



**SKRIPSI**

**PENGARUH GELOMBANG AUDIOSONIK  
TERHADAP KANDUNGAN NUTRISI  
YOGURT DENGAN PENAMBAHAN BAKTERI  
*Zymomonas mobilis***

**DHITA HERNI FEBRIYANTI  
NRP. 0121154000018**

**Dosen Pembimbing 1  
Zjahra Vianita Nugraheni, S.Si, M.Si.**

**Dosen Pembimbing 2  
Herdayanto Sulistyو Putro, S.Si., M.Si.**

**DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS SAINS  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2019**



**SCRIPT**

**THE EFFECT OF AUDIOSONIC WAVES ON  
THE NUTRIENT CONTENT OF YOGURT  
WITH THE ADDITION OF *Zymomonas mobilis***

**DHITA HERNI FEBRIYANTI  
NRP. 0121154000018**

**Advisor I  
Zjahra Vianita Nugraheni, S.Si, M.Si.**

**Advisor II  
Herdayanto Sulistyو Putro, S.Si., M.Si.**

**DEPARTMENT OF CHEMISTRY  
FACULTY OF SCIENCE  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2019**

**PENGARUH GELOMBANG AUDIOSONIK  
TERHADAP KANDUNGAN NUTRISI  
YOGURT DENGAN PENAMBAHAN BAKTERI  
*Zymomonas mobilis***

**SKRIPSI**

Disusun Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh  
Gelar Sarjana Program Studi S-1  
Departemen Kimia  
Fakultas Sains  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya

Disusun Oleh:

**DHITA HERNI FEBRIYANTI**  
**NRP 0121154000018**

**DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS SAINS  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH GELOMBANG AUDIOSONIK  
TERHADAP KANDUNGAN NUTRISI YOGURT  
DENGAN PENAMBAHAN BAKTERI  
*Zymomonas mobilis*

SKRIPSI

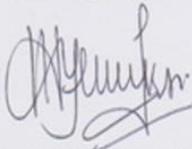
Disusun oleh:

DHITA HERNI FEBRIYANTI  
NRP 01211540000018

Surabaya, 24 Mei 2019

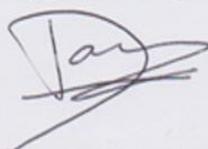
Menyetujui,

Dosen Pembimbing I



Zjhra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si.  
NIP. 19900901 201504 2 001

Dosen Pembimbing II



Herdavanto S. Putro, S.Si., M.Si.  
NIP. 19810125 200812 1 001

Mengetahui,

Kepala Departemen Kimia



Prof. Dr. Didik Prasetyoko, S.Si., M.Sc.  
NIP. 19710616 199703 1 002

**PENGARUH GELOMBANG AUDIOSONIK  
TERHADAP KANDUNGAN NUTRISI  
YOGURT DENGAN PENAMBAHAN BAKTERI  
*Zymomonas mobilis***

**Nama** : Dhita Herni Febriyanti  
**NRP** : 0121154000018  
**Departemen** : Kimia ITS  
**Dosen Pembimbing I** : Zjakra Vianita Nugraheni,  
S.Si., M.Si.  
**Dosen Pembimbing II** : Herdayanto Sulistyopo Putro,  
S.Si., M.Si.

**Abstrak**

Dalam penelitian ini dilakukan pembuatan yogurt dengan penambahan bakteri *Zymomonas mobilis* dan gelombang audiosonik pada frekuensi 2000 dan 8000 Hz. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pH dan kandungan nutrisi pada yogurt yang ditambahkan dengan bakteri *Z. mobilis* yang diberi paparan gelombang audiosonik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan frekuensi yang berbeda dapat mempengaruhi kandungan nutrisi dan keasaman pada yogurt. Pada yogurt dengan penambahan bakteri dan gelombang audiosonik dengan frekuensi 2000 Hz didapatkan nilai pH 3, kadar glukosa sebesar 0,264%, kadar protein sebesar 0,331%, dan kadar lemak sebesar 16,607%, sedangkan yogurt pada frekuensi 8000 Hz didapatkan pH sebesar 2,8, kadar glukosa sebesar 0,249%, kadar protein sebesar 0,299%, dan kadar lemak sebesar 9,323%. Pada penelitian ini tidak didapatkan kondisi optimal untuk menghasilkan produk yogurt yang sesuai SNI karena setiap perlakuan menghasilkan variasi nutrisi yang berbeda.

**Kata kunci:** *Yogurt, Zymomonas mobilis, gelombang audiosonik, frekuensi, uji glukosa, uji protein, uji lemak*

# **THE EFFECT OF AUDIOSONIC WAVES ON THE NUTRIENT CONTENT OF YOGURT WITH THE ADDITION OF *Zymomonas mobilis***

**Name** : Dhita Herni Febriyanti  
**NRP** : 01211540000018  
**Departemen** : Kimia ITS  
**Advisor I** : Zjahra Vianita Nugraheni, S.Si.,  
M.Si.  
**Advisor II** : Herdayanto Sulistyo Putro, S.Si.,  
M.Si.

## **Abstract**

In this study, yogurt was made by adding *Zymomonas mobilis* bacteria and audiosonic waves with a frequency at 2000 Hz and 8000 Hz. This study aims to determine the pH and nutritional value of yogurt during the treatment. The results showed that different frequencies can affect the nutritional value and acidity of yogurt. Yogurt which is at frequency of 2000 Hz has pH value of 3 , glucose content of 0,264%, protein content of 0,331%, and fat content of 16,607%. Whereas yogurt at a frequency of 8000 Hz obtained pH of 2,8, glucose content of 0,249%, protein content of 0,299%, and a fat content of 9,323%. In this study, the optimal conditions for producing yogurt were not obtained according to SN because each treatment produced a different variation of nutrition.

**Keywords:** *Yogurt, Zymomonas mobilis bacteria, audiosonic waves, frequency, glucose test, protein test, fat test*

## KATA PENGANTAR

*Alhamdulillahirobbil'alamin.* Puji syukur penulis sampaikan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat rahmat berlimpah dari-Nya naskah skripsi yang berjudul **“PENGARUH GELOMBANG AUDIOSONIK TERHADAP KANDUNGAN NUTRISI YOGURT DENGAN PENAMBAHAN BAKTERI *Zymomonas mobilis*”**dapat terselesaikan. Ucapan terimakasih tak lupa penulis sampaikan kepada:

1. Dana Lokal ITS, yang telah membantu membiayai penelitian.
2. Ibu Zjhra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing pertama yang dengan penuh kesabaran memberikan bimbingan dan ilmunya kepada penulis dari awal proses penelitian, hingga proses penyusunan naskah skripsi.
3. Bapak Herdayanto S. Putro, S.Si, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Kedua yang telah membimbing dan memberikan arahan dalam proses penyusunan skripsi.
4. Bapak Refdinal Nawfa, S.Si., M.Si., selaku Kepala Laboratorium Kimia Mikroorganisme, yang telah memberikan izin penggunaan laboratorium.
5. Ibu Dr. Fahimah Martak, M.Si., selaku Dosen Wali yang telah membimbingdalam hal akademik maupun non akademik selama penulis menempuh studi di Departemen Kimia FIA ITS.
6. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, M.Sc., selaku Ketua Departemen Kimia ITS atas fasilitas yang diberikan selama proses penelitian.
7. Dosen dan Staf Departemen Kimia FIA ITS.

8. Bapak dan Ibu yang tidak pernah berhenti memberi doa dan semangat serta membimbing saya hingga saya sampai pada tahap ini.
9. Rizaldy Nizzah Kurniawan yang selalu mendukung dan memotivasi saya.
10. Mbak Mere, Mbak Wahyuning, Mas Bimo, Mbak Rara yang telah membantu dan mengarahkan.
11. Risca, Aqila, Annisa, Nadya yang telah menemani dan memberi semangat serta Naufal, Aziza, dan Tsabita partner tugas akhir yang membantu dalam proses pengerjaan TA.
12. Teman-teman Laboratorium Kimia Mikroorganisme yang membantu dan memberikan semangat dalam pengerjaan skripsi.
13. Semua pihak yang telah membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini yang tidak mungkin saya sebutkan seluruhnya.

Semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis, pembaca, maupun mahasiswa-mahasiswa yang ingin melanjutkan penelitian lebih lanjut.

Surabaya, 24 Mei 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

|  |      |
|--|------|
| ABSTRAK .....  | v    |
| ABSTRACT .....   | vi   |
| KATA PENGANTAR.....  | vii  |
| DAFTAR ISI .....   | ix   |
| DAFTAR GAMBAR .....  | xi   |
| DAFTAR TABEL .....   | xiii |
| BAB I PENDAHULUAN .....  | 1    |
| 1.1 Latar Belakang .....                                       | 1    |
| 1.2 Rumusan Permasalahan .....                                 | 4    |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....                                    | 4    |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....                                   | 4    |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....                                   | 7    |
| 2.1 Yogurt .....   | 7    |
| 2.2 Fermentasi.....  | 8    |
| 2.3 Mikroba Probiotik.....                                     | 10   |
| 2.4 Bakteri Asam Laktat (BAL).....                             | 11   |
| 2.5 Bakteri <i>Zymomonas mobilis</i> .....                     | 13   |
| 2.6 Gelombang Bunyi .....                                      | 14   |
| 2.7 Fermentasi Yogurt .....                                    | 16   |
| 2.8 Karbohidrat .....  | 17   |
| 2.9 Uji Protein Metode Bradford .....                          | 21   |
| 2.10 Lemak .....   | 22   |
| 2.11 Spektrofotometri <i>Ultraviolet-Visible</i> (UV-Vis)..... | 23   |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....                             | 27   |
| 3.1 Alat.....  | 27   |
| 3.2 Bahan .....  | 27   |
| 3.3 Prosedur .....   | 27   |
| 3.3.1 Regenerasi Bakteri <i>Zymomonas mobilis</i> .....        | 27   |
| 3.3.2 Pembuatan Yogurt .....                                   | 27   |
| 3.3.3 Persiapan Kultur Starter Bakteri.....                    | 28   |
| 3.3.4 Penambahan Mikroba Probiotik Pada<br>Yogurt.....         | 28   |
| 3.3.5 Pengukuran pH .....                                      | 29   |
| 3.3.6 Pengukuran Kadar Glukosa .....                           | 29   |

|                 |   |    |
|-----------------|---|----|
| 3.3.7           | Pengukuran Kadar Protein .....                                  | 30 |
| 3.3.8           | Pengukuran Kadar Lemak .....                                    | 31 |
| BAB IV          | HASIL DAN PEMBAHASAN .....                                      | 33 |
| 4.1.            | Regenerasi Bakteri <i>Zymomonas mobilis</i> .....               | 33 |
| 4.2             | Pembuatan Yogurt.....   | 34 |
| 4.3             | Pembuatan Kultur Starter Bakteri <i>Zymomonas mobilis</i> ..... | 35 |
| 4.4             | Penambahan Bakteri <i>Zymomonas mobilis</i> pada Yogurt.....    | 35 |
| 4.5             | Analisis Yogurt.....  | 38 |
| 4.5.1           | Pengukuran pH.....  | 38 |
| 4.5.2           | Pengukuran Kadar Glukosa.....                                   | 40 |
| 4.5.3           | Pengukuran Kadar Protein .....                                  | 44 |
| 4.5.4           | Pengukuran Kadar Lemak .....                                    | 48 |
| BAB V           | KESIMPULAN DAN SARAN.....                                       | 53 |
| 5.1             | Kesimpulan.....   | 53 |
| 5.2             | Saran .....   | 53 |
| DAFTAR PUSTAKA  | .....   | 55 |
| LAMPIRAN.....   | .....   | 63 |
| BIODATA PENULIS | .....   | 75 |

## DAFTAR GAMBAR

|                     |   |    |
|---------------------|---|----|
| <b>Gambar 2. 1</b>  | Bakteri <i>Zymomonas mobilis</i> .....  | 13 |
| <b>Gambar 2. 2</b>  | Struktur Glukosa .....  | 18 |
| <b>Gambar 2. 3</b>  | Struktur Fruktosa.....  | 18 |
| <b>Gambar 2. 4</b>  | Struktur Galaktosa.....   | 19 |
| <b>Gambar 2. 5</b>  | Struktur Laktosa.....   | 20 |
| <b>Gambar 2. 6</b>  | Ikatan Peptida Pada Protein .....   | 21 |
| <b>Gambar 2. 7</b>  | Struktur Lemak (Trigliserida) .....   | 23 |
| <b>Gambar 2. 8</b>  | Skema Spektrofotometer UV-Vis .....   | 24 |
| <b>Gambar 3.</b>    | Rancangan alat yang digunakan dalam proses pembuatan yogurt dengan gelombang audiosonik.....      | 28 |
| <b>Gambar 4. 1</b>  | Foto Bakteri <i>Z. mobilis</i> Hasil Regenerasi   | 33 |
| <b>Gambar 4. 2</b>  | Hasil Pembuatan Yogurt .....  | 34 |
| <b>Gambar 4. 3</b>  | Kultur Starter Bakteri <i>Z. mobilis</i> .....  | 35 |
| <b>Gambar 4. 4</b>  | Alat pemapar gelombang, (a) Arduino uno dan (b) rangkaian alat audiosonik di dalam inkubator..... | 36 |
| <b>Gambar 4. 5</b>  | Yogurt (a) dan (b) Yogurt + <i>Z. mobilis</i> tanpa paparan gelombang audiosonik .....            | 37 |
| <b>Gambar 4. 6</b>  | Yogurt (a) dan (b) Yogurt + <i>Z. mobilis</i> dengan paparan gelombang audiosonik 2000 Hz .....   | 37 |
| <b>Gambar 4. 7</b>  | Yogurt (a) dan (b) Yogurt + <i>Z. mobilis</i> dengan paparan gelombang audiosonik 8000 Hz .....   | 37 |
| <b>Gambar 4. 8</b>  | Grafik Hubungan Nilai pH yogurt sebelum dan sesudah inkubasi 24 jam terhadap frekuensi suara..... | 38 |
| <b>Gambar 4. 9</b>  | Kurva Standar Glukosa .....   | 40 |
| <b>Gambar 4. 10</b> | Mekanisme Reaksi Uji Glukosa Metode Fenol-Sulfat.....   | 41 |
| <b>Gambar 4. 11</b> | Grafik Hubungan Kadar Glukosa dengan Frekuensi .....  | 44 |

|                     |   |
|---------------------|---|
| <b>Gambar 4. 12</b> | Kurva Standar <i>Bovine Serum Albumine</i> .45            |
| <b>Gambar 4. 13</b> | Grafik Hubungan Kadar Protein dengan<br>Frekuensi .....48 |
| <b>Gambar 4. 14</b> | Grafik Hubungan Kadar Lemak dengan<br>Frekuensi.....50    |

## DAFTAR TABEL

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabel 2. 1</b> Syarat Mutu Yogurt .....                   | 8  |
| <b>Tabel 4. 1</b> Data Pengukuran Kadar Glukosa Yogurt.....  | 42 |
| <b>Tabel 4. 2</b> Data Pengukuran Kadar Protein Yogurt ..... | 46 |
| <b>Tabel 4. 3</b> Data Pengukuran Kadar Lemak Yogurt.....    | 49 |

# BISMILLAHIRRAHMANIRRAHIM

*Skripsi ini kusembahkan untuk  
Keluargaku, ibu dan bapak  
Dosen yang telah membimbingku  
Rizaldy Nizzah Kurniawan  
Sahabat-sahabatku yang selalu setia  
Teman-teman Laboratorium Kimia Mikroorganisme*

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Susu merupakan sumber protein hewani yang memiliki peran penting dalam kesehatan manusia karena memiliki nilai gizi yang sempurna dan mengandung berbagai macam zat yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan manusia yaitu protein, lemak, karbohidrat, vitamin, mineral, dan kandungan asam aminonya yang lengkap (Ardiyastuti, 2001). Produk-produk olahan susu telah diketahui memegang peranan penting sebagai sumber makanan manusia di berbagai negara. Produk-produk olahan susu dapat dijadikan makanan tambahan walaupun susu atau olahannya hanya menyumbang sekitar 10% konsumsi total protein (Ginting dan Pasaribu, 2005). Peningkatan nilai gizi dan daya cerna pada olahan susu dapat menguntungkan kesehatan bagi konsumen. Salah satu cara pengolahan susu adalah dengan cara fermentasi menjadi produk yang dinamakan yogurt. Menurut Susilorini dkk. (2008), yogurt merupakan produk olahan susu yang telah dipasteurisasi dari hasil fermentasi Bakteri Asam Laktat (BAL) sebagai starter, yaitu *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Lactobacillus bulgaricus* pada suhu 37 – 45°C. Yogurt dapat memberi nilai tambah terutama untuk meningkatkan daya cerna susu, membentuk ekologi dalam sistem pencernaan, serta mempunyai tekstur dan rasa yang khas (Sunarlim dkk., 2007).

Saat ini, industri yogurt berkembang cukup pesat dan semakin banyak dijumpai berbagai varian yogurt. Varian yogurt yang berkembang saat ini antara lain adalah yogurt dengan tambahan bakteri probiotik. Bakteri probiotik yaitu bakteri hidup yang dimasukkan ke dalam tubuh secara oral dan dapat bertahan hidup sampai usus manusia. Menurut Rahayu (2009), yogurt dengan penambahan variasi bakteri probiotik menyumbang pasar terbesar di Indonesia yaitu sekitar 36,6% dari seluruh produk fermentasi susu. Peranan probiotik adalah menjaga kesehatan saluran pencernaan dengan menjaga keseimbangan mikroflora usus (Jannah dkk., 2012). Menurut Wu dkk. (2017), penambahan

bakteri *Lactobacillus plantarium* dapat meningkatkan kandungan nutrisi dan tekstur dari yogurt, namun kehadiran *L. plantarium* secara signifikan mengganggu pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri yogurt. Nutrisi yang dianalisis adalah asam folat dimana senyawa ini merupakan salah satu jenis vitamin B yang dapat larut dalam air. Pemilihan mikroba probiotik ditentukan dengan faktor kemampuannya dalam memproduksi senyawa sekunder selama proses kultivasi. Dalam penelitian ini, akan dilakukan fermentasi yogurt dengan penambahan bakteri *Zymomonas mobilis*. *Z. mobilis* diperoleh dari hasil fermentasi ekstrak tanaman tropis dan sebagai salah satu agen fermentasi untuk pembuatan alkohol. *Z. mobilis* biasanya digunakan pada proses produksi bioetanol (Yanase, 2014). Penambahan bakteri *Z. mobilis* ke dalam yogurt sebelumnya telah dilakukan oleh Krisdianto (2019), dimana diperoleh komposisi nutrisi yogurt yang mengalami peningkatan. Nutrisi yogurt yang dianalisis adalah glukosa, protein, dan lemak. Dalam penelitian ini dilakukan pembuatan yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* yang dalam fermentasinya dimodifikasi dengan paparan gelombang suara.

Gelombang suara merupakan gelombang yang dihasilkan dari sebuah benda yang bergetar pada rentang frekuensi tertentu. Gelombang suara merupakan salah satu hal yang berpengaruh dalam kehidupan sehari-hari baik bagi makhluk hidup (Hamid, 2017). Selain itu, gelombang suara juga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan aktivitas bakteri. Gelombang suara yang sering digunakan dalam penelitian bakteri adalah gelombang ultrasonik. Gelombang ultrasonik biasanya dimanfaatkan untuk membunuh mikroorganisme. Penambahan gelombang ultrasonik dapat mempengaruhi kejernihan air kaldu daging sapi dengan berkurangnya jumlah mikroba di dalamnya (Puspasari dkk., 2014). Gelombang ultrasonik juga dapat menghambat pertumbuhan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada susu sapi (Handayani, 2016). Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, gelombang ultrasonik dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena memiliki intensitas yang tinggi dapat memecah sel bakteri melalui proses kavitasi. Proses kavitasi dapat

menyebabkan bakteri mengalami tegangan mekanik yang besar dan dindingnya akan mengalami peregangan yang besar dan jika batas elastisitasnya terlampaui akan sobek dan bakteri mati (Hudori, 2003). Selain gelombang ultrasonik, gelombang lain yang sering digunakan dalam penelitian pertumbuhan bakteri adalah gelombang audiosonik. Gelombang audiosonik adalah gelombang bunyi yang memiliki frekuensi antara 20 sampai 20.000 Hz dan dapat didengarkan oleh telinga manusia. Menurut Marshal (2011), pajanan gelombang audiosonik pada frekuensi 7 kHz selama 10 detik dapat meningkatkan viabilitas bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 97,4% dan 288% pada pajanan 30 detik. Gelombang audiosonik juga dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan biomassa dan laju pertumbuhan pada bakteri *E. coli*. Gu dkk. (2016) telah melakukan penelitian efek paparan gelombang audiosonik terhadap pertumbuhan *E. coli* dengan frekuensi 250, 500, 1000, 2000, 4000, 8000, 10000, 12000, 14000, dan 16000 Hz. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan yang baik adalah pada frekuensi 2000 dan 8000 Hz. Biomassa dan laju pertumbuhan spesifik maksimum bakteri *E. coli* adalah pada frekuensi 8000 Hz. Saat ini penelitian tentang penambahan gelombang suara dalam makanan belum pernah dilakukan. Oleh karena itu dalam penelitian ini dilakukan penambahan paparan gelombang suara dalam pembuatan yogurt. Gelombang suara yang dipilih dalam penelitian ini adalah gelombang audiosonik. Gelombang audiosonik dipilih karena gelombang ini tidak memiliki efek kavitasi. Efek kavitasi tidak diharapkan dalam pembuatan yogurt, karena prinsip dari pembuatan yogurt adalah fermentasi asam laktat melalui aktifitas bakteri *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, dan *L. acidophilus* dimana mikroorganisme tersebut dalam produk akhir harus hidup aktif dan berlimpah (Budiasuti, 2012). Oleh karena itu dalam penelitian ini dilakukan modifikasi pembuatan yogurt dengan penambahan gelombang audiosonik pada frekuensi 2000 dan 8000 Hz.

## **1.2 Rumusan Permasalahan**

Yogurt merupakan produk olahan susu yang dibuat melalui fermentasi bakteri *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, dan *L. acidophilus*. Saat ini telah banyak dilakukan penambahan bakteri lain ke dalam pembuatan yogurt. Penambahan bakteri lain ke dalam yogurt dapat meningkatkan kandungan nutrisi dan menghambat aktivitas bakteri starter yogurt sehingga proses fermentasi dapat berhenti pada pH standar yogurt. Dalam penelitian ini dilakukan pembuatan yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis*. Bakteri *Z. mobilis* dipilih karena bakteri ini dapat menghasilkan etanol yang dapat memicu *stress* pada sel bakteri lain. Selain penambahan bakteri lain, dalam penelitian ini dilakukan penambahan gelombang audiosonik. Gelombang audiosonik telah banyak dimanfaatkan dalam peningkatan aktivitas dan pertumbuhan bakteri. Gelombang audiosonik dipilih karena gelombang ini tidak memiliki intensitas tinggi yang dapat menimbulkan efek kavitasi, sehingga dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi yogurt yang memerlukan bakteri aktif dalam produk akhir. Berdasarkan uraian diatas, maka dalam penelitian ini dilakukan pembuatan yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* dan dilakukan modifikasi dalam fermentasi yogurt dengan paparan gelombang audiosonik untuk mengetahui perubahan nutrisi dan melihat aktivitas bakteri dalam yogurt. Dalam penelitian ini diharapkan adanya pengaruh aktivitas bakteri yang dapat mempengaruhi kandungan nutrisi (glukosa, protein, dan lemak) dalam yogurt.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai pH, kadar glukosa, kadar protein, kadar lemak, dalam pembuatan yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* yang dimodifikasi dengan paparan gelombang audiosonik.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan data ilmiah tentang efek paparan gelombang audiosonik dan

penambahan bakteri *Z. mobilis* dalam kandungan nutrisi dan aktivitas bakteri pada yogurt.

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Yogurt

Yogurt adalah produk susu yang dihasilkan dari proses fermentasi. Fermentasi gula dalam susu (laktosa) menghasilkan asam laktat yang berperan memberikan karakteristik tekstur dan rasa pada yogurt (Arican dan Andic, 2011). Fermentasi yogurt dilakukan dengan menggunakan bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dan atau bakteri asam laktat lain yang sesuai, dengan atau penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan (BSN, 2009).

Yogurt memiliki manfaat bagi kesehatan tubuh antara lain untuk penderita *lactose intolerant*, melawan pertumbuhan bakteri patogen yang sudah maupun yang baru masuk dan menginfeksi di dalam saluran pencernaan, mereduksi kanker atau tumor di saluran pencernaan, mereduksi jumlah kolesterol dalam darah dan stimulasi sistem syaraf, khusus untuk saluran pencernaan dan stimulasi pembuangan kotoran (Legowo dan Kusrahayu, 2009). Manfaat ini diperoleh karena adanya bakteri probiotik yaitu *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, dan *L. acidophilus* dalam yogurt dan memiliki tingkat keasaman stabil, sehingga bakteri patogen dapat dihambat. Bakteri *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* menguraikan laktosa atau gula susu menjadi asam laktat yang menyebabkan menjadi asam. Proses pengasaman dan penggumpalan protein pada yogurt membuat yogurt mudah dicerna oleh tubuh. Selain itu, keberadaan asam laktat pada yogurt juga membuat penyerapan kalsium di dalam tubuh menjadi lebih baik. Yogurt memiliki komposisi gizi yang mirip dengan susu, bahkan lebih lengkap dan jumlahnya relatif lebih banyak diantaranya mengandung vitamin B kompleks, kalsium, dan protein. Yogurt yang baik mengandung kadar asam 0,5%-2,0% dan mengandung BAL minimal sebanyak 107 CFU/mL (BSN, 2009). Syarat mutu yogurt berdasarkan Standar Nasional Indonesia (BSN) 2981-2009 adalah sebagaimana Tabel 2.1.

**Tabel 2. 1** Syarat Mutu Yogurt

| <b>Kriteria Uji</b>                           | <b>Spesifikasi</b>   | <b>Satuan</b> |
|---|----------------------|---------------|
| Keadaan                                       |                      |               |
| – Penampakan                                  | Cairan kental-       | -             |
| – Bau   | semi padat           | -             |
| – Rasa  | Normal/khas          | -             |
| – Konsentrasi                                 | Asam/khas<br>Homogen | -             |
| Kadar lemak (b/b)                             | Min 3,0              | %             |
| pH  | 4,0-4,4              | -             |
| Total padatan susu bukan lemak                | Min 8,2              | %             |
| Protein                                       | Min 2,7              | %             |
| Kadar abu                                     | Maks 1,0             | %             |
| Keasaman (dihitung sebagai asam laktat) (b/b) | 0,5-2,0              | %             |

Yogurt memiliki bentuk semi solid yang dihasilkan melalui proses fermentasi susu dengan menggunakan bakteri asam laktat melalui perubahan kimiawi yang terjadi selama proses fermentasi. Fermentasi gula susu (laktosa) menghasilkan asam laktat yang berperan dalam protein susu untuk menghasilkan tekstur seperti gel dan bau yang unik pada yogurt. Proses fermentasi dilakukan sampai pH mencapai 4,4-4,5 yang diikuti dengan terbentuknya flavor asam yang khas karena terbentuknya senyawa-senyawa asam laktat, asam asetat, asetaldehid, dan senyawa volatil lainnya. Pada pH rendah (asam), protein susu akan mengental mengalami koagulasi sehingga terbentuk koagulan, yang makin lama makin banyak (Wahyudi dan Samsundari, 2008).

## 2.2 Fermentasi

Fermentasi adalah proses pemecahan senyawa organik (khususnya gula, lemak) oleh mikroorganisme dalam kondisi anaerob menghasilkan produk-produk organik yang lebih sederhana (Abercrombie dkk., 1993). Proses fermentasi dibutuhkan starter sebagai mikroba yang akan ditumbuhkan

dalam substrat. Starter merupakan populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan pada media fermentasi (Prabowo, 2011). Prinsip dasar dari fermentasi adalah mengaktifkan kegiatan mikroba tertentu dengan tujuan mengubah sifat bahan agar dihasilkan suatu yang bermanfaat. Perubahan ini terjadi karena dalam proses fermentasi jumlah mikroba diperbanyak metabolismenya di dalam bahan tersebut dalam batas tertentu (Assegaf, 2009).

Fermentasi makanan dapat dibedakan menjadi dua berdasarkan sumber mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi, yaitu fermentasi spontan dan tidak spontan. Fermentasi spontan adalah fermentasi makanan dimana dalam pembuatannya tidak ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk kultur starter, mikroorganisme tersebut akan berkembang dan aktif mengubah makanan yang difermentasikan menjadi produk yang diinginkan. Pada fermentasi spontan biasanya jumlah dan jenis mikroba yang ikut aktif beraneka-ragam, sehingga menyebabkan mutu hasil akhir berbeda-beda dan tidak menentu (Winarno dkk., 1980). Fermentasi tidak spontan adalah fermentasi yang dilakukan dengan penambahan kultur organisme bersama media penyeleksi sehingga proses fermentasi dapat berlangsung lebih cepat (Rahayu dkk., 1992).

Dalam bioproses, fermentasi memegang peranan penting karena merupakan kunci (proses utama) bagi produksi bahan-bahan yang berbasis biologis. Bahan-bahan yang dihasilkan melalui fermentasi merupakan hasil-hasil metabolit sel mikrobia, misalnya antibiotik, asam-asam organik, aldehyd, alkohol, fassel oil, dan sebagainya. Di samping hasil-hasil metabolit tersebut, fermentasi juga dapat diterapkan untuk menghasilkan biomassa sel mikroba seperti ragi roti (*baker yeast*) yang digunakan dalam pembuatan roti. Tiap-tiap produk fermentasi membutuhkan kondisi fermentasi yang berbeda-beda dan jenis mikroba yang bervariasi juga karakteristiknya. Oleh karena itu, diperlukan keadaan lingkungan, substrat (media), serta perlakuan yang sesuai sehingga produk yang dihasilkan optimal. Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain :

- a. Kondisi lingkungan yang ditentukan untuk pertumbuhan sel dan pembentukan produk.
- b. Suhu  
Suhu fermentasi yogurt adalah 30-45°C. Setelah terbentuk endapan, yogurt harus segera dimasukkan dalam lemari es dengan suhu  $\pm 4^{\circ}\text{C}$ , agar bakteri terhambat perkembangannya.
- c. Tingkat Agitasi  
Tujuan dari agitasi adalah menyediakan  $\text{O}_2$  untuk kebutuhan metabolisme (aerasi) dan untuk membuat campuran tersebut menjadi homogen.
- d. Konsentrasi oksigen terlarut dan faktor-faktor lainnya harus dipertahankan konstan sewaktu fermentasi.
- e. Nutrisi yang diperlukan oleh bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* meliputi karbohidrat (gula) khususnya laktosa, sumber karbon dan sumber nitrogen.
- f. Cemaran mikroba berupa bakteri patogen yang dapat mengganggu atau menghambat proses fermentasi. Oksigen terlarut sangat dibutuhkan dalam fermentasi pembuatan yogurt, karena tanpa oksigen bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* akan mati, sehingga fermentasi tidak berjalan dengan sempurna.

(Winarno dan Rahman, 1974).

### 2.3 Mikroba Probiotik

Probiotik adalah suplemen pangan berupa mikroba hidup non patogenik yang bermanfaat dalam mempengaruhi induk semang melalui perbaikan keseimbangan mikroba dalam usus (Sunaryanto dan Marwoto, 2012). Mikroba probiotik pada umumnya dimasukkan dalam makanan fermentasi yang berbasis susu. Alasan pemilihan produk tersebut adalah bahwa susu yang sudah difermentasi, seperti yogurt telah dikenal sebagai minuman yang menyehatkan.

Menurut Simadibrata (2010), mekanisme probiotik melindungi atau memperbaiki kondisi inangnya (hewan dan

manusia) antara lain dengan menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui beberapa cara antara lain dengan :

- a. Memproduksi substansi-substansi penghambat. Probiotik mampu memproduksi zat-zat penghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif
- b. Menghambat perlekatan bakteri patogen dengan berkompetisi di tempat perlekatan permukaan mukosa saluran cerna diduga juga merupakan salah satu cara probiotik menghambat invasi dan bakteri patogen
- c. Kompetisi nutrisi. Bakteri-bakteri yang menguntungkan (probiotik) akan berkompetisi dengan bakteri patogen dalam hal memperebutkan nutrisi dan saluran cerna.

Bakteri probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan harus non patogenik bila dikonsumsi. Bakteri probiotik harus bertahan hidup di saluran pencernaan, harus bertahan terhadap kerusakan asam lambung, empedu, dan zat pencernaan lainnya. Bakteri probiotik juga harus bermanfaat bagi manusia baik dengan menghasilkan zat antimikroba, mengubah ketahanan kekebalan, memetabolisme bahan makanan yang tidak tercerna atau melindungi dinding usus (Rolfe, 2000).

## **2.4 Bakteri Asam Laktat (BAL)**

Bakteri Asam Laktat atau yang biasa disebut BAL secara fisiologi dikelompokkan sebagai bakteri Gram-positif, berbentuk kokus atau batang yang tidak berspora dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Bakteri asam laktat adalah salah satu kelompok paling penting dari mikroorganisme yang digunakan dalam fermentasi makanan, dan berkontribusi pada rasa dan tekstur produk fermentasi serta menghambat bakteri pembusukan makanan dengan memproduksi zat penghambat pertumbuhan dari sejumlah besar asam laktat. Sebagai agen bakteri asam laktat fermentasi terlibat dalam pembuatan yogurt, keju, mentega, sosis, acar mentimum, dan sauerkraut (kol asam), namun beberapa spesies dapat merusak daging, bir, dan anggur (Todar, 2000).

Dalam pengolahan makanan, BAL dapat melindungi dari pencernaan bakteri patogen, meningkatkan nutrisi, dan berpotensi

memberikan dampak positif bagi kesehatan manusia. Sebagian bakteri asam laktat berpotensi memberikan dampak positif bagi kesehatan dan nutrisi manusia, beberapa diantaranya adalah meningkatkan nilai nutrisi makanan, mengontrol infeksi pada usus, meningkatkan digesti (pencernaan) laktosa, mengendalikan beberapa tipe kanker, dan mengendalikan tingkat serum kolesterol dalam darah. Sebagian keuntungan tersebut merupakan hasil dari pertumbuhan dan aksi bakteri selama pengolahan makanan, sedangkan sebagian lainnya hasil dari pertumbuhan beberapa BAL di dalam saluran usus saat mencerna makanan yang mengandung BAL sendiri (Gilliland, 1990).

Bakteri asam laktat digolongkan menjadi dua golongan yaitu golongan bakteri homofermentatif dan bakteri heterofermentatif (Soeharsono dkk., 2010). Menurut Axelsson dkk. (2004), bakteri asam laktat homofermentatif mengubah keseluruhan glukosa menjadi asam laktat melalui jalur glikolisis sedangkan heterofermentatif memfermentasi glukosa menjadi asam laktat melalui jalur fosfoketolase. Bakteri asam laktat yang tergolong homofermentatif dapat mengubah 95% dari glukosa menjadi asam laktat, CO<sub>2</sub>, dan asam-asam volatil lainnya juga dihasilkan tetapi dalam jumlah yang sangat kecil, sedangkan bakteri asam laktat yang tergolong heterofermentatif mengubah glukosa menjadi asam laktat, etanol, asam asetat, asam format, dan CO<sub>2</sub> dalam jumlah yang hampir sama. Menurut Fardiaz, (1992), bakteri asam laktat homofermentatif digunakan dalam pengawetan makanan karena produksi asam laktat dalam jumlah besar serta mampu menghambat bakteri penyebab kebusukan makanan dan bakteri patogen lainnya. Golongan bakteri asam laktat heterofermentatif lebih berperan dalam pembentukan *flavor* dan aroma seperti senyawa asetaldehid dan diasetil. Bakteri asam laktat menghasilkan antibakteri berupa asam organik, bakteriosin, metabolit primer, hidrogen peroksida, diasetil, karbondioksida, asetaldehid dan menurunkan pH lingkungannya dengan mengekskresikan senyawa yang mampu menghambat bakteri patogen (Usmiati dkk., 2013).

## 2.5 Bakteri *Zymomonas mobilis*

*Zymomonas mobilis* merupakan bakteri Gram-negatif yang dapat ditemukan pada tumbuh-tumbuhan yang kaya gula. *Z. mobilis* merupakan bakteri anaerob fakultatif yang dapat memproduksi etanol. Bakteri ini memiliki beberapa kelebihan diantaranya lebih toleran terhadap suhu, pH rendah, serta tahan terhadap etanol konsentrasi tinggi (Busche dkk., 1992). Koloni bakteri *Z. mobilis* dapat dilihat pada Gambar 2.1.



**Gambar 2. 1** Bakteri *Zymomonas mobilis*  
([www.google.com](http://www.google.com), diakses pada tanggal 13 April 2019)

Bakteri *Z. mobilis* memiliki beberapa karakteristik sebagai berikut :

- Berbentuk batang dengan panjang 2-6  $\mu\text{m}$  dan lebar 1-1,4  $\mu\text{m}$
- Merupakan bakteri Gram-negatif
- Tidak memproduksi spora
- Bersifat anaerobik namun tahan dalam jumlah oksigen yang kecil (anaerobik fakultatif)
- Dapat memfermentasi glukosa dan fruktosa
- Merupakan bakteri oksidase-negatif

(Yanase, 2014).

*Z. mobilis* mampu menghasilkan *yield* etanol sekurang-kurangnya 12% (w/v) dan diatas 97% dari nilai teoritisnya. Ketika dibandingkan dengan yeast, *Z. mobilis* mampu

menghasilkan 5-10 *yield* yang lebih tinggi dan menghasilkan produktivitas lima kali lebih besar. *Yield* tinggi yang dihasilkan oleh bakteri ini dihubungkan dengan reduksi biomassa selama fermentasi, dan dibatasi oleh ketersediaan ATP. Bakteri *Z. mobilis* hanya mampu mengubah glukosa, fruktosa, dan sukrosa menjadi etanol sebagai produk utama dan beberapa produk samping seperti asam asetat, gliserol, sorbitol, dan levan (Gunasekaran dan Raj, 1999). Dalam kondisi anaerob, *Z. mobilis* menghasilkan produk samping seperti aseton, gliserol, asetat, dan laktat yang mengakibatkan berkurangnya produksi etanol dari glukosa. Berikut adalah klasifikasi *Zymomonas mobilis*:

|         |                            |
|---------|----------------------------|
| Kingdom | : Bacteria                 |
| Phylum  | : Proteobacteria           |
| Classis | : Alpha Proteobacteria     |
| Ordo    | : Sphingomonadales         |
| Familia | : Sphingomonadaceae        |
| Genus   | : <i>Zymomonas</i>         |
| Species | : <i>Zymomonas mobilis</i> |

(Garrity dkk., 2005).

## 2.6 Gelombang Bunyi

Gelombang merupakan rambatan energi getaran yang merambat melalui medium atau tanpa melalui medium (Halliday dkk., 2010). Terkait arah getarnya, gelombang dibagi menjadi dua yaitu gelombang transversal dan gelombang longitudinal. Gelombang transversal bergetar dalam arah transversal (tegak lurus) terhadap gerak gelombang itu sendiri, sedangkan pada gelombang longitudinal, gerakan partikel pada medium adalah sepanjang arah yang sama dengan gerak gelombang (Giancoli, 2001).

Gelombang bunyi (akustik) adalah gelombang yang dirambatkan sebagai gelombang mekanik longitudinal yang dapat berjalan dalam medium padat, cair, dan gas. Gelombang bunyi ini merupakan variasi/getaran molekul-molekul zat dan saling beradu satu sama lain namun demikian zat tersebut terkoordinasi menghasilkan gelombang serta mentransmisi energi bahkan tidak pernah terjadi perpindahan partikel. Gelombang bunyi adalah

gelombang longitudinal sehingga mempunyai sifat-sifat dapat dipantulkan (*reflection*), dapat dibiaskan (*refraction*), dapat dilenturkan (*difraction*), dan dapat dibiaskan (*interferention*). Komponen bunyi berupa sumber bunyi, pengantar, frekuensi, kekuatan bunyi, dan timbre.

Bunyi merupakan gelombang mekanik jenis longitudinal yang merambat dan sumbernya berupa benda yang bergetar. Bunyi bisa didengar sebab getaran benda sebagai sumber bunyi menggetarkan udara di sekitar dan melalui medium udara bunyi merambat sampai ke gendang telinga, sebenarnya merupakan tekanan udara secara periodik di sepanjang lintasan perambatannya. Tekanan udara periodik inilah yang menggetarkan selaput gendang telinga. Gelombang audiosonik merupakan salah satu gelombang bunyi yang mudah dibuat dibandingkan dengan gelombang ultrasonik dan gelombang infrasonik. Bunyi yang dapat didengar manusia berada pada kawasan frekuensi pendengaran, yaitu antara 20 Hz sampai dengan 20 kHz (Soedjo, 2004).

Menurut Ruwanto (2007), gelombang bunyi dikelompokkan menjadi tiga yaitu gelombang infrasonik, gelombang audiosonik, dan gelombang ultrasonik.

a. Gelombang Infrasonik

Gelombang infrasonik adalah gelombang bunyi yang frekuensinya kurang dari 20 Hz. Gelombang ini tidak dapat dideteksi oleh telinga manusia, sebagai contoh sumber-sumber gelombang infrasonik yaitu gempa bumi (aktivitas seismik) dan aktivitas gunung berapi (aktivitas vulkanik). Gelombang Infrasonik dapat didengar oleh binatang tertentu, seperti anjing, laba-laba, dan jangkrik.

b. Gelombang Audiosonik

Gelombang audiosonik merupakan gelombang bunyi yang frekuensinya 20 Hz hingga 20.000 Hz. Gelombang audio ini misalnya dihasilkan oleh alat musik, percakapan, tumbukan antar benda, serta semua getaran bunyi yang bunyinya mampu didengar manusia.

### c. Gelombang Ultrasonik

Gelombang ultrasonik merupakan gelombang bunyi dengan frekuensi diatas 20.000 Hz. Gelombang bunyi ini juga tidak mampu terdengar oleh manusia. Beberapa binatang mampu mendeteksi gelombang ultrasonik seperti anjing, tikus, lumba-lumba, dan kelelawar. Gelombang ultrasonik biasanya dimanfaatkan dalam bidang medis dan industri. Di bidang medis, gelombang ini dapat digunakan untuk mencitrakan janin yaitu dengan ultrasonografi (USG) dan juga untuk membersihkan gigi. Di bidang industri, gelombang ini dapat digunakan untuk melakukan uji tak rusak atau *Non Destructive Testing* (NDT).

## 2.7 Fermentasi Yogurt

Fermentasi pada yogurt dapat mengakibatkan turunnya nilai pH pada yogurt dengan rasa asam yang khas. Nilai pH merupakan cerminan jumlah ion  $H^+$  dari asam di dalam yogurt yang diakibatkan oleh pertumbuhan mikroba (Legowo dan Kusrahayu, 2009). Nilai pH yogurt akan semakin turun dengan adanya lama proses fermentasi dan menjadikan yogurt memiliki rasa asam segar yang khas. Tujuan dari pengujian nilai pH adalah untuk mengetahui tingkat keasaman yogurt sehingga dapat diperkirakan tingkat kualitas dan keasaman yogurt.

Menurut Widodo (2003), proses fermentasi yogurt dilakukan sampai diperoleh pH akhir berkisar antara 4,4-4,5 dan diikuti dengan terbentuknya flavor yang khas karena terbentuknya asam laktat, asam asetat, asetaldehid, diasetil, dan senyawa volatil lain sedangkan pH yogurt berdasarkan SNI berkisar antara 0,5-2,0 (BSN, 2009). Proses pembuatan yogurt dimulai dengan pemanasan susu yang kemudian difermentasi pada suhu 90°C selama 15-30 menit, kemudian didinginkan sampai suhu 43°C dan inokulasi kultur campuran sebanyak 2% (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, dan *L. acidophilus*) kemudian diinkubasi pada suhu 43°C selama tiga jam hingga tercapai keasaman dan derajat keasaman yang dikehendaki.

Pada kondisi keasaman yang tinggi atau nilai pH yang rendah menunjukkan bahwa laktosa dalam susu akan berubah menjadi asam laktat (Hadiwiyoto, 1994). Tinggi rendahnya kadar

asam laktat dalam produk dipengaruhi oleh kemampuan starter dalam membentuk asam laktat yang digunakan atau ditentukan oleh jumlah dan starter yang digunakan. Selain itu, komposisi produk fermentasi bergantung pada kondisi susu awal dan metabolisme spesifik dari pertumbuhan kultur mikroorganisme.

## **2.8 Karbohidrat**

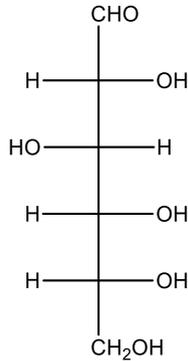
Karbohidrat merupakan senyawa yang terbentuk dari molekul karbon, hidrogen, oksigen. Karbohidrat berasal dari kata hidrat karbon yang berarti senyawa antara karbon dan air sehingga dehidrasi sukrosa ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ) oleh asam sulfat menghasilkan karbon.

Berdasarkan hidrolisisnya, karbohidrat digolongkan menjadi monosakarida, disakarida, dan polisakarida.

### **a. Monosakarida**

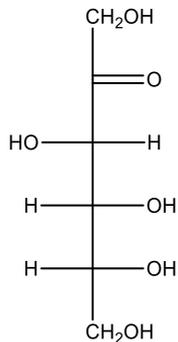
Monosakarida adalah senyawa karbohidrat dalam bentuk gula yang paling sederhana. Monosakarida biasanya tidak berwarna, berupa padatan kristal, larut dalam air, dan sulit larut dalam nonpolar. Contoh dari monosakarida yang banyak terdapat di dalam sel tubuh manusia adalah glukosa, fruktosa, dan galaktosa.

Glukosa merupakan salah satu karbohidrat terpenting yang digunakan sebagai sumber tenaga utama dalam tubuh. Glukosa memiliki rumus molekul  $C_6H_{12}O_6$ . Glukosa juga disebut dekstrosa karena strukturnya sebagian besar berada dalam bentuk D- yakni D-glukosa. Glukosa di dalam industri pangan lebih dikenal sebagai dekstrosa atau juga gula anggur. Di alam, glukosa banyak terkandung di dalam buah-buahan, sayuran, dan juga sirup jagung. Glukosa dapat dioksidasi oleh zat pengoksidasi lembut seperti pereaksi Tollens sehingga sering disebut sebagai gula pereduksi (Budiman, 2009). Struktur dari glukosa dapat dilihat pada Gambar 2.2



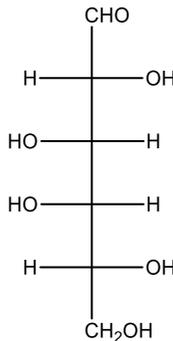
**Gambar 2. 2** Struktur Glukosa

Fruktosa merupakan isomer dari glukosa, keduanya memiliki rumus molekul yang sama ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) tetapi memiliki struktur yang berbeda. Fruktosa merupakan monosakarida yang ditemukan di banyak jenis tumbuhan dan merupakan salah satu dari tiga gula darah penting bersama dengan glukosa dan galaktosa, yang bisa langsung diserap ke aliran darah selama pencernaan. Fruktosa dapat terbentuk dari hidrolisis suatu disakarida yang disebut sukrosa (Budiman, 2009). Struktur dari fruktosa dapat dilihat pada Gambar 2.3



**Gambar 2. 3** Struktur Fruktosa

Galaktosa merupakan suatu aldohexosa. Monosakarida ini jarang terdapat di alam. Galaktosa merupakan karbohidrat hasil proses pencernaan laktosa sehingga tidak terdapat di alam secara bebas. Umumnya berikatan dengan glukosa dalam bentuk laktosa, yaitu gula yang terdapat dalam susu. Galaktosa mempunyai rasa kurang manis jika dibandingkan dengan glukosa dan kurang larut dalam air. Seperti halnya glukosa, galaktosa juga merupakan gula pereduksi (Budiman, 2009). Struktur dari galaktosa dapat dilihat pada Gambar 2.4

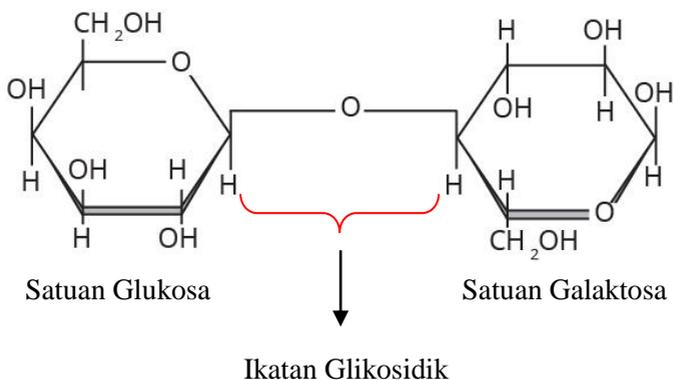


**Gambar 2. 4** Struktur Galaktosa

b. Disakarida

Disakarida adalah karbohidrat yang pada hidrolisis menghasilkan duamolekul monosakarida yang sama atau berlainan (Iswari dan Yuniastuti, 2006). Disakarida merupakan jenis karbohidrat yang banyak dikonsumsi oleh manusia di dalam kehidupan sehari-hari. Contoh disakarida yang umum digunakan dalam konsumsi sehari-hari adalah sukrosa dan laktosa. Sukrosa merupakan gabungan satu molekul glukosa dan laktosa yang di dalam produk pangan merupakan pembentuk hampir 99% dari gula pasir atau gula meja (*table sugar*), sedangkan laktosa terbentuk dari gabungan satu molekul glukosa dan galaktosa. Laktosa merupakan bentuk karbohidrat yang terdapat di dalam air susu. Laktosa memiliki rumus kimia  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ , struktur Laktosa dapat dilihat pada Gambar 2.5. Laktosa atau sering juga disebut

sebagai gula susu adalah bagian dari susu yang memberikan rasa manis dengan tingkat kemanisan lebih rendah dari sukrosa. Laktosa berfungsi untuk membantu penyerapan natrium dan kalsium, serta memberikan efek positif terhadap fisiologis usus termasuk efek probiotik, melunakkan kotoran, dan membantu mengikat air. Laktosa hanya dibuat di sel-sel kelenjar mamma pada masa menyusui melalui reaksi antara glukosa dan galaktosa uridin difosfat dengan bantuan *lactose synthetase*. Kadar laktosa dalam susu sangat bervariasi antara satu mammalia dengan yang lain. ASI mengandung 7% laktosa, sedangkan susu sapi hanya mengandung 4% (Sinuhaji, 2006).



**Gambar 2. 5** Struktur Laktosa

c. Polisakarida

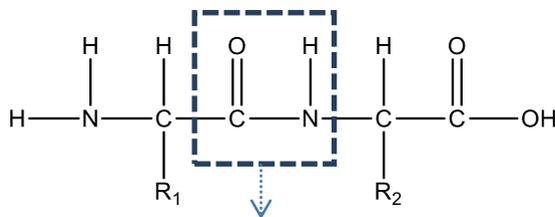
Polisakarida merupakan senyawa yang terdiri dari gabungan molekul-molekul monosakarida yang banyak jumlahnya, senyawa ini bisa dihidrolisis menjadi banyak molekul monosakarida. Polisakarida disebut juga karbohidrat kompleks. Dalam ilmu gizi, jenis karbohidrat kompleks yang menjadi sumber utama bahan makanan yang umum dikonsumsi oleh manusia adalah pati. Beberapa macam polisakarida yaitu pati/amilum dan selulosa. Pati terbentuk lebih dari 500 molekul monosakarida dan merupakan polimer dari glukosa. Pati terdapat dalam umbi-umbian sebagai cadangan makanan pada tumbuhan.

Selulosa merupakan polisakarida yang banyak dijumpai dalam dinding sel pelindung seperti batang, dahan, daun dari tumbuh-tumbuhan. Selulosa merupakan polimer yang berantai panjang dan tidak bercabang (Budiman, 2009).

## 2.9 Uji Protein Metode Bradford

Protein adalah zat makanan berupa asam-asam amino yang berfungsi sebagai pembangun dan pengatur bagi tubuh. Protein mengandung unsur karbon, hidrogen, oksigen, dan nitrogen yang tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat. Molekul protein juga mengandung fosfor, belerang serta beberapa protein memiliki unsur logam seperti besi dan tembaga (Budiman, 2009).

Protein terdiri atas rantai-rantai asam amino (20 jenis asam amino) yang terikat satu sama lain dalam ikatan peptida. Ikatan peptida pada protein dapat dilihat pada Gambar 2.5. Komposisi rata-rata unsur kimia yang terdapat dalam protein adalah karbon 55%, hidrogen 7%, oksigen 23%, nitrogen 16%, sulfur 1%, dan kurang dari 1% fosfor. Unsur nitrogen adalah unsur utama protein, karena terdapat di dalam semua protein akan tetapi tidak terdapat pada karbohidrat dan lemak. Molekul protein lebih kompleks daripada karbohidrat dan lemak dalam hal berat molekul dan keanekaragaman unit-unit asam amino yang membentuknya.



Ikatan Peptida

**Gambar 2. 6** Ikatan Peptida Pada Protein

Salah satu metode pengukuran protein adalah dengan metode Bradford. Uji Bradford adalah suatu uji untuk mengukur

konsentrasi protein total dengan secara kolorimetri dalam suatu larutan. Dalam uji Bradford melibatkan pewarna Coomassie Brilliant Blue (CBB). Dalam suasana asam, protein mengikat pewarna Coomassie, sehingga menghasilkan pergeseran spektral dari bentuk pewarna kemerahan / coklat (absorbansi maksimal 465 nm) ke biru (absorbansi maksimal 610 nm). Perbedaan antara kedua bentuk zat warna paling besar adalah pada 595 nm, merupakan panjang gelombang optimal untuk mengukur warna biru dari kompleks protein pewarna Coomassie. Jika diinginkan, warna biru bisa diukur pada panjang gelombang antara 575 nm dan 615 nm. Pada dua panjang gelombang ekstrem (575 nm dan 615 nm) terdapat kehilangan sekitar 10% dalam jumlah warna yang diukur (absorbansi) dibandingkan dengan yang diperoleh pada 595 nm.

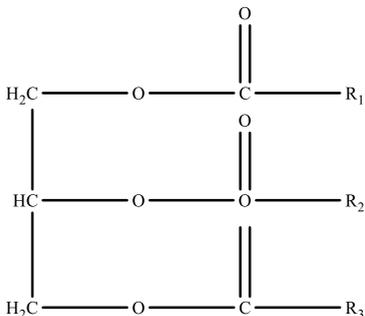
Pengembangan warna dalam tes protein berbasis protein *Coomassie* telah dikaitkan dengan adanya asam amino dasar tertentu (terutama arginin, lisin dan histidin) dalam protein. Jumlah ligan *Coomassie dye* yang terikat pada masing-masing molekul protein kira-kira sebanding dengan jumlah muatan positif yang ditemukan pada protein. Asam amino bebas, peptida, dan protein dengan berat molekul rendah tidak menghasilkan warna dengan reagen pewarna *Coomassie*.

## **2.10 Lemak**

Lipid berasal dari kata Yunani yang berarti lemak. Lipid atau lemak tersusun dari dua jenis molekul yang lebih kecil yaitu gliserol dan asam lemak. Lemak merupakan zat hidrofobik yang sukar larut dalam air tetapi hanya dapat larut sempurna dalam pelarut organik seperti eter, kloroform, aseton, serta pelarut non polar lainnya (Handayani, 2010).

Lipid berasal dari makanan yang dikonsumsi dan disintesis di dalam hati. Kelompok lipid terdiri dari triasilgliserol, fosfolipid, kolesterol, dan asam lemak bebas. Lipid diangkut melalui aliran darah dengan cara berikatan dengan protein membentuk senyawa yang larut dalam air yang disebut lipoprotein (Alexander, 2013). Kandungan lipid terbesar yang

terdapat pada makanan adalah jenis trigliserida (Jim, 2013). Struktur umum lemak dapat dilihat pada Gambar 2.6.



**Gambar 2. 7** Struktur Lemak (Trigliserida)

Penetapan kadar lemak dengan ekstraksi menggunakan pelarut pada bahan merupakan analisa kadar lemak kasar karena tidak hanya lemak saja yang ikut terekstraksi, tetapi juga fosfolipid, asam lemak bebas, karotenoid, dan pigmen larut lemak lainnya. Sebagai zat gizi, lemak atau minyak semakin baik kualitasnya jika banyak mengandung asam lemak tidak jenuh dan sebaliknya. Minyak atau lemak bersifat non polar sehingga tidak larut dalam pelarut polar seperti air dan larutan asam, tetapi larut dalam pelarut organik yang bersifat non polar seperti n-heksana, benzena, kloroform, petroleum eter (Sudarmadji dan Suhardi, 1996).

Pemilihan bahan pelarut yang paling sesuai untuk ekstraksi lemak adalah dengan menentukan derajat polaritasnya. Pada dasarnya semua bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya. Karena polaritas lemak berbeda-beda maka tidak ada bahan pelarut umum (universal) untuk semua jenis lemak.

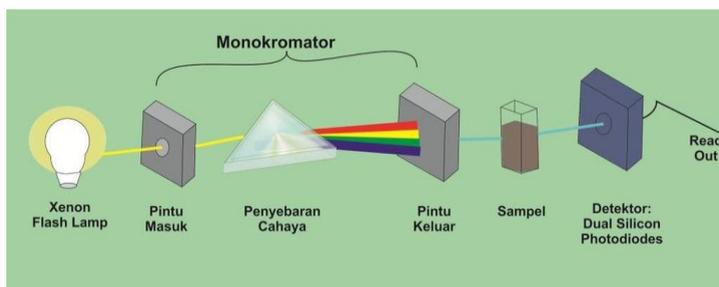
### **2.11 Spektrofotometri *Ultraviolet-Visible* (UV-Vis)**

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu metode pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada panjang gelombang tertentu (Underwood dan Day, 2002). Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (*visible*) mempunyai panjang gelombang

400-750 nm. Pengukuran spektrofotometri menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan kualitatif. Spektrum UV-Vis sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif.

Prinsip kerja spektrofotometer UV-Vis adalah interaksi yang terjadi antara energi yang berupa sinar monokromatis dari sumber sinar dengan materi yang berupa molekul. Besarnya kemampuan molekul-molekul zat terlarut untuk mengabsorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dikenal dengan istilah absorbansi ( $A$ ). Absorbansi setara dengan nilai konsentrasi larutan dan panjang berkas cahaya yang dilalui ke suatu poin dimanapresentase jumlah cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi akan diukur *phototube* (Harmita, 2006).

Data yang diperoleh dengan spektrofotometer UV-Vis biasanya berupa panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ). Panjang gelombang dimana terjadinya eksitasi elektronik yang memberikan absorbansi yang terbesar. Penentuan panjang gelombang maksimum yang pasti (tetap) dapat dipakai untuk identifikasi molekul yang bersifat karakteristik sebagai data sekunder. Dengan demikian spektrum UV-Vis dapat dipakai untuk analisis kuantitatif. Pokok kegunaan analisis spektrofotometri UV-Vis adalah untuk analisis kuantitatif karena melibatkan energi eksitasi yang cukup besar. Secara umum skema kerja spektrofotometer UV-Vis dijelaskan pada Gambar 2.7



**Gambar 2. 8** Skema Spektrofotometer UV-Vis (Wahyudi dkk., 2007).

Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Wahyudi dkk., 2007). Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa absorbansi berbanding lurus dengan tebal medium dan konsentrasi larutan. Secara matematis hukum Lambert-Beer dapat dituliskan dalam persamaan berikut :

$$A = a.b.c \text{ (g/L)} \quad (2.1)$$

$$A = \epsilon . b . c \text{ (mol/L)} \quad (2.2)$$

Dimana :

|   |   |   |
|---|---|---|
| A | = | Absorbansi  |
| a | = | Absorpsivitas (L.g <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )         |
| b | = | Ketebalan Sel (cm)  |
| c | = | Konsentrasi (mol.L <sup>-1</sup> )                          |
| ε | = | Absorpsivitas Molar (L.cm <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup> ) |

(Gandhimathi dkk., 2012).

Hukum Lambert-Beer menjadi dasar aspek kuantitatif spektrofotometer dimana konsentrasi dapat dihitung berdasarkan rumus diatas. Absorpsivitas (a) merupakan konstanta yang tidak tergantung pada konsentrasi, tebal kuvet dan intensitas radiasi yang mengenai larutan sampel. Absorpsivitas tergantung pada suhu, pelarut, struktur molekul, dan panjang gelombang radiasi (Underwood dan Day, 2002). Hukum Lambert-Beer dapat dilihat pada persamaan berikut:

$$A = -\log T = -\log \frac{I_t}{I_0} = \log \frac{100}{T(\%)} \quad (2.3)$$

$$A = \log \frac{1}{T} \quad (2.4)$$

Dimana :

|                |   |  |
|----------------|---|--|
| T              | = | Transmitan   |
| I <sub>0</sub> | = | Intensitas cahaya datang (joule/m <sup>2</sup> s)          |
| I <sub>t</sub> | = | Intensitas cahaya yang diteruskan (joule/m <sup>2</sup> s) |

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, kaca arloji, cawan petri steril, spatula besi, jarum ose, botol semprot, corong, erlenmeyer berpenutup, kuvet kaca, gelas beker 50; 250 mL, pipet ukur 2; 5; 10 mL, tabung reaksi dan rak, labu ukur 25; 50; 100 mL, gelas ukur 25; 50; 100 mL, labu alas bulat, termometer, *hot plate*, mikro pipet, pH-meter, rangkaian alat audiosonik, *autoclave*, inkubator, *laminary flow*, oven, lemari pendingin, *rotary evaporator*, parafilm, aluminium foil, plastik wrap, dan kertas saring. Instrumen yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-Vis Genesys 10S.

#### **3.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit yogurt yang mengandung strain bakteri *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, dan *L. acidophilus*, susu pasteurisasi, strain bakteri *Z. mobilis*, medium *Nutrient Broth* (NB), agar, aquades, alkohol 70%, air mineral, *n*-heksana, *Coomassie Brilliant Blue*, etanol 96%, asam fosfat 85%, *Bovine Serum Albumine*, D-glukosa, fenol, dan asam sulfat pekat.

#### **3.3 Prosedur**

##### **3.3.1 Regenerasi Bakteri *Zymomonas mobilis***

Bakteri *Z. mobilis* diinokulasikan pada cawan petri yang berisi *Nutrient Agar* yang telah disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Bakteri yang telah diinokulasikan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C.

##### **3.3.2 Pembuatan Yogurt**

Pembuatan yogurt dilakukan dengan terlebih dahulu melarutkan 20 g serbuk bibit yogurt dengan 150 mL air mineral kemudian dikocok hingga bibit yogurt terlarut. Starter yogurt kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C hingga starter yogurt mengental. Setelah itu, 50 mL starter yogurt

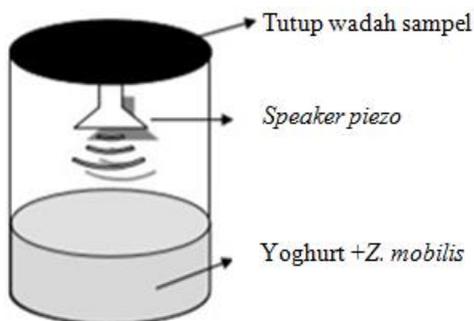
dicampurkan ke dalam 1 L susu pasteurisasi dan diinkubasi selama 12 jam pada suhu 30°C. Untuk setiap 150 mL starter yogurt dapat digunakan untuk 3 liter susu pasteurisasi dan hasil produksi berupa yogurt yang dapat langsung digunakan.

### 3.3.3 Persiapan Kultur Starter Bakteri

Labu erlenmeyer 100 mL disiapkan dan disterilkan kemudian dimasukkan ke dalamnya 10 mL susu sapi yang telah dipasteurisasi pada suhu 85°C dan didiamkan hingga suhu 40°C. Labu erlenmeyer kemudian ditambahkan dengan satu mata ose bakteri *Z. mobilis* lalu dikocok secara perlahan. Kultur starter bakteri *Z. mobilis* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C.

### 3.3.4 Penambahan Mikroba Probiotik Pada Yogurt

Yogurt yang telah dibuat sebanyak 50 mL dimasukkan ke dalam wadah steril yang bagian atasnya terdapat *speaker piezo* untuk yang dengan perlakuan gelombang audiosonik 2000 Hz dan 8000 Hz. Wadah diberi label A<sub>2000</sub>, B<sub>2000</sub>, A<sub>8000</sub>, dan B<sub>8000</sub>. Wadah A sebagai kontrol dan pada wadah B ditambahkan 2,5 mL kultur starter bakteri *Z. mobilis*. Gambar 3.1 merupakan perancangan alat proses pembuatan yogurt dengan perlakuan gelombang audiosonik.



**Gambar 3. 1** Rancangan alat yang digunakan dalam proses pembuatan yogurt dengan gelombang audiosonik.

Yogurt yang telah dibuat diambil sebanyak 50 mL dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL untuk perlakuan tanpa

pengaruh gelombang audiosonik. Erlenmeyer diberi label A dan B, dimana erlenmeyer A sebagai kontrol dan pada erlenmeyer B ditambahkan 2,5 mL kultur starter bakteri *Z. mobilis*. Wadah yang telah dirancang dengan *speaker piezo* dan erlenmeyer yang telah berisi yogurt dan kultur starter bakteri *Z. mobilis* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Pada akhir inkubasi dilakukan pengujian kadar protein, kadar lemak, kadar protein, dan pH.

### 3.3.5 Pengukuran pH

Sebanyak 10 mL yogurt dan yogurt sampel yang telah dibuat dimasukkan ke dalam gelas beker kemudian masing-masing diukur nilai pH menggunakan pH-meter. pH diukur sebelum dan sesudah inkubasi.

### 3.3.6 Pengukuran Kadar Glukosa

Pengukuran kadar glukosa, terlebih dahulu dibuat larutan standar glukosa. Dalam tahap ini, 10 mg glukosa dilarutkan dalam labu ukur 100 mL untuk membuat larutan glukosa standar 100 ppm. Larutan standar glukosa 100 ppm kemudian diencerkan menjadi 10, 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm. Selanjutnya untuk larutan fenol 5% dibuat dengan cara menimbang 5 g fenol kemudian dilarutkan dengan aquades hingga volumenya 100 mL (Islamiyah, 2013). Diambil 1 mL dari masing-masing larutan standar dan ditambahkan 1 mL larutan fenol 5% kemudian dikocok. Setelah itu 5 mL asam sulfat pekat ditambahkan dengan cepat dan tabung reaksi direndam dalam air dan didinginkan selama 10 menit. Selanjutnya larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 485 nm. Diulangi perlakuan yang sama dengan mengganti larutan standar glukosa menjadi yogurt dan yogurt sampel. Kadar glukosa dapat ditentukan dengan terlebih dahulu mencari persamaan garis regresi larutan glukosa standar dari berbagai konsentrasi, dengan persamaan garis regresi seperti pada Persamaan 3.1 :

$$y = a X + b \quad (3.1)$$

dimana, a = slope

b = intersep

X = kadar glukosa

Y = absorbansi dari pengukuran serapan glukosa

Setelah diperoleh nilai X, nilai tersebut kemudian disubstitusikan ke dalam persamaan 3.2.

$$\% \text{ glukosa} = \frac{\text{kadar glukosa (ppm)} \times \text{faktor pengenceran}}{10000} \quad (3.2)$$

### 3.3.7 Pengukuran Kadar Protein

Kadar protein ditentukan dengan menggunakan metode Bradford (Ausubel dkk., 2003). Reagen Bradford dibuat dengan cara mencampurkan 0,01 g *Coomassie Brilliant Blue* dalam 5 mL etanol 96% kemudian ditambahkan dengan 10 mL larutan asam fosfat 85%. Selanjutnya reagen disaring dengan kertas saring *Whatmann* dan disimpan dalam botol gelap dan suhu rendah. Sebelum digunakan reagen Bradford diencerkan sebanyak lima kali.

Sebelum melakukan pengukuran kadar protein sampel, terlebih dahulu dilakukan pengukuran larutan standar protein. Larutan standar yang digunakan adalah BSA (*Bovine Serum Albumine*). Sebanyak 50 mg BSA ditimbang dan dilarutkan dalam 50 mL aquades sebagai larutan stok BSA 1000 ppm. Larutan stok 1000 ppm kemudian diencerkan menjadi 40, 80, 120, 160, 200, dan 240 ppm. Diambil masing-masing 100 $\mu$ L dari larutan standar BSA lalu ditambahkan dengan 2 mL reagen Bradford, kemudian dihomogenkan dan didiamkan pada suhu ruang selama 5 menit. selanjutnya larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 595 nm. Untuk pengukuran yogurt dan yogurt sampel dilakukan prosedur yang sama dengan mengganti larutan standar dengan larutan sampel. Kadar protein dapat ditentukan dengan terlebih dahulu mencari persamaan garis regresi larutan glukosa standar dari berbagai konsentrasi, dengan persamaan garis regresi pada persamaan 3.1. Setelah diperoleh nilai X kemudian disubstitusikan ke dalam rumus :

$$\% \text{ protein} = \frac{\text{kadar protein (ppm)} \times \text{faktor pengenceran}}{10000} \quad (3.2)$$

### 3.3.8 Pengukuran Kadar Lemak

Yogurt dan yogurt sampel dikeringkan dengan oven hingga kering. Selanjutnya sebanyak 3 g sampel dibungkus dengan kertas saring. Selanjutnya, sampel dimaserasi dengan pelarut *n*-heksana sampai seluruh kertas saring terendam selama 2 jam. Larutan hasil maserasi kemudian dipindahkan ke dalam labu alas bulat dan diuapkan menggunakan evaporator pada suhu 68°C kemudian dikeringkan dalam oven dan dilakukan penimbangan hingga diperoleh bobot tetap. Dari hasil penimbangan tersebut persentase lemak dalam yogurt dapat dihitung dengan persamaan 3.4.

$$\% \text{ lemak} = \frac{\text{MLLT} - \text{ML}}{\text{MYK}} \times 100\% \quad (3.4)$$

Keterangan :

MLLT = Massa Labu + Lemak Tertinggal (g)

ML = Massa Labu (g)

MYK = Massa Yogurt Kering (g)

**“Halaman ini sengaja dikosongkan”**

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Regenerasi Bakteri *Zymomonas mobilis*

Mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Z. mobilis* yang merupakan koleksi yang ada di Laboratorium Kimia Mikroorganisme ITS. Bakteri *Z. mobilis* yang akan dipakai harus diregenerasi terlebih dahulu. Regenerasi bertujuan untuk memperbanyak dan meremajakan bakteri. Bakteri *Z. mobilis* diinokulasi menggunakan jarum ose dengan metode goresan kuadran pada cawan petri yang berisi media *Nutrient Agar* (NA) steril. *Nutrient agar* dipilih sebagai media inokulasi karena menyediakan kebutuhan nutrisi dasar bagi *Z. mobilis* untuk tumbuh. Kebutuhan nutrisi dasar tersebut terdiri dari sumber karbon, nitrogen, fosfor, sulfur, dan air serta berbagai nutrisi mineral seperti besi dan magnesium. Dalam hal ini NA merupakan media yang memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri *Z. mobilis* (Amutha dan Gunasekaran, 2001).

Inkubasi bakteri *Z. mobilis* dilakukan pada suhu 30°C dimana pada suhu ini merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan *Z. mobilis* (Hanidah dkk., 2016). Setelah diinkubasi selama 24 jam, diperoleh hasil regenerasi bakteri kulturasi yang membentuk koloni *Z. mobilis*. Koloni *Z. mobilis* berbentuk batang yang terlihat sangat halus dengan jumlah yang cukup banyak dan berkoloni (Gambar 4.1). Hal ini menandakan bakteri hasil kulturasi telah siap untuk diberi perlakuan selanjutnya.



**Gambar 4. 1** Foto Bakteri *Z. mobilis* Hasil Regenerasi

## 4.2 Pembuatan Yogurt

Pada proses pembuatan yogurt diawali dengan melarutkan biakan yogurt yang berbentuk serbuk dimana didalamnya berisi *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, dan *L. acidophilus* ke dalam 150 mL air mineral, kemudian dikocok hingga terlarut sempurna dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Setelah 24 jam inkubasi, diperoleh starter yogurt dengan tekstur yang kental dan berwarna putih.

Susu sapi sebanyak 1 L dipasteurisasi hingga suhu 80°C. Hal ini bertujuan untuk mematikan semua bakteri patogen dalam susu yang dapat mengganggu pertumbuhan BAL dan dapat mengkontaminasi yogurt sebagai produk akhir. Menurut Rahman dkk. (1987), semakin tinggi pemanasan yang diberikan pada susu, pertumbuhan kultur akan semakin baik. Susu pasteurisasi didinginkan hingga mencapai suhu 40-45°C. Menurut Westhoff dan Helferich (1980), pendinginan dilakukan untuk menurunkan suhu susu setelah pemanasan sampai kondisi yang optimum bagi pertumbuhan kultur yogurt. Jika susu terlalu panas, maka kultur yogurt akan mati. Susu pasteurisasi kemudian dicampurkan dengan starter yogurt dan diinkubasi selama 12 jam pada suhu 30°C. Inkubasi bertujuan untuk menumbuhkan biakan bakteri dalam fermentasi asam laktat. Setelah 12 jam inkubasi, diperoleh hasil yogurt berwarna putih dengan tekstur yang mengental atau menggumpal dan memiliki aroma asam yang khas. Gambar yogurt dapat dilihat pada Gambar 4.2.



**Gambar 4. 2** Hasil Pembuatan Yogurt

### 4.3 Pembuatan Kultur Starter Bakteri *Zymomonas mobilis*

Pembuatan kultur starter bakteri bertujuan untuk membantu proses adaptasi bakteri, sehingga ketika proses fermentasi dimulai fase adaptasi dalam media fermentasi menjadi lebih cepat. Proses pembuatan kultur starter bakteri adalah dengan menginokulasikan bakteri *Z. mobilis* yang telah diregenerasi ke dalam media. Media yang digunakan untuk membuat kultur starter bakteri adalah susu sapi pasteurisasi. Kultur starter bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Inkubasi bertujuan untuk memberi kesempatan bagi *Z. mobilis* untuk tumbuh dan suhu 30°C merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan *Z. mobilis* (Hanidah dkk., 2016). Hasil kultur starter bakteri *Z. mobilis* dapat dilihat pada Gambar 4.3. Kultur starter bakteri berwarna putih dan memiliki tekstur yang lebih kental dibanding susu pasteurisasi.

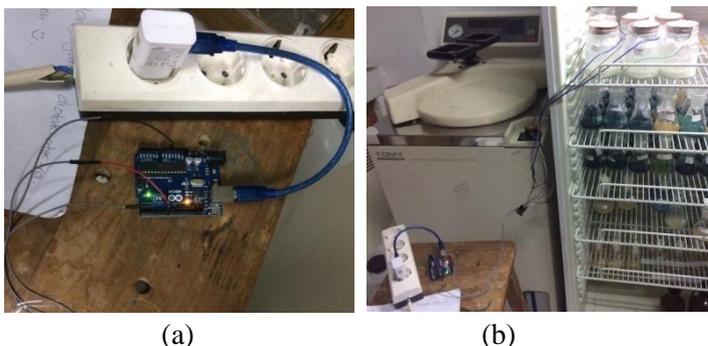


**Gambar 4. 3** Kultur Starter Bakteri *Z. mobilis*

### 4.4 Penambahan Bakteri *Zymomonas mobilis* pada Yogurt

Penambahan bakteri *Z. mobilis* ke dalam yogurt dilakukan inkubasi dengan penambahan gelombang audiosonik dan tanpa penambahan gelombang audiosonik sebagai kontrol. Hal ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas bakteri dalam pembuatan yogurt yang dapat mempengaruhi nutrisi yogurt. Gelombang audiosonik dalam penelitian ini dihasilkan dari *speaker piezo* dengan frekuensi 2000 Hz dan 8000 Hz. *Speaker piezo* dirangkai dalam tutup wadah yang akan digunakan untuk inkubasi yogurt dan kemudian disambungkan dengan arduino uno

yang kemudian di sambungkan ke listrik. Rangkaian alat pemapar gelombang audiosonik dapat dilihat pada Gambar 4.4.



**Gambar 4. 4** Alat pemapar gelombang, (a) Arduino uno dan (b) rangkaian alat audiosonik di dalam inkubator

Kultur starter bakteri *Z. mobilis* sebanyak 2,5 mL ditambahkan ke dalam 50 mL yogurt. Hal ini mengacu pada penelitian Fatmawati dkk. (2013) dimana starter yogurt yang ditambahkan adalah sebanyak 5% (v/v). Yogurt tanpa penambahan *Z. mobilis* (A) dan yogurt dengan penambahan *Z. mobilis* (B) serta yogurt dengan penambahan *Z. mobilis* dan gelombang audiosonik ( $A_{2000}$ ,  $B_{2000}$ ,  $A_{8000}$ , dan  $B_{8000}$ ) selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Setelah inkubasi selama 24 jam, yogurt pada keenam sampel tersebut memiliki tekstur berupa cairan kental berwarna putih, memiliki bau khas yogurt yang normal, dan homogen. Hal ini sesuai dengan baku mutu Badan Standarisasi Nasional (2009) yang menjelaskan bahwa yogurt memiliki tekstur berupa cairan kental-semi padat, memiliki bau khas yogurt/normal, dan homogen. Foto dari yogurt dengan pengaruh paparan gelombang audiosonik dapat dilihat pada Gambar 4.5, Gambar 4.6, dan Gambar 4.7.



(a) (b)

**Gambar 4. 5** (a) Yogurt dan (b) Yogurt + *Z. mobilis* tanpa paparan gelombang audiosonik



(a) (b)

**Gambar 4. 6** (a) Yogurt dan (b)Yogurt + *Z. mobilis* dengan paparan gelombang audiosonik 2000 Hz



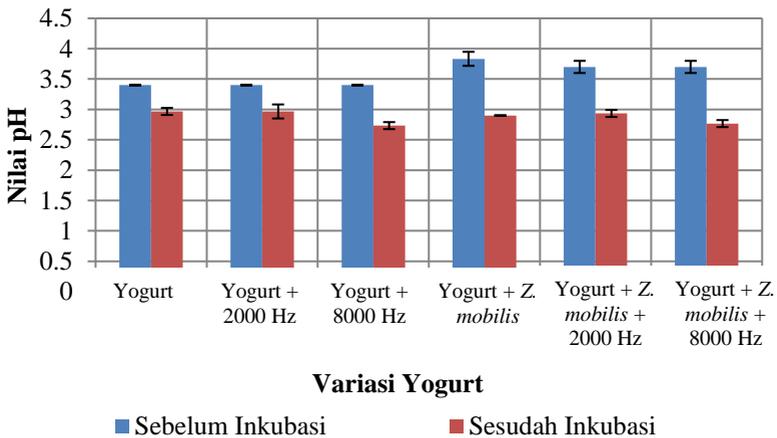
(a) (b)

**Gambar 4. 7** (a) Yogurt dan (b)Yogurt + *Z. mobilis* dengan paparan gelombang audiosonik 8000 Hz

## 4.5 Analisis Yogurt

### 4.5.1 Pengukuran pH

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran derajat keasaman (pH) yogurt dengan menggunakan pH-meter. Pengukuran nilai pH bertujuan untuk mengetahui tingkat keasaman yogurt sehingga dapat diperkirakan tingkat kualitas yogurt. Grafik hasil pengukuran pH yogurt dapat dilihat pada Gambar 4.8. Keasaman yang terlalu tinggi atau nilai pH yang terlalu rendah menunjukkan bahwa telah banyak laktosa yang diubah menjadi asam laktat (Hadiwiyoto, 1994). Tinggi rendahnya kadar asam laktat dalam produk dipengaruhi oleh kemampuan starter dalam membentuk asam laktat yang digunakan atau ditentukan oleh jumlah dan jenis starter yang digunakan.



**Gambar 4. 8** Grafik Hubungan Nilai pH yogurt sebelum dan sesudah inkubasi 24 jam terhadap frekuensi suara.

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.8 dapat diketahui bahwa pH yogurt mengalami perubahan selama proses fermentasi berlangsung. Nilai pH dipengaruhi oleh aktivitas mikroba dan jumlah mikroba. Pada penelitian ini nilai pH yogurt cenderung menurun selama penyimpanan. Hal ini disebabkan oleh

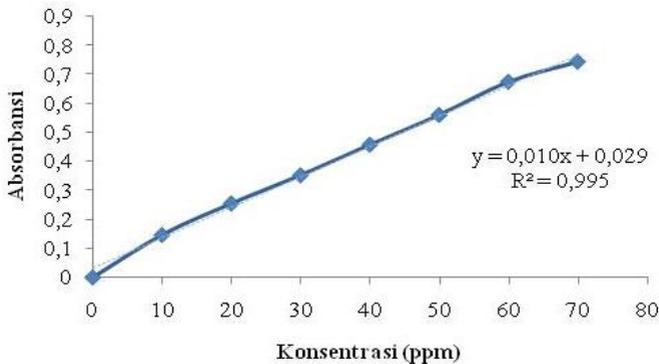
terakumulasinya asam organik hasil fermentasi laktosa menjadi asam oleh bakteri asam laktat. Semakin tinggi kadar asam laktat maka jumlah asam dalam medium akan meningkat dan menurunkan nilai pH begitupun sebaliknya. Meningkatnya kandungan ion  $H^+$  dalam medium fermentasi disebabkan terjadinya dekomposisi asam-asam hasil metabolisme BAL seperti asam laktat, asetaldehid, asam asetat, dan asam-asam lainnya yang menyebabkan keasaman semakin meningkat (Hartoto, 2003).

Setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam, nilai pH dari masing-masing yogurt mengalami penurunan. Pada frekuensi 8000 Hz, terjadi penurunan pH yang signifikan. Hal tersebut dikarenakan pada frekuensi tersebut kemampuan bakteri asam laktat dalam memproduksi asam laktat meningkat, sehingga menyebabkan nilai pH dalam yogurt menurun. Pada yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis*, nilai pH lebih rendah daripada pH pada yogurt tanpa penambahan bakteri. Hal tersebut menunjukkan bahwa adanya penambahan bakteri *Z. mobilis* dapat menurunkan nilai pH pada yogurt karena bakteri *Z. mobilis* dapat menghasilkan etanol selama proses fermentasi. Pembentukan etanol diiringi dengan penurunan pH karena pembentukan asam-asam organik. Asam-asam organik yang terbentuk seperti asam asetat, asam piruvat, dan asam laktat dapat menurunkan nilai pH (Wang dkk., 1979). Pada frekuensi 8000 Hz, pH yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* juga mengalami penurunan, namun penurunannya tidak jauh dari nilai pH pada yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* tanpa paparan frekuensi. Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan frekuensi 8000 Hz dapat menyebabkan bakteri *Z. mobilis* sedikit meningkatkan kemampuannya untuk menghasilkan etanol sehingga nilai pH juga menurun sedikit. Pada frekuensi 2000 Hz, pH yogurt dengan atau tanpa penambahan bakteri cenderung tidak menurun. Perbedaan kemampuan dan aktivitas bakteri dengan paparan frekuensi yang berbeda disebabkan oleh rangsangan suara antara strain yang berbeda dari spesies yang sama, spesies dari genus yang sama, dan genus dari familia yang sama. Paparan frekuensi suara secara intermiten akan menyebabkan penurunan

aktivitas bakteri dan kerusakan minimal pada dinding sel pada bakteri yang lemah, namun pemaparan frekuensi suara tidak menyebabkan jumlah bakteri menjadi 0 atau mati semua. Pada bakteri yang lebih kuat akan beraktivitas lebih cepat dan menyerap lebih banyak energi ketika frekuensi getaran yang diberikan cocok dengan frekuensi alami getarannya (Reguera, 2011). Menurut *Food Standards Australia New Zealand* (FSANZ) (Zealand, 2014), pH yogurt yang baik memiliki nilai  $\pm 4,5$  dan menurut SNI (2009), yogurt memiliki nilai pH 4,0-4,4. Pada penelitian ini pH yogurt tidak memenuhi standar yang ditetapkan oleh *Food Standards Australia New Zealand*, hal tersebut dikarenakan meningkatnya kemampuan bakteri yang tinggi dalam yogurt untuk menghasilkan produk asam.

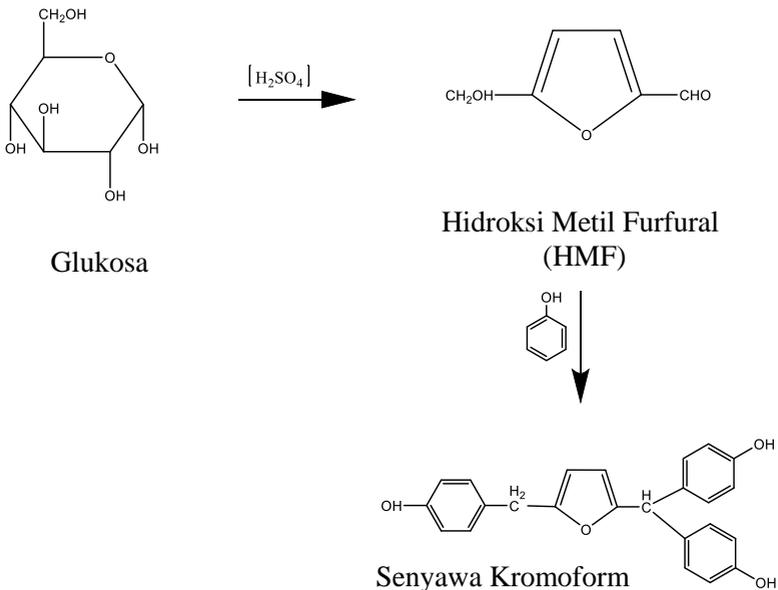
#### 4.5.2 Pengukuran Kadar Glukosa

Glukosa merupakan salah satu tipe monosakarida dengan rumus molekul  $C_6H_{12}O_6$ . Dalam penelitian ini kadar glukosa ditentukan dengan menggunakan metode fenol-asam sulfat atau disebut juga dengan metode gula total (*TS = Total Sugar*) (Muhaimin, 2018). Pengukuran kadar glukosa, terlebih dahulu dilakukan pembuatan larutan standar glukosa dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, dan 70 ppm. Konsentrasi larutan standar dibuat bervariasi agar diperoleh suatu grafik yang memiliki garis linier. Hasil dari pengukuran absorbansi yang diperoleh dari larutan glukosa standar dapat dilihat pada Gambar 4.9.



**Gambar 4. 9** Kurva Standar Glukosa

Setelah diperoleh kurva standar glukosa, perlakuan selanjutnya adalah penentuan kadar glukosa pada sampel yogurt. Penentuan kadar glukosa pada yogurt dilakukan dengan mengambil 1 mL sampel yogurt yang telah diencerkan 40 kali. Pengenceran dilakukan untuk memperoleh larutan yogurt dengan konsentrasi yang kecil sehingga absorbansinya dapat terukur oleh spektrofotometer UV-Vis. Selanjutnya larutan yogurt ditambahkan dengan larutan fenol 5% dan 5 mL asam sulfat pekat. Selanjutnya larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 485 nm. Penambahan fenol dan asam sulfat pekat bertujuan untuk membentuk kompleks warna pada sampel sehingga dapat dideteksi dengan spektrofotometri UV-Vis. Penambahan asam sulfat pekat akan menghasilkan senyawa Hidroksi Metil Furfural (HMF). Berikut ini mekanisme dalam pengujian glukosa dengan metode fenol-sulfat :



(Islamiyah dkk., 2013; Koch dan Pein, 1985).  
**Gambar 4. 10** Mekanisme Reaksi Uji Glukosa Metode Fenol-Sulfat

Dalam penelitian ini menunjukkan adanya kadar glukosa yang berbeda pada masing-masing yogurt. Hasil pengujian kadar glukosa pada yogurt dapat dilihat pada Tabel. 4.1. Dari Tabel 4.1 menunjukkan bahwa yogurt mengalami peningkatan kadar glukosa dari 0,165% menjadi 0,212% pada frekuensi 2000 Hz dan menurun tajam pada frekuensi 8000 Hz dengan kadar glukosa sebesar 0,114%. Kadar glukosa pada yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* mengalami penurunan dari frekuensi 0, 2000 Hz, dan 8000 Hz secara berturut-turut adalah sebesar 0,283%, 0,264%, 0,249% sehingga kadar glukosa yang mengalami penurunan paling banyak adalah pada yogurt dengan frekuensi 8000 Hz dan yogurt dengan penambahan *Z. mobilis* pada frekuensi 8000 Hz.

**Tabel 4. 1** Data Pengukuran Kadar GlukosaYogurt

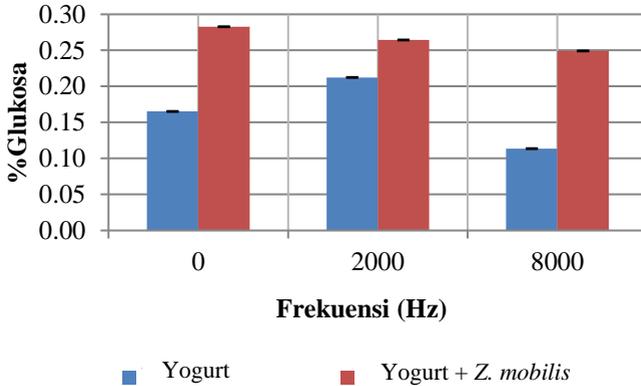
| Variasi Yogurt             | Frekuensi | Absorbansi Rata-rata | Kadar (%) |
|----------------------------|-----------|----------------------|-----------|
| Yogurt                     | 0         | 0,442                | 0,165     |
|                            | 2000      | 0,560                | 0,212     |
|                            | 8000      | 0,313                | 0,114     |
| Yogurt + <i>Z. mobilis</i> | 0         | 0,736                | 0,283     |
|                            | 2000      | 0,690                | 0,264     |
|                            | 8000      | 0,652                | 0,249     |

Kadar glukosa dari yogurt diperoleh dari penguraian laktosa yang terjadi selama proses fermentasi (Legowo dan Kusrahayu, 2009). Menurut Putri (2009), selama proses fermentasi, kadar laktosa akan terus mengalami penurunan dan kadar asam laktat akan mengalami kenaikan. Kadar laktosa terus mengalami penurunan karena dimanfaatkan oleh sel untuk tumbuh dan untuk membentuk asam laktat sehingga laktosa yang

terhidrolisis menjadi glukosa juga sedikit. Hubungan kadar glukosa dengan penambahan frekuensi dapat dilihat pada Gambar 4.11. Berdasarkan Gambar 4.11 dapat dilihat bahwa yogurt pada frekuensi 2000 Hz memiliki kadar glukosa lebih tinggi daripada pada frekuensi 8000 Hz dan tanpa paparan frekuensi. Kenaikan kadar glukosa tersebut dikarenakan glukosa yang dikonsumsi oleh bakteri untuk membentuk asam laktat sedikit, sehingga menyebabkan asam laktat yang terbentuk sedikit, dan kadar glukosa meningkat. Hal tersebut dikarenakan adanya pengaruh tekanan dari suara pada frekuensi 2000 Hz. Kadar glukosa pada frekuensi 8000 Hz memiliki kadar yang paling rendah, hal tersebut dikarenakan pada frekuensi tersebut bakteri banyak mengonsumsi glukosa untuk membentuk asam laktat, sehingga asam laktat yang terbentuk lebih banyak dan kadar glukosa menurun. Paparan suara merupakan stressor bagi bakteri yang dapat mengancam kehidupannya, sehingga bakteri akan berusaha melakukan upaya adaptasi stressor yang dihadapinya, termasuk perubahan metabolisme dan peningkatan pengambilan nutrisi yang ada di lingkungannya. Perbedaan biologis yang signifikan disebabkan oleh rangsangan suara antara strain yang berbeda dari spesies yang sama, spesies dan genus yang sama, dan genera dari keluarga yang sama. Dalam hal ini, perbedaan frekuensi dapat menyebabkan perbedaan respons dari bakteri starter yogurt, dimana pada frekuensi 8000 Hz terjadi respons yang baik pada bakteri.

Pada yogurt yang ditambahkan dengan bakteri *Z. mobilis* memiliki kadar glukosa yang lebih tinggi dibandingkan dengan kadar glukosa pada yogurt. Hal tersebut menunjukkan bahwa glukosa yang dikonsumsi oleh bakteri yogurt hanya sedikit. Bakteri yogurt sedikit mengonsumsi glukosa dikarenakan adanya penambahan bakteri *Z. mobilis* dimana bakteri tersebut dapat memproduksi bakteriosin (protein anti mikroba) yang dapat menghambat pertumbuhan spesies lain pada pH asam (Dompeipen dan Dewa, 2015), sehingga bakteri starter yogurt hanya sedikit mengonsumsi glukosa. Kadar glukosa yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* mengalami penurunan pada frekuensi 2000 dan 8000 Hz. Penurunan paling banyak

adalah pada frekuensi 8000 Hz. Hal tersebut menunjukkan bakteri *Z. mobilis* mengalami tekanan pada frekuensi 8000 Hz, dan pada frekuensi tersebut bakteri starter yogurt aktif dan mulai mengkonsumsi glukosa lebih banyak lagi untuk menghasilkan asam laktat.

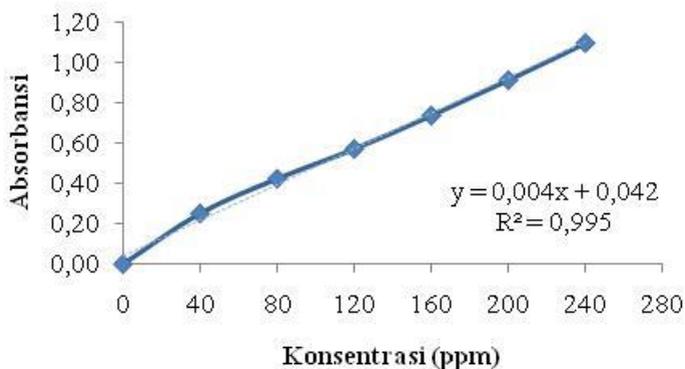


**Gambar 4. 11** Grafik Hubungan Kadar Glukosa dengan Frekuensi

#### 4.5.3 Pengukuran Kadar Protein

Dalam penelitian ini kadar protein dalam yogurt ditentukan dengan metode Bradford. Metode Bradford merupakan suatu uji untuk mengukur konsentrasi protein total dengan secara kolorimetri dalam suatu larutan (Bradford, 1976). Dalam uji Bradford melibatkan pewarna *Coomassie Brilliant Blue (CBB)* yang berikatan dengan protein dalam suatu larutan yang bersifat asam sehingga memberikan warna (kebiruan). Metode Bradford dipilih karena lebih cepat dan akurat, melibatkan langkah-langkah pencampuran yang lebih sedikit, tidak memerlukan pemanasan, dan memberikan respon kolorimetri lebih stabil dibandingkan dengan metode lain (John, 2000). Sebelum menentukan kadar protein sampel terlebih dahulu dilakukan pembuatan larutan standar untuk kurva standar. Larutan standar yang digunakan adalah *Bovine Serum Albumine (BSA)* karena memiliki tingkat kemurnian tinggi dan harganya relatif murah (Rhee, 2001). Hasil

dari pengukuran absorbansi yang diperoleh dari BSA dapat dilihat pada Gambar 4.11.



**Gambar 4. 12** Kurva Standar *Bovine Serum Albumine*

Setelah didapatkan kurva standar BSA, perlakuan selanjutnya adalah penentuan kadar protein pada sampel yogurt. Sampel yogurt diambil 100  $\mu$ L dan dicampurkan dengan 2 mL reagen Bradford. Penambahan reagen Bradford memberikan warna biru pada masing-masing sampel karena komponen bahan yang dimiliki oleh reagen Bradford adalah *Coomassie Brilliant Blue*. Prinsip metode Bradford adalah pengikatan warna *Coomassie Brilliant Blue* oleh protein yang mengandung asam amino dengan rantai samping aromatik (tirosin, triptofan, dan fenilalanin) atau bersifat basa (arginin, histidin, dan leusin). Setelah pengikatan tersebut, protein akan menghasilkan warna biru sehingga nilai absorbansinya bisa diukur dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 595 nm..

Kadar protein dalam yogurt dipengaruhi oleh kandungan protein yang terdapat dalam bahan baku, semakin banyak bahan baku yang mengandung protein maka semakin besar protein yang dihasilkan pada produk yogurt (Ichwansyah, 2014). Hasil pengujian kadar protein pada yogurt dapat dilihat pada Tabel 4.2. Dari Tabel 4.2 diperoleh kadar protein pada yogurt dan yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* tanpa penambahan

frekuensi secara berturut-turut adalah 0,416% dan 0,398%. Pada frekuensi 2000 Hz memiliki kadar 0,266% dan 0,331%, sedangkan pada frekuensi 8000 Hz adalah sebesar 0,311% dan 0,299%.

**Tabel 4. 2** Data Pengukuran Kadar ProteinYogurt

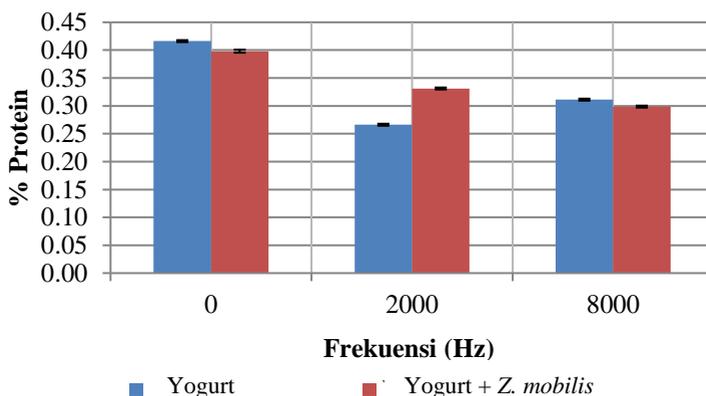
| Variasi Yogurt             | Frekuensi | Absorbansi Rata-rata | Kadar (%) |
|----------------------------|-----------|----------------------|-----------|
| Yogurt                     | 0         | 0,375                | 0,416     |
|                            | 2000      | 0,255                | 0,266     |
|                            | 8000      | 0,291                | 0,311     |
| Yogurt + <i>Z. mobilis</i> | 0         | 0,361                | 0,398     |
|                            | 2000      | 0,307                | 0,331     |
|                            | 8000      | 0,281                | 0,299     |

Berdasarkan Tabel 4.2, dapat diperoleh grafik hubungan kadar protein dengan frekuensi yang ditunjukkan pada Gambar 4.13. Berdasarkan Tabel 4.2 dapat dilihat bahwa kadar protein yogurt kontrol adalah sebesar 0,416%. Rendahnya kadar protein yang terbentuk tersebut kemungkinan disebabkan oleh rendahnya nilai pH pada produk yogurt yang dihasilkan (Gambar 4.8), sebagaimana yang diketahui bahwa nilai pH tersebut juga berada di bawah nilai standar untuk produk yogurt. Nilai pH yang rendah tersebut menunjukkan bahwa adanya keasaman yang tinggi dalam yogurt sehingga dapat merusak protein dalam susu, yaitu kasein. Kasein dalam protein susu memiliki titik isoelektrik pada pH 4,3 hingga 4,6 (Mattila-Sandholm dan Saarela, 2000). Pada keadaan asam, protein akan bermuatan positif sedangkan pada keadaan alkalis akan bermuatan negatif, dan pada pH isoelektrik tersebut molekul protein akan membentuk ion positif dan negatif dengan jumlah yang sama. Pada penelitian ini diketahui bahwa pH yang

diperoleh berada di bawah titik pH isoelektrik kasein, sehingga pada keadaan ini, terjadi denaturasi protein selama proses fermentasi. Menurut Akmar (2006), kandungan asam yang semakin tinggi dapat menurunkan aktivitas enzim protease. Enzim protease merupakan enzim yang mendegradasi protein menjadi senyawa yang lebih sederhana. Meningkatnya aktivitas enzim protease dapat menyebabkan protein menjadi terhidrolisis menjadi komponen protein yang sederhana yaitu peptida dan asam amino yang merupakan protein terlarut (Chairunnissa dkk., 2017). Pada yogurt dengan paparan gelombang audiosonik frekuensi 2000 Hz mengalami kenaikan nilai pH jika dibandingkan dengan kontrol. Menurut Akmar (2006) naiknya nilai pH dapat menyebabkan turunnya aktivitas enzim protease sehingga menyebabkan protein yang terhidrolisis menjadi sedikit dan kadar protein menjadi lebih tinggi (Chairunnissa dkk., 2017). Namun, dalam penelitian ini kadar protein menurun. Penurunan tersebut terjadi karena dimungkinkan adanya gelombang audiosonik yang mempengaruhi aktivitas enzim protease, sehingga aktivitas enzim protease pada bakteri starter yogurt yang seharusnya menurun, dapat meningkat dikarenakan adanya gelombang audiosonik. Pada paparan frekuensi 8000 Hz, pH dan kadar protein pada yogurt mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kontrol. Tetapi jika dibandingkan dengan yoghurt dengan penambahan frekuensi 2000 Hz maka nilai pH mengalami penurunan dan kadar protein mengalami kenaikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa adanya gelombang dengan frekuensi 8000 Hz, aktivitas enzim protease menjadi turun dan kadar protein naik kembali.

Sampel yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* dengan paparan frekuensi 2000 Hz mengalami kenaikan kadar protein, namun tidak mengalami perubahan nilai pH jika dibandingkan dengan yoghurt yang hanya ditambahkan frekuensi sebesar 2000 Hz. Kadar protein meningkat dikarenakan adanya penurunan aktivitas enzim protease. Bakteri *Z. mobilis* merupakan bakteri yang tidak dapat menghasilkan enzim protease, sehingga penurunan aktivitas enzim protease kemungkinan dapat disebabkan karena adanya peningkatan kemampuan *Z. mobilis*

dalam memproduksi etanol dimana etanol dapat menghambat kerja dari enzim protease. Pada frekuensi 8000 Hz yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* kandungan proteinnya menurun, namun pH mengalami kenaikan jika dibandingkan dengan yoghurt yang hanya ditambahkan frekuensi sebesar 8000 Hz. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan bakteri *Z. mobilis* dalam memproduksi etanol berkurang, sehingga dapat mengakibatkan kenaikan aktivitas enzim protease dalam menghidrolisis protein sehingga kadar protein menurun. Menurut SNI (2009), kadar protein minimal yang harus ada pada yogurt adalah sebesar 2,7% sedangkan menurut FSANZ (Zealand, 2014) adalah 3%. Pada penelitian ini, semua sampel yogurt memiliki kadar protein yang lebih rendah dari standar baik SNI ataupun FSANZ.



**Gambar 4. 13** Grafik Hubungan Kadar Protein dengan Frekuensi

#### 4.5.4 Pengukuran Kadar Lemak

Lemak merupakan sumber nutrisi yang sangat penting karena berfungsi sebagai sumber energi, memperbaiki tekstur, dan cita rasa, serta sumber vitamin A, D, E, dan K (Winarno, 2002). Salah satu metode penentuan kadar lemak adalah dengan metode ekstraksi. Dalam penelitian ini ekstraksi lemak dilakukan dengan pelarut *n*-heksana. Sampel yogurt yang sudah dikeringkan

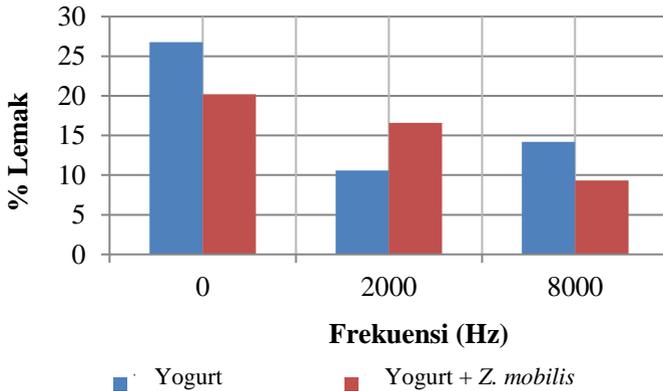
diambil sebanyak 3 g dan dibungkus di dalam kertas saring kemudian dimaserasi dengan pelarut *n*-heksana hingga seluruh kertas saring terendam selama 2 jam. Maserasi bertujuan untuk melarutkan lemak pada bahan karena lemak hanya dapat larut pada pelarut organik non-polar dan larutan *n*-heksana digunakan karena lemak memiliki polaritas yang sama dengan pelarut tersebut. Setelah dilakukan maserasi, pelarut hasil maserasi dipindahkan ke dalam labu alas bulat untuk di evaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 68°C hingga seluruh pelarut terpisah dari lemaknya. Evaporasi dilakukan pada suhu 68°C agar pelarut *n*-heksana dapat teruap tanpa membuat lemak menjadi rusak. Seperti diketahui bahwa *n*-heksana memiliki titik didih 68°C, sedangkan lemak memiliki titik didih sekitar 200°C (Sudarmadji dan Bambang, 2003) sehingga hasil pengujian kadar lemak pada yogurt dapat dilihat pada Tabel 4.3.

**Tabel 4. 3** Data Pengukuran Kadar Lemak Yogurt

| Variasi Yogurt             | Frekuensi (Hz) | Kadar Lemak (%) |
|----------------------------|----------------|-----------------|
| Yogurt                     | -              | 26,797          |
|                            | 2000           | 10,583          |
|                            | 8000           | 14,190          |
| Yogurt + <i>Z. mobilis</i> | -              | 20,203          |
|                            | 2000           | 16,607          |
|                            | 8000           | 9,323           |

Dari Tabel 4.3 diperoleh kadar lemak pada yogurt kontrol dan yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* tanpa penambahan frekuensi secara berturut-turut adalah 26,797% dan 20,203%. Pada frekuensi 2000 Hz kadar lemak yoghurt tanpa dan dengan penambahan bakteri secara berurutan adalah sebesar 10,583% dan 16,607%. Pada frekuensi 8000 Hz kadar lemak yoghurt tanpa dan dengan penambahan bakteri secara berurutan

adalah sebesar 14,190% dan 9,323%. Perbandingan kenaikan dan penurunan kadar lemak dengan penambahan frekuensi dapat dilihat pada Gambar 4.12.



**Gambar 4. 14** Grafik Hubungan Kadar Lemak dengan Frekuensi

Dalam pembuatan yogurt, lemak merupakan penyumbang asam sehingga dapat mempercepat derajat keasaman dalam yogurt. Menurut Sunarlim dkk. (2007), kadar lemak yang terkandung dalam yogurt dipengaruhi oleh kadar lemak dari bahan dasar yang digunakan. Dalam penelitian ini bahan dasar pembuatan yogurt adalah susu pasteurisasi dengan kadar lemak sebesar 33%. Setelah difermentasi, kandungan lemak pada yogurt mengalami penurunan. Penurunan kadar lemak dapat terjadi akibat adanya aktivitas lipolitik oleh mikroorganisme yogurt. Menurut Botazzi (1983), bakteri asam laktat mempunyai aktivitas lipolitik sekunder, artinya aktivitas lipolitik yang dilakukan setelah mikroorganisme lain memecah lemak susu menjadi senyawa sederhana. Aktivitas lipolitik dikendalikan oleh enzim lipase yang dimiliki oleh bakteri asam laktat. Selama proses fermentasi, aktivitas enzim lipase yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat relatif rendah dan hanya terjadi perubahan penurunan kadar lemak yang sedikit (Yuguchi dkk., 1992). Aktivitas enzim lipase mencerminkan banyaknya lemak yang dirombak menjadi asam-asam lemak, baik jenuh maupun tak jenuh (Adriani dkk.,

2008). Menurut Sawitri (2011), semakin meningkatnya perkembangbiakan bakteri asam laktat di dalam produk akan menyebabkan enzim lipase yang dihasilkan juga semakin banyak sehingga banyak lemak yang terhidrolisis dan kadar lemak pada hasil fermentasi akan menurun. Dalam penelitian ini, kadar lemak pada yogurt dengan paparan gelombang audiosonik pada frekuensi 2000 Hz mengalami kenaikan pH jika dibandingkan dengan yoghurt kontrol. Hal ini dimungkinkan karena adanya pengaruh gelombang audiosonik terhadap aktivitas enzim lipase sehingga aktivitas yang seharusnya menurun, dapat meningkat. Peningkatan aktivitas enzim lipase menyebabkan lemak banyak yang terhidrolisis sehingga kadar lemak pada yogurt mengalami penurunan. Pada paparan frekuensi 8000 Hz, pH dan kadar lemak pada yogurt mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kontrol. Penurunan kadar lemak dikarenakan adanya peningkatan bakteri asam laktat yang ditunjukkan dengan turunnya nilai pH, sehingga hal tersebut dapat meningkatkan aktivitas enzim lipase dalam menghidrolisis lemak. Tetapi jika dibandingkan dengan yoghurt dengan penambahan frekuensi 2000 Hz maka nilai pH mengalami penurunan dan kadar lemak mengalami kenaikan. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan frekuensi 8000 Hz dapat mempengaruhi kerja enzim lipase dalam menghidrolisis lemak sehingga kadar protein naik kembali.

Pada yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* dengan paparan frekuensi 2000 Hz mengalami kenaikan kadar lemak, namun tidak mengalami perubahan nilai pH jika dibandingkan dengan yoghurt yang hanya mengalami penambahan frekuensi 2000 Hz. Lemak meningkat dikarenakan adanya penurunan aktivitas enzim lipase. Bakteri *Z. mobilis* merupakan bakteri yang tidak dapat menghasilkan enzim lipase, namun bakteri *Z. mobilis* menghasilkan etanol dimana etanol dapat menonaktifkan enzim-enzim termasuk enzim lipase pada lemak (Susatyo, 2016). Pada frekuensi 8000 Hz, kandungan lemak menurun, namun pH mengalami kenaikan jika dibandingkan dengan yoghurt yang hanya mengalami penambahan frekuensi 8000 Hz. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan bakteri *Z. mobilis* dalam memproduksi etanol

berkurang, sehingga dapat mengakibatkan kenaikan aktivitas enzim lipase dalam menghidrolisis lemak sehingga kadar lemak menurun. Dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan gelombang audiosonik dapat menurunkan kadar lemak, namun enzim lipase yang bekerja lebih baik untuk menghidrolisis lemak adalah pada frekuensi 2000 Hz. Hasil kadar lemak yogurt yang didapat jika dikategorikan menurut SNI adalah yogurt *full-fat*.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Pada penelitian ini telah dilakukan pembuatan yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* serta diberikan paparan gelombang audiosonik pada frekuensi 2000 Hz dan 8000 Hz pada saat fermentasi. Berdasarkan hasil penelitian ini, didapatkan hasil kandungan nutrisi dalam yogurt yang berbeda-beda. Nilai pH yang mendekati standar yogurt adalah pada yogurt dan yogurt dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* pada frekuensi 2000 Hz. Kadar glukosa yang paling rendah adalah pada perlakuan penambahan gelombang audiosonik pada frekuensi 8000 Hz. Kadar protein yang paling mendekati nilai standar yogurt adalah yoghurt kontrol. Untuk variasi penambahan yang lain, kadar protein yang didapatkan sangat kecil. Kadar lemak yang paling rendah atau mendekati nilai standar yogurt adalah pada perlakuan penambahan bakteri *Z. mobilis* dengan paparan gelombang 8000 Hz. Dalam penelitian ini disimpulkan bahwa penambahan bakteri *Z. mobilis* ke dalam pembuatan yogurt dapat menghambat bakteri starter yogurt, sedangkan gelombang audiosonik memberikan pengaruh terhadap bakteri *Z. mobilis* dalam memproduksi etanol dan mempengaruhi bakteri starter yogurt dalam memproduksi enzim-enzim. Pada penelitian ini tidak didapatkan kondisi optimal untuk menghasilkan produk yoghurt yang sesuai SNI, karena setiap perlakuan menghasilkan variasi nutrisi yang berbeda.

#### **5.2 Saran**

Penelitian terhadap yogurt yang difortifikasi dengan penambahan bakteri *Z. mobilis* dan gelombang audiosonik masih belum sempurna. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk biomassa bakteri, uji organoleptik yogurt, dan karakterisasi lebih lanjut terhadap komposisi senyawa-senyawa metabolit sekunder dalam yogurt yang ditambahkan bakteri *Z. mobilis* dan gelombang audiosonik. Selanjutnya perlu juga dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan

dan aktivitas biologi lainnya seperti aktivitas antibiotik, antijamur, antibakteri, dan sebagainya dari yogurt. Setelah diketahui pengujian yogurt, konsumsi yogurt disesuaikan dengan kebutuhan nutrisi yang dibutuhkan oleh konsumen.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abercrombie, M., Hickman, C., Johnson, M., Sutarmi, T.S., Sugiri, N., 1993. Kamus Lengkap Biologi. Penerbit Erlangga.
- Adriani, L., Indrayanti, N., Tanuwiria, U.H., Mayasari, N. 2008. Aktivitas *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* Terhadap Kualitas Yogurt dan Penghambatannya pada *Helicobacter pylori*. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Akmar, A. 2006. Aktivitas Protease dan Kandungan Asam Laktat pada Yoghurt yang Dimodifikasi *Bifidobacterium bifidum* dan Diinokulasi *Pseudomonas fluorescens*. Program Studi Biokimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Alexander, S., 2013. Perbedaan Profil Lipid Pada Pasien Infark Miokard Akut Dan Penyakit Jantung Non Infark Miokard Akut. Jurnal Media Medika.
- Amutha, R., Gunasekaran, P., 2001. Production of Ethanol From Liquefied Cassava Starch Using Co-immobilized Cells of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces diastaticus*. Journal Bioscience Bioengineering. 92, 560–564.
- Ardiyastuti, F., 2001. Kualitas Es Krim Yogurt dengan Penambahan Probiotik *Lactobacillus acidophilus* dan atau *Bifidobacterium longum* (Skripsi). Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Arican, A., Andic, S., 2011. Survival of *E. coli* O157:H7 in Yoghurt Incubated until Two Different pH Value and Stored at 4°C. Kfkas Unive Vet Fak Derg 17.
- Assegaf, F., 2009. Prospek Produksi Bioetanol Bonggol Pisang (*Musa paradisiacal*) Menggunakan Metode Hidrolisis Asam dan Enzimatik. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Aulia, A. 2018. Pengaruh Konsentrasi Tepung Suweg Terhadap Kadar Lemak dan Total Bakteri Asam Laktat Yogurt. Program Studi Ilmu Gizi. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- Ausubel, F., Brent, R., Kingston, R., Moore, D., Seidman, J., Smith, J., Struhl, K., 2003. *Current Protocols in Molecular Biology*, vol. 1 John Wiley & Sons. Inc Brooklyn N. Y. 3, 1994–2005.
- Axelsson, L., 2004. *Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology*. Food Science Technology.-N. Y.-MARCEL DEKKER- 139, 1–66.
- Bottazi, V. 1983. *Other Fermented Dairy Product. In: Biotechnology: Food and Feed Production with Microorganism*. Vol 5. Florida: Verlag Chemie.
- Bradford, M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding. *Analytical Biochemistry*. 72, 248–254.
- Budiastuti. 2012. *Produksi “Yoghurt Graviola” Sebagai Makanan Fungsional Sejalan dengan Pengembangan Potensi Pertanian di Kabupaten Karanganyar*. Fakultas Peternakan Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Budiman, A., 2009. *Protein dan Asam Amino*. Universitas. Sumatra Utara Medan.
- Budiman, Siska, M., 2009. *Karbohidrat*. Modul Kuliah Jurusan Kimia. Universitas Pendidikan Indonesia. Bandung.
- Busche, R.M., Scott, C.D., Davison, B.H., Lynd, L.R., 1992. Ethanol, the Ultimate Feedstock. *Applied Biochem Biotechnol*. 34, 395.
- Chairunnissa, H., Balia, R.L., Pratama, A., Hadiat, D.R. 2017. Karakteristik Kimia Set yoghurt dengan Bahan Baku Susu Tepung dengan Penambahan Jus Bit (*Beta Vulgaris L.*). *Jurnal Ilmu Ternak*. Fakultas Peternakan. Universitas Padjajaran. Sumedang.
- Dolatowski, Z.J., Stadnik, J., Stasiak, D., 2007. Applications of Ultrasound in Food Technology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Aliment*. 6, 88–99.
- Dompeipen, E.J., Dewa, R.P. 2015. Pengaruh Waktu dan pH Fermentasi Dalam Produksi Bioetanol dari Rumput Laut *Euclima Cottoni* Menggunakan Asosiasi Mikroba (*Sacchromyces cerevisiae*, *Aspergillus Niger*, dan

- Zymomonas mobilis*). Majalah BIAM. Balai Riset dan Standarisasi Industri Ambon. Ambon.
- Fardiaz, D.S., 1992. Mikrobiologi Pangan 1. PT Gramedia.
- Fatmawati, U., Prasetyo, F.I., Supia, M.T.A., Utami, A.N., 2013. Karakteristik Yogurt yang Terbuat dari Berbagai Jenis Susu dengan Penambahan Kultur Campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Biologi. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Gandhimathi, R., Vijayaraj, S., Jyothirmaie, M., 2012. Analytical process of Drugs by Ultraviolet (UV) Spectroscopy-A Review. International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis. 2, 72–78.
- Garrity, G., Bell, J., Lilburn, T., 2005. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, volume 2, Part B. Bergeys Man. Syst. Bacteriol. 2, 575.
- Giancoli, D.C., 2001. Fisika edisi kelima jilid 1. Jakarta. Erlangga.
- Gilliland, S.E., 1990. Health and Nutritional Benefits From Lactic Acid Bacteria. Federation of European Microbiological Societies. Review. 7, 175–188.
- Ginting, N., Pasaribu, E., 2005. Pengaruh Temperatur Dalam Pembuatan Yogurt dari Berbagai Jenis Susu dengan Menggunakan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Jurnal Agribisnis Peternakan. 1, 73–77.
- Gu, S., Zhang, Y., Wu, Y., 2016. Effects of Sound Exposure on the Growth and Intracellular Macromolecular Synthesis of *E. coli* k-12. PeerJ 4, e1920.
- Gunasekaran, P., Raj, K.C., 1999. Ethanol Fermentation Technology *Zymomonas mobilis*. Current Science Journal. 56–68.
- Hadiwiyoto, S., 1994. Teori dan Prosedur Pengujian Mutu Susu dan Hasil Olahannya. Yogyakarta.
- Halliday, D., Resnick, R., Walker, J., 2010. Fisika Dasar edisi 7 Jilid 1. Jakarta. Erlangga.

- Hamid, M. 2017. Pengaruh Pemberian Gelombang Bunyi Terhadap Laju Perkembangan Benih Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn.). Jurusan Fisika. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Alauddin Makassar. Makassar.
- Handayani, A. 2016. Pengaruh Paparan Gelombang Ultrasonik Untuk Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan Kadar Protein pada Susu Sapi Segar. Jurusan Fisika. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Handayani, S.P., 2010. Pembuatan Biodiesel Dari Minyak Ikan Dengan Radiasi Gelombang Mikro (PhD Thesis). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Hanidah, I., Safitri, R., Subroto, T., 2016. Alternatif Fermentasi Bio-Etanol dari Bagas Tebu oleh *Zymomonas mobilis*. Jurnal Penelitian Pangan 1.
- Harmita, A., 2006. Analisis Fisikokimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia. Depok.
- Hartoto, M., 2003. Pembuatan Yogurt Sinbiotik dengan Menggunakan Kultur Campuran *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, dan *Lactobacillus casei* galur shirota.
- Hudori., 2003. Studi Daya Reduksi Disinfektan Gelombang Ultrasonik Terhadap Bakteri *E. coli* Dengan Variasi Bentuk Gelombang. Yogyakarta.
- Indonesia, S.N., 2009. Yogurt. Badan Standarisasi. Nasional. BSN Jakarta. 57.
- Indonesia, S.N., 2009. SNI 2981: 2009. Yogurt Badan Standarisasi Nasional. BSN Jakarta.
- Ichwansyah, R., 2014. Pengembangan Yogurt Sinbiotik Plus Berbasis *Puree* Pisang Ambon (*Musa Paradisiaca L*) dengan Penambahan Inulin Sebagai Alternatif Pangan Fungsional. Departemen Gizi Masyarakat. Fakultas Ekologi Manusia. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Islamiyah, U., 2013. Profil Kinetika Perubahan Glukosa pada Nasi dalam Pemanas. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Tadulako Palu.

- Ismail, Silviana., M, Puspita. 2009. Fermentasi Etanol dari Molases dengan *Zymomonas Mobilis* A3 yang Diamobilisasi Pada Karagian.
- Iswari, R.S., Yuniastuti, A., 2006. Biokimia. Yogyakarta. Graha Ilmu.
- Jannah, A., Nurwantoro, N., Pramono, Y., 2012. Kombinasi Susu Dengan Air Kelapa pada Proses Pembuatan Drink Ygurt Terhadap Kadar Bahan Kering, Kekentalan, dan pH. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 1.
- Jim, E.L., 2013. Metabolisme Lipoprotein. Jurnal Biomedik 5.
- John, E., 2000. Bradford for Checking Protein Assay on Mixed Biological Samples (Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry). Elsevier Science.
- Koch, H., Pein, J. 1985. Condensation Reactions Between Phenol, Formaldehyde, and 5-Hydroxymethylfurfural, Formed as Intermediate in the Acid Catalyzed Dehydration of Starchy Products. Polymer Bulletin. Germany
- Krisdianto, B.C., 2019. Pengaruh Penambahan Bakteri *Lactobacillus casei* dan *Zymomonas mobilis* Terhadap Kandungan Glukosa, Protein, dan Lemak pada Yogurt. Departemen Kimia. Fakultas Sains. Institut Teknologi Sepuluh Nopember. Surabaya.
- Legowo, A., Kusrahayu, S.M., 2009. Ilmu dan Teknologi Pengolahan Susu. Badan Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang.
- Marshal. 2011. Pengaruh Waktu Pajanan Frekuensi Suara dalam rentang Audiosonik Terhadap Viabilitas *Staphylococcus aureus*. Kedokteran Umum. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Mattila-Sandholm, T. and M, Saarela. 2000. Functional Dairy Product. Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC. Fulda, Germany.
- Michal, I., 2010. Pengaruh Konsentrasi Starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* Terhadap kualitas Yogurt Susu Kambing.[skripsi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

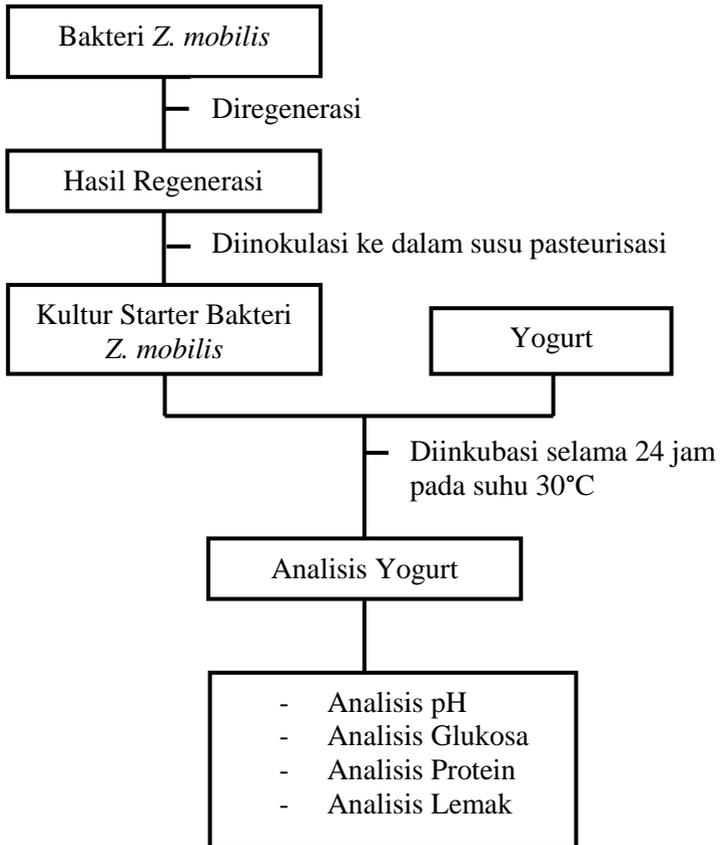
- Muhaimin, M., 2018. Pengaruh Suhu Hidrolisis Terhadap Kadar Glukosa yang Dihasilkan dari Serat Daun Nanas. *Al-Kim*. 6, 63–71.
- Prabowo, A., 2011. Pengawetan Dedak Padi Dengan Cara fermentasi. Litbang Deptan.
- Puspasari, N., Surtono, A., Warsito. 2014. Efek Frekuensi Gelombang Ultrasonik Terhadap Mikroba Pada Air Kaldu Daging Sapi. Jurusan Fisika. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Putri, Z., 2009. Kajian Kinetika Pada Fermentasi Yogurt Dengan Penambahan Ekstrak Ubi Jalar. Tugas Akhir Universitas Sebelas Maret Press. Surakarta.
- Rahayu, E., 2009. Perkembangan Terkini Penggunaan Probiotik Dalam Industri Susu. *Foodreview Indonesia*. 4, 30–33.
- Rahayu, W.P., Ma'Oen, S., Suliantari, F.S., 1992. Teknologi Fermentasi Produk Perikanan. Bogor. Antar Universitas Pangan Dan Gizi IPB.
- Rahman, A., Fardiaz, S., Rahayu, W.P., Sukantari, Nurwitri, C.C., 1987. Teknologi Fermentasi Susu. Laboratorium Mikrobiologi Pangan, PAU. Bogor.
- Reguera, G. 2011. When Microbial Conversations get Physical. *Trends in Microbiology*.
- Rhee, K.C., 2001. Determination of Total Nitrogen. *Current Protocol in Food Analytical Chemistry*.
- Rogers, P.L., Jeon, Y.J., Lee, dan K.J., Lawford, H.G. 2007. *Zymomonas mobilis* For Fuel Ethanol and Higher Value Products. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*
- Rolfe, R.D., 2000. The Role of Probiotic Cultures in The Control of Gastrointestinal Health. *Journal Nutrition*. 130, 396S–402S.
- Ruwanto, B., 2007. *Asas-Asas Fisika*. Yudhistira Jakarta.
- Sawitri, M.E. 2011. Kajian penggunaan ekstrak susu kedelai terhadap kualitas kefir susu kambing. *Jurnal Ternak Tropika*. 12(1) : 15-21.
- Simadibrata, M., 2010. Probiotik-Peranannya dalam Dunia Medis. Universitas Indonesia. Jakarta.

- Sinuhaji, A.B. 2006. Intoleransi Laktosa.
- Soedjo, P., 2004. Pengantar Sejarah dan Filsafat Ilmu Pengetahuan Alam. Gama Press, Yogyakarta.
- Soeharsono, L.A., Safitri, R., Sjojfan, O., Abdullah, S., Rostika, R., Lengkey, H., Mushawwir, A., 2010. Probiotik Basis Ilmiah, Aplikasi, dan Aspek Praktis. Penerbit Widya Padjadjaran Bandung.
- Sudarmadji, S., Bambang, H., 2003. Prosedur Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Lib. Yogyakarta.
- Sudarmadji, S., Suhardi, H., 1996. Analisa Bahan Makanan Pertanian. Yogyakarta.
- Sunarlim, R., Setiyanto, H., Poeloengan, M., 2007. Pengaruh Kombinasi Starter Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus plantarum* Terhadap Sifat Mutu Susu Fermentasi, in: Seminar Nasional Teknologi Peternakan Dan Veteriner. pp. 270–278.
- Sunaryanto, R., Marwoto, B., 2012. Isolasi, Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Dadih Susu Kerbau. Jurnal Sains Dan Teknologi. Indonesia. 14, 228–233.
- Susatyo, J.H. 2016. Perbedaan Pengaruh Pengolesan dan Perendaman Alkohol 70% Terhadap Penurunan Angka Hitung Kuman pada Alat Kedokteran Gigi. Jurusan Keperawatan Gigi. Poltekkes Kemenkes Pontianak.
- Susilorini, T.E., Sawitri, M.E., 2008. Budidaya 22 Ternak Potensial. Penebar Swadaya Grup.
- Tano, M.S., Buzato, J.B., 2003. Effect of The Presence of Initial Ethanol on Ethanol Production in Sugar Cane Juice Fermented by *Zymomonas mobilis*. Brazilian Journal of Microbiology. 34, 242–244.
- Todar, K., 2000. The Control of Microbial Growth.
- Underwood, A., Day, R., 2002. Analisis Kimia Kuantitatif. Jakarta. Erlangga.
- Usmiati, S., 2013. Pengembangan Dadih sebagai Pangan Fungsional Probiotik Asli Sumatera Barat. Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian. 32, 20–29.

- Wahyudi, Riyan, Gandjar, I.G., Rohman, A., 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, Universitas Lampung.
- Wahyudi, A., Samsundari, S., 2008. Bugar Dengan Susu Fermentasi. Universitas Muhammadiyah Malang Press Malang.
- Wang, N.S 2009. Glucose Assay By Dinitrosalicylic Colorimetric Methods. Department of Chemical and Biomolecular Engineering. University of Maryland. College Park.
- Westhoff, D.C., Helferich, W., 1980. All About Yogurt. Prentice-Hall.
- Widodo, W., 2003. Bioteknologi Industri Susu. Cetakan Ke-1 Yogyakarta. Lact. Press P 114.
- Winarno, F., 2002. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Winarno, F., Fardiaz, S., Fardiaz, D., 1980. Pengantar Teknologi Pangan. PT. Gramedia.
- Winarno, F., Rahman, A., 1974. Protein: Sumber dan Peranannya. Departemen Teknologi Hasil Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wu, Z., Wu, J., Cao, P., Jin, Y., Pan, D., Zeng, X., Guo, Y. 2017. Characterization of Probiotic Bacteria Involved in Fermented Milk Processing Enriched With Folic Acid. Journal Dairy Science. American Dairy Science Association.
- Yanase, H., 2014. Ethanol From Bacteria. Bioprocess. Renew Resources Command Bioprod. 167–199.
- Yuguchi, H., T. Goto, dan S. Okonogi. 1992. Fermented Milk, Lactic Drinks, and Intestinal Mikroflora. Di dalam : Nakazawa, Y. dan A. Hosono (eds.). 1992. Function of Fermented Milk : Challenge for The Health Science. Elsevier Applied Science, New York.
- Zealand, F., 2014. Australia New Zealand Food Standards Code-Standard 1.2. 7-Nutrition, Health and Related Claims-F2014C01191. Canberra: Australian Government.

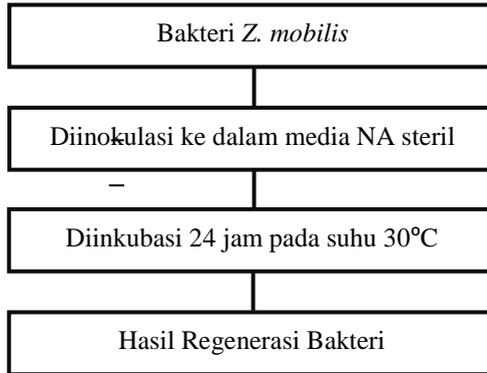
## LAMPIRAN

### A. Skema Kerja

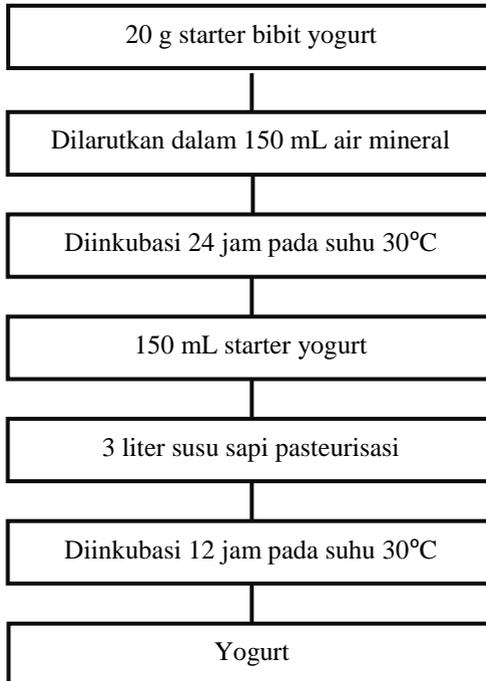


## B. Diagram Alir

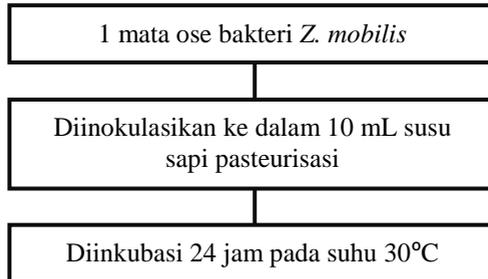
### 1. Regenerasi Bakteri *Zymomonas mobilis*



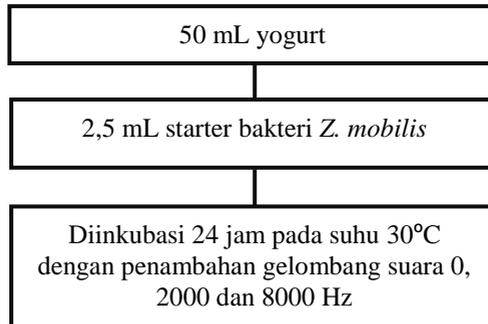
### 2. Pembuatan Yogurt



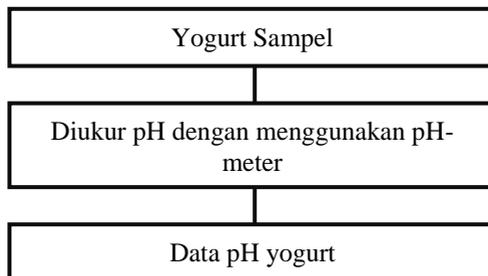
### 3. Persiapan Kultur Starter Bakteri



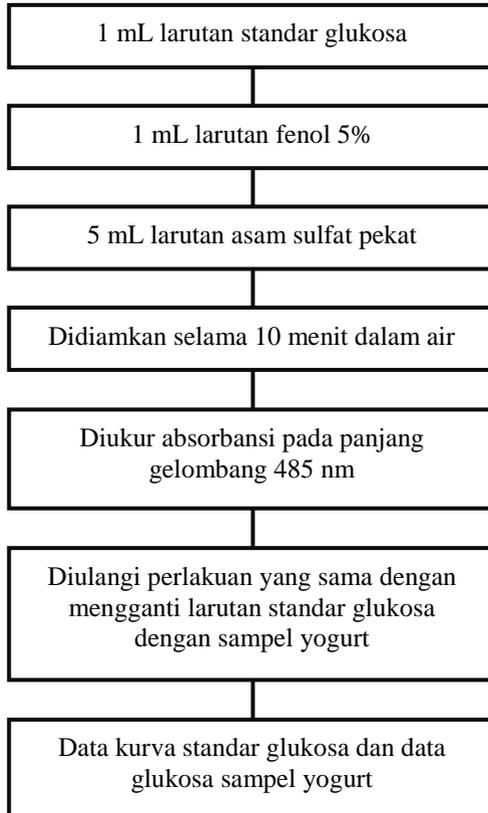
### 4. Penambahan *Z. mobilis* pada Yogurt



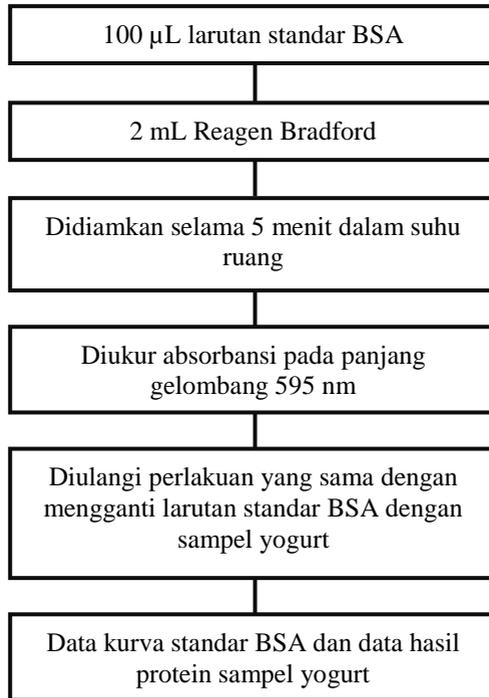
### 5. Pengukuran pH Yogurt



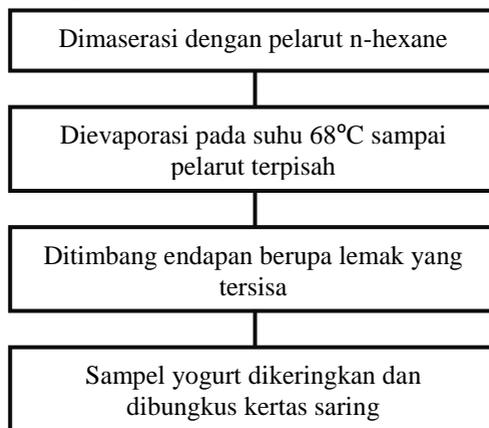
## 6. Pengukuran Kadar Glukosa Yogurt



## 7. Pengukuran Kadar Protein Yogurt



## 8. Pengukuran Kadar Lemak



## A. Data dan Perhitungan

### 1. Pembuatan Larutan Standar Glukosa

- a. Pembuatan larutan stok glukosa

$$100 \text{ ppm} = 100 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 10^{-4} \frac{\text{g}}{\text{mL}} = 10^{-2} \frac{\text{g}}{100 \text{ mL}}$$

Pembuatan larutan stok glukosa dilakukan dengan melarutkan 0,01 g ke dalam 100 mL labu ukur.

- b. Pengenceran larutan stok glukosa 100 ppm menjadi konsentrasi 70, 60, 50, 40, 30, 20, dan 10 ppm

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 70 \mu\text{g/mL} \\ V_1 &= 17,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 60 \mu\text{g/mL} \\ V_1 &= 15 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 50 \mu\text{g/mL} \\ V_1 &= 12,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 40 \mu\text{g/mL} \\ V_1 &= 10 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 30 \mu\text{g/mL} \\ V_1 &= 7,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 20 \mu\text{g/mL} \\ V_1 &= 5 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 100 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 10 \mu\text{g/mL} \\
 V_1 &= 2,5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

\*Keterangan:  $V_1$ : Volume larutan stok;  $V_2$ : Volume pelarut;  
 $M_1$ : Konsentrasi larutan stok;  $M_2$ : Konsentrasi setelah pengenceran

## 2. Pembuatan Larutan Standar BSA

a. Pembuatan larutan stok BSA 1000 ppm

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = 10^{-3} \frac{\text{g}}{\text{mL}} = 10^{-1} \frac{\text{g}}{100 \text{ mL}}$$

Pembuatan larutan stok BSA dilakukan dengan melarutkan 0,1 g BSA ke dalam 100 mL aquades dengan labu ukur.

b. Pengenceran larutan stok BSA 1000 ppm menjadi 240, 200, 160, 120, 80, dan 40 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 1000 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 240 \mu\text{g/mL} \\
 V_1 &= 6 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 1000 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 200 \mu\text{g/mL} \\
 V_1 &= 5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 1000 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 160 \mu\text{g/mL} \\
 V_1 &= 4 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 1000 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 120 \mu\text{g/mL} \\
 V_1 &= 3 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\
 V_1 \times 1000 \mu\text{g/mL} &= 25 \text{ mL} \times 80 \mu\text{g/mL} \\
 V_1 &= 2 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

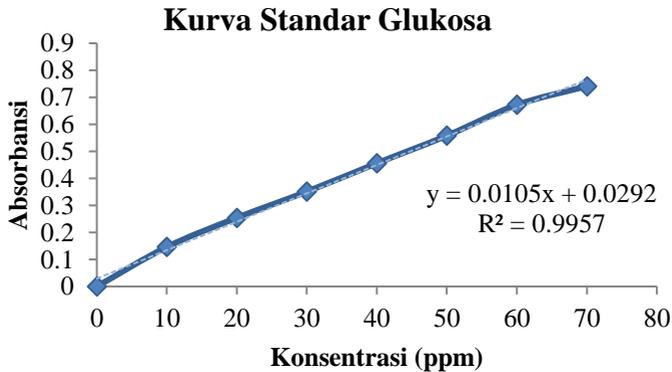
$$V_1 \times 1000 \mu\text{g/mL} = 25 \text{ mL} \times 40 \mu\text{g/mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

\*Keterangan:  $V_1$ : Volume larutan stok;  $V_2$ : Volume pelarut;  $M_1$ : Konsentrasi larutan stok;  $M_2$ : Konsentrasi setelah pengenceran

### 3. Data Kurva Standar Glukosa

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi |       | Absorbansi Rata-rata | Standart Deviasi |
|-------------------|------------|-------|----------------------|------------------|
|                   | I          | II    |                      |                  |
| 0                 | 0          | 0     | 0                    | 0                |
| 10                | 0,148      | 0,144 | 0,146                | 0,003            |
| 20                | 0,255      | 0,253 | 0,254                | 0,001            |
| 30                | 0,351      | 0,351 | 0,351                | 0                |
| 40                | 0,463      | 0,449 | 0,456                | 0,010            |
| 50                | 0,563      | 0,553 | 0,558                | 0,007            |
| 60                | 0,673      | 0,670 | 0,672                | 0,002            |
| 70                | 0,749      | 0,733 | 0,741                | 0,011            |



#### 4. Data Perhitungan Kadar Glukosa pada Yogurt

| Type Yogurt       | Frekuensi | Absorbansi |       | Rata-rata | SD    | Final Abs   | Konsentrasi |        | Rata-rata | SD    | Final Result | Kadar |      | Rata-rata | SD    | Final Result | Konversi ke % |       | Rata-rata | SD    | Final Result |
|-------------------|-----------|------------|-------|-----------|-------|-------------|-------------|--------|-----------|-------|--------------|-------|------|-----------|-------|--------------|---------------|-------|-----------|-------|--------------|
|                   |           | I          | II    |           |       |             | I           | II     |           |       |              | I     | II   |           |       |              | I             | II    |           |       |              |
| Yogurt            | 0         | 0,443      | 0,441 | 0,442     | 0,001 | 0,442±0,001 | 41,400      | 41,200 | 41,300    | 0,141 | 41,300±0,141 | 1656  | 1648 | 1652      | 5,657 | 1632±5,657   | 0,166         | 0,165 | 0,165     | 0,001 | 0,165±0,001  |
|                   | 2000      | 0,561      | 0,559 | 0,560     | 0,001 | 0,560±0,001 | 53,200      | 53,000 | 53,100    | 0,141 | 53,100±0,141 | 2128  | 2120 | 2124      | 5,657 | 2124±5,657   | 0,213         | 0,212 | 0,212     | 0,001 | 0,212±0,001  |
|                   | 8000      | 0,314      | 0,312 | 0,313     | 0,001 | 0,313±0,001 | 28,500      | 28,300 | 28,400    | 0,141 | 28,400±0,141 | 1140  | 1132 | 1136      | 5,657 | 1136±5,657   | 0,114         | 0,113 | 0,114     | 0,001 | 0,114±0,001  |
| Yogurt + Z mahlis | 0         | 0,737      | 0,735 | 0,736     | 0,001 | 0,736±0,001 | 70,800      | 70,600 | 70,700    | 0,141 | 70,700±0,141 | 2832  | 2824 | 2828      | 5,657 | 2828±5,657   | 0,283         | 0,282 | 0,283     | 0,001 | 0,283±0,001  |
|                   | 2000      | 0,691      | 0,689 | 0,690     | 0,001 | 0,690±0,001 | 66,200      | 66,000 | 66,100    | 0,141 | 66,100±0,141 | 2648  | 2640 | 2644      | 5,657 | 2644±5,657   | 0,265         | 0,264 | 0,264     | 0,001 | 0,264±0,001  |
|                   | 8000      | 0,653      | 0,651 | 0,652     | 0,001 | 0,652±0,001 | 62,400      | 62,200 | 62,300    | 0,141 | 62,300±0,141 | 2496  | 2488 | 2492      | 5,657 | 2492±5,657   | 0,250         | 0,249 | 0,249     | 0,001 | 0,249±0,001  |

Pada kurva standar glukosa didapatkan persamaan:

$$y = 0,010x + 0,029$$

setelah didapatkan persamaan tersebut dapat dihitung nilai konsentrasi dari masing-masing yogurt dengan memasukkan angka absorbansi sebagai nilai y. Nilai x merupakan konsentrasi glukosa dalam ppm. Setelah itu konsentrasi dikalikan dengan faktor pengenceran 40 kali.

Contoh perhitungan kadar glukosa pada yogurt

- Perhitungan Konsentrasi Glukosa (ppm)

$$y = 0,010x + 0,029$$

$$0,442 = 0,010x + 0,029$$

$$0,413 = 0,011x$$

$$x = 41,3 \text{ ppm}$$

- $K = \text{Konsentrasi} \times \text{FP}$

$$K = 41,3 \text{ ppm} \times 40$$

$$K = 1656 \text{ ppm}$$

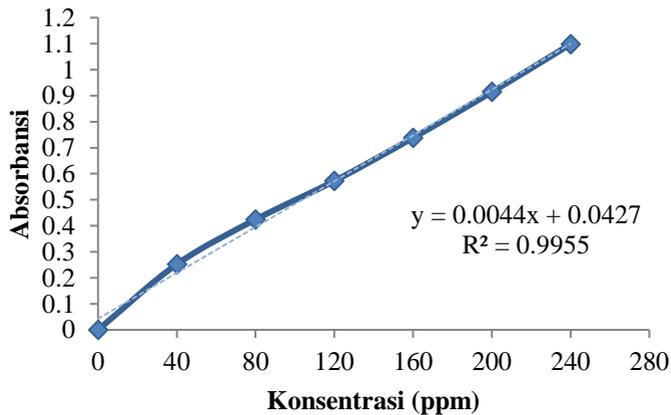
- Kadar Glukosa (%)

$$\frac{K}{10000} = 0,165 \%$$

## 5. Data Kurva Standar BSA

| Konsentrasi (ppm) | Absorbansi |       | Absorbansi Rata-rata | Standart Deviasi |
|-------------------|------------|-------|----------------------|------------------|
|                   | I          | II    |                      |                  |
| 0                 | 0          | 0     | 0                    | 0                |
| 40                | 0,250      | 0,254 | 0,252                | 0,003            |
| 80                | 0,425      | 0,423 | 0,424                | 0,001            |
| 120               | 0,570      | 0,573 | 0,572                | 0                |
| 160               | 0,735      | 0,741 | 0,738                | 0,004            |
| 200               | 0,910      | 0,918 | 0,914                | 0,006            |
| 240               | 1,099      | 1,097 | 1,098                | 0,001            |

**Kurva Standar BSA**



## 6. Data Perhitungan Kadar Protein pada Yogurt

| Type Yogurt        | Absorbansi |       | Rata-rata | SD    | Final Abs | Konsentrasi   |        | Rata-rata | SD     | Final Result | Kadar          |      | Rata-rata | SD      | Final Result | Konversi ke %     |       | Rata-rata | SD    | Final Result |               |
|--------------------|------------|-------|-----------|-------|-----------|---------------|--------|-----------|--------|--------------|----------------|------|-----------|---------|--------------|-------------------|-------|-----------|-------|--------------|---------------|
|                    | I          | II    |           |       |           | I             | II     |           |        |              | I              | II   |           |         |              | I                 | II    |           |       |              |               |
| Yogurt             | 0          | 0,376 | 0,374     | 0,375 | 0,001     | 0,375 ± 0,001 | 83,300 | 83,000    | 83,250 | 0,354        | 83,250 ± 0,354 | 4175 | 4150      | 4162,5  | 866,146      | 4162,5 ± 866,146  | 0,418 | 0,415     | 0,416 | 0,002        | 0,416 ± 0,002 |
|                    | 2000       | 0,256 | 0,254     | 0,255 | 0,001     | 0,255 ± 0,001 | 53,500 | 53,000    | 53,250 | 0,354        | 53,250 ± 0,354 | 2675 | 2650      | 2662,5  | 260,208      | 2662,5 ± 260,208  | 0,268 | 0,265     | 0,266 | 0,002        | 0,266 ± 0,002 |
|                    | 8000       | 0,292 | 0,29      | 0,291 | 0,001     | 0,291 ± 0,001 | 62,500 | 62,000    | 62,250 | 0,354        | 62,250 ± 0,354 | 3125 | 3100      | 3112,5  | 501,910      | 3112,5 ± 501,910  | 0,315 | 0,310     | 0,311 | 0,002        | 0,311 ± 0,002 |
| Yogurt + Z mobilis | 0          | 0,362 | 0,359     | 0,361 | 0,002     | 0,361 ± 0,002 | 80,000 | 79,250    | 79,625 | 0,530        | 79,625 ± 0,530 | 4000 | 3962,5    | 3981,25 | 386,541      | 3981,25 ± 386,541 | 0,400 | 0,396     | 0,398 | 0,003        | 0,398 ± 0,003 |
|                    | 2000       | 0,308 | 0,306     | 0,307 | 0,001     | 0,307 ± 0,001 | 66,500 | 66,000    | 66,250 | 0,354        | 66,250 ± 0,354 | 3325 | 3300      | 3312,5  | 188,193      | 3312,5 ± 188,193  | 0,333 | 0,330     | 0,331 | 0,002        | 0,331 ± 0,002 |
|                    | 8000       | 0,282 | 0,28      | 0,281 | 0,001     | 0,281 ± 0,001 | 60,000 | 59,500    | 59,750 | 0,354        | 59,750 ± 0,354 | 3000 | 2975      | 2987,5  | 17,678       | 2987,5 ± 17,678   | 0,300 | 0,298     | 0,299 | 0,002        | 0,299 ± 0,002 |

Pada kurva standar protein didapatkan persamaan:

$$y = 0,04x + 0,042$$

setelah didapatkan persamaan tersebut dapat dihitung nilai konsentrasi dari masing-masing yogurt dengan memasukkan angka absorbansi sebagai nilai y. Nilai x merupakan konsentrasi glukosa dalam ppm. Setelah itu konsentrasi dikalikan dengan faktor pengenceran 50 kali.

Contoh perhitungan kadar protein pada yogurt

- Perhitungan Konsentrasi Protein (ppm)

$$y = 0,04x + 0,042$$

$$0,375 = 0,04x + 0,042$$

$$0,333 = 0,04x$$

$$x = 83,25 \text{ ppm}$$

- K = Konsentrasi x FP

$$K = 83,25 \text{ ppm} \times 50$$

$$K = 4162,5 \text{ ppm}$$

- Kadar Protein (%)

$$\frac{K}{10000} = 0,416 \%$$

## 7. Data Perhitungan Kadar Lemak pada Yogurt

| Variasi Yogurt      | Frekuensi | Massa Yogurt Kering (g) | Massa Labu (g) | Massa Total (g) | Massa Lemak Tertinggal (g) | Kadar (%) (w/w) |
|---------------------|-----------|-------------------------|----------------|-----------------|----------------------------|-----------------|
| Yogurt              | -         | 3                       | 112,64         | 113,44          | 0,80                       | 26,80           |
|                     | 2000      | 3                       | 110,18         | 110,49          | 0,32                       | 10,58           |
|                     | 8000      | 3                       | 108,24         | 108,67          | 0,43                       | 14,19           |
| Yogurt + Z. Mobilis | -         | 3                       | 109,60         | 110,21          | 0,61                       | 20,20           |
|                     | 2000      | 3                       | 111,63         | 112,13          | 0,50                       | 16,61           |
|                     | 8000      | 3                       | 111,31         | 111,59          | 0,28                       | 9,32            |

Contoh perhitungan kadar lemak pada yogurt

$$\begin{aligned}
 \text{MLT} &= \text{MLLT} - \text{ML} \\
 &= 113,44 \text{ g} - 112,64 \text{ g} \\
 &= 0,80 \text{ g}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{KL} &= \frac{\text{MLT}}{\text{MYK}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,80 \text{ g}}{3 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 26,80 \%
 \end{aligned}$$

Keterangan :

- MLT = Massa Lemak Tertinggal
- MLLT = Massa Labu + Lemak Tertinggal
- ML = Massa Labu
- KL = Kadar Lemak
- MYK = Massa Yogurt Kering

## BIODATA PENULIS



Penulis bernama Dhita Herni Febriyanti. Penulis yang dilahirkan di Magetan, 20Februari 1997 ini, merupakan anak pertama dari dua bersaudara pasangan Heru Wibowo dan Reni Setyo Cakrawati. Penulis telah menempuh pendidikan formalnya di TK Kartka Brawijaya-V Magetan (2001-2003), SDN Magetan 3 (2006-2009), SMP Negeri 1Magetan (2009-2012), dan SMA Negeri 1 Magetan (2012-2015). Penulis melanjutkan jenjang pendidikan S1 di Departemen Kimia FSAINS ITS melalui jalur SNMPTN dan terdaftar dengan Nomor Registrasi Pokok (NRP) 01211540000018. Selama menempuh pendidikan di ITS penulis aktif di berbagai kepanitiaan dan organisasi mahasiswa diantaranya yaitu Staf Departemen Hubungan Luar Himpunan Mahasiswa Kimia 2016-2017, Chemistry Week, dan Gerigi ITS. Penulis pernah menjalani kerja praktik di Laboratorium PDAM Surya Sembada Surabaya. Penulis menyelesaikan program Sarjana dengan mengambil tugas akhir di bidang Kimia Pangan di Laboratorium Kimia Mikroorganisme dan Geokimia Molekuler dibawah bimbingan Zjhra Vianita Nugraheni, M.Si dan Herdayanto Sulistyopo Putro, M.Si. Penulis dapat dihubungi melalui email : [dhitherfebriyanti@gmail.com](mailto:dhitherfebriyanti@gmail.com).