

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi, Syarat Mutu, dan Proses Fermentasi pada *Yoghurt* dan *Soygurt*

Yoghurt adalah salah satu produk susu yang paling tua dan cukup populer di seluruh dunia. Kata “*yoghurt*” berasal dari bahasa Turki yaitu “*jugurt*” yang berarti susu asam (Widodo, 2002). *Yoghurt* merupakan produk susu yang mengalami fermentasi oleh bakteri asam laktat (BAL) pada suhu 37 – 45 °C (Zakaria dkk., 2013). Bahan dasar pembuatan *yoghurt* dapat berasal dari susu sapi atau susu kambing (susu segar dan susu pasteurisasi), baik susu *full cream* maupun susu skim (Chotimah, 2009). Produk olahan susu ini memiliki rasa khas, tekstur semi padat dan halus, kompak serta dengan rasa asam yang segar (Rahayu dan Sudarmadji, 1998 dalam Suryono dkk., 2005).

Perubahan yang terjadi pada susu menjadi asam disebabkan oleh proses fermentasi dari bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Dalam pembuatan *yoghurt*, kedua bakteri ini memiliki hubungan simbiosis obligat yang saling memanfaatkan hasil metabolisme untuk mempengaruhi produksi asam. Kedua bakteri asam laktat tersebut bersimbiosis memecah laktosa (gula susu) menjadi asam laktat, sehingga akan menurunkan pH air susu dan menciptakan rasa asam pada fermentasi susu (Chotimah, 2009).

Pada awal pertumbuhan, *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* menggunakan asam-asam amino bebas yang terdapat dalam susu, selanjutnya aktivitas proteolitik *L. bulgaricus* akan menghasilkan asam amino histidin dan

lisin serta peptida yang dibutuhkan oleh *S. thermophilus*. Pada *S. thermophilus* akan menghasilkan karbondioksida dan format yang akan merangsang pertumbuhan *L. bulgaricus* (Chotimah, 2009). Pertumbuhan yang cepat dari bakteri *S. thermophilus* akan menghasilkan asam laktat yang menyebabkan penurunan pH yang akan memacu pertumbuhan bakteri *L. bulgaricus* (Tamime dan Deeth, 1980 dalam Chotimah, 2009).

Dalam proses pembuatan *yoghurt*, laktosa akan diubah menjadi asam laktat. Kedua bakteri tersebut akan menghasilkan enzim β -D-galaktosidase yang akan menghidrolisis laktosa menjadi unit-unit monosakarida, dan dilanjutkan dengan proses glikolisis hingga terbentuk asam laktat, asam asetat serta sejumlah kecil asam organik volatil lainnya, alkohol dan ester dari alkohol tersebut. Cita rasa yang enak dari *yoghurt* merupakan hasil dari fermentasi yang dipengaruhi oleh suhu inkubasi dan asam yang dihasilkan. Senyawa-senyawa volatil dalam jumlah kecil termasuk asam asetat, diasetil dan asetaldehid yang dihasilkan oleh *L. bulgaricus* membentuk cita rasa khas *yoghurt* (Chotimah, 2009).

Secara umum, bakteri *L. bulgaricus* masuk dalam genus *Lactobacillus* dan *S. thermophilus* masuk dalam genus *Streptococcus*. Menurut *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9 dalam Andayani dkk. (2008), *Streptococcus* mempunyai ciri-ciri sel berbentuk bola atau bulat telur, pada media cair berbentuk rantai atau sepasang, bersifat nonmotil, tidak mempunyai spora, dan Gram positif. Beberapa spesies ada yang berkapsul, bersifat fakultatif anerob, membutuhkan nutrisi kompleks untuk tumbuh, memproduksi

asam laktat tetapi bukan gas, katalase negatif, tumbuh pada suhu 25 – 45 °C (optimum 37 °C), pH optimum 6,8 dan bersifat termofilik yang mampu tumbuh pada suhu 40 – 50 °C, tidak tumbuh pada pH 9,6 dan pada suhu 10 °C.

Yoghurt sangat bermanfaat bagi tubuh khususnya pada sistem pencernaan karena bakteri-bakteri *yoghurt* yang masuk akan menyelimuti dinding usus sehingga dinding usus menjadi asam dan kondisi ini menyebabkan mikrobia patogen tidak dapat berkembang (Surnon, 2004 dalam Zakaria dkk., 2013). Nilai gizi *yoghurt* lebih tinggi dibandingkan susu segar karena pada proses fermentasi terjadi degradasi komponen-komponen susu dan sintesis vitamin oleh bakteri (Rahayu dan Sudarmadji, 1989 dalam Chotimah, 2009). Adapun syarat mutu minuman *yoghurt* berdasarkan SNI (2981:2009) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. SNI (2981:2009) Minuman *Yoghurt*

No	Kriteria Uji	Satuan	<i>Yoghurt</i> tanpa Perlakuan Panas setelah Fermentasi			<i>Yoghurt</i> dengan Perlakuan Panas setelah Fermentasi		
			<i>Yoghurt</i>	<i>Yoghurt</i> Rendah Lemak	<i>Yoghurt</i> tanpa Lemak	<i>Yoghurt</i>	<i>Yoghurt</i> Rendah Lemak	<i>Yoghurt</i> tanpa Lemak
1	Keadaan							
1.1	Penampakan	-	Cairan kental – padat			Cairan kental – padat		
1.2	Bau	-	Normal/khas			Normal/khas		
1.3	Rasa	-	Asam/khas			Asam/khas		
1.4	Konsistensi	-	Homogen			Homogen		
2	Kadar lemak (b/b)	%	Min. 3,0	0,6 – 2,9	Maks. 0,5	Min. 3,0	0,6 – 2,9	Maks. 0,5
3	Total padatan susu bukan lemak (b/b)	%	Min. 8,2			Min. 8,2		
4	Protein (Nx6,38) (b/b)	%	Min. 2,7			Min. 2,7		
5	Kadar abu (b/b)	%	Maks. 1,0			Maks. 1,0		
6	Keasaman (dihitung sebagai asam laktat) (b/b)	%	0,5 – 2,0			0,5 – 2,0		
7	Cemaran logam							
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 0,3			Maks. 0,3		
7.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks. 20,0			Maks. 20,0		
7.3	Timah (Sn)	mg/kg	Maks. 40,0			Maks. 40,0		
7.4	Raksa (Hg)	mg/kg	Maks. 0,03			Maks. 0,03		
8	Arsen	mg/kg	Maks. 0,1			Maks. 0,1		

Lanjutan Tabel 1. SNI (2981:2009) Minuman *Yoghurt*

9	Cemaran mikrobia			
9.1	Bakteri <i>Coliform</i>	APM/g atau Koloni/g	Maks. 10	Maks. 10
9.2	<i>Salmonella</i>	-	Negatif/25g	Negatif/25 g
9.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	Negatif/25g	Negatif/25 g
10	Jumlah bakteri <i>starter</i> *	Koloni/g	Min. 10 ⁷	-
*sesuai dengan Pasal 2 (istilah dan definisi)				

(Badan Standarisasi Nasional, 2009)

Namun seiring berkembang jaman, saat ini telah muncul produk *yoghurt* yang tidak berbahan baku susu melainkan kacang. *Soygurt* merupakan produk fermentasi dari susu kedelai (Nizori dkk., 2012). Pengembangan produk *soygurt* dimulai karena banyak konsumen yang kurang menyukai aroma khas dari susu kedelai yaitu bau langu (Diki dkk., 2000 dalam Cahyadi, 2008) sehingga dilakukan pengelolaan susu kedelai yang diharapkan dapat mengurangi bau langu tersebut dengan cara fermentasi.

Fermentasi dapat menimbulkan cita rasa baru dan membentuk tekstur beberapa makanan, sehingga mampu memperbaiki penerimaan produk kedelai. Sewaktu fermentasi akan terbentuk asam-asam organik yang menimbulkan cita rasa khas pada *soygurt*. Hal terpenting dalam proses fermentasi kacang kedelai adalah jenis karbohidrat yang ada pada kacang adalah rafinosa dan stakiosa sedangkan pada susu sapi adalah laktosa. Perbedaan ini menyebabkan terbatasnya kandungan gula yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme yang berperan dalam proses pembuatan *soygurt*, sehingga diperlukan penambahan sumber gula lainnya seperti sukrosa, laktosa, glukosa, atau fruktosa (Herawati dan Wibawa, 2007).

Dalam proses fermentasinya, bakteri yang digunakan sama yaitu *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* (Herawati dan Wibawa, 2007). Penurunan

karbohidrat pada fermentasi *soygurt* oleh bakteri *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* melalui konversi karbohidrat menjadi glukosa dan kemudian glukosa difermentasi menjadi asam piruvat untuk memproduksi asam laktat sebagai produk utama. Oleh karena itu, untuk mendapatkan tekstur yang menyerupai produk *yoghurt*, pada pembuatan *soygurt* dapat ditambah susu skim sebelum proses fermentasi (Syamsuddin dkk., 2013). Pembuatan *soygurt* mudah dilakukan karena menggunakan peralatan sederhana. Selain itu, biayanya tidak mahal. Dibandingkan dengan *yoghurt* dari susu sapi, keuntungan dari *soygurt* adalah hanya memerlukan sedikit stater dan pembuatannya dapat dilakukan pada suhu ruang (Cahyadi, 2008).

B. Deskripsi *Lactobacillus acidophilus*

L. acidophilus merupakan bakteri berbentuk batang termasuk famili *Lactobacillaceae* dan genus *Lactobacillus* (Kurniasih dan Rosahdi, 2013). Secara umum, *Lactobacillus* merupakan bakteri berbentuk batang, non-motil, dan bersifat negatif katalase dan oksidase (Sunaryanto dan Marwoto, 2012). Bakteri ini tergolong bakteri Gram positif dan tidak membentuk spora (Kurniasih dan Rosahdi, 2013). *L. acidophilus* adalah bakteri probiotik yang hidup terutama di usus halus (Andrianto, 2008). Bakteri ini merupakan tipe bakteri homofermentif yang menggunakan heksosa difosfat dan menghasilkan asam laktat dari glukosa (Mariana dan Susanti, 2012). Menurut Andrianto (2008), manfaat bakteri ini dalam tubuh antara lain:

1. Hidupnya berkoloni dengan menempel pada dinding usus atau saluran reproduksi sehingga dapat mencegah organisme lain berkembang biak pada tingkat cukup dan kemungkinan terjadi infeksi dan peradangan dalam usus halus dapat dicegah.
2. Menghasilkan zat pembunuh bakteri lain seperti laktosidin (*lactocidin*) dan asidofilin (*acidophilin*).
3. Mampu meningkatkan kekebalan inang melawan jamur atau bakteri berbahaya seperti *Candida albicans*, *Salmonella*, *E. coli*, dan *Streptococcus aureus*.
4. Membantu mengendalikan infeksi dan peradangan usus.
5. Mengurangi potensi diare, penyakit atau infeksi, dan peradangan.
6. Menghalangi beberapa bentuk kanker dan membantu mengendalikan kadar kolesterol darah.

Keunggulan lainnya dari bakteri ini adalah mampu bertahan hidup lebih lama dibandingkan dengan *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* pada kondisi pH rendah (Shah, 1994 dalam Sunarlim dan Setiyanto, 2008). Selain itu, bakteri *L. acidophilus* memiliki kemampuan untuk memecah polisakarida dan oligosakarida seperti *arabinogalactan*, *arabinoxylan*, dan *fructooligosaccharides* (FOS). Bakteri ini mampu memecah FOS karena memiliki enzim *fructosidase* (Barrangou dkk., 2003). Menurut Farzadi (2011), *L. acidophilus* mempunyai enzim α -galaktosidase/ α -D-galaktosidase galaktohidrolase, enzim ini menghidrolisis ikatan α -1,6-galaktosidase yang terdapat pada melibiosa, rafinosa, dan stakiosa. Karbohidrat ini ditemukan

pada tanaman dan tidak dapat dimetabolisme oleh manusia (Garro dkk., 2004).

Meskipun bersifat probiotik, bakteri ini kurang berkerja optimum untuk fermentasi bila digunakan dalam bentuk tunggal seperti rasa yang kurang disukai. Oleh sebab itu, dapat dikombinasikan dengan *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* (Sunarlim dan Setiyanto, 2008). Rum (2010) dalam penelitiannya yang menggunakan kombinasi bakteri *L. acidophilus* dan *S. thermophilus* dalam pembuatan *cocogurt* menyatakan bahwa perbandingan inokulum terbaik untuk parameter laju pembentukan asam laktat dan organoleptik adalah 1:1.

C. Fungsi Susu Skim pada Produk *Yoghurt* Nabati

Tujuan pembuatan *soygurt* salah satunya untuk mengembangkan susu kedelai agar tidak tercium bau langu sehingga produk susu kedelai dapat diterima oleh konsumen. Akan tetapi, beberapa penelitian pada produk *soygurt* juga masih tercium bau langu. Pemecahan permasalahan ini dapat dilakukan dengan penambahan susu skim karena rasa dari susu skim dapat menetralisasi bau dan rasa langu dari susu kedelai (Cahyadi, 2008).

Susu skim adalah bagian susu yang banyak mengandung protein dan semua zat makanan dari susu kecuali lemak dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak (Saleh, 2004). Kandungan dari susu skim per 100 gram bahan antara lain energi 35,00 kkal, protein 3,50 g, lemak 0,10 g, karbohidrat 4,80 g, dan asam laktat 0,00 g (Sauci dkk., 1979 dalam Chotimah, 2009). Susu skim

dapat digunakan oleh orang yang menginginkan kalori rendah dalam makanannya karena susu skim hanya mengandung 55 % dari seluruh energi susu (Buckle dkk., 1987 dalam Herawati dan Wibawa, 2007).

Menurut Astawa dkk. (1991) dalam Darmajana (2011), *yoghurt* yang dibuat dari kacang-kacangan memerlukan penambahan susu skim. Hal ini dikarenakan susu skim berfungsi sebagai sumber laktosa dalam proses fermentasi oleh *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*, dan untuk meningkatkan kekentalan, aroma, keasaman, dan protein. Fermentasi laktosa oleh bakteri asam laktat akan menghasilkan asam laktat, asetaldehid, asam asetat, dan diasetil (Akoma dkk., 2000 dalam Yunita dkk., 2011). Dalam pembuatan *soygurt*, penggunaan 4 % susu skim sebagai sumber laktosa memberikan hasil terbaik yaitu peningkatan kandungan total padatan susu kedelai dan total asam (Cahyadi, 2008).

D. Deskripsi dan Morfologi Kacang Tunggak

Kacang tolo atau kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) adalah tanaman yang telah lama dikenal dan banyak dibudidayakan oleh masyarakat Indonesia (Rukmana dan Yunarsih, 2000 dalam Ratnaningsih dkk., 2009). Dipasaran, terdapat kacang tunggak impor dan lokal karena kacang ini bukan berasal dari Indonesia melainkan dari Afrika (Rukmana, 1995). Meskipun begitu, kacang tunggak yang dibudidayakan dalam negeri (lokal) mempunyai rasa yang gurih, berwarna coklat tua, dan ukurannya lebih kecil bila dibandingkan dengan kacang tunggak impor (Ratnaningsih dkk., 2009).

Pada umumnya terdapat dua jenis kacang tunggak yang paling sering dibudidayakan yaitu kacang tunggak yang buahnya berkulit hijau atau berbiji persegi dan kacang tunggak yang buahnya berujung merah dengan bentuk biji lebih bulat. Kacang tunggak jenis ini dikenal sebagai kacang dadap atau kacang tolo (Fachruddin, 2000). Menurut Fachruddin (2000), kedudukan taksonomi tanaman kacang tunggak dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kedudukan Taksonomi Kacang Tunggak

Divisi	Spermatophyta
Subdivisi	Angiospermae
Kelas	Dicotyledoneae
Ordo	Rosales
Famili	Leguminoceae
Subfamili	Papilionidae
Genus	<i>Vigna</i>
Spesies	<i>Vigna unguiculata</i> L. Walp.

(Fachruddin, 2000)

Dari segi agronomis, kacang tunggak memiliki keuntungan dalam hal toleran terhadap kekeringan, hama dan penyakit relatif sedikit, mudah dibudidayakan dan dapat menghasilkan sekalipun pada tanah yang berbatu-batu dan tanah yang rendah unsur hara (Rukmana dan Yuniarsih, 2000 dalam Polnaya, 2008). Kacang ini memiliki peluang besar untuk dikembangkan di daerah Sumatera dan Kalimantan yang memiliki tanah sulfat masam (Kasnodkk., 1991 dalam Haliza dkk., 2007). Selain itu, ditinjau dari ketersediaan bibit, beberapa varietas unggul kacang tunggak juga sudah tersedia (Kurniawan dkk., 2004 dalam Haliza dkk., 2007). Pembudidayaan kacang tunggak banyak dilakukan di Jawa Tengah, Jawa Timur, Bali, Nusa Tenggara Barat, sebagian Kalimantan, Sumatera, Maluku, dan Papua. Harga Kacang tunggak di petani

berkisar antara Rp 3.500 – 4.000 /kg dan mengalami penurunan saat panen raya (Haliza, 2008).

Selain memiliki harga yang relatif murah, kandungan gizi kacang tunggak tidak kalah dengan kacang lainnya terutama pada kandungan protein. Pada kacang kedelai kandungan protein sebesar 34,9 g/100 g, kacang hijau 22,2 g/100 g, kacang gude 20,7 g/100g, dan kacang bogor 16,0 g/100 g sedangkan kacang tunggak sebesar 22,9 g/100 g (Haliza dkk., 2007). Adapun tiap 100 g biji kacang tunggak mengandung 11 g air, 22,90 g protein, 1,40 g lemak, 61,60 g karbohidrat, 77,00 mg kalsium, 44,90 mg fosfor, 6,50 mg besi, 30,00 SI vitamin A, 0,92 mg vitamin B, dan 2,00 mg vitamin C (Feryanto, 2007 dalam Chalimah dan Mayasari, 2014). Kacang tunggak juga mengandung vitamin B (tiamin, riboflavin, nisin, dan asam folat), mineral (Ca, Fe, P, K, Zn, Mg, dan lain-lain), dan serat (Chalimah dan Mayasari, 2014).

Biji kacang tunggak yang utuh memiliki kadar serat kasar yang tinggi karena pada lapisan kulit ari kacang banyak mengandung serat seperti selulosa (Ratnaningsih dkk., 2009). Selain itu, pada lapisan biji kacang tunggak terkandung substansi pektin yang diikuti dengan komposisi gula ramnosa, arabinosa, xilosa, manosa, dan glukosa (Mwangwela, 2006). Biji kacang tunggak dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Biji Kacang Tunggak
Sumber: Dokumentasi Pribadi

E. Deskripsi dan Morfologi Buah Markisa Kuning

Markisa (*Passiflora* spp.) adalah tanaman hortikultura yang sering dibudidayakan di Indonesia dengan jenis antara lain markisa ungu (*Passiflora edulis* var. *edulis*), markisa konyal (*Passiflora lingularis*), markisa kuning (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*), dan markisa erbis (*Passiflora quadrangularis*) (Sitohang, 2013). Dalam spesies markisa asam terdapat dua forma yang berbeda yaitu forma *edulis* atau forma ungu dikenal dengan buah markisa ungu, yang termasuk dalam forma ini adalah markisa asam dengan kulit buah berwarna ungu, merah, atau hitam. Adapun forma *flavicarpa* atau forma kuning dikenal dengan markisa kuning yaitu markisa asam dengan kulit buah berwarna kuning (Karsinah dkk., 2010). Menurut Rukmana (2003), kedudukan taksonomi tanaman markisa kuning dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kedudukan Taksonomi Markisa Kuning

Divisi	Spermatophyta
Subdivisi	Angiospermae
Kelas	Dicotyledoneae
Ordo	Passiflorae
Famili	Passifloraceae
Genus	<i>Passiflora</i>
Spesies	<i>Passiflora edulis</i> var. <i>flavicarpa</i> Degener

(Rukmana, 2003)

Markisa kuning atau yang sering disebut buah *rola* atau *yellow passion fruit* merupakan hasil mutasi dari bentuk markisa ungu. Jenis ini banyak dibudidayakan secara komersial di Kuba, Puerto Riko, Suriname, Venezuela, Kolumbia, Haiti, dan Brasil. Di Indonesia, markisa kuning banyak di tanam di Pelabuhan Ratu, Sukabumi, dan Jawa Barat. Markisa kuning memiliki kadar sari buah yang tinggi dibandingkan dengan markisa ungu (Rukmana, 2003). Menurut Rukmana (2003), karakteristik markisa kuning sebagai berikut.

- a. Buah muda berwarna hijau sedangkan buah tua berwarna kuning berbintik-bintik putih.
- b. Buah berukuran sebesar bola tenis, berdiameter 5 cm – 6 cm, dan beraroma sangat kuat.
- c. Rasa buah asam dengan jus berwarna kuning sehingga cocok dibuat jus atau sirup.

Dalam 100 g bagian buah yang dapat dimakan terkandung air 69 – 80 g, protein 2,30 g, lemak 2,00 g (berada pada biji), karbohidrat 16 g, serat 3,50 g, kalsium 10 mg, besi 1,00 mg, vitamin A 20 SI, sedikit sekali tiamin, ribofalvin 0,10 mg, nisin 1,50 mg, dan vitamin C 20-80 g serta nilai energi sebanyak 385 kJ (Karsinah dkk., 2010). Adapun kandungan fitokimianya antara lain *passiflorine*, harmin, harman, harmol, harmalin, viteksin, isoviteksin, krisin, karoten, nisin, riboflavin, karotenoid 0,06 %, flavonoid 1,00 %, alkaloid 0,70 % (Sari dkk., 2013). Dalam buah markisa segar terkandung β -karoten yang merupakan antioksidan yang paling menonjol dari antioksidan lainnya (Kusumastuty, 2014). Berdasarkan FAO dalam Kusumastuty (2014), dalam

100 mL sari buah markisa mengandung 1070 μg β -karoten. Buah markisa kuning dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Buah Markisa Kuning
Sumber: Dokumentasi Pribadi

Buah markisa sangat berpotensi untuk diolah menjadi sirup dan bentuk pengolahan pangan lainnya karena kandungan gizinya tinggi. Akan tetapi, pemanfaatan jenis buah markisa kuning belum optimal bila dibandingkan dengan markisa ungu yang sering dimanfaatkan sebagai bahan baku utama industri pengolahan sari buah markisa dan sirup konsentrat. Di Indonesia, markisa kuning biasanya digunakan sebagai bahan jus markisa tetapi belum digunakan sebagai bahan baku industri sari buah markisa. Selain itu, pembudidayaan markisa kuning belum dilakukan secara komersial. Pada negara lain kultivar markisa kuning umum dibudidayakan sebagai bahan baku jus maupun konsentrat (Karsinah dkk., 2010).

F. Senyawa Antioksidan dan Pengukuran Aktivitas Antioksidan

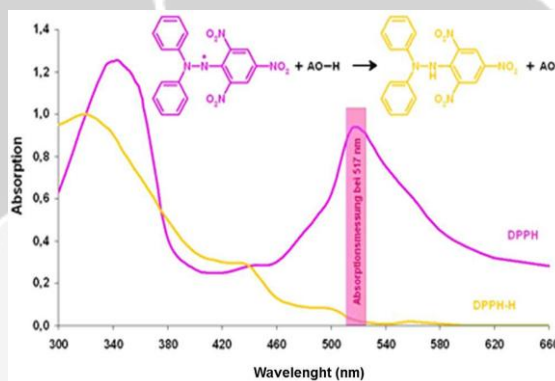
Radikal bebas adalah bahan kimia yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya sehingga berusaha melengkapinya dengan cara menambah atau mengurangi elektron, dan membagi elektron-elektronnya dengan bergabung dengan atom lainnya. Radikal bebas sangat

reaktif dan mudah bereaksi dengan berbagai molekul lain seperti lemak, protein, karbohidrat, dan DNA (Panjahitan dkk., 2009). Senyawa radikal ini terbentuk secara alami selama proses metabolisme di dalam tubuh. Apabila senyawa tersebut dihasilkan secara teratur dan jumlah cukup maka senyawa-senyawa tersebut mempunyai peranan dalam membantu keseimbangan sel dalam jaringan normal serta memberi isyarat dalam proses metabolisme tubuh (Palupi dan Martosupono, 2009). Akan tetapi, bila tidak terkendali maka pada akhirnya dapat merusak jaringan tubuh. Oleh karena itu, diperlukan senyawa lain yang dapat menangkal radikal bebas.

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas yang terbentuk sebagai hasil metabolisme oksidatif, yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh (Rohmatussolihat, 2009). Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi dua yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) (Palupi dan Martosupono, 2009). Pada bahan pangan, biasanya antioksidan sering dijumpai pada buah-buahan.

Metode yang dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan adalah metode spektrofotometri menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Keunggulan metode ini adalah lebih sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat (Hanani dkk., 2005). DPPH memiliki aktivitas penangkap radikal bebas yang tinggi dalam pelarut organik polar, seperti metanol atau etanol pada suhu

kamar. Dalam uji DPPH, penangkapan radikal DPPH disertai dengan penurunan serapan pada panjang gelombang 515 – 517 nm (Suryanto dkk., 2003 dalam Ardianti dkk., 2014). Reaksi perubahan warna pada DPPH ketika berikatan dengan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Reaksi Perubahan Warna Ungu DPPH menjadi Kuning ketika Berikatan dengan Antioksidan (Pérez dan Aguilar, 2013).

G. Senyawa Fenolik dan Pengukuran Total Fenolik

Senyawa fenol meliputi berbagai senyawa yang berasal dari tumbuhan yang memiliki ciri sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil (Harborne, 1987 dalam Yulia, 2007). Senyawa fenol merupakan salah satu sumber antioksidan non-gizi (Winarsi, 2007 dalam Putranti, 2013). Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena kerap kali berikatan dengan gula sebagai glikosida (Harborne, 1987 dalam Yulia, 2007). Analisis kandungan total fenolik dilakukan untuk mengetahui potensi suatu bahan dalam menangkal radikal bebas dan penstabil oksigen singlet (Dungkir dkk., 2012). Menurut Ramle dkk. (2008) dalam Dungkir dkk. (2012), tubuh manusia menghasilkan senyawa antioksidan tetapi jumlahnya seringkali tidak cukup menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh.

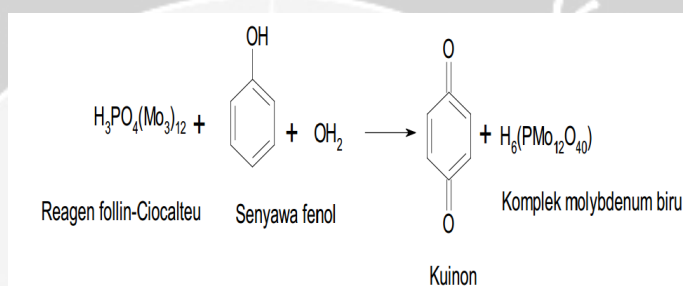
Komponen kimia yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa golongan fenolik dan polifenolik.

Senyawa fenol pada kacang-kacangan terdiri dari senyawa fenol sederhana dan kompleks. Kacang-kacangan mengandung campuran beberapa senyawa fenol yang dapat berfungsi sinergis dengan komponen lain dan berfungsi sebagai antioksidan dan pencegah berbagai penyakit (Meskin dkk., 2002 dalam Yulia, 2007). Senyawa fenolat atau senyawa polifenol merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan, antikanker, antiviral, dan antiinflamasi (Amin dkk., 2006 dalam Juanda dkk., 2016).

Pengujian aktivitas total fenol merupakan dasar dilakukan pengujian antioksidan karena diketahui bahwa senyawa fenolik berperan dalam mencegah terjadinya proses oksidasi (Yulia, 2007). Pengujian total fenol bertujuan untuk menentukan total senyawa fenolik yang terkandung di dalam sampel yang diduga bila kandungan senyawa fenolik di dalam sampel tinggi maka aktivitas antioksidannya akan tinggi (Shahidi dan Marian, 1995 dalam Yulia, 2007). Dalam menentukan besarnya kandungan total digunakan persamaan kurva standar asam galat. Penggunaan asam galat sebagai standar karena senyawa ini sangat efektif untuk membentuk senyawa kompleks dengan reagen Folin-Ciocalteu (Kiay dkk., 2011 dalam Dungir dkk., 2012).

Pada reagen Folin-Ciocalteu terdapat asam fosfomolibdat-fosfotungstat yang dapat bereaksi, akibatnya warna kuning dari Folin-Ciocalteu akan berubah menjadi warna biru (Suryanto, 2012 dalam Gagola dkk., 2014).

Sebagai standar digunakan asam galat karena asam galat merupakan turunan dari asam hidrosilbenzoat yang tergolong asam fenol sederhana. Pilihan asam galat sebagai standar didasarkan atas ketersediaan substansi yang stabil dan murni. Selain itu, asam galat lebih murah dibandingkan dengan senyawa standar lainnya. Reaksi Folin-Ciocalteu dengan senyawa fenolik yang ditandai dengan perubahan warna menjadi warna biru dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi Reagen Follin-Ciocalteu dengan Senyawa Fenol (Turisman dkk., 2012)

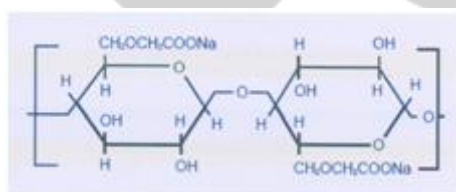
Kadar fenol total dihitung dengan memasukkan nilai serapan sampel pada panjang gelombang tertentu ke dalam persamaan garis regresi linear $Y = ax + b$, yang diperoleh dari kuva kalibrasi asam galat (Rahmawati, 2009). Kelebihan metode Folin-Ciocalteu yaitu dapat memberikan respon reaktif sama terhadap senyawa fenol yang berbeda. Akan tetapi, kekurangannya adalah memberikan respon seperti senyawa fenol terhadap sulfur dioksida dan gula (Wrolstad dkk., 2005 dalam Zulfahmi dan Nirmagustina, 2012).

H. Pengental *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC)

Produk industri, khususnya minuman selalu menggunakan bahan adiktif diantaranya rasa, zat pewarna, dan juga zat pengental dengan tujuan agar terjadi peningkatan kualitas rasa dan minat masyarakat terhadap produk

tersebut. *Carboxy Methyl Cellulose* atau karboksimetil selulosa (CMC) sebagai bahan aditif dan sudah banyak digunakan dalam berbagai industri karena tidak beracun dan secara umum tidak menimbulkan alergi dan bersifat inert, sehingga relatif sangat aman untuk digunakan atau dikonsumsi (Kamal, 2010). CMC adalah sebuah komponen yang dibuat dari enceng gondok dan telah dimodifikasi untuk karakteristik dengan sebuah sistem konstruksi basah pada media seperti metanol, propanol, dan air. CMC banyak digunakan dalam berbagai industri seperti detergen, cat, keramik, tekstil, kertas, dan makanan (Wijayani dkk., 2005).

Struktur CMC merupakan rantai polimer yang terdiri dari unit molekul selulosa. Setiap unit anhiroglikosa memiliki tiga gugus hidroksi dan beberapa atom hidrogen dari gugus hidroksil tersebut disubstitusi oleh karboksimetil. Gugus hidroksil yang tergantikan dikenal dengan derajat penggantian (*degree of substitution*) disingkat DS. Jumlah gugus hidroksil yang tergantikan atau nilai DS mempengaruhi sifat kekentalan dan sifat kelarutan CMC dalam air (Kamal, 2010). Struktur CMC dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur CMC (Kamal, 2010)

CMC merupakan molekul polimer berantai panjang dan karakteristiknya bergantung pada panjang rantai atau derajat polimerasi (DP). Nilai DS dan DP ditentukan oleh beberapa molekul polimer, dengan bertambah besar berat molekul CMC maka sifatnya sebagai zat pengental semakin

meningkat. Adapun sifat dan fungsi CMC antara lain mudah larut dalam air dingin maupun air panas, bersifat stabil terhadap lemak tetapi tidak larut dalam pelarut organik, baik sebagai bahan penebal, zat inert, maupun bersifat pengikat (Kamal, 2010). Menurut Badan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik dalam Kamal (2010), jumlah CMC yang diijinkan untuk bercampur dengan bahan lain adalah berkisar dari 0,50 hingga 3,00 % untuk mendapatkan hasil optimum.

I. Hipotesis

1. Kombinasi sari kacang tunggak dan sari buah markisa kuning menyebabkan perbedaan pengaruh terhadap kualitas (sifat fisik, kimia, mikrobiologis, dan organoleptik) dan kandungan antioksidan pada produk *yoghurt* kacang tunggak.
2. Kombinasi sari kacang tunggak sebesar 80 % dan sari buah markisa kuning sebesar 20 % merupakan perbandingan yang menghasilkan kualitas *yoghurt* dan kandungan antioksidan yang terbaik.