

## Optimasi formula yogurt bawang hitam menggunakan *response surface methodology* (RSM)

### *Optimization of black garlic yogurt using response surface methodology (RSM)*

Gunawan Priadi\*<sup>1</sup>, Fitri Setiyoningrum<sup>1</sup>, Fifi Afiati<sup>1</sup>, Nela Rifda Nur Millatina<sup>2</sup>, Budi Nurtama<sup>2</sup> dan Des Saputro Wibowo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pusat Riset Mikrobiologi Terapan-Badan Riset dan Inovasi Nasional

KST Soekarno, Jalan Raya Bogor KM 46, Cibinong Bogor, Indonesia

<sup>2</sup> Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian-IPB

Kampus IPB Darmaga, Bogor, Indonesia

\* [gunawan.priadi@gmail.com](mailto:gunawan.priadi@gmail.com)



#### INFO ARTIKEL

##### Sejarah artikel:

Diterima :  
11 Oktober 2022  
Direvisi :  
26 Juni 2023  
Diterbitkan :  
30 Juni 2023

##### Kata kunci:

bawang hitam;  
formulasi;  
gelatin;  
skim;  
yogurt

##### Keywords:

Black garlic;  
formulation;  
gelatin;  
skim;  
yogurt

#### ABSTRAK

Proses suplementasi akan menambah nilai manfaat pada produk akhir. Komposisi bahan yang tepat memberikan nilai kelebihan pada proses produksi, ekonomi, dan nilai penerimaan konsumen. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengoptimasi formula yogurt yang ditambahkan dengan bawang hitam. Variabel bebas yang diamati adalah konsentrasi gelatin, skim dan ekstrak bawang hitam. Bawang hitam yang digunakan adalah bawang hitam non fermentasi dan bawang hitam terfermentasi. Optimasi formulasi yogurt dilakukan menggunakan *Response Surface Methodology (RSM)* dengan desain *Combine D-optimal*. Respon yang dipilih adalah total bakteri asam laktat, kandungan protein, lemak, total padatan, total asam tertitrasi, kapasitas antioksidan, sineresis, dan total polifenol. Hasil penelitian menunjukkan kondisi optimum formulasi yogurt bawang hitam non fermentasi adalah gelatin 0,25%, skim 3,19%, dan ekstrak bawang hitam non fermentasi 3,31%. Pada yogurt bawang hitam terfermentasi diperoleh formula optimum gelatin 0,49%, skim 2,50%, dan ekstrak bawang hitam terfermentasi 3,76%. Yogurt suplementasi bawang hitam memiliki kandungan bakteri asam laktat  $1,42-6,87 \times 10^8$ , total asam tertitrasi 1,26-1,88%, dan protein 4,13-5,30%. Proses suplementasi bawang hitam menghasilkan yogurt sesuai dengan standar dan nilai fungsionalnya meningkat.

#### ABSTRACT

The Supplementation will increase the benefit of product. The optimum material composition provides advantages in the production process, economy, and consumer-acceptable value. This study aimed to optimize black garlic-supplemented yogurt formula. The independent variables were gelatin, skim and black garlic extract concentration. The black garlic used were unfermented and fermented. Yogurt optimization was performed using *Response Surface Methodology (RSM)* and *Combine D-optimal* design. The responses selected were total lactic acid bacteria, protein content, fat, total solid, titrated acids, antioxidant capacity, and total polyphenols. The results showed that the optimum condition of the yogurt unfermented black garlic formula was 0.25% gelatin, 3.19% skim, and 3.31% unfermented BG extract. In the yogurt fermented black garlic formula, the optimum was 0.49% gelatin, 2.50% skim, and 4.76% fermented BG extract. The characteristics of yogurt contained  $1.42-6.87 \times 10^8$  lactic acid bacteria, 1.26-1.88% titrated acid, and 4.13-5.30% protein. Black garlic supplementation produced yogurt that meets standards and increases its functional value.

## 1. Pendahuluan

Yogurt adalah produk susu fermentasi yang menggunakan bakteri asam laktat (BAL) sebagai mikrobia starter. Bakteri tersebut menghasilkan yogurt dengan aroma asam, segar, dan kental. BAL yang umum digunakan adalah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Yogurt memiliki manfaat dapat membantu pencernaan, mencegah diare, mencegah peningkatan kadar kolesterol darah, dan dapat membantu melawan kanker. Suplementasi atau fortifikasi pada yogurt bertujuan untuk meningkatkan nilai gizi, fungsional, dan tingkat penerimaan oleh konsumen (nilai kesukaan konsumen). Bahan makanan yang telah ditambahkan ke yogurt diantaranya buah naga (Zainoldin dan Baba, 2009), paprika merah yang difermentasi (Yu et al., 2014), ekstrak kulit buah delima (El-Said et al., 2014); pisang, semangka, dan pepaya (Roy et al., 2015), kacang tanah kering (Ozturkogludak et al., 2016), tepung kacang merah (Setiyoningrum et al., 2017), dedak padi (Demirci et al., 2017), ekstrak anggur (Silva et al., 2017), tepung pisang hijau organik (Batista et al., 2017), tepung ubi jalar ungu (Afiati et al., 2018), dan inulin (Eissa et al., 2018).

Produk pengembangan bawang putih yang cukup populer saat ini adalah bawang hitam. Inkubasi bawang putih pada suhu dan kelembaban tinggi yang terkontrol banyak digunakan untuk menghasilkan bawang hitam (Bae et al., 2014; Choi et al., 2014; Kimura et al., 2017; Ngan et al., 2017). Pemanasan menyebabkan reaksi pencoklatan non enzimatis, seperti reaksi Maillard, karamelisasi, dan oksidasi kimia fenol (Bae et al., 2014). Peristiwa tersebut mampu meningkatkan nilai antioksidan bawang hitam. *S-allyl-cysteine* (SAC) adalah produk oksidasi fenol yang menentukan kualitas bawang hitam. SAC memiliki manfaat sebagai antioksidan, antikanker, antihepatopati, dan aktivitas neurotropik. Pada produksi bawang hitam juga terjadi peningkatan kadar glukosa, fruktosa, dan sukrosa (Zhang et al., 2016). Konsumsi bawang hitam telah lama digunakan di Korea Selatan, Jepang, dan Thailand sebagai penyedap masakan dan suplemen kesehatan. Penambahan bakteri asam laktat dan yeast pada ekstrak bawang hitam telah banyak dilakukan dalam usaha meningkatkan nilai fungsional bawang hitam. Yogurt merupakan sumber peptida bioaktif, namun kandungan antioksidannya terbatas. Suplementasi bawang hitam pada yogurt diharapkan mampu meningkatkan aktivitas antioksidan. Namun untuk memperoleh proses suplementasi yang optimum harus dilakukan langkah optimasi terhadap bahan-bahan yang akan ditambahkan pada proses pembuatan yogurt.

*Response surface methodology* (RSM) adalah metode yang digunakan untuk memahami hubungan kuantitatif antara variabel input dan respons output. Metode ini terdiri dari kumpulan prosedur dan statistik matematika, yang meliputi desain eksperimental, pemilihan dan penyesuaian model, dan optimasi model yang disesuaikan. Kelebihan metode RSM dapat digunakan untuk analisis dan pemodelan suatu masalah dengan satu atau lebih perlakuan dalam penelitian, tidak memerlukan data eksperimen dalam jumlah yang banyak, dan tidak memerlukan waktu yang lama. Tahap

penelitian dengan RSM terdiri dari 5 tahap, yaitu membuat formulasi dan desain respon, formulasi, analisis respon, optimasi, dan verifikasi. RSM telah banyak digunakan dalam mengoptimalkan formulasi dan proses produksi. Proses optimasi dapat membantu proses produksi menjadi lebih efisien dan murah. Desain RSM meliputi desain *Box-Behnken*, *central composite design* (CCD), *central composite rotatable design* (CCRD), *combine D-optimal*, dan lain-lain. Penelitian terdahulu pada optimasi pengolahan susu menggunakan RSM diantaranya optimasi penambahan serat jeruk terhadap kualitas yogurt buah jeruk (Azimi et al., 2013), parameter *spray drying* untuk campuran yogurt-es krim (Layusa et al., 2013), penambahan buah *seabuckthorn* dalam formulasi yogurt (Selvamuthukumar and Khan um, 2013), formulasi pemanis pada yogurt bebas gula (Yang et al., 2014), kondisi kultur yogurt fungsional (L. Chen et al., 2018), kondisi fermentasi yogurt kambing (H. Chen et al., 2018), dan formulasi yogurt berbahan dasar *tiger nuts* (Ndiaye et al., 2019).

Pada penelitian ini, bahan yang akan ditambahkan pada pembuatan yogurt adalah gelatin, skim, dan ekstrak bawang hitam. Penambahan gelatin dapat mencegah terjadinya sineresis (Pang et al., 2017). Skim dapat meningkatkan total padatan terlarut, keasaman, dan kandungan protein yogurt. Sedangkan ekstrak bawang hitam dapat menurunkan konsistensi yogurt. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui proporsi optimum konsentrasi gelatin, skim dan ekstrak bawang hitam pada formula yogurt. Perbandingan yang tepat dari bahan-bahan yang ditambahkan sangat penting dalam menentukan karakteristik yogurt. Respon terbaik ditentukan untuk bawang hitam yang difermentasi dan tidak difermentasi.

## 2. Metode

Penelitian dilakukan di Pusat Riset Mikrobiologi Terapan Badan Riset dan Inovasi Nasional, Cibinong, Bogor, Jawa Barat. Bahan yang digunakan adalah susu segar dari Koperasi Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, bawang putih dari Pasar Anyar Bogor, kultur komersial *Yogourmet* (mengandung kultur bakteri aktif: *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium logum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*), skim Sunlac, gelatin sapi, PDB (*Potato Dextrose Broth, Himedia*), MRSB (*de Mann Rogosa Sugar Broth, Merck*), Agar (*Himedia*), natrium hidroksida (*Merck*), *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (*Merck*), asam askorbat (*Merck*), natrium klorida (*Merck*), *phenolphthalein* (*Merck*), *Folin ciocalteu* (*Merck*), natrium karbonat (*Merck*), etanol 95% (*Merck*), dan bahan kimia kualitas analisis lainnya. Peralatan yang digunakan adalah *disposable petridish*, Thermo oven Scientific VT 6060 M (Massachusetts, USA), Waterbath Memmert WNB 14 (Schwabach Germany), Eutech Instruments pH 700 (Leicestershire, UK), Ultra Turax T25 Digital (Staufen Germany), Milkoscan FT 120 (Hillerød, Denmark), magnetic Raypa AG-5 stirrer (Barcelona Spain), Laminar air flow Telstar BH-100 (Spain), *Colony counter* digital S (Barcelona, Spain), dan peralatan gelas lainnya.

**2.1. Pembuatan bawang hitam**

Bawang putih dibersihkan dari kotoran tanah dan lapisan yang busuk, kemudian dibungkus dengan kertas aluminium setiap 500 g. Tahapan proses dilanjutkan dengan memasukkan bawang putih kedalam *thermal oven* dengan suhu 70°C dan kelembaban 70-80%. Bawang putih diinkubasi selama 21 hari.

**2.2. Ekstraksi bawang hitam (non fermentasi dan terfermentasi)**

Bawang hitam dikupas dan dihaluskan menggunakan blender dengan tambahan air (1:5). Campuran dipanaskan (refluks) pada suhu 80°C selama 2 jam, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 9000 rpm selama 30 menit dan disaring untuk mendapatkan filtrat bawang hitam (supernatan). Filtrat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sampai volume supernatan sama dengan berat awal bawang hitam. Ekstrak ini dinamakan sebagai ekstrak bawang hitam nonfermentasi. Pada produksi ekstrak bawang hitam terfermentasi, setelah disentrifugasi filtrat ditambahkan biakan starter dalam bentuk pelet 1% (b/v) dan diinkubasi dalam inkubator selama dua hari pada suhu 30°C. Kemudian campuran tersebut disentrifugasi, dan diperoleh filtrat bawang hitam terfermentasi. Filtrat bawang hitam diuapkan sampai volumenya sama dengan berat awal bawang hitam.

Biakan starter adalah campuran *Saccharomyces cerevisiae* (SC) dan *Lactobacillus plantarum* (LP) (perbandingan 1:1). Proses preparasi starter kultur dilakukan dengan menumbuhkan kedua mikroorganisme tersebut pada media tumbuh. SC ditumbuhkan pada PDB dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C, sedangkan LB ditumbuhkan pada MRSB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Kemudian disentrifugasi dan diambil peletnya. Pelet ini langsung digunakan, tidak ada penyimpanan biakan untuk stok.

**2.3. Pembuatan kultur induk yogurt**

Satu liter susu segar ditambahkan 50 g skim, kemudian disterilkan (110 °C, 10 menit). Setelah susu dingin, ditambahkan 5 g starter dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Kemudian kultur disimpan pada suhu dingin sebelum digunakan.

**2.4. Desain optimasi yogurt**

Optimasi proses pembuatan yogurt yang dilakukan dengan menggunakan *response surface methodology* (RSM) dengan aplikasi Design Expert 10 (DX10). Desain yang digunakan adalah *Combine D-optimal*. Optimasi dilakukan pada formula yogurt untuk bawang hitam nonfermentasi dan terfermentasi. Variabel bebas yang mempengaruhi karakteristik yogurt adalah gelatin (X1), skim (X2), dan konsentrasi ekstrak bawang hitam (X3). Langkah pertama dalam menentukan desain proses optimasi adalah menentukan batas atas dan batas bawah untuk variabel bebas. Penentuan batas dilakukan melalui studi literatur dan diujicobakan pada produk yoghurt. Respon yang dipertimbangkan adalah

kandungan protein dan total bakteri asam laktat harus sesuai dengan standar (SNI 2981:2009 Yogurt), serta memiliki kapasitas antioksidan lebih dari 50%. Penambahan variabel bebas yang dilakukan adalah gelatin: 0,25-2,5%; skim 2,5-5%; dan ekstrak bawang hitam 1-6%. Dari hasil percobaan tersebut dipilih rentang konsentrasi gelatin 0,25-1,25%, rentang skim 2,5-4,5%, dan rentang bawang hitam 1-4%. Rentang yang diperoleh diproses oleh program DX10 untuk dilakukan pengacakan. Hasil pengacakan dapat dilihat pada Tabel 1.

Table 1. Desain penelitian optimasi formula yogurt yang ditambahkan ekstrak bawang hitam

No.	Variabel bebas			Metode pembuatan
	X <sub>1</sub> (%)	X <sub>2</sub> (%)	X <sub>3</sub> (%)	
1	1,25	4,26	1,24	NF
2	0,65	4,50	1,60	NF
3	1,25	3,61	1,89	NF
4	0,30	4,30	2,15	NF
5	0,78	3,36	2,61	NF
6	0,78	3,36	2,61	NF
7	0,78	3,36	2,61	NF
8	0,25	3,84	2,66	NF
9	1,19	2,50	3,06	NF
10	0,28	3,15	3,32	NF
11	0,32	2,50	3,93	NF
12	1,25	4,43	1,07	F
13	0,58	4,50	1,67	F
14	0,58	4,50	1,67	F
15	1,25	3,77	1,73	F
16	0,86	3,39	2,50	F
17	0,86	3,39	2,50	F
18	0,25	3,68	2,82	F
19	0,25	3,68	2,82	F
20	1,25	2,50	2,99	F
21	0,58	2,99	3,19	F
22	0,40	2,50	3,85	F

X<sub>1</sub>: gelatin; X<sub>2</sub>: skim; X<sub>3</sub>: ekstrak bawang hitam; NF: non fermentasi; F: terfermentasi

Karakteristik yogurt yang dianalisis meliputi viabilitas BAL (Y1), kapasitas antioksidan (Y2), total polifenol (Y3), lemak (Y4), protein (Y5), total padatan (Y6), total asam tertitrasi (Y7), dan sineresis (Y8). Respon (Y) merupakan fungsi dari variabel bebas (X), seperti yang ditunjukkan oleh persamaan 1.

$$Y = f(X_1, X_2, X_3, \dots, X_n) \tag{1}$$

Model polinomial kuadrat pada setiap respon ditunjukkan pada persamaan 2.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_{1i} X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \tag{2}$$

Dimana, 0, i, ii, dan ij adalah koefisien regresi, dan Xi dan Xj adalah tingkat kode variabel independen i dan j. Persamaan tersebut dapat berupa persamaan linier, kuadratik, dan interaktif dari variabel bebas.

Optimalisasi formula yogurt dilakukan pada yogurt dengan penambahan bawang hitam non fermentasi (YBHN) dan bawang hitam terfermentasi (YBHF).

### 2.5. Pembuatan yogurt yang ditambahkan ekstrak bawang hitam

Dua ribu gram campuran susu, gelatin, dan skim (sesuai Tabel 1) disterilkan pada 110°C selama 10 menit dan didinginkan. Ekstrak bawang hitam ditambahkan ke campuran yang sudah dingin (sesuai Tabel 1). Campuran diaduk hingga homogen. Lima persen kultur induk yogurt ditambahkan ke dalam campuran dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Yogurt disimpan pada suhu dingin untuk dianalisis sifat mikrobiologi, fisik, dan kimianya.

### 2.6. Viabilitas bakteri asam laktat

Satu mililiter sampel diencerkan dalam 9 mL larutan NaCl 0,85%. Pengenceran dilakukan hingga satu per seratus juta ( $10^{-8}$ ). Inokulasi dilakukan pada tiga pengenceran terakhir. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Parasthi et al., 2020). Jumlah koloni yang tumbuh dihitung dengan metode angka lempeng total.

### 2.7. Kapasitas antioksidan dengan metode 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)

Sampel diekstraksi terlebih dahulu dengan memanaskan sampel pada penangas air 45°C selama 10 menit dan disentrifugasi 9000 rpm, 30 menit pada suhu 10°C. Kemudian 0,2 ml supernatan dicampur dengan 0,8 ml larutan DPPH 0,2 mM (modifikasi Muanda et al., 2011). Campuran dibiarkan di tempat gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas penghambatan radikal bebas diukur sebagai penurunan absorbansi DPPH. Kapasitas antioksidan dihitung dengan persamaan:

$$\text{Kapasitas antioksidan (\%)} = \frac{AB - AS}{AB} \times 100\% \quad (4)$$

Keterangan AB: absorbansi blanko; AS: absorbansi sampel

### 2.8. Total polifenol

Pengukuran total polifenol dilakukan dengan cara mengekstrak sampel terlebih dahulu seperti pada analisis kapasitas antioksidan. Analisis total polifenol merujuk pada metode yang dikembangkan oleh Choi et al. (2014) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 50  $\mu$ L supernatan ditambahkan dengan 800  $\mu$ L aquades, 50  $\mu$ L *Folin-ciocalteu* (10%), dan 100  $\mu$ L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (7%). Campuran dihomogenkan dan diletakkan di tempat gelap selama 30 menit. Sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Perhitungan total polifenol berdasarkan persamaan hubungan absorbansi dengan kadar polifenol pada kurva standar asam galat.

### 2.9. Analisis lemak, protein, dan total padatan

Penentuan kandungan protein, lemak, dan total padatan dilakukan menggunakan Milkoscan FT 120. Sampel diencerkan 1,3 kali dengan larutan *Zerro*, kemudian dihomogenkan pada 3000 rpm selama 30 detik. Metode analisis yang dirujuk oleh Milkoscan FT 120 untuk kadar lemak menggunakan metode *Robert Van Gulich* sedangkan kadar protein menggunakan *Dumas Combustion*.

### 2.10. Total asam tertitrasi

Total asam tertitrasi (TAT) dalam yogurt dihitung sebagai jumlah asam laktat yang terbentuk. Lima mililiter sampel ditambahkan 45 ml aquades dan tiga tetes *phenolphthalein* 1%. Sampel dititrasi dengan NaOH 0,1 N terstandarisasi sampai warna berubah menjadi merah muda dan stabil selama 3 detik (Haryanti et al., 2018). TAT dihitung dengan persamaan:

$$\text{TAT (\%)} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \text{BM}}{V \text{ sampel} \times 1000} \times 100\% \quad (3)$$

Keterangan: V NaOH : volume NaOH; N NaOH: normalitas NaOH; MM : berat molekul asam laktat (90); V sampel : volume sampel.

### 2.11. Sineresis

Analisis sineresis dilakukan dengan metode sentrifugasi (Keogh and O'Kennedy, 1998). Sampel sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung dan ditimbang, kemudian disentrifugasi (1500 rpm, pada 10°C dan 20 menit). Cairan (supernatan) dipisahkan dari gel kemudian gel ditimbang. Persentase sineresis dihitung dengan persamaan:

$$\text{Sineresis (\%)} = \frac{\text{berat cairan}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \quad (5)$$

### 2.12. Optimasi formula yogurt yang ditambahkan ekstrak bawang hitam

Proses optimasi dimulai dengan memasukkan data respon ke program *Design Expert (DX) 10*. Langkah selanjutnya adalah memilih model matematika yang signifikan. Menurut Uche et al., (2022), model matematika yang tepat memenuhi kriteria: *lack of fit* harus tidak signifikan atau nilainya lebih tinggi dari 0,05; *Adjusted R<sup>2</sup>* dan *Predicted R<sup>2</sup>* lebih kecil dari 0,2; dan *Adequate precision* harus lebih besar dari 4. Jika telah memenuhi tahap ini, maka dilakukan analisis keragaman/varian untuk melihat perbedaan yang nyata pada masing-masing variabel respon pada tingkat kepercayaan 95%. Setelah itu dilakukan penentuan tujuan dan kriteria kepentingan. Seluruh respon ditetapkan tujuan dan kriteria pada 3/\*\*\*, kecuali respon kapasitas antioksidan yang ditetapkan pada nilai maksimal dan paling penting yaitu 5 (\*\*\*\*\*). Formula optimum dipilih dari solusi terbaik, yaitu kombinasi variabel terikat yang memiliki nilai *desirability* (D) tertinggi sesuai dengan respon yang diharapkan. Solusi tersebut juga menunjukkan nilai prediksi dari setiap respon. Tahap terakhir adalah verifikasi, yaitu pembuatan yogurt dengan formula optimum (hasil

optimasi), kemudian dibandingkan dengan nilai prediksi. Nilai respon verifikasi baik jika memenuhi *Confidence Index (CI)* 95%.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### 3.1. Karakteristik mikrobiologis dan fisikokimia yogurt yang disuplementasi bawang hitam

Nilai fungsional yogurt dapat ditingkatkan dengan menambahkan senyawa bioaktif. Aswal et al. (2012) melaporkan bahwa penambahan senyawa bioaktif dari *seasoning* efektif dalam meningkatkan nilai fungsional produk susu khususnya manfaat kesehatan, keamanan pangan, dan pengawetan. Senyawa aktif yang ditambahkan harus meningkatkan kualitas terapeutik tanpa merusak sifat sensorik dan reologi produk susu. Suplementasi senyawa fenolik merupakan alternatif yang sangat baik untuk mengoptimalkan manfaat yogurt sebagai sumber senyawa fenolik (Silva et al., 2017). Interaksi bahan yang ditambahkan dengan komponen dalam yogurt akan mengubah karakteristik mikrobiologi, fisik, dan kimia dari yogurt. Penambahan skim, gelatin, dan ekstrak bawang hitam menghasilkan yogurt dengan karakteristik seperti pada Tabel 2.

SNI 2981:2009 mempersyaratkan bahwa yogurt harus memiliki mikroorganisme starter lebih dari 7 log CFU/ml. Hasil penelitian menunjukkan semua perlakuan memenuhi persyaratan sebagai produk yogurt. Bakteri menggunakan laktosa dalam skim sebagai sumber energi dan karbon selama fermentasi. Hal ini dapat merangsang pertumbuhan BAL. Gelatin merupakan turunan protein kolagen yang dihasilkan melalui denaturasi parsial kolagen dari kulit, tulang, dan jaringan dari hewan seperti sapi dan babi (Yilmaz et al., 2013). Gelatin mengandung nitrogen melimpah yang dapat digunakan sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhan bakteri.

Senyawa nitrogen dalam bawang hitam juga dapat menjadi sumber nitrogen.

Model matematis *Mean* pada penambahan gelatin, skim, dan ekstrak bawang hitam (Tabel 3) menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh yang signifikan terhadap jumlah BAL dengan penambahan komponen tersebut. Ekstrak bawang hitam non fermentasi dan terfermentasi tidak memberikan perbedaan yang signifikan terhadap total BAL. Proses inkubasi bawang putih dapat meningkatkan kapasitas antimikroba bawang putih (Jang et al., 2018; Ngan et al., 2017). Hasil yang sama dilaporkan oleh Batista et al. (2017), Setiyoningrum et al. (2017) dan Afiati et al. (2018). Berbagai jenis bahan yang ditambahkan memiliki efek yang berbeda pada viabilitas BAL di yogurt. Eissa et al., (2018) menyampaikan penambahan inulin dapat meningkatkan jumlah bakteri pada yogurt selama penyimpanan. Derajat keasaman, asam-asam organik, suhu, keberadaan oksigen, mikroba lain, dan hidrogen peroksida mempengaruhi viabilitas BAL pada yogurt.

Yogurt tawar memiliki kapasitas antioksidan 19,16% (Zainoldin and Baba, 2009). Menurut Yu dan Scott (2002), asam laktat dalam yogurt mengandung *α-hydroxy acid* (AHA) yang berfungsi sebagai antioksidan. Peningkatan konsentrasi penambahan gelatin, skim dan ekstrak bawang hitam menyebabkan peningkatan kapasitas antioksidan yogurt secara signifikan ( $p < 0,05$ ). Konstanta ekstrak bawang hitam bernilai positif dan lebih besar dibandingkan bahan yang lain (Tabel 4). Hal ini menunjukkan penambahan ekstrak bawang hitam memberikan peningkatan kapasitas antioksidan paling signifikan dibandingkan gelatin dan skim. Bawang hitam merupakan sumber antioksidan karena kandungan polifenol, flavonoid, dan produk antara Maillard.

Tabel 2.

Karakteristik mikrobiologi, kimia dan fisik yogurt yang disuplementasi bawang hitam

No. perlakuan	BAL (log CFU/ml)	Kp.A (%)	TP (ppm)	Lemak (%)	Protein (%)	Total padatan (%)	TAT (%)	Sineresis (%)
1	8,70	86,04	112,63	4,86	4,94	16,93	1,65	0,07
2	8,16	88,26	110,63	2,84	4,78	15,06	1,73	2,47
3	8,15	88,48	109,88	4,26	4,68	16,25	1,78	1,41
4	8,74	91,56	112,63	2,28	4,83	14,33	1,73	5,14
5	8,39	94,12	120,04	3,74	4,56	15,58	1,74	4,99
6	8,84	93,74	113,63	2,62	4,65	14,54	1,88	8,30
7	8,67	93,87	112,21	4,47	4,44	16,38	1,85	4,70
8	8,49	93,80	117,46	2,93	4,65	14,60	1,73	4,38
9	8,48	94,58	124,13	5,38	4,18	16,61	1,70	2,48
10	8,50	94,44	119,96	1,71	4,55	13,45	1,73	9,63
11	8,56	94,44	114,79	2,68	4,13	13,96	1,75	7,18
12	8,73	80,17	107,54	2,43	5,30	15,58	1,58	2,55
13	8,74	81,17	108,63	3,20	5,14	15,54	1,56	1,66
14	8,76	82,04	107,63	3,11	4,62	15,45	1,42	4,66
15	8,54	82,26	105,54	2,63	4,92	14,59	1,57	0,58
16	8,49	84,37	114,71	3,19	4,87	15,37	1,63	3,52
17	8,65	78,22	107,96	3,06	4,70	15,00	1,59	3,20
18	8,25	78,52	103,96	3,37	4,65	15,22	1,42	3,33
19	8,38	84,22	111,13	4,00	4,53	15,83	1,50	3,98
20	8,22	90,79	114,29	3,80	4,48	15,26	1,31	2,94
21	8,23	91,76	112,46	2,65	4,49	14,30	1,26	3,99
22	8,38	84,01	115,96	3,45	4,26	14,86	1,29	5,19

BAL: bakteri asam laktat; Kp.A: kapasitas antioksidan; TP: total polifenol; TAT: total asam tertitrisasi

Tabel 3.

Hasil analisis keragaman produk yogurt yang disuplementasi bawang hitam

Respon	Model	<i>Prob&gt;f</i>	<i>Lack of fit</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>Adj R</i> <sup>2</sup>	<i>Pred. R</i> <sup>2</sup>	<i>A.deq. Presicior</i>
BAL	<i>Mean</i>						
Kp. A	<i>Modified</i>	<0,0001	0,3438	0,8506	0,8039	0,7016	13,658
Polifenol	<i>Modified</i>	0,0073	0,7127	0,5991	0,4738	0,2941	7,785
Lemak	<i>Mean</i>						
Protein	<i>Modified</i>	<0,0001	0,5476	0,9345	0,9140	0,8758	24,543
Total padatan	<i>Special cubic</i>	0,0157	0,4234	0,6069	0,4496	0,0543	6,736
TAT	<i>Modified</i>	<0,0001	0,5299	0,8198	0,7635	0,6609	10,122
Sineresis	<i>Modified</i>	0,0071	0,1464	0,6006	0,4759	0,2053	6,959

BAL: bakteri asam laktat; Kp.A: kapasitas antioksidan; TP: total polifenol; TAT: total asam tertitrasi

Tabel 4.

Model persamaan matematika karakteristik mikrobiologi dan fisikokimia formula yogurt bawang hitam

Karakteristik yogurt	Persamaan model matematika	
	YBHN	YBHF
BAL (log CFU/ml)	8,562	8,531
Kp.A (% inhibisi)	$0,852 X_1 + 0,833 X_2 + 1,062 X_3$	$0,973 X_1 + 0,682 X_2 + 1,001 X_3$
Polifenol (ppm)	$1,177 X_1 + 1,039 X_2 + 1,302 X_3$	$0,995 X_1 + 1,023 X_2 + 1,236 X_3$
Lemak (%)	3,302	3,302
Protein (%)	$0,071 X_1 + 0,048 X_2 + 0,036 X_3$	$0,073 X_1 + 0,052 X_2 + 0,033 X_3$
Total padatan	$- 0,416 X_1 + 0,031 X_2 - 0,112 X_3 + 0,017 X_1X_2 + 0,025 X_1X_3 + 0,008 X_2X_3 - 0,001 X_1X_2X_3$	
Total asam tertitrasi	$0,019 X_1 + 0,018 X_2 + 0,018 X_3$	$0,018 X_1 + 0,018 X_2 + 0,009 X_3$
Sineresis	$0,075 X_1 - 0,037 X_2 + 0,151 X_3$	$- 0,146 X_1 + 0,059 X_2 + 0,059 X_3$

YBHN: yogurt bawang hitam non fermentasi; YBHF: yogurt bawang hitam fermentasi; BAL: bakteri asam laktat; Kp.A: kapasitas antioksidan; X<sub>1</sub>: gelatin (%); X<sub>2</sub>: skim (%); X<sub>3</sub>: bawang hitam (%)

Keasaman dalam yogurt mendukung sifat antioksidan. Senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan yang lebih banyak pada konsentrasi asam (El-Said et al., 2014). Skim dan gelatin digunakan sebagai sumber nitrogen dan karbon, diubah menjadi asam laktat dan asam-asam lain yang memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas dan pendonor proton. Semakin banyak asam yang terbentuk, semakin tinggi sifat antioksidannya. Peningkatan antioksidan yogurt juga terjadi dengan adanya penambahan ekstrak kulit buah delima (El-Said et al., 2014) dan dedak padi (Demirci et al., 2017). Penambahan bahan sumber antioksidan atau prebiotik akan meningkatkan kapasitas antioksidan yogurt. Hal ini disebabkan oleh peningkatan jumlah antioksidan dan akumulasi asam organik yang terbentuk.

Polifenol berperan dalam meningkatkan kapasitas antioksidan produk. Peningkatan konsentrasi bahan yang ditambahkan membuat total polifenol yogurt meningkat (pada Tabel 4 nilai konstanta semua variabel bebas untuk total polifenol bernilai positif) dan peningkatannya signifikan ( $p < 0,05$ ). Peningkatan total polifenol sangat dipengaruhi oleh peningkatan penambahan ekstrak bawang hitam sebagai sumber polifenol. Proses pembuatan bawang hitam mampu meningkatkan kandungan polifenol 4,19 kali lipat dibandingkan bawang putih (Choi et al., 2014). Ekstrak bawang hitam non fermentasi yang digunakan memiliki kandungan polifenol 155,88 ppm, sedangkan ekstrak bawang hitam fermentasi memiliki kandungan polifenol 130,13 ppm. YBHN memiliki polifenol lebih besar dari YBHF.

Kandungan lemak merupakan salah satu parameter yang disyaratkan dalam SNI Yogurt. Berdasarkan

standar, beberapa yogurt yang dihasilkan masuk dalam kategori yogurt rendah lemak. Penambahan gelatin, skim, dan ekstrak bawang hitam tidak berpengaruh nyata terhadap kadar lemak yogurt ( $p > 0,05$ , model matematika *Mean* pada Tabel 3), karena kadar lemak pada bahan yang ditambahkan sangat rendah dibandingkan dengan susu. Pada rentang konsentrasi gelatin, skim, dan ekstrak bawang hitam yang ditambahkan tidak merubah kadar lemak akhir yogurt. Hasil berbeda dilaporkan oleh Setiyoningrum et al., (2017) dan Afiati et al., (2018), penambahan tepung kacang merah dan tepung ubi jalar ungu berpengaruh terhadap kadar lemak. Pada konsentrasi tinggi, penambahan tepung kacang merah meningkatkan lemak yogurt, namun pada konsentrasi rendah menghasilkan yogurt rendah lemak (Afiati et al., 2018).

Pada penelitian ini ditambahkan bahan-bahan sumber protein. Gelatin dari kulit sapi memiliki protein 90,7% (Zilhadia et al., 2018), skim memiliki kandungan protein sekitar 34,5% (Ryder et al., 2018), sedangkan ekstrak bawang hitam yang diinkubasi selama 21 hari memiliki kandungan asam amino total sekitar 1,18 % (Choi et al., 2014). Penambahan bahan-bahan tersebut secara signifikan ( $p < 0,05$ ) meningkatkan kandungan protein yogurt. Hasil analisis model persamaan matematika formula yogurt (Tabel 4) menunjukkan variabel gelatin memiliki konstanta terbesar dalam meningkatkan protein yogurt (+0,071 pada YBHN dan +0,073 pada YBHF). Protein yang diperhitungkan dalam yogurt adalah jumlah protein susu, protein dari bahan yang ditambahkan, dan protein sebagai penyusun mikroba. Dalam proses metabolisme sel dimungkinkan terjadi perubahan bahan non protein menjadi protein

yang menyebabkan kandungan protein pada bahan tersebut akan meningkat dengan bertambahnya jumlah BAL. Peningkatan kadar protein yogurt karena penambahan skim juga dilaporkan oleh Setiyoningrum et al. (2017) dan Afiati et al., (2018). Semua perlakuan penelitian menghasilkan yogurt yang memenuhi SNI.

Total padatan yogurt yang dihasilkan adalah 13,45-16,93%. Padatan yogurt terdiri dari komponen lemak, protein, karbohidrat, mineral, dan vitamin. Penambahan gelatin, skim dan ekstrak bawang hitam meningkatkan total padatan yogurt secara signifikan ( $p < 0,5$ ). Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Roy et al. (2015). Gelatin dan skim merupakan bahan dengan padatan tinggi, sehingga penambahan bahan tersebut akan meningkatkan total padatan pada produk akhir. Peningkatan total padatan juga akan meningkatkan viskositas. Tekstur yogurt yang lebih kental diperoleh dari penambahan padatan yang lebih banyak terutama protein.

Sineresis adalah atribut kualitas yang mempengaruhi preferensi konsumen secara visual. Hal ini menunjukkan adanya indikasi ketidakhomogenan pada yogurt. Pemisahan air atau adanya whey dalam yogurt akan menurunkan preferensi konsumen. Sineresis yogurt berada pada kisaran 0,07 - 9,63%. Sineresis tertinggi terdapat pada yogurt dengan penambahan ekstrak bawang non fermentasi. Faktor-faktor yang mempengaruhi sineresis adalah keasaman, pH, dan kapasitas menahan air. Penurunan pH sampai mencapai pH isoelektrik (pI) kasein menyebabkan misel kasein menyatu membentuk dadih. Penurunan pH yang melebihi pI kasein akan menyebabkan senyawa kasein menjadi tidak stabil dan menyebabkan air yang terperangkap dalam misel kasein akan terlepas dan terjadi sineresis. Penambahan gelatin, skim, dan ekstrak bawang hitam berpengaruh nyata terhadap sineresis. Hasil yang sama dilaporkan oleh Roy et al. (2015). Skim dan gelatin mengandung protein yang tinggi. Pada

pengolahan yogurt kedua bahan tersebut berperan dalam pembentukan dadih. Peningkatan jumlah dadih akan menyebabkan berkurangnya sineresis. Gelatin banyak digunakan sebagai penstabil yogurt yang lebih baik dibandingkan hidrokoloid lainnya. Penstabil akan menyerap air sehingga sineresis dapat dikurangi. Ekstrak bawang hitam memiliki kandungan air yang tinggi. Penambahannya akan menurunkan daya pengikatan air yang akan meningkatkan kemungkinan terjadinya sineresis.

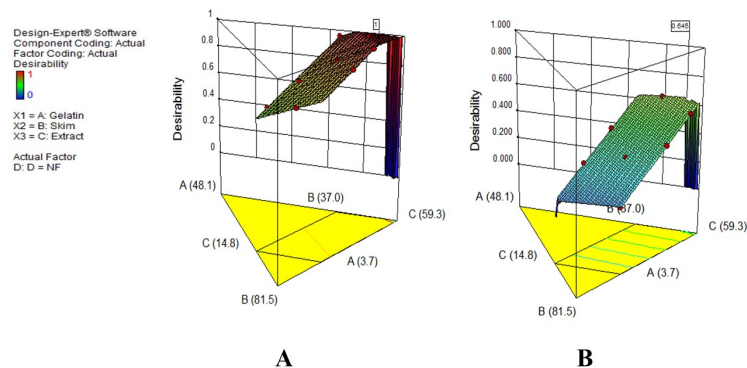
### 3.2. Optimasi formula yogurt yang ditambahkan ekstrak bawang hitam

Optimasi formula yogurt dengan RSM dilakukan untuk mendapatkan yogurt dengan kandungan antioksidan yang tinggi. Persamaan optimum untuk setiap bahan yang ditambahkan disajikan pada Tabel 5. YBHN memiliki nilai *desirability* yang lebih besar dibandingkan YBHF, artinya persamaan YBHN lebih memenuhi nilai yang diharapkan dari proses optimasi. Tidak terdapat pola yang teratur pada grafik tiga dimensi dari pengaruh konsentrasi gelatin, skim, dan ekstrak bawang hitam terhadap nilai D dari optimasi formula yogurt (Gambar 1). Kombinasi ketiga bahan yang ditambahkan memberikan efek yang berbeda terhadap respon yang ditetapkan dalam program optimasi.

Tabel 5. Kondisi optimum formula yogurt bawang hitam

Gelatin (%)	Skim (%)	Ekstrak bawang hitam (%)	Tipe bawang hitam	Nilai D
0,25	3,19	3,31	Non fermentasi	1,000
0,49	2,50	3,76	Terfermentasi	0,645

D: *desirability*



Gambar 1. Grafik tiga dimensi pengaruh penambahan gelatin, skim dan ekstrak bawang hitam terhadap optimasi formula yogurt (A) YBHN (B) YBHF

Tabel 6.

## Interval prediksi dan verifikasi formula yogurt bawang hitam

	Respon	Prediksi	Verifikasi	Batas bawah	Batas atas
YBHN	BAL (log CFU/ml)	8,56	8,63	8,42	8,67
	Kp.A (%)	94,58	94,97	91,76	97,41
	Polifenol (ppm)	117,28	119,71	113,32	121,24
	Lemak (%)	4,18	4,03	3,30	5,06
	Protein (%)	4,28	4,13	4,18	4,37
	Total padatan (%)	15,77	15,17	15,09	16,45
	Total asam tertitrasi (%)	1,78	1,20	1,69	1,88
	Sineresis (%)	5,96	7,12	4,11	7,82
YBHF	BAL (log CFU/ml)	8,53	8,56	8,37	8,65
	Kp.A (%)	88,10	94,75	84,96	91,24
	Polifenol (ppm)	113,97	121,12	109,61	118,39
	Lemak (%)	2,73	3,68	1,69	3,76
	Protein (%)	4,30	3,99	4,2	4,4
	Total padatan (%)	14,10	13,89	13,31	14,90
	Total asam tertitrasi (%)	1,31	1,30	1,21	1,42
	Sineresis (%)	4,15	5,46	2,09	6,21

YBHN: yogurt bawang hitam non fermentasi; YBHF: yogurt bawang hitam fermentasi; BAL: bakteri asam laktat; Kp.A: kapasitas antioksidan

Tabel 6 menunjukkan hasil verifikasi dan nilai prediksi dan rentang CI 95%. Berdasarkan Tabel 6, respon total BAL, lemak, total padatan, dan sineresis berada pada kisaran CI 95%. Nilai ini menunjukkan bahwa data tersebut masih dalam kisaran prediksi model dan menunjukkan bahwa model tersebut masih dapat digunakan untuk memprediksi nilai respon. Respon protein dan TAT berada di bawah rentang CI yang menunjukkan bahwa model respon kurang baik dalam memprediksi nilai respon. Selain itu, respon yang berada di luar nilai CI dapat disebabkan oleh perbedaan susu segar yang digunakan. Namun respon yang berada di luar CI masih dapat diterima karena masih sesuai dengan standar. Kapasitas antioksidan dan total polifenol juga berada di luar kisaran CI dan menghasilkan nilai yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan hasil yang lebih baik dari yang diperkirakan. Kondisi seperti respon kapasitas antioksidan dan total polifenol dapat diterima karena hasil verifikasi tidak berbeda jauh dengan nilai prediksi. Dapat disimpulkan bahwa model persamaan yang diperoleh masih cukup baik untuk menentukan formula optimum dan kondisi proses dengan respon yang ditargetkan.

#### 4. Kesimpulan

Kondisi optimum diperoleh dengan penambahan gelatin 0,25%, skim 3,19% dan ekstrak bawang hitam non fermentasi 3,31% atau penambahan gelatin 0,49%, skim 2,50%, dan ekstrak bawang hitam terfermentasi 4,76%. Karakteristi BAL, protein, TAT yogurt sesuai dengan standar produk. Produk yogurt memiliki kapasitas antioksidan dan total polifenol yang tinggi. YBHN memiliki nilai fungsional yang lebih baik dibandingkan dengan YBHF.

#### Ucapan terima kasih

Penelitian ini mendapatkan dana dari Program Insentif Riset Sistem Inovasi Nasional, Kementerian

Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia (PKS No.25/P/RPL-LIPI/INSINAS-I/II-2019).

#### Daftar pustaka

- Afiati, F., Priadi, G., Setiyoningrum, F., 2018. The improvement of functional food in yogurt enriched with purple sweet potato (*Ipomea batatas* var. Ayamurasaki). *J. Indones. Trop. Anim. Agric.* 43, 159–168. <https://doi.org/10.14710/jitaa.43.2.159-168>.
- Aswal, P., Shukla, A., Priyadarshi, S., 2012. Yoghurt: preparation, characteristics and recent advancements. *Cibtech J. Bio-Protocols* 1, 32–44. <https://doi.org/www.cibtech.org/cjbp.htm>.
- Azimi, A., Zomorodi, S., Sani, A.M., 2013. Influence of orange fiber addition on quality of orange fruit yogurt using response surface method. *Nat. Prod. An Indian J.* 9, 265–276.
- Bae, S.E., Cho, S.Y., Won, Y.D., Lee, S.H., Park, H.J., 2014. Changes in S-allyl cysteine contents and physicochemical properties of black garlic during heat treatment. *LWT - Food Sci. Technol.* 55, 397–402. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.006>.
- Batista, A.L.D., Silva, R., Cappato, L.P., Ferreira, M.V.S., Nascimento, K.O., Schmieles, M., Esmerino, E.A., Balthazar, C.F., Silva, H.L.A., Moraes, J., Pimentel, T.C., Freitas, M.Q., Raices, R.S.L., Silva, M.C., Cruz, A.G., 2017. Developing a synbiotic fermented milk using probiotic bacteria and organic green banana flour. *J. Funct. Foods* 38, 242–250. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.037>.
- Chen, H., Bao, C., Shu, G., Wang, C., 2018. Response surface methodology for optimizing fermentation conditions of goat yogurt with *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus casei*. *Emirates J. Food Agric.* 28, 547–553. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2015-09-777>.
- Chen, L., Alcazar, J., Yang, T., Lu, Z., Lu, Y., 2018. Optimized cultural conditions of functional yogurt for  $\gamma$ -aminobutyric acid augmentation using response



- surface methodology. *J. Dairy Sci.* 101, 10685–10693. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15391>.
- Choi, I.S., Cha, H.S., Lee, Y.S., 2014. Physicochemical and antioxidant properties of black garlic. *Molecules* 19, 16811–16823. <https://doi.org/10.3390/molecules191016811>
- Demirci, T., Aktaş, K., Sözeri, D., Öztürk, H.İ., Akin, N., 2017. Rice bran improve probiotic viability in yoghurt and provide added antioxidative benefits. *J. Funct. Foods* 36, 396–403. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.07.019>.
- Eissa, S.A., Ibrahim, E.M.A., Elbarbary, H.A., Mohammed, H.A., 2018. Improvement of yoghurt quality by incorporation of inulin and select probiotic bacteria. *Int. J. Probiotics Prebiotics* 13, 103–116.
- El-Said, M.M., Haggag, H.F., Fakhr El-Din, H.M., Gad, A.S., Farahat, A.M., 2014. Antioxidant activities and physical properties of stirred yoghurt fortified with pomegranate peel extracts. *Ann. Agric. Sci.* 59, 207–212. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2014.11.007>.
- Haryanti, S.A.D., Legowo, A.M., Al-Baarri, A.N., Hadipernata, M., Broto, W., 2018. Changes in Total Acid of Snake fruit (*Salacca edulis* Reinw.) during Storage Room Temperature. *J. Appl. Food Technol.* 5, 33–34. <https://doi.org/10.17728/jaft.4820>.
- Keogh, M.K., O’Kennedy, B.T., 1998. Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *J. Food Sci.* 63, 108–112. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1998.tb15687.x>.
- Kimura, S., Tung, Y.C., Pan, M.H., Su, N.W., Lai, Y.J., Cheng, K.C., 2017. Black garlic: A critical review of its production, bioactivity, and application. *J. Food Drug Anal.* 25, 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.11.003>.
- Layusa, D.R.C., Barraquio, V.L., Dizon, E.I., Elegado, F.B., Sevilla, C.C., 2013. Optimization of spray drying parameters for yogurt-ice cream mix. *Philipp. Agric. Sci.* 96, 392–403.
- Muanda, F., Kone, D., Dicko, A., Soulimani, R., Younos, C., 2011. Phytochemical composition and antioxidant capacity of three malian medicinal plant parts. *Evidence-Based Complement. Altern. Med.* 2011, 1–8. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep109>.
- Ndiaye, B., Sakho, M., Ayessou, N.C., Ibn, O., Cisse, K., Cisse, M., Diop, C.M., 2019. Optimization of a tiger nut-based yoghurt formulation by response surface methodology. *Food Nutr. Sci.* 10, 1400–1418. <https://doi.org/10.4236/fns.2019.1012100>.
- Ngan, N., Giang, M., Tu, N., 2017. Biological activities of black garlic fermented with *Lactobacillus plantarum* PN05 and some kinds of black garlic presenting inside vietnam. *Indian J. Pharm. Educ. Res.* 51, 672–678. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.4.99>.
- Ozturkoglul-Budak, S., Akal, C., Yetisemiyen, A., 2016. Effect of dried nut fortification on functional, physicochemical, textural, and microbiological properties of yogurt. *J. Dairy Sci.* 99, 8511–8523. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11217>.
- Pang, Z., Deeth, H., Yang, H., Prakash, S., Bansal, N., 2017. Evaluation of tilapia skin gelatin as a mammalian gelatin replacer in acid milk gels and low-fat stirred yogurt. *J. Dairy Sci.* 100, 3436–3447. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11881>.
- Parasthi, L.Y.E., Afifah, D.N., Nissa, C., Panunggal, B., 2020. Total lactic acid bacteria and antibacterial activity in yoghurt with addition of *Ananas comosus* Merr. and *Cinnamomum burmannii*. *Amerta Nutr.* 4, 257. <https://doi.org/10.20473/amnt.v4i4.2020.257-264>.
- Roy, D.K.D., Saha, T., Akter, M., Hosain, M., Khatun, H., Roy, M.C., 2015. Quality Evaluation of Yogurt Supplemented with Fruit Pulp (Banana, Papaya, and Water Melon). *Int. J. Nutr. Food Sci.* 4, 695–699. <https://doi.org/10.11648/j.ijnfs.20150406.25>.
- Ryder, K., Ali, M.A., Billakanti, J., Carne, A., 2018. Fundamental characterisation of caseins harvested by dissolved air flotation from dairy wastewater and comparison with skim milk powder. *Int. Dairy J.* 78, 112–121. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.11.007>.
- Selvamuthukumar, M., Khanum, F., 2013. Optimization of seabuckthorn fruit yogurt formulation using response surface methodology. *J. Food Sci. Technol.* 52, 831–839. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1070-3>.
- Setiyoningrum, F., Priadi, G., Afiati, F., 2017. Developing a prebiotic yogurt enriched by red bean powder: Microbiological, physi-cochemical and sensory aspect, in: *AIP Conference Proceedings*. pp. 020040-1–8. <https://doi.org/10.1063/1.4973167>.
- Silva, D.F. da, Junior, N.N.T., Gomes, R.G., Pozza, M.S. dos S., Britten, M., Matumoto-Pintro, P.T., 2017. Physical, microbiological and rheological properties of probiotic yogurt supplemented with grape extract. *J. Food Sci. Technol.* 54, 1608–1615. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2592-x>.
- Uche, O.A., Kelechi, S.E., Adamu, M., Ibrahim, Y.E., Alanazi, H., Okokpujie, I.P., 2022. Modelling and optimizing the durability performance of self consolidating concrete incorporating crumb rubber and calcium carbide residue using response surface methodology. *Buildings* 12. <https://doi.org/10.3390/buildings12040398>.
- Yang, X., Lu, Y., Hu, G., 2014. Optimization of sweetener formulation in sugar-free yoghurt using response surface methodology. *CYTA - J. Food* 12, 121–126. <https://doi.org/10.1080/19476337.2013.804123>.
- Yilmaz, M.T., Kesmen, Z., Baykal, B., Sagdic, O., Kacar, O., Yetim, H., Baykal, A.T., 2013. A novel method to differentiate bovine and porcine gelatins in food products: NanoUPLC-ESI-Q-TOF-MSE based data independent acquisition technique to detect marker peptides in gelatin. *Food Chem.* 141, 2450–2458. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.096>.
- Yu, M., Kim, J., Lee, C., Son, Y., Kim, S., 2014. Quality characteristics of stirred yoghurt added with fermented red pepper. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* 34, 408–414. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2014.34.4.408>.
- Zainoldin, K.H., Baba, A.S., 2009. The effect of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* on physicochemical, proteolysis, and antioxidant activity in yogurt. *World Acad. Sci. Eng. Technol.*

- 36, 904–909. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1078638>.
- Zhang, X., Li, N., Lu, X., Liu, P., Qiao, X., 2016. Effects of temperature on the quality of black garlic. *J. Sci. Food Agric.* 96, 2366–2372. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7351>
- Zilhadia, Yahdiana, H., Irwandi, J., Effionora, A., 2018. Characterization and functional properties of gelatin extracted from goatskin. *Int. Food Res. J.* 25, 275–281.