligat homofermentatif dan fakultatif anaerob. Suhu optimum untuk pertumbuhan 42°C–45°C, mampu tumbuh pada suhu 45°C–50°C tetapi tidak tumbuh pada suhu 15°C. Bakteri ini merupakan penghasil asam laktat yang tinggi dan mampu tumbuh pada pH 5,5–5,8 (Hutkins dan Nannen, 1993) dan akan terhenti tumbuh pada pH 3,5–3,8 (Jay, 1978). Selain itu *L. bulgaricus* juga mampu menfermentasi laktosa dan cellobiosa, tetapi tidak mampu menfermentasi amigdalin, maltosa dan mannitol.

2.4.3 *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei strain shirota mempunyai peranan penting dalam saluran pencernaan manusia. Bersama dengan spesies lain dari galur Laktobasili, bakteri ini banyak ditemukan dalam usus kecil. *Lactobacillus casei* strain shirota pertama kali diisolasi oleh Dr. Minoru Shirota pada tahun 1935 dan telah dimanfaatkan secara komersial oleh perusahaan Jepang "Yakult Honsha" sejak tahun 1955 untuk menghasilkan produk yakult yang diklaim mengandung 6,5 milyar bakteri hidup untuk setiap kemasan 65 ml (<http://www.phototour.minneapolis.mn.us/candida//history.html>).

Lactobacillus casei strain shirota mempunyai morfologi berbentuk batang, berada dalam koloni tunggal maupun rantai, mempunyai panjang 1,5-5,0 μm dan lebar 0,6-0,7 μm , gram positif, katalase negatif, tidak membentuk endospora dan kapsul, tidak mempunyai flagela, bersifat anaerobik fakultatif, tumbuh pada suhu optimum 15-41°C dan pH optimum 3,5 atau lebih (Mutai, 1981 dalam Selamat, 1992). Asam laktat yang dihasilkan dalam bentuk 65% L (+) dan 35% D (-).

Menurut Speck (1978) dalam Selamat (1992), *Lactobacillus casei* strain shirota bersifat homofermentatif, yaitu memecah glukosa terutama menjadi asam laktat ($\pm 90\%$). Selain itu, juga menghasilkan sejumlah kecil asam sitrat, malat, asetat, suksinat, asetaldehid, diasetil dan asetoin yang berperan dalam pembentukan flavor.



Gambar 5. *Lactobacillus casei*

Sumber : http://www.anka.livstek.lth.se:2080/L_bulg.htm-7k-

2.5 Aktivitas Kultur Starter

Menurut O'leary dan Woychick (1976) dalam Rahayu dan Sudarmaji (1989), komponen penting dalam susu sapi yang berperan penting dalam fermentasi adalah laktosa dan kasein. Selama proses fermentasi, laktosa oleh bakteri asam laktat diubah menjadi asam laktat. Laktosa susu yang diubah menjadi asam laktat hanya sekitar 30% sedang sisanya (70%) masih dalam bentuk laktosa. Menurut Tamime dan Deeth (1980) dalam Rahayu dan Sudarmaji (1989), untuk menambahkan rasa yoghurt, maka sisa laktosa dapat diubah menjadi glukosa dengan bantuan penambahan enzim laktase.

Proses pembentukan asam laktat dari laktosa oleh bakteri asam laktat dapat dilihat pada **Gambar 6**. Laktosa dihidrolisis menjadi glukosa dan galaktosa atau galaktosa-6-fosfat oleh enzim α -D-galaktosidase (laktase) dan α -D-fosfogalaktosidase yang dihasilkan oleh *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* (Rahayu dan Sudarmadji, 1989).

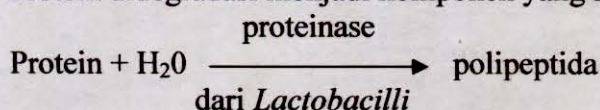
Glukosa hasil akumulasi enzim laktase, selanjutnya melalui jalur glikolisis dapat dibentuk asam piruvat dan selanjutnya dapat diubah menjadi asam laktat oleh enzim laktat dehidrogenase yang dikeluarkan oleh *Streptococcus thermophilus* maupun *Lactobacillus bulgaricus* (Rahayu dan Sudarmadji, 1989).

Kultur yoghurt bersifat proteolitik, sehingga selama proses fermentasi terjadi kenaikan jumlah protein terlarut, yang dapat membantu pembentukan flavour dan pembentukan struktur yoghurt. Aktivitas dari *L. bulgaricus* lebih tinggi dibandingkan dengan dengan *S. thermophilus*. selain aktivitas proteolitik, kultur yoghurt juga mempunyai aktivitas lipolitik walaupun hanya rendah, yang dapat menyebabkan kenaikan jumlah asam-asam lemak bebas selama penyimpanan (Rahayu dan Sudarmadji, 1989).

Menurut Anonim (2000), kultur *Lactobacilli* dalam media susu melakukan aktivitas sebagai berikut :

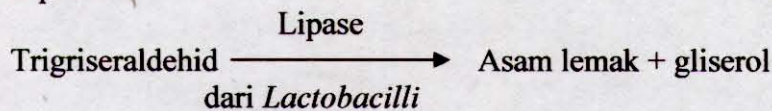
1. Proteolitik

Protein didegradasi menjadi komponen yang lebih sederhana



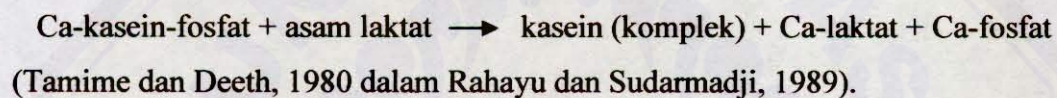
Aktivitas *Lactobacilli* dalam gastrointestinal adalah memecah protein menjadi komponen sederhana sehingga lebih mudah dicerna.

2. Lipolitik

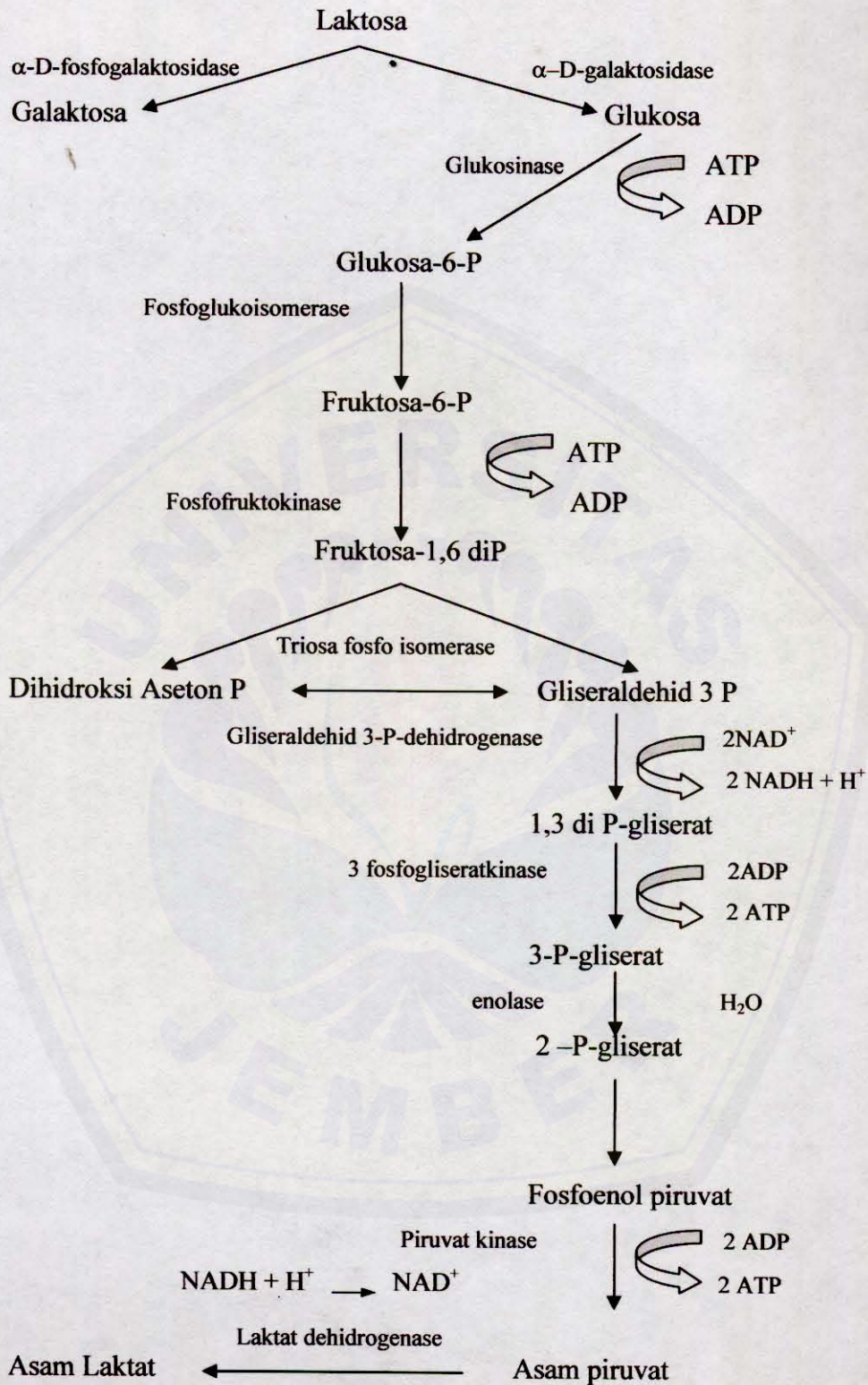


Terbentuknya asam laktat menyebabkan penurunan pH sehingga keseimbangan kasein terganggu dan pada titik isoelektriknya (pH 4,6) kasein akan menggumpal membentuk koagulan berupa semi padat yang disebut dengan “gel yoghurt”.

Reaksi terbentuknya gel yoghurt sebagai berikut :



Rahman *et al.* (1992), menambahkan bahwa mekanisme penggumpalan kasein terjadi apabila telah terjadi titik isoelektrik, dimana muatan-muatan protein sama dengan nol. Kasein susu bermuatan negatif sehingga berbentuk suspensi dalam larutan. Molekul asam laktat yang terbentuk selama fermentasi bermuatan positif, sehingga apabila terjadi persinggungan antara kasein dan asam laktat, maka akan terjadi proses netralisasi yang menyebabkan kasein mengendap.



Gambar 6. Proses Pembentukan Asam Laktat dari Laktosa (Tamime dan Deeth, 1980 dalam Rahayu dan Sudarmadji, 1989)

2.6 Faktor Yang Mempengaruhi Yoghurt

Yoghurt harus memiliki viskositas yang cukup tinggi, cukup padat dan kohesif ketika disendok serta hanya sedikit wheying off (terpecahnya emulsi). Faktor yang mempengaruhi karakteristik bodi yoghurt adalah konsentrasi padatan susu tanpa lemak, penggunaan penstabil, pemanasan, starter yang digunakan, kondisi inkubasi, penanganan setelah inkubasi, konsentrasi gula dan penambahan buah-buahan.

Perbandingan antara *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* berkisar antara 1:1 sampai 1:3. Perbandingan yang baik dianjurkan oleh Cambell dalam Bagiasta (1984) adalah 1:1. Hal ini untuk membentuk cita rasa yang diharapkan. Apabila *L. bulgaricus* tumbuh lebih kuat maka akan terbentuk flavor yang keras, karena sifat bakteri ini dalam fermentasi menghasilkan asam laktat dan volatile. Pada yoghurt akan kekurangan flavor apabila terjadi inaktivasi *L. bulgaricus*.

Komponen flavor yoghurt adalah asam laktat yang tidak berbau serta asetaldehide, diasetil, dan asam asetat yang mempunyai aroma kuat (Vedamuthu, 1982 dalam Rahayu, dkk, 1993). Perbandingan starter yang tidak seimbang dapat menyebabkan flavor busuk. Jika *S. thermophilus* menjadi dominan maka asetaldehide, komponen flavor utama yang dihasilkan oleh *Lactobacillus*, akan berkurang dan yoghurt yang dihasilkan kasar dan asam. Sebaliknya bila *L. bulgaricus* yang dominan, diasetil yang dihasilkan mungkin tidak cukup (Sharpe dan Pettiphari, 1983 dalam Rahayu, dkk, 1993).

Menurut Sirait (1984), interaksi antara *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* saling menguntungkan (mutualisme). Kedua bakteri tersebut akan saling menstimulasi sehingga pertumbuhannya lebih cepat dibandingkan jika masing-masing mikroba hidup sendiri dalam susu. Pada saat fermentasi berlangsung *Lactobacillus bulgaricus* akan mengurai protein susu menjadi asam amino, beberapa diantaranya adalah valin, histidin dan glisin yang diperlukan oleh *Streptococcus thermophilus*. *Streptococcus thermophilus* akan tumbuh bila ada lisin dan histidin hasil degradasi *Lactobacillus bulgaricus* (Rahayu dan Sudarmadji, 1989). Selanjutnya *Streptococcus thermophilus* membantu menurunkan pH dan menghasilkan asam format dan CO₂ yang dapat

menstimulir pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus*. Pulusari dan Radi (1984) dalam Rahayu, dkk (1993), menyatakan bahwa 0,15 mM asam format dapat meningkatkan aktivitas anti mikrobial dari *Lactobacillus bulgaricus* dalam asam.

2.7 Nilai Gizi Yoghurt

Kontribusi zat gizi utama dari yoghurt adalah protein, kalsium, dan vitamin B kompleks. Yoghurt secara umum memiliki kandungan nutrisi yang tidak berbeda jauh dengan kandungan nutrisi susu sebagai bahan bakunya. Namun, proses pemanasan susu dan aktivitas kultur yoghurt selama fermentasi mengubah komponen gizi yoghurt menjadi bentuk yang lebih sederhana, daya cerna yoghurt menjadi tiga kali lebih cepat daripada daya cerna susu (Helferich dan Westhoff, 1980).

Yoghurt dikenal sebagai sumber protein yang sangat baik, yang tidak hanya mudah dicerna, tapi merupakan protein yang tinggi kualitasnya dan dapat dijadikan komplemen bahan pangan yang kandungan proteinnya rendah. Selama fermentasi, protein susu akan dipecah oleh bakteri yoghurt menjadi asam-asam amino bebas yang siap diserap oleh usus kecil tanpa harus dicerna lagi. Asam amino yoghurt adalah asam amino esensial yang tidak dapat disintesis sendiri oleh tubuh (Elisabeth, 2003).

Kandungan kalsium dalam yoghurt cukup tinggi, dapat mencapai 10 kali lebih tinggi daripada kandungan kalsium daging dan ikan berdasarkan berat. Kalsium yoghurt juga lebih tinggi daripada kalsium susu dan kondisi asam yoghurt sangat membantu penyerapan mineral tersebut (Elisabeth, 2003).

Semula menurut Helferich dan Westhoff (1980), yoghurt dikenal sebagai “pabrik” vitamin B kompleks. Namun, berdasarkan penelitian yang juga disitasi oleh Helferich dan Westhoff (1980), diketahui bahwa kultur yoghurt ternyata banyak memanfaatkan vitamin B kompleks tersebut selama proses fermentasi. Hal ini tidak berarti bahwa kemudian yoghurt sama sekali tidak mengandung vitamin B kompleks karena sudah digunakan oleh mikroba, namun secara umum bisa dikatakan bahwa yoghurt mengandung vitamin yang tidak terlalu berbeda dengan susu.

Selain itu, yoghurt juga diketahui memiliki vitamin C dan mineral besi yang lebih sedikit dibandingkan susu (Helferich dan Westhoff, 1980), Yoghurt memang bukan makanan yang sempurna, tapi tetap tidak diragukan lagi bahwa yoghurt adalah makanan yang luar biasa dan kaya akan gizi. Kandungan gizi yoghurt dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Kandungan Gizi dalam tiap 100 gram Yoghurt

Kandungan Gizi	Jumlah (satuan)
Kalori	52,00 kal
Protein	3,30 gram
Lemak	2,50 gram
Karbohidrat	4,00 gram
Kalsium	120,00 mg
Fosfor	90 mg
Zat Besi	0,10 mg
Vitamin A	73,00 SI
Vitamin B1	0,05 mg
Air	88,00 gram

Sumber : Direktorat Gizi Depkes RI (1981) dalam Rukmana (2001).

Menurut Robinson (1999) dalam Robinson *et. al* (1999), efek-efek kesehatan (*therapeutic purposes*) yang telah dibuktikan karena konsumsi susu fermentasi, termasuk yoghurt adalah memacu pertumbuhan karena dapat meningkatkan dan penyerapan zat-zat gizi, dapat mengurangi atau membunuh bakteri jahat dalam saluran pencernaan, dapat menormalkan kerja usus besar (mengatasi konstipasi dan diare), memiliki efek anti kanker, dapat mengatasi masalah *lactose intolerance*, berperan dalam detoksifikasi dan mengatasi stress, serta mengontrol kadar kolesterol darah dan tekanan darah.

2.8 Kualitas Yoghurt

Yoghurt yang bermutu baik mempunyai kenampakan yang lembut, halus, tidak berpasir, tidak berbutir, dan tidak berbuih serta mempunyai viskositas yang cukup tinggi, kokoh dan kompak untuk dapat diambil dan dimakan dengan sendok (Vedamuthu, 1982).

Kualitas yoghurt ditentukan oleh beberapa kriteria seperti flavor, keasaman, komposisi dan nilai gizi, kenampakan dan kandungan mikroorganisme. Kualitas yoghurt berdasarkan kandungan mikroorganisme dapat dilihat pada Tabel. 4.

Tabel 4. Kualitas Mikroorganisme Yoghurt

Jenis Mikroorganisme	Jumlah	Klasifikasi
<i>S.thermophilus</i> dan <i>L.bulgaricus</i>	>100 ⁶ /ml	Baik
	10 ⁶ -100 ⁶ /ml	Meragukan
	<10 ⁶ /ml	Tidak Baik
Bakteri Coliform	<1/ml	Baik
	1-10/ml	Meragukan
	>100/ml	Tidak Baik
Khamir dalam plain yoghurt	<10/ml	Baik
	10-100/ml	Meragukan
	>100/ml	Tidak Baik
Khamir dalam yoghurt buah	<100/ml	Baik
	100-1000/ml	Meragukan
	>1000/ml	Tidak Baik
Jamur	<1/ml	Baik
	1-10/ml	Meragukan
	>10/ml	Tidak Baik

Sumber : Davies, dkk dalam Bottazzi (1985) dalam Rahayu, dkk (1993)

Yoghurt yang baik mempunyai total asam laktat sekitar 0,85–0,95%. Sementara derajat keasaman (pH) yang sebaiknya dicapai yoghurt adalah 4,5 (Apriadji, 2002). Nilai asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat meningkatkan kelarutan garam kalsium dan membuat kalsium lebih banyak diserap tubuh (Renner, 1988).

2.9 Proses Pembuatan Yoghurt

2.9.1 Pemanasan (Pasteurisasi)

Pemanasan bertujuan untuk mematikan organisme pencemar, menghilangkan O₂, sehingga memacu pertumbuhan bakteri asam laktat, memecah beberapa zat dan memacu kimiawi yang menghasilkan faktor-faktor untuk *lactobacilli*, misalnya senyawa sulfidril, mengendapkan albumin dan globulin

yang kemudian bertindak sebagai kasejn sehingga akan menambah kandungan protein. Pemanasan dilakukan pada suhu 90° C selama 15 menit (Anonim, 2001).

2.9.2 Pendinginan

Pendinginan bertujuan untuk memberikan kondisi yang optimum bagi pertumbuhan bakteri pemeram. Pendinginan dilakukan sampai suhu mencapai 43° C (Anonim, 2001).

2.9.3 Penambahan Starter (Inokulasi)

Penambahan starter dilakukan pada suhu 43° C. Starter yang ditambahkan adalah campuran bakteri asam laktat yang terdiri dari *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Lactobacillus casei* (Anonim, 2001).

2.9.4 Inkubasi

Inkubasi bertujuan untuk memberikan kondisi yang sesuai dengan kondisi pertumbuhan bakteri. Inkubasi dilakukan pada suhu 43° C selama 4-6 jam (Anonim, 2001).

Produk yoghurt yang telah jadi dilakukan pendinginan untuk memperpanjang daya simpan, kecepatan tumbuh bakteri dalam yoghurt menjadi menurun dan produk tersebut dapat bertahan selama 10 hari pada suhu 5° C. Jumlah bakteri yang normal berkisar antara 10^8 (100.000.000) per gram. Setelah beberapa waktu asam yang dihasilkan akan berkurang terus dan menyebabkan protein terpisah menjadi curds dan whey (Anonim, 2001). Spesifikasi yoghurt dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Spesifikasi Yoghurt

Kategori	Spesifikasi
1. pH	4 – 4,5
2. Keasaman (sebagai asam laktat) (%)	0,5 – 2,0
3. Lemak (%)	0,8 – 1,5
4. Protein (%)	Min. 3,5
5. Total Padatan (%)	16 – 17
6. Keadaan	
- Penampakan	Cair sampai kental
- Bau	Normal / khas
- Rasa	Asam / khas
- Konsistensi	Homogen
7. <i>Eschericia coli</i>	0

Sumber : Lab. *Quality Control* PT. Indomurni (2001) dalam Rachmawati (2001)

2.10 Hipotesis

1. Rasio starter berpengaruh terhadap sifat-sifat yoghurt.
2. Konsentrasi starter berpengaruh terhadap sifat-sifat yoghurt.
3. Kombinasi rasio dan konsentrasi starter yang optimal dapat menghasilkan yoghurt dengan sifat yang baik.

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar yang diperoleh dari daerah penghasil susu di Jember dan biakan bakteri yang digunakan adalah *Lactobacillus casei* strain shirota, *Lactobacillus bulgaricus*, dan *Streptococcus thermophilus* dari Laboratorium Pengendalian Mutu Divisi Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Serta bahan kimia lain yang meliputi alkohol 70%, aquadest, NaOH 0,1 N, Kalium dioksalat, PP 1%, larutan formaldehid, DNS (dinitrosalisinat), Media MRS-Agar.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, meliputi tabung reaksi, jarum ose dan hot plate, botol film, gelas aqua, micropipete, bunsen, mikroskop, haemocytometer, penjepit, pengaduk, erlenmeyer, termometer, tabung eppindroff, oven, labu ukur, gelas ukur, biuret, penangas air, pH meter, lemari es, dan spektrofotometer.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengendalian Mutu dan Pengolahan Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Pelaksanaan Penelitian dimulai pada bulan Februari 2004 sampai dengan bulan Mei 2004.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (P_xT) dengan tiga kali ulangan yang terdiri dari dua faktor. Masing-masing faktor adalah :

Faktor A. Rasio Starter

A1 = *L.casei* (0%), *L.bulgaricus* (50%), dan *S.thermophilus* (50%)

A2 = *L.casei* (20%), *L.bulgaricus* (40%), dan *S.thermophilus* (40%)

A3 = *L.casei* (30%), *L.bulgaricus* (35%), dan *S.thermophilus* (35%)

A4 = *L.casei* (40%), *L.bulgaricus* (30%), dan *S.thermophilus* (30%)

Faktor B. Konsentrasi Starter

B1 = 2% dari bahan baku

B2 = 3% dari bahan baku

B3 = 4% dari bahan baku

Dari perlakuan tersebut diperoleh kombinasi sebagai berikut :

A1B1	A1B2	A1B3
A2B1	A2B2	A2B3
A3B1	A3B2	A3B3
A4B1	A4B2	A4B3

Adapun model persamaan umumnya adalah sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + E_k(ij)$$

Y_{ijk} = Perubahan respon karena pengaruh bersama taraf ke-I faktor A dan taraf ke-j faktor B yang terdapat pada observasi ke-k

μ = Efek rata-rata yang sebenarnya

α_i = Efek sebenarnya dari taraf ke-i faktor A

β_j = Efek sebenarnya dari taraf ke- factor B

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efek sebenarnya dari interaksi antara taraf ke-I faktor A dan taraf ke-j faktor B

E_{kij} = Efek sebenarnya dari unit percobaan ke-k dalam kondisi perlakuan (ij)

Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam dan perlakuan yang menunjukkan beda nyata dilanjutkan dengan uji beda dengan menggunakan metode DNMRT. Hasil sidik ragam yang menghasilkan Koefisien Keragaman (KK) lebih dari 20%, dilakukan transformasi data $(x+0,5)^{1/2}$. Sedangkan untuk mengetahui perlakuan yang terbaik digunakan Uji Efektivitas (De Garmo, 1984).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Starter

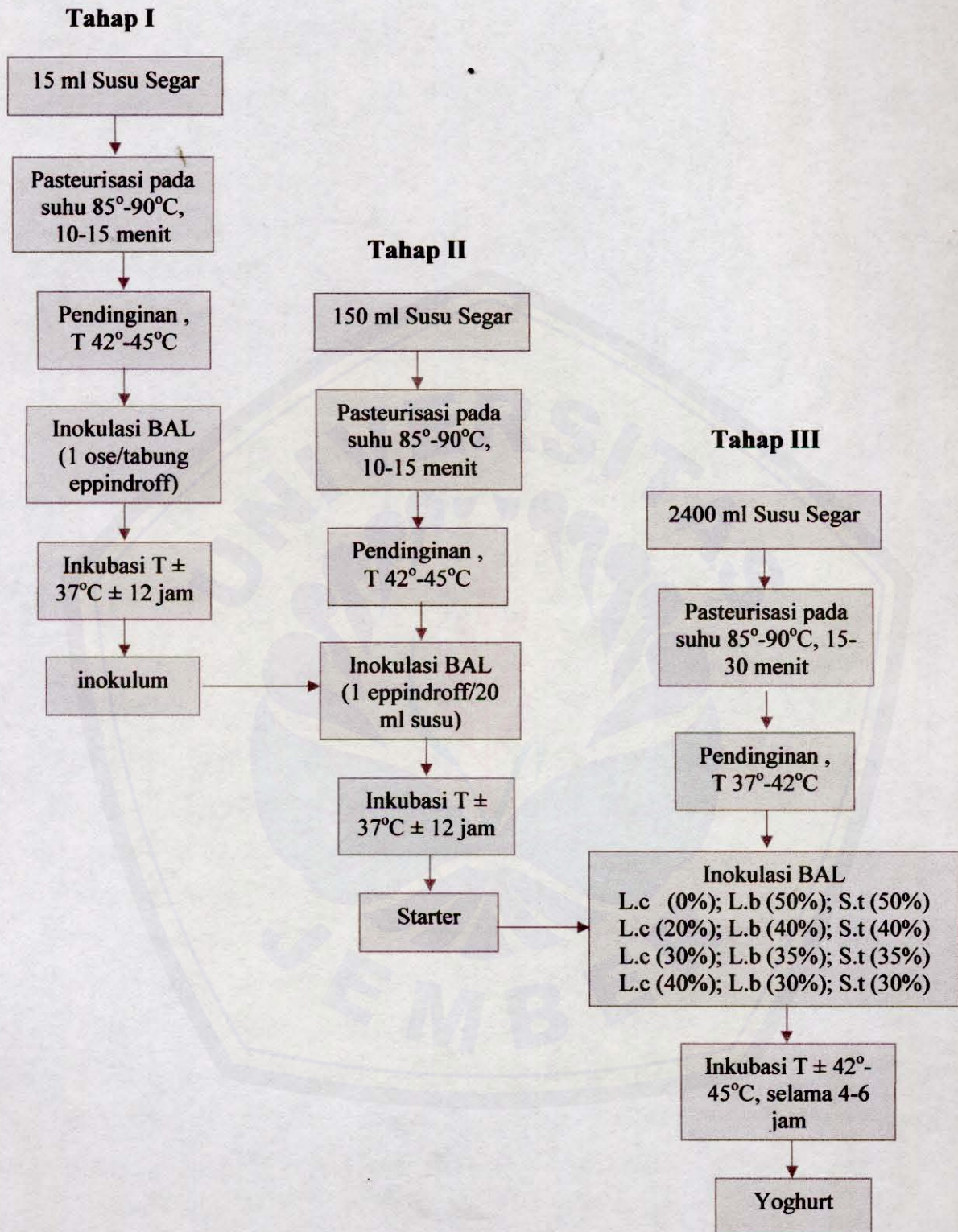
Starter untuk pembuatan yoghurt susu sapi dibuat sebagai berikut :

1. Susu sebanyak ± 15 ml dipanaskan pada suhu 85°C - 90°C selama 10-15 menit, kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 42°C .
2. Susu yang telah dipasteurisasi tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung eppindroff masing-masing sebanyak 1 ml. Selanjutnya diinokulasikan dengan menggunakan satu ose biakan *L. casei*, *L. bulgaricus*, dan *S. thermophilus* dalam setiap tabungnya.
3. Tabung eppindroff lalu ditutup rapat dan diinkubasikan dalam inkubator selama 12 jam pada suhu 37°C .
4. Setelah 12 jam dipanaskan lagi susu sebanyak ± 150 ml pada suhu 85°C - 90°C selama 15-30 menit. Kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 42°C - 45°C .
5. Susu yang telah dipanaskan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam botol film (volumenya @ 20 ml per botol). Setelah itu inokulum di tabung eppindroff dimasukkan ke dalam botol film terpisah sesuai dengan jenis biakannya.
6. Botol film lalu ditutup rapat dan diinkubasikan. Selama 12 jam dalam inkubator pada suhu 37°C .

3.4.2 Pembuatan Yoghurt

Adapun pembuatan yoghurt susu sapi adalah sebagai berikut :

1. Susu sebanyak ± 2400 ml dipasteurisasi pada suhu 85°C - 90°C selama 15-30 menit.
2. Kemudian susu didinginkan hingga mencapai suhu 37°C .
3. Susu yang telah dingin tersebut kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing botol film dan ditambahkan biakan bakteri *L. casei*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* dengan berbagai variasi secara aseptik sebanyak 2%, 3%, dan 4% dari bahan baku.
4. Pemeraman susu menjadi yoghurt dilakukan dalam inkubator pada suhu 42°C - 45°C selama 4-6 jam. (diagram alir proses dapat dilihat pada **Gambar 7**)



Gambar 7. Diagram alir proses Pembuatan Yoghurt

3.5 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi :

1. Total mikroba
2. Kadar gula reduksi
3. Total asam
4. pH (Derajat keasaman)
5. Kadar protein terlarut
6. Warna (Derajat Keputihan)
7. Organoleptik (warna, aroma, keasaman dan kenampakan secara umum).

3.6 Prosedur Analisa

3.6.1 Total mikroba (Metode Kerapatan Optik) (Anonim, 2001)

Metode ini menggunakan alat bantu Spektrofotometer. Dasar teknikny adalah banyaknya cahaya yang diabsorpsi ($OD = optical\ density$) sebanding dengan kerapatan (banyaknya) sel bakteri dalam suspensi biakan.

Dalam penggunaannya, penentuan jumlah sel dengan OD memerlukan dua tahap. Tahap pertama, spektrofotometer dikalibrasi sehingga mempunyai $OD = 0$ bila tidak ada sel. Ini dilakukan dengan memasukkan kuvet yang berisi larutan pengencer yang digunakan dalam perhitungan sel. Biasanya digunakan aquadest, nutrien broth atau larutan NaCl.

Nilai OD tidak langsung menunjukkan jumlah sel, tapi menunjukkan jumlah cahaya yang disebarkan oleh populasi (sel) tersebut. Untuk menentukan jumlah sel mikroba, maka nilai OD harus disetarakan terlebih dahulu dengan jumlah mikroba ($CFU = colony\ forming\ units/ml$). Untuk itu perlu dilakukan pengenceran sampel sebelum dibaca dengan spektrometer. Pengenceran yang digunakan : 10X, 20X, 30X, 40X, dan 50X (**Lampiran 1**). Setelah diperoleh nilai OD pada panjang gelombang 540 nm dari berbagai pengenceran tadi, selanjutnya dibuat kurva kalibrasi (standart) dengan langkah sebagai berikut :

1. Pembuatan Kurva Standar adalah sebagai berikut :
 - a. Mengencerkan sampel dalam beberapa pengenceran.

- b. Menyiapkan tabung reaksi dan ditambah dengan larutan standar masing-masing 4 ml.
 - c. Membaca absorbansi pada λ (panjang gelombang) dengan serapan maksimum antara 500 - 560 nm.
 - d. Absorbansi maksimum yang didapatkan pada $\lambda = 540$ nm.
 - e. Menghitung jumlah sel bakteri tiap pengenceran dengan *Haemocytometer*.
 - f. Membuat kurva standar dengan memplotkan total mikroba dengan absorbansi (**Lampiran 2**).
2. Pengujian Sampel
- a. Mencampurkan sampel 1 ml dengan aquadest 19 ml.
 - b. Menyiapkan tabung reaksi dan menambahkan ke dalamnya masing-masing ± 5 ml larutan sample.
 - c. Membaca absorbansi pada $\lambda = 540$ nm.
 - d. Total mikroba diukur berdasarkan kurva standar sehingga didapatkan jumlah sel hidup (mikroba/ml).

3.6.2 Gula Reduksi (Chaplin, 1994)

1. Pembuatan Larutan DNS

Buat reagen yang terdiri dari 0,25 g DNS dan 75 gr sodium potassium tartrate dalam 50 ml dari 2 M NaOH (4 g NaOH dalam 50 ml air) tera sampai 250 ml dengan aquadest.

2. Pembuatan Kurva Standar

- a. Membuat larutan glukosa standar (0,1 g/ 10 ml).
- b. Membuat larutan glukosa 0 ml/1,5 ml; 0,025 ml/1,475 ml; 0,05 ml/1,450 ml; 0,075 ml/1,425 ml; 0,1 ml/1,400 ml; 0,125 ml/1,375 ml; 0,150 ml/1,350 ml.
- c. Menyiapkan 7 tabung reaksi dan ditambahkan kedalamnya larutan gula standar dengan konsentrasi masing-masing.
- d. Menambahkan larutan DNS kedalam tabung reaksi yang berisi larutan standar.
- e. Tabung reaksi dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit kemudian didinginkan.

- f. Membaca absorbansi pada $\lambda = 570$ nm.
 - g. Membuat kurva standar dengan memplotkan konsentrasi glukosa dan nilai absorbansinya (**Lampiran 3**).
3. Pengujian Sampel
- a. Mencampurkan 0,2 ml sampel dengan 7,8 ml aquadest.
 - b. Sampel diambil 1,5 ml, ditambah 3 ml reagen DNS.
 - c. Dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit.
 - d. Membaca absorbansinya pada $\lambda = 570$ nm.
 - e. Melakukan hal yang sama untuk pengujian blanko (tanpa penambahan glukosa 1%)
 - f. Kadar glukosa diukur berdasarkan kurva standar sehingga didapatkan konsentrasi gula reduksi (mg/ml).

$$\% \text{ Gula Reduksi} = \frac{\text{mg/ml} \times \text{Faktor Pengenceran}}{\text{gram bahan} \times 1000} \times 100 \%$$

3.6.3 Total Asam Laktat (Fardiaz, 1984)

Pengukuran total asam (asam laktat) dilakukan dengan titrasi :

1. Diambil 10 g bahan diencerkan di dalam labu 100 ml.
2. Filtrat diambil 25 ml ditempatkan ke dalam erlenmeyer 125 ml
3. Kemudian ditambahkan indikator PP 1% 2-3 tetes.
4. Dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai berwarna merah muda tetap
5. Total asam yang diperoleh dinyatakan dalam persen asam laktat dengan persamaan sebagai berikut :

$$\% \text{ Asam laktat} = \frac{\text{ml titrat} \times \text{N NaOH} \times 90}{\text{gram bahan} \times 1000} \times 100 \%$$

3.6.4 Nilai pH (Derajat Keasaman)

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH-meter dengan larutan buffer 4. pH-meter dinyalakan, elektroda dibilas dengan aquadest dan dikeringkan

dengan tissue. Kemudian elektroda dicelupkan pada larutan sampel, dibiarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil.

$$pH \text{ asli} = \left(\frac{pH}{\text{Buffer}} \right) \times 4$$

3.6.5 Kadar Protein Terlarut Metode Formol (Sudarmadji, dkk, 1984)

Penentuan kadar protein terlarut dengan metode formol adalah sebagai berikut :

1. Bahan sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambah 20 ml aquadest dan 1 ml PP 1%.
2. Mentitrasi larutan dengan NaOH 0,1 N sampai warna merah muda tetap.
3. Setelah warna tercapai ditambahkan 2 ml larutan formaldehida dan dititrasi kembali dengan NaOH 0,1 N sampai warna merah muda tercapai lagi.
4. Membuat titrasi blanko yang terdiri dari 20 ml aquadest, 1 ml PP 1%, dan 2 ml formaldehida lalu dititrasi dengan larutan NaOH 0,05 N.
5. Titrasi formol adalah titrasi kedua dikurangi dengan titrasi blanko.

$$\% \text{ Protein} = 1,83 \times \text{titrasi (sample - blanko)}$$

3.6.6 Warna (Derajat Keputihan) (Fardiaz, 1989)

Pengukuran warna (derajat keputihan) yoghurt dilakukan dengan menggunakan *color reader*. Cara pengukuran derajat keputihan dengan *color reader* :

1. Monitor *color reader* disentuhkan sedekat mungkin pada permukaan bahan kemudian alat dihidupkan. Intensitas warna sampel ditunjukkan oleh angka yang terbaca pada *color reader*.
2. Menghitung derajat keputihan sampel dengan rumus :

$$W = 100 - \{(100-L)^2 + (a^2 + b^2)\}^{0,5}$$

Keterangan :

W = derajat keputihan (W=100 diasumsikan putih sempurna)

L = nilai berkisar 0-100 yang menunjukkan warna hitam hingga putih

a = nilai berkisar antara (-80) sampai 100 yang menunjukkan warna hijau hingga merah

b = nilai berkisar antara (-80) sampai 70 yang menunjukkan warna biru hingga kuning

3.6.7 Uji Organoleptik (Metode Hedonic Scale Scoring) (Mabesa, 1986)

Sampel yang telah diberi kode disajikan kepada panelis dan panelis diminta untuk memberikan uji hedonik yaitu mengungkapkan tanggapan pribadinya tentang kesukaan dan ketidaksukaan terhadap produk yoghurt yang disajikan yang meliputi warna, aroma, keasaman, dan keseluruhan pada skala yang telah disediakan.

Pengujian organoleptik berdasarkan parameter organoleptik, meliputi :

Skala Hedonik	Skala Numerik	
a. Warna	a. Sangat Suka	5
b. Aroma	b. Suka	4
c. Keasaman	c. Cukup Suka	3
d. Keseluruhan	d. Tidak Suka	2
	e. Sangat Tidak Suka	1

3.6.8 Penentuan Perlakuan Terbaik dengan Metode Efektivitas

1. Memberikan bobot nilai pada masing-masing variabel dengan angka relatif sebesar 0 – 1. Bobot nilai yang diberikan tergantung pada kontribusi masing-masing variabel terhadap sifat-sifat kualitas produk.
2. Menentukan nilai terbaik dan nilai terjelek dari data pengamatan.
3. Menentukan bobot normal variabel, yaitu bobot variabel dibagi bobot total.
4. Menghitung nilai efektivitas dengan rumus:

$$\text{Nilai Efektivitas} = \frac{\text{Nilai perlakuan} - \text{Nilai terjelek}}{\text{Nilai terbaik} - \text{Nilai terjelek}}$$

5. Menghitung nilai hasil, yaitu bobot normal dikalikan dengan nilai efektivitas.
6. Menjumlahkan nilai hasil dari semua variabel dan perlakuan terbaik dipilih dari perlakuan dengan nilai hasil tertinggi.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Sesuai dengan hasil penelitian dan pembahasan mengenai pengembangan probiotik dalam starter yoghurt dengan variasi jenis dan konsentrasi bakteri asam laktat, dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Rasio starter pada proses pembuatan yoghurt berpengaruh sangat nyata terhadap total asam, total mikroba dan derajat keputihan, namun tidak berpengaruh terhadap pH (derajat keasaman), gula reduksi, dan kadar protein yoghurt yang dihasilkan.
2. Konsentrasi starter pada proses pembuatan yoghurt berpengaruh sangat nyata terhadap pH (derajat keasaman) dan total mikroba, namun tidak berpengaruh terhadap total asam, gula reduksi, kadar protein dan derajat keputihan yoghurt yang dihasilkan.
3. Kombinasi perlakuan A3B3 dengan rasio starter *Lactobacillus casei* : *Lactobacillus bulgaricus* : *Streptococcus thermophilus* = 30% : 35% : 35%, dan penambahan konsentrasi starter sebesar 4% menghasilkan yoghurt susu sapi dengan sifat-sifat yang baik. Yoghurt yang dihasilkan mempunyai total mikroba dengan rata-rata $2,11 \times 10^7$ sel/ml, kadar gula reduksi 8,376%, total asam 0,59%, pH (derajat keasaman) 4,947%, kadar protein 1,905%, dan derajat keputihan 61,42. Sedangkan tingkat kesukaan untuk warna 3,18 (cukup suka), aroma 3,00 (cukup suka), keasaman 2,91 (tidak suka) dan keseluruhan 3,06 (cukup suka).

5.2 Saran

Selama penelitian penulis menggunakan starter basah dalam pembuatan yoghurt karena lebih umum digunakan. Sedangkan penggunaan starter kering selama ini belum ada yang menggunakannya dalam pembuatan yoghurt, padahal penggunaan starter kering mempermudah proses pembuatan dari yoghurt (praktis). Untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penggunaan starter kering dalam pembuatan yoghurt. Selain itu penambahan prebiotik (jenis

dan konsentrasi prebiotik) yang dapat mendukung pertumbuhan probiotik dalam pembuatan yoghurt sebagai produk sinbiotik cukup menarik untuk diteliti lebih lanjut.



DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1995. *Petunjuk Praktikum Pengolahan Bahan Hasil Pertanian*. Jember : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- _____. 2000. Nutritional and Therapeutic Aspects of Lactobacilli. <http://www.lactospore.com>.
- _____. 2001. Yoghurt. <http://www.foodsci.voguelph.ca/dairy.edu/yoghurt.htm>
- _____. 2001. Milk and Milk Products. <http://www.woodhead.com/milkandmilkproducts/yoghurt.htm>
- _____. 2001. Background to Food Production. <http://web.ukonline.co.uk/webwise/spinneret/mikrobes/fermot.htm>
- Ananda. 2003. Kajian Sifat Probiotik Isolat Klinis *BAL* secara in vitro dan in vivo. Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Agus. 2001. Konsep Prebiotik dalam Makanan Bayi dan Balita. Jakarta : Kompas (edisi 8 April 2001).
- Apriadji, Wied. 2002. Khasiat Yoghurt untuk Pengobatan. Dalam Sedap Sekejap. <http://www.pikiran-rakyat.com>.
- Axelsson L. 1998. *Bacterium lactic acid : classification and physiology* In S. Salminen and A. Von Wright (eds). *Bacterium lactic acid : Microbiological and Functional Aspect, 2nd ed*. New York : Marcel Dekker, Inc.
- Bagiasta, I.G. 1984. *Mempelajari Mutu dan Stabilitas Minuman Botol Yoghurt Kedelai*. Bogor : FATETA IPB.
- Bottazi, V. 1983. *Other Fermented Dairy Product. In : Biotechnology : Food and Feed Production with Microorganisms. Vol 5. Florida* : Verlag Chemie.
- Broste, P. 1999. Food Engineering International. Denmark. (broste@Broste.com).
- Bennion, M. 1980. *The Science of Food*. New York : Jhon Willey and Sons.
- Chandan, R.C. 1982. *Other Fermented Dairy Products. In : G. Reed (Ed). Prescott Dunn's Industrial Microbiology. 4th Ed*. Wesport Connecticut : AVI Publishing Co.

De Garmo, E.P., W.G. Sullivan, J.R. Canada. 1984. *Engineering Economy 7th Edition*. United States of America : Macmillan Publishing Company New York.

Elisabeth, D.A.A. 2003. Pembuatan Yoghurt Sinbiotik Dengan Menggunakan Kultur Campuran : *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*, dan *Bifidobacterium breve*. Skripsi. Bogor : Institut Pertanian Bogor.

Fuller, R. 1997. *Probiotic 2 : Application and Practical Aspect*. London : Chapman and Hall.

Frazier, W.C dan D.C. Westhoff .1988. *Food Microbiology. Edisi Keempat*. Singapore : McGraw Hill Book Co.

Friend, B.A and K.M Shahani. 1985. *Fermented Dairy Products. In : The Practice of Biotechnology : Current Comodity Products*. New York : Pergamon Press.

Gibson, G.R. 1998. Dietary Modulation of The Human Colonic Microbiota : Introduction of Prebiotics. *J.Nutr* 125(6) : 1401-12.

Havenaar, R and Huiis in't Veld, 1992. *Probiotic : A general View. In : The Lactic Acid Bacteria. B.J.B Wood (ed)*. London : Elsevier Applied Science.

Hutkins, R.W. and N.L. Nannen. 1993. pH Homoestatis in *Lactic Acid Bacteria*. *J. Dairy Sei.* 76 : 2354-2365.

Helferich, W. and D.C. Westhoff. 1980. *All About Yoghurt*. New York : Prentice-Hall Inc.

http://www.anka.livstek.lth.se:2080/L_bulg.htm-3k. 2004.

http://www.anka.livstek.lth.se:2080/L_bulg.htm-7k-. 2004.

http://www.distans.livstek.lth.se:2080/S_thermo.htm. 2004

<http://www.phototour.minneapolis.mn.us/candida/history.html>. 2004

Jay, J.M. 1978. *Modern Food Microbiology. 2nd Ed*. New York : D. Van Nostrand Co.

- _____. 2000. *Modern Food Microbiology. 2nd Edition*. Gaithersburg, Maryland : Aspen Publishers, Inc.
- Jenie, B. S. L. 2003. Pangan Fungsional Penyusun Flora Usus yang Menguntungkan. *Dalam Seminar Sehari "Keseimbangan Flora Usus bagi Kesehatan dan Kebugaran"*. Bogor.
- Kun, L.Y. 2002. Mencari Antikanker dan Antikolesterol dari Bakteri *Probiotik*. Jakarta : Kompas (edisi 22 Desember 2002).
- Koswara, S. 1995. *Teknologi Pengolahan Kedelai*. Jakarta : Anggota IKAPI Pustaka sinar Harapan.
- Legowo, M. A. 2002. Yoghurt untuk Kesehatan.
(<http://www.kompas.com/kompas%2D/0209/13/iptek/ypgu48.htm>).
- Mabesa, Linda. B. 1986. *Sensory Evaluation of Foods : Principles and Methods*. Los Banos Laguna : College Of Agriculture University of the Philippines.
- Macfarlane dan Cummings. 1999. Biomedical Journal " *Probiotics and Prebiotics: Can Regulating The Activities of Intestinal Bacteria Benefits Health*. <http://www.bmj.com>.
- Muchtadi, T., Sugiyono. 1992. *Petunjuk Laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan Nabati*. Pusat Antar Pangan dan Gizi. Bogor : IPB
- Oberman, H. 1985. *Fermented Milks. In : Microbiology of Fermented Foods. Vol 2*. England : Elsevier Applied Science.
- Overby, A.J. 1988. *Microbial Cultures for Milk Processing. In : Meat Science, Milk Science and Technology*. New York : Elsevier Science Publishers B.V.
- Purwati, S. 1999. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Sumber Gula Terhadap Sifat Fisik dan Kimia serta Organoleptik *Soygurt*. Skripsi. Malang : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Prangdimurti, E. 2001. Probiotik dan Efek Perlindungannya terhadap kanker Kolon. <http://www.kompas.com>.
- Rachmawati, E. 2001. Pengaruh Proporsi Susu Kedelai Susu Tempe dan Penambahan Keraginan Terhadap Sifat Fisiko Kimia dan Organoleptik Yoghurt Tempe. Skripsi. Malang : FTP UNIBRAW.

- Rahman, A., S. Fardiaz, W.P. Rahayu, Suliantari dan C.C. Nurwitri. 1992. **Teknologi Fermentasi Susu**. Bogor : Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- Rahayu, K, dan S.Sudarmadji.1989. **Mikrobiologi Pangan**. Yogyakarta : Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada.
- Rahayu, E.S, R. Indrati, T. Utami, E. Harmayati dan M.N Cahyanto. 1993. **Bahan Pangan Hasil Fermentasi**. Yogyakarta : Pusat Antar Universitas Yogyakarta.
- Ray, B. 1996. **Fundamental Food Microbiology**. CRC. Press. Inc. London.
- Rukmana, H.Rahmat. 2001. **Yoghurt dan Karamel Susu**. Yogyakarta : Kanisius.
- Renner, E. 1988. **Milk in Human Nutrition**. In : **Meat Science, Milk Science and Technology**. New York : Elsevier science Publishers B.V.
- Rogosa, M. 1974. **Lactobacillaceae/Bifidobacteriaceae**. In : **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Batimore : The William and Wilkins Co.
- Robinson, R. K. 1999. **Yoghurt**. Dalam R. K. Robinson, C. A. Batt, dan P. D. Patel (eds). 1999. **Encyclopedia of Food Microbiology**. Academic Press.
- Schlegel, H.G. 1994. **Mikrobiologi Umum**. Yogyakarta : Gajah Masa University Press.
- Sirait. 1984. **Proses Pengolahan Susu Menjadi Yoghurt**. Bogor : Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan Bogor.
- Sediaoetama, A. A. 1985. **Ilmu Gizi untuk Mahasiswa dan Profesi. Jilid 1**. Jakarta : Anggota IKAPI. Penerbit Dian Rakyat.
- Selamat, D. P. 1992. Mutu Simpan Yakult Kedelai yang Difermentasi oleh *Lactobacillus casei* galur shirota dan *Lactobacillus casei* subsp. Rhamnosus pada Suhu Ruang dan Suhu Lemari Es. Skripsi. FATETA. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Shah, N. 1994. *Lactobacillus acidophilus* and *Lactose Intolerance*. A review. ASEAN FOOD Journal. 9 (2) : 47-52.
- Stanburry, P.F. dan A.Whitaker. 1990. **Principles of Fermentation Technology**. London : Pergamon Press, Oxford.

- SNI 01-3141-1998. Susu Segar. Dalam Elisabeth, D.A.A. 2003. Pembuatan Yoghurt Sinbiotik Dengan Menggunakan Kultur Campuran : *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*, dan *Bifidobacterium breve*. Skripsi. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- SNI 01-2981-1992. Yoghurt. Dalam Elisabeth, D.A.A. 2003. *Pembuatan Yoghurt Sinbiotik Dengan Menggunakan Kultur Campuran : Streptococcus thermophilus, Lactobacillus casei, dan Bifidobacterium breve*. Skripsi. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Tamime, A.Y. and H.C. Deeth. 1980. Yoghurt, technology and biochemistry. *J. Food Protect.* 43 (12) : 937-977.
- _____. and R. K. Robinson . 1989. *Yoghurt : Science and Technology. 1st Ed.* London : Pergamon Press.
- _____. and R. K. Robinson. 1999. *Yoghurt : Science and Technology. 2nd Ed.* England : Woodhead Publishing Ltd.
- Vedamuthu, E.R. 1982. Fermented milks. In : *Fermented Foods. Economic Microbiology. Vol 7.* New York : Academic Press.
- Waspodo, dan Ingrid S. 2002. Efek *Probiotik, Prebiotik* dan *Synbiotik* bagi Kesehatan. Jakarta : Kompas (edisi 30 september 2002).
- Winarno, F.G. 1982. *Protein Sumber dan Peranannya*. Bogor : Departemen Teknologi dan Makanan Pertanian IPB.
- _____. 1988. *Kimia Pangan Dan Gizi*. Jakarta : Penerbit PT. Gramedia.
- _____. 2002. *Flavor Bagi Industri Pangan*. Bogor : M-brio Press.

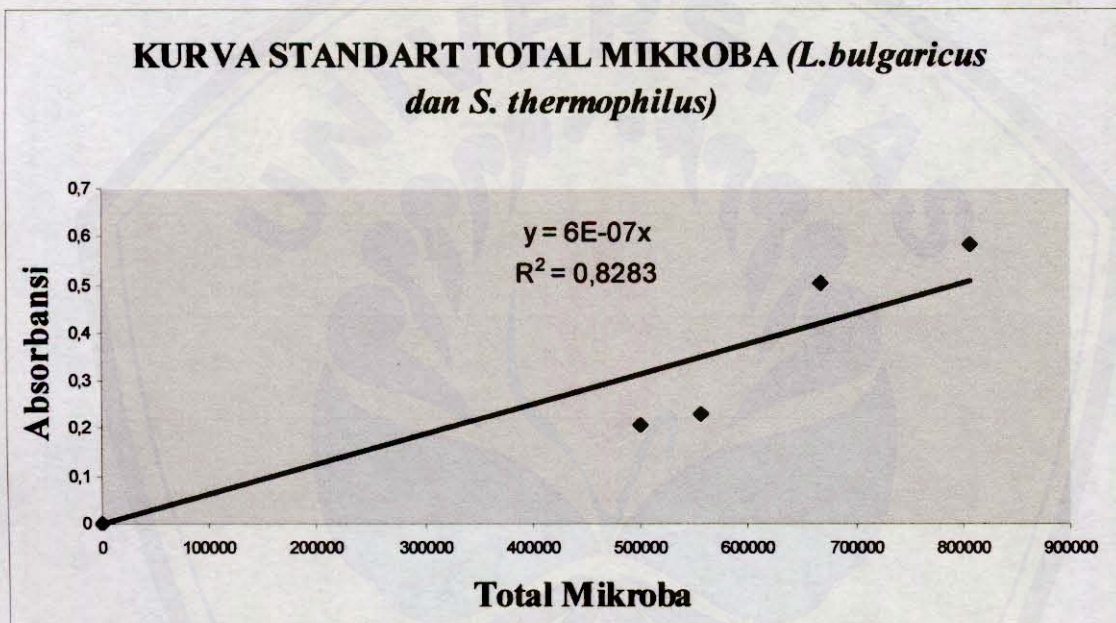
Lampiran 1**Pengenceran Sampel Untuk Analisa Total Mikroba**

Kultur Yoghurt (ml)	Aquadest (ml)	Total (ml)	Faktor Pengenceran
1	9	10	10x
0,5	9,5	10	20x
0,33	9,67	10	30x
0,25	9,75	10	40x
20	9,8	10	50x

Keterangan :**Panjang Gelombang (γ) = 540 nm**

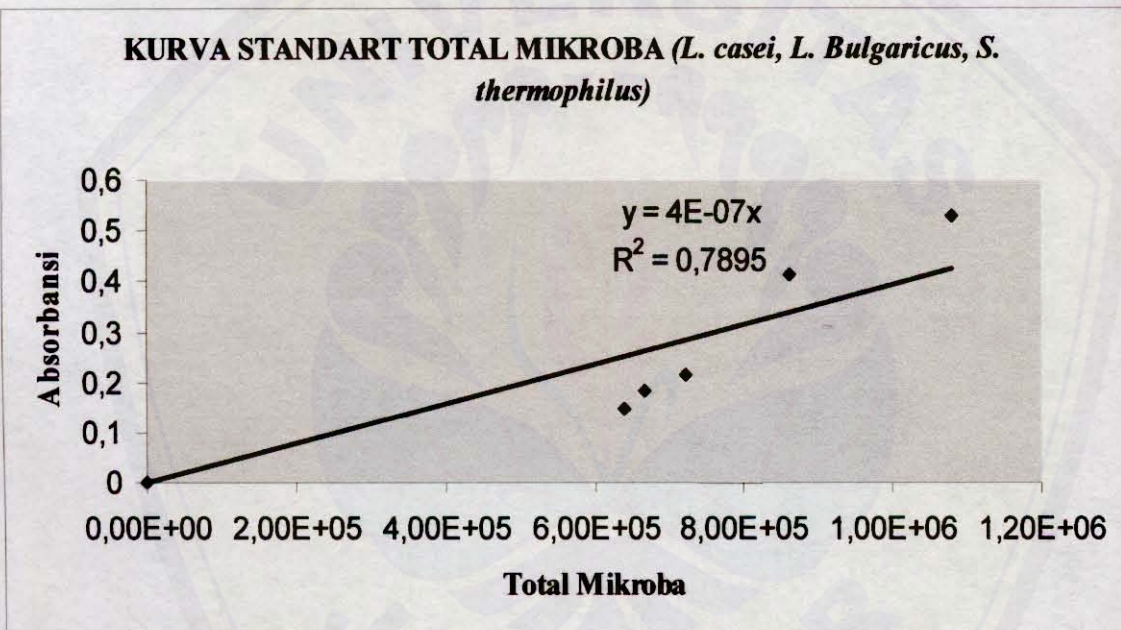
Lampiran 2

Jumlah Mikroba (m.o/ml)	Absorbansi
0	0
5,00E+05	0,209
5,55E+05	0,229
6,67E+05	0,505
8,06E+05	0,584



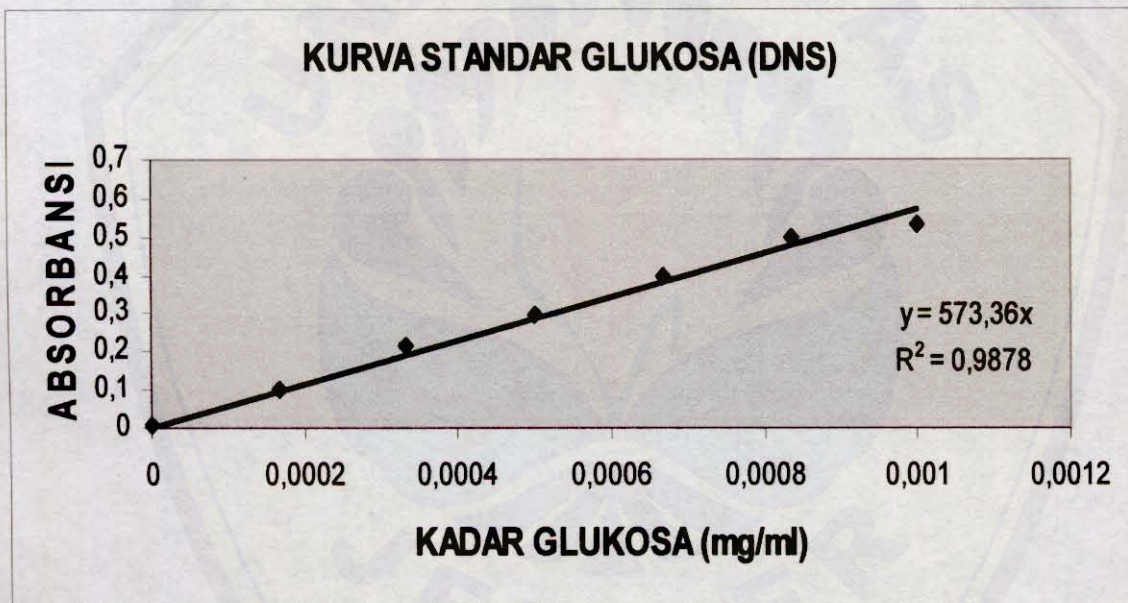
Jumlah Mikroba (m.o/ml)	Absorbansi
0,00E+00	0
6,39E+05	0,147
6,67E+05	0,181
7,22E+05	0,215
8,61E+05	0,415
1,08E+06	0,527

KURVA STANDART TOTAL MIKROBA (*L. casei*, *L. Bulgaricus*, *S. thermophilus*)



Lampiran 3

Glukosa (mg/ml)	Absorbansi
0	0,006
0,0001667	0,103
0,0003333	0,215
0,0005	0,295
0,0006667	0,396
0,0008333	0,498
0,001	0,534



Lampiran 4

Data Pengamatan Total Mikroba

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A1B1	7,37E+06	1,14E+07	1,06E+07	2,94E+07	9,79E+06
A1B2	1,81E+07	2,07E+07	1,81E+07	5,69E+07	1,90E+07
A1B3	1,60E+07	2,14E+07	2,07E+07	5,81E+07	1,94E+07
A2B1	1,39E+07	2,20E+07	1,60E+07	5,19E+07	1,73E+07
A2B2	1,56E+07	2,89E+07	1,78E+07	6,23E+07	2,08E+07
A2B3	1,67E+07	1,72E+07	3,38E+07	6,77E+07	2,26E+07
A3B1	1,39E+07	2,24E+07	1,86E+07	5,49E+07	1,83E+07
A3B2	1,84E+07	1,66E+07	3,35E+07	6,85E+07	2,28E+07
A3B3	2,53E+07	3,20E+07	2,35E+07	8,07E+07	2,69E+07
A4B1	2,03E+07	2,43E+07	2,61E+07	7,07E+07	2,36E+07
A4B2	1,43E+07	2,38E+07	3,12E+07	6,92E+07	2,31E+07
A4B3	2,31E+07	3,57E+07	3,02E+07	8,89E+07	2,96E+07
Jumlah	2,03E+08	2,76E+08	2,80E+08	7,59E+08	2,11E+07
Rata-rata	1,69E+07	2,30E+07	2,33E+07		

Hasil Transformasi Data Pengamatan Total Mikroba

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A1B1	2,71E+03	3,38E+03	3,26E+03	9,35E+03	3,12E+03
A1B2	4,25E+03	4,55E+03	4,25E+03	1,31E+04	4,35E+03
A1B3	4,00E+03	4,62E+03	4,55E+03	1,32E+04	4,39E+03
A2B1	3,73E+03	4,69E+03	4,00E+03	1,24E+04	4,14E+03
A2B2	3,95E+03	5,38E+03	4,22E+03	1,35E+04	4,51E+03
A2B3	4,09E+03	4,15E+03	5,81E+03	1,40E+04	4,68E+03
A3B1	3,73E+03	4,73E+03	4,31E+03	1,28E+04	4,26E+03
A3B2	4,29E+03	4,07E+03	5,78E+03	1,41E+04	4,72E+03
A3B3	5,02E+03	5,65E+03	4,84E+03	1,55E+04	5,17E+03
A4B1	4,51E+03	4,93E+03	5,11E+03	1,45E+04	4,85E+03
A4B2	3,77E+03	4,88E+03	5,58E+03	1,42E+04	4,74E+03
A4B3	4,80E+03	5,97E+03	5,49E+03	1,63E+04	5,42E+03
Jumlah	4,89E+04	5,70E+04	5,72E+04	1,63E+05	4,53E+03
Rata-rata	4,07E+03	4,75E+03	4,77E+03		

Tabel 2 Arah A x B

Faktor Tunggal A	Faktor Tunggal B			Jumlah	Rata-rata
	B1	B2	B3		
A1	9,35E+03	1,31E+04	1,32E+04	3,56E+04	3,95E+03
A2	1,24E+04	1,35E+04	1,40E+04	4,00E+04	4,45E+03
A3	1,28E+04	1,41E+04	1,55E+04	4,24E+04	4,72E+03
A4	1,45E+04	1,42E+04	1,63E+04	4,50E+04	5,01E+03
Jumlah	4,91E+04	5,50E+04	5,90E+04		
Rata-rata	4,09E+03	4,58E+03	4,92E+03		

Lampiran 5

Data Pengamatan Gula Reduksi

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A1B1	7,010	8,370	13,670	29,050	9,683
A1B2	9,240	8,480	6,870	24,590	8,197
A1B3	5,560	8,620	6,990	21,170	7,057
A2B1	10,150	8,790	9,660	28,600	9,533
A2B2	11,200	8,410	9,850	29,460	9,820
A2B3	8,580	8,890	9,420	26,890	8,963
A3B1	9,380	8,060	9,330	26,770	8,923
A3B2	7,570	7,260	8,740	23,570	7,857
A3B3	7,390	7,120	8,340	22,850	7,617
A4B1	8,200	7,360	7,830	23,390	7,797
A4B2	6,660	8,060	7,430	22,150	7,383
A4B3	6,170	8,410	8,460	23,040	7,680
Jumlah	97,110	97,830	106,590	301,530	8,376
Rata-rata	8,093	8,153	8,883		

Tabel 2 Arah A x B

Faktor Tunggal A	Faktor Tunggal B			Jumlah	Rata-rata
	B1	B2	B3		
A1	29,05	24,59	21,17	74,81	8,31
A2	28,60	29,46	26,89	84,95	9,44
A3	26,77	23,57	22,85	73,19	8,13
A4	23,39	22,15	23,04	68,58	7,62
Jumlah	107,81	99,77	93,95		
Rata-rata	8,98	8,31	7,83		

Lampiran 6

Data Pengamatan Total Asam

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A1B1	0,450	0,450	0,522	1,422	0,474
A1B2	0,450	0,585	0,495	1,530	0,510
A1B3	0,450	0,698	0,495	1,643	0,548
A2B1	0,495	0,540	0,540	1,575	0,525
A2B2	0,450	0,585	0,675	1,710	0,570
A2B3	0,495	0,450	0,675	1,620	0,540
A3B1	0,540	0,585	0,675	1,800	0,600
A3B2	0,585	0,540	0,540	1,665	0,555
A3B3	0,630	0,630	0,900	2,160	0,720
A4B1	0,765	0,720	0,540	2,025	0,675
A4B2	0,720	0,540	0,630	1,890	0,630
A4B3	0,630	0,675	0,900	2,205	0,735
Jumlah	6,660	6,998	7,587	21,245	0,590
Rata-rata	0,555	0,583	0,632		

Tabel 2 Arah A x B

Faktor Tunggal A	Faktor Tunggal B			Jumlah	Rata-rata
	B1	B2	B3		
A1	1,422	1,530	1,643	4,595	0,511
A2	1,575	1,710	1,620	4,905	0,545
A3	1,800	1,665	2,160	5,625	0,625
A4	2,025	1,890	2,205	6,120	0,680
Jumlah	6,822	6,795	7,628		
Rata-rata	0,569	0,566	0,636		

Lampiran 7

Data Pengamatan Nilai pH (Derajat Keasaman)

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A1B1	5,030	5,132	4,979	15,141	5,047
A1B2	5,013	4,928	4,919	14,860	4,953
A1B3	4,936	4,851	4,928	14,715	4,905
A2B1	4,979	5,140	4,970	15,089	5,030
A2B2	4,911	5,004	4,953	14,868	4,956
A2B3	4,928	5,013	4,936	14,877	4,959
A3B1	4,928	5,174	4,936	15,039	5,013
A3B2	4,885	5,030	4,962	14,876	4,959
A3B3	4,774	4,987	4,834	14,595	4,865
A4B1	4,766	5,140	4,928	14,834	4,945
A4B2	4,732	5,047	4,911	14,689	4,896
A4B3	4,732	4,919	4,868	14,519	4,840
Jumlah	58,614	60,366	59,123	178,103	4,947
Rata-rata	4,885	5,030	4,927		

Tabel 2 Arah A x B

Faktor Tunggal A	Faktor Tunggal B			Jumlah	Rata-rata
	B1	B2	B3		
A1	15,141	14,860	14,715	44,716	4,968
A2	15,089	14,868	14,877	44,834	4,982
A3	15,039	14,876	14,595	44,510	4,946
A4	14,834	14,689	14,519	44,043	4,894
Jumlah	60,103	59,294	58,706		
Rata-rata	5,009	4,941	4,892		

Lampiran 8

Data Pengamatan Kadar Protein

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A1B1	1,270	1,567	1,647	4,484	1,495
A1B2	1,556	1,739	2,013	5,307	1,769
A1B3	2,471	1,647	1,922	6,039	2,013
A2B1	1,665	2,013	1,226	4,904	1,635
A2B2	2,105	1,922	1,922	5,948	1,983
A2B3	2,105	2,013	1,556	5,673	1,891
A3B1	1,391	2,013	2,288	5,691	1,897
A3B2	2,745	1,720	1,739	6,204	2,068
A3B3	2,471	1,610	2,288	6,368	2,123
A4B1	1,922	2,562	1,556	6,039	2,013
A4B2	1,922	2,105	2,196	6,222	2,074
A4B3	1,922	1,830	1,940	5,691	1,897
Jumlah	23,541	22,740	22,289	68,570	1,905
Rata-rata	1,962	1,895	1,857		

Hasil Transformasi Data Pengamatan Kadar Protein

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A1B1	1,330	1,438	1,465	4,233	1,411
A1B2	1,434	1,496	1,585	4,515	1,505
A1B3	1,724	1,465	1,556	4,745	1,582
A2B1	1,471	1,585	1,314	4,371	1,457
A2B2	1,614	1,556	1,556	4,726	1,575
A2B3	1,614	1,585	1,434	4,633	1,544
A3B1	1,375	1,585	1,670	4,630	1,543
A3B2	1,801	1,490	1,496	4,788	1,596
A3B3	1,724	1,453	1,670	4,846	1,615
A4B1	1,556	1,750	1,434	4,740	1,580
A4B2	1,556	1,614	1,642	4,812	1,604
A4B3	1,556	1,526	1,562	4,645	1,548
Jumlah	18,755	18,544	18,383	55,682	1,547
Rata-rata	1,563	1,545	1,532		

Tabel 2 Arah A x B

Faktor Tunggal A	Faktor Tunggal B			Jumlah	Rata-rata
	B1	B2	B3		
A1	4,23	4,52	4,74	13,49	1,50
A2	4,37	4,73	4,63	13,73	1,53
A3	4,63	4,79	4,85	14,26	1,58
A4	4,74	4,81	4,64	14,20	1,58
Jumlah	17,97	18,84	18,87		
Rata-rata	1,50	1,57	1,57		

Lampiran 9

Data Pengamatan Derajat Keputihan

Perlakuan	Ulangan			Jumlah	Rata-rata
	1	2	3		
A1B1	58,946	63,021	62,495	184,462	61,487
A1B2	60,679	63,127	62,865	186,671	62,224
A1B3	61,809	60,474	63,200	185,483	61,828
A2B1	63,517	63,198	62,479	189,195	63,065
A2B2	62,175	64,358	62,927	189,460	63,153
A2B3	61,721	63,930	63,122	188,773	62,924
A3B1	62,912	62,091	63,191	188,194	62,731
A3B2	61,794	62,074	62,863	186,731	62,244
A3B3	60,881	60,431	59,897	181,209	60,403
A4B1	57,827	51,895	60,744	170,466	56,822
A4B2	58,182	59,474	61,779	179,435	59,812
A4B3	62,592	58,418	60,090	181,100	60,367
Jumlah	733,035	732,492	745,653	2211,179	61,422
Rata-rata	61,086	61,041	62,138		

Tabel 2 Arah A x B

Faktor Tunggal A	Faktor Tunggal B			Jumlah	Rata-rata
	B1	B2	B3		
A1	184,462	186,671	185,483	556,616	61,846
A2	189,195	189,460	188,773	567,428	63,048
A3	188,194	186,731	181,209	556,134	61,793
A4	170,466	179,435	181,100	531,001	59,000
Jumlah	732,317	742,297	736,565		
Rata-rata	61,026	61,858	61,380		

Lampiran 10

Data Pengamatan Uji Organoleptik Warna

Perlakuan	Ulangan																				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
A1B1	3	4	5	4	4	3	4	4	4	4	3	4	3	4	4	3	3	2	4	4	73,00	3,65
A1B2	2	4	4	4	2	3	3	5	5	4	3	4	3	4	3	3	4	2	4	5	71,00	3,55
A1B3	4	4	5	5	3	3	3	4	3	4	3	4	2	4	4	3	3	3	4	4	72,00	3,60
A2B1	3	4	3	4	5	4	4	3	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	76,00	3,80
A2B2	3	4	3	4	3	3	4	4	5	3	4	4	3	3	4	4	3	3	4	4	72,00	3,60
A2B3	4	4	2	4	4	2	5	3	4	5	3	4	4	3	5	5	4	4	4	5	78,00	3,90
A3B1	2	3	2	4	4	3	3	5	3	4	4	3	2	3	4	4	4	2	4	4	67,00	3,35
A3B2	2	3	1	4	4	2	3	3	4	2	4	4	2	3	4	2	3	3	4	3	60,00	3,00
A3B3	3	3	1	4	2	1	2	3	3	3	4	3	2	3	4	4	3	3	4	2	57,00	2,85
A4B1	2	2	1	3	2	1	2	2	3	2	3	2	1	1	2	2	3	3	4	2	43,00	2,15
A4B2	2	3	1	4	3	2	3	3	3	3	4	2	2	2	3	3	3	3	4	1	54,00	2,70
A4B3	2	4	1	2	1	1	2	2	2	2	3	2	1	1	2	2	2	2	4	1	39,00	1,95
Jumlah	32	42	29	46	35	29	40	39	44	39	42	40	29	35	43	39	39	34	48	38	762,00	3,18
Rata-rata	2,7	3,5	2,4	3,8	2,9	2,4	3,3	3,3	3,7	3,3	3,5	3,3	2,4	2,9	3,6	3,3	3,3	2,8	4,0	3,2		

Hasil Transformasi Uji Organoleptik Warna

Perlakuan	Ulangan																				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
A1B1	1,9	2,1	2,3	2,1	1,9	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	1,9	2,1	1,9	2,1	2,1	1,9	1,9	1,6	2,1	2,1	40,61	2,03
A1B2	1,6	2,1	2,1	2,1	1,6	1,9	1,9	2,3	2,3	2,1	1,9	2,1	1,9	2,1	1,9	1,9	2,1	1,6	2,1	2,3	39,97	2,00
A1B3	2,1	2,1	2,3	2,3	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	2,1	1,9	2,1	1,6	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	2,1	40,33	2,02
A2B1	1,9	2,1	1,9	2,1	2,3	2,1	2,1	1,9	2,1	1,9	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	1,9	41,40	2,07
A2B2	1,9	2,1	1,9	2,1	1,9	1,9	2,1	2,1	2,3	1,9	2,1	2,1	1,9	1,9	2,1	2,1	1,9	1,9	2,1	2,1	40,40	2,02
A2B3	2,1	2,1	1,6	2,1	2,1	1,6	2,3	1,9	2,1	2,3	1,9	2,1	2,1	1,9	2,3	2,3	2,1	2,1	2,1	2,3	41,71	2,09
A3B1	1,6	1,9	1,6	2,1	1,9	1,9	2,3	1,9	2,1	2,1	2,1	1,9	1,6	1,9	2,1	2,1	2,1	1,6	2,1	2,1	38,99	1,95
A3B2	1,6	1,9	1,2	2,1	2,1	1,6	1,9	1,9	2,1	1,6	2,1	2,1	1,6	1,9	2,1	1,6	1,9	1,9	2,1	1,9	37,08	1,85
A3B3	1,9	1,9	1,2	2,1	1,6	1,2	1,6	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,6	1,9	2,1	2,1	1,9	1,9	2,1	1,6	36,22	1,81
A4B1	1,6	1,6	1,2	1,9	1,6	1,2	1,6	1,6	1,9	1,6	1,9	1,6	1,2	1,2	1,6	1,6	1,9	1,9	2,1	1,6	32,19	1,61
A4B2	1,6	1,9	1,2	2,1	1,9	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	1,6	1,6	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	1,2	35,43	1,77
A4B3	1,6	2,1	1,2	1,6	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,6	1,9	1,6	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,6	2,1	1,2	30,85	1,54
Jumlah	21	24	20	25	22	20	23	23	24	23	24	23	20	22	24	23	23	22	25	23	455,17	1,90
Rata-rata	1,8	2,0	1,7	2,1	1,8	1,7	1,9	1,9	2,0	1,9	2,0	1,9	1,7	1,8	2,0	1,9	1,9	1,8	2,1	1,9		

Lampiran 11

Data Pengamatan Uji Organoleptik Aroma

Perlakuan	Ulangan																				Jumlah	Rata-rata	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
A1B1	3	3	5	4	4	3	4	2	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	5	67,00	3,35
A1B2	4	4	3	3	3	2	2	1	2	2	4	2	3	4	4	4	3	3	3	3	5	61,00	3,05
A1B3	3	3	4	4	3	2	2	2	3	2	3	3	3	3	3	4	4	2	2	4	4	59,00	2,95
A2B1	4	4	4	3	3	3	3	3	3	2	3	4	3	4	3	3	3	4	4	4	4	67,00	3,35
A2B2	3	3	3	5	3	3	3	2	4	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3	4	4	64,00	3,20
A2B3	2	3	2	3	4	2	2	1	5	3	4	4	2	4	2	4	4	3	3	3	3	60,00	3,00
A3B1	4	3	3	3	4	1	3	1	4	2	4	5	3	3	4	3	3	4	2	4	4	63,00	3,15
A3B2	3	4	3	4	4	3	3	3	4	3	3	4	3	3	3	4	3	3	2	4	4	66,00	3,30
A3B3	2	3	1	2	2	4	2	5	3	5	2	4	2	2	2	4	4	2	3	5	5	59,00	2,95
A4B1	2	2	1	1	2	4	2	5	3	5	2	3	1	1	1	3	3	3	3	4	4	51,00	2,55
A4B2	4	2	1	2	3	5	4	4	3	4	2	4	2	1	1	3	3	2	3	1	1	54,00	2,70
A4B3	2	2	1	3	2	5	4	5	2	5	1	3	1	1	2	2	2	2	3	1	1	49,00	2,45
Jumlah	36	36	31	37	37	37	34	34	39	39	35	42	29	32	31	40	39	34	34	44	44	720,00	3,00
Rata-rata	3,0	3,0	2,6	3,1	3,1	3,1	2,8	2,8	3,3	3,3	2,9	3,5	2,4	2,7	2,6	3,3	3,3	2,8	2,8	2,8	3,7		

Hasil Transformasi Uji Organoleptik Aroma

Perlakuan	Ulangan																				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
A1B1	1,9	1,9	2,3	2,1	2,1	1,9	2,1	1,6	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	39,08	1,95
A1B2	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	1,6	1,6	1,2	1,6	2,1	2,1	1,6	1,9	2,1	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	37,30	1,86
A1B3	1,9	1,9	2,1	2,1	1,9	1,6	1,6	1,6	1,9	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	2,1	1,6	1,6	2,1	36,93	1,85
A2B1	2,1	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,6	1,9	2,1	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	2,1	2,1	39,13	1,96
A2B2	1,9	1,9	1,9	2,3	1,9	1,9	1,9	1,6	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	2,1	38,35	1,92
A2B3	1,6	1,9	1,6	1,9	2,1	1,6	1,6	1,2	2,3	1,9	2,1	2,1	1,6	2,1	1,6	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	37,01	1,85
A3B1	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	1,2	1,9	1,2	2,1	1,6	2,1	2,3	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	2,1	1,6	2,1	37,77	1,89
A3B2	1,9	2,1	1,9	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	1,6	2,1	38,88	1,94
A3B3	1,6	1,9	1,2	1,6	1,6	2,1	1,6	2,3	1,9	2,3	1,6	2,1	1,6	1,6	1,6	2,1	2,1	1,6	1,9	2,3	36,59	1,83
A4B1	1,6	1,6	1,2	1,2	1,6	2,1	1,6	2,3	1,9	2,3	1,6	1,9	1,2	1,2	1,2	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	34,19	1,71
A4B2	2,1	1,6	1,2	1,6	1,9	2,3	2,1	2,1	1,9	2,1	1,6	2,1	1,6	1,2	1,2	1,9	1,9	1,6	1,9	1,2	35,11	1,76
A4B3	1,6	1,6	1,2	1,9	1,6	2,3	2,1	2,3	1,6	2,3	1,2	1,9	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,6	1,9	1,2	33,54	1,68
Jumlah	22	22	21	22	23	22	22	21	23	23	22	24	20	21	21	23	22	22	22	24	443,88	1,85
Rata-rata	1,9	1,9	1,7	1,9	1,9	1,9	1,8	1,8	1,9	1,9	1,8	2,0	1,7	1,7	1,7	2,0	1,9	1,8	1,8	1,8	2,0	

Hasil Transformasi Uji Organoleptik Aroma

Perlakuan	Ulangan																								Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20						
A1B1	1,9	1,9	2,3	2,1	2,1	1,9	2,1	1,6	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,3	39,08	1,95	
A1B2	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	1,6	1,6	1,2	1,6	1,6	2,1	1,6	1,9	2,1	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,3	37,30	1,86	
A1B3	1,9	1,9	2,1	2,1	1,9	1,6	1,6	1,6	1,9	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	2,1	1,6	1,6	1,6	1,6	2,1	36,93	1,85		
A2B1	2,1	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,6	1,9	2,1	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	39,13	1,96	
A2B2	1,9	1,9	1,9	2,3	1,9	1,9	1,9	1,6	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	38,35	1,92		
A2B3	1,6	1,9	1,6	1,9	2,1	1,6	1,6	1,2	2,3	1,9	2,1	2,1	1,6	2,1	1,6	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	37,01	1,85		
A3B1	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	1,2	1,9	1,2	2,1	1,6	2,1	2,3	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	2,1	2,1	1,6	2,1	2,1	37,77	1,89		
A3B2	1,9	2,1	1,9	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	1,6	1,6	2,1	38,88	1,94		
A3B3	1,6	1,9	1,2	1,6	1,6	2,1	1,6	2,3	1,9	2,3	1,6	2,1	1,6	1,6	1,6	2,1	2,1	1,6	1,9	1,6	1,9	2,3	36,59	1,83		
A4B1	1,6	1,6	1,2	1,2	1,6	2,1	1,6	2,3	1,9	2,3	1,6	1,9	1,2	1,2	1,2	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	34,19	1,71		
A4B2	2,1	1,6	1,2	1,6	1,9	2,3	2,1	2,1	1,9	2,1	1,6	2,1	1,6	1,2	1,2	1,9	1,9	1,6	1,6	1,9	1,6	1,2	35,11	1,76		
A4B3	1,6	1,6	1,2	1,9	1,6	2,3	2,1	2,3	1,6	2,3	1,2	1,9	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,6	1,9	1,2	1,2	1,2	33,54	1,68		
Jumlah	22	22	21	22	23	22	22	21	23	23	22	24	20	21	21	23	22	22	22	22	22	24	443,88	1,85		
Rata-rata	1,9	1,9	1,7	1,9	1,9	1,9	1,8	1,8	1,9	1,9	1,8	2,0	1,7	1,7	1,7	2,0	1,9	1,8	1,8	1,8	1,8	2,0				

Lampiran 12

Data Pengamatan Uji Organoleptik Keasaman

Perlakuan	Ulangan																				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
A1B1	4	3	4	4	4	1	2	2	3	3	3	4	3	3	3	3	4	3	3	5	64,00	3,20
A1B2	2	3	4	3	3	1	1	3	2	2	4	4	2	3	3	2	2	3	3	5	55,00	2,75
A1B3	3	4	3	4	3	1	2	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	59,00	2,95
A2B1	3	4	4	3	2	2	1	2	3	2	3	4	2	3	2	3	3	3	3	4	56,00	2,80
A2B2	3	3	4	5	3	3	2	3	4	3	3	4	3	2	4	4	3	3	2	4	65,00	3,25
A2B3	2	4	3	3	4	2	1	3	5	3	4	4	2	3	2	4	4	3	3	3	62,00	3,10
A3B1	3	4	3	4	2	3	3	3	4	3	3	5	3	3	4	4	4	3	2	4	67,00	3,35
A3B2	3	3	3	4	4	3	3	2	4	2	2	3	2	3	2	3	3	3	3	4	59,00	2,95
A3B3	2	3	1	2	4	3	5	2	3	5	2	4	1	2	2	4	4	3	3	5	60,00	3,00
A4B1	2	3	2	1	3	4	5	1	3	5	2	5	2	1	1	3	3	3	2	4	55,00	2,75
A4B2	2	2	2	2	2	4	4	3	3	4	2	4	2	1	2	3	3	2	2	1	50,00	2,50
A4B3	2	2	2	3	2	4	5	2	3	5	1	3	1	1	1	2	2	2	3	1	47,00	2,35
Jumlah	31	38	35	38	36	31	34	29	40	39	32	47	26	28	29	38	38	34	32	44	699,00	2,91
Rata-rata	2,6	3,2	2,9	3,2	3,0	2,6	2,8	2,4	3,3	3,3	2,7	3,9	2,2	2,3	2,4	3,2	3,2	2,8	2,7	3,7		

Hasil Transformasi Uji Organoleptik Keasaman

Perlakuan	Ulangan																				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
A1B1	2,1	1,9	2,1	2,1	2,1	1,2	1,6	1,6	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	2,3	38,17	1,91
A1B2	1,6	1,9	2,1	1,9	1,9	1,2	1,2	1,9	1,6	1,6	2,1	2,1	1,6	1,9	1,9	1,6	1,6	1,9	1,9	2,3	35,61	1,78
A1B3	1,9	2,1	1,9	2,1	1,9	1,2	1,6	1,9	1,9	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	36,94	1,85
A2B1	1,9	2,1	2,1	1,9	1,6	1,6	1,2	1,6	1,9	1,6	1,9	2,1	1,6	1,9	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	36,03	1,80
A2B2	1,9	1,9	2,1	2,3	1,9	1,9	1,6	1,9	2,1	1,9	1,9	2,1	1,9	1,6	2,1	2,1	1,9	1,9	1,6	2,1	38,52	1,93
A2B3	1,6	2,1	1,9	1,9	2,1	1,6	1,2	1,9	2,3	1,9	2,1	2,1	1,6	1,9	1,6	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	37,59	1,88
A3B1	1,9	2,1	1,9	2,1	1,6	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	2,3	1,9	1,9	2,1	2,1	2,1	1,9	1,6	2,1	39,07	1,95
A3B2	1,9	1,9	1,9	2,1	2,1	1,9	1,9	1,6	2,1	1,6	1,6	1,9	1,6	1,9	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	36,97	1,85
A3B3	1,6	1,9	1,2	1,6	2,1	1,9	2,3	1,6	1,9	2,3	1,6	2,1	1,2	1,6	1,6	2,1	2,1	1,9	1,9	2,3	36,81	1,84
A4B1	1,6	1,9	1,6	1,2	1,9	2,1	2,3	1,2	1,9	2,3	1,6	2,3	1,6	1,2	1,2	1,9	1,9	1,9	1,6	2,1	35,31	1,77
A4B2	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	2,1	2,1	1,9	1,9	2,1	1,6	2,1	1,6	1,2	1,6	1,9	1,9	1,6	1,6	1,2	34,23	1,71
A4B3	1,6	1,6	1,6	1,9	1,6	2,1	2,3	1,6	1,9	2,3	1,2	1,9	1,2	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,9	1,2	33,07	1,65
Jumlah	21	23	22	23	22	21	21	20	23	23	21	25	19	20	20	23	23	22	21	24	438,32	1,83
Rata-rata	1,7	1,9	1,8	1,9	1,9	1,7	1,8	1,7	1,9	1,9	1,8	2,1	1,6	1,7	1,7	1,9	1,9	1,8	1,8	1,8	2,0	

Lampiran 13

Data Pengamatan Uji Organoleptik Keseluruhan

Perlakuan	Ulangan																				Jumlah	Rata-rata
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20		
A1B1	4	3	5	4	4	3	3	3	3	3	4	4	4	3	4	3	3	3	3	5	71,00	3,55
A1B2	3	4	4	3	4	2	1	3	3	2	5	4	3	3	4	3	2	4	3	5	65,00	3,25
A1B3	4	4	5	4	3	2	2	3	3	2	3	3	3	3	4	4	3	3	4	4	65,00	3,25
A2B1	4	4	5	3	3	3	2	3	3	2	3	4	2	4	3	3	3	4	4	4	66,00	3,30
A2B2	4	3	3	5	3	2	3	3	3	3	3	4	3	3	3	4	4	3	3	4	66,00	3,30
A2B3	2	4	2	3	5	2	2	4	4	3	5	4	2	3	2	4	5	3	3	3	65,00	3,25
A3B1	3	3	3	4	3	1	2	3	4	2	4	5	3	3	4	3	4	4	2	4	64,00	3,20
A3B2	2	3	3	4	5	2	3	2	4	3	3	4	3	3	3	3	3	3	3	4	63,00	3,15
A3B3	2	3	1	2	3	3	4	2	4	5	3	4	2	2	2	4	4	3	3	5	61,00	3,05
A4B1	2	2	1	1	2	3	4	1	3	5	2	4	2	1	1	3	3	3	4	4	50,00	2,50
A4B2	2	2	1	3	4	4	4	3	3	4	2	4	2	1	1	3	3	2	3	1	52,00	2,60
A4B3	2	3	1	2	3	4	4	2	3	5	1	3	1	1	1	2	2	2	3	1	46,00	2,30
Jumlah	34	38	34	38	42	31	34	32	40	39	38	47	30	30	32	39	39	37	36	44	734,00	3,06
Rata-rata	2,8	3,2	2,8	3,2	3,5	2,6	2,8	2,7	3,3	3,3	3,2	3,9	2,5	2,5	2,7	3,3	3,3	3,1	3,0	3,7		

Hasil Transformasi Uji Organoleptik Keseluruhan

Perlakuan	Ulangan																				Jumlah	Rata-rata	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20			
A1B1	2,1	1,9	2,3	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	2,1	2,1	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,3	40,12	2,01
A1B2	1,9	2,1	2,1	1,9	2,1	1,6	1,2	1,9	1,9	1,6	2,3	2,1	1,9	1,9	2,1	1,9	1,6	2,1	1,9	1,9	2,3	38,35	1,92
A1B3	2,1	2,1	2,3	2,1	1,9	1,6	1,6	1,9	1,9	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	38,52	1,93
A2B1	2,1	2,1	2,3	1,9	1,9	1,9	1,6	1,9	1,9	1,6	1,9	2,1	1,6	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	2,1	2,1	2,1	38,78	1,94
A2B2	2,1	1,9	1,9	2,3	1,9	1,6	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	2,1	38,85	1,94
A2B3	1,6	2,1	1,6	1,9	2,3	1,6	1,6	2,1	2,1	1,9	2,3	2,1	1,6	1,9	1,6	2,1	2,3	1,9	1,9	1,9	1,9	38,35	1,92
A3B1	1,9	1,9	1,9	2,1	1,9	1,2	1,6	1,9	2,1	1,6	2,1	2,3	1,9	1,9	2,1	1,9	2,1	2,1	1,6	2,1	2,1	38,13	1,91
A3B2	1,6	1,9	1,9	2,1	2,3	1,6	1,9	1,6	2,1	1,9	1,9	2,1	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	38,02	1,90
A3B3	1,6	1,9	1,2	1,6	1,9	1,9	2,1	1,6	2,1	2,3	1,9	2,1	1,6	1,6	1,6	2,1	2,1	1,9	1,9	1,9	2,3	37,23	1,86
A4B1	1,6	1,6	1,2	1,2	1,6	1,9	2,1	1,2	1,9	2,3	1,6	2,1	1,6	1,2	1,2	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,1	33,96	1,70
A4B2	1,6	1,6	1,2	1,9	2,1	2,1	2,1	1,9	1,9	2,1	1,6	2,1	1,6	1,2	1,2	1,9	1,9	1,6	1,9	1,2	1,2	34,64	1,73
A4B3	1,6	1,9	1,2	1,6	1,9	2,1	2,1	1,6	1,9	2,3	1,2	1,9	1,2	1,2	1,2	1,6	1,6	1,6	1,9	1,2	1,2	32,78	1,64
Jumlah	22	23	21	23	24	21	22	21	23	23	23	25	21	20	21	23	23	23	22	24	24	447,74	1,87
Rata-rata	1,8	1,9	1,8	1,9	2,0	1,7	1,8	1,8	2,0	1,9	1,9	2,1	1,7	1,7	1,7	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	2,0		

Lampiran 14
Uji Efektivitas

Parameter	B. Variabel	B. Normal	Nilai Hasil Pengamatan													
			A1B1	A1B2	A1B3	A2B1	A2B2	A2B3	A3B1	A3B2	A3B3	A4B1	A4B2	A4B3		
Total Asam	1	0,110	0,00	0,02	0,03	0,02	0,04	0,03	0,05	0,03	0,05	0,03	0,10	0,08	0,07	0,11
pH	1	0,110	0,00	0,05	0,08	0,01	0,05	0,05	0,02	0,05	0,04	0,08	0,09	0,08	0,10	0,09
Gula Reduksi	1	0,110	0,01	0,06	0,11	0,01	0,00	0,03	0,04	0,03	0,04	0,08	0,09	0,08	0,10	0,07
Kadar Protein	1	0,110	0,00	0,05	0,09	0,03	0,09	0,07	0,07	0,07	0,05	0,10	0,11	0,09	0,10	0,07
Total Mikroba	1	0,110	0,00	0,05	0,05	0,04	0,06	0,07	0,05	0,07	0,05	0,07	0,09	0,08	0,07	0,11
Derajat Keputihan	0,9	0,099	0,07	0,08	0,08	0,10	0,10	0,10	0,09	0,10	0,09	0,08	0,06	0,00	0,05	0,06
Warna	0,8	0,088	0,08	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,09	0,09	0,07	0,05	0,04	0,01	0,04	0,00
Aroma	0,8	0,088	0,09	0,06	0,05	0,09	0,07	0,07	0,05	0,05	0,07	0,08	0,05	0,01	0,02	0,00
Keasaman	0,8	0,088	0,08	0,04	0,06	0,04	0,08	0,08	0,07	0,07	0,09	0,06	0,06	0,03	0,02	0,00
Keseluruhan	0,8	0,088	0,09	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,06	0,07	0,06	0,06	0,05	0,01	0,02	0,00
Total	9,1	1	0,08	0,32	0,44	0,21	0,34	0,35	0,32	0,42	0,55	0,39	0,46	0,54	0,54	0,54

Original Data

Parameter	Data Terjelek	Data Terbaik	Perlakuan											
			A1B1	A1B2	A1B3	A2B1	A2B2	A2B3	A3B1	A3B2	A3B3	A4B1	A4B2	A4B3
Total Asam	0,47	0,74	0,47	0,51	0,55	0,53	0,57	0,54	0,60	0,56	0,72	0,68	0,63	0,74
pH	5,05	4,84	5,05	4,95	4,91	5,03	4,96	4,96	5,01	4,96	4,87	4,94	4,90	4,84
Gula Reduksi	9,82	7,06	9,68	8,20	7,06	9,53	9,82	8,96	8,92	7,86	7,62	7,80	7,38	7,68
Kadar Protein	1,49	2,12	1,49	1,77	2,01	1,63	1,98	1,89	1,90	2,07	2,12	2,01	2,07	1,90
Total Mikroba	9,79E+06	2,96E+07	9,79E+06	1,90E+07	1,94E+07	1,73E+07	2,08E+07	2,26E+07	1,83E+07	2,28E+07	2,69E+07	2,36E+07	2,31E+07	2,96E+07
Derajat Keputihan	56,82	63,15	61,49	62,22	61,83	63,06	63,15	62,92	62,73	62,24	60,40	56,82	59,81	60,37
Warna	1,54	2,09	2,03	2,00	2,02	2,07	2,02	2,09	1,95	1,85	1,81	1,61	1,77	1,54
Aroma	1,68	1,96	1,95	1,86	1,85	1,96	1,92	1,85	1,89	1,94	1,83	1,71	1,76	1,68
Keasaman	1,65	1,95	1,91	1,78	1,85	1,80	1,93	1,88	1,95	1,85	1,84	1,77	1,71	1,65
Keseluruhan	1,64	2,01	2,01	1,92	1,93	1,94	1,94	1,92	1,91	1,90	1,86	1,70	1,73	1,64

Perhitungan :

Bobot normal = Bobot Variabel : Total bobot variabel

Nilai Hasil Pengamatan = ((Data Perlakuan - Data Terjelek) : (Data Terbaik - Data Terjelek)) x Bobot Normal