PENGARUH PENAMBAHAN SARI BUAH NANGKA TERHADAP TOTAL BAL, TOTAL ASAM TERTITRASI, NILAI PH, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA *BLACK SOYGURT*

SKRIPSI

Oleh

NUR MISYKAATUZ ZUJAAJAH

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

PENGARUH PENAMBAHAN SARI BUAH NANGKA TERHADAP TOTAL BAL, TOTAL ASAM TERTITRASI, NILAI PH, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA *BLACK SOYGURT*

Oleh

NUR MISYKAATUZ ZUJAAJAH
NIM: 23020122140161

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 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Nur Misykaatuz Zujaajah
N I M	: 23020122140161
Program Studi	: S–1 Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut:

1. Skripsi yang berjudul: **Pengaruh Penambahan Sari Buah Nangka Terhadap Total BAL, Total Asam Tertitrasi, Nilai pH, dan Aktivitas Antioksidan Pada *Black Soygurt*** dan penelitian yang terkait dengan karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya 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: **Prof. Ir. Anang M. Legowo, M.Sc., Ph.D.** dan **Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si.**

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



Nur Misykaatuz Zujaajah

Mengetahui:

Pembimbing Utama	Pembimbing Anggota
(Prof. Ir. Anang M. Legowo, M.Sc., Ph.D.)	(Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si.)

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi	:	PENGARUH PENAMBAHAN SARI BUAH NANGKA TERHADAP TOTAL BAL, TOTAL ASAM TERTITRASI, NILAI PH, DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA *BLACK SOYGURT*
Nama Mahasiswa	:	NUR MISYKAATUZ ZUJAAJAH
Nomor Induk Mahasiswa	:	23020122140161
Program Studi/Departemen	:	TEKNOLOGI PANGAN / PERTANIAN
Fakultas	:	PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
Dan dinyatakan lulus pada tanggal ....13 OCT 2026

Pembimbing Utama

Prof. Ir. Anang M. Legowo, M.Sc., Ph.D.

Pembimbing Anggota

Ratih Paramastuti, S. Gz., M.Si.

Ketua Program Studi

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

Ketua Panitia Ujian Akhir Program

Swastika Dewi, S.TP., M.Sc.

Dekan

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

Ketua Departemen

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

RINGKASAN

NUR MISYKAATUZ ZUJAAJAH. 23020122140161. 2026. Pengaruh Penambahan Sari Buah Nangka Terhadap Total BAL, Total Asam Tertitrasi, Nilai pH, dan Aktivitas Antioksidan Pada *Black Soygurt*. (Pembimbing: **ANANG M. LEGOWO** dan **RATIH PARAMASTUTI**).

Black soygurt merupakan produk pangan fermentasi berbasis kedelai hitam yang berpotensi dikembangkan sebagai pangan fungsional karena mengandung senyawa bioaktif dan bakteri asam laktat. Penambahan sari buah nangka berpotensi meningkatkan karakteristik *black soygurt* melalui kandungan gula alami, vitamin C, dan senyawa fenolik yang dimilikinya. Pemanfaatan sari buah nangka sebagai bahan tambahan pada *black soygurt* diharapkan dapat mendukung pengembangan produk pangan fungsional berbasis bahan pangan lokal.

Penelitian dilakukan untuk menguji variasi penambahan sari buah nangka terhadap *black soygurt*. Bahan yang digunakan kedelai hitam, buah nangka, susu skim, *greek yoghurt* "Biokul", gula, dan air. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah aquades, etanol, larutan DPPH, NaCl fisiologis 0,85%, media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA), NaOH 0,1N, indikator PP dan *buffer* pH 4. Metode pembuatan *black soygurt* diawali dengan pembuatan sari kedelai hitam dan pembuatan sari buah nangka. Kedelai hitam direndam 12 jam, dihaluskan, disaring, dan dipasteurisasi. Buah nangka dihaluskan dan dipasteurisasi. Sari kedelai kemudian ditambahkan susu skim dan gula, dipasteurisasi, lalu dicampur dengan sari nangka dan starter yoghurt. Selanjutnya, campuran difermentasi selama 24 jam. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor tunggal yaitu variasi konsentrasi sari buah nangka yang terdiri dari lima perlakuan yaitu 0%, 5%, 10%, 15 % dan 20% dengan empat kali ulangan. Pengujian meliputi total bakteri asam laktat (BAL) menggunakan metode TPC, total asam tertitrasi menggunakan metode titrasi, nilai pH menggunakan alat pH meter Ohaus, dan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Data hasil pengujian total asam tertitrasi, total BAL dan nilai pH dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) kemudian dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) sedangkan data aktivitas antioksidan dianalisis secara deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan sari buah nangka tidak memberikan pengaruh terhadap total bakteri asam laktat, total asam tertitrasi, dan nilai pH pada *black soygurt*. Aktivitas antioksidan *black soygurt* tidak menunjukkan peningkatan secara konsisten seiring peningkatan konsentrasi sari buah nangka. Berdasarkan hasil penelitian secara keseluruhan, penambahan sari buah nangka telah memenuhi standar mutu SNI 2981:2009 terhadap total BAL dan total asam tertitrasi pada *black soygurt*.

KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas karunia, curahan rahmat, dan hidayat-Nya, penulis dapat menyelesaikan kegiatan penelitian serta skripsi dengan judul "Pengaruh Penambahan Sari Buah Nangka Terhadap Total BAL, Total Asam Tertitrasi, Nilai pH, dan Aktivitas Antioksidan Pada *Black Soygurt*" dengan baik. Penyusunan Skripsi ini berdasarkan hasil dari penelitian yang telah berlangsung selama 4 bulan di Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari dukungan, bantuan, bimbingan, dan arahan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak sebagai berikut:

1. Kedua orang tua penulis, Bapak Imam dan Ibu Naily serta kedua kakak penulis yaitu Mas Aun dan Mba Sausan yang selalu memberikan doa dan dukungan selama penulis melakukan penelitian dan penyusunan skripsi. Menjadi orang tua yang sangat supportif dan sangat mengusahakan apapun untuk penulis. Penulis berharap dengan selesainya penulisan skripsi ini dapat menjadi bentuk penghormatan atas segala perjuangan yang telah orang tua penulis berikan untuk penulis.
2. Prof. Ir. Anang M. Legowo, M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Ratih Paramastuti, S. Gz., M.Si. selaku dosen pembimbing anggota, yang telah memberikan saran, bimbingan, dan dukungan penuh kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi dengan baik.
3. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah memberikan izin dan kesempatan bagi penulis untuk mengikuti perkuliahan, melaksanakan penelitian, dan menulis skripsi.
4. Bapak Ahmad Ni'matullah Al-Baari, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku Ketua Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan bagi penulis untuk

melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi.

5. Bapak Ahmad Ni'matullah Al-Baari, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro telah memberikan izin dan kesempatan bagi penulis untuk melakukan penelitian.
6. Bapak Dr. Rafli Zulfa Kamil, S.T.P. selaku Dosen Wali yang telah memberikan pengarahan, kesempatan, dan bimbingan penulis dari awal semester hingga ujian akhir.
7. Ibu Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si. dan ibu Ulil Afidah, S.Pt., M.Sc selaku dosen penguji dan ibu Swastika Dewi, S.TP., M.Sc. selaku dosen panitia ujian akhir yang telah memberikan arahan, masukan, saran, dan ilmu selama keberjalanan proses penyusunan skripsi hingga pelaksanaan ujian akhir.
8. Bapak dan Ibu dosen serta karyawan kependidikan Program Studi Teknologi Pangan serta Fakultas Peternakan dan Pertanian yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan teknologi serta melayani selama masa perkuliahan.
9. Ayesha Putriadvi, Amelia Sriyantika, dan Aqilah Azizah selaku *partner* seperjuangan penelitian *black soygurt* yang senantiasa membantu selama penelitian, selalu bersama dalam perjuangan penelitian, menemani selama masa perkuliahan, serta selalu menyertai dan mendukung setiap langkah perjuangan penelitian hingga penyusunan skripsi.
10. Sahabat-sahabat penulis selama masa perkuliahan Dina Agape Romauli Hutapea, Khairunysyah Salsabilla Pulungan, Laura Amelia Putri, dan Lathifa Zahira Yahya yang selalu menemani dan mendukung serta menghibur penulis baik dalam keadaan susah maupun suka selalu menjadi tempat untuk cerita dan berkeluh kesah di perkuliahan, dan selalu menjadi sahabat penulis dari awal perkuliahan hingga dapat menyelesaikan tugas akhir dengan baik.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu demi satu, yang telah ikut memberikan dukungan dan semangat kepada penulis dalam menempuh pendidikan S-1 Teknologi Pangan di Universitas Diponegoro sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna karena keterbatasan kemampuan dan ilmu pengetahuan yang dimiliki oleh Penulis. Oleh karena itu, atas kesalahan dan kekurangan dalam penulisan skripsi ini, Penulis memohon maaf dan bersedia menerima kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi siapa saja yang membacanya.

Semarang, Agustus 2026

DAFTAR ISI

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Error! Bookmark not defined.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI iv

RINGKASAN v

KATA PENGANTAR vi

DAFTAR TABEL xi

DAFTAR ILUSTRASI xii

DAFTAR LAMPIRAN xiii

BAB I PENDAHULUAN 1

1.1. Latar Belakang 1

1.2. Tujuan dan Manfaat 4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 5

2.1. Yogurt 5

2.2. *Black Soygurt* 7

2.3. Kedelai Hitam 7

2.4. Buah Nangka ..... .10

2.5. Total BAL ..... .12

2.6. Total Asam Tertitrasi ..... .13

2.7. Nilai pH ..... .13

2.8. Aktivitas Antioksidan ..... .14

BAB III MATERI DAN METODE ..... .16

3.1. Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian ..... .16

3.2. Materi Penelitian ..... .16

3.3. Metode Penelitian ..... .17

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN ..... .26

4.1. Total BAL ..... .26
4.2. Total Asam Tertitrasi ..... .28
4.3. Nilai pH ..... .31
4.4. Aktivitas Antioksidan ..... .33
BAB V SIMPULAN DAN SARAN ..... .37
5.1. Simpulan ..... .37
5.2. Saran ..... .37
DAFTAR PUSTAKA ..... .38
LAMPIRAN ..... .45
RIWAYAT HIDUP ..... .56

DAFTAR TABEL

Nomor Halaman

1. Syarat Mutu Yogurt 6
2. Taraf Penambahan Sari Buah Nangka Pada *Black Soygurt* 21
3. Hasil Pengujian Total BAL *Black Soygurt* dengan Penambahan Sari Buah Nangka 26
4. Hasil Pengujian Total TAT *Black Soygurt* dengan Penambahan Sari Buah Nangka 29
5. Hasil Pengujian Nilai pH *Black Soygurt* dengan Penambahan Sari Buah Nangka 31
6. Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan *Black Soygurt* dengan Penambahan Sari Buah Nangka 33

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor Halaman

1. Pembuatan Sari Kedelai Hitam 19

2. Pembuatan Sari Buah Nangka..... 20

3. Pembuatan *Black Soygurt* dengan Penambahan Sari Buah Nangka (0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%)..... 21

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Halaman

1. Data Hasil Pengujian Total BAL 45
2. Data Hasil Pengujian Total Asam Tertitrasi 46
3. Data Hasil Pengujian Nilai pH 47
4. Data Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan 48
5. *Output* SPSS *Oneway Anova* dan DMRT Total BAL 49
6. *Output* SPSS *Oneway Anova* dan DMRT Total Asam Tertitrasi 51
7. *Output* SPSS *Oneway Anova* dan DMRT Nilai pH 53
8. Dokumentasi Penelitian *Black Soygurt* 55

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Fermentasi merupakan salah satu teknik pengolahan pangan yang terus dikembangkan karena mampu meningkatkan nilai gizi dan karakteristik fungsional produk pangan. Salah satu produk hasil fermentasi yang berkembang adalah *soygurt*, yaitu produk fermentasi berbahan dasar susu kedelai menggunakan bakteri asam laktat (BAL). Proses fermentasi pada *soygurt* mampu meningkatkan kandungan senyawa bioaktif seperti polifenol, probiotik, dan prebiotik yang memberikan manfaat kesehatan melalui aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan modulasi mikrobiota usus (Arshad *et al.*, 2025). Karakteristik tersebut menjadikan *soygurt* berpotensi sebagai salah satu produk pangan fungsional yang memberikan manfaat kesehatan tambahan. Industri pangan fungsional global terus tumbuh seiring meningkatnya kesadaran kesehatan masyarakat dan permintaan konsumen terhadap produk yang memberikan manfaat kesehatan tambahan (Rashidinejad, 2024).

Fermentasi susu kedelai oleh BAL mampu meningkatkan aktivitas antioksidan dibandingkan susu kedelai tanpa fermentasi, sekaligus memperbaiki profil zat gizinya (Huo *et al.*, 2023). Salah satu inovasi pengembangan *soygurt* adalah *black soygurt*, yaitu varian *soygurt* yang menggunakan kedelai hitam (*Glycine max* (L.) Merrill) sebagai bahan baku utama menggantikan kedelai kuning karena kandungan antioksidannya yang lebih tinggi. Fermentasi susu kedelai hitam

oleh bakteri asam laktat indigenous Indonesia, yaitu *Lactiplantibacillus plantarum* dan *Streptococcus thermophilus*, meningkatkan aktivitas antioksidan (DPPH) dari 24,90% menjadi 31,22–38,20%, seiring dengan peningkatan kadar isoflavon aglikon daidzein dan genistein yang diduga berkaitan dengan aktivitas β-glukosidase selama fermentasi (Leksono *et al.*, 2022).

Penggunaan kedelai hitam sebagai bahan baku utama telah meningkatkan potensi antioksidan *black soygurt*, nilai fungsional produk tersebut masih dapat dioptimalkan lebih lanjut melalui penambahan bahan tambahan kaya senyawa bioaktif. Salah satu bahan tambahan lokal yang potensial adalah buah nangka (*Artocarpus heterophyllus Lam.*). Indonesia merupakan salah satu produsen nangka terbesar di dunia, dengan hasil panen nangka dan cempedak nasional pada tahun 2024 mencapai 870 ribu ton (BPS, 2025), namun produksi tersebut belum diimbangi dengan optimalisasi diversifikasi pengolahan sehingga nangka umumnya masih dimanfaatkan dalam bentuk segar maupun olahan sederhana. Buah nangka merupakan salah satu komoditas lokal yang kaya akan senyawa bioaktif, seperti polifenol (flavonoid, tanin, dan asam fenolat), karotenoid, serta asam volatil yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba (Ye *et al.*, 2025). Selain berperan sebagai sumber senyawa bioaktif, buah nangka juga mengandung gula sederhana seperti glukosa dan fruktosa yang dapat dimanfaatkan BAL sebagai sumber energi selama fermentasi, sehingga berpotensi memengaruhi pertumbuhan BAL, pembentukan asam laktat, total asam tertitrasi, dan nilai pH produk.

Kandungan senyawa bioaktif dan gula sederhana pada buah nangka tersebut menjadikan sari buah nangka berpeluang untuk dikembangkan pada produk pangan fermentasi. Penambahan sari buah pada *soygurt* maupun *yoghurt* kedelai umumnya terbukti memengaruhi parameter mutu seperti total BAL, total asam tertitrasi, dan nilai pH. Peningkatan konsentrasi sari buah nanas pada *soygurt* meningkatkan total BAL dan keasaman serta menurunkan nilai pH, dengan korelasi kuat antara total BAL dan tingkat keasaman produk (Nasution *et al.*, 2023). Penambahan konsentrasi buah nangka pada *yoghurt*, yang menunjukkan pengaruh nyata terhadap total BAL, kadar asam laktat, dan derajat keasaman produk (Nofiyanto *et al.*, 2021). Selain itu, penambahan ekstrak buah naga merah pada *soyghurt* telah dikaji terhadap total BAL, pH, total asam, dan aktivitas antioksidan (Wati dan Sukainah, 2024).

Penelitian yang dilakukan oleh Baarri *et al.* (2022) telah mengkaji profil isoflavon serta pengaruh lama fermentasi terhadap sifat kimia dan organoleptik pada *black soygurt*. Sementara itu, penelitian Nofiyanto *et al.* (2021) telah menunjukkan bahwa penambahan buah nangka dapat memengaruhi total BAL, kadar asam laktat, dan derajat keasaman pada yogurt. Penelitian Wati dan Sukainah (2024) telah mengkaji penambahan ekstrak buah naga merah pada *soyghurt* terhadap total BAL, pH, total asam, dan aktivitas antioksidan. Penelitian Rahayu *et al*. (2022) telah mengkaji penambahan sari buah nangka 5-20% pada *soygurt* kedelai kuning dapat menurunkan total padatan, kadar protein, dan viskositas, serta meningkatkan sineresis. Namun, penelitian tersebut belum menggunakan kedelai hitam dan belum menguji total BAL, total asam tertitrasi, nilai pH, maupun aktivitas antioksidan. *Research gap* penelitian ini terletak pada belum adanya kajian

penambahan sari buah nangka pada *black soygurt*. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh penambahan sari buah nangka terhadap total BAL, total asam tertitrasi, nilai pH, dan aktivitas antioksidan pada *black soygurt.*

1.2. Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini diarahkan untuk mengetahui pengaruh penambahan sari buah nangka terhadap total BAL , total asam tertitrasi, nilai pH, dan aktivitas antioksidan pada *black soygurt*. Manfaat penelitian ini adalah mengoptimalkan pemanfaatan kedelai hitam dan buah nangka sebagai alternatif yogurt kaya antioksidan, serta mendukung diversifikasi produk olahan nangka sebagai komoditas lokal untuk meningkatkan nilai ekonomi petani dan pelaku usaha pangan lokal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Yogurt

Yogurt merupakan produk hasil fermentasi akibat aktivitas bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan bakteri *Streptococcus thermophilus*. Yogurt merupakan produk olahan susu dengan cara fermentasi menggunakan starter campuran dari BAL yaitu bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan bakteri *Streptococcus thermophillus* (Fatmawati *et al.*, 2020). Bakteri-bakteri tersebut yang akan mengubah gula dari susu (laktosa) menjadi asam laktat sehingga menghasilkan rasa dan aroma yang asam (Nurdini *et al.*, 2023). Asam laktat memiliki sifat asam dengan pH rendah yang mampu menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen, mikroba pembusuk, dan mikroorganisme penghasil toksin sehingga dapat membantu memperpanjang masa simpan pangan. Asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri *Lactobacillus* dalam *yoghurt* dapat menghambat pertumbuhan beberapa spesies bakteri patogen yang dapat menyebabkan penyakit (Astuty *et al.*, 2021).

Yogurt merupakan bahan pangan yang memanfaatkan proses fermentasi dalam pembuatannya. Fermentasi pada proses pembuatan yogurt ini membentuk karakteristik produk dan memperkaya kandungan nutrisi produk yang dihasilkan. Fermentasi pada yogurt biasanya bersifat aerob diawal kemudian perlahan berubah menjadi anaerob (Laureys *et al.*, 2018). Fermentasi merupakan proses metabolisme yang dapat berlangsung secara aerob dengan keterlibatan oksigen sehingga

menghasilkan air, karbon dioksida, dan energi, atau secara anaerob tanpa oksigen yang menyebabkan mikroorganisme memanfaatkan substrat untuk menghasilkan asam laktat dan alkohol (Rimadhini *et al.*, 2020). Berdasarkan SNI 2981:2009 syarat mutu yogurt yang digunakan harus memenuhi syarat mutu kenampakan normal, bau normal, rasa asam/khas, konsistensi homogen, kadar lemak minimal 0,6% - 2,9%, protein minimal 2,7% dan total padatan susu bukan lemak minimal 8,2%. Syarat mutu yogurt berdasarkan SNI 2981:2009 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Syarat Mutu Yogurt

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Penampakan	-	Cairan kental – padat
1.2	Bau	-	Normal/khas
1.3	Rasa	-	Asam/khas
1.4	Konsistensi	-	Homogen
2	Kadar lemak (b/b)	%	Min. 3,0
3	Total padatan susu bukan lemak (b/b)	%	Min. 8,2
4	Protein (Nx6,38) (b/b)	%	Min. 2,7
5	Kadar abu (b/b)	%	Maks. 1,0
6	Keasaman (dihitung sebagai asam laktat) (b/b)	%	0,5-2,0
7	Cemaran logam	mg/kg	
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 0,3
7.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks. 20,0
7.3	Timah (Sn)	mg/kg	Maks. 40,0
7.4	Raksa (Hg)	mg/kg	Maks. 0,03
8	Arsen	mg/kg	Maks. 0,1
9	Cemaran mikroba		
9.1	Bakteri *coliform*	APM/g atau koloni/g	Maks. 10
9.2	*Salmonella*	-	Negatif/25 g
9.3	*Listeria monocytogenes*	-	Negatif/25 g
10	Jumlah bakteri starter	koloni/g	Min. 10^7

Sumber: Badan Standardisasi Nasional, 2009

2.2. *Black Soygurt*

Black soygurt merupakan salah satu jenis yogurt berbahan dasar kedelai hitam yang menjadi salah satu inovasi pengembangan pangan fungsional. *Yoghurt* dengan bahan dasar pangan nabati memiliki potensi yang dapat dikembangkan karena memiliki nilai gizi yang tinggi dengan harga yang relatif lebih murah (Wening *et al.*, 2022). Fermentasi menjadi sebuah proses yang berperan besar dalam pembentukan sifat fungsional dan karakteristik khas dari *black soygurt*. Fermentasi merupakan proses yang melibatkan mikroorganisme seperti bakteri asam laktat yang saling berinteraksi secara mutualisme untuk membentuk lingkungan yang saling menguntungkan bagi kelangsungan hidup satu sama lain (Nejati *et al.*, 2020). Mekanisme utama dalam fermentasi yogurt adalah pemecahan laktosa menjadi molekul yang lebih sederhana yaitu glukosa dan galaktosa yang selanjutnya akan diubah menjadi asam laktat dan pembentukan citarasa flavor dengan bantuan bakteri asam laktat (Hikmetoglu *et al.*, 2020). Penggunaan bakteri asam laktat (BAL) dalam fermentasi susu kedelai dapat meningkatkan ketersediaan biologis isoflavon, menurunkan kandungan oligosakarida penyebab flatulensi, serta meningkatkan aktivitas antioksidan dan pembentukan peptida bioaktif dibandingkan dengan susu kedelai yang tidak difermentasi (Kumari *et al.*, 2022).

2.3. Kedelai Hitam

Kedelai tersedia dalam berbagai macam varietas, salah satunya adalah kedelai hitam yang memiliki nama latin *Glycine max* (L.) Merril yang termasuk dalam

famili Fabaceae. Kedelai hitam ini banyak dibudidayakan pada wilayah tropis, seperti Indonesia. Kedelai hitam memiliki warna hitam pada kulit biji yang berasal dari akumulasi pigmen antosianin pada lapisan testa, sedangkan pada kedelai kuning antosianin tidak ditemukan. Kedelai hitam ini mengandung protein 7,10 - 41,79%, karbohidrat 35,43 – 38,82%, dan abu 5,27 – 6,33%, serta profil asam amino esensial yang lengkap untuk memenuhi kebutuhan protein pada tubuh secara optimal. Selain itu, kedelai hitam juga memiliki kandungan senyawa isoflavon, asam lemak tidak jenuh, dan berbagai macam mineral, seperti kalsium, kalium, zat besi dan magnesium yang dapat mendukung fungsi metabolisme tubuh. Oleh karena itu, kedelai hitam dapat berperan sebagai komoditas pangan yang strategis dan berpotensi dalam perkembangan produk pangan fungsional (Krisnawati, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Ciptasari dan Nurrahman (2020) mengenai pembuatan susu bubuk kedelai hitam menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dan antosianin dalam susu kedelai hitam sangat banyak, sehingga dapat mempengaruhi sifat fisik dan organoleptiknya.

Kulit kedelai hitam memiliki kandungan antosianin sebanyak 29 ± 0,56 mg/g, sedangkan pada kulit kedelai kuning jauh lebih kecil yaitu sebesar 0,45 ± 0,02 mg/g. Kandungan antosianin tersebut yaitu *cyanidin-3-glucoside* dan *delphinidin-3-glucoside*, serta petunidin-3-O-glukosida, yang berperan penting dalam memberikan aktivitas antioksidan yang tinggi (Choi *et al.*, 2020). Kedelai hitam pada bagian kotiledon biji mengandung isoflavon, seperti daidzin, daidzein, genistin, genistein, dan glysitin sebesar 128–380 mg per 100 g bahan kering. Kandungan antosianin dan isoflavon bekerja sama dengan vitamin E dan β-karoten

untuk meningkatkan kapasitas antioksidan total kedelai hitam. Total kapasitas antioksidan pada kedelai hitam jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kedelai kuning. Aktivitas antioksidan dan antosianin pada kedelai kuning jauh lebih sedikit dibandingkan kedelai hitam melalui analisis proksimat pada susu kedelai hitam (Dewi *et al.*, 2021). Menurut Baarri *et al.* (2022) menunjukkan bahwa produk fermentasi berbahan kedelai hitam, profil isoflavon terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, yang berasal dari sinergi antara senyawa antosianin dan isoflavon. Kombinasi kedua senyawa bioaktif tersebut tidak ditemukan secara signifikan pada kedelai kuning biasa, sehingga fermentasi kedelai hitam berpotensi memberikan manfaat fungsional yang lebih unggul.

Kedelai hitam termasuk salah satu pangan fungsional yang dapat membantu mencegah penyakit degeneratif melalui aktivitas antioksidannya sekaligus berperan sebagai sumber nutrisi. Kandungan senyawa isoflavon dan antosianin pada kedelai hitam dapat membantu menurunkan kadar kolestrol LDL, mengurangi risiko penyakit kardiovaskular, menekan pertumbuhan dan perkembangan sel kanker, serta memperlambat proses penuaan sel. Kedelai hitam yang difermentasi oleh bakteri asam laktat dapat meningkatkan kandungan senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan melalui aktivitas enzim β-glukosidase yang mengonversi isoflavon glikosida menjadi bentuk aglikon, seperti daidzein dan genistein, yang diketahui memiliki bioavailabilitas lebih tinggi dibandingkan bentuk glikosidanya (Tsui dan Yang, 2021). Pengembangan yogurt berbahan dasar kedelai termasuk dalam minuman probiotik yang terbukti mempunyai total bakteri asam laktat sesuai dengan SNI dan pemenuhan klaim tinggi isoflavon yang sesuai dengan acuan label

gizi (Labiba *et al.*, 2020). Bakteri asam laktat pada proses fermentasi dapat menurunkan pH dan menghalangi aktivitas enzim polifenol oksidase, sehingga stabilitas antosianin dan aktivitas antioksidan mengalami peningkatan secara keseluruhan (Kunnaryo dan Wikandari, 2021).

2.4. Buah Nangka

Buah nangka yang memiliki nama latin *Artocarpus heterophyllus* Lam. merupakan salah satu tanaman buah tropis yang masuk dalam famili Moraceae dan genus *Artocarpus*. Nangka termasuk dalam family Moraceae, yakni buah berukuran besar dengan aroma yang harum tajam dan rasa yang manis (Anggriana, 2017). Buah nangka menjadi salah satu komoditas buah yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Hal ini disebabkan karena buah nangka memiliki tingkat kemampuan adaptasi yang tinggi dalam menghadapi berbagai iklim dan jenis tanah. Berdasarkan karakter fisiknya, tinggi pohon nangka mencapai 8-25 m dan pada bagian batang terkandung getah yang berwarna putih yang memiliki berbagai macam senyawa fitokimia aktif. Buah nangka termasuk buah semu majemuk yang berasal dari banyak bunga yang menyatu dan berkembang menjadi buah yang berukuran besar dan pada kulit buah terdapat duri lunak dan saat matang memiliki warna hijau hingga kekuningan (Safitri dan Palupi, 2017).

Daging buah nangka matang memiliki gizi yang beragam dan cukup lengkap. Setiap 100 g daging buah nangka mengandung energi sekitar 95 -106 kkal, karbohidrat 23, 25 – 27,6 g, protein 1,2 – 1,72 g, lemak 0,3 – 0,64 g, serta serat pangan sebesar 1,5 – 3,7 g. Kandungan karbohidrat dan terdapat dalam buah nangka

didominasi gula sederhana seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa yang memberikan rasa manis berkharakteristik. Buah nangka merupakan salah satu buah yang mengandung vitamin C, selain itu, buah nangka juga mengandung vitamin A (provitamin A dalam bentuk beta – karoten), vitamin B kompleks (tiamin, ribovlavin, niasin), kalium, kalsium, magnesium, fosfor, dan besi yang memberikan manfaat bagi tubuh (Ranasinghe *et al.*, 2019). Daging buah nangka mengandung senyawa fenolik dan flavonoid serta memiliki aktivitas antioksidan yang dibuktikan melalui pengujian *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), *ferric reducing antioxidant power* (FRAP), dan penangkapan radikal hidroksil, sehingga berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan pangan fungsional yang mendukung peningkatan kualitas gizi masyarakat (Bemmo *et al.*, 2023).

Aktivitas antioksidan pada daging buah nangka dipengaruhi oleh keragaman senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya, terutama senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa fenolik dan flavonoid tersebut meliputi golongan tanin dan asam fenolik, seperti quersetin, kaempferol, katekin, dan epikatekin, yang berkontribusi terhadap tingginya aktivitas antioksidan pada daging buah nangka (Kaur *et al.*, 2024). Sebanyak 30 senyawa fenolik ditemukan pada pulpa buah nangka yang terdiri atas turunan asam hidroksibenzoat, asam hidroksisinamat, dan flavonoid, yang berkontribusi terhadap tingginya kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan (Cheng *et al.*, 2024).

Proses ekstraksi daging buah nangka menghasilkan sari buah nangka yang kaya akan gula alami, vitamin, mineral, dan senyawa bioaktif. Industri pangan semakin berkembang dalam mengaplikasikan sari buah nangka menjadi produk

minuman, produk makanan manis, hingga produk fermentasi. Aplikasi sari buah nangka pada produk fermentasi dapat berperan sebagai sumber substrat alami dan penyokong antioksidan sehingga meningkatkan nilai fungsional produk. Kandungan gula tambahan sederhana, seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa pada sari buah nangka dapat berperan sebagai sumber karbon bagi bakteri asam laktat selama proses fermentasi, sehingga memiliki pengaruh terhadap laju fermentasi, total asam, total BAL, dan nilai pH pada produk akhir (Syarumsyah *et al.*, 2021). Penambahan puree buah nangka pada yoghurt susu kambing dengan konsentrasi 5–10% meningkatkan tingkat kesukaan panelis terhadap aroma, rasa, kekentalan, warna, dan keseluruhan (*overall*), serta menghasilkan *yoghurt* dengan karakteristik fisikokimia yang baik, seperti viskositas, nilai pH, dan total asam yang sesuai dengan mutu produk fermentasi (Nisa dan Nurhakiki, 2024).

2.5. Total BAL

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan suatu kelompok bakteri gram positif bersifat anaerob fakultatif, tidak memproduksi spora, dan mengubah karbohidrat menjadi asam laktat sebagai produk utama fermentasi. Berdasarkan SNI 2981:2009 jumlah minimum BAL pada produk yogurt sebesar 10^7 CFU/mL. Total BAL umumnya dihitung dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Perhitungan total BAL dapat dilakukan menggunakan metode TPC dan dihitung dalam satuan *Colony Forming Unit* (CFU) per mL (Pratiwi *et al.*, 2018). Metode TPC merupakan metode yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme hidup dalam media agar secara selektif dengan menggunakan teknik pengenceran

bertingkat, kemudian dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai hingga koloni terbentuk, sehingga dapat dihitung dengan kasat mata (Puspa *et al.*, 2023).

2.6. Total Asam Tertitrasi

Total asam tertitrasi merupakan pengujian secara fisikokimia yang menunjukkan total asam organik pada produk fermentasi yang menggunakan metode titrasi. Proses pengujian melibatkan titrasi, di mana larutan basa dengan konsentrasi yang diketahui digunakan untuk menetralisir asam yang terdapat pada sampel (Widawati dan Retnaningrum, 2022). Titrasi ini umumnya menggunakan NaOH 0,1N dan indikator *phenolphtalein* (PP), serta ditunjukkan dalam persentase asam laktat (% b/v). Pengujian ini menggambarkan akumulasi produk fermentasi BAL pada proses fermentasi, yang mencakup asam laktat, asam asetat, dan asam formiat yang diproduksi melalui jalur fermentasi heterofermentative, sehingga total asam mengalami peningkatan sejalan dengan lamanya waktu inkubasi karena peningkatan pemecahan glukosa oleh bakteri asam laktat dan akumulasi asam laktat pada produk fermentasi (Yannurista *et al.*, 2024).

2.7. Nilai pH

Nilai pH merupakan pengujian fisikokimia yang mengukur konsentrasi ion hidrogen (H^+) dari suatu zat. Skala nilai pH memiliki rentang antara 0 sampai 14, di mana nilai pH yang kurang dari 7 menandakan bahwa suatu larutan bersifat asam dan semakin rendah nilainya semakin kuat tingkat keasamannya, sementara pH yang bernilai tepat 7 menunjukkan larutan tersebut bersifat netral yang berarti tidak

bersifat asam ataupun basa, sedangkan nilai pH lebih dari 7 menunjukkan bahwa larutan bersifat basa dengan tingkat kebasaan akan semakin tinggi seiring dengan peningkatan nilai pH (Karangan *et al.*, 2019). Berdasarkan SNI 2981:2009 nilai pH yogurt berkisar 4,0-4,5. Standar nilai pH pada yogurt yang sudah ditetapkan dapat membuat kondisi tidak kondusif untuk pertumbuhan mikroorganisme patogen serta menimbulkan rasa asam khas yogurt (Hendarto *et al.*, 2019).

2.8. Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu memperlambat reaksi oksidasi melalui pendonoran atom hidrogen kepada radikal bebas yang dapat menghentikan rantai reaksi oksidasi. Mekanisme antioksidan dibedakan menjadi dua, yaitu Hidrogen Elektron Transfer (HET) untuk mengukur kemampuan antioksidan dalam menghambat radikal bebas berdasarkan donor atom hidrogen dan Elektron Transfer (ET) untuk mengukur kapasitas antioksidan berdasarkan reaksi reduksi dan oksidasi yang ditandai adanya perubahan warna (Andriani dan Murtisiwi, 2020). Antioksidan diklasifikasikan menjadi antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen dihasilkan oleh tubuh, seperti superoksida dismutase, katalase, dan glutation reduktase, dan antioksidan eksogen diperoleh dari luar tubuh, antara lain vitamin C, vitamin E, asam fenolik, serta flavonoid (Prawitasari, 2019).

Aktivitas antioksidan suatu bahan dapat dianalisis menggunakan berbagai metode pengujian yang didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Umumnya, pengujian aktivitas antioksidan

menggunakan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Metode DPPH merupakan senyawa radikal bebas berwarna ungu pekat menjadi kuning pucat saat bereaksi dengan senyawa antioksidan yang mendonorkan atom hidrogennya. Prinsip metode ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif berdasarkan kemampuan suatu senyawa dalam menangkap radikal DPPH menggunakan spektrofotometri (Chopipah *et al.*, 2021). Pada pengujian yogurt, perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning diukur sebagai nilai absorbansi pada panjang gelombang 517 nm, lalu aktivitas antioksidan dihitung dari selisih absorbansi kontrol dan absorbansi sampel dibagi absorbansi kontrol (Devangga *et al.*, 2018). Hasil perhitungan tersebutt dinyatakan dalam persen inhibisi. Makin banyak radikal DPPH yang diredam, makin rendah absorbansi sampel sehingga persen inhibisi makin tinggi. Persen inhibisi yang makin tinggi menunjukkan aktivitas antioksidan yang makin kuat.

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari – April 2026. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian Universitas Diponegoro dan Laboratorium Cendekia Nanotech Hutama, Semarang, Jawa Tengah.

3.2. Materi Penelitian

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah kacang kedelai hitam yang diperoleh dari Pasar Rasamala Banyumanik, susu skim merk "Indoprima", greek yoghurt plain merk "Biokul" yang berisi *bakteri Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus, Streptococcus thermophilus*, dan *Lactobacillus acidophilus*, gula pasir merk "Gulaku", dan air mineral merk "Aqua". Bahan kimia yang diperlukan dalam penelitian ini adalah aquades, etanol, larutan DPPH, NaCl fisiologis 0,85%, media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA), NaOH 0,1N, indikator PP dan *buffer* pH 4.

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah panci, kain saring, *blender*, termometer, gelas ukur, jar kaca, sendok, mangkuk, erlenmeyer, gelas *beaker*, rak tabung reaksi, cawan petri, *blue tip*, *magnetic stirrer*, spatula logam, bunsen, korek api, wadah plastik, *alumunium foil*, plastik *wrap*, *tube*, *hot plate*, buret titrasi, inkubator bakteri (B-One), spektrofotometer UV-Vis (Biobase), mikropipet

(DragonLab), vortex mixer (DLAB), autoklaf (Hirayama), *laminar air flow* (Airtech), dan pH meter (Ohaus).

3.3. Metode Penelitian

Metode dalam penelitian ini meliputi rancangan penelitian, prosedur penelitian, pengujian parameter, dan analisis data. Metode penelitian tersebut dijabarkan sebagai berikut.

3.3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dengan menerapkan perlakuan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan sehingga diperoleh 20 unit percobaan. Perlakuan yang diberikan pada produk *black soygurt* adalah perbedaan konsentrasi sari buah nangka sebesar 0% (P0), 5% (P1), 10% (P2), 15% (P3), dan 20% (P4).

Hipotesis yang diterapkan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

H_0 : Perbedaan konsentrasi sari buah nangka pada *black soygurt* tidak berpengaruh nyata terhadap total BAL, total asam tertitrasi, dan nilai pH.

H_1 : Perbedaan konsentrasi sari buah nangka pada *black soygurt* berpengaruh nyata terhadap total BAL, total asam tertitrasi dan nilai pH.

Hipotesis empiris tersebut dapat diuraikan secara statistik yaitu sebagai berikut:

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

$H_1 : \mu_0 \neq \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$, setidaknya ada satu pengaruh penambahan sari buah nangka dengan konsentrasi yang berbeda terhadap total BAL, total asam tertitrasi, dan nilai pH.

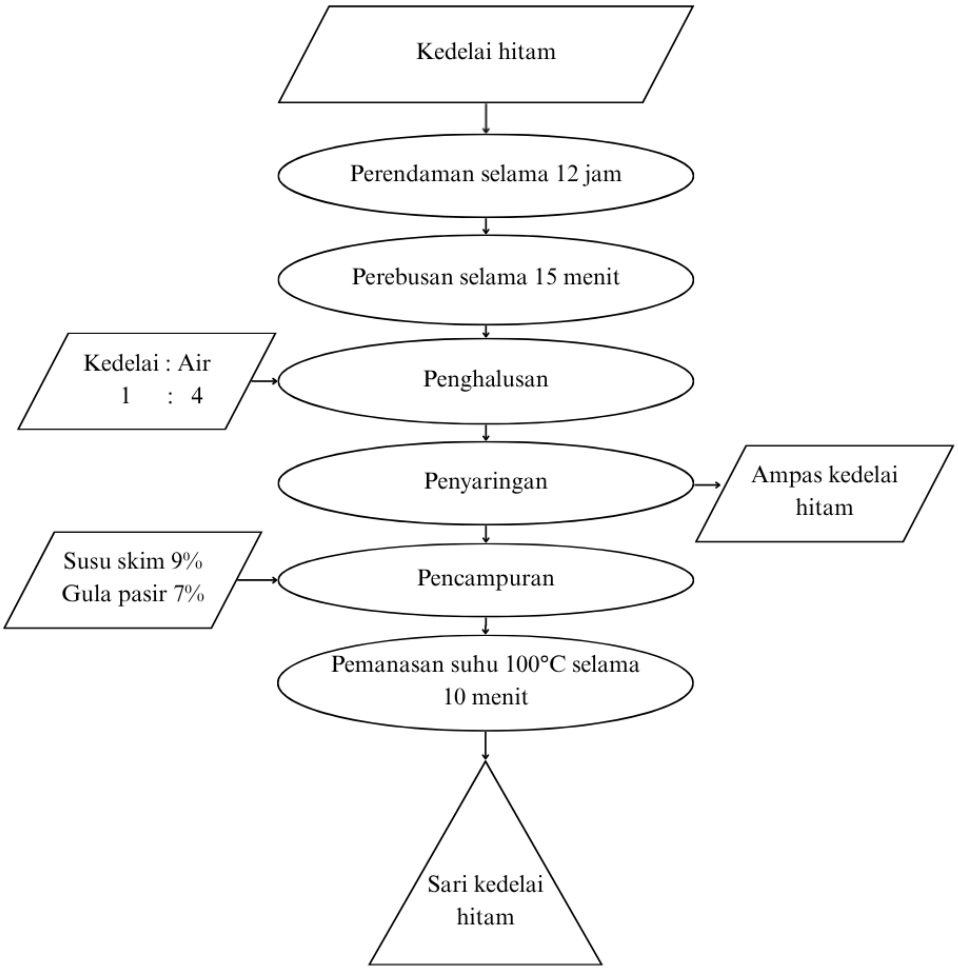
Kriteria penerimaan hipotesis yang digunakan dalam pengujian analisis secara statistik adalah jika $p \leq 0{,}05$ maka H_1 diterima (terdapat pengaruh), sebaliknya jika $p > 0{,}05$ H_0 diterima (tidak terdapat pengaruh).

3.3.2 Prosedur Penelitian

Prosedur yang digunakan dalam penelitian ini meliputi pembuatan sari kedelai hitam, pembuatan sari buah nangka, pembuatan *black soygurt*, pengujian parameter, dan analisis data.

a. Pembuatan Sari Kedelai Hitam

Pembuatan sari kedelai hitam mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Anjum *et al.* (2025) dengan modifikasi yaitu kedelai hitam disortasi dan dicuci hingga bersih, kemudian kedelai hitam direndam selama 12 jam. Kedelai hitam dicuci hingga bersih. Setelah itu, kedelai hitam direbus selama 15 menit, kemudian kedelai hitam didinginkan pada suhu ruang. Kedelai hitam dihaluskan menggunakan air bersuhu 80℃ dengan perbandingan 1:4, lalu disaring menggunakan kain saring. Sari kedelai hitam ditambahkan 9% susu skim dan 7% gula pasir, kemudian sari kedelai hitam dipanaskan pada suhu 100℃ dalam waktu 10 menit. Sari kedelai hitam didinginkan dengan suhu ruang. Diagram alir pembuatan sari kedelai hitam dapat dilihat pada Ilustrasi 1.

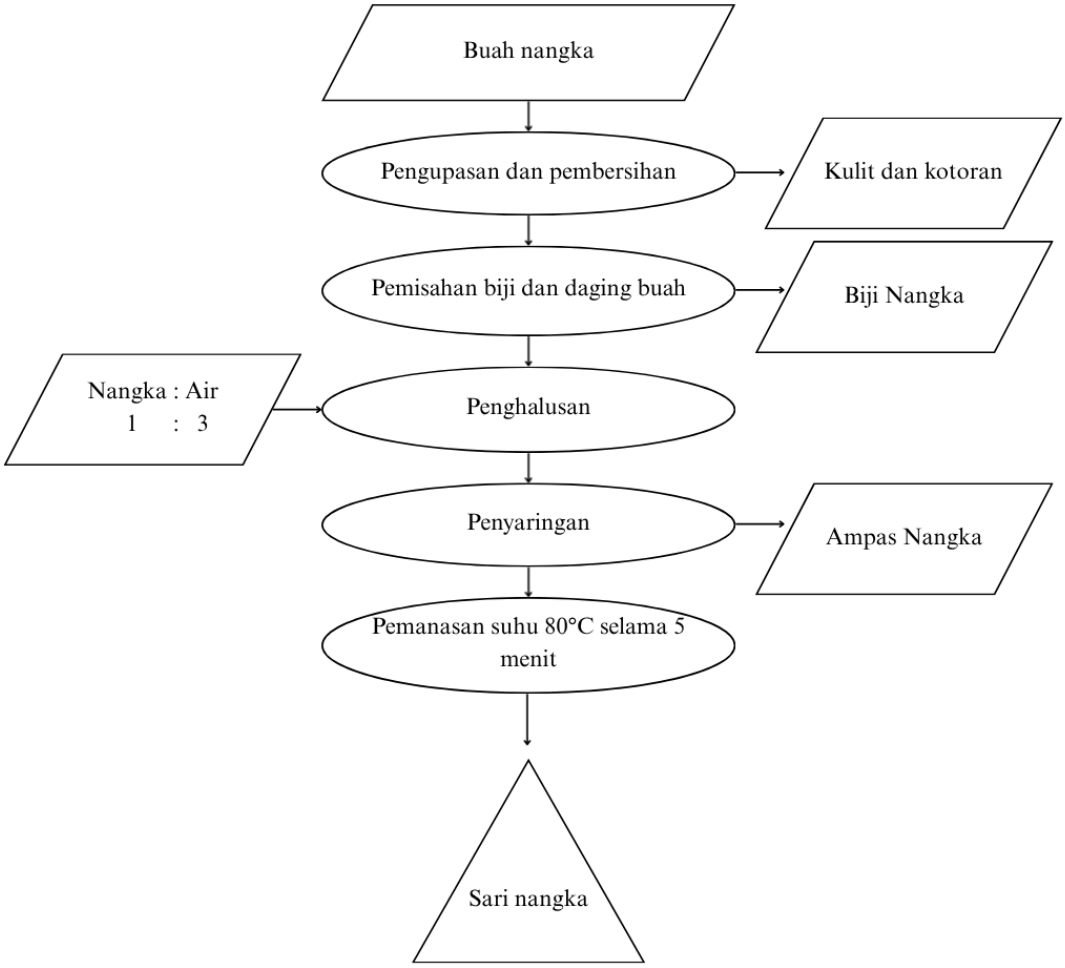


Ilustrasi 1. Pembuatan Sari Kedelai Hitam

b. Pembuatan Sari Buah Nangka

Pembuatan sari buah nangka mengacu pada penelitian Rahayu *et al.* (2022) dengan modifikasi. Buah nangka yang sudah matang daging buah dan biji dipisahkan, kemudian daging buah dihaluskan menggunakan *blender* dengan penambahan air mineral pada perbandingan 1:3 hingga diperoleh sari buah nangka. Sari buah nangka dipanaskan pada suhu 80°C selama 5 menit, kemudian sari buah

nangka disaring menggunakan saringan. Diagram alir pembuatan sari buah nangka dapat dilihat pada Ilustrasi 2.

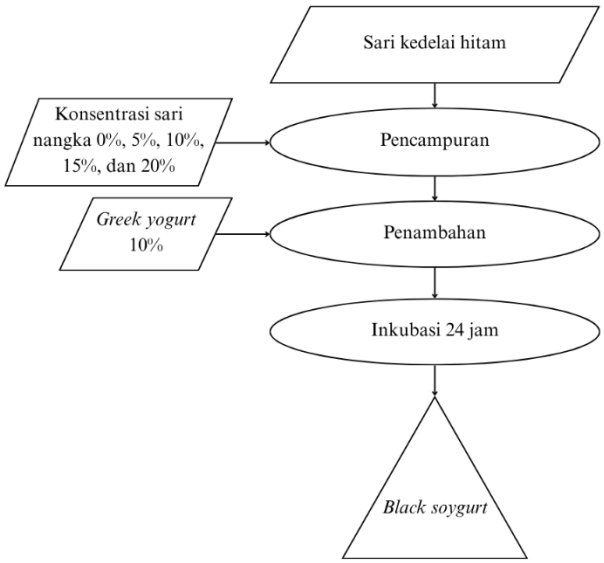


Ilustrasi 2. Pembuatan Sari Buah Nangka

c. Pembuatan *Black Soygurt*

Pembuatan *black soygurt* mengacu pada penelitian Cahyanti *et al.* (2024) dengan modifikasi yaitu sari kedelai hitam ditambahkan sari buah nangka sesuai dengan perlakuan. Selanjutnya, ditambahkan 10% starter *greek yogurt* dari sari

kedelai hitam yang digunakan dan diinkubasi dengan menggunakan suhu ruang selama 24 jam. Diagram pembuatan *black soygurt* dapat dilihat pada Ilustrasi 3.



Ilustrasi 3. Pembuatan *Black Soygurt* dengan Penambahan Sari Buah Nangka (0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%)

Tabel 2 Taraf Penambahan Sari Buah Nangka Pada *Black Soygurt*

Bahan	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
Sari kedelai hitam (mL)	250	250	250	250	250
Susu skim (g)	22,5	22,5	22,5	22,5	22,5
Gula (g)	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5
Starter biokul (g)	25	25	25	25	25
Sari buah nangka (mL)	0	12,5	25	37,5	50

Keterangan : P0 (penambahan 0% sari buah nangka), P1 (ppenambahan 5% sari buah nangka), P2 (penambahan 10% sari buah nangka), P3 (penambahan 15% sari buah nangka), P4 (penambahan 20% sari buah nangka)

3.3.3 Pengujian Parameter

Parameter yang diuji dalam penelitian ini adalah total BAL, total asam tertitrasi, nilai pH, dan aktivitas antioksidan.

a. Pengujian Total BAL

Pembuatan sari kedelai hitam mengacu pada penelitian yang Pengujian total BAL mengacu pada penelitian Setiawati *et al.* (2019) dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Media pengenceran yang digunakan adalah NaCl 0,85%. Media pengencer disiapkan dengan cara NaCl 0,85% dilarutkan dengan aquades. Media pembiakan yang digunakan adalah MRSA. Media pembiakan disiapkan dengan cara 67,15 g MRSA dilarutkan dalam 1000 ml aquades. Selanjutnya, media dipanaskan diatas *hot plate* dan diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian media pembiakan dan media pengencer disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121℃ dalam waktu 15 menit. Setelah itu, dilakukan pengenceran dengan cara 9 ml media pengencer ditambahkan 1 ml sampel dan dihomogenkan menggunakan vortex, sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1}. Pengenceran 10^{-2} didapatkan dengan cara 1 ml sampel dari pengenceran 10^{-1} dan ditambahkan 9 ml media pengencer hingga pengenceran 10^{-7} dilakukan dengan cara yang sama seperti pengenceran sebelumnya. Setelah pengenceran selesai dilakukan, dilanjutkan dengan pencawanan. Sampel yang dilakukan pencawanan yaitu pengenceran 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, dan 10^{-7}. Sampel diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri. Pencawanan dilakukan secara duplo. Sebanyak 15 ml media pembiakan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi sampel lalu cawan petri diputar membentuk angka delapan. Selanjutnya, dilakukan inkubasi setelah media padat dengan posisi cawan petri terbalik

dengan menggunakan inkubator bakteri pada suhu 37℃ selama 48 jam. Total BAL dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$N = \frac{\sum C}{[(1xn_1) + (0.1xn_2)] \times (d)}$$

Keterangan:

N: Jumlah koloni (CFU/ml)

ΣC: Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n1: Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n2: Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d: Pengenceran pertama yang dihitung

b. Pengujian Total Asam Tertitrasi

Pengujian total asam mengacu pada penelitian Munthe *et al.* (2025) dengan menggunakan metode titrasi yaitu sampel diambil sebanyak 10 ml dan ditambahkan 90 ml aquades. Selanjutnya, sampel diambil sebanyak 20 ml dan ditambahkan 2 tetes indokator *penolpthalein* (PP) 1%. Setelah itu, sampel dititrasi dengan menggunakan NaOH 0,1N sampai terlihat warna merah muda konstan baru titrasi berhenti dilakukan. Kadar asam dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar asam } (\%) = \frac{V1 \times N \times B \times Fp}{V2 \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

V1: Volume NaOH (ml)

V2: Volume sampel (ml)

N: Normalitas NaOH (0,1N)

B: Berat molekul asam laktat (90)

Fp: Faktor pengenceran (10)

c. Pengujian Nilai pH

Pengujian nilai pH mengacu pada penelitian Atika *et al.* (2024) yaitu dengan cara elektroda pH meter dimasukkan ke dalam larutan buffer 7 dan 4 lalu tombol "*call*" ditekan untuk proses kalibrasi, kemudian elektroda dibilas dengan aquades. Selanjutnya, elektroda dicelupkan ke dalam sampel sampai nilai pH keluar. Setelah itu, elektroda dibilas menggunakan aquades sebelum dilakukan pengujian nilai pH pada sampel selanjutnya. Pengujian nilai pH dilakukan sebanyak 2 kali.

d. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian Pengujian aktivitas antioksidan mengacu pada penelitian Pangestu *et al.* (2017) dengan menggunakan metode DPPH yaitu sampel diambil sebanyak 0,5 ml lalu ditambahkan 2 ml larutan 0,125 mM DPPH metanol. Selanjutnya, larutan dicampur dan dibiarkan dalam kondisi gelap pada suhu ruang selama 30 menit, kemudian larutan diabsorbansi menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm. Larutan kontrol dibuat dengan cara yang sama seperti larutan sampel, hanya saja aquades digunakan sebagai pengganti sampel. Persentase aktivitas antioksidan atau penangkapan radikal dapat ditentukan melalui perhitungan inhibisi serapan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{(Absorbansi kontrol-Absorbansi sampel)}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

1.3.4 Analisis Data

Analisis data yang diperoleh dari hasil pengujian total BAL, total asam tertitrasi, dan nilai pH dianalisis secara statistik menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikansi 5% melalui aplikasi SPSS 26.0 *for Windows* untuk mengetahui pengaruh perlakuan penambahan sari buah nangka terhadap masing-masing parameter yang diamati dan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) apabila terdapat pengaruh yang signifikan untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dianalisis secara deskriptif.