

**PENGARUH PENAMBAHAN SARI BUAH NANAS TERHADAP pH,
TOTAL ASAM TERTITRASI, WARNA, VITAMIN C, DAN
ANTIOKSIDAN PADA MINUMAN *BLACK SOYGURT***

SKRIPSI

Oleh

AQILAH NUR AZIZAH



**PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

PENGARUH PENAMBAHAN SARI BUAH NANAS TERHADAP pH, TOTAL
ASAM TERTITRASI, WARNA, VITAMIN C, DAN ANTIOKSIDAN
PADA MINUMAN *BLACK SOYGURT*

Oleh

AQILAH NUR AZIZAH
NIM: 23020122140168

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGIFAKULTAS PETERNAKAN DAN
PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Aqilah Nur Azizah
 N I M : 23020122140168
 Program Studi : S-1 Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut :

1. Skripsi yang berjudul: **Pengaruh Penambahan Sari Buah Nanas terhadap pH, Total Asam Tertitrasi, Warna, Vitamin C, dan Antioksidan pada Minuman *Black Soygurt*** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu: **Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D** dan **Fariz Nurmita Aziz, S.T.P., M.Sc.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Agustus 2026

Penulis,



Aqilah Nur Azizah

Mengetahui :

Pembimbing Utama

Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

Pembimbing Anggota

Fariz Nurmita Aziz, S.T.P., M.Sc.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : PENGARUH PENAMBAHAN SARI BUAH
NANAS TERHADAP pH, TOTAL ASAM
TERTITRASI, WARNA, VITAMIN C, DAN
ANTIOKSIDAN PADA MINUMAN *BLACK
SOYGURT*

Nama Mahasiswa : AQILAH NUR AZIZAH

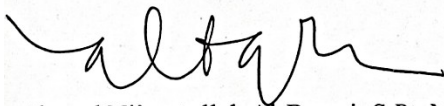
Nomor Induk Mahasiswa : 23020122140168

Program Studi/Departemen : S-1 TEKNOLOGI PANGAN/PERTANIAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal. **1.1.SEP.2026**

Pembimbing Utama



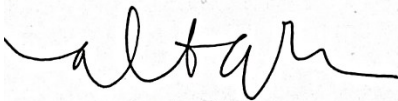
Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt, M.P., Ph.D.

Pembimbing Anggota



Fariz Nurmita Aziz, S.T.P., M.Sc.

Ketua Program Studi



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt, M.P., Ph.D.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



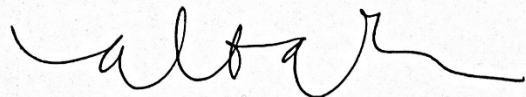
Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc.

Dekan



Prof. Sugiharto, S.Pt, M.Sc., Ph.D.

Ketua Departemen



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt, M.P., Ph.D.

RINGKASAN

AQILAH NUR AZIZAH. 23020122140168. 2026. Pengaruh Penambahan Sari Buah Nanas terhadap pH, Total Asam Titrasi, Warna, Vitamin C, dan Antioksidan pada Minuman *Black Soygurt*. (Pembimbing: **AHMAD NI'MATULLAH AL-BAARRI** dan **FARIZ NURMITA AZIZ**).

Penelitian penambahan sari nanas madu terhadap pH, total asam titrasi, warna, vitamin C, dan antioksidan pada *black soygurt* dilaksanakan selama 4 bulan yaitu dari bulan Januari – April 2026 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang serta Laboratorium Cendekia Nanotech Utama, Semarang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan konsentrasi sari nanas madu terhadap nilai pH, total asam titrasi, warna, vitamin C, dan antioksidan pada *black soygurt*.

Penelitian dilakukan untuk menguji perbedaan konsentrasi penambahan sari nanas madu terhadap yogurt berbasis kedelai hitam. Materi yang digunakan berupa kedelai hitam, nanas madu (Sunpride), susu skim (Indoprima), starter yogurt (Biokul), dan gula pasir (Gulaku). Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah indikator *phenolphthalein*, larutan NaOH, amilum, iodium, aquades, etanol, dan DPPH. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor tunggal yaitu perbedaan konsentrasi sari nanas madu yang terdiri dari 4 perlakuan berupa 0%, 5%, 10%, dan 15% dengan 5 kali pengulangan. Pembuatan *black soygurt* diawali dengan pembuatan sari kedelai hitam, yang dilanjutkan dengan pembuatan sari nanas madu, lalu pencampuran sari nanas madu dengan sari kedelai hitam beserta *starter yogurt*, dan diakhiri dengan fermentasi selama 24 jam. Parameter yang diujikan berupa nilai pH, total asam titrasi, warna, vitamin C dengan metode iodimetri, serta antioksidan dengan metode DPPH. Data hasil pengujian kemudian dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) apabila didapatkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$). Penentuan formula optimal dilakukan dengan menggunakan *software Design-Expert 8.0.6* dengan evaluasi nilai *desirability*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan sari nanas madu dapat menurunkan nilai pH, meningkatkan vitamin C, dan tren yang meningkat pada antioksidan, namun tidak berpengaruh terhadap total asam titrasi dan warna *black soygurt*. Hasil formula optimal didapatkan bahwa perlakuan penambahan 10% merupakan konsentrasi terbaik untuk *black soygurt* dengan rasa yang tidak terlalu asam namun memiliki kandungan vitamin C dan antioksidan yang tinggi.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Hidayat-Nya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi yang berjudul “Penambahan Sari Buah Nanas terhadap pH, Total Asam Titrasi, Warna, Vitamin C, dan Antioksidan pada Minuman *Black Soygurt*”.

Selama penelitian hingga penyusunan skripsi, penulis menyadari bahwa proses ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan serta doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih sebanyak-banyaknya kepada seluruh pihak yang telah membantu menyelesaikan skripsi ini, terkhusus kepada:

1. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan untuk penulis mengikuti perkuliahan hingga menulis skripsi.
2. Bapak Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku ketua Departemen Pertanian, Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, sekaligus selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan saran, bimbingan, dan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian dengan baik.
3. Bapak Fariz Nurmita Aziz, S.T.P., M.Sc, selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah membimbing, memberikan saran dengan penuh kesabaran serta mendukung penulis hingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan baik.
4. Ibu drh. Siti Susanti, Ph.D. selaku Koordinator Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Bapak Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Koordinator Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian yang telah memberikan izin dan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian.
5. Bapak Dr. Rafli Zulfa Kamil, S.T.P, selaku Dosen Wali serta seluruh bapak dan ibu dosen serta karyawan Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas

Peternakan dan Pertanian yang telah memberikan ilmu pengetahuan serta melayani dan membantu selama masa perkuliahan.

6. Kepada papa, mama, bang Adam, nin, oma, anti, bule serta seluruh keluarga besar penulis yang selalu memberikan doa dan dukungan selama penulis melakukan penelitian hingga menyelesaikan penyusunan skripsi.
7. Teman-teman penulis dari masa sekolah menengah atas seperti Faisya, Marcell, Muti, dan teman-teman NCC yang telah mewarnai dan mendukung penulis hingga menyelesaikan tugas akhir.
8. Teman-teman penulis Amel, Ayes, Misyka, selaku teman seperjuangan dalam penelitian *black soygurt* yang selalu membantu selama penelitian hingga penyusunan skripsi.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna dikarenakan keterbatasan kemampuan dan ilmu yang penulis miliki. Penulis memohon maaf atas kekeliruan yang ada serta bersedia menerima kritik serta saran untuk penyempurnaan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat dan wawasan baru bagi pembaca.

Semarang, Agustus 2026

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR ILUSTRASI.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
 BAB I. PENDAHULUAN	 1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	4
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	 5
2.1. Kedelai Hitam	5
2.2. Starter Yogurt	7
2.3. Nanas Madu.....	11
2.4. Fermentasi	13
2.5. <i>Black Soygurt</i>	14
2.6. Nilai pH	17
2.7. Total Asam Titrasi	18
2.8. Warna.....	18
2.9. Vitamin C	19
2.10. Antioksidan	20
 BAB III. MATERI DAN METODE	 22
3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian	22
3.2. Materi	22
3.3. Metode Penelitian.....	23

BAB IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1.	Nilai pH.....	34
4.2.	Total Asam Titrasi	37
4.3.	Warna.....	40
4.4.	Vitamin C	46
4.5.	Antioksidan	49
4.6.	Optimasi Formula.....	52
BAB V.	SIMPULAN DAN SARAN.....	56
5.1.	Simpulan.....	56
5.2.	Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA		57
LAMPIRAN.....		76
RIWAYAT HIDUP		104

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Komposisi Kedelai Hitam Per 100 gram	6
2.	Syarat Mutu Yogurt	16
3.	Desain Penelitian <i>Black Soygurt</i> Penambahan Sari Nanas Madu	24
4.	Hasil Pengujian Nilai pH <i>Black Soygurt</i>	34
5.	Hasil Pengujian Total Asam Titrasi <i>Black Soygurt</i>	38
6.	Hasil Pengujian Warna <i>Black Soygurt</i>	41
7.	Hasil Pengujian Kadar Vitamin C <i>Black Soygurt</i>	47
8.	Kriteria Penentuan Formula Optimum	53
9.	Kriteria dan Respon pada Optimasi Formula.....	53
10.	Hasil Solusi dari Formula Optimum pada <i>Black Soygurt</i>	54

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor		Halaman
1.	Diagram Alir Pembuatan Sari Kedelai Hitam	26
2.	Diagram Alir Pembuatan Sari Nanas	27
3.	Diagram Alir Pembuatan <i>Black Soygurt</i>	28
4.	Warna <i>Black Soygurt</i> dengan Penambahan Sari Nanas Madu .	41
5.	Nilai DPPH <i>Black Soygurt</i>	49

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Data Hasil Pengujian pH	76
2.	Data Hasil Pengujian Total Asam Titrasi	77
3.	Data Hasil Pengujian Warna.....	78
4.	Data Hasil Pengujian Vitamin C	79
5.	Data Hasil Pengujian Antioksidan.....	80
6.	Perhitungan Total Asam Titrasi	81
7.	Perhitungan Warna	83
8.	Perhitungan Vitamin C	87
9.	Perhitungan Antioksidan	89
10.	Hasil Uji Statistik <i>One-way</i> ANOVA dan DMRT Nilai pH <i>Black Soygurt</i>	90
11.	Hasil Uji Statistik <i>One-way</i> ANOVA Total Asam Titrasi <i>Black Soygurt</i>	91
12.	Hasil Uji Statistik <i>One-way</i> ANOVA Warna <i>Black Soygurt</i>	92
13.	Hasil Uji Statistik <i>One-way</i> ANOVA dan DMRT Vitamin C <i>Black Soygurt</i>	94
14.	Penggunaan Aplikasi <i>Design-Expert</i> 8.0.6.....	95
15.	Output <i>Design-Expert</i> 8.0.6	101
16.	Laporan Hasil Pengujian Antioksidan.....	102
17.	Dokumentasi Penelitian.....	103

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kedelai (*Glycine max*) merupakan salah satu komoditas pangan yang mengalami peningkatan produksi di Indonesia. Berdasarkan data yang dikeluarkan oleh Kementerian Pertanian Republik Indonesia, produksi kedelai pada tahun 2023 mengalami peningkatan sebesar 85.403 ton atau setara 32,39% dibandingkan produksi kedelai pada tahun 2022 (Ramadhina dan Mukti, 2025). Peningkatan produksi kedelai tersebut perlu diikuti dengan upaya diversifikasi pemanfaatan kedelai, khususnya kedelai hitam yang pemanfaatannya masih terbatas dibandingkan kedelai kuning. Pengolahan kedelai kuning mudah untuk dijumpai dalam berbagai produk, seperti tahu, tempe, dan susu kacang kedelai. Sebaliknya, pengolahan kedelai hitam masih terbatas dan yang umum untuk ditemukan berupa kecap. Menurut Rahayu dan Sulistiawati (2018), kedelai hitam memiliki kandungan protein sebesar 40%, karbohidrat 33%, lemak 19%, serta aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan kedelai kuning, sehingga berpotensi baik untuk kesehatan tubuh.

Salah satu upaya dalam pemanfaatan kedelai hitam untuk mendukung nilai fungsionalnya adalah dengan melalui pengolahan kedelai hitam menjadi produk fermentasi berupa soygurt. Soygurt merupakan produk fermentasi berbahan dasar kedelai yang menggunakan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* sebagai alternatif dari yogurt yang pada umumnya

berbahan dasar susu sapi (Rosida *et al.*, 2020). Kedelai hitam memiliki keunggulan sebagai bahan dasar soygurt karena mengandung oligosakarida seperti rafinosa dan stakiosa yang dapat berperan sebagai prebiotik serta mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat selama fermentasi (Al-Baarri *et al.*, 2024). Kedelai hitam juga mengandung senyawa fungsional yang memiliki aktivitas antioksidan yang dapat berpotensi mengurangi stres oksidatif penyebab kerusakan sel di dalam tubuh (Moshtaghian *et al.*, 2024). Oleh karena itu, pemanfaatan kedelai hitam sebagai bahan dasar soygurt tidak hanya mendukung diversifikasi pangan nabati, namun juga untuk meningkatkan nilai fungsional yogurt.

Nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr) merupakan salah satu buah yang mudah untuk ditemukan di Indonesia setiap tahunnya. Pada tahun 2023, Badan Pusat Statistik (BPS) menyatakan bahwa produksi nanas di Indonesia pada tahun 2022 mencapai 3.203.775 ton (Hartini *et al.*, 2024). Menurut Herlambang *et al.* (2022), nanas madu mengandung sukrosa, fruktosa, serta glukosa. Keberhasilan fermentasi *black soygurt* dapat dipengaruhi oleh ketersediaan gula sederhana sebagai substrat yang dapat dimanfaatkan oleh bakteri asam laktat, sehingga penambahan sari nanas madu dilakukan untuk membantu menyediakan sumber gula sederhana tambahan selama fermentasi. Selain itu, biji kedelai hitam mengandung pigmen antosianin yang memberikan warna hitam dan gelap. Menurut Sadowska-Bartosz dan Bartosz (2024), fermentasi dapat menyebabkan pemudaran warna. Warna berperan penting dalam pembentukan persepsi terhadap kualitas sebuah produk. Penambahan sari nanas madu yang mengandung karotenoid berpotensi dapat memengaruhi warna dari *black soygurt*. Selain berperan terhadap

gula tambahan dan warna, nanas madu mengandung asam askorbat yang berpotensi meningkatkan kandungan vitamin C serta berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan pada *black soygurt*.

Nanas madu memiliki rasa manis serta kandungan vitamin C dengan kadar sebesar 0,81% yang lebih tinggi dibandingkan varietas nanas lainnya (Prambudi, 2019). Selain vitamin C atau asam askorbat, nanas madu juga memiliki kandungan asam organik seperti asam sitrat dan asam malat yang dapat memberikan rasa khas asam (Anggraini dan Fitria, 2021). Keberadaan asam organik dan gula sederhana pada nanas madu tersebut berpotensi memengaruhi derajat keasaman *black soygurt*, sehingga pH dan total asam tertitrasi menjadi parameter yang penting untuk diamati. Perubahan pada pH akibat fermentasi juga dapat memengaruhi stabilitas antosianin pada kedelai hitam sehingga berpotensi mengubah warna pada *black soygurt*. Oleh karena itu, diperlukan pengujian terhadap parameter pH, total asam tertitrasi, warna, vitamin C, serta antioksidan yang terdapat pada *black soygurt* dengan penambahan sari nanas madu.

Terdapat beberapa penelitian yang berkaitan mengenai yogurt kedelai yang telah dilakukan. Namun, penelitian tersebut banyak terfokuskan pada penggunaan kedelai kuning dibandingkan kedelai hitam. Penelitian yang dilakukan oleh Sulityo *et al.* (2024) merupakan penelitian mengenai penambahan sari nanas terhadap fisikokimia dan daya terima konsumen terhadap yogurt kedelai kuning. Penelitian lain seperti yang dilakukan oleh Al-Baarri *et al.* (2024) membahas mengenai karakteristik fisikokimia dan protein pada *black soygurt* tanpa penambahan nanas.

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui karakteristik fisikokimia dan fungsional pada yogurt kedelai hitam dengan penambahan sari nanas madu.

1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi penambahan sari buah nanas madu terhadap nilai pH, total asam tertitrasi, warna, vitamin C dan antioksidan pada minuman *black soygurt*. Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan pemahaman mengenai potensi senyawa pada nanas madu dalam mengoptimalkan karakteristik mutu dan fungsional *black soygurt*, serta mendorong diversifikasi pengolahan kedelai hitam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kedelai Hitam

Kedelai hitam dengan nama latin *Glycine max* (L.) Merr merupakan salah satu varietas tanaman yang mudah untuk ditemukan di Indonesia. Kedelai pada umumnya berasal dari daratan utara Cina sejak 2500 SM dan mulai dikembangkan di Indonesia pada tahun 1919 (Terryana *et al.*, 2017). Berdasarkan klasifikasi taksonominya, kedelai tergolong dalam kingdom Plantae, dengan famili Leguminosae, genus Glycine dengan nama spesies *Glycine max* (L.) Merr. (Tambunan *et al.*, 2020).

Kedelai berbiji kuning merupakan salah satu kedelai yang paling banyak ditemukan dan dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia, dengan Sumatera Utara, Jambi, Bengkulu, Jawa Barat, dan Nusa Tenggara Barat sebagai beberapa provinsi dengan rata-rata produktivitas jagung tertinggi (BPS, 2024). Sedangkan, pemanfaatan kedelai hitam di tingkat domestik masih tergolong sangat terbatas dan saat ini masih didominasi oleh industri pengolahan kecap (Fitriana *et al.*, 2020). Kedelai hitam merupakan salah satu tanaman yang dibudidayakan di Indonesia. Beberapa varietas kedelai hitam yang dapat ditemukan di Indonesia antara lain Cikuray, Lokal Bantul, Lokal Wonosari, dan Malika (Nasution *et al.*, 2023). Menurut Dobhal dan Raghuvanshi (2023), komposisi yang terkandung dalam kedelai hitam disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kedelai Hitam Per 100 gram

No.	Komposisi	Jumlah
1	Protein	43,62 %
2	Karbohidrat	25,89%
3	Lemak	19,25%
4	Abu	5,96%
5	Serat	5,28%

Kedelai hitam memiliki berbagai golongan senyawa antioksidan seperti antosianin, isoflavon, dan asam fenolik. Tingginya kandungan antosianin dan isoflavon menjadi keunggulan utama kedelai hitam dibandingkan kedelai kuning (Hana dan Sujono, 2024). Antosianin merupakan antioksidan golongan flavonoid yang merupakan senyawa yang memberikan tumbuhan warna alami berupa merah, merah gelap, dan ungu (Herlina *et al.*, 2023). Adanya kandungan antosianin pada kedelai hitam tersebut menjadikan biji kedelai berwarna hitam. Selain memberikan warna gelap, pigmen antosianin tersebut bersifat sensitif terhadap perubahan pH. Menurut Mesugama *et al.* (2025), antosianin akan mengalami perubahan warna menjadi kemerahan apabila pH lingkungannya semakin asam karena adanya perubahan struktur antosianin.

Kedelai hitam juga memiliki isoflavon dalam bentuk aglikon seperti daidzein, genistein, dan glycitein dari glikosida yang berperan dalam mencegah kerusakan akibat radikal bebas (Fawwaz *et al.*, 2017). Menurut Choi *et al.* (2020), kandungan antioksidan tertinggi terdapat pada antosianin yang kemudian diikuti oleh isoflavon dengan kandungan secara berurutan sebesar 189,461 – 2633,455 mg /100 g dan 211,0 – 577,7 mg/100 g. Tingginya antioksidan tersebut dapat memberikan manfaat untuk kesehatan, seperti efek antidiabetes, antikanker, serta pencegahan kepikunan (Priska *et al.*, 2018).

Kedelai hitam mengandung senyawa antinutrisi seperti *trypsin inhibitor* dan tanin. Keberadaan *trypsin inhibitor* memiliki kemampuan untuk mengikat enzim tripsin dan menghambat pemecahan substrat sehingga berpotensi mengganggu pencernaan, penyerapan, serta pemanfaatan nutrisi oleh tubuh (Gu *et al.*, 2023). Inaktivasi dapat dilakukan melalui pemanasan dengan suhu 100 - 121°C (Xiao *et al.*, 2025). Selain *trypsin inhibitor*, terdapat kandungan tanin pada kedelai yang juga berperan sebagai antibakteri yang dapat merusak membran sel serta mengganggu sistem transpor nutrisi di dalam sel bakteri (Farha *et al.*, 2020). Aktivitas tanin tersebut dapat berdampak pada terhambatnya pertumbuhan bakteri asam laktat sekaligus menurunkan degradasi protein selama proses pengolahan (Huang *et al.*, 2022). Pengurangan kadar tanin dapat dilakukan melalui proses perendaman karena sifat alami tanin yang larut dalam air (Ojo, 2022).

2.2. Starter Yogurt

Starter merupakan bahan tambahan yang digunakan dalam proses fermentasi yogurt. Menurut Fugaban *et al.* (2026), starter merupakan mikroorganisme seperti bakteri asam laktat yang ditambahkan ke dalam bahan baku untuk memulai dan mengendalikan proses fermentasi. Penggunaan starter ini memiliki fungsi untuk menghasilkan produk akhir yang memiliki kualitas, rasa, aroma, dan tekstur yogurt yang khas. Berdasarkan komposisinya, starter dapat diaplikasikan dalam bentuk kultur tunggal yang hanya memanfaatkan satu strain bakteri asam laktat, maupun konsorsium yang melibatkan dua atau lebih bakteri asam laktat (Santoyo *et al.*, 2021). Penambahan starter di awal fermentasi dikategorikan sebagai pembuatan

yogurt dalam jenis fermentasi tidak spontan. Selama proses fermentasi, bakteri asam laktat akan memproduksi laktase untuk menghidrolisis laktosa menjadi bentuk yang lebih sederhana seperti glukosa dan galaktosa (Sharma *et al.*, 2020). Pada pembuatan *black soygurt*, diperlukan penambahan susu skim sebagai sumber laktosa dan gula sukrosa untuk menyediakan gula sederhana tambahan untuk bakteri asam laktat (Sari *et al.*, 2024). Gula sederhana tersebut kemudian diolah lebih lanjut oleh bakteri asam laktat menjadi asam laktat yang dapat menghasilkan yogurt yang dapat membantu pertumbuhan mikroflora di dalam usus (Ibrahim *et al.*, 2021). Kombinasi beberapa jenis bakteri asam laktat banyak diterapkan dalam mengoptimalkan karakteristik dan mutu yogurt yang dihasilkan.

Salah satu bentuk pengaplikasian kombinasi starter bakteri asam laktat dapat ditemukan pada produk *Biokul Greek Yogurt*. Yogurt komersial tersebut memanfaatkan starter yang terdiri dari empat jenis bakteri, yaitu *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium*. Bakteri utama yang sangat mempengaruhi pembentukan karakteristik yogurt berupa *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Kedua bakteri asam laktat tersebut yang akan memberikan aroma dan cita rasa khas pada yogurt. *Lactobacillus bulgaricus* merupakan bakteri gram positif berbentuk batang yang dapat berkembang dengan atau tanpa oksigen. Bakteri ini akan mengubah protein menjadi rantai peptida pendek yang dapat meningkatkan pertumbuhan *Streptococcus thermophilus*. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* ini dapat bekerja dengan optimum pada pH 4 - 5,5 dengan suhu 37°C (Hendarto *et al.*, 2019) dengan minimal bakteri dapat tumbuh pada suhu 25°C (Tarabukina *et al.*,

2024). *Lactobacillus bulgaricus* akan bekerja sama dengan *Streptococcus thermophilus* dalam proses fermentasi yogurt.

Streptococcus thermophilus merupakan bakteri berbentuk kokus atau bulat yang aktif ketika mendekati pH netral dan suhu optimal pada 42-45°C. Bakteri ini akan bekerja dengan memecah laktosa susu menjadi monosakarida berupa glukosa dan galaktosa (Mawla *et al.*, 2025). Selain itu, bakteri *Streptococcus thermophilus* mengonsumsi oksigen yang tersisa sebagai makanannya sehingga dapat membantu *Bifidobacterium* dalam berkembang (Ma *et al.*, 2025). Salah satu kekurangan yang dimiliki oleh *Streptococcus thermophilus* adalah tidak bisa bertahan hidup di lingkungan asam yang menyebabkan bakteri akan mati ketika sampai di pencernaan dalam tubuh. Oleh karena itu, diperlukan penggunaan bakteri lainnya yang dapat hidup di saluran pencernaan seperti *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* untuk menghasilkan yogurt yang bermanfaat untuk tubuh.

Lactobacillus acidophilus dan *Bifidobacterium* merupakan probiotik yang termasuk mikroflora alami yang tumbuh di dalam saluran pencernaan, berbeda dengan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* yang akan berkurang jumlahnya ketika memasuki saluran pencernaan. Menurut Hidayati *et al.* (2021), bakteri probiotik merupakan bakteri yang dapat membantu meningkatkan mikroflora serta mencegah pertumbuhan bakteri patogen di saluran pencernaan. *Lactobacillus acidophilus* merupakan mikroflora penghuni saluran pencernaan yang dapat memfermentasi gula menjadi asam laktat yang akan menurunkan pH pada pencernaan yang menyebabkan bakteri patogen akan berkurang (Chozin *et al.*, 2022). Bakteri tersebut dapat tumbuh dalam proses fermentasi dengan optimal pada

pH 5,5 – 6,0 dengan suhu 35 - 38°C, namun tetap dapat tumbuh dengan suhu minimal 20°C (Gao *et al.*, 2022).

Bifidobacterium juga merupakan bakteri probiotik yang merupakan mikroflora alami di dalam saluran pencernaan. *Bifidobacterium* merupakan bakteri berbentuk “Y” yang bersifat anaerob, dengan suhu pertumbuhan optimal pada suhu 37-39°C dan minimum pada suhu 25-28°C (Liu *et al.*, 2024) serta dapat berkembang optimum pada pH 6,5 – 7,0 (Sibanda *et al.*, 2024). Lingkungan anaerob didapatkan dengan bantuan *Streptococcus thermophilus* yang bekerja mengonsumsi oksigen. Menurut Worku *et al.* (2020), *Bifidobacterium* dapat memproduksi asam asetat dan asam laktat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Asam laktat yang dihasilkan juga berfungsi untuk menurunkan pH lambung sehingga dapat memicu penyerapan mineral optimal di dalam tubuh.

Pemilihan jenis starter dalam pembuatan yogurt berbahan dasar nabati dapat memengaruhi karakteristik produk akhir. Menurut Oh *et al.* (2020), *Lactobacillus plantarum* merupakan starter yang dapat secara efektif memengaruhi kualitas pada fermentasi berbahan dasar nabati. Hal tersebut terjadi karena bakteri tersebut memiliki kemampuan untuk memetabolisme oligosakarida karena mengandung enzim α -galaktosidase serta memiliki β -glukosidase yang dapat memengaruhi antioksidan pada produk (Rahmawati *et al.*, 2023). Namun, berdasarkan SNI 2981 (2025), yogurt merupakan fermentasi dengan menggunakan bakteri asam laktat berupa *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* serta dapat ditambahkan dengan bakteri lainnya yang sesuai. Oleh karena itu, penggunaan

starter komersial dapat digunakan dengan bantuan penambahan susu skim dan gula sederhana tambahan sebagai substrat untuk bakteri asam laktat.

2.3. Nanas Madu

Nanas madu merupakan buah yang dapat dipanen sepanjang tahun sehingga keberadaannya melimpah di pasaran. Nanas madu memiliki nama latin *Ananas comosus* yang berasal dari famili *Bromoliceae* dengan genus *Ananas*. Nanas madu merupakan salah satu varietas nanas yang dibudidayakan di Indonesia terutama di daerah Kabupaten Pematang Jaya (Murniawaty *et al.*, 2022). Nanas madu memiliki buah berwarna kuning hingga oranye dengan rasa yang lebih manis dibandingkan dengan nanas biasa (Fauzi *et al.*, 2021). Rasa manis yang lebih tinggi dibandingkan nanas pada umumnya menyebabkan masyarakat banyak yang mengonsumsinya. Nanas madu memiliki karakteristik berupa warna kuning kemerahan, berbentuk lonjong menyerupai kerucut, berukuran sedang hingga besar, berdaun pendek, duri tajam yang membengkok ke belakang, dan dengan mata buah yang menonjol (Prambudi, 2019).

Nanas madu mengandung air dan gula yang melebihi dari nanas pada umumnya dengan kandungan air sebanyak 85,3% dan total gula 8,29% (Herlambang *et al.*, 2022). Terdapat kandungan lainnya yang dapat menambahkan nilai fungsional seperti vitamin C, vitamin A, dan mineral. Kandungan vitamin C dan vitamin A dapat berperan sebagai antioksidan untuk mencegah reaksi radikal bebas dalam tubuh (Mamuaja *et al.*, 2022). Mineral yang terkandung dapat berperan

dalam pembentukan tulang, mempermudah penyerapan zat besi, serta mengatur tekanan darah dan detak jantung (Sharma *et al.*, 2024).

Nanas madu mengandung 4,59% sukrosa, 1,94% fruktosa, dan 1,76% glukosa (Herlambang *et al.*, 2022). Penambahan nanas madu dengan kandungan gula sederhana tersebut dapat membantu metabolisme bakteri asam laktat karena terbatasnya monosakarida yang terkandung pada kedelai hitam. Bakteri asam laktat akan menggunakan gula untuk dimetabolisme dan diubah menjadi asam laktat yang akan menurunkan pH susu sehingga protein menjadi tidak stabil dan membentuk gumpalan yogurt (Triana *et al.*, 2019). Penggunaan gula tersebut dapat meningkatkan asam laktat sehingga menurunkan pH dan membantu lingkungan fermentasi menjadi memiliki pH yang optimal untuk bakteri asam laktat tumbuh dan mencapai pH yang sesuai standar untuk yogurt.

Penambahan sari nanas memerlukan perlakuan khusus karena adanya kandungan enzim bromelin di dalam nanas. Bromelin merupakan enzim golongan protease yang memiliki aktivitas proteolitik, yaitu mampu menghidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino (Pamaya *et al.*, 2018). Aktivitas proteolitik yang berlebih dapat berpotensi memengaruhi kestabilan struktur protein pada yogurt sehingga dapat menghambat proses pembentukan tekstur yang optimal. Oleh karena itu diperlukan pasteurisasi sebelum menambahkan sari nanas ke dalam produk. Menurut Anbesaw (2021), pemanasan pada suhu tinggi diketahui dapat menurunkan aktivitas enzim melalui proses denaturasi struktur enzim.

2.4. Fermentasi

Fermentasi pada umumnya merupakan proses suatu mikroorganisme memecah molekul organik kompleks menjadi lebih sederhana. Proses fermentasi memberikan beberapa manfaat bagi produk pangan yang difermentasi. Proses tersebut dapat memperpanjang masa simpan, memperbaiki rasa dan aroma, meningkatkan antioksidan, serta dapat menghilangkan senyawa yang tidak diinginkan dari bahan mentah (Sharma *et al.*, 2020). Proses fermentasi yogurt dilakukan dengan menggunakan mikroorganisme berupa bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok, yaitu jalur homofermentatif dan heterofermentatif (Hendarto *et al.*, 2019). Pada pembuatan yogurt, jenis bakteri asam laktat yang digunakan akan memanfaatkan jalur homofermentatif sebagai mekanisme utama dalam pengasaman.

Fermentasi pada yogurt merupakan fermentasi homofermentatif yang mengubah gula menjadi asam laktat (Hendarto *et al.*, 2019). Menurut Sharma *et al.* (2020), dalam proses fermentasi terjadi pemecahan laktosa yang terkandung di dalam susu oleh enzim β -galaktosidase dari bakteri asam laktat menjadi glukosa dan galaktosa. Glukosa tersebut akan masuk ke dalam sel bakteri asam laktat untuk didegradasi secara anaerob melalui proses glikolisis menjadi asam piruvat yang akan berakhir menjadi dua asam laktat. Pembentukan asam laktat tersebut yang akan menurunkan pH susu sehingga mengubah lingkungan menjadi asam. Lingkungan yang asam dapat memberikan efek masa simpan yang lebih lama serta menghambat pertumbuhan mikroba kontaminan.

Penggunaan jalur homofermentatif efektif pada susu sapi, sedangkan pada sari kedelai memerlukan bantuan enzim lain. Sari kedelai memiliki kandungan oligosakarida rafinosa dan stakiosa pada biji kedelai (Fugaban *et al.*, 2026). Penggunaan starter berupa *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* saja kurang mampu untuk memecah oligosakarida. Oleh karena itu, diperlukan bakteri asam laktat lainnya yang memiliki α -galaktosidase yang dapat mendegradasi oligosakarida (Lavelle *et al.*, 2025). α -galaktosidase merupakan enzim yang berfungsi untuk memecah oligosakarida seperti stakiosa dan rafinosa yang sering ditemukan pada kacang-kacangan menjadi galaktosa (Zhao *et al.*, 2022). Beberapa produk yogurt komersial memiliki komposisi starter berupa kombinasi dari *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, serta bakteri yang memiliki α -galaktosidase berupa *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium* sehingga dapat digunakan selama proses fermentasi berbahan dasar susu nabati.

2.5. Black Soygurt

Black soygurt adalah pangan fungsional hasil fermentasi susu yang berbahan dasar kedelai hitam. Sari kedelai hitam mengandung protein sebanyak 3,78 g/100 mL serta gula sederhana berupa fruktosa serta sukrosa (Leksono *et al.*, 2022). Kedelai hitam mengandung oligosakarida seperti rafinosa dan stakiosa yang berfungsi sebagai prebiotik untuk bakteri asam laktat (Al-Baarri *et al.*, 2024). Namun, keberadaan oligosakarida membutuhkan waktu fermentasi lebih lama agar bakteri asam laktat dapat mengurai oligosakarida menjadi gula sederhana untuk

keberlangsungan metabolisme serta mencegah penumpukan gas yang dapat terjadi setelah yogurt berada di dalam saluran pencernaan (Dewi dan Panunggal, 2016).

Pembuatan *black soygurt* terlebih dahulu membutuhkan perlakuan awal untuk meminimalisasi zat antinutrisi serta aroma tidak sedap akibat oksidasi asam lemak. Kedelai hitam mengandung enzim lipoksigenase yang memicu timbulnya bau langu saat lemak teroksidasi (Putra *et al.*, 2024). Reaksi tersebut dapat dikurangi melalui beberapa tahapan seperti merendam biji kedelai dalam larutan soda kue (NaHCO_3) 0,5% selama 8-12 jam serta menggiling kedelai menggunakan air panas dengan suhu 80-100°C (Kristiningrum *et al.*, 2021).

Karakteristik protein bahan baku berperan dalam menentukan stabilitas akhir produk yogurt. Pada yogurt susu sapi, protein berupa kasein dapat mengontrol interaksi antar misel dalam pembentukan gel yang kokoh, dimana penurunan pH hingga titik isoelektrik 4,6 dapat menyebabkan struktur gel lebih tertutup dan menyebabkan sineresis berkurang (Zhao *et al.*, 2016). Sebaliknya, pembentukan tekstur dan koagulasi pada yogurt berbahan dasar kedelai bergantung pada protein globulin yang memerlukan pemanasan hingga sekitar 90°C untuk membuka lipatan struktur rantai polipeptida yang akan mengekspos gugus hidrofobik, serta mengaktifkan gugus sulfihidril agar mampu beragregasi membentuk gel (Sim *et al.*, 2021). Menurut Sansi *et al.* (2024), protein kedelai memiliki titik isoelektrik sebesar 4,1 – 4,6. Perbedaan protein dan titik isoelektrik tersebut menyebabkan *black soygurt* memiliki tingkat sineresis lebih tinggi sehingga cenderung memiliki viskositas yang lebih rendah dibandingkan yogurt berbahan dasar susu sapi (Zahedeng *et al.*, 2025).

Pada pembuatan yogurt berbasis susu sapi, bakteri asam laktat akan mengubah laktosa menjadi asam laktat (Mulyani *et al.*, 2019). Pada pembuatan *black soygurt*, sari kedelai tidak mengandung laktosa sehingga diperlukannya substrat tambahan yang sesuai untuk bakteri. Penggunaan bakteri asam laktat yang memiliki enzim α -galaktosidase dapat membantu dalam memecah oligosakarida dalam kedelai hitam. Selain itu, penambahan bubuk skim yang mengandung kasein dan laktosa dapat membantu karena kandungannya dapat dimanfaatkan oleh bakteri *Lactobacillus bulgaricus* selama fermentasi. Laktosa akan dimanfaatkan oleh bakteri sehingga dihasilkannya asam laktat yang dapat menurunkan nilai pH. Penurunan pH tersebut berperan dalam pembentukan tekstur khas yogurt dan memberikan cita rasa yang asam (Utami *et al.*, 2023). Karakteristik yogurt yang terbentuk harus memenuhi standar mutu yogurt yang didasari pada persyaratan mutu yogurt oleh SNI 2981 (2025) pada Tabel 2.

Tabel 2. Syarat Mutu Yogurt

Kriteria Uji	Satuan	Spesifikasi
Keadaan		
- Warna	-	Normal
- Bau	-	Normal
- Rasa	-	Normal
Kadar Lemak (b/b)	%	Min. 3
Total padatan susu bukan lemak (b/b)	%	Min. 8,2
Protein (Nx6, 38) (b/b)	%	Min. 2,7
Kadar abu (b/b)	%	Maks. 1,0
Keasaman (dihitung sebagai asam laktat) (b/b)	%	0,5-2,0
Cemaran mikroba		
- Bakteri <i>coliform</i>	Koloni/g	Maks. 10
- <i>Salmonella</i>	-	Negatif/25 g
- <i>Listeria monocytogenes</i>	-	Negatif/25 g
Jumlah bakteri starter	Koloni/g	Min. 10^7

Sumber: Badan Standardisasi Nasional (2025)

2.6. Nilai pH

Nilai pH merupakan derajat keasaman yang dipakai untuk mengukur dan menggambarkan tingkat asam atau basa dari suatu larutan dengan alat berupa pH meter. Nilai pH produk dapat ditentukan dari besarnya konsentrasi ion H^+ dan OH^- yang terkandung (Jonathan *et al.*, 2022). Semakin banyak ion hidrogen (H^+) yang terkandung akan menghasilkan nilai pH yang semakin menurun. Penambahan sari buah nanas diketahui dapat memengaruhi tingkat keasaman dari suatu produk karena nanas mengandung asam sitrat yang memiliki kemampuan untuk menurunkan derajat keasaman (Legowo *et al.*, 2024). Pengujian nilai pH penting untuk diujikan sebagai indikator keberhasilan fermentasi, karena nilai pH yang turun menandakan aktivitas bakteri asam laktat telah optimal. Selain itu, nilai pH pada produk fermentasi berfungsi sebagai parameter yang menentukan titik akhir proses fermentasi berlangsung. Asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri dapat menurunkan nilai pH mendekati titik isoelektrik protein, sehingga menyebabkan protein kehilangan muatan dan terkoagulasi membentuk struktur gel semipadat yang khas pada yogurt (Alvarado *et al.*, 2025). Menurut standar yang telah ditetapkan oleh *Food and Drug Administration* (FDA), pH yogurt yang baik berada dibawah 4,6 (Gu *et al.*, 2025), serta beberapa literatur yang menyebutkan bahwa syarat yogurt yang bermutu memiliki nilai pH berkisar 3,80 – 4,50 (Tacazily *et al.*, 2024).

2.7. Total Asam Tertitrasi

Pengujian total asam tertitrasi dilakukan untuk mengukur jumlah asam organik, terutama asam laktat yang terbentuk selama proses fermentasi. Analisis tersebut menggunakan metode titrasi yang dibantu indikator warna berupa *phenolphthalein* untuk menandai pencapaian titik ekuivalen (Leba *et al.*, 2023). Pada formulasi *black soygurt*, penambahan sari nanas madu berpotensi meningkatkan nilai keasaman produk secara signifikan. Hal ini disebabkan oleh kandungan asam organik alami pada nanas seperti asam sitrat dan asam malat (Anggraini dan Fitria, 2021). Oleh karena itu, pengujian total asam tertitrasi penting untuk dilakukan untuk memastikan tingkat keasaman *black soygurt* nanas tetap memenuhi standar mutu pangan. Berdasarkan SNI 2981:2009, nilai total asam pada produk yogurt yang baik berkisar antara 0,5 – 2,0% (Ramadhan *et al.*, 2024)

2.8. Warna

Warna merupakan hasil dari panjang gelombang cahaya pada spektrum yang dapat dilihat dan dideteksi oleh mata manusia (Kurniawan, 2020). Menurut Santoso *et al.* (2020), cahaya yang tampak dan dapat dilihat oleh mata manusia memiliki panjang gelombang antara 400 sampai dengan 760 nm yang terdiri dari warna cahaya berupa merah, jingga, kuning, hijau, biru, nila, serta ungu. Salah satu cara untuk mengetahui nilai warna yang terdapat pada *black soygurt* adalah dengan CIE $L^*A^*B^*$. Parameter $L^*a^*b^*$ ditetapkan oleh *Comission Internationale de l'éclairage* (CIE) atau *International Commission on Illumination* dengan nilai L^* merupakan koordinat untuk kecerahan (*lightness*), a^* merupakan koordinat untuk

hijau-merah, serta b^* merupakan koordinat untuk warna biru-kuning (Rahmayanti *et al.*, 2025). Berdasarkan nilai $L^*a^*b^*$ tersebut, analisis warna dapat diubah menjadi parameter lanjutan berupa *hue*, *chroma*, dan *whiteness index*. *Hue* merupakan nilai yang menunjukkan warna dasar asli dari sampel, dimana sudut 0° merepresentasikan merah, 45° berwarna oranye kemerahan, 90° berwarna kuning, 180° berwarna hijau, dan 270° berwarna biru (Rashwan *et al.*, 2025). *Chroma* merupakan parameter untuk menilai intensitas atau saturasi suatu warna, dengan semakin tinggi nilai *chroma* menandakan warna semakin pekat (Itle *et al.*, 2022). Selain itu *whiteness index* (WI) merepresentasikan keputihan suatu sampel berdasarkan perhitungan nilai $L^*a^*b^*$, dengan nilai yang semakin tinggi menandakan sampel berwarna semakin putih (Rashwan *et al.*, 2024). Warna merupakan salah satu aspek penting dalam produk pangan. Penampilan produk khususnya warna sangatlah memengaruhi konsumen untuk mengonsumsi produk (Bielaszka *et al.*, 2024). Untuk mengetahui nilai $L^*a^*b^*$ pada suatu sampel, dibutuhkan alat seperti *colorimeter* atau *color reader*. Penggunaan kacang kedelai hitam sebagai basis yogurt akan menghasilkan warna yang berbeda dibandingkan dengan yogurt berbasis susu sapi maupun kedelai kuning.

2.9. Vitamin C

Vitamin C merupakan zat esensial yang larut dalam air dan berperan penting dalam menjaga kesehatan tubuh manusia. Senyawa ini dikenal sebagai antioksidan kuat yang terdapat dalam dua bentuk, yaitu asam askorbat dan asam dehidroaskorbat (Alberts *et al.*, 2025). Asam askorbat atau vitamin C banyak

ditemukan dalam bahan pangan dan bersifat mudah terdegradasi. Yin *et al.* (2022) mengatakan bahwa pemanasan pada suhu 90°C selama 1 menit dapat menurunkan kandungan vitamin C sebanyak 8 – 18% dari kandungan awal. Asam askorbat banyak dihasilkan oleh berbagai jenis tumbuhan, terutama buah-buahan. Menurut Belete *et al.* (2023), beberapa buah yang mudah ditemukan dan kaya akan kandungan asam askorbat antara lain pepaya (78,01 mg/100 g), nanas (52,9 mg/100 g), dan lemon (51,18 mg/100 g). Penentuan kadar vitamin C umumnya dilakukan menggunakan metode iodimetri dan spektrofotometri UV-Vis. Prinsip dari metode iodimetri berupa reaksi oksidasi-reduksi antara iodine sebagai larutan baku dengan vitamin C sebagai reduktor (Tembusai *et al.*, 2021). Sedangkan menurut Nugroho *et al.* (2020), prinsip kerja dari spektrofotometri berupa kemampuan senyawa dalam menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu.

2.10. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas (Zehiroglu dan Sarikaya, 2019). Senyawa antioksidan diperlukan dalam tubuh untuk menghadapi radikal bebas yang disebabkan oleh tidak seimbangnya oksidan dan antioksidan. Antioksidan bekerja dengan menyumbangkan elektron serta menghentikan reaksi berantai radikal bebas yang dapat merusak sel (Ansyori *et al.*, 2024). Rusaknya sel menyebabkan munculnya berbagai penyakit degeneratif seperti kardiovaskular, diabetes melitus, dan penyakit lainnya (Widiasriani *et al.*, 2024). Antioksidan alami dapat ditemukan pada berbagai bagian tubuh tumbuhan seperti akar, kulit, batang, daun, buah, biji, dan

bunga. Salah satu kelompok senyawa terbesar yang berperan sebagai antioksidan alami pada tumbuhan adalah senyawa flavonoid (Dhurhania dan Novianto, 2018).

Flavonoid terbagi menjadi beberapa jenis seperti antosianin dan isoflavon. Antosianin merupakan jenis flavonoid larut air yang berperan sebagai pigmen pemberi warna merah, biru, dan ungu pada tumbuhan. Kestabilan antosianin dipengaruhi oleh pH, dimana antosianin akan lebih stabil pada larutan asam (Purwaniati *et al.*, 2020). Isoflavon merupakan flavonoid yang berfungsi untuk mengikat radikal bebas yang dapat menyebabkan penyakit pada tubuh manusia. Senyawa ini banyak terdapat pada biji kedelai yang mengandung sekitar 12 jenis isoflavon dalam bentuk glikosidan dan aglikon (Yulifianti *et al.*, 2018).

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2026 – April 2026. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang, serta Laboratorium Cendekia Nanotech Utama.

3.2. Materi

Bahan yang digunakan dalam pembuatan *black soygurt* pada penelitian ini meliputi kedelai hitam yang dibeli dari Pasar Rasamala, Banyumanik, Semarang, nanas (Sunpride), *greek yogurt* (Biokul) dengan strain konsorsium (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium*), soda kue (Koepoe-koepoe), susu skim (Indoprima), gula (Gulaku), dan air mineral (Aqua). Peralatan yang digunakan terdiri atas panci, *juicer* (Panasonic MJ-68M), *blender* (Philips HR2115), kompor, pengaduk, timbangan digital, saringan 200 mesh, sendok, jar kaca 500 ml, dan inkubator.

Bahan yang digunakan dalam pengujian nilai pH berupa *black soygurt* dan buffer pH 7 dan pH 4 sebagai kalibrasi. Bahan yang digunakan dalam pengujian total asam tertitrasi meliputi *black soygurt*, indikator *phenolphthalein* (PP) sebagai penentu titik akhir titrasi, serta larutan NaOH 0,1 N sebagai titran. Pada pengujian kadar vitamin C digunakan sampel *black soygurt*, aquades, larutan amilum 1%

sebagai indikator, dan larutan iodium 0,01 N sebagai titran. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan sampel *black soygurt*, aquades, etanol, dan larutan DPPH sebagai sumber radikal bebas stabil.

Peralatan yang digunakan untuk mengukur nilai pH terdiri dari pH meter digital (Ohaus Starter 2200, Amerika Serikat) dan gelas beaker. Pengujian total asam tertitrasi menggunakan labu erlenmeyer 50 mL, gelas beaker 100 mL, pipet, dan buret sebagai alat titrasi. Penentuan kadar vitamin C memerlukan alat berupa labu erlenmeyer 50 mL, gelas beaker 100 mL, pipet, dan buret. Alat yang digunakan untuk penilaian warna dilakukan dengan menggunakan *color reader* (Konica Minolta CR-20, Jepang). Sementara itu, pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan kuvet dan spektrofotometer UV-Vis (Go Direct SpectroVis Plus Primer Vernier, Amerika Serikat) untuk pengukuran absorbansi pada panjang gelombang yang ditentukan.

3.3. Metode Penelitian

Metode penelitian ini meliputi rancangan percobaan, prosedur penelitian, pengujian parameter, dan analisis data yang diperoleh dari hasil percobaan. Urutan metode penelitian yang dilakukan sebagai berikut:

3.3.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu penambahan sari nanas madu pada 4 perlakuan berupa kontrol (P0), 5% sari nanas madu (P1), 10% sari nanas madu (P2), 15% sari

nanas madu (P3). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali sehingga diperoleh 20 unit percobaan. Pengujian antioksidan dilakukan dengan 1 kali ulangan secara duplo dan dianalisis secara deskriptif. Desain penelitian terdapat pada Tabel 3.

Tabel 3. Desain Penelitian *Black Soygurt* Penambahan Sari Nanas Madu

Perlakuan (P)	Ulangan (U)				
	U ₁	U ₂	U ₃	U ₄	U ₅
P ₀	P ₀ U ₁	P ₀ U ₂	P ₀ U ₃	P ₀ U ₄	P ₀ U ₅
P ₁	P ₁ U ₁	P ₁ U ₂	P ₁ U ₃	P ₁ U ₄	P ₁ U ₅
P ₂	P ₂ U ₁	P ₂ U ₂	P ₂ U ₃	P ₂ U ₄	P ₂ U ₅
P ₃	P ₃ U ₁	P ₃ U ₂	P ₃ U ₃	P ₃ U ₄	P ₃ U ₅

Model linear matematis yang digunakan rancangan percobaan penelitian yang diterapkan yaitu :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : Hasil angka pengamatan pada *black soygurt* dari penambahan sari nanas madu ke-i (P₀, P₁, P₂, P₃) pada ulangan ke-j (U₁, U₂, U₃, U₄, U₅).

μ : Nilai rata-rata umum hasil pengamatan (hipotesis yang diuji)

α_i : Pengaruh perlakuan variasi penambahan sari nanas madu terhadap *black soygurt* ke-i (P₀, P₁, P₂, P₃)

ε_{ij} : Pengaruh galat percobaan pada variasi penambahan sari nanas madu ke-i (P₀, P₁, P₂, P₃) dan ulangan ke-j (U₁, U₂, U₃, U₄, U₅)

3.3.2. Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

H_0 : Penambahan sari nanas madu tidak berpengaruh terhadap nilai pH, total asam tertitrasi, warna, vitamin C, dan antioksidan *black soygurt*.

H_1 : Penambahan sari nanas madu berpengaruh terhadap nilai pH, total asam tertitrasi, warna, vitamin C, dan antioksidan *black soygurt*.

Secara statistik, hipotesis di atas dapat dijabarkan sebagai berikut:

H_0 : $\mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$

H_1 : $\mu_0 \neq \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$, atau setidaknya terdapat satu perbedaan rata-rata antar perlakuan.

Kriteria penerimaan hipotesis pada pengujian ini yaitu jika $p < 0,05$, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Jika $p \geq 0,05$, maka H_0 diterima dan H_1 ditolak.

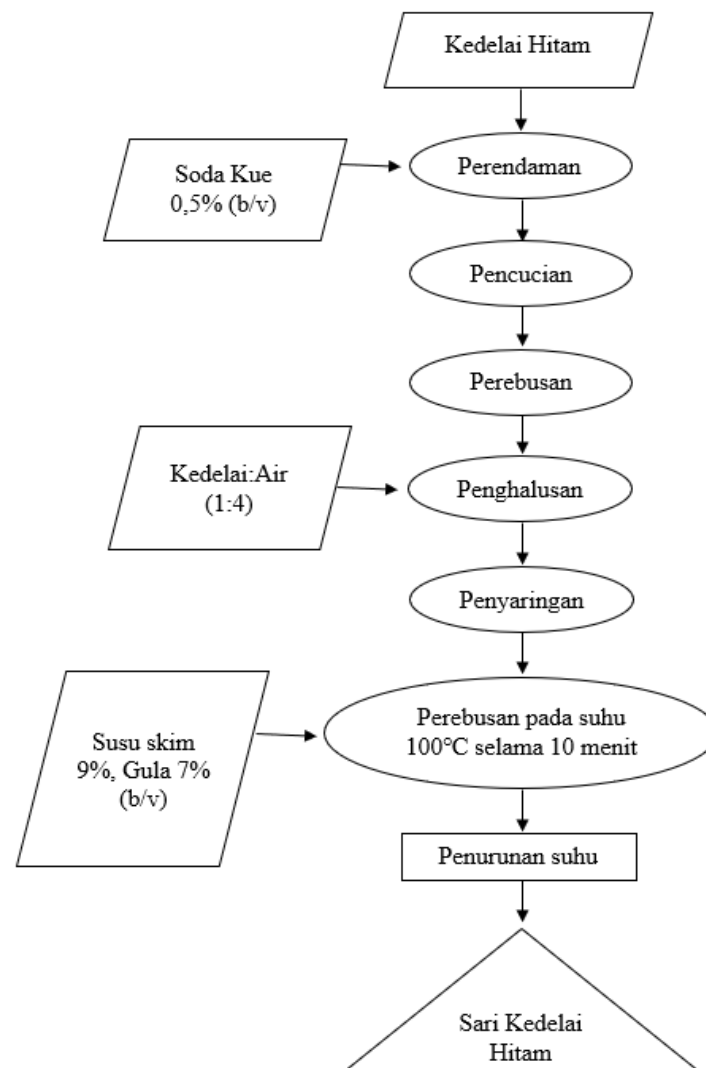
3.3.3. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dalam proses pembuatan *black soygurt* terdiri dari beberapa tahapan berupa pembuatan sari kedelai hitam, pembuatan sari nanas madu, dan pembuatan *black soygurt*.

1) Pembuatan Sari Kedelai Hitam

Pembuatan sari kedelai hitam dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Anjum *et al.* (2025) dengan modifikasi. Biji kedelai hitam direndam selama 12 jam dengan penambahan 0,5% soda kue, kemudian cuci bersih dengan air mengalir. Kedelai direbus selama 15 menit sebelum dihaluskan dengan air panas 80°C dengan perbandingan kedelai dan air 1:4. Hasil penghalusan kemudian disaring

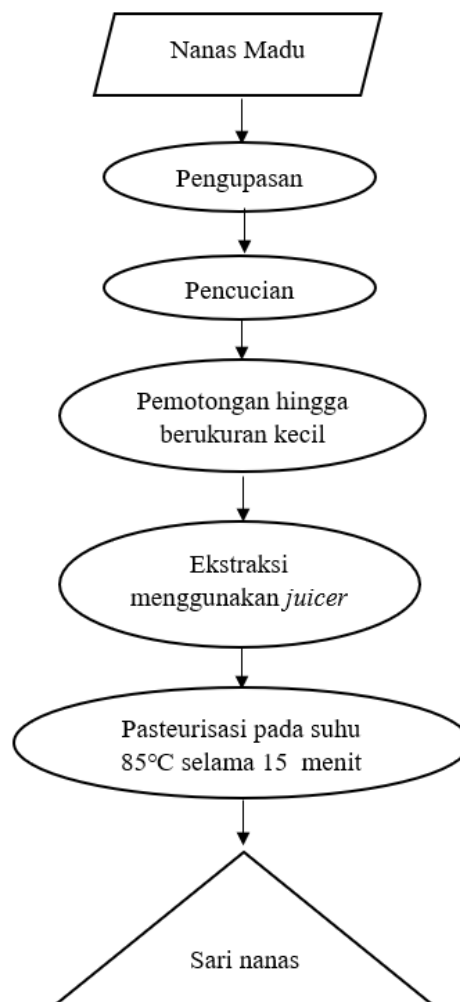
menggunakan kain saring. Selanjutnya berupa rebus sari kedelai hitam dengan menambahkan susu skim 9% dan gula 7% selama 10 menit dengan suhu 100°C. Kemudian sari kedelai hitam dapat didiamkan hingga bersuhu 40 – 45°C. Diagram alir pembuatan sari kedelai hitam dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Diagram Alir Pembuatan Sari Kedelai Hitam

2) Pembuatan Sari Nanas Madu

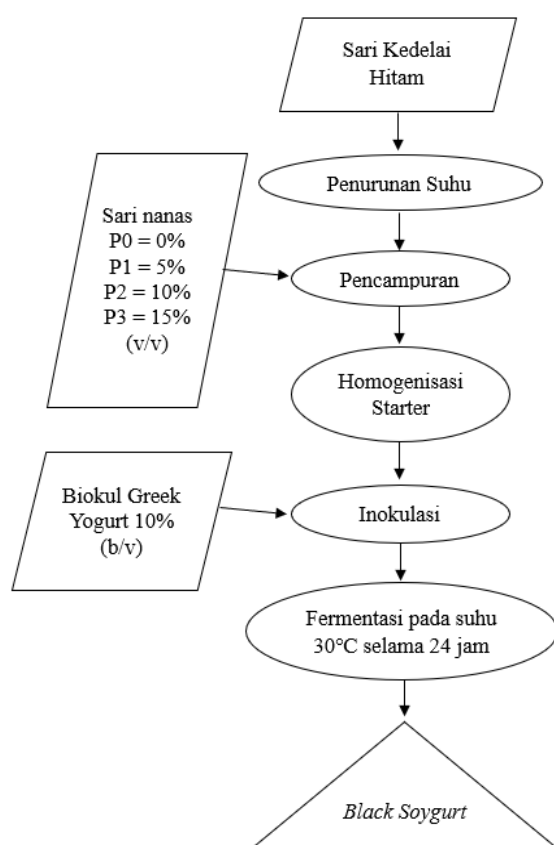
Pembuatan sari nanas madu dilakukan dengan menggunakan metode yang dilakukan oleh Aziz *et al.* (2023) dengan modifikasi. Nanas dikupas dan dipotong menjadi berukuran kecil. Selanjutnya potongan tersebut dimasukan kedalam *juicer* untuk diambil sarinya. Setelah itu sari nanas dipasteurisasi pada suhu 85°C selama 15 menit. Diagram alir pembuatan sari nanas dapat dilihat pada Ilustrasi 2.



Ilustrasi 2. Diagram Alir Pembuatan Sari Nanas

3) Pembuatan *Black Soygurt* dengan Penambahan Sari Nanas Madu

Pembuatan soygurt dengan penambahan nanas madu dilakukan dengan metode yang telah dilakukan oleh Sulityo *et al.* (2024) dengan modifikasi. Sari kedelai hitam yang telah dipasteurisasi kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 40 - 45°C. Langkah selanjutnya adalah menambahkan sari nanas dengan perbandingan 0%, 5%, 10%, dan 15% ke dalam sari kedelai hitam. Kemudian masukan starter Biokul *Greek Yogurt* sebanyak 10% ke dalam sampel dan inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang berkisar 30°C. Diagram alir pembuatan *black soygurt* dengan penambahan sari nanas madu dapat dilihat pada Ilustrasi 3.



Ilustrasi 3. Diagram Alir Pembuatan *Black Soygurt*

3.3.4. Pengujian Parameter

Pengujian parameter *black soygurt* dilakukan dengan menguji nilai pH, total asam tertitrasi, warna, vitamin C, serta antioksidan. Prosedur pengujian parameter diuraikan sebagai berikut:

1) Nilai pH

Pengujian nilai pH berdasarkan metode yang dilakukan oleh AOAC (2005) dengan menggunakan pH meter. Alat pH meter (Ohaus Starter 2200) terlebih dahulu dikalibrasi dengan menggunakan buffer dengan pH 4.0 dan 7.0 pada suhu ruang. Kemudian elektroda dimasukkan ke dalam sampel yang telah homogen hingga hasil tersedia.

2) Total Asam Tertitrasi

Pengujian total asam tertitrasi dilakukan dengan metode berdasarkan AOAC (1990) dengan modifikasi. Pengujian dimulai dengan menyiapkan sampel sebanyak 10 ml ke dalam labu ukur 100 mL. Sampel kemudian dilarutkan dengan aquades hingga tanda batas 100 mL. Sampel diambil sebanyak 10 mL ke dalam labu erlenmeyer dan ditetaskan dengan indikator *Phenolphthalein* (PP) sebanyak 2 hingga 3 tetes. Sampel kemudian di titrasi dengan menggunakan NaOH 0,1 N hingga sampel berubah menjadi warna merah muda konstan. Catat NaOH yang terpakai dan hitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Total Asam Titrasi} = \frac{V1 \times N \times B \times Fp}{V2 \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

V1 : Volume NaOH 0,1 N (ml)

V2 : Berat sampel (g)

N : Normalitas NaOH (0,1 N)

B : Berat molekul asam laktat (90)

Fp : Faktor Pengenceran

3) Warna

Pengukuran nilai $L^*a^*b^*$ pada *black soygurt* dilakukan berdasarkan metode yang dilakukan oleh Evadewi dan Tjahjani (2021) dengan modifikasi. Pengujian dilakukan dengan menggunakan *color reader*. Sampel diukur sebanyak 25 mL dan dimasukkan ke dalam cup. *Color reader* kemudian ditempelkan ke mulut cup dan tombol alat ditekan. Nilai L^* menggambarkan tingkat kecerahan warna dengan semakin tinggi nilai semakin berwarna putih. Nilai a^* menggambarkan derajat kemerahan dan kehijauan yang dinyatakan dengan semakin positif berwarna kemerahan dan semakin negatif berwarna kehijauan. Nilai b^* menggambarkan derajat kekuningan dan kebiruan pada sampel. Nilai positif menunjukkan warna kekuningan sedangkan nilai dengan sumbu negatif menyatakan warna kebiruan (Widyasanti *et al.*, 2018). Berdasarkan Rashwan *et al.* (2025), parameter meliputi ΔE , *hue*, *chroma*, dan *whiteness index* dihitung menggunakan hasil pengukuran nilai $L^*a^*b^*$ dengan rumus sebagai berikut:

$$\Delta E = \sqrt{(L^*2 - L^*1)^2 + (a^*2 - a^*1)^2 + (b^*2 - b^*1)^2}$$

$$\text{Hue} = H^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*)$$

$$Chroma = C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$Whiteness\ index = WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

4) Vitamin C

Pengukuran kadar vitamin C yang terkandung di dalam *black soygurt* dilakukan dengan metode yang dilakukan oleh Nasution *et al.* (2025) dengan modifikasi. Sampel diukur sebanyak 10 gram dan dilarutkan dengan aquades hingga volume 100 mL. Kemudian pindahkan ke labu erlenmeyer sebanyak 10 gram dan teteskan indikator amilum sebanyak 5 tetes ke dalam erlenmeyer. Titrasi larutan dengan menggunakan larutan iodin (I_2) 0,01 N hingga warna berubah menjadi biru. Catat iodin yang terpakai dan masukkan ke dalam rumus:

$$\text{Kadar Vitamin C (mg/100g)} = \frac{V_1 \times 0,88 \times Fp}{V_2} \times 100$$

Keterangan:

V1 : Volume Iodin (ml)

Fp : Faktor Pengenceran

V2 : Berat sampel (g)

5) Antioksidan

Aktivitas antioksidan pada *Black soygurt* diuji dengan metode yang dilakukan oleh Thamer *et al.* (2024) dengan menggunakan larutan DPPH. Sampel disiapkan sebanyak 2 ml dan dilarutkan dalam 2 mL larutan DPPH 0,1 mM. Larutan tersebut kemudian di inkubasi dalam wadah tanpa cahaya dan suhu kamar selama 30 menit. Kemudian larutan tersebut dilakukan pengukuran dengan menggunakan

spektrofotometer UV-visibel dengan panjang gelombang 517 nm. Hasil dari pengukuran kemudian dihitung dengan satuan persen.

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Abs. Standar} - \text{abs.sampel}}{\text{Abs. Standar}} \times 100\%$$

3.3.5. Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa data kuantitatif. Data hasil pengujian nilai pH, total asam tertitiasi, warna, vitamin C, dan antioksidan dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan *software* IBM SPSS statistics 26.0 pada taraf signifikansi 5%. Apabila terdapat pengaruh nyata maka dilanjutkan dengan pengujian *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

3.3.6. Penentuan Formula Optimal

Penentuan formula optimal dari variasi penambahan sari nanas madu terhadap *black soygurt* mengacu pada Agustina *et al.* (2020) dengan modifikasi. Penentuan formula optimum dilakukan dengan menggunakan *software* Design Expert 8.0.6. dengan penggunaan metode *desirability function* pada *General Factorial Design*. *Desirability function* atau nilai *desirability* tersebut merupakan metode yang dapat digunakan untuk melakukan optimasi multirespon pada suatu proses (Againa *et al.*, 2016). Penggunaan aplikasi tersebut bertujuan untuk menemukan formula optimum melalui prediksi berdasarkan interaksi variabel bebas terhadap variabel terikat, sehingga dapat mengurangi waktu dan biaya untuk mengembangkan formula (Sopyan *et al.*, 2022). Tata cara penggunaan *software*

dapat dilihat pada Lampiran 14, dengan langkah awal optimasi ditentukan berdasarkan penetapan kriteria karakteristik yogurt yang diinginkan sebagai batasan dengan range untuk setiap parameter pengujian, dengan penentuan kriteria dapat dilihat pada Tabel 9. Kriteria yang sudah ditentukan kemudian akan dikombinasikan oleh *software* untuk memberikan kombinasi perlakuan yang paling sesuai dengan target yang telah ditentukan sebelumnya. Hasil dari *software* tersebut berupa nilai *desirability* untuk beberapa solusi yang dihasilkan. Nilai *desirability* memiliki rentang 0 – 1, dengan nilai paling mendekati 1 merupakan nilai yang paling optimal (Ruiz-Domínguez *et al.*, 2020). Hasil solusi untuk optimasi formula dapat dilihat pada Tabel 10 dan Lampiran 15.