

4. PEMBAHASAN

Penelitian pembuatan produk okra *yogurt* bubuk (seduh) dengan tiga formula yaitu formula A dengan 375 ml susu UHT : 25 ml okra + 2 g *starter*, formula B dengan 350 ml susu UHT : 50 ml okra + 2 g *starter* dan kontrol dengan 400 ml susu UHT + 2 g *starter*. Jenis *starter* yang digunakan adalah *L. casei*, *B. longum*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, dan *S. thermophilus*. Fermentasi dilakukan selama 12 jam dengan suhu inkubasi 42°C. Kemudian dilakukan metode *freeze drying* selama 4 hari pada suhu -100°C. Analisis yang dilakukan terdiri atas analisis fisiko-kimiawi dan mikrobiologi.

4.1. Analisis Fisiko-Kimiawi

4.1.1. Viskositas

Viskositas produk okra *yogurt* dan okra *yogurt* bubuk, menunjukkan bahwa formula B memiliki nilai yang paling tinggi jika dibandingkan dengan viskositas formula A dan kontrol pada produk okra *yogurt* dan rehidrasi okra *yogurt* bubuk. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 4. Terbentuknya viskositas pada produk *yogurt* disebabkan karena selama penurunan pH atau proses asidifikasi, muatan negatif dari misel kasein mengalami penurunan dan koloid kalsium fosfat kompleks menjadi terlarut sehingga terjadi penipisan kalsium pada misel. Selanjutnya ikatan kasein-kasein meningkat karena terjadinya peningkatan interaksi hidrofobik. Saat pH menjadi 4,6 yang sekaligus merupakan pencapaian titik isoelektrik kasein, maka terjadi pembentukan jaringan tiga dimensi yang mengandung rantai kasein (Corrieu & Béal, 2016). Penambahan okra dapat meningkatkan viskositas *yogurt*. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan polifenol pada buah okra yang dapat berikatan dengan protein pada produk susu. Ikatan protein dan polifenol dapat meningkatkan stabilitas gel *yogurt* (Mogol *et al.*, 2017).

Penambahan okra paling banyak (formula B) pada masing-masing produk menunjukkan viskositas paling tinggi dikarenakan semakin bertambah konsentrasi okra, maka kandungan fenolik yang semakin tinggi (Richard *et al.*, 2006). Selain itu, lendir pada okra yang merupakan rantai panjang hidrokoloid polisakarida dengan gugus protein yaitu gugus hidrofobik dan hidrofilik dengan berat molekul yang besar, dapat berfungsi sebagai

stabilizer alami yang dapat menstabilkan viskositas pada *yogurt*. *Stabilizer* memiliki kemampuan mengikat air yang tinggi sehingga memberikan peningkatan viskositas pada produk dan membentuk gel (Williams & Phillips, 2008). Umumnya viskositas *yogurt* yang direhidrasi akan mengalami penurunan akibat terjadinya kerusakan struktur gel *yogurt* selama proses pengeringan berlangsung (Kumar & Mishra, 2004).

4.1.2. Persentase Sineresis

Sinerisis merupakan pelepasan serum dari matriks gel *yogurt*, sehingga *body yogurt* mengalami perubahan dan membentuk dua fase pada produk *yogurt* (Mogol *et al.*, 2017). Tabel 4 menunjukkan hasil persentase sineresis yang terjadi pada okra *yogurt* dan okra *yogurt* bubuk yang sudah direhidrasi terlebih dahulu. Terjadinya denaturasi pada whey protein susu dan interaksi antara kasein saat dilakukan inkubasi menyebabkan pembentukan gel *yogurt* dan mengurangi terjadinya sineresis. Kandungan protein susu bertanggung jawab atas pembentukan gel dan penurunan tingkat sineresis (Corrieu & Béal, 2016).

Peningkatan sineresis terjadi seiring dengan meningkatnya nilai pH *yogurt* (Harwalkar & Kalab, 2015). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian dimana meningkatnya nilai pH seiring bertambahnya umur simpan pada produk okra *yogurt* dan okra *yogurt* bubuk (Tabel 4) diikuti dengan peningkatan persentase sineresis pada okra *yogurt* dan okra *yogurt* bubuk. Formula A dan B pada kedua produk menunjukkan nilai persentase sineresis yang lebih rendah dibandingkan kontrol, akan tetapi formula B lebih rendah daripada formula A, hal ini dikarenakan adanya kandungan hidrokoloid polisakarida pada okra yang berinteraksi dengan protein susu membentuk stabilisasi (Williams & Phillips, 2008). Selain itu, adanya interaksi protein-polifenol antara protein susu dengan polifenol pada okra dapat berperan terhadap kekuatan jaringan kasein dan menstabilkan struktur *yogurt* dengan meningkatkan konsistensi dan menurunkan tingkat sineresis (Mogol *et al.*, 2017).

4.1.3. Aktivitas Antioksidan

Buah okra tanpa pemanasan memiliki aktivitas antioksidan sekitar 31-32%. Pemanasan buah okra dapat menurunkan aktivitas antioksidannya (Tabel 2). Suhu dan waktu

pasteurisasi buah okra yang digunakan adalah suhu 80°C selama 15 menit dimana kisaran aktivitas antioksidan buah okra adalah 22-23%. Hal ini didasari dengan melihat jumlah bakteri pada okra yang dipasteurisasi dengan perlakuan waktu dan suhu yang sama dengan perlakuan untuk mengetahui jumlah antioksidannya. Semakin lama dan tinggi suhu pasteurisasi, maka jumlah bakteri mengalami penurunan (Tabel 3). Bakteri paling rendah ada pada perlakuan waktu selama 20 menit pada suhu 80°C, akan tetapi aktivitas antioksidan buah okra sudah mengalami penurunan cukup signifikan yaitu sekitar 19%.

Hasil pengujian produk okra *yogurt* dan okra *yogurt* bubuk (Tabel 4) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan paling tinggi ada pada formula B, berikutnya formula A dan paling rendah pada kontrol. Adanya penambahan okra menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi, hal ini dikarenakan pada buah okra terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Tabel 2) dan didukung oleh penelitian Khomsug *et al.*, (2010) juga menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ pada biji okra sebesar 44,1 mg/ml dan pada *puree* okra sebesar 5573 mg/ml. Sehingga apabila buah okra ditambahkan pada produk *yogurt*, maka kandungan aktivitas antioksidan pada produk *yogurt* juga meningkat dibandingkan dengan *yogurt* tanpa penambahan buah okra. Buah okra memiliki kandungan senyawa fenolik seperti asam kafeat, kuersitin, katekin, dan mirisetin yang dapat berperan sebagai antioksidan (Arapitsas, 2008). Aktivitas antioksidan pada produk okra *yogurt* bubuk lebih stabil dibandingkan produk okra *yogurt* sebelum dibubukkan seiring dengan bertambahnya umur simpan (Tabel 4). Hal ini ditunjukkan dengan penurunan aktivitas antioksidan pada produk okra *yogurt* bubuk yang tidak signifikan seiring bertambahnya umur simpan.

Okra *Yogurt* dapat berperan sebagai antioksidan eksogen. Pentingnya mengonsumsi antioksidan eksogen untuk membantu antioksidan endogen dalam menangkal radikal bebas yang berlebih dalam tubuh. Contoh erjadinya mekanisme antioksidan endogen dalam tubuh yaitu pada vitamin E yang berinteraksi dengan lipid peroksidasi dan radikal lipid lain di dalam lipoprotein atau membran sel, maka terbentuk radikal α -tocopheroxyl. Seperti halnya antioksidan alami lainnya yaitu vitamin C atau polifenol, radikal vitamin E tidak berbahaya karena elektron bebas terdelokalisasi di sekitar struktur cincin kimianya. Radikal vitamin E dapat didaur ulang atau diregenerasi kembali ke bentuk aslinya oleh vitamin C. Radikal vitamin C juga dapat diregenerasi oleh antioksidan tiol atau polifenol dalam tubuh. Antioksidan akan saling berinteraksi dengan cara meregenerasi radikal antioksidan yang terbentuk setelah menetralkan oksidasi, sehingga menjadi aktif kembali. Interaksi ini

membentuk dasar untuk sistem pertahanan antioksidan tubuh (Packer & Obermuller-Jevic, 2002).

4.1.4. pH

Pengujian nilai pH pada produk okra *yogurt* (Tabel 4) menunjukkan hasil bahwa formula A memiliki nilai pH terendah, berikutnya kontrol, dan formula B memiliki nilai pH tertinggi. Sedangkan, pada okra *yogurt* bubuk yang telah direhidrasi menunjukkan hasil bahwa penambahan okra dapat menurunkan nilai pH. Selama fermentasi *yogurt* terjadi proses asidifikasi yang ditunjukkan dengan nilai pH. Jika pH *yogurt* sudah tercapai, maka proses fermentasi akan berhenti (dalam keadaan dingin). pH produk *yogurt* bervariasi antara 4-5 yang dipengaruhi oleh pertumbuhan bakteri asam laktat selama proses fermentasi *yogurt* (Purbasari *et al.*, 2014). Nilai pH okra *yogurt* bubuk yang telah direhidrasi yang sesuai dengan US Dairy Council, (2010) yang menyatakan bahwa kisaran nilai pH *yogurt* rehidrasi antara 4,7-5,1. Umumnya, nilai pH rehidrasi *yogurt* akan lebih tinggi daripada *yogurt fresh*, hal ini didasarkan pada rasio rehidrasi yang dilakukan dan asam organik pada produk *yogurt* dapat ikut ter evaporasi bersamaan dengan kandungan air selama proses *freeze drying* (Kumar & Mishra, 2004). Tingkat keasaman pada produk *yogurt* disebabkan karena adanya produksi asam laktat dan asam organik lainnya oleh bakteri asam laktat selama proses fermentasi berlangsung. Asam laktat dihasilkan melalui proses glikolisis, dimana laktosa pada susu diubah menjadi glukosa, dan kemudian glukosa diubah menjadi asam piruvat. Selanjutnya, asam piruvat tereduksi menjadi asam laktat dengan bantuan enzim laktat dehidrogenase bersamaan dengan reoksidasi NADH yang sudah terbentuk sebelumnya (Lahtinen, 2012).

Streptococcus, *Lactobacilli*, dan *Bifidobacteria* memungkinkan untuk melakukan metabolisme homofermentatif dan heterofermentatif untuk menghasilkan energi intraseluler bersama dengan asam laktat. *L. rhamnosus*, *L. casei*, dan *L. paracasei* dapat menghasilkan masing-masing satu mol asam laktat, etanol, CO₂, dan ATP dari satu mol glukosa yang merupakan hidrolisis dari laktosa. Sedangkan *Bifidobacteria sp* dapat menghasilkan tiga mol asam asetat dan dua mol asam laktat serta ATP. Sintesis asam laktat ekstraseluler memicu asidifikasi yang ditandai dengan terjadinya penurunan pH. Penambahan okra pada formula A menunjukkan nilai pH yang lebih rendah jika

dibandingkan dengan nilai pH pada formula B, akan tetapi nilai pH pada formula A lebih rendah dari pada kontrol. Hal ini dikarenakan adanya peningkatan jumlah bakteri asam laktat pada produk yang ditambahkan okra yaitu formula A dan B (Tabel 5). Semakin banyak bakteri asam laktat maka metabolit yang dihasilkan juga lebih banyak. Akan tetapi, pada formula B dengan penambahan okra paling banyak dan memiliki jumlah bakteri asam laktat tertinggi menunjukkan nilai pH yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan formula A. Ketidaksesuaian ini dapat disebabkan oleh dominasi pH buah okra pada produk akhir formula B, dimana nilai pH buah okra adalah sebesar 4,60 (Fauza *et al.*, 2019) sehingga pH formula B pada produk okra *yogurt* sebesar 4,63 dan okra *yogurt* bubuk sebesar 4,93 lebih tinggi daripada formula A pada produk okra *yogurt* sebesar sebesar 4,54 dan okra *yogurt* bubuk sebesar 4,89 (Tabel 3).

4.2. Analisis Mikrobiologi

Starter yang digunakan dalam pembuatan okra *yogurt* mengandung *L. casei*, *B. longum*, *L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, dan *S. thermophilus*. Proses fermentasi dari jenis-jenis bakteri ini tergolong sebagai homofermentatif dan heterofermentatif. *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* menghasilkan asam laktat melalui hidrolisis laktosa menjadi glukosa dan galaktosa oleh bantuan enzim α -galactosidase. Selanjutnya, glukosa dikatabolisme menjadi piruvat, sedangkan galaktosa diekresi keluar sel. Enzim dehidrogenase laktat dan NADH yang terbentuk mengubah piruvat menjadi asam laktat. *L. casei* dapat menghasilkan masing-masing satu mol asam laktat, etanol, CO₂, dan ATP dari satu mol glukosa yang merupakan hidrolisis dari laktosa. Sedangkan *Bifidobacteria sp* dapat menghasilkan tiga mol asam asetat dan dua mol asam laktat serta ATP. Perbedaan jenis metabolisme dari masing-masing bakteri dapat menyebabkan perbedaan sensori dan perbedaan tingkat keasaman pada produk akhir *yogurt* (Corrieu & Béal, 2016).

Hasil pengujian pada produk okra *yogurt* dan produk okra *yogurt* bubuk, didapat bahwa formula B memiliki viabilitas bakteri asam laktat tertinggi yang disusul formula A dan yang paling rendah adalah kontrol. Kedua produk baik okra *yogurt* dan okra *yogurt* bubuk memiliki nilai cfu/ml dan cfu/gram yang sesuai dengan standar minimal berdasarkan CODEX-STAN dalam FAO (2003), yaitu minimal 10⁶ cfu/gram. Produk okra *yogurt* dibubukkan dengan metode *freeze drying*, dimana metode pengeringan ini merupakan pengeringan yang efektif untuk menjaga kultur mikroba karena menggunakan suhu rendah

(Harwalkar & Kalab, 2015) dan menggunakan *cryoprotectant* gliserol monostearat dikarenakan gliserol monostearat cocok dalam menjaga produk *yogurt* dengan metode pengeringan beku (Tamime & Robinson, 2000).

Viabilitas bakteri asam laktat tertinggi ada pada formula B, hal ini dikarenakan pada formula B merupakan formula dengan penambahan okra paling banyak. Viabilitas bakteri asam laktat terendah ada pada kontrol dimana tidak adanya penambahan okra. Dalam hal ini, okra merupakan serat pangan yang tidak dapat dicerna oleh pencernaan manusia, akan tetapi okra berperan sebagai prebiotik yang memberikan manfaat kesehatan bagi saluran pencernaan dengan menghasilkan perubahan spesifik pada aktivitas mikrobiota gastrointestinal (WGO, 2017). Selain itu, adanya penambahan serat pangan sebagai fungsi prebiotik dapat mempercepat pertumbuhan bakteri probiotik menuju ke fase eskponensial yang lebih cepat (Whyastuti *et al.*, 2017).

Berdasarkan analisis fisiko-kimiawi dan mikrobiologi, dapat diketahui bahwa semakin lama umur simpan, terjadi penurunan mutu okra *yogurt* dan okra *yogurt* yang dibubukkan. Akan tetapi penurunan pada produk okra *yogurt* bubuk tidak signifikan jika dibandingkan dengan produk okra *yogurt* yang lebih signifikan. Hal ini dikarenakan metode *freeze drying* dapat menjaga kestabilan produk dan memperpanjang umur simpan pada produk yang termolabil atau tidak stabil dalam larutan air. Selain itu, metode *freeze drying* juga dapat menjaga stabilisasi kultur mikroba pada produk yang dikeringkan (Harwalkar & Kalab, 2015).

4.3. Analisis Sensori

Pengujian sensori dilakukan dengan metode *rating* (panelis diperbolehkan menjawab dengan jawaban yang sama) dan *ranking* (panelis tidak diperbolehkan menjawab sama). Penggunaan metode *ranking* bertujuan untuk mengetahui produk yang paling disukai dan produk paling tidak disukai. Metode *ranking* dilakukan karena asumsi dapat diminimalkan pada saat dilakukan pengujian sensori dan lebih sederhana sehingga cocok digunakan pada penelitian penembangan produk baru (Lawless & Heyman, 2010). Hasil dari penggunaan metode *ranking* pada penelitian ini menunjukkan bahwa kontrol adalah formula yang paling disukai, sedangkan formula B adalah formula yang paling tidak disukai panelis dari semua jenis atribut. Akan tetapi, penggunaan metode *ranking* dalam sensori dianggap belum

cukup karena hanya menunjukkan urutan kualitas tertinggi hingga terendah tanpa memungkinkan penilai untuk menilai secara keseluruhan pada setiap produk dengan masing-masing skala penilaian dari atribut yang sudah ditentukan (Joanne *et al.*, 2018). Skala penilaian pada penelitian ini, terdiri dari sangat tidak suka, tidak suka, agak suka, suka, dan sangat suka. Hasil pengujian sensori dengan metode *rating* menunjukkan bahwa formula kontrol pada semua atribut memiliki penilaian suka, formula A agak suka, dan formula B tidak suka. Hal ini mungkin dikarenakan penambahan okra yang paling banyak pada formula B terlalu mendominasi pada produk *yogurt*.

Panelis lebih menyukai tingkat keasaman dari produk tanpa penambahan buah okra. Keasaman pada produk okra *yogurt* diakibatkan oleh adanya pertumbuhan bakteri heterofermentatif yang menghasilkan metabolit berupa asam laktat dan asam organik lainnya dengan melakukan pemecahan laktosa (Corrieu & Béal, 2016). Panelis cenderung menyukai tekstur tanpa adanya penambahan okra, hal ini dimungkinkan karena buah okra yang ditambahkan memiliki ukuran partikel yang masih belum disukai panelis sehingga memberikan pengaruh penilaian terhadap tekstur pada produk okra *yogurt*. Okra *yogurt* sebelum dibubukkan memberikan tekstur granula okra yang lebih besar dibandingkan dengan yang sudah dibubukkan. Pembentukan tekstur pada *yogurt* disebabkan oleh adanya pembentukan jaringan tiga dimensi yang terdiri dari rantai misel kasein (Corrieu & Béal, 2016).

Aroma dan rasa khas pada *yogurt* berasal dari asam laktat dan komponen-komponen volatil yang terdiri dari komponen karbonil (terutama ester dan asam), alkohol, heterosiklik, dan komponen sulfur. Komponen utama yang memberikan rasa khas segar dan seperti *fruity* pada *yogurt* adalah asetaldehid yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dalam jumlah kisaran 5-40 mg/kg. Komponen-komponen penghasil *flavor* juga disebabkan karena sistem proteolitik bakteri asam laktat yang mendegradasi kasein menjadi peptida dan asam amino bebas (Corrieu & Béal, 2016). Atribut rasa dan aroma okra *yogurt* menunjukkan bahwa panelis juga cenderung lebih menyukai *yogurt* tanpa penambahan okra. Adanya penambahan okra memberikan rasa tambahan dari buah okra sehingga dengan penambahan okra paling banyak (formula B) menunjukkan hasil yang paling tidak disukai panelis yang mungkin menutup aroma dan rasa khas *yogurt*.