

**PROPORSI KACANG MERAH DAN KETAN HITAM
PADA SUSU NABATI KAYA ANTIOKSIDAN BERBAHAN
BAKU BIJI -BIJIAN LOKAL DAN JAMUR TIRAM**

(Tesis)

Oleh

ANISA YUSTIANA



**MAGISTER TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN
PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

PROPORSI KACANG MERAH DAN KETAN HITAM PADA SUSU NABATI KAYA ANTIOKSIDAN BERBAHAN BAKU BIJI -BIJIAN LOKAL DAN JAMUR TIRAM

Oleh

ANISA YUSTIANA

Produk yang dikembangkan berbasis nabati adalah susu berbasis biji-bijian berupa kacang merah, beras ketan hitam, wijen hitam, dan jamur tiram. diharapkan akan saling melengkapi dari kandungan nutrisinya, dan meningkatkan sifat sensorik produk biji-bijian. Oleh karena pada penelitian ini akan diteliti (1) pengaruh proporsi kacang merah dan ketan hitam pada campuran biji-bijian dan jamur tiram terhadap kualitas sensori susu nabati (2) Proporsi kacang merah dan ketan hitam pada campuran biji-bijian dan jamur tiram yang tepat yang menghasilkan susu nabati dengan kualitas sensori terbaik. Percobaan disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan perlakuan tunggal berupa perbandingan kacang merah, dan ketan hitam terdiri dari 6 formulasi dengan 4 ulangan. Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini meliputi pengujian berat jenis, viskositas, fenol, flavonoid, sensori, perlakuan terbaik pada uji sensori dilakukan analisis proksimat dan profil asam amino. Hasil penelitian menunjukkan bahwa (1) Proporsi kacang merah dan ketan hitam pada campuran biji-bijian dan jamur tiram berpengaruh terhadap kualitas susu nabati meliputi berat jenis, viskositas, fenol, antosianin, flavonoid, aktivitas antioksidan metode DPPH, ABTS, serta sensori (rasa, aroma, dan aftertaste). (2) Proporsi kacang merah dan ketan hitam pada campuran biji-bijian dan jamur tiram terbaik adalah pada formulasi P4 (60 gram kacang merah dan 30 gram ketan hitam) memiliki berat jenis 1,038 g/mL, viskositas 24,175 cP, fenol 833,050 mgQAE/100 mL, antosianin 0,166 mg/100 mL, flavonoid 23,708 mgQE/100 mL, aktivitas antioksidan uji DPPH 51,4667% dan ABTS 32,063%, pengujian sensori dengan skor 7,493 (agak manis gurih), skor aroma 7,735 (agak tidak langu), aftertaste (cenderung tidak ada aftertaste).

Kata kunci : beras ketan hitam, jamur tiram, kacang merah, pengujian sensori, wijen hitam

ABSTRACT

PROPORTION OF RED BEANS AND BLACK STICKY RICE IN PLANT-BASED MILK RICH ANTIOXIDANTS BASED LOCAL GRAIN AND OYSTER MUSHROOMS

By

ANISA YUSTIANA

Products developed based on plant-based are grain-based milk in the form of kidney beans, black glutinous rice, black sesame, and oyster mushrooms expected to complement each other from its nutritional content, and increase the sensory properties of grain products. Therefore, in this study will be studied (1) The effect of the proportion of red beans and black glutinous rice on the mixture of grains and oyster mushrooms on the sensory quality of plant-based milk (2) The proportion of red beans and black glutinous rice on the right mixture of grains and oyster mushrooms that produce plant-based milk with the best sensory quality.. The experiment was arranged in a Complete Randomized Block Design (CRBD) with a single treatment in the form of a comparison of red beans, and black glutinous rice consisting of 6 formulations with 4 replications. The observed parameter were density, viscosity, phenols, flavonoids, sensory, best treatment in sensory tests performed proximate analysis and amino acid profile. The results showed that the proportion of red beans and black glutinous rice in the mixture of whole grains and oyster mushrooms affects the quality of vegetable milk including density, viscosity, phenols, anthocyanins, flavonoids, antioxidant activity methods DPPH, ABTS, sensory (taste, aroma, and aftertaste). (2) The best proportion of red beans and black glutinous rice is in the formulation of P4 (60 grams of red beans and 30 grams of black glutinous) has a type weight of 1,038 g/mL, viscosity of 24,175 cP, phenol 833,050 mgQAE/100mL, anthocyanins 0,166 mg/100 mL, flavonoids 23,708 mgQE/100 mL, antioxidant activity test DPPH 51,4667% and ABTS 32,063%, sensory testing with a score of 7,493 (tend to be sweet savoury), aroma score 7,735 (tend to be pleasant), aftertaste score 7,110 (tend to be normal).

Keywords: black glutinous rice, black sesame, kidney beans, oyster mushrooms sensory test

**PROPORSI KACANG MERAH DAN KETAN HITAM PADA
SUSU NABATI KAYA ANTIOKSIDAN BERBAHAN BAKU BIJI -
BIJIAN LOKAL DAN JAMUR TIRAM**

Oleh

ANISA YUSTIANA

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER TEKNOLOGI PERTANIAN

pada

Program Pascasarjana Magister Teknologi Industri Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Tesis : **PROPORSI KACANG MERAH DAN
KETAN HITAM PADA SUSU NABATI KAYA
ANTIOKSIDAN BERBAHAN BAKU BIJI -
BIJIAN LOKAL DAN JAMUR TIRAM**

Nama Mahasiswa : **Anisa Yustiana**

Nomor Pokok Mahasiswa : 2024051001

Program Studi : Magister Teknologi Industri Pertanian

Fakultas : Pertanian



Sejarah

Dr. Ir. Siti Nurdjanah, M.Sc.
NIP. 19620720 198603 2 001

[Handwritten Signature]

Dr. Ir. Samsu U. Nurdin, M.Si.
NIP. 19670615 199403 1 003

2. Ketua Program Studi Magister Teknologi Industri Pertanian

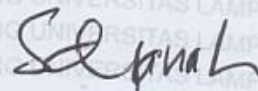
[Handwritten Signature]

Dr. Sri Hidayati, S.T.P., M.P.
NIP. 19710930 199512 2 001

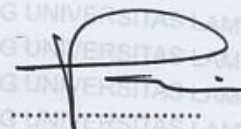
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Ir. Siti Nurdjanah, M.Sc.



Sekretaris : Dr. Ir. Samsu U. Nurdin, M.Si.



**Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.S.**



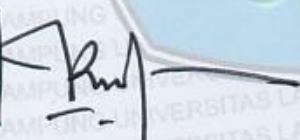
Dr. Dewi Sartika, S.T.P., M.Si.



2. Dekan Fakultas Pertanian



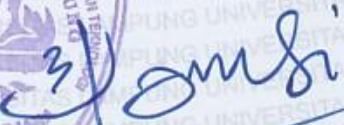
Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 19611020 198603 1 002



3. Direktur Program Pasca Sarjana



Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.
NIP. 19710415 199803 1 005



Tanggal Lulus Ujian Tesis : 31 Maret 2022

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Anisa Yustiana

NPM : 2024051001

dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya orang lain.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 15 April 2022
Yang membuat pernyataan



Anisa Yustiana
NPM. 2024051001

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 8 Maret 1997, sebagai anak ketiga dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Yusman Zulkifli, B.Sc., dan Ibu Eltina S.Pd. Penulis menyelesaikan pendidikan dasar di SD Negeri 2 Rawa Laut pada tahun 2009. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan menengah di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Bandar Lampung, kemudian pada tahun 2012 penulis melanjutkan pendidikannya ke Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 9 Bandar Lampung dan lulus tahun 2015. Penulis lulus S1 Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2019. Kemudian, penulis melanjutkan studi S2 di Program Magister Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

SANWACANA

Bismillaahirrahmaanirrahiim. Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, karena atas rahmat dan hidayah-Nya tesis ini dapat diselesaikan. Tesis dengan judul “Proporsi Kacang Merah dan Ketan Hitam pada Susu Nabati Kaya Antioksidan Berbahan Baku Biji -Bijian Lokal dan Jamur Tiram” adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Teknologi Pertanian di Universitas Lampung.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T. selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung;
4. Ibu Dr. Sri Hidayati, S.T.P., M.P. selaku Ketua Program Studi Magister Teknologi Industri Pertanian
5. Ibu Dr. Ir.Siti Nurdjanah, M.Sc, selaku pembimbing pertama tesis yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, saran, nasihat, bantuan dan fasilitas dalam penyusunan tesis;
6. Bapak Dr. Ir. Samsu U. Nurdin, M.Si, sekaligus pembimbing kedua sekaligus pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, motivasi, bantuan, saran, dan nasihat dalam penyusunan tesis.
7. Bapak Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.S., selaku pembahas atas bantuan, saran, dan evaluasinya terhadap karya tesis penulis;
8. Ibu Dr. Dewi Sartika, S.T.P, M.Si., selaku pembahas atas bantuan, saran, dan evaluasinya terhadap karya tesis penulis;

9. Bapak dan Ibu dosen dan staf administrasi dan laboratorium yang telah memberikan ilmu, wawasan dan bantuan kepada penulis selama kuliah;
10. Keluargaku tercinta, papa dan mama, kakak-kakakku tersayang yang telah memberikan dukungan, motivasi, materi dan doa yang selalu menyertai penulis selama ini;
11. Mba Rani, Idol, Beti, Lola, Mba Eka, Dila, Alam, Nadia, Arif dan teman-teman MTIP angkatan 2020 atas pengalaman yang diberikan, bantuan, semangat, dukungan, serta kebersamaannya selama ini;
12. Seluruh pihak yang telah membantu dalam penyusunan tesis ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis sangat menyadari tesis ini jauh dari kata sempurna. Oleh sebab itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dan dapat memberikan manfaat bagi penulis serta pembaca.

Bandar Lampung, 2022

Anisa Yustiana

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Kerangka Pemikiran	3
1.4 Hipotesis.....	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Susu Nabati	7
2.2 Kacang Merah	9
2.3 Ketan Hitam	11
2.4 Wijen Hitam.....	13
2.5 Jamur Tiram	15
2.6 Inulin	16
2.7 Antioksidan	18
2.8 Metode Pengujian Antioksidan.....	19
2.8.1 Metode DPPH	20
2.8.2 Metode ABTS	21
III. METODE PENELITIAN	24
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.2 Bahan dan Alat.....	24
3.3 Rancangan Percobaan	25
3.4 Pelaksanaan Penelitian.....	25

3.4.1	Penyiapan susu nabati	25
3.5	Pengamatan	26
3.5.1	Pengujian Berat Jenis	26
3.5.2	Pengujian Viskositas	27
3.5.3	Persiapan Ekstrak	27
3.5.4	Pengujian Total Fenol	27
3.5.4.1	Pembuatan Kurva Standar Asam Galat	28
3.5.5	Pengujian Total Antosianin	28
3.5.6	Pengujian Total Flavanoid.....	29
3.5.6.1	Pembuatan Kurva Standar Kuersetin	29
3.5.7	Pengujian Aktivitas Antioksidan DPPH	30
3.5.7.1	Penentuan IC ₅₀ DPPH.....	30
3.5.8	Pengujian Aktivitas Antioksidan ABTS	31
3.5.8.1	Penentuan IC ₅₀ ABTS.....	32
3.5.9	Pengujian Sensori.....	33
3.5.10	Penentuan Perlakuan Terbaik.....	36
3.5.11	Pengujian Proksimat.....	36
3.5.12	Profil Asam Amino	37
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	38
4.1	Berat Jenis.....	38
4.2	Viskositas.....	40
4.3	Total Fenol.....	41
4.4	Total Antosianin	43
4.5	Total Flavanoid	45
4.6	Aktivitas Antioksidan DPPH.....	46
4.7	Aktivitas Antioksidan ABTS	48
4.8	Sensori.....	26
4.8.1	Rasa	51
4.8.2	Aroma.....	53
4.8.3	Aftertaste	54
4.8.4	Penentuan Perlakuan Terbaik Sensori.....	56
4.8.5	Penerimaan Keseluruhan.....	57

4.9 Perlakuan terbaik	58
4.10 Pengujian Proksimat	59
4.11 Profil Asam Amino	60
V. KESIMPULAN DAN SARAN	66
5.1 Simpulan	66
5.2 Saran	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN.....	83
Tabel	85
Gambar.....	110

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Syarat Mutu Susu Kedelai Menurut SNI No. 01-3830-1995.....	9
2. Komposisi gizi kacang merah per 100 gram.....	11
3. Komposisi polifenol pada kacang merah dalam 100 gram.....	11
4. Komposisi zat gizi beras ketan hitam per 100 gram.....	13
5. Komposisi antosianin dan pati beras ketan hitam.....	26
6. Komposisi zat gizi wijen hitam per 100 gram.....	15
7. Komposisi zat gizi jamur tiram per 100 gram.....	16
8. Komposisi susu nabati.....	25
9. Perbandingan nilai IC ₅₀ hasil uji aktivitas antioksidan metode DPPH.....	48
10. Perbandingan nilai IC ₅₀ hasil uji aktivitas antioksidan metode ABTS.....	50
11. Penentuan perlakuan terbaik susu nabati.....	56
12. Pembobotan perlakuan terbaik.....	58
13. Hasil analisis proksimat susu nabati.....	59
14. Kandungan profil asam amino susu nabati.....	61
15. Data uji berat jenis susu nabati.....	79
16. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) berat jenis susu nabati.....	79
17. Analisis sidik ragam berat jenis susu nabati.....	80
18. Uji lanjut BNT densitas susu nabati.....	80
19. Data uji viskositas susu nabati.....	80
20. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) viskositas susu nabati.....	81
21. Analisis sidik ragam viskositas susu nabati.....	81

22. Uji lanjut BNT viskositas susu nabati.....	82
23. Data total fenol susu nabati.....	82
24. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) total fenol susu nabati.....	82
25. Analisis sidik ragam total fenol susu nabati.....	83
26. Uji lanjut BNT total fenol susu nabati.....	83
27. Data total antosianin susu nabati.....	83
28. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) total antosianin susu nabati.....	84
29. Analisis sidik ragam total antosianin susu nabati.....	84
30. Uji lanjut BNT total antosianin susu nabati.....	85
31. Data total flavanoid susu nabati.....	85
32. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) total flavonoid susu nabati.....	85
33. Analisis sidik ragam total flavanoid susu nabati.....	86
34. Uji lanjut BNT total flavonoid susu nabati.....	86
35. Data aktivitas antioksidan DPPH susu nabati.....	86
36. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) aktivitas antioksidan DPPH susu nabati.....	87
37. Analisis sidik ragam aktivitas antioksidan DPPH susu nabati.....	87
38. Uji lanjut BNT aktivitas antioksidan DPPH susu nabati.....	88
39. Penentuan IC ₅₀ susu nabati 45 g kacang merah dan 45 g ketan hitam.....	88
40. Penentuan IC ₅₀ susu nabati 60 g kacang merah dan 30 g ketan hitam.....	89
41. Penentuan IC ₅₀ DPPH Asam Askorbat.....	89
42. Data aktivitas antioksidan ABTS susu nabati.....	90
43. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) aktivitas antioksidan ABTS susu nabati.....	90
44. Analisis sidik ragam aktivitas antioksidan ABTS susu nabati.....	91
45. Uji lanjut BNT aktivitas antioksidan ABTS susu nabati.....	91
46. Penentuan IC ₅₀ susu nabati 45 g kacang merah dan 45 g ketan hitam.....	91

47. Penentuan IC ₅₀ ABTS Asam Askorbat	92
48. Data uji sensori rasa susu nabati	93
49. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) uji sensori rasa susu nabati.....	93
50. Analisis sidik ragam uji sensori rasa susu nabati.....	94
51. Uji lanjut BNT uji sensori rasa susu nabati	94
52. Data uji sensori aroma susu nabati.....	94
53. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) uji sensori aroma susu nabati.....	95
54. Analisis sidik ragam uji sensori aroma susu nabati	95
55. Uji lanjut BNT uji sensori aroma susu nabati.....	96
56. Data uji sensori aftertaste susu nabati	96
57. Uji kehomogenan ragam (<i>Barlett's test</i>) uji sensori aftertaste susu nabati.....	96
58. Analisis sidik ragam uji sensori aftertaste susu nabati.....	97
59. Uji lanjut BNT uji sensori aftertaste susu nabati	97
60. Perkiraan kandungan protein, lemak dan kalori susu nabati dengan proporsi kacang merah dan ketan hitam 45: 45	98
61. Perkiraan kandungan protein, lemak dan kalori susu nabati dengan proporsi kacang merah dan ketan hitam 50: 40	98
62. Perkiraan kandungan protein, lemak dan kalori susu nabati dengan proporsi kacang merah dan ketan hitam 55: 35	99
63. Perkiraan kandungan protein, lemak dan kalori susu nabati dengan proporsi kacang merah dan ketan hitam 60: 30	99
64. Perkiraan kandungan protein, lemak dan kalori susu nabati dengan proporsi kacang merah dan ketan hitam 65: 25	100
65. Perkiraan kandungan protein, lemak dan kalori susu nabati dengan proporsi kacang merah dan ketan hitam 70: 20	100

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kacang Merah (<i>Phaseolus vulgaris L</i>)	11
2. Beras ketan hitam (<i>Oryza sativa var. glutinosa</i>).....	12
3. Wijen hitam (<i>Sesamum indicum L</i>).....	14
4. Jamur Tiram (<i>P. ostreatus</i>)	15
5. Struktur inulin.....	17
6. Struktur kimia DPPH	20
7. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan	21
8. Reaksi pembentukan radikal ABTS dari ABTS dengan kalium persulfat.....	23
9. Diagram alir penyiapan susu nabati kacang merah, ketan hitam, wijen hitam dan jamur tiram	26
10. Kuesioner pengujian skoring parameter rasa	34
11. Kuesioner pengujian skoring parameter aroma	34
12. Kuesioner pengujian skoring parameter aftertaste.....	35
13. Kuisisioner pengujian hedonik	35
14. Berat jenis susu nabati berbahan baku biji-bijian lokal dan jamur tiram	38
15. Viskositas susu nabati berbahan baku biji-bijian lokal dan jamur tiram	40
16. Total Fenol susu nabati berbahan baku biji-bijian lokal dan jamur tiram	42

17. Total Antosianin susu nabati berbahan baku biji-bijian lokal dan jamur tiram.....	44
18. Total Flavanoid susu nabati berbahan baku biji-bijian lokal dan jamur tiram.....	45
19. Aktivitas Antioksidan DPPH susu nabati berbahan baku biji-bijian lokal dan jamur tiram.....	47
20. Aktivitas Antioksidan ABTS susu nabati berbahan baku biji-bijian lokal dan jamur tiram.....	49
21. Uji sensori rasa susu nabati berbahan baku biji-bijian lokal dan jamur tiram.....	51
22. Uji sensori aroma susu nabati berbahan baku biji-bijian lokal dan jamur tiram.....	53
23. Uji sensori aftertaste susu nabati berbahan baku biji-bijian lokal dan jamur tiram.....	55
24. Penyiapan bahan pembuatan susu.....	101
25. Penyaringan susu nabati.....	101
26. Penyiapan bahan pembuatan susu.....	101
27. Pengujian antosianin.....	102
28. Pengujian DPPH susu nabati.....	102
29. Pengujian IC 50 Susu Nabati.....	103
30. Pengujian Antioksidan metode ABTS.....	103
31. Sampel dan kuisisioner pengujian sensori.....	103
32. Pengujian sensori.....	104
33. Penimbangan piknometer.....	104
34. Pengujian viskositas dengan viskotester.....	105
35. Kurva Baku Kuersetin.....	105
36. Kurva Baku Galat.....	106

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Pola konsumsi masyarakat beberapa tahun belakangan ini cenderung berubah ke pola makan nabati termasuk sereal, polong-polongan, biji-bijian, kacang-kacangan, buah-buahan, dan sayuran. Hal ini disebabkan oleh beberapa alasan antara lain keinginan untuk gaya hidup sehat, dan kesadaran lingkungan (Janssen, Busch, Rödiger, & Hamm, 2016; Sebastiani *et al.*, 2019). Salah satu produk yang dikembangkan sebagai alternatif berbasis nabati adalah susu alternatif berbasis biji-bijian. Sebagian besar alternatif susu nabati memiliki kekurangan, terkait gizi bila dibandingkan dengan susu sapi, namun susu alternatif tersebut mengandung komponen aktif secara fungsional dengan tujuan meningkatkan kesehatan yang menjadi daya tarik konsumen yang sadar akan kesehatan (Sethi *et al.*, 2016). Beberapa tahun terakhir, sumber tanaman (sereal dan kacang-kacangan) diterima sebagai makanan fungsional dan nutraceuticals karena adanya komponen promosi kesehatan seperti serat makanan, mineral, vitamin dan antioksidan (Das *et al.*, 2012).

Salah satu cara untuk meningkatkan kualitas minuman susu nabati berbasis biji-bijian berupa kandungan protein, vitamin, dan mineral dari suatu produk merupakan kriteria penting pada produk susu nabati sebagaimana kandungan gizi pada susu sapi. Kesetaraan gizi ini dapat dicapai melalui pencampuran berbagai jenis biji-bijian yang masing-masing mempunyai keunggulan tertentu sehingga jika dicampur akan saling melengkapi, terutama untuk meningkatkan jumlah protein total dan akan meningkatkan sifat sensorik produk (Sethi *et al.*, 2016).

Penggunaan bahan nabati untuk pembuatan susu nabati berbasis biji-bijian berupa kacang merah, beras ketan, wijen hitam, dan jamur tiram. Kacang merah merupakan jenis kacang yang memiliki kandungan protein dan kandungan polifenol (Sarker *et al.*, 2020). Beras ketan hitam dikonsumsi di Indonesia dan menjadi sumber potensial antosianin yang juga berfungsi sebagai antioksidan (Tanuwong and Tewaruth, 2010 (Nanik Suhartatik, Karyantina, dkk., 2013).

Wijen hitam memiliki sesamin dan sesamolin menunjukkan efek anti-inflamasi, antihipertensi, dan antikarsinogenik (Xhu *et al.* 2015). Wijen hitam menunjukkan nilai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada wijen putih (Kim *et al.*, 2014). Penggunaan bahan berupa jamur tiram sebagai sumber β -glukan, polifenol dan antioksidan (Lam dan Okelo, 2015). Kandungan β -glukan pada polisakarida sangat tinggi (>80% berat kering) yang memiliki efek biofarmakologi yang bermanfaat bagi kesehatan (Jantaramanant *et al.* 2014) sebagai bahan imunologi (Christopher 2005; Synytsya *et al.* 2009; Oloke *et al.* 2014) seperti antidiabetes, antibakteri, antikolesterol, antiartritik, antioksidan, antikanker, kesehatan mata, aktivitas antiviral (Deepalakshmi and Sankaran, 2014) dan dapat mereduksi konsentrasi gula darah (Jaubik *et al.* 2012).

Susu nabati diberikan penambahan pemanis dan pengemulsi untuk meningkatkan sifat sensoris. Jenis pemanis yang dapat ditambahkan dapat berupa sukrosa, gula pasir atau pemanis rendah kalori seperti stevia dan inulin. Sukrosa memiliki fungsi utama yaitu untuk pemanis rasa makanan, yang mempengaruhi kualitas makanan. Sukrosa meningkatkan rasa keseluruhan makanan atau minuman dengan menciptakan keseimbangan antara keasaman dan kepahitan (Wilson, 2016). Susu nabati yang banyak diteliti belum terdapat proporsi kacang merah dan ketan hitam yang tepat untuk menghasilkan kualitas susu nabati yang baik dari segi gizi dan dapat diterima oleh konsumen dari segi sensori. Pencampuran biji-bijian lokal dapat memanfaatkan keunggulan gizi dari bahan seperti kacang merah (protein), beras ketan hitam (antosianin), wijen hitam (sesamin, sesamolin, sesamol, dan sesaminol), dan jamur tiram (asam amino esensial lengkap) diharapkan dapat menghasilkan produk susu nabati kaya antioksidan.

Oleh karena itu penelitian ini secara umum bertujuan untuk menemukan proporsi kacang merah dan ketan hitam terbaik minimal susu nabati kaya antioksidan dari percampuran biji-bijian lokal dan jamur tiram.

1.2. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengetahui pengaruh proporsi kacang merah dan ketan hitam pada campuran biji-bijian dan jamur tiram terhadap kualitas susu nabati.
2. Mengetahui proporsi kacang merah dan ketan hitam pada campuran biji-bijian dan jamur tiram yang tepat sehingga menghasilkan susu nabati dengan kualitas terbaik dari segi sensori dan antioksidan.

1.2 Kerangka Pemikiran

Konsumsi susu nabati telah tersebar di seluruh dunia karena banyak efek kesehatan positif pada tubuh manusia. Individu dengan alergi susu sapi, intoleransi laktosa, dan hipokkoleremia lebih suka minuman ini. Terlepas dari tambahan gula dan kurangnya kandungan protein total, senyawa fenolik, asam lemak tak jenuh, aktivitas antioksidan, dan senyawa bioaktif menjadikan susu nabati sebagai pilihan yang sangat baik untuk kesehatan (Aydar *et al.*, 2020). Susu nabati telah dipelajari dalam hal efek positif. Susu nabati memiliki efek positif karena aktivitas antioksidan yang kaya dan asam lemak yang mengurangi risiko penyakit kardiovaskular, kanker, aterosklerosis, dan diabetes (Zujko and Witkowska, 2014). Kacang-kacangan, sereal, dan minyak memiliki manfaat yang tak terhitung jumlahnya bagi kesehatan manusia karena kandungan senyawa bioaktif, makronutrien, mikronutrien, dan fitokimia. (Aydar *et al.*, 2020).

Kandungan protein, vitamin, dan mineral dari suatu produk merupakan kriteria penting pada produk susu nabati sebagaimana kandungan gizi pada susu sapi. Kesetaraan gizi ini dapat dicapai melalui pencampuran berbagai jenis biji-bijian yang masing-masing mempunyai keunggulan tertentu sehingga jika dicampur akan saling melengkapi, terutama untuk meningkatkan jumlah protein total dan akan meningkatkan sifat sensorik produk (Sethi *et al.*, 2016). Kacang merah sebagai sumber karbohidrat kompleks yang kaya (50–60%), protein makanan (20–30%), vitamin dan mineral (vitamin K1, folat, moksadenum, zat besi, tembaga, mangan, kalium dan fosfor) (Jayamanohar *et al.*, 2019), fenolik (45,7 mg/genols) (Jayamanohar *et al.* 2019), fenolik (45,7 mg/genols) (Singh *et al.*, 2017).

Penggunaan ketan hitam sebagai sumber antioksidan telah banyak diteliti berupa kandungan antosianin dan senyawa fenolik. Pemanfaatan ketan hitam dalam pengembangan susu alternatif ditujukan untuk memberi viskositas, sumber antioksidan serta warna ungu kemerahan pada produk akhir. Menurut Mustofa dan Suhartatik, (2018), produksi mikroemulsi antosianin dari beras ketan hitam telah berhasil tercapai. Penelitian selanjutnya antosianin yang diekstraksi dari beras ketan hitam, dikembangkan menjadi pewarna makanan alami yang bersifat antioksidan dalam sistem mikroemulsi untuk meningkatkan stabilitas bahan tambahan makanan (Suhartatik dkk, 2019). Ketan hitam mengandung antosianin utama yaitu cyanidin-3-O-glukosida (C3G) dan peonidin-3-O-glukosida (P3G) yang memiliki sifat antioksidan (Shao *et al.*, 2018).

Wijen mengandung sesamin, sesamolin, sesamol, and sesaminol sebagai senyawa fungsional yang memberikan manfaat kesehatan yang penting. Wijen hitam diteliti memiliki efek antioksidan dari 90% ekstrak menunjukkan nilai yang lebih tinggi daripada wijen putih (Kim, *et al.* 2014). Kandungan fenolik, tannin dan flavonoid yang bersifat antioksidan. Aktivitas antioksidan pada biji wijen hitam yang dikukus pada 80 kPa selama 30 menit menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi. Hal tersebut menunjukkan pengukusan adalah metode pemrosesan termal yang menghasilkan kualitas produk biji wijen hitam terbaik yang memiliki manfaat kesehatan (Xiong *et al.*, 2012).

Jamur tiram (*P. ostreatus*) yang biasanya dimanfaatkan tidak hanya karena kandungan nutrisi, rasa, dan teksturnya. Beberapa studi telah menunjukkan manfaatnya bagi kesehatan. *P. ostreatus* adalah sumber yang baik untuk β -glucan, polifenol, dan antioksidan (Lam *et al.*, 2015). Jamur tiram memiliki efek penurunan kolesterol, anti-tumor, antivirus, antitrombotik dan imunomodulasi. *P. ostreatus* juga menunjukkan aktivitas antioksidan in-vivo yang baik dengan mengurangi intensitas peroksidasi lipid dan dengan meningkatkan aktivitas enzimatis dan kadar antioksidan non-enzimatis. Jamur tiram ini dapat dikembangkan menjadi suplemen makanan atau agen farmasi untuk mengobati penyakit yang diinduksi oleh stres oksidatif (Jayakumar *et al.*, 2011).

Inulin dapat ditambahkan ke dalam susu nabati sebagai pemanis. Inulin adalah polifruktan yang banyak digunakan sebagai prebiotik, pengganti gula, serta pengganti lemak (Abed *et al.*, 2016). Inulin digunakan dalam produk pangan untuk pengayaan dengan serat makanan atau untuk menggantikan pemanis termasuk gula. Penggunaan inulin akan semakin meningkat sebagai alternatif membatasi asupan karbohidrat dalam makanan mereka untuk menikmati rasa manis dengan kalori yang rendah. Oleh karena itu dilakukan penambahan pemanis berupa inulin pada susu nabati.

Proporsi biji – bijian dalam susu nabati berbahan baku campuran biji - bijian belum banyak diteliti, sehingga perlu diketahui proporsi yang tepat. Berdasarkan penelitian pendahuluan yang telah dilakukan, dengan menghitung kadar air setiap bahan, dan perkiraan proporsi nilai gizi dari protein 1.75 - 2.18 dalam 100 gram susu nabati dan lemak 1.85-1.87 dalam 100 gram susu nabati sehingga diperoleh proporsi campuran biji-bijian yaitu kacang merah, beras ketan hitam, wijen hitam, jamur tiram dengan perkiraan kandungan protein, lemak dan kalori adalah 45:45:30:30, 50:40:30:30, 55:35:30:30, 60:30:30:30, 65:25:30:30 dan 70:20:30:30.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah

1. Proporsi kacang merah dan ketan hitam pada campuran biji-bijian dan jamur tiram berpengaruh terhadap susu nabati.
2. Terdapat proporsi kacang merah dan ketan hitam pada campuran biji-bijian dan jamur tiram yang tepat untuk menghasilkan susu nabati dengan kualitas terbaik dari segi sensori dan antioksidan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Susu Nabati

Susu nabati adalah cairan yang dihasilkan dari tanaman (sereal, biji - bijian penghasil minyak dan kacang - kacang) yang diekstraksi dalam air dan dihomogenisasi sehingga menghasilkan ukuran partikel dalam kisaran 5-20 μm untuk menyerupai susu sapi dalam penampilan dan konsistensi (Sethi *et al.*, 2016). Berbagai susu nabati yang telah diteliti antara lain adalah susu kedelai, susu almond (*Prunus dulcis*), mete (*Anacardium occidentale*), kelapa (*Cocos nucifera*), hazelnut (*Corylus*), kacang tanah (*Arachis hypogaea*), wijen (*Sesamum indicum*), soy (*Glycine max*), kacang harimau (*Cyperus esculentus*), gandum (*Avena sativa*), beras (*Oryza sativa*), rami (*Cannabis sativa*), dan kenari (*Juglans*). Kacang- kacang dan biji-bijian memiliki kandungan selenium, polifenol, tokoferol, dan fitosterol, selain itu kandungan lemak yang seimbang yaitu memiliki jumlah asam lemak tak jenuh ganda dan rendahnya asam lemak jenuh yang mencakup asam lemak esensial seperti asam linoleat dan α -linolenic yang tidak dapat disintesis oleh tubuh manusia (Aydar *et al.*, 2020). Oleh karena itu susu nabati memiliki efek positif karena kaya antioksidan dan asam lemak yang mengurangi risiko penyakit kardiovaskular, kanker, aterosklerosis, dan diabetes (Zujko and Witkowska, 2014).

Beberapa jenis kacang - kacang dan biji - bijian seperti kacang merah, beras ketan hitam, wijen hitam dan jamur tiram dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan susu nabati. Kacang merah merupakan jenis kacang yang memiliki kandungan protein dan polifenol yang tinggi (Sarker *et al.*, 2020). Kemudian pemanfaatan beras ketan hitam menjadi sumber potensial antosianin yang juga dapat berfungsi sebagai antioksidan. Kandungan biji wijen hitam

memiliki sesamin dan sesamolin menunjukkan efek anti-inflamasi antihipertensi, dan antikarsinogenik (Xhu *et al.*, 2015) serta penggunaan bahan berupa jamur tiram sebagai sumber β -glucan, polifenol dan antioksidan (Lam dan Okelo, 2015).

Pada pembuatan susu nabati dibutuhkan pengembangan untuk memperoleh kualitas yang sebanding dengan susu sapi dalam hal penampilan, rasa, stabilitas dan nilai gizi. Karakteristik bahan nabati umumnya tidak seragam, hal ini dapat menyebabkan komposisi dan ukuran partikel susu nabati yang juga tidak seragam. Ukuran partikel dan stabilitas produk akhir tergantung pada sifat bahan baku, metode yang digunakan dan kondisi penyimpanan (Cruz *et al.*, 2007). Susu nabati sangat berbeda dengan susu sapi dari perspektif gizi. Kandungan gizi susu nabati sangat bervariasi tergantung pada bahan baku dan teknik operasi yang digunakan untuk menyiapkannya, misalnya, susu almond, kelapa, dan beras memiliki kandungan kalori yang lebih tinggi daripada susu sapi, tetapi susu kedelai memiliki kandungan kalori yang lebih rendah. Selain itu, susu kedelai dan almond memiliki kandungan protein yang cukup mirip dengan susu sapi, tetapi susu beras dan kelapa memiliki kadar yang jauh lebih rendah. Kandungan gula pada susu almond, susu kelapa, dan susu beras jauh lebih tinggi daripada susu sapi (McClements *et al.*, 2019). Susu nabati yang telah dikenal dan dikonsumsi oleh masyarakat adalah susu kedelai. Tabel syarat mutu susu kedelai disajikan pada Tabel 1. Syarat mutu susu kedelai ini dapat disesuaikan dengan syarat mutu susu nabati lainnya.

Tabel 1. Syarat Mutu Susu Kedelai Menurut SNI No. 01-3830-1995

No	Kriteri Uji	Satuan	Persyaratan	
			Susu	Minuman
1	Keadaan	-		Normal
1.1	Bau	-	Normal	Normal
1.2	Rasa	-	Normal	Normal
1.3	Warna	-	Normal	Normal
2	pH	-	6,5-7,0	6,5-7,0
3	Protein	%b/b	Min.. 2.0	Min. 1.0
4	Lemak	%b/b	Min. 1.0	Min. 0.30
5	Padatan Jumlah Bahan Tambahan	%b/b	Min. 11.50	Min. 11.50
6	Makanan			
6.1	Pemanis Buatan			
6.2	Pewarna			
6.3	Pengawet			
7	Cemaran Logam			
7.1	Timbal (Pb)	Mg/kg	Maks. 0,2	Maks. 0,2
7.2	Tembaga (Cu)	Mg/kg	Maks. 2	Maks. 2
7.3	Seng (Zn)	Mg/kg	Maks. 5	Maks. 5
7.4	Timah (Sn)	Mg/kg	Maks. 50/250	Maks. 50/250
7.5	Merkuri (Hg)	Mg/kg	Maks. 0.03	Maks. 0.03
8	Cemaran arsen (As)	Mg/kg	Maks. 0.1	Maks. 0.1
9	Cemaran Mikroba			
			Maks. 2 X	Maks. 2 X
9.1	Angka Lempeng Total	Koloni/ml	102	102
9.2	Bakteri Bentuk Koli	APM/ml	Maks. 20	Maks. 20
9.3	Escheheria Coli	APM/ml	Maks. 3	Maks. 3
9.4	Salmonella		Negatif	Negatif
9.5	Staphylococcus aureus	Koloni/ml	0	0
9.6	Vibrio sp		Negatif	Negatif
9.7	Kapang	Koloni/ml	Maks. 50	Maks. 50

2.2 Kacang Merah

Kacang merah yang merupakan salah satu kacang-kacangan relatif dan tersedia di seluruh dunia (Brughton *et al.*, 2003) menjadi makanan pokok di negara - negara berkembang sebagai alternatif protein hewani (Mojica *et al.*, 2015).

Carrasco-Castilla *et al.* (2012), melaporkan bahwa kacang ini adalah sumber protein dengan komposisi globulin (65% w/w), albumin (15% w/w), glutelin (10% w/w), dan prolamin (2% w/w). Komposisi karbohidrat (Sathe dan Deshpande, 2003) dari kacang merah juga memiliki kualitas yang tinggi,

sehingga bermanfaat sebagai asupan gizi yang baik untuk tubuh. Kandungan lainnya dari kacang merah yaitu beberapa senyawa fenol, kelas hidroksi-benzoik dan hidrosikomik, flavan-3-ol, flavanon, flavanol dan fenol antosianin.

Senyawa fenol ini juga berfungsi sebagai antioksidan utama dalam kacang-kacangan memainkan peran kunci dalam mengurangi spesies oksigen reaktif yang menyebabkan kerusakan sel dan molekul (Pierson and Reddy, 1982).

Penampilan fisik dari kacang merah disajikan pada Gambar 1 dan komposisi gizi dan polifenol pada kacang merah dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3. Menurut Rahmat (2009), kedudukan kacang merah dalam tatanama (sistematika) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plant
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Sub kelas : Calyciflorae
Ordo : Rosales (Leguminales)
Famili : Leguminosae (Papilionaceae)
Sub famili : Papilionoideae
Genus : Phaseolus
Spesies : *Phaseolus vulgaris L.*



Gambar 1. Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*)
Sumber : Dokumentasi Pribadi

Tabel 2. Komposisi gizi kacang merah per 100 gram

Zat Gizi	Jumlah*	Jumlah**
Kadar air	2,4	1,06
Protein (g)	25,3	20,31
Lemak (g)	2	1,57
Karbohidrat (g)	53,2	68,03
Abu	5,3	5,00
Kalori (kcal)	112***	

Sumber: * : Ojijo (2002)
** : Ibeabuchi *et al.* (2017)
*** : USDA (2012)

Tabel 3. Komposisi polifenol pada kacang merah dalam 100 gram

Jenis Kacang	Jumlah (mg GAE/100g)
Organik	305,60
Inorganik	243,61

Keterangan : GAE : Galat Acid Ekuivalen
Sumber : Hanis *et al.* (2017)

2.3 Ketan Hitam

Beras ketan hitam (*Oryza sativa var. glutinosa*) adalah beras berpigmen yang dikonsumsi sebagai makanan selingan. Ketan hitam juga merupakan sumber potensial pewarna alami seperti antosianin yang juga bertindak sebagai antioksidan (Tananuwong and Tewaruth, 2010; Suhartatik *et al.*, 2013). Ketan hitam mengandung antosianin utama yaitu *cyandin-3-O-glukosaida* (C3G) dan *peonidin-3-O-glukosaida* (P3G) yang memiliki sifat antioksidan (Shao *et al.*,

2018). Konsumsi makanan kaya antioksidan seperti beras ketan hitam terbukti memiliki efek antihiperlipidemik, meningkatkan sensitivitas insulin, mengurangi peradangan pankreas dan hati, antikanker, antiinflamasi, dan mencegah penyakit kardiovaskular (Kumar dan Murali, 2020). Menurut Mustofa dan Suhartatik, (2018), produksi mikroemulsi antosianin dari beras ketan hitam telah berhasil tercapai. Penelitian selanjutnya dilakukan oleh Suhartatik *et al.* (2019) yaitu antosianin yang diekstraksi dari beras ketan hitam, dikembangkan menjadi pewarna makanan alami yang bersifat antioksidan dalam sistem mikroemulsi untuk meningkatkan stabilitas bahan tambahan makanan. Penampakan fisik beras ketan hitam disajikan pada Gambar 2, sedangkan kedudukan ketan hitam dalam tatanama (sistematika) Menurut Van Steenis (2003), adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta Kelas : Monocotyledoneae

Ordo : Poales

Famili : Poaceae

Genus : *Oryza*

Spesies : *Oryza sativa L.*



Gambar 2. Beras ketan hitam (*Oryza sativa var. glutinosa*)

Sumber : Dokumentasi Pribadi

Komposisi zat gizi pada kacang merah kering dapat dilihat pada Tabel 4 dan kandungan antosianin dan pati beras ketan hitam dapat dilihat pada Tabel 5

Tabel 4. Komposisi zat gizi beras ketan hitam per 100 gram

Zat Gizi	Jumlah*	Jumlah**
Protein (g)	11.9	7.13-9.10
Lemak (g)	3.87	1.98-3.23
Karbohidrat (g)	63.45	61.80-65.58
Abu (g)	1.98	
Kalori (Kcal)	351***	

Sumber : * : Veni (2019)

** : Nashrurrokhman *et al.* (2019)

*** : Rini *et al.* (2019)

Tabel 5. Komposisi antosianin dan pati beras ketan hitam

Zat Gizi	Jumlah	
Antosianin	4,2582 mg/ 100 g*	25 mg/ 100mL**
Pati	71,75 g / 100 g***	

Sumber:* : Trinovani *et al.* (2020)

** : Suhartatik *et al.* (2013)

*** : Rini *et al.* (2019)

2.4 Wijen hitam

Wijen (*Sesamum indicum L.*) adalah tanaman dari keluarga *Pedaliaceae*, yang pertama kali diklasifikasikan sebagai sumber makanan dari Assyria dan Babel sekitar 4000 tahun yang lalu, dan merupakan tanaman pangan tertua yang dibudidayakan oleh manusia (Wan, *et al.* 2015). Biji wijen hitam di Cina merupakan tanaman pennghasil minyak yang telah umum digunakan sebagai makanan fungsional dan obat-obatan tradisional karena manfaatnya terhadap kesehatan. Wijen hitam mengandung sejumlah besar minyak berkualitas bergizi, protein, Se, Zn, Fe dan vitamin E. Biji wijen mengandung sekitar 44-58% minyak, di mana 70% asam lemak tak jenuh esensial (asam linoleat dan linolenik) dapat ditemukan (Cheng *et al.*, 2021). Wijen hitam juga mengandung beberapa senyawa fenol, seperti sesamol, sesamolin, yang memiliki efek antioksidan yang kuat pada peroksidasi lipid (Visavadiya dan Narasimhacharya,

2008). Biji wijen hitam menunjukkan kandungan sesamin yang lebih tinggi wijen yang lebih tinggi (rentang 1,98–9,41 mg/g, rata-rata 4,34 mg/g) dan kandungan sesamolin (rentang 1,06–3,35 mg/g, rata-rata 1,92 mg/g) daripada varietas biji wijen kuning, coklat dan putih) (Shi *et al.*, 2017). Penampakan fisik dari wijen hitam disajikan pada Gambar 3. Komposisi zat gizi pada wijen hitam dapat dilihat pada Tabel 6



Gambar 3. Wijen Hitam (*Sesamum indicum L.*)
Sumber : Dokumentasi Pribadi

Tabel 6. Komposisi gizi wijen hitam per 100 gram

Komposisi Kimia	Jumlah*	Jumlah**
Air (g)	4.2	-
Protein(g)	20.82	25.06
Lemak (g)	48.4	43.57
Karbohidrat (g)	17.1	3.24
Abu	6.1	4.73
Kalori (Kcal)	714 ***	

Sumber : * : Kanu (2011)
** :Cheng *et al.* (2021)
***: USDA (2019)

2.5 Jamur Tiram

Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus Jacq.*) adalah jamur pangan dari kelompok Basidiomycota dan termasuk kelas Homobasidiomycetes. Ciri-ciri jamur tiram adalah memiliki tubuh buah yang berwarna putih hingga krem dan tudungnya berbentuk setengah lingkaran mirip cangkang tiram dengan bagian tengah agak cekung. Dinamakan jamur tiram karena memiliki flavor dan tekstur yang mirip tiram yang berwarna putih dan memiliki cita rasa yang relatif netral sehingga mudah untuk dipadukan pada berbagai masakan (Winarti, 2010). Jamur

tiram diminati oleh masyarakat karena tampilannya yang menarik, cita rasanya lezat, kaya gizi sehingga sangat baik untuk dikonsumsi.

Jamur tiram dimanfaatkan tidak hanya karena kandungan gizi, rasa, dan teksturnya. Jamur tiram kaya akan protein dengan asam amino esensial, polisakarida, asam lemak, serat pangan, mineral, dan beberapa vitamin serta senyawa bioaktif. Jamur tiram juga mengandung protein yang disebut pleuran bersama dengan proteoglikan telah terbukti menimbulkan imunomodulator dengan menginduksi produksi IL-4 dan IFN- γ dalam sel hewan (El Enshasy *et al.*, 2012). Jamur tiram mengandung beberapa senyawa bioaktif meliputi lovastatin, β -glucan, lectin, polifenol dan flavonoid, ergosterol, ergothionin, asam linoleat, dan vitamin C dan E (Gunde-Cimerman, *et al.*, 1995; Jayakumar, *et al.*, 2007; Schneider *et al.*, 2011; Gil-Ramirez *et al.*, 2011) berpotensi memiliki efek untuk kesehatan. β -glucan berpotensi melakukan fungsi dalam industri makanan seperti pengikatan minyak, gelling agen, pembuatan film dan enkapsulasi, dan penstabil emulsifikasi (Zhu *et al.*, 2016). Penampilan fisik dari jamur tiram disajikan pada Gambar 4. Klasifikasi jamur tiram menurut Moore (1996) adalah sebagai berikut:

Divisi : Basidiomycota

Classis: Basidiomycetes

Ordo : Agaricales

Familia : Tricholomataceae

Genus : Pleurotus

Spesies : *Pleurotus ostreatus*



Gambar 4. Jamur Tiram (*P. ostreatus*)
Sumber : Dokumentasi Pribad

Daftar kandungan gizi pada jamur tiram per 100 gram disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Komposisi gizi jamur tiram per 100 gram

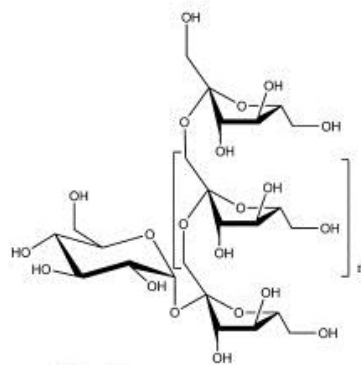
Komposisi Kimia	*	**
Air (g)	83.24	88.80
Protein(g)	22.61	21.52
Lemak (g)	5.01	7.67
Karbohidrat (g)	47.86	
Abu	8.24	
Kalori (kcal)	367	

Sumber :

- * : Majesty *et al.* (2018)
- ** : Chang *et al.* (2021)
- *** : Sumarmi (2006)

2.6. Inulin

Inulin adalah polisakarida alami (fruktan) dengan hingga 100 unit fruktosa dan kelompok akhir glukosa. Inulin merupakan cadangan karbohidrat di beberapa akar dan rimpang. Fruktosa-oligosakarida adalah fruktan rantai pendek, biasanya hingga 10 unit, diproduksi baik dengan degradasi inulin enzimatis atau dengan menghubungkan unit fruktosa secara enzimatis ke primer sakarin, keduanya adalah serat larut dengan sifat prebiotik dan pengurangan energi yang tersedia karena usus kita tidak memiliki enzim inulinase. Inulin terjadi secara alami pada akar chicory. Awalnya itu adalah campuran fruktans molekul tinggi dan beberapa bagian molekul rendah, semua dihubungkan oleh β (2,1) ikatan, yang tidak dapat dicerna dalam saluran usus manusia (Tiefenbacher, 2017). Struktur inulin disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur inulin
Sumber : Mensink *et al.* (2015)

Inulin adalah polisakarida larut air dan termasuk dalam sekelompok karbohidrat yang tidak dapat dicerna yang disebut fruktan. Secara sintesis, fruktan jenis inulin diproduksi dari sukrosa (Cooper *et al.*, 2015). Inulin banyak digunakan dalam makanan olahan menggantikan lemak atau gula. Penggunaan inulin secara luas di sektor makanan didasarkan pada sifat fungsionalnya, misalnya berfungsi untuk memperkaya serat, sebagai prebiotik, rendah lemak dan rendah gula (Shoaiba *et al.*, 2016). Inulin juga digunakan untuk memberikan karakteristik yang diinginkan. menjadi pengganti karbohidrat dan lemak serta menjadi sumber serat yang baik untuk memperkaya gizi makanan yang berbeda. Banyak penelitian telah membuktikan perannya sebagai menggantikan lemak yang baik (hingga 50%) untuk mengembangkan produk dengan sifat yang lebih sehat dan karakteristik sensorik yang diinginkan.

Inulin banyak digunakan dalam makanan olahan sebagai pengganti lemak atau gula atau untuk memberikan karakteristik yang diinginkan dan hanya memberikan energi 25-35% dibandingkan dengan karbohidrat yang dapat dicerna. Tingkat rasa manis inulin adalah sekitar 10% dari sukrosa (Shoaiba *et al.*, 2016). Produk inulin yang sebagian besar terdiri dari molekul rantai panjang diterapkan untuk penggantian lemak, karena di hadapan mereka mampu mengembangkan gel partikular, sehingga mengubah tekstur produk dan menyediakan kesan dimulut seperti lemak (Karimi *et al.*, 2015). Sumber alami inulin termasuk akar sawi putih, artichoke Yerusalem, umbi dahlia, yacon, asparagus, daun bawang, bawang merah, pisang, gandum dan bawang putih (Bornet, 2008; Roberfroid, 2007).

2.7 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat menetralkan radikal bebas sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan mendapat pasangan elektron sehingga menjadi tidak reaktif. Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Antioksidan alami dalam makanan dapat berasal dari senyawa antioksidan yang sudah ada di dalam bahan, senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan makanan maupun senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan. Antioksidan alami banyak terdapat pada tumbuh-tumbuhan baik pada bagian buah, batang, akar dan daun (Kosasih, 2004; Ribeiro *et al.*, 2007).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dapat dibedakan menjadi 3, yaitu:

1. Antioksidan primer (Antioksidan endogenus)

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer merupakan senyawa yang dapat menghentikan reaksi berantai dengan memberikan atom hidrogen secara cepat kepada radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk menjadi senyawa yang lebih stabil. Antioksidan primer terdiri dari antioksidan alami dan sintetik. Contoh antioksidan primer sintetik berupa *n-butylated hydroxytoluene* (BHT). Antioksidan primer yang ada dalam tubuh adalah enzim superoksida dismutase (SOD). Enzim ini dapat melindungi hancurnya sel-sel dalam tubuh akibat serangan radikal bebas (Kumalaningsih, 2006; Winarsi, 2007). Aktivitas sehari-hari dapat menyebabkan tubuh terus-menerus terpapar radikal bebas. Paparan radikal berlebih menyebabkan terjadinya gangguan fungsi sel dan kerusakan sel (Winarsi, 2007). Tubuh manusia tidak memiliki cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih sehingga diperlukan antioksidan eksogen (Kuncahyo, 2007).

2. Antioksidan Sekunder (Antioksidan eksogenus)

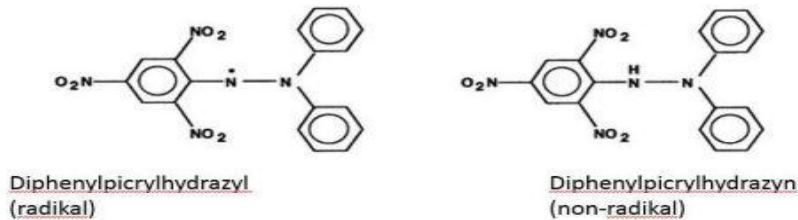
Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non-enzimatis. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Radikal bebas dengan kata lain, tidak akan bereaksi dengan komponen seluler antioksidan ini bekerja dengan berbagai mekanisme, seperti mengikat ion logam, menangkap oksigen, memecah hidroperoksida ke bentuk-bentuk non radikal, menyerap radiasi ultraviolet atau mendeaktifkan singlet oksigen. Contoh dari antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan betakaroten yang dapat diperoleh dari buah-buahan (Gordon 1990; Kumalaningsih, 2006).

2.8 Metode Pengujian Antioksidan

Antioksidan sebagai senyawa untuk menonaktifkan radikal dengan menggunakan dua mekanisme utama, HAT (*Hydrogen Atom Transfer*) dan SET (*Single Electron Transfer*) sehingga mekanisme tersebut menjadi dasar metode pengujian antioksidan. Metode berbasis HAT mengukur kemampuan antioksidan untuk memadamkan radikal bebas dengan sumbangan hidrogen (AH/ donor atom H) contohnya metode pengujian *Oxygen radical absorbance capacity* (ORAC), *Total radical-trapping antioxidant parameter* (TRAP) dan *Lipid peroxidation inhibition capacity* (LPIC). Metode berbasis SET dengan mendeteksi kemampuan antioksidan untuk mentransfer satu elektron untuk mengurangi senyawa apa pun, termasuk logam, karbonil, dan radikal contohnya metode pengujian *Ferric reducing antioxidant power* (FRAP), Diphenylpicrylhydrazil (DPPH), dan *2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6 sulfonic acid* (ABTS). Variasi metode untuk pengukuran antioksidan, dikarenakan adanya pertimbangan faktor dalam sistem biologis sumber antioksidan seperti enzim (superoksida dismutase, glutathion peroksidase, dan katalase); molekul besar (albumin, seruloplasmin, ferritin, protein lain); molekul kecil (asam askorbat, glutathione, asam urat, tokoferol, karotenoid (polifenol); dan beberapa hormon (estrogen, angiotensin, melatonin, dan lain-lain) (Prior, 2005). Metode pengujian antioksidan sebagai berikut :

2.8.1. Metode DPPH

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil. DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen kemudian akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Struktur kimia DPPH dapat dilihat pada Gambar 6 berikut

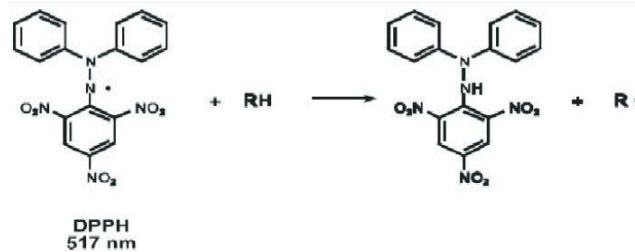


Gambar 6. Struktur kimia DPPH
Sumber: Rosidah *et al.* (2008)

Keberadaan antioksidan dalam ekstrak tumbuhan akan menetralkan radikal DPPH dengan memberikan elektron kepada DPPH, menghasilkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning atau intensitas warna ungu larutan jadi berkurang (Blois, 1958; Molyneux, 2004). Prinsip pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah mengukur daya peredaman sampel (ekstrak) terhadap radikal bebas DPPH. DPPH akan bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredaman radikal bebas membentuk DPPH yang lebih stabil. Senyawa peredaman radikal bebas yang bereaksi dengan DPPH akan menjadi radikal baru yang lebih stabil atau senyawa bukan radikal.

Uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode ini dapat diamati berdasarkan dari hilangnya warna ungu akibat tereduksinya DPPH oleh antioksidan. Intensitas warna dari larutan uji diukur melalui spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang sekitar 520 nm. Hasil persen (%) inhibisi tersebut disubstitusikan dalam persamaan linear, kemudian hasil dari substitusi persen (%) inhibisi tersebut kemudian diinterpretasikan sebagai IC₅₀. Persen inhibisi adalah perbandingan antara selisih dari absorbansi blanko dan absorbansi sampel dengan absorbansi blanko. Persen inhibisi digunakan untuk menentukan persentase hambatan dari suatu bahan yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas. IC₅₀ didefinisikan sebagai jumlah antioksidan yang diperlukan untuk menurunkan konsentrasi awal DPPH sebesar 50%. (Molyneux, 2004). Reaksi

antara DPPH dengan atom H dari senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan
Sumber: Pasaribu, 2011

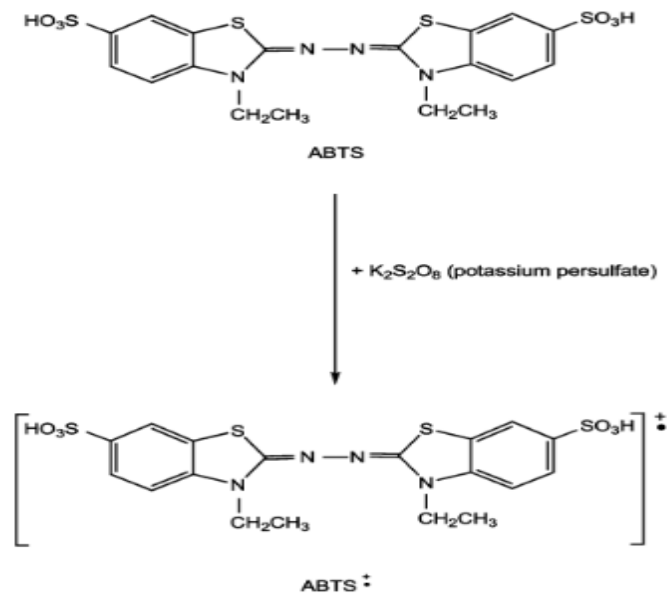
Metode DPPH secara teknis menggunakan alat yang sederhana dan cepat dan hanya membutuhkan spektrofotometer UV-Vis yang mungkin menjelaskan penggunaannya secara luas dalam skrining antioksidan. Analisis sejumlah besar sampel dapat dilakukan dengan menggunakan pelat mikro (Fukumoto dan Mazza, 2000). Metode DPPH memiliki beberapa kekurangan, antara lain hanya dapat digunakan untuk mengukur antioksidan yang larut dalam pelarut organik, terutama alkohol dan sangat sensitif terhadap cahaya, karena pada panjang gelombang 517 nm setelah DPPH bereaksi dengan antioksidan dan juga adanya absorbansi cepat menurun oleh cahaya (Ozcelik *et al.*, 2003). Langkah penentu tingkat untuk reaksi ini terjadi sangat cepat karena transfer elektron awal dan transfer hidrogen berikutnya terjadi sangat lambat dan tergantung pada ikatan hidrogen netral yang menerima pelarut seperti metanol dan etanol (Huang *et al.*, 2005).

2.8.2. Metode ABTS

Pengujian ABTS pertama dijelaskan pada tahun 1997 oleh Miller *et al.* metode ini dikembangkan berdasarkan penyerapan kation radikal ABTS⁺ untuk evaluasi kapasitas antioksidan cairan tubuh dan pengobatan. Metode ini pertama kali didasarkan pada produksi kation radikal ABTS dengan aktivasi metmyoglobin dengan hidrogen peroksida di hadapan ABTS [2,2'-azinobis-(3-*etilbenzothiazoline-6-asam sulfat*)], dengan atau tanpa antioksidan. Kemudian, antioksidan menangkap ABTS⁺ radikal [2,2'-azino-bis(*etilbenzene-thiazoline-6-*

asam sulfat], menyebabkan penurunan penyerapan, yang terdeteksi oleh kombinasi antioksidan antioksidan dengan radikal pada waktu yang berbeda (Miller *et al.*, 1993) ABTS⁺ radikal dihasilkan melalui 2,2-azino-bis (3-*etilbenzotiazolin*)-6-*asam sulfat*.

Radikal ABTS adalah senyawa kromosom yang stabil secara kimia dengan rentang pH yang luas, yang larut dalam air dan menunjukkan penyerapan yang kuat di kisaran 600-750 nm. Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dalam sampel yang larut dalam air dan larut dalam lemak. ABTS juga dapat dihasilkan dari reaksi antara ABTS dan kalium persulfate, dengan produksi langsung kromosom ABTS⁺biru / hijau⁺, dengan penyerapan maksimum pada panjang gelombang 645, 734, dan 815 nm, atau lebih umum maksimum pada 415 nm. Radikal kemudian dihasilkan langsung dalam bentuk stabil sebelum reaksi dengan antioksidan. Tingkat dekolorisasi ABTS ditentukan oleh penghambatan persentase kation radikal ABTS⁺ sebagai fungsi konsentrasi dan waktu setelah reaktivitas relatif dari Trolox sebagai standar diukur (Nenadis *et al.*, 2004). Reaksi pada pengujian ABTS ditunjukkan pada Gambar 7 Metode ABTS keunggulannya yaitu memberikan absorbansi spesifik pada panjang gelombang visible dan waktu reaksi yang lebih cepat. ABTS dapat dilarutkan dalam pelarut organik maupun air sehingga dapat mendeteksi senyawa yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik karena tidak dipengaruhi kekuatan ionik (Arnao, 2000). Uji ini memiliki jangkauan pH yang luas. Untuk antioksidan standar seperti Trolox atau asam askorbat, ABTS radikal pada pH 7,4 memberikan nilai end-point yang andal setelah 10 menit (Ozgen *et al.*, 2006). Namun pengujian menggunakan ABTS tidak memberikan gambaran sistem pertahanan tubuh terhadap radikal bebas sehingga ABTS hanya dapat dijadikan sebagai metode pembandingan karena tidak mewakili sistem biologis tubuh (Karadag, 2009).



Gambar 8. Reaksi pembentukan ABTS radikal dari ABTS dengan kalium persulfat
Sumber: Moon dan Shibamoto (2009)

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus - Oktober 2021. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian, Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Lampung, UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung, dan Laboratorium Saraswanti Indo Genetech, Bogor.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat –alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah timbangan analitik, *soymilk maker*, refrigerator, serta peralatan pengolahan lainnya. Instrument yang akan digunakan untuk analisis produk antara lain berupa Spektrofotometer Genesys UV-Vis, Viskotester, Piknometer, pH meter, sentrifus, *soxhlet extractor*, kjeltec, butirometer serta peralatan gelas lainnya.

3.2.2. Bahan

Bahan baku utama berupa kacang merah, ketan hitam, wijen dan jamur tiram dibeli dari pasar lokal di Bandar Lampung. Bahan bahan kimia untuk analisis yaitu DPPH, ABTS, etanol, HCl, NaOH, H₂SO₄, H₃BO₄, Na₃CO₃, CH₃COONa, Folin-Ciocalteu, Asam Galat, NaNO₂, AlCl₃, Kuersetin, Asam Askorbat, KCl, K₂S₂O₈, NaCl, BaSO₄ dan NaOH.

3.3. Rancangan Percobaan

Percobaan disusun dalam rancangan acak kelompok lengkap (RAKL) dengan perlakuan tunggal berupa perbandingan kacang merah, dan ketan hitam terdiri dari 6 formulasi (Tabel 8) dengan 4 ulangan. Uji Bartlett dan Tukey digunakan untuk menguji homogenitas dan aditivitas data. Kemudian diuji menggunakan ANOVA untuk mengetahui ragam galat dan pengaruh perlakuan, kemudian dilanjutkan dengan uji BNT untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

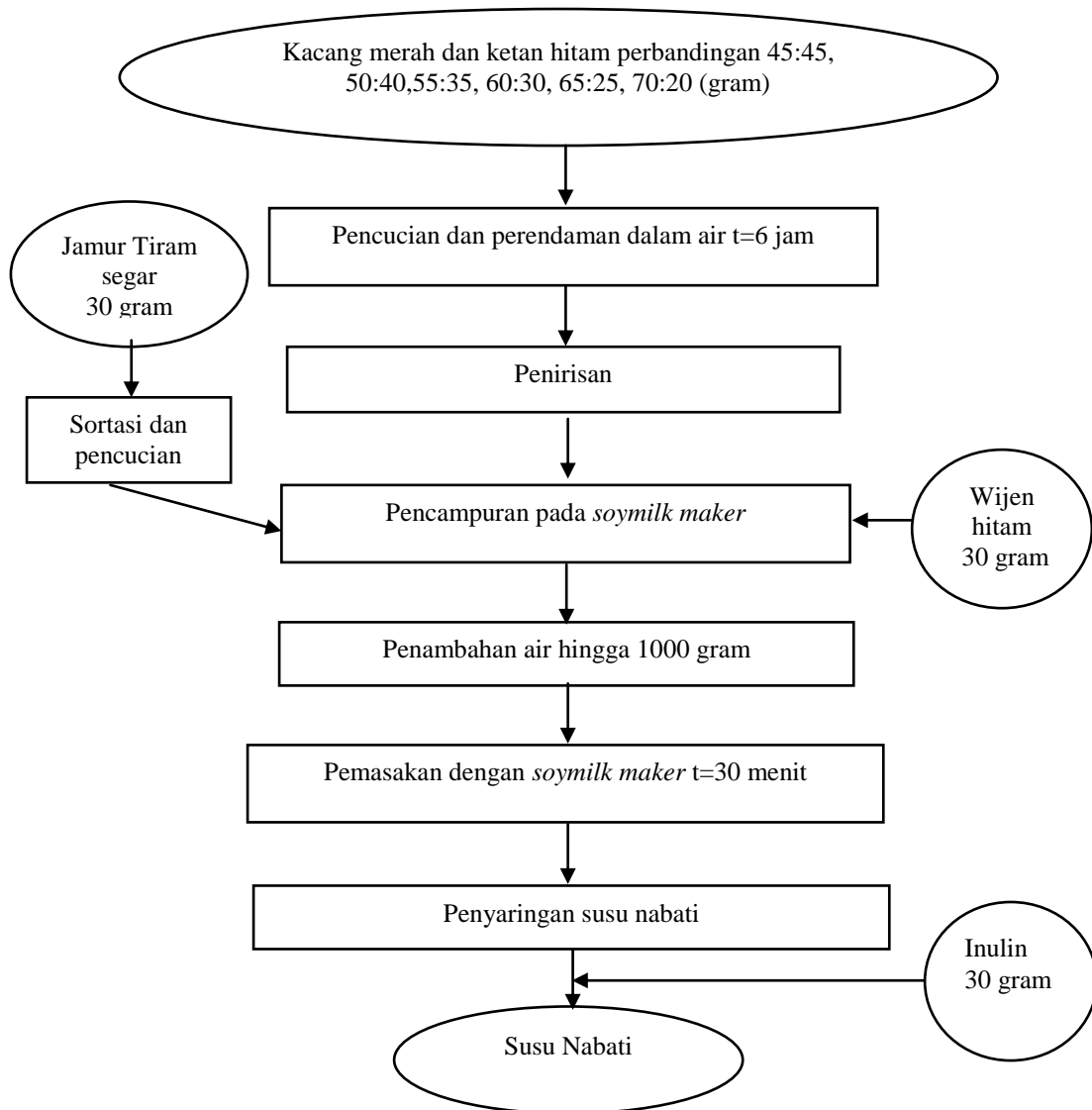
Tabel 8. Komposisi susu nabati

Kode	Kacang Merah	Ketan Hitam	Wijen Hitam	Jamur Tiram	Inulin
Gram					
P1	45	45	30	30	30
P2	50	40	30	30	30
P3	55	35	30	30	30
P4	60	30	30	30	30
P5	65	25	30	30	30
P6	70	20	30	30	30

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Penyiapan Susu Nabati

Penyiapan susu nabati ekstrak kacang merah, ketan hitam, biji wijen hitam dan jamur tiram. Secara tahapan pembuatan ekstrak biji - bijian dan jamur tiram disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram alir penyiapan susu nabati kacang merah, ketan hitam, wijen dan jamur tiram

3.5. Pengamatan

3.5.1. Pengujian berat jenis

Pengujian berat jenis dengan cara piknometer kosong ditimbang, kemudian dimasukkan sampel dan ditimbang kembali untuk mengetahui densitasnya dengan menggunakan rumus :

$$\rho = \frac{(W2 - W1)}{Vp}$$

Keterangan:

- ρ : densitas (g/mL),
 w_1 : adalah berat piknometer kosong (g),
 w_2 : berat piknometer dengan sampel (g) dan
 V_p : volume piknometer (mL)..

3.5.2 Pengujian Viskositas

Pengukuran viskositas atau kekentalan yoghurt menggunakan alat viscotester (Daubert dan Farkas, 2013) merk Rion VT-04F (Jepang). Sebanyak 150 mL sampel dimasukkan pada gelas bejana dengan menggunakan rotor nomor 3, lalu diuji dan dibaca nilai viskositasnya sampai spindle dalam keadaan konstan.

3.5.3 Penyiapan Ekstrak Sampel

Persiapan sampel untuk pengujian total fenol, flavonoid, antosianin, serta aktivitas antioksidan metode DPPH dan ABTS diawali dengan penyiapan ekstrak.

Penyiapan ekstrak sampel dengan menimbang sebanyak 5 gr susu nabati kemudian ditambahkan 20 ml etanol p.a 96%, kemudian diekstraksi menggunakan shaker selama \pm 4 jam. Ekstrak susu nabati kemudian disentrifugasi selama 10 menit, dan disaring menggunakan kertas saring (Yilmaz-Ersan *et al.*, 2018).

3.5.4 Pengujian Total Fenol

Pengujian total fenol dilakukan dengan menggunakan metode Folin-ciocalteu pada penelitian Ismail *et al.* (2012) yang telah dimodifikasi. Prinsip metode ini adalah oksidasi senyawa fenol dalam suasana basa oleh pereaksi FolinCiocalteu yang menghasilkan larutan berwarna biru. Sampel ekstrak sebanyak 0,2 ml disiapkan dan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang telah diberi label lalu ditambahkan 0,2 ml akuades dan 0,2 ml reagen Folin-Ciocalteu 50%, kemudian dihomogenisasi dengan vortex dan didiamkan selama 1 menit. Setelah itu, campuran tersebut ditambahkan 4 ml larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) 2 % dan divortex satu menit, lalu didiamkan kembali selama 30 menit dalam ruang gelap pada suhu kamar. Setelah itu dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UVVis dengan panjang gelombang 760 nm. Hasilnya diplotkan

terhadap kurva standar asam galat dengan menggunakan persamaan regresi linier. Hubungan antara konsentrasi asam galat dinyatakan sebagai sumbu x dan besarnya absorbansi hasil reaksi asam galat dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dinyatakan sebagai sumbu y.

$$y = ax + c$$

Keterangan:

y = Absorbansi sampel;

x = Konsentrasi ekuivalen asam galat;

a = Gradien;

c = Intersef

3.5.4.1. Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

Pembuatan kurva standar fenol dibuat dengan cara menimbang 10 mg asam galat kemudian dilarutkan kedalam 100 mL akuades. Lalu dibuat seri pengenceran larutan induk asam galat yang dipipet berturut-turut 0%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Kemudian diberi perlakuan seperti pada sampel.

3.5.5 Pengujian Antosianin

Pengukuran total konsentrasi antosianin menggunakan metode spektrofotometri dengan perbedaan pH yang dikembangkan oleh Giusti dan Wrolstad (2001) dan Hosseinian *et al.* (2008). Dua buah tabung reaksi disiapkan, tabung pertama untuk larutan buffer KCl pH 1.0 dan tabung kedua untuk larutan buffer Na-Asetat pH 4.5. Selanjutnya ekstrak sampel dimasukkan sebanyak 1 mL (10% v/v) pada setiap tabung dan diencerkan menggunakan larutan buffer masing-masing sampai volume 10 mL (Faktor pengenceran = 10). Sampel hasil pengenceran masing-masing dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 500 nm dan 700 nm. Penentuan nilai absorbansi digunakan persamaan berikut

$$A = (A_{\lambda_{\text{vis maks}}} - A_{700})_{\text{pH 1,0}} - (A_{\lambda_{\text{vis maks}}} - A_{700})_{\text{pH 4,5}}$$

Konsentrasi antosianin dalam ekstrak dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Total Antosianin (mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Keterangan:

A : Absorbansi

MW : berat molekul sianidin-3-glukosida (449)

DF : *dilution factor* (faktor pengenceran)

ϵ : Koefisien ekstingsi molar sianidin-3-glukosida (26.900 L/cm)

l : tebal kuvet (1 cm)

MAP : Monomeric Anthocyanin Pigment

3.5.6 Pengujian Total Flavonoid

Pengukuran kadar flavonoid berdasarkan metode Sultana *et al.* (2009), Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 4 ml aquades di dalam tabung reaksi 10 ml. Selanjutnya ditambahkan larutan NaNO_2 5% sebanyak 0,3 ml dan didiamkan selama 5 menit. Setelah itu, ditambahkan AlCl_3 10% sebanyak 0,3 ml dan didiamkan kembali selama 6 menit. Lalu ditambahkan NaOH 1 M sebanyak 2 ml dan aquades sebanyak 2,4 ml, kemudian dihomogenisasi menggunakan vortex. Dibaca absorbansi larutan pada panjang gelombang 380 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Kemudian hasilnya diplotkan terhadap kurva standar kuersetin dengan menggunakan persamaan regresi linier.

3.5.6.1 Pembuatan Kurva Standar Kuersetin

Pembuatan kurva standar flavonoid dibuat dengan cara menimbang kuersetin sebanyak 10,0 mg kemudian dilarutkan dalam labu takar 10 mL dengan pelarut etanol hingga tanda (kadar kuersetin menjadi 1mg/mL atau 1000 $\mu\text{g/mL}$). Lalu larutan induk 1000 $\mu\text{g/mL}$ diambil sebanyak 1 mL dilarutkan dalam labu takar 10 mL dengan pelarut etanol hingga tanda (kadar kuersetin menjadi 100 $\mu\text{g/ml}$). Dibuat kurva baku dari larutan induk 100 $\mu\text{g/ml}$ dengan cara memipet 0,5 ; 1,0 ; 1,5 dan 2,0 mL, kemudian ditambahkan etanol p.a masing-masing sampai volume akhir 10 ml (kadar larutan standart menjadi 0,05 ; 0,1 ; 0,15 ; dan 0,2 mg/100mL). Kemudian diberi perlakuan seperti pada sampel.

3.5.7 Pengujian aktivitas antioksidan DPPH

Aktivitas antioksidan dianalisis dengan diawali pembuatan larutan kontrol DPPH (*diphenyl picrylhydrazil*) dengan metode yang telah dimodifikasi dari Shimamura *et al.* (2014). Larutan DPPH ditimbang 0,0078 g dalam ruang gelap kemudian dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 100 mL. Larutan DPPH 0,02 mM diambil 5 mL dimasukkan kedalam kuvet untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Hasil pengukuran absorbansi dihitung sebagai Absorbansi kontrol (Ak). Pengujian larutan ekstrak dengan larutan ekstrak dipipet 1 mL dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 2 mL, setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet sebanyak 5 mL untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Larutan sampel yang didapat digunakan sebagai Absorbansi sampel (As). Kemudian absorbansi dari ekstrak yang diperoleh dibandingkan dengan absorbansi DPPH sehingga diperoleh persentase aktivitas antioksidannya. Perhitungan persentase aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dihitung menggunakan rumus (Brand-Williams *et al.*, 1995) :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{Ak - As}{Ak} \times 100\%$$

Keterangan:

Ak = Absorbansi Kontrol

As = Absorbansi sampel

3.5.7.1 Penentuan IC₅₀ DPPH

Prinsip pengujian ini dilakukan secara kuantitatif yaitu dilakukan dengan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 517 nm, sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*). IC₅₀ merupakan konsentrasi suatu bahan antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal. Penentuan nilai IC₅₀ dibuat kurva hubungan antara konsentrasi sampel (X) dengan aktivitas antioksidan (Y), sehingga diperoleh suatu persamaan garis lurus. Nilai IC₅₀

(ppm DPPH) diperoleh dengan cara memasukkan 50% aktivitas antioksidan pada persamaan garis lurus yang diperoleh.

Pembuatan larutan kurva baku

Larutan stok 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 5 mg asam askorbat yang dilarutkan dalam 5 mL etanol 96%. Selanjutnya dari larutan stok 1000 ppm diambil masing-masing 10 μ L; 20 μ L, 30 μ L; 40 μ L dan 50 μ L ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, masing-masing tabung ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,2 mM dan ditambah etanol 96% hingga volume dalam tabung reaksi mencapai 10 mL. Sampel diinkubasi selama 30 menit ditempat yang tidak terkena cahaya. Sampel dipindahkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm.

Sampel susu nabati diekstrak terlebih dahulu dengan cara melarutkan 1 g sampel dalam 10 mL etanol 96%, kemudian sampel didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang. Selanjutnya larutan sampel tersebut disaring dengan kertas saring. Kemudian sebanyak 5 μ L, 10 μ L, 15 μ L, 20 μ L, dan 25 μ L ekstrak sampel dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,2 mM dan ditambah etanol 96% hingga volume dalam tabung reaksi mencapai 10 mL. Sampel diinkubasi selama 30 menit ditempat yang tidak terkena cahaya. Sampel dipindahkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Pembuatan larutan kontrol yaitu dengan menambahkan metanol ke dalam 1 mL larutan DPPH 0,2 mM hingga volume dalam tabung reaksi mencapai 10 mL.

3.5.8. Pengujian aktivitas antioksidan ABTS

Aktivitas antioksidan dianalisis dengan diawali pembuatan larutan ABTS 7 mM. ABTS ditimbang 0,38 g dalam ruang gelap kemudian dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 100 mL. Kemudian dilakukan pembuatan larutan $K_2S_2O_8$ 2,45 mM lalu dilarutkan ABTS $K_2S_2O_8$ dihomogenkan dengan perbandingan 1: 1 dan diisolasi selama 16 jam. Setelah diisolasi selama 16 jam larutan induk diencerkan hingga absorbansi larutan induk mencapai absorbansi 0,700 (pada $\lambda=734$)

Pengujian aktivitas antioksidan diambil 3 ml dimasukkan kedalam kuvet untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 734 nm. Hasil pengukuran absorbansi dihitung sebagai Absorbansi kontrol (Ak). Pengujian larutan ekstrak dengan larutan ekstrak dipipet 100 μ L dan ditambahkan larutan ABTS sebanyak 2,9 mL, setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit diruang gelap, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur absorbansinya pada panjang gelombang 734 nm. Larutan sampel yang didapat digunakan sebagai Absorbansi sampel (As). Kemudian absorbansi dari ekstrak yang diperoleh dibandingkan dengan absorbansi ABTS sehingga diperoleh persentase aktivitas antioksidannya. Perhitungan persentase aktivitas antioksidan terhadap radikal ABTS dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dihitung menggunakan rumus (Brand-Williams *et al.*, 1995) :

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{Ak - As}{Ak} \times 100\%$$

Keterangan:

Ak = Absorbansi Kontrol

As= Absorbansi sampel

3.5.8.1 Penentuan IC₅₀ ABTS

Prinsip pengujian ini dilakukan secara kuantitatif yaitu dilakukan dengan pengukuran penangkapan radikal ABTS oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 734 nm, sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*). IC₅₀ merupakan konsentrasi suatu bahan antioksidan yang dapat menyebabkan 50% ABTS kehilangan karakter radikal. Penentuan nilai IC₅₀ dibuat kurva hubungan antara konsentrasi sampel (X) dengan aktivitas antioksidan (Y), sehingga diperoleh suatu persamaan garis lurus. Nilai IC₅₀ (ABTS) diperoleh dengan cara memasukkan 50% aktivitas antioksidan pada persamaan garis lurus yang diperoleh. Metode yang telah dimodifikasi yaitu 1 mL ABTS yang memiliki absorbansi 0.706 \pm 0.001 pada panjang gelombang 734 nm. Kemudian ditambahkan ekstrak susu nabati 75, 150, 225, 300, 325 μ L dan standar antioksidan (vitamin C) (Witapayan *et al* ,2007)

3.5.9 Pengujian sensori

Pengujian sensori susu nabati dilakukan ± 16 jam setelah proses pembuatan dan telah disimpan dalam refrigerator (suhu $\pm 5^{\circ}\text{C}$). Sampel disajikan sebanyak 15-20 mL dalam gelas kaca, disajikan pula susu nabati komersil sebagai kontrol.

Pengujian sensori meliputi uji skoring untuk rasa, aroma, dan aftertaste. Sampel dengan nilai rata-rata tertinggi pada uji skoring, dilanjutkan dengan uji penerimaan keseluruhan menggunakan uji hedonik. Pengujian skoring dilakukan oleh 25 orang panelis semi terlatih dan penerimaan keseluruhan dengan pengujian hedonik dilakukan oleh 50 orang panelis tidak terlatih (Sharif *et al.*, 2017). Kuesioner penilaian uji skoring pada Gambar 10-12 dan uji hedonik dapat dilihat pada Gambar 13.

Kuesioner		
Nama :	Produk : Susu Nabati Berbasis Biji-Bijian	
Bijian		
Tanggal :		
No Hp :		
Enam sampel susu nabati berbasis biji-bijian tersaji dihadapan anda, anda diminta untuk memberikan skor rasa susu tersebut dengan memberikan tanda X pada garis kortekstur yang sesuai.		
757		
687		
463		
172		
953		
201		
	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	
Hambar	Netral	Manis, gurih

Gambar 10. Kuesioner pengujian skoring parameter rasa

Kuesioner		
Nama :	Produk : Susu Nabati Berbasis Biji-Bijian	
Tanggal :		
No Hp :		
Enam sampel susu nabati berbasis biji-bijian tersaji dihadapan anda, anda diminta untuk memberikan skor aroma susu tersebut dengan memberikan tanda X pada garis kortekstur yang sesuai.		
757		
687		
463		
172		
953		
201		
	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	
Langu	Netral	Tidak Langu

Gambar 11. Kuesioner pengujian skoring parameter aroma

3.5.10 Penentuan Perlakuan Terbaik

Penentuan perlakuan terbaik pada penelitian ini dengan menggunakan metode pembobotan. Nilai bobot diberikan pada masing – masing parameter yang telah ditentukan. Penentuan nilai bobot dapat dihasilkan dari diskusi dua orang ahli . Setelah diketahui perlakuan terbaik, sampel perlakuan terbaik dilakukan pengujian proksimat dan profil asam amino.

3.5.11 Uji Proksimat

Analisis proksimat pada penelitian ini dilakukan pada hasil formulasi susu terbaik yaitu formulasi 60 g kacang merah dan 30 g ketan hitam. Metode yang digunakan adalah sebagai berikut

A. Kadar Air

Analisis dilakukan di Saraswanti Indo Genetech Laboratory menggunakan metode SNI 01-2891-1992.

B. Protein

Analisis dilakukan di Saraswanti Indo Genetech Laboratory menggunakan metode 18-8-31/MU/SMM-SIG (Kjeltec)

C. Lemak

Analisis dilakukan di Saraswanti Indo Genetech Laboratory menggunakan metode 18-8-5/MU/SMM-SIG poin 3.2.2 (Weibul)

D. Karbohidrat

Analisis dilakukan di Saraswanti Indo Genetech Laboratory menggunakan metode 18-8-9/MU/SMM-SIG

E. Abu

Analisis dilakukan di Saraswanti Indo Genetech Laboratory menggunakan metode SNI 01-2891-1992, 6.1

F. Kalori total

Perhitungan manual

Kalori Karbohidrat : 1 g karbohidrat x 4 (Faktor pengali)

Kalori Protein : 1 g protein x 4 (Faktor pengali)

Kalori Lemak : 1 g lemak x 9 (Faktor pengali)

3.5.11 Profil Asam Amino

Analisis profil asam amino sampel susu nabati berbasis biji-bijian lokal dan jamur tiram dilakukan di Saraswanti Indo Genetech Laboratory menggunakan metode 18-12-38/MU/SMM-SIG (LC MS/MS).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Kesimpulan dari penelitian ini diperoleh perlakuan terbaik adalah sebagai berikut:

1. Proporsi kacang merah dan ketan hitam pada campuran biji-bijian dan jamur tiram berpengaruh terhadap kualitas susu nabati meliputi berat jenis, viskositas, fenol, antosianin, flavonoid, aktivitas antioksidan metode DPPH, ABTS, serta sensori (rasa, aroma, dan aftertaste).
2. Proporsi kacang merah dan ketan hitam pada campuran biji-bijian dan jamur tiram terbaik adalah pada formulasi P4 (60 gram kacang merah dan 30 gram ketan hitam) memiliki berat jenis 1,038 g/mL, viskositas 24,175 cP, fenol 833,050 mgGAE/100 mL, antosianin 0,166 mg/100 mL, flavonoid 23,708 mgQE/100 mL, aktivitas antioksidan uji DPPH 51,4667% dan ABTS 32,063%, pengujian sensori dengan skor 7,493 (agak manis gurih), skor aroma 7,735 (agak tidak langu), skor aftertaste 7,110 (cenderung tidak ada aftertaste).

5.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah perlu dianalisis lebih lanjut metode pengujian aktivitas antioksidan lainnya serta pengembangan dari hasil samping (ampas) susu nabati.

DAFTAR PUSTAKA

- Abed, S., Ali, A., Noman, A., Sobiani, A., Al-Fargaammar, and Bakry, A. 2016. Inulin as Prebiotics and its Applications in Food Industry and Human Health : A Review. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*. 5 (1) : 88-97.
- Adebayo, E. and A. Oloke. 2017. Oyster Mushroom (*Pleurotus Species*); A Natural Functional Food. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences*. 7 (3) : 254-264.
- American Standard and Testing Material (ASTM). 2009. *ASTM D445: Standard Test Methods of Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and Calculation of Dynamic Viscosity)*. West Conshohocken. US.
- Anandito, R.B.K., Siswanti, E., Nurhartadi, R., dan Hapsari. 2016. Formulasi Pangan Darurat Berbentuk Food Bars Berbasis Tepung Millet Putih (*Panicum Milliaceum L.*) dan Tepung Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris L.*) . *Agritech*. 36 (1) : 23-29.
- Askar, K.A., Alsawad, Z.H., and Khalaf, M.N. 2015. Evaluation of the pH and thermal stabilities of rosella anthocyanin extracts under solar light. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 4 (3) : 262–268.
- Arnao M.B. 2000. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends Food Science Technology*. 11 :419.
- Aydar, E.F., S. Tutuncu , B. Ozcelika. 2020. Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. *Journal of Functional Foods*. 70 : 1-50.
- Bach, F., Helm, C. V., Bellettini, M.B., Maciel, G.M., and Haminiuk, C.W.I. 2017. Edible mushrooms: a potential source of essential amino acids, glucans and minerals. *International Journal of Food Science Technology*. 52(11) : 2382-2392.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*. 28 (1) : 25-30.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Journal Nature*. 181 (4617): 1199-1200.
- Bornet, F. R. J. 2008. Fructo- Oligosaccharides and Other Fructans: Chemistry, Structure and Nutritional Effects. 10
- Broughton, W.J. *et al.* 2003. Beans (*Phaseolus spp.*) - model food legumes. *Plant Soil*. 252 (1) :5–128.
- BSN. 1992. SNI 01-2782-1998 tentang Metode Pengujian Susu Segar. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- BSN. 1995. SNI 01-3830-1995 tentang Syarat Mutu Susu Kedelai. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- BSN. 1992. SNI 01-2891-1992 tentang Cara Uji Makanan dan Minuman. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta. 32 hlm.
- Byarugaba R, Nabubuya A, Muyonga J. 2020. Descriptive sensory analysis and consumer preferences of bean sauces. *Food Science Nutrition*. 8 (8):4252-4265.
- Carrasco-Castilla, J., Hernández-Álvarez, A. J., Jiménez-Martínez, C., Jacinto-Hernández, C., Alaiz, M., Girón-Calle, J., and Dávila-Ortiz, G. 2012. Antioxidant and metal chelating activities of peptide fractions from phaseolin and bean protein hydrolysates. *Food Chemistry*. 135(3) :1789–1795.
- Chaaban, H., Ioannou, I., Paris, C., Charbonnel, C., and Ghoul, M. 2017. The photostability of flavanones, flavonols and flavones and evolution of their antioxidant activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology A:Chemistry*. 336 : 131–139.
- Chapman, B. B., Morrell, L. J., Tosh, C. R., and Krause, J. 2010. Behavioural consequences of sensory plasticity in guppies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 277(1686) :1395–1401.
- Cheng, R., X. Liao, A. M. Addou, J. Qian, S. Wang, Z. Cheng, L. Wang, and J. Huang. 2021. Effects of “nine steaming nine sun-drying” on proximate composition, oil properties and volatile compounds of black sesame seeds. *Food Chemistry*. 344 : 1-8.
- Chumpolsri, W., Wijit, N., Boontakham, P., Nimmanpipug, P., Sookwong, P., Luangkamin, S., and Mahatheeranont, S. 2015. Variation of Terpenoid

Flavor Odorants in Bran of Some Black and White Rice Varieties Analyzed by GC×GC-MS. *Journal of Food and Nutrition Research*. 3 : 114-120.

- Cooper, P. D., Rajapaksha, K.H., Barclay, T.G., Ginic-Markovic, M., Gerson, A. R., and Petrovsky, N. 2015. Inulin crystal initiation via a glucose-fructose cross-link of adjacent polymer chains: atomic force microscopy and static molecular modelling. *Carbohydrate Polymers*. 117 : 964–972.
- Das, A., Chaudhuri, U.R., and Chakraborty, R. 2012. Cereal based functional food of Indian subcontinent: a review. *Journal of Food Science Technology*. 49 (6) :665–672.
- Dewi, M.F., Nurhidajah, dan S. Aminah. 2019. Kadar antosianin, total fenol dan sifat sensoris tepung tape beras hitam berdasarkan variasi metode pengolahan dan konsentrasi ragi. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 9 (2) :94-109.
- Dini, R.R., Besar, O.A., dan Andriani, R. 2014. Pengolahan Brownis Kukus Ketan Hitam di Hotel Savoy Hooman Bidakara Bandung. *Jurnal Pariwisata*. 1(1) : 16-28.
- El Enshasy, H., Then, C., Othman, N.Z., Homosany, H.A., Sabry, M., Sarmidi, M.R., and Aziz, R., 2011. Enhanced xanthan production process in shake flasks and pilot scale bioreactors using industrial semi-defined medium. *Afr. J. Biotechnol.* 10, 1029–1038
- Eveline dan J. Zhendy. 2020. Pemanfaatan Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris L.*) dan Jamur Tiram (*Pleurotus Ostreanus*) dalam Pembuatan Dendeng Analog . *Jurnal Sains dan Teknologi*. 4(1) : 74-91.
- Febrianto, N.A., Sa'diyah, K. dan Tejasari, T. 2016. Red kidney bean powder substituted milk in cinnamon herbal coffee: Consumer perception, sensory properties and nutrition content. *Pelita Perkebunan*. 32 : 109–119.
- Fukumoto, L.R., and G. Mazza. 2000. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal Agricultural Food Chemistry*.48 (8):3597.
- Gil-Ramirez, A., C. Clavijo, M. Palanisamy, C. Soler-Rivas. 2011. Edible mushrooms as potential sources of new hypocholesterolemic compounds. Mushroom biology and mushroom products. In: Proceedings of the 7th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom. 2: 110-192
- Giusti, M.M., and R.E., Wrolstad. 1996. Characterization of red radish anthocyanins. *Journal of Food Science*. 61 : 322-326.

- Gordon, M.H. 1990. *Measuring Antioksidan Activity*. CRCPress. New York.
- Goufo, P., and H. Trindade . 2014. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proantho-cyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. *Food Science Nutrional*. 2 : 75-104.
- Guignon, B., Rey, I., and Sanz, P.D. 2014. Effect of temperature on the density of whole milk under high pressure. *Food Research International*. 64 :336–347.
- Gunde-Cimerman N, Cimerman A. 1995. Pleurotus fruiting bodies contain the inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase-lovastatin. *Experimental Mycology*. 19(1) :1-6.
- Hadi K., Andoyo, S., Rialita, S., Tita. 2020. Isolation and Characterization of Red Bean and Green Bean Protein using the Extraction Method and Isoelectric pH. *Science Medicine Journal*. 2. 77-85.
- Hanis, M. Y., Hasnah, H., dan Dang, T. N. 2017. Total phenolic content and antioxidant capacity of beans: organic vs inorganic. *International Food Research Journal*. 24 (2): 510-517.
- Hosseinian, F. S., W. Li, and T. Beta. 2008. Measurement of anthocyanin and other phytochemical in purple wheat. *Food Chemistry*. 109 : 916-924.
- Hou, Y., and Wu, G. 2018. Nutritionally Essential Amino Acids. *Advance in Nutrition*. 9(6): 849-851.
- Huang, D., Boxin O., and Prior, R.L. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (6) :1841-1856
- Huyen, T.T.T, Mui, N.V., and Bang, C.P. 2015. Amino Acid Composition and Nutritional Value of Seed Proteins in Some Sesame (*Sesamum Indicum* L.) Cultivars Grown in Vietnam. *Journal of Agricultural Technology*. 11(8): 2425-2440.
- Ibeabuchi, J. C., D. Okafor, A. Peter – Ikechukwu, I.M., Agunwa, C.N. Eluchie, C.E. Ofoedu and N. Nwatu. 2017. Comparative Study On The Proximate Composition, Functional And Sensory Properties Of Three Varieties Of Beans *Phaseolus Lunatus*, *Phaseolus Vulgaris* And *Vignaum-Bellata*. *International Journal Of Advancement In Engineering Technology, Management and Applied Science*. 5 (1) :1-23.
- Janssen, M., Busch, C., Rödiger, M., and Hamm, U. 2016. Motives of consumers following a vegan diet and their attitudes towards animal agriculture. *Appetite*. 105: 643–651.

- Jayakumar T, Thomas PA, Geraldine P. 2007. Protective effect of an extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*, on antioxidants of major organs of aged rats. *Experimental Gerontology*. 42(3):183–91.
- Jayamanohar, J., P. B. Devi, D. Kavitate, V. B. Priyadarisini, and P. H. Shetty. 2019. Prebiotic potential of water extractable polysaccharide from red kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*). *LWT-Food Science and Technology*. 101:703–10.
- Jeske, S., Zannini, E., and Arendt, E.K. 2018. Past, present and future: The strength of plant-based dairy substitutes based on gluten-free raw materials. *Food Research International*. 110 : 42–51.
- Jiang, Y., M. Uzma, J. Tang, Z. Wen, S. Hou, W. Huang, and M. Xie. 2016. Effects of dietary protein on threonine requirements of Pekin ducks from hatch to 21 days of age. *Animal Feed Science and Technology*. 217:95–99
- Juhász, R., and Salgó, A. 2008. Pasting Behavior of Amylose, Amylopectin and Their Mixtures as Determined by RVA Curves and First Derivatives. *Starch – Stärke*. 60(2): 70–78.
- Karimi, R., M. H. Azizi, M. Ghasemlou, M. Vaziri. 2015. Application of inulin in cheese as prebiotic: fat replacer and texturizer: a review. *Carbohydrate Polymers*. 119:85–100.
- Kanu, P.J. 2011. Biochemical Analysis of Black and White Sesame Seeds from China. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 1: 145-157.
- Khatun, S., dan Kim, T. 2021. Phenolic Compound, Antioxidant Activity and Nutritional Components of Five Legume Seed. *American Journal of Biomedical Science and Research*. 12(4).
- Kiay, N., Mulyati, A.T., Tahir, M., Bilang, M. and Novizar N. 2019. Antioxidant, Nutrition, and Crystallinity Properties from Three Kind of Glutinous Rice of Enrekang Regency South Sulawesi Indonesia. *International Journal on Advanced Science Engineering and Information Technology*. 9(4) : 1387-1394.
- Kim G.R., Jung, E.S., Lee, S., Lim, S.H., Ha, S.H., and Lee, C.H. 2014. Combined mass spectrometry-based metabolite profiling of different pigmented rice (*Oryza sativa L.*) seeds and correlation with antioxidant activities. *Molecules*. 19(10):15673-15686
- Kim, J.H., Seo, W.D., Leed, S.K., Lee, Y.B., Park, C.H., Ryu, H.W., and Lee, J.H. 2014. Comparative assessment of compositional components, antioxidant effects, and lignan extractions from Korean white and black

sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds for different crop years. *Journal of functional food*. 7 : 495-505.

Kumalaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami*. Cetakan Pertama. Trubus. Surabaya.

Kumalaningsih S., Maimuna HP., dan Raisyah. 2016. Substitusi sari kacang merah dengan susu sapi dalam pembentukan yogurt. *Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*. 5 (2): 54-60.

Kumar, N. and R.D. Murali. 2020. Black Rice: A Novel Ingredient in Food Processing. *Journal of Nutrition and Food Sciences*. 10(2):771 -777.

Kosasih, E. N., Tony, S. dan Hendro, H. 2004. *Peran Antioksidan Pada Lanjut Usia*. Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia. Jakarta. 5657 hlm.

Kuncahyo, I. dan Sunardi. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, L.) terhadap 1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH). *Seminar Nasional Teknologi* : 1-7.

Lam, Y.S. and E.J. Okello. 2015. Determination of lovastatin, β -glucan, total polyphenols, and antioxidant activity in raw and processed oyster culinary-medicinal mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Higher Basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*. 17(2):117–128.

Lopez, C., Cauty, C., and Guyomarc'h, F. 2015. Organization of lipids in milks, infant milk formulas and various dairy products: Role of technological processes and potential impacts. *Dairy Science and Technology*. 95:863–893.

Maulani, R.R., Sumardi, D., Pancoro, A. 2019. Total flavonoids and anthocyanins content of pigmented rice. *Drug Invention Today*. 12(2) :369-373.

McClements, D.J., E. Newman, and I. F. McClements . 2019. Plant-based Milks: A Review of the Science Underpinning Their Design, Fabrication, and Performance . *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 18 : 2047-2067.

McClements, D. J. 2015. *Food emulsions: Principles, practice, and techniques* (2nd ed.). Boca Raton, FL: CRC Press

McCarthy, K. S., Lopetcharat, K., and Drake, M. A. 2017. Milk fat threshold determination and the effect of milk fat content on consumer preference for fluid milk. *Journal of Dairy Science*. 100(3):1702–1711.

Mensink M.A., Frijlink, H.W., van der Voort Maarschalk K., and Hinrichs, W.L. 2015. Inulin, a flexible oligosaccharide. II: *Review of its pharmaceutical applications*. Co.134:418-28.

- Mishra, P. K., Tripathi, J., Gupta, S., dan Variyar, P. S. 2017. Effect of cooking on aroma profile of red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*) and correlation with sensory quality. *Food Chemistry*. 215:401–409.
- Mkanda, A.V., Minnaar, A. and de Kock, H.L. 2007. Relating consumer preferences to sensory and physicochemical Properties of Dry Beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87: 2868-2879.
- Mojica, L. K., Chen, E.G., and de Mejía. 2015. Impact of commercial precooking of common bean (*Phaseolus vulgaris*) on the generation of peptides, after pepsin-pancreatin hydrolysis, capable to inhibit dipeptidyl peptidase-IV. *Journal Food Science*. 80 (1) :188–198.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn Journal Science Technology*. 26(2): 211-219.
- Moon, J.K. and Shibamoto, T. 2009. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57:1655- 1666.
- Mundi, S., and Aluko, R.E. 2012. Physicochemical and functional properties of kidney bean albumin and globulin protein fractions. *Food Research International*. 48:299-306.
- Munin A., and Edwards-Lévy, F. 2011 Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds: a Review. *Pharmaceutics*.3:793–829.
- Nashrurrokhman, M., P.R. Sayekti, A. Safitri, Y.A. Purwestri, R. Pratiwi. 2019. Macronutrient and mineral contents of five local black rice (*Oryza sativa*) cultivars in Indonesia. *Biodiversitas*. 20 (12): 3647-3653.
- Ojijo, N. K. O., T. Kimura, and H. Koazei. 2000. Composition, soaking and softening characteristics of some Kenyan beans (*Phaseolus vulgaris L.*). *Food Science and Technology Research*. 6 (I):12–18.
- Nenadis, N., Wang, L.-F., Tsimidou, M., and Zhang, H.-Y. 2004. Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS•+ Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(15): 4669–4674.
- Ozcelik, B., Lee, J. H., and Min, D. B. 2003. Effect of light, oxygen, and pH on the absorbance of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal Food Science*. 68 : 487-490.
- Ozgen, M., Reese, R.N., Tulio, A.Z., Scheerens, J.C., and Miller, R. 2006. Modified ABTS method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and

- DPPH methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (4) :1151-1157.
- Parmar., Lopez-Villalobos, P., Tobin, N., Murphy, J., Mcdonagh, E., Crowley, A., Kelly, S., Shalloo, A., and Laurence. 2020. The effect of compositional changes due to seasonal variation on milk density and the determination of season-based density conversion factors for use in the dairy industry. *Foods*. 9 (1004) :1-12.
- Pasaribu, G. dan T. Setyawati. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Kulit Kayu Raru (*Cotylelobium Sp.*). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 29 :322-330.
- Loypimai, P. and Moongngarm, A. 2019. Natural colorant from black rice bran improves functional properties and consumer acceptability of yogurt. *Pakistan Journal of Nutrition*. 18: 587-594.
- Phetpornpaisan, P., P. Tippayawat, M. Jay, and K. Sutthanut 2014. A local Thai cultivar glutinous black rice bran: A source of functional compounds in immunomodulation, cell viability and collagen synthesis, and matrix metalloproteinase-2 and -9 inhibition. *Journal Functional Foods*: 650-661
- Pierson, M.D., N.R. Reddy. 1982. Inhibition of *Clostridium botulinum* by antioxidants, phenols, and related compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* 43 (4) :835–839.
- Pillai, S.R., N. Venkatachalapathy, K. S. Kumar, and A. Pare. 2021. Effect of roasting and cooking on physicochemical properties of black rice soluble extract. *International Journal of Chemical Studies*. 9(1): 2848-2852.
- Prior R.L., Wu, X. and Schaich, K. 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 :4290 – 4302.
- Rini, R. Yenrina , T. Anggraini, N.E. Chania. The Effects of Various Way of Processing Black Glutinous Rice (*Oryza sativa L. Processing Var Glutinosa*) on Digestibility and Energy Value of the Products. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 327: 1-10.
- Roberfroid, M.B. Inulin-type fructans: functional food ingredients. *Journal Nutrition*. 137 (11) : 2493-2502.
- Ribeiro, S.M.R., Queiroz, J.H., Ribeiro de Queiroz, M.E.L., Campos, F.M., and Sant'ana, H.M.P. 2007. Antioxidant in mango (*Mangifera indica L.*) pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*. 62(1): 13-17.

- Roy, M., Haque, S.M.N., Das, R., Sarker, M., Al Faik, M.A. and Sarkar, S. 2020. Evaluation of Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Wheat-Red Kidney Bean Biscuits. *World Journal of Eng.* 8 (4) : 688-699.
- Sarker, A. S. Chakraborty , M. Roy. 2020. Dark red kidney bean (*Phaseolus vulgaris L.*) protein hydrolysates inhibit the growth of oxidizing substances in plain yogurt. *Journal of Agriculture and Food Research.* 2 :1-6.
- Sathe, S., and S. Deshpande. 2003. *Beans, Encyclopedia of Food Science Technology.* Academic Press. London :403–412.
- Schiano, A. N., Harwood, W. S., and Drake, M. A. 2017. A 100-Year Review: Sensory analysis of milk. *Journal of Dairy Science.* 100(12), 9966–9986.
- Schneider I, Kressel G, Meyer A, Krings U, Berger RG, Hahn A. 2011. Lipid lowering effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in humans. *J Funct Foods.* 3(1):17–24.
- Sebastiani, G., Herranz Barbero, A., Borrás-Novell, C., Alsina Casanova, M., Aldecoa Bilbao, V., Andreu-Fernández, V., O., García-Algar. 2019. The effects of vegetarian and vegan diet during pregnancy on the health of mothers and offspring. *Nutrients.* 11(3).
- Sethi, S., S. K. Tyagi, R. K. Anurag. 2016. Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. *Journal Food Science Technology.* 53(9):3408-3423.
- Sharif, M. K., Butt, M. S., Sharif, H. R., and Nasir, M. 2017. *Sensory Evaluation and Consumer Acceptability.* In book: Handbook of Food Science and Technology - Chapter 14: Sensory Evaluation and Consumer Acceptability. UAF Press. Faisalabad. Pakistan.
- Shao Y., Hu Z., Yu Y., Mou R., Zhu Z., and Beta T. 2018. Phenolic acids, anthocyanins, proanthocyanidins, antioxidant activity, minerals and their correlations in non-pigmented, red, and black rice. *Food Chemicals.* 239 : 733-741.
- Shi, Long-Kai, R.J. Liu, Q.H. Jin, and X.G. Wang. 2017. The Contents of Lignans in Sesame Seeds and Commercial Sesame Oils of China . *Journal of American oil Chemist's Society.* 94 (8) : 1035-1044
- Shimamura T, Sumikura Y, Yamazaki T, Tada A, Kashiwagi T, Ishikawa H, Matsui T, Sugimoto N, Akiyama H, and Ukeda H. 2014. Applicability of the DPPH assay for evaluating the antioxidant capacity of food additives - inter-laboratory evaluation study. *Analytical Science.* 30(7):717-21.
- Shoiba, M., A. Shehzada, M. Omar, A. Rakhaa, H. Razaa, H. R. Sharif, A.

- Shakeel , A. Ansari, S. Niazi. 2016. Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*. 147 : 444–454
- Simons, C. W. 2013. Characterization of edible bean flours: Properties and functionality. *Doctoral dissertation*. North Dakota State University. NDSU Repository.
- Singh, B., J. P. Singh, K. Shevkani, N. Singh, and A. Kaur. 2017. Bioactive constituents in pulses and their health benefits. *Journal of Food Science and Technology*. 54 (4):858–70.
- Suhartatik, N. A. Mustofa, dan P Mursito. 2019. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Black Glutinous Rice Anthocyanin during Fermentation by *Pediococcus pentosaceus* N11.16. *Agritech*. 39 (1) :30-35
- Suhartatik, N., M. Karyantina , A. Mustofa, M. N. Cahyanto, S. Raharjo E.S. Rahayu. 2013. Stabilitas Ekstrak Antosianin Beras Ketan (*Oryza sativa* var. *glutinosa*) Hitam Selama Proses Pemanasan dan Penyimpanan. *Agritech*. 33(4) :384-390.
- Sumarmi. 2006. Botani dan tinjauan gizi jamur tiram putih. *Jurnal Inovasi Pertanian*. 4(2):124-130.
- Susilowati, E., Karimah, A.Z., Pradipta, S., Sanjaya, B.R.L., Ubaidillah, M., dan Siswoyo, T. A. 2021. In-vitro Antioxidant Capacities and Genetic Classification of Indonesian Selected Pigmented Rice. *American Journal of Agricultural Research*. 6 :107.
- Sutharut, J. dan Sudarat, J. 2012. Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice. *International Food Research Journal* . 10(1): 215-221.
- Tananuwong, K., and Tewaruth, W. 2010. Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*. 43(3): 476–481.
- Tananuwong, K and S. Lertsiri. 2010. Changes in volatile aroma compounds of organic fragrant rice during storage under different conditions. *Journal of Science Food and Agriculture*. 90 : 1590–1596.
- Tawfek, M. A. 2018. Effect of Adding Black Rice Flour on Properties of Processed Cheese Spread. *Egyptian Journal of Food Science*. 46: 1- 11.
- Tiefenbacher, K. F. 2017). Technology of Main Ingredients—Water and Flours. In *Wafer and Waffle* (pp. 15–121). Elsevier.
- Trinovani, Elvi, Afifah, R. Rafa, Fauziyah, R. Nur. 2020. determination of

antosianin total levels and antioxidant activities in black glutinous rice extract and fermented black glutinous rice extract. *International Medical Journal*. 25 (5).

- United States Department of Agriculture. 2012. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25. Nutrient Data Laboratory Home Page. www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl. Diakses pada 17 April 2021.
- United States Department of Agriculture . 2019. Food Data Central: Black Sesame Seed <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/703474/nutrients>. Diakses pada 17 April 2021.
- Van Steenis, C.G.G.J. 2003. *Flora*. P.T. Pradya Paramita. Jakarta.
- Vanga, S. K., and Raghavan, V. 2018. How well do plant based alternatives fare nutritionally compared to cow's milk?. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*. 55: 10–20.
- Veni, B.K. 2019. Nutrition profiles of different colored rice: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2 :303-305.
- Visavadiya, N.P. and Narasimhacharya, A.V.R.L. 2008. *Food and Chemical Toxicology*. 46 (6) :1889-1895.
- Walter M., and Marchesan E. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of rice. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 54 : 371–377.
- Wilson, B., and Whelan, K. 2017. Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32: 64–68.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Winarti, S. 2010. *Makanan Fungsional*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Witayapan, N., Sombat, C., and Siriporn, O. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of Hyptis suaveolens essential oil. *Scientia Pharmaceutica*. 75 :35–46.
- Yang, Xi., Anqi, L., Xiu-Xiu, L., Lijun, S. and Yurong, G. 2020. An overview of classifications, properties of food polysaccharides and their links to applications in improving food textures. *Trends in Food Science and Technology*. 102 : 1-15.

- Yilmaz-Ersan, L., Ozcan, T., Akpınar-Bayazit, A., and Sahin, S. 2018. *Comparison of antioxidant capacity of cow and ewe milk kefir*. *Journal of Dairy Science*. 101(5). 3788–3798.
- Yamuangmorn, S., and Prom-u-Thai, C. 2021. The Potential of High-Anthocyanin Purple Rice as a Functional Ingredient in Human Health. *Antioxidants*. 10 (833) : 2-21.
- Zhu, F., Du, B., and Xu, B. 2016. A critical review on production and industrial applications of betaglucans. *Food Hydrocolloids*. 52 : 275-288.
- Zujko, M. E., and Witkowska, A. M. 2014. Antioxidant potential and polyphenol content of beverages, chocolates, nuts, and seeds. *International Journal of Food Properties*. 17: 86–92.