

VARIASI RASIO SARI BIT MERAH (*Beta vulgaris L.*), SUSU SKIM, DAN KULTUR STARTER TERHADAP KARAKTERISTIK YOGHURT SARI BIT MERAH

[THE VARIATION OF RED BEET (*Beta vulgaris L.*) JUICE RATIO, SKIM MILK, AND STARTER CULTURE TO RED BEET JUICE YOGURT]

Eveline^{1*} dan Ayu Anisa Nawangsih²

¹Dosen Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Sains dan Teknologi, UPH

Jl. M.H. Thamrin Boulevard, Kelapa Dua, Karawaci, Kelapa Dua, Tangerang, Banten 15810

²Alumni Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Sains dan Teknologi, UPH

Jl. M.H. Thamrin Boulevard, Kelapa Dua, Karawaci, Kelapa Dua, Tangerang, Banten 15810

*Korespondensi penulis : eveline.fti@uph.edu

ABSTRACT

Red beet (*Beta vulgaris L.*) is one of tuber plants that are usually consumed as juice and salad ingredients. Its bioactive and functional nutrition compound such as antioxidant, phenolic, and flavonoids made red beet application needs to be developed. This study aims to produce the best red beet yoghurt based on variations in beet juice ratio and the concentration of skim milk and starter. Red beet extract was made in 1:3, 1:4, and 1:5 (w/v) ratio. 1:3 ratio gave the best analysis results based on its antioxidant activity IC₅₀ of 93660.00 ppm, phenolic compound of 281.03 mg GAE/l, and flavonoids compound of 163.06 mg QE/l. This ratio was used in the next step to determine the skim milk concentration (6, 8, and 10%) and *Lactobacillus bulgaricus* : *Streptococcus thermophilus* 1:1 starter culture concentration (3, 5, and 7% [w/v]) in yogurt making process. pH, total titratable acidity (TAT), total lactic acid bacteria (LAB), viscosity, and coliform test was used as parameters to determine the 6% skim milk and 7% starter culture as the best result. Red beet yogurt with 4.12 pH, TTA of 0.78%, total LAB of 2.8×10^{10} CFU/ml, viscosity of 15688.00 cps, and no coliform; was then analyzed its antioxidant activity (IC₅₀), total flavonoids, total phenolic, proximate, toxicity, and hedonic test. Sequentially, the product's results were 296505.00 ppm (the result increased 316.58% after fermentation); 85.18 mg QE/ml; 149.24 mg GAE/l; 87.14% water, 0.82% ash content, 0.18% fat, 3.21% protein, 8.66% total carbohydrate (by difference); LC₅₀ 747.56 ppm (low toxicity); and it was still acceptable to consumers (hedonic score 4.94 of 7). All of the analysis results were refers to national and international standards.

Keywords : antioxidant, beet, fermentation, lactic, yoghurt

ABSTRAK

Bit merah (*Beta vulgaris L.*) merupakan salah satu jenis umbi-umbian yang biasa dikonsumsi sebagai jus dan bahan pembuatan salad. Kandungan senyawa bioaktif dan nutrisi fungsional seperti antioksidan, fenolik, dan flavonoid membuat pemanfaatan bit merah perlu dikembangkan. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan yoghurt bit merah terbaik berdasarkan variasi rasio sari bit serta konsentrasi susu skim dan *starter*. Awalnya, sari bit merah dibuat dengan rasio 1:3, 1:4, dan 1:5 (b/v). Rasio 1:3 memberikan hasil analisis terbaik berdasarkan aktivitas antioksidan IC₅₀ 93660,00 ppm, fenolik 281,03 mg GAE/l, dan flavonoid 163,06 mg QE/l. Rasio ini digunakan pada tahap selanjutnya untuk penentuan konsentrasi susu skim (6, 8, dan 10%) dan konsentrasi kultur starter *Lactobacillus bulgaricus* : *Streptococcus*

thermophilus 1:1 (3, 5, dan 7% [b/v]) dalam pembuatan yoghurt. Analisis pH, Total Asam Tertitrasi (TAT), total Bakteri Asam Laktat (BAL), viskositas, dan uji koliform menjadi parameter acuan untuk menentukan susu skim 6% dan kultur starter 7% sebagai konsentrasi yang memberikan hasil analisis terbaik. Yoghurt bit merah dengan pH 4,12, TAT 0,78%, total BAL $2,8 \times 10^{10}$ cfu/ml, viskositas 1568,00 cps, dan tanpa pertumbuhan koliform selanjutnya dianalisis aktivitas antioksidan (IC_{50}), total flavonoid, total fenolik, proksimat, toksisitas, dan uji hedonik. Secara berurutan hasil analisis produk 296505,00 ppm (meningkat 316,58% setelah fermentasi); 85,18 mg QE/ml; 149,24 mg GAE/l; air 87,14%, abu 0,82%, lemak 0,18%, protein 3,21%, karbohidrat (*by difference*) 8,66%; LC_{50} 747,56 ppm (toksik rendah); dan masih dapat diterima konsumen (hedonik 4,94 dari skala 7). Seluruh penentuan hasil analisis mengacu pada standar nasional dan internasional.

Kata kunci : antioksidan, bit, fermentasi, laktat, yoghurt

PENDAHULUAN

Bit merah (*Beta vulgaris* L.) adalah salah satu tanaman umbi di Indonesia. Kandungan gula tanaman ini cukup tinggi sehingga sering dijadikan bahan pembuatan jus dan salad (Usman dan Davidson, 2014). Bit merah mengandung betalain yang terdiri dari pigmen merah betasianin dan kuning betasantin yang dapat berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan (Wibawanto, *et al.*, 2014). Penelitian Santiago dan Yahia (2008) serta Willianto (2011) mendukung bahwa bit merah berpotensi menghambat 69,71% radikal bebas. Secara *in vitro*, betasianin dapat menghambat pertumbuhan sel kanker ovarium, kandung kemih dan menurunkan kerusakan oksidatif radikal bebas (Ravichandran, *et al.*, 2013).

Pemanfaatan bit merah sebagai pangan berpotensi antioksidan perlu ditingkatkan dari segi pengolahan, seperti sebagai minuman fermentasi asam laktat

yang mengandung asam laktat dan probiotik sehingga memberi manfaat kesehatan tubuh (Vasudha dan Mishra, 2013). Menurut penelitian Klewicka dan Czyzowska (2011), fermentasi jus bit yang mengandung *Lactobacillus* dapat meningkatkan kualitas probiotik dan aktivitas biologis betalain sehingga terbukti dapat meningkatkan kualitas fungsional produk. Mardianto, (2015) dan Kencana (2015) menambahkan, adanya proses fermentasi juga meningkatkan antioksidan (flavonoid dan fenolik) sehingga memberi nilai tambah produk minuman fermentasi.

Pada penelitian dilakukan penentuan antara bit merah terhadap air. Penelitian Viantono (2016), Retnowati dan Kusnadi (2014), serta Khotimah dan Kusnadi (2014) secara terpisah menemukan bahwa rasio terbaik yang dapat digunakan dalam pembuatan minuman fermentasi adalah 1:3, 1:4, dan 1:5. Ketiga rasio tersebut

menghasilkan hasil analisis parameter terbaik meliputi nilai pH, total asam tertitrasi (TAT), dan total bakteri asam laktat (BAL) serta sesuai dengan standar acuan yoghurt; oleh sebab itu dalam penelitian ini digunakan rasio bit merah dan air 1:3, 1:4, dan 1:5. Keberhasilan pembuatan yoghurt juga dipengaruhi oleh konsentrasi susu skim dan konsentrasi kultur starter. Penelitian terdahulu oleh Krisnaningsih, *et al.* (2013), Ngaini (2010), dan Istika (2012) yang secara berurutan menggunakan konsentrasi sebesar 6, 8, dan 10% dapat menghasilkan nilai pH dan asam laktat terbaik pada pembuatan yoghurt dan minuman probiotik serta sesuai dengan standard yang diacu. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, maka dalam penelitian ini digunakan konsentrasi susu skim sebanyak 6, 8, dan 10%. Penggunaan kultur starter pada penelitian ini mengacu pada penelitian Oktaviani, *et al.* (2014) dan Cahyadi (2015) yang masing-masing menggunakan 3% dan 5% kultur *L. bulgaricus* dan *S. thermophiles* untuk menghasilkan pH, nilai TAT dan total BAL terbaik dalam penelitiannya dan sesuai dengan standar yang diacu. Pada penelitian ini, selain 3% dan 5% juga dilakukan penambahan 7% kultur starter yang diharapkan dapat ditemukan kondisi

fermentasi yang lebih optimal daripada penelitian sebelumnya.

Beberapa standar yang digunakan sebagai sumber acuan dalam penelitian ini, antara lain BSN (2009) sebagai standar nasional serta CODEX (2011), IDFA (2004), dan FSANZ (2014) sebagai standar internasional. Standar-standar ini digunakan sebagai acuan hasil analisis untuk menentukan konsentrasi susu skim, dan konsentrasi kultur starter berdasarkan analisis nilai pH, nilai TAT, dan total BAL. Adapun analisis lain guna menentukan dan mengidentifikasi karakteristik yoghurt terpilih: aktivitas antioksidan, total fenolik, total flavonoid, viskositas, total koliform, uji toksisitas, proksimat, dan uji hedonik; sehingga diharapkan akan dihasilkan yoghurt bit merah yang memenuhi standar yoghurt dan dapat diterima oleh panelis secara nutrisi fungsional dan sensori.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam pembuatan *yoghurt* bit merah adalah umbi bit merah (*Beta vulgaris L.*), sukrosa, susu skim, gelatin, akuades, air demineralisasi, kultur murni *Lactobacillus bulgaricus American Type Culture Collection* (ATCC) 6616 dan *Streptococcus thermophilus* ATCC

2775. Bahan untuk analisis antara lain: *Man Ragosa Sharpe Agar* (MRSA) dan *Man Ragosa Sharpe Broth* (MRSB), alkohol 70% dan 90%, larutan dye, buffer pH 4, buffer pH 7, methanol, indikator *bromthymol blue*, kristal violet, lugol, safranin, asam gallat, *quercetin*, *Folin Ciocalteau*, Na_2CO_3 7,5%, AlCl_3 2%, etanol *Pro Analysis* (PA), etanol teknis, FeCl_3 5%, larutan *1,1 Dyphenyl-2-Picrylhydrazyl* (DPPH).

Peralatan yang digunakan antara lain: *vortex*, *laminar air flow*, timbangan analitik, inkubator, autoklaf, pH meter, jarum ose, tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, mikropipet, tip, Erlenmeyer, *hand counter*, korek api, spatula, batang pengaduk, *aluminium foil*, gelas piala, pisau, kain saring, *blender*, pipet volumetrik, pipet tetes, *bulp pump*, oven pengering, wadah plastik, corong, labu takar, spektrofotometer 380, *centrifuge*, *tissue*, plastik *wrap*, kuvet.

Metode Penelitian

Tahap penelitian terdiri dari tahap pembuatan sari bit merah, tahap I dan tahap II. Tahap pembuatan sari bit merah meliputi pengupasan umbi bit dari kulit dan daun, pemotongan, penghancuran dengan blender (bit merah : air = 1:3, 1:4, 1:5 [b/v]), dan penyaringan. Sari bit merah sesuai masing-masing rasio kemudian digunakan dalam penelitian tahap I. Penelitian tahap dilakukan

analisis terhadap ketiga rasio sari bit merah (1:3, 1:4, 1:5 [b/v]), antara lain aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Modifikasi Fitriana, *et al.*, 2015), total fenolik (Modifikasi Djapiala, *et al.*, 2013), dan total flavonoid (Selawa, *et al.*, 2013). Rasio yang memberikan hasil analisis terbaik kemudian digunakan untuk pembuatan yoghurt pada penelitian tahap II. Rancangan percobaan pada penelitian tahap I adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor (ratio umbi bit merah terhadap air) memuat tiga level (1:3 [A1], 1:4 [A2], 1:5 [A3]) dengan pengulangan tiga kali.

Penelitian tahap II dilakukan dengan menambahkan gula 3% (b/v), susu skim 6, 8, dan 10% (b/v), dan gelatin 0,2% (b/v) pada sari bit merah terpilih. Pasteurisasi dilakukan (80°C , 15 menit) dan didinginkan hingga 45°C . Starter *L. bulgaricus* (usia 10 jam) dan *S. thermophilus* (usia 10 jam) dengan rasio 1:1 diinokulasikan sebanyak 3, 5, dan 7% dan dilakukan inkubasi pada suhu 42°C selama 10 jam. Minuman fermentasi bit merah kemudian dianalisis nilai pH (AOAC, 2005), TAT (Erwin dan Panggabean, 2015), viskositas (AOAC, 2005), total BAL (Kumalasari, *et al.*, 2012) dan total koliform (Wahjuningsih, 2001). Konsentrasi susu skim dan konsentrasi starter yang dapat memberikan hasil analisis

terbaik dan sesuai dengan standar BSN (2009), CODEX (2011), IDFA (2004), dan FSANZ (2014) ditentukan sebagai konsentrasi terpilih. Minuman fermentasi dari formulasi terpilih kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan (Modifikasi Fitriana, *et al.*, 2015), total flavonoid (Selawa, *et al.*, 2013), total fenolik (Modifikasi Djapiala, *et al.*, 2013), uji toksisitas (Lisdawati, *et al.*, 2006), proksimat (AOAC, 2005), dan uji hedonik (Modifikasi Suryaningrum, *et al.*, 2010). Rancangan percobaan penelitian tahap II adalah RAL dua faktor. Faktor pertama (konsentrasi susu skim) memuat 3 level (6% [A1], 8% [A2], dan 10% [A3]) dengan pengulangan tiga kali; sedangkan faktor kedua (konsentrasi kultur starter *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* 1:1) memuat 3 level (3% [B1], 5% [B2], dan 7% [B3]).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian Tahap I

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron yang dapat menangkal dampak negatif oksidan dalam tubuh. Penggunaan metode analisis DPPH dilakukan untuk mengukur absorbansi untuk selanjutnya dihitung persentase inhibisi yaitu banyaknya aktivitas senyawa antioksidan yang dapat menghambat radikal

bebas sebanyak 50% *Inhibitory Concentration 50* (IC_{50}) (Molyneux, 2004). Hasil uji statistik *one way Anova* menunjukkan bahwa rasio bit merah dengan air berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan sari bit merah ($p<0,05$) (Tabel 1). Rasio 1:3 menghasilkan nilai terbaik dalam penghambatan 50% radikal bebas, sebesar 93660 ppm. Semakin banyak buah yang ditambahkan dalam suatu larutan, maka aktivitas antioksidan semakin tinggi. Kandungan pigmen betalain yang juga merupakan golongan antioksidan berkontribusi terhadap nilai antioksidan yang dihasilkan (Oktaviani *et al.*, 2014).

Senyawa lain yang dapat berkontribusi dalam peningkatan aktivitas antioksidan adalah senyawa fenolik. Perubahan warna kuning menjadi kebiruan apabila direaksikan dengan Folin-Ciocalteau dan sodium karbonat menunjukkan adanya keberadaan senyawa fenolik dalam sampel (Djapiala *et al.*, 2013). Hasil uji statistik rasio bit merah dengan air mempengaruhi total fenolik pada sari bit merah ($p<0,05$) (Tabel 1). Rasio 1:3 menghasilkan total fenolik tertinggi di antara rasio lainnya, yaitu 281,03 mg GAE/l. Adanya pengenceran menyebabkan kandungan sari bit merah menjadi lebih

sedikit sehingga kandungan fenolik semakin kecil (Primurdia dan Kusnadi, 2014).

Senyawa flavonoid tergolong fenolik yang banyak pada tumbuhan. Perubahan warna sampel menjadi kekuningan ketika direaksikan dengan AlCl_3 menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid dalam sampel (Selawa *et al.*, 2013). Standar yang digunakan dalam pengukuran ini adalah kuersetin. Hasil uji statistik *one way Anova* menunjukkan bahwa rasio bit merah dengan air berpengaruh terhadap total flavonoid sari bit merah ($p<0,05$) (Tabel 1). Kandungan flavonoid tertinggi terdapat pada sari bit merah dengan rasio 1:3, yaitu sebesar 163,06 mg QE/l. Sama halnya seperti analisis aktivitas antioksidan dan total fenolik bahwa adanya pengenceran menyebabkan semakin rendahnya kandungan senyawa bioaktif di dalam sampel (Primurdia dan Kusnadi, 2014).

Uji korelasi Pearson dilakukan untuk menguji hubungan antara total fenolik dengan nilai IC_{50} dan antara total flavonoid dengan nilai IC_{50} . Kekuatan korelasi dinyatakan dengan koefisien korelasi (r)

(Leblanc, 2004), dengan penggolongan korelasi: $<0,35$ = lemah; $0,36-0,67$ = sedang; $0,68-1,00$ = kuat. Hasil uji statistik korelasi menyatakan nilai koefisien korelasi Fenolik – IC_{50} adalah $-0,86$ dan Flavonoid – IC_{50} adalah $-0,90$. Hal ini mengindikasikan, baik senyawa fenolik maupun senyawa flavonoid memiliki korelasi kuat terhadap nilai aktivitas antioksidannya. Simbol negatif di awal nilai korelasi menyatakan hubungan kedua variabel berbanding terbalik, namun oleh karena semakin rendah IC_{50} menyatakan semakin tinggi nilai aktivitas antioksidan, maka hubungan kedua variabel tersebut menyatakan berbanding lurus. Artinya, baik fenolik maupun flavonoid, keduanya berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan. Brewer (2011) menyatakan komponen fenolik dan flavonoid memiliki peran terhadap aktivitas antioksidannya. Pigmen betalain pada bit merah merupakan senyawa antioksidan yang tergolong fenolik serta sering dijadikan sebagai antioksidan dan *radical scavenging* melawan stress oksidatif (Setiawan, *et al.*, 2015).

Tabel 1. Hasil penelitian tahap I (IC_{50} , total fenolik, dan total flavonoid)

Bit : Air	Aktivitas Antioksidan IC_{50} (ppm)	Total Fenolik (mg GAE/l)	Total Flavonoid (mg QE/l)
1:3	$(93660 \pm 3323,18)^a$	$(281,03 \pm 5,85)^m$	$(163,06 \pm 3,78)^z$
1:4	$(103901 \pm 3528,05)^b$	$(220,72 \pm 2,81)^l$	$(131,09 \pm 3,45)^y$
1:5	$(113946 \pm 4878,97)^c$	$(206,19 \pm 4,42)^k$	$(96,60 \pm 2,20)^x$

Keterangan: Perbedaan notasi menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$)

Berdasarkan hasil analisis pada penelitian tahap I, maka rasio sari bit merah 1:3 ditentukan sebagai rasio terpilih yang selanjutnya digunakan dalam penelitian tahap II. Rasio ini menghasilkan IC₅₀, total fenolik, dan total flavonoid tertinggi dibandingkan rasio lainnya, yaitu secara berurutan 93660 ppm; 281,03 mg GAE/l, dan 163,06 mg QE/l.

Penelitian Tahap II

Pengukuran nilai pH dilakukan untuk mengukur konsentrasi ion hidrogen pada suatu larutan; dalam hal ini adalah asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi sehingga dapat meningkatkan keasaman dan menurunkan nilai pH (Buck, *et al.*, 2002 dan Jannah, *et al.*, 2014). Hasil uji statistik menunjukkan bahwa konsentrasi kultur dan konsentrasi susu skim tidak berinteraksi mempengaruhi nilai pH yoghurt yang dihasilkan ($p>0,05$). Namun konsentrasi kultur berpengaruh terhadap nilai pH yoghurt ($p<0,05$). Tabel 2 menunjukkan bahwa semakin banyak kultur yang ditambahkan maka pH akan semakin menurun. Adanya interaksi *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* dalam menghasilkan asam laktat akan menurunkan nilai pH. Peningkatan asam laktat awalnya diakibatkan oleh pertumbuhan *S.*

thermophilus. Saat nilai pH berkisar pH 5, *L. bulgaricus* tumbuh lebih baik dan semakin meningkatkan produksi asam laktat (Siregar, *et al.*, 2014). Asam laktat yang dihasilkan kedua kultur berkontribusi terhadap peningkatan ion H⁺ sehingga terjadi penurunan pH (Dibyanti, *et al.*, 2013).

Hasil uji statistik konsentrasi susu skim menunjukkan adanya pengaruh terhadap nilai pH yoghurt ($p<0,05$). Semakin tinggi konsentrasi susu skim, maka nilai pH yang dihasilkan semakin tinggi (Tabel 2). Krisnaningsih dan Efendi (2013) menyatakan, susu skim sebagai sumber laktosa yang diurai BAL menghasilkan asam laktat (menurunkan pH); namun Sari (2014) menambahkan, selain sebagai sumber nutrisi BAL, susu skim berperan sebagai *buffer* yang mempertahankan nilai pH. Akibatnya, pembentukan asam semakin sedikit seiring dengan peningkatan konsentrasi susu skim.

Tabel 2. Hasil penelitian tahap II (pH)

	pH
Susu Skim (%)	
6	(4,12±0,09) ^a
8	(4,24±0,11) ^b
10	(4,31±0,12) ^c
Kultur Starter (%)	
3	(4,36±0,11) ^k
5	(4,19±0,10) ^l
7	(4,12±0,06) ^m

Keterangan: Perbedaan notasi menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$)

Nilai TAT merupakan persentase asam dalam bahan yang ditentukan menggunakan titrasi dengan basa standar, dinyatakan dengan persen asam laktat (Herawati, 2009). Hasil uji statistik menyatakan, konsentrasi kultur dan konsentrasi susu skim saling berinteraksi mempengaruhi total TAT yoghurt bit merah ($p<0,05$). Peningkatan konsentrasi kultur dan konsentrasi susu skim memberikan peningkatan asam oleh BAL selama proses fermentasi (Tabel 3). Septiani, *et al.* (2013) menyatakan, TAT meningkat ketika kultur kerja semakin banyak digunakan karena terjadi peningkatan hasil urai laktosa menjadi asam laktat oleh BAL. Laktosa yang diurai oleh BAL merupakan kandungan dari susu skim yang digunakan sebagai sumber nutrisi BAL. Menurut Siregar, *et al.* (2014), semakin tinggi susu skim maka semakin tinggi sumber laktosa yang dipecah BAL menjadi asam laktat.

Total bakteri asam laktat merupakan salah satu parameter untuk menentukan konsentrasi kultur dan susu skim terbaik. Hasil uji statistik konsentrasi kultur dan konsentrasi susu skim menunjukkan bahwa terdapat interaksi kedua faktor yang mempengaruhi total BAL pada yoghurt yang dihasilkan ($p<0,05$). Adanya peningkatan konsentrasi baik pada kultur maupun susu skim, memberikan peningkatan jumlah sel BAL (Tabel 3). Dibyanti, *et al.* (2013) menyatakan, penambahan kultur *starter* akan berpengaruh terhadap jumlah BAL yang hidup pada produk akhir. Susu skim yang merupakan sumber nutrisi laktosa bagi BAL juga berperan meningkatkan jumlah sel BAL saat penambahannya semakin meningkat. Legowo (2009) menjelaskan bahwa sumber karbon dari laktosa susu berfungsi sebagai nutrisi pertumbuhan dan perkembangan metabolit BAL.

Tabel 3. Hasil analisis penelitian tahap II (TAT, total BAL)

Skim Milk (%)	Kultur Starter (%)	TAT (%)	Total BAL (Log cfu/ml)	Viskositas (cps)	Koliform
6	3	(0,65 ± 0,04) ^a	(9,91 ± 0,04) ^k	(1116,50 ± 21,86) ^s	-
	5	(0,67 ± 0,05) ^a	(9,15 ± 0,08) ^l	(1365,00 ± 48,12) ^t	-
	7	(0,77 ± 0,08) ^b	(10,28 ± 0,04) ^m	(1568,00 ± 64,16) ^u	-
8	3	(0,68 ± 0,02) ^a	(9,13 ± 0,11) ^l	(1771,00 ± 33,75) ^v	-
	5	(0,73 ± 0,07) ^{ab}	(9,11 ± 0,05) ^l	(2401,00 ± 57,83) ^w	-
	7	(0,93 ± 0,04) ^c	(10,26 ± 0,07) ^m	(2625,00 ± 48,12) ^x	-
10	3	(0,93 ± 0,04) ^c	(9,21 ± 0,06) ^l	(2656,50 ± 93,32) ^x	-
	5	(0,98 ± 0,02) ^c	(9,17 ± 0,11) ^l	(2789,00 ± 64,16) ^y	-
	7	(1,01 ± 0,04) ^c	(10,28 ± 0,05) ^m	(3045,00 ± 54,56) ^z	-

Keterangan: Perbedaan notasi menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$)

Viskositas merupakan suatu parameter uji yang digunakan untuk mengetahui besarnya tahanan bahan terhadap tekanan yang ada. Hasil uji statistik konsentrasi kultur dan konsentrasi susu skim memberikan pengaruh interaksi terhadap nilai viskositas yoghurt sari bit merah ($p<0,05$). Peningkatan konsentrasi kultur dan konsentrasi susu skim memberikan peningkatan nilai viskositas pada yoghurt bit merah (Tabel 3). Menurut Manab (2007), kultur BAL berperan dalam menghasilkan gumpalan endapan kasein akibat kondisi asam yang dihasilkan. Hal ini diiringi juga dengan adanya laktosa susu skim yang berkontribusi dalam pembentukan asam laktat. Suasana asam di bawah titik isoelektrik kasein menyebabkan protein susu tersebut mengalami pengendapan dan penggumpalan (Herawati, 2009).

Keberadaan koliform digunakan sebagai indikasi adanya bakteri patogen (Ayustaningawrno, *et al.*, 2014). Hasil pengujian koliform pada seluruh sampel perlakuan yoghurt bit merah menunjukkan hasil negatif. Fermentasi BAL dapat memecah komponen karbohidrat menjadi molekul organik yang bertindak sebagai antimikroba. *L. bulgaricus* menghasilkan bakteriosin *bulgarican*, sedangkan *S. thermophilus* memproduksi bakteriosin

seperti STB 40 dan 78, ST 10, dan *thermophilin* 13 (Ouwehand dan Vesterlund, 2004). Ray (2004) menambahkan, mekanisme penghambatan lain dapat terjadi karena asam laktat tidak terdisosiasi dapat menembus membran sel bakteri Gram negatif, serta rendahnya nilai pH akan mengganggu aktivitas enzim sehingga sel koliform tidak dapat bermetabolisme.

Pada penentuan formulasi terbaik yoghurt bit merah, maka nilai pH, TAT, dan total BAL menjadi parameter yang digunakan sebagai penentu utama pemilihan konsentrasi susu skim (6, 8, dan 10%) dan konsentrasi kultur starter (3, 5, dan 7%) oleh karena keempat standar yang digunakan, mencantumkan batasan bagi parameter-parameter ini. Berdasarkan analisis yang dilakukan pada penelitian tahap II, maka penambahan susu skim 6% dan kultur starter 7% terpilih sebagai formulasi yang memberikan hasil analisis terbaik dan sesuai dengan keempat regulasi yoghurt. Tabel 4 menunjukkan perbandingan hasil dari yoghurt dengan formulasi terpilih dan batasan ketiga parameter utama dari keempat standar. Yoghurt bit merah dengan formulasi terpilih (rasio bit merah : air = 1:3, susu skim 6%, dan kultur starter 7% memberikan nilai pH 4,12; nilai TAT 0,78%; dan total BAL $2,8 \times 10^{10}$ cfu/ml.

Analisis yoghurt bit merah formulasi terpilih dilakukan: aktivitas antioksidan, total fenolik, total flavonoid, proksimat, toksisitas, dan hedonik. Yoghurt bit merah memiliki aktivitas antioksidan 296505,00 ppm (Tabel 5). Nilai ini ($IC_{50} > 200$ ppm) termasuk dalam aktivitas antioksidan sangat lemah menurut Molyneux (2004). Demikian juga nilai aktivitas antioksidan sari bit merah (93660,00 ppm). Menurut Hanifan, *et al.* (2016), proses pembuatan sari bit merah dengan *juicer* membuat senyawa-senyawa yang berkontribusi sebagai antioksidan banyak tertinggal pada ampas bit sehingga tidak terikut ke dalam produk yoghurt. Sutedjo dan Nisa (2015) serta Setiawan, *et al.* (2015) menambahkan, proses bersuhu lebih dari 65-70°C dapat menyebabkan pigmen betalain tidak stabil, baik yang termasuk dalam kelompok betasianin (merah

keunguan) ataupun betasantin (kuning); demikian juga pada senyawa-senyawa lain yang dapat berkontribusi sebagai senyawa antioksidan seperti fenolik dan flavonoid. Uji korelasi antara total fenolik terhadap IC_{50} dan total flavonoid terhadap IC_{50} yoghurt bit merah menghasilkan keduanya berturutan menghasilkan -0,95 dan -0,97 (korelasi kuat). Ini berarti antioksidan yang terkandung dalam yoghurt bit merah sebagian besar dikontribusikan oleh senyawa fenolik dan flavonoid. Tabel 5 juga memperlihatkan adanya penurunan total senyawa flavonoid dan fenolik. Selawa, *et al.* (2013) dan Husni, *et al.* (2014) menyatakan, proses pemanasan dapat mengakibatkan penurunan kadar flavonoid dan fenolik sebanyak 15-75% karena adanya proses degradasi senyawa flavonoid dan fenolik oleh suhu tinggi (di atas 65-70°C).

Tabel Error! No text of specified style in document.. Perbandingan nilai pH, TAT, BAL dengan regulasi yogurt

	Yoghurt (Skim 6%; Kultur 7%)	BSN (2009)	CODEX (2011)	IDFA (2004)	FSANZ (2014)
pH	4,12	-	-	Maks. 4,60	Maks. 4,50
TAT	0,78%	0,5-2,0%	Min. 0,6%	0,7-0,9%	-
BAL	$2,8 \times 10^{10}$ cfu/ml	10^7 cfu/g	10^7 cfu/g	10^7 cfu/g	10^7 cfu/g

Tabel 5. Hasil analisis yoghurt bit merah (IC_{50} , total flavonoid, total fenolik, proksimat, toksisitas, hedonik)

	Aktivitas Antioksidan IC_{50} (ppm)	Total Flavonoid (mg QE/l)	Total Fenolik (mg GAE/l)
Sari Bit Merah	$93660,00 \pm 3323,18$	$163,06 \pm 3,78$	$281,03 \pm \pm 5,85$
Yoghurt Bit Merah	$296505,00 \pm \pm 733,16$	$85,18 \pm 2,97$	$147,94 \pm 1,87$

Tabel 6. Hasil proksimat yogurt bit merah

Parameter	Yogurt Bit Merah	Standar SNI	Standar CODEX
Air (%)	87,14	-	-
Abu (%)	0,82	Maks. 1,00	-
Lemak total (%)	0,18	Min. 3,00	Maks. 15,00
Protein (%)	3,21	Min. 2,70	Min. 2,70
Karbohidrat (%) (<i>by difference</i>)	8,66	-	-

Sumber: BSN (2009) dan CODEX (2011)

Uji proksimat yoghurt bit merah dilakukan untuk mengetahui kandungan nutrisi, selanjutnya hasil uji dibandingkan dengan standar SNI (BSN, 2009) dan CODEX (2011). Hasil proksimat produk yogurt bit merah telah memenuhi standar proksimat yang ditetapkan SNI, kecuali kandungan lemak totalnya, tetapi masih memenuhi persyaratan yang ditetapkan oleh CODEX (Tabel 6). Selama fermentasi, terjadi sintesis protein dari lemak sehingga kadar lemak yogurt bit merah tergolong rendah (Herawati dan Wibawa, 2006).

Pengujian toksisitas dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan produk, namun pengujian ini adalah pengujian awal untuk menuju pengujian lain yang lebih kompleks. Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) digunakan untuk menghasilkan LC₅₀ (*Lethal Concentration 50*); jumlah produk yang diperlukan untuk membunuh 50% larva udang. Menurut Onzago, *et al.* (2014), LC₅₀ 0-100 ppm: toksik kuat, LC₅₀

100-500 ppm: toksik sedang, LC₅₀ 500-1000 ppm: toksik rendah, dan LC₅₀ > 1000 ppm: tidak toksik. LC₅₀ yoghurt bit merah 747,56 ppm (toksik rendah). Menurut Atmoko dan Ma'ruf (2009). Bit merah mengandung flavonoid yang berfungsi aktif sebagai antimikroba dan antivirus sehingga dapat membunuh *Artemia salina* (*brine shrimp*).

Pengujian hedonik dilakukan untuk mengetahui tingkat kesukaan (penerimaan) panelis terhadap yoghurt bit merah. Uji ini dilakukan terhadap 70 panelis semi terlatih. Skala pengujian terdiri dari 7: sangat tidak suka (1), tidak suka (2), agak tidak suka (3), netral (4), agak suka (5), suka (6), sangat suka (7). Rata-rata hasil dari setiap parameter hedonik yang dihasilkan adalah warna 6,07; aroma 3,26; rasa 5,02; kekentalan 4,94; dan secara keseluruhan 4,53 (netral). Hasil ini berarti produk masih dapat diterima oleh panelis, namun membutuhkan perbaikan, terutama dari segi aroma. Yoghurt menghasilkan *earthy aroma*

yang kurang disukai oleh konsumen (Widyaningrum dan Suhartiningsih, 2014).

KESIMPULAN

Pembuatan yoghurt bit merah (*Beta vulgaris L.*) dengan rasio bit merah terhadap air sebesar 1:3, penambahan susu skim 6% dan penambahan kultur starter *L. bulgaricus* : *S. thermophilus* = 1:1 sebanyak 7% menghasilkan yoghurt dengan kriteria analisis terbaik dan sesuai dengan standar yoghurt yang ditetapkan oleh nasional maupun internasional. Secara berurutan nilai pH, TAT, dan total BAL yang dihasilkan adalah 4,12; 0,78%; $2,8 \times 10^{10}$ cfu/ml.

Yoghurt bit merah dengan formula terpilih ini memiliki aktivitas antioksidan 296505 ppm (meningkat 316,58% setelah fermentasi); total fenolik 149,24 mg GAE/l; total flavonoid 85,18 mg QE/l; dengan komponen proksimat antara lain: air 87,14%; abu 0,82%; lemak 0,18%, protein 3,21%, dan karbohidrat (*by difference*) 8,66%. Produk dinyatakan aman untuk dikonsumsi baik secara nilai toksisitas LC₅₀ 747,56 ppm (toksik rendah) maupun secara mikrobiologis (bebas mikroorganisme koliform), serta secara hedonik masih dapat diterima oleh konsumen (4,53 dari 7,00).

DAFTAR PUSTAKA

Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 2005. Official Methods of

Analysis of AOAC International. Madison : AOAC International.

Atmoko, T., dan Ma'ruf, A. 2009. Uji toksisitas dan skrining fitokimia ekstrak tumbuhan sumber pakan orangutan terhadap larva *Artemia salina* L. Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam 6 (1) : 37-45.

Ayustaningawro, F., Retnaningrum, G., Safitri, I., Anggraheni, N., Suhardinatam, F., Umami, C., dan Rejeki, M. S. W. 2014. Aplikasi Pengolahan Pangan. Yogyakarta : Deepublish Publisher.

Badan Standarisasi Nasional (BSN). 2009. SNI 2981 : 2009 Yogurt. Jakarta: BSN.

Brewer, M. S. 2011. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. Journal of Agricultural Food Chemistry 60 (1) : 221-247.

Buck, R. P., Rondinini, S., Covington, A. K., Baucke, F. G. K., Brett, C. M. A., Canoes, M. F., Milton, M. J. T., Mussini, T., Nauman, R., Pratt, K. W., Spitzer, P., and Wilson, G. S. 2002. Measurement of pH : Definition, Standards, and Procedures. Pure Applied Chemistry 74 (11) : 2169-2200.

Cahyadi, T. 2016. Effect of Tempeh to Red Rice Ratio, Pre-Treatment, and Fermentation Time towards The Characteristic of Yogurt. Food Technology, Tangerang, Indonesia : University of Pelita Harapan. Skripsi.

- CODEX. 2011. CODEX Standard for Fermented Milks 243-2003. Rome: WHO.
- Dibyanti, P., Radiati, L. E., dan Rosyidi, D. 2013. Pengaruh penambahan konsentrasi kultur dan waktu inkubasi terhadap pH, kadar keasaman, viskositas dan sineresis set yoghurt. Download from <http://fapet.ub.ac.id/wp-content/uploads/2014/01/>.pdf> on 4/2/2016.
- Djapiala, F. Y., Lita, A. D. Y., dan Montolalu, F. M. 2013. Kandungan total fenol dalam rumput laut (*Caulerpa racemosa*) yang berpotensi sebagai antioksidan. Download from <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmthp/article/download/1859/1468> on 4/21/2016
- Erwin, M. A. N., dan Panggabean, A. S. 2015. Pemanfaatan ekstrak kubis ungu (*Brassica oleracea* L.) sebagai indikator asam basa alami. Jurnal Kimia Mulawarman 13 (1) : 15-18.
- Fitriana, W. D., Fatmawati, S., dan Ersam, T. 2015. Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari fraksi-Fraksi daun kelor (*Moringa oleifera*). Prosiding Simposium Nasional Inovasi dan Pembelajaran Sains : 657-660.
- Food Standards Australia New Zealand Act (FSANZ). 2014. Standards 2.5.3 Fermented Milk Products. Australia: Food Standards Australia New Zealand Act.
- Hanifan, F., Ruhana, A., dan Hidayati, D. Y. N. 2016. Pengaruh substitusi sari umbi bit (*beta vulgaris* l.) Terhadap kadar kalium, pigmen betalain, dan mutu organoleptik permen jeli. Majalah Kesehatan FKUB (3) 1 : 33-41.
- Herawati, A. 2009. Karakteristik Fisik Granul Kultur Starter Yogurt dengan Sinbiotik Terenkapsulasi dan Aplikasinya. Ilmu dan Teknologi Pangan, Bogor, Indonesia. Skripsi.
- Herawati, D.A., dan Wibawa, D. A. D. 2006. Pengaruh konsentrasi susu skim dan waktu fermentasi terhadap hasil pembuatan soyghurt. Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan 1 (2) : 48-58.
- Husni, A., Putra, D. R., dan Lelana, I. Y. B. 2014. Aktivitas antioksidan *Padina* sp. pada berbagai suhu dan lama pengeringan. JPB Perikanan 9 (2) : 165-173.
- International Dairy Foods Association (IDFA). 2004. Milk and Cream Products and Yogurt Products. Rockville : IDFA.
- Istika, D. 2012. Pengaruh Variasi Konsentrasi Susu Skim dan Tepung Ganyong (*Canna edulis* Ker.) pada Minuman Probiotik. Teknologi Pangan, Solo, Indonesia : Universitas Sebelas Maret. Skripsi.
- Jannah, A. M., Legowo, A. M.M., Pramono, A. M., Al-Baarri, A. N., dan Abduh, B. M. 2014. Total bakteri asam laktat, pH, keasaman, citrasa dan kesukaan yogurt drink dengan penambahan ekstrak buah belimbing. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 3 (2) : 7-11.
- Kencana, A. H. 2015. Aplikasi minuman fermentasi kulit melinjo sebagai anti asam urat pada tikus Wistar.

- Teknologi Pangan, Tangerang, Indonesia : Universitas Pelita Harapan. Skripsi.
- Khotimah, K., dan Kusnadi, J. 2014. Aktivitas antibakteri minuman probiotik sari kurma (*Phoenix dactilyfera* L.) menggunakan *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei*. Jurnal Pangan dan Argoindustri 2 (3) : 110-120.
- Klewicka, E., and Czywoska, A. 2011. Biological stability of lactofermented beetroot juice during refrigerated storage. Pol. J. Food Nutritional Science 61 (4) : 251-256.
- Krisnaningsih, A. T. N., dan Efendi, A. 2013. Pengaruh penggunaan level susu skim dan masa inkubasi pada suhu ruang terhadap pH dan organoleptik *stirred yogurt*. Download from <http://repository.unikama.ac.id/254/4/Jurnal%20alam%20hijau%20artikel%20yogurt.pdf> on 9/18/2016.
- Kumalasari, K. E. D., Nurwantoro, dan S. Mulyani. 2012. Pengaruh kombinasi susu dengan air kelapa terhadap total Bakteri Asam Laktat (BAL), Total gula dan keasaman *drink yoghurt*. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 1 (2) : 48-53.
- Leblanc, D. 2004. Statistics : Concept and Applications for Science. Canada : Jones and Bartlett Publisher.
- Legowo, A. M., Kusrahayu, dan Mulyani, S. 2009. Ilmu dan Teknologi Pengolahan Susu. Semarang : Universitas Diponogoro.
- Lisdawati, V., Sumali, W., dan Kardono, L. B. S. 2006. Brine Shrimp Lethality Test (BLST) dari berbagai fraksi ekstrak daging buah dan kulit biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). Buletin Penelitian Kesehatan 34 (3) : 111-118.
- Manab, A. 2007. Kajian sifat fisik yogurt selama penyimpanan pada suhu 4°C. Program Studi Teknologi Hasil Ternak 3 (1) : 48-53.
- Mardianto. 2015. Peranan Minuman Fermentasi Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Antikolesterol Pada Tikus *Sprague Dawley*. Teknologi Pangan, Tangerang, Indonesia : Universitas Pelita Harapan, S.TP. Skripsi.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science Technology 26 (2) : 211-219.
- Ngaini, N. 2010. Pengaruh Variasi Konsentrasi Susu Skim dan Lama Fermentasi terhadap Kadar Protein dan Kadar Asam Laktat Yogurt Jagung (*Zea mays* L.). Biologi, Yogyakarta, Indonesia : Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga. Skripsi.
- Oktaviani, H., Radiati, L. E., dan Rosyidi, D. 2014. Pengaruh penambahan kultur tunggal dan campuran dengan lama inkubasi pada suhu ruang terhadap kadar pH, keasaman, viskositas, dan sineresis pada *set yogurt*. Download from <http://fapet.ub.ac.id/wp-content/uploads/2014/01/.pdf> on 4/10/2016.

- Onzago, R. O., Kiama, S. G., Mbaria, J. M., Gakuya, D. W., and Nduhiu, J. G. 2014. Evaluation of antimicrobial activity and toxicity of vernonia hymenolepis (*A. Rich*) traditionally used for toothache in Kenya. *Journal of Phytopharmacology* 3 (1) : 22-28.
- Ouwelander, A., and Vesterlund, S. (2004). Antimicrobial components from lactic acid bacteria. 139 : 375-396. DOI : 10.1201/9780824752033.ch11.
- Primurdia, E.G., dan Kusnadi, J. 2014. Aktivitas antioksidan minuman probiotik sari kurma (*Phoenix dactilyfera*) dengan isolat *L. plantarum* dan *L. casei*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2 (3) : 98-109.
- Ravichandran, K., Saw, N. M. M. T., Mohdaly, A. A. A., Gabr, A. M. M., Kastel, A., Riedel, H., Cai, Z., Knor, D., and Smetanska, I. 2013. Impact of processing red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Research International* 50 : 670-675.
- Ray, B. 2004. Fundamental Food Microbiology. Boca Raton : CRC Press.
- Retnowati, P. A., dan Kusnadi, J. 2014. Pembuatan minuman probiotik sari buah kurma (*Phoenix dactilyfera*) dengan isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. *Jurnal Pangan dan Argoindustri* 2(2) : 70-81.
- Sari, Y. T. 2014. Pemanfaatan Sari Bit Merah (*Beta vulgaris* L.) pada Pembuatan Minuman Fermentasi dengan BAL. Teknologi Pangan, Tangerang, Indonesia : Universitas Pelita Harapan. Skripsi.
- Santiago, E. C., and Yahia, E. M. 2008. Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by HPLC and electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56 : 5758-5764.
- Selawa, W., Runtuwene, M. R. J., dan Citraningtyas, G. 2013. Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis.). *Jurnal Ilmiah Farmasi* 2 (1) : 18-22.
- Septiani, A. H., Kusrahayu, dan Legowo, A. M. 2013. Pengaruh penambahan susu skim pada pembuatan *frozen yogurt* yang berbahan dasar *whey* terhadap total asam, pH, dan jumlah bakteri asam laktat. *Animal Agriculture Journal* 2 (1) : 225-231.
- Setiawan, M. A. W., Nugroho, E. K., dan Lestario, L. N. 2015. Ekstraksi betasanin dari kulit umbi bit (*Beta vulgaris*) sebagai pewarna alami. *Jurnal Ilmu Pertanian* 27(1&2) : 38-43.
- Siregar, M. N. H., Radiati, L. E., dan Rosyidi, D. 2014. Pengaruh penambahan berbagai konsentrasi kultur dan lama pemeraman pada suhu ruang terhadap pH, viskositas, kadar keasaman dan *Total Plate Count (TPC)* *Set Yogurt*. Download from: <http://fapet.ub.ac.id/wp-content/uploads/2014/01/.pdf> on 4/11/2016.
- Suryaningrum, T. D., Muljanah I., dan Tahapari, E. 2010. Profil sensori dan nilai gizi beberapa jenis ikan patin dan hibrid Nasutus. *Jurnal*

Pascapanen dan Bioteknologi
Kelautan dan Perikanan 5 (2) : 153-
164.

Sutedjo, K. S. D., dan Nisa, F. C. 2015.
Konsentrasi sari belimbing (*Averrhoa
carambola* L.) dan lama fermentasi
terhadap karakteristik fisiko-kimia
dan mikrobiologi *yoghurt*. Jurnal
Pangan dan Argoindustri 3 (2) : 582-
593.

Usman, M., and Davidson, J. 2014. The
Health Benefits of Beetroot: for
Cooking and Health. Mendon : JD-
Biz Publishing.

Vasudha, S., and Mishra, H. N. 2013. Non
dairy probiotic beverages.
International Food Research Journal
20 (1) : 7-15.

Viantono, A. E. 2016. Pemanfaatan Sari
Terong Asam (*Solanum ferox* L.)
pada Pembuatan Minuman
Fermentasi dengan Bakteri Asam
Laktat. Teknologi Pangan,
Tangerang, Indonesia : Universitas
Pelita Harapan. Skripsi.

Wahjuningsih, E. 2001. Substrat
khromogenik-fluorogenik pada uji
cemaran koli dalam air. Unitas 9 (2) :
44-56.

Wibawanto, N. R., Ananingsih, V. K., dan
Pratiwi, R. 2014. Produksi serbuk
pewarna alami bit merah (*Beta
vulgaris* L.) dengan metode oven
drying. Prosiding Seminar Nasional
Sains dan Teknologi Fakultas Teknik
1 (1) : 38-43.

Willianto, J. 2011. Studi Aktivitas
Antioksidan Ekstrak Kasar Bit Merah
(*Beta vulgaris* L.) terhadap pH dan
Suhu. Teknologi Pangan, Tangerang,
Indonesia : Universitas Pelita
Harapan. Skripsi.