

## PRODUKSI *LOW CALORIE SWEET BIO-YOGHURT* DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN STEVIA (*Stevia rebaudiana*) SEBAGAI PENGGANTI GULA

Production of Low Calorie Sweet Bio-Yoghurt with The Addition of Stevia's Leaf Extract (*Stevia rebaudiana*) for Sugar Substitution

Widodo, Naimatun Munawaroh, Indratiningsih

Fakultas Peternakan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna 3 Bulaksumur, Yogyakarta 55281

Email: widodohs@ugm.ac.id

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pemanfaatan *stevioside* hasil ekstraksi daun stevia (*Stevia rebaudiana*) sebagai pengganti gula dalam produk *low calorie sweet bio-yoghurt*. Penelitian dilakukan dengan penambahan 0,5; 2,0 dan 3,5% ekstrak daun stevia pada *yoghurt* dan sebagai kontrol *yoghurt* dengan penambahan 7,0% gula. Parameter yang diamati adalah kadar *stevioside* hasil ekstraksi, kandungan kalori, nilai pH dan keasaman, komposisi nutrisi, kualitas mikrobiologis, serta sensoris produk *yoghurt*. Hasil penelitian menunjukkan kadar *stevioside* hasil ekstraksi fase etanol (12,73%) lebih tinggi dibandingkan fase butanol (11,89%). Tidak ada pengaruh antara *sweetener* gula dengan ekstrak daun stevia terhadap nilai pH dan keasaman *yoghurt*. Penambahan *sweetener* gula dan ekstrak daun stevia sebesar 0,5; 2,0; dan 3,5% meningkatkan kandungan protein, tetapi tidak berpengaruh terhadap kandungan laktosa *yoghurt*. Penambahan ekstrak daun stevia 0,5% meningkatkan kadar lemak, tetapi penambahan lebih tinggi (2,0 dan 3,5%) tidak berpengaruh terhadap kadar lemak *yoghurt*. Nilai kalori *yoghurt* dengan penambahan ekstrak daun stevia lebih rendah dibandingkan dengan penambahan gula. Hasil pengujian kualitas sensoris menunjukkan tidak ada perbedaan penampilan dan warna antara *yoghurt* dengan penambahan *sweetener* gula dibandingkan dengan ekstrak daun stevia, tetapi penambahan ekstrak daun stevia berpengaruh terhadap aroma, rasa, *mouth-feel*, dan daya terima. Penambahan ekstrak daun stevia dapat mempertahankan viabilitas bakteri asam laktat dan probiotik dalam *yoghurt* selama seminggu. *Low calorie sweet bio-yoghurt* dengan penambahan 0,5% ekstrak daun stevia menghasilkan daya terima terbaik bagi panelis.

**Kata kunci:** *Low calorie sweet bio-yoghurt*, daun stevia, pengganti gula

### ABSTRACT

The purpose of this study was to examine potential utilization of stevia's leaf as sugar substitute in low calorie sweet bio-yoghurt. The experiment was carried out with the supplementation of stevia's leaf extract in yoghurt at level 0.5; 2.0; 3.5% and yoghurt produced with supplementation 7.0% sugar used as a control. Parameters observed were level of stevioside, calorie content, pH and acidity, total solid, nutritional composition, microbiological quality, and sensory acceptance. The result showed that level of stevioside obtained in ethanol phase was higher (12.73%) than that in butanol phase (11.89%). There were no differences on pH and acidity in yoghurt either supplemented with sugar or stevia's leaf extract. The protein content in yoghurt supplemented with stevia's leaf extract was higher than that supplemented with sugar, but no differences were observed on lactose content. Supplementation of stevia's leaf extract at 0.5% increased fat content, but higher level of supplementation (2.0 and 3.5%) had no effects on fat content. Calorie content of yoghurt supplemented with stevia's leaf extract was lower than that supplemented with sugar. The supplementation of stevia's leaf extract in yoghurt affected on taste, flavor, mouth-feel, and acceptance but had no effect on appearance and colour. Stevia's leaf extract was able to maintain viability of lactic acid bacteria and probiotic kept for a week in a refrigerator. Low calorie sweet bio-yoghurt with supplementation of stevia's leaf extract at level 0.5% had the highest acceptance/

**Keywords:** Low calorie sweet bio-yoghurt, stevia leaf, sugar substitute

## PENDAHULUAN

*Yoghurt* merupakan produk fermentasi susu, salah satu contohnya adalah *bio-yoghurt*. *Bio-yoghurt* mengandung bakteri probiotik yang memberikan efek kesehatan (Hattingh dan Viljoen, 2001). Menurut Havenaar dan Veld (1991) dalam Hattingh dan Viljoen (2001), probiotik adalah bakteri hidup baik dalam bentuk tunggal atau campuran yang ditambahkan pada bahan pangan dengan tujuan untuk memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan sistem pencernaan. Salah satu spesies bakteri asam laktat (BAL) yang diaplikasikan sebagai probiotik adalah *Lactobacillus acidophilus*. *Lactobacillus acidophilus* tumbuh optimum pada pH 5,8 sampai 6,6 dan maksimum pada pH 6,8, serta minimum pada pH 4,0 sampai 4,6. *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri homofermentatif karena produk akhirnya hanya asam laktat (Jones, 1999).

Produk *yoghurt* biasanya menggunakan *sweetener* untuk meningkatkan rasanya, seperti sukrosa, dan pemanis berintensitas tinggi seperti aspartam. Namun demikian, sebagian konsumen juga menghendaki *yoghurt* rendah kalori. Oleh karena itu, perlu adanya *sweetener* yang digunakan untuk substitusi gula dengan nilai kalori rendah sehingga konsumen tidak dikhawatirkan dengan nilai kalori tersebut. Salah satu pemanis yang dapat digunakan adalah *stevioside*. *Stevioside* adalah pemanis yang berbentuk serbuk putih halus dan berintensitas tinggi, 250-300 kali lebih manis daripada sukrosa, yang diisolasi dan dimurnikan dari daun tanaman *Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni)* (FSA, 2000; Chattopadhyaya, 2007).

*Yoghurt* normal biasanya mempunyai kalori sebesar 70 kilo kalori per 100 gram (70 Kkal/100 g), dengan sumber utama kalori berasal dari karbohidrat (43%), lemak (22%) dan protein (35%). *Yoghurt* dengan penambahan ekstrak buah-buahan (*fruit yoghurt*) mempunyai nilai kalori lebih tinggi yaitu 119 Kkal/100g (Anonim, 2014). Produk *yoghurt* rendah kalori adalah *yoghurt* dengan nilai kalori  $\leq 60$  Kkal/100g, yang dapat dihasilkan dengan pengurangan kadar lemak dan karbohidrat (gula). Tujuan penelitian ini adalah mengkaji penggunaan *stevioside* ekstrak daun stevia sebagai pengganti gula dalam *low calorie sweet bio-yoghurt* sehingga dihasilkan makanan fungsional rendah kalori. Manfaat yang diharapkan dalam penelitian ini adalah membuka cakrawala baru aplikasi *stevioside* dalam produk *low calorie sweet bio-yoghurt* sebagai makanan fungsional rendah kalori.

## METODE PENELITIAN

### Ekstraksi *Stevioside* dari *Stevia Rebaudiana*

Ekstraksi menggunakan etanol mengikuti metode Buchori (2007) dan Abou dkk. (2010). Daun *Stevia* kering

diekstraksi menggunakan etanol 70% dengan rasio antara etanol dan daun 4:1 (v/w) dan didiamkan selama 7 jam, selanjutnya disaring dengan filter. Filtrat yang diperoleh diuapkan sampai kering dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°C selama kurang lebih 8 jam. Purifikasi dilakukan dengan mencuci residu menggunakan eter dan diekstraksi menggunakan butanol sebanyak tiga kali, kemudian filtrat diuapkan.

### Uji Kadar *Stevioside* Hasil Ekstraksi

Uji kadar *stevioside* dilakukan dengan menggunakan *thin-layer chromatography* (TLC) menurut metode Misra dkk. (2011) dengan *stevioside* murni sebagai acuan ataupun komponen penanda. Pada tahap awal, sejumlah 50 mg sampel hasil ekstraksi ditambah akuades sebanyak 400 $\mu$ l dan dihomogenkan dengan *vortex*, dan dilanjutkan dengan penambahan etanol sebanyak 600 $\mu$ l dan dihomogenkan kembali dengan *vortex*. Standar *stevioside* (Sigma, USA) dan sampel yang telah larut ditotolkan pada *plate silica gel 60 F 254* dengan volume *spotting* sebanyak 1 $\mu$ l menggunakan *micromililiter syringe*. *Plate silica gel* kemudian dimasukkan dalam *chamber* yang telah terisi penuh fase gerak yang terdiri atas butanol, asam asetat, dan akuades dengan perbandingan 6:2:1 (v/v) dan dielusikan sampai batas ( $\pm 0,5$  cm dari bagian atas *plate*). Jika sudah mencapai batas, *plate* segera diangkat dan dikeringkan, selanjutnya disemprot dengan pereaksi *Lieberman buchard* dan dipanaskan 110°C selama  $\pm 2$  menit atau sampai terlihat noda dalam *plate*. Densitas dibaca dengan densitometri dengan panjang gelombang 365 nm dan *retention factor* 0,44. Hasil pembacaan area densitas diolah dan menghasilkan kurva regresi dengan formula  $Y=19448X+20995$ . Formula regresi ini kemudian digunakan untuk menghitung kadar *stevioside* dari kedua sampel ekstrak daun stevia.

### Uji Kalori *Sweetener*

Metode uji kalori *sweetener* baik gula maupun hasil ekstraksi menggunakan metode Bomb Kalorimeter menurut Metzger dalam Nielsen (2010). Cara kerja bomb kalorimeter menggunakan prinsip bahwa kalori adalah jumlah panas yang dibutuhkan untuk menaikkan suhu 1°C pada 1 g air (1 kalori=4,184 *joule*).

### Penyiapan Kultur Starter dan Pembuatan *Bio-Yoghurt*

Penyiapan kultur starter menggunakan metode Ouwehand dkk. (2001). Kultur *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* diperbanyak dalam medium *deMan Rogosa Sharpe* (MRS) *broth* steril pada suhu 37°C selama 24 jam. Sejumlah 2% dari

kultur ini diinokulasikan ke dalam 100 ml susu skim steril (v/v) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 jam sehingga berbentuk *curd*. Sebanyak 2% dari starter ini kemudian diinokulasikan ke dalam susu yang akan di fermentasi. Proses pembuatan *yoghurt* mengikuti metode Dave dan Shah (1997). Media untuk fermentasi adalah susu segar ditambah susu skim 3% dan di pasteurisasi pada suhu 85°C selama 10 menit. Setelah dingin, dilakukan inokulasi *Lactobacillus acidophilus* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam. Setelah 2 jam, dilanjutkan inokulasi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* (dengan perbandingan 2:2:2% v/v) dan diinkubasi pada suhu 42°C selama 5 jam (Shah, 2000 dalam Haddadin, 2004). Penambahan ekstrak stevia dan gula dilakukan pasca fermentasi menurut Tamime dan Robinson (1985) dalam Hattingh dan Viljoen (2001). Ekstrak stevia yang ditambahkan adalah 0,5; 2,0; dan 3,5% (Kuznesof, 2007). Penambahan gula 7,0% pada *yoghurt* mengikuti Afonso dkk. (2003). Pembuatan *yoghurt* menggunakan 3 perlakuan, yaitu penambahan larutan ekstrak stevia sebanyak 0,5%=L1, 2,0%=L2, 3,5%=L3, dan sebagai kontrol penambahan larutan gula 7,0%=L0. Larutan ekstrak dan gula dibuat dengan perbandingan 1:1 (w/v). *Yoghurt* yang dihasilkan selanjutnya dilakukan berbagai uji kualitas, dan sebagian disimpan pada suhu *refrigerator* selama 7 hari.

#### Uji Kualitas Kimia Low Calorie Sweet Bio-Yogurt

Uji kualitas kimia *yoghurt* meliputi: pH dan keasaman, *Total Solid*, protein, lemak dan laktosa. Uji pH dengan metode potensiometer menggunakan pH meter (Hadiwiyoto, 1994). Uji keasaman dengan menggunakan metode *Mann's acid test* (Hadiwiyoto, 1994). *Total solid* diuji dengan metode AOAC (1975). Kandungan protein ditentukan dengan menggunakan metode Kjeldahl seperti disitasi oleh Sudarmadji dkk. (1997). Kandungan lemak diuji dengan metode *Babcock* (Hadiwiyoto, 1994). Kandungan laktosa diuji dengan cara titrasi untuk mengukur kandungan laktosa dalam filtrat (Sudarmadji dkk., 1997).

#### Perhitungan Nilai Kalori Nutrisi Low Calorie Sweet Bio-Yogurt

Metode perhitungan kalori menggunakan *food energy conversion factors* berdasarkan hasil uji komposisi nutrisi mengikuti FAO (2003). Faktor konversi yang umum digunakan yaitu protein 17 kJ (4 kkal) per gram, lemak 37 kJ (9 kkal) per gram, dan karbohidrat (yang setara monosakarida) 16 kJ (3,75 kkal) per gram, karbohidrat (dengan perbedaan atau berat) atau total karbohidrat adalah 17 kJ (4 kkal) per gram.

#### Uji Total BAL dan Probiotik

Perhitungan total bakteri menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Media yang digunakan untuk uji total

BAL adalah MRS agar, sedangkan untuk penghitungan total probiotik adalah dengan media MRS agar dengan suplementasi *bile salt* 0,15% (w/v) (Vinderola dan Reinheimer, 1999). Sampel dibuat pengenceran mulai dari pengenceran 10<sup>-1</sup> sampai 10<sup>-7</sup>. Pengenceran yang dikehendaki diambil sebanyak 0,1 ml dan diinokulasikan dalam cawan petri berisi medium agar yang telah padat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi jumlah bakteri dihitung dengan menghitung jumlah koloni (Hadiwiyoto, 1994).

#### Uji Kualitas Sensoris

Uji kualitas sensoris dilakukan menurut metode Tamime (2006) menggunakan 9 skor penilaian dengan 15 panelis yang berasal dari mahasiswa Fakultas Peternakan UGM yang dipilih secara acak. Uji kualitas sensoris meliputi penampilan, warna, aroma, rasa, *mouth-feel*, dan daya terima.

#### Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji kalori *sweetener* dan kadar *stevioside*, dianalisis menggunakan uji T berpasangan (*Paired Sampel T-test*) (Rosari dkk., 2006). Data yang diperoleh dari uji pH, keasaman, komposisi nutrisi, kalori, dan *total solid* dianalisis menggunakan analisis variansi pola searah (ANOVA), perbedaan rerata diuji dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat kepercayaan 95% untuk mengetahui tingkat perbedaan nilai antar perlakuan. Data yang diperoleh dari uji mikrobiologi dianalisis menggunakan analisis variansi pola faktorial 2x4, perbedaan rerata diuji dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT), sedangkan data yang diperoleh dari uji sensoris dianalisis dengan analisis non parametrik melalui uji hedonik kruskal wallis (Saleh, 1996).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Ekstraksi Daun *Stevia rebaudiana* dan Pengujian Kadar *Stevioside*

Hasil ekstraksi daun *S. rebaudiana* dengan etanol diperoleh ekstrak yang sangat kental dan lengket seperti karamel dengan warna hijau pekat. Komposisi kimia ekstrak daun stevia ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia ekstrak daun *Stevia rebaudiana*

| Komponen    | Rerata (%) |
|-------------|------------|
| Air         | 17,43±0,03 |
| Protein     | 4,59±0,01  |
| Lemak       | 2,23±0,06  |
| Abu         | 3,40±0,19  |
| Serat kasar | 1,35±0,19  |

Ket: n=2

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak daun stevia hasil penelitian ini memiliki kadar air  $17,43 \pm 0,03$ ; protein  $4,59 \pm 0,01$ ; lemak  $2,23 \pm 0,06$ ; abu  $3,40 \pm 0,19$ ; dan serat kasar  $1,35 \pm 0,19\%$ . Menurut Segura-Campos dkk. (2014), kandungan air, abu, lemak, protein, serat kasar dan karbohidrat dari daun stevia kering bervariasi tergantung dari varietas. Varietas Morita II secara berurutan mengandung protein, lemak, abu, dan serat kasar sebesar 12,11%; 3,23%; 7,82% dan 9,52%, sedangkan varietas Criolla mengandung protein, lemak, abu, dan serat kasar secara berturut-turut 15,05%, 3,04%, 11,93% dan 5,92% (Segura-Campos dkk., 2014). Perbedaan komposisi protein, lemak, abu dan serat kasar dari sampel stevia dalam penelitian ini dengan literatur dikarenakan karena perbedaan varietas stevia yang digunakan, dimana dalam penelitian ini digunakan tanaman stevia varietas Tawangmangu, dan perbedaan lokasi penanaman tanaman stevia. Menurut Markovic dkk. (2007), *Stevia rebaudiana* memiliki karakteristik tertentu tergantung dengan kondisi lokasi, tanah, iklim, dan kondisi pertumbuhan tanaman. Ditambahkan Wallin (2004), komposisi stevia tergantung pada komposisi daun dan dipengaruhi oleh kondisi tanah dan iklim. Gasmalla dkk. (2014) melaporkan perbedaan kandungan protein, lemak, karbohidrat dan total energi karena perbedaan metode pengeringan.

Tabel 2. Kadar *stevioside* daun stevia pada pemurnian fase etanol dan butanol (% w/w)

| Replikasi | Fase etanol        | Fase butanol       |
|-----------|--------------------|--------------------|
| 1         | 12,73              | 11,89              |
| 2         | 12,91              | 11,80              |
| Rerata    | $12,82 \pm 0,13^a$ | $11,85 \pm 0,06^b$ |

Keterangan: Huruf yang berbeda dibelakang angka menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

Hasil analisa TLC menunjukkan kadar *stevioside* pada fase butanol lebih rendah ( $11,85 \pm 0,06\%$ ) dibandingkan dengan fase etanol ( $12,82 \pm 0,13\%$ ) (Tabel 2). Hal ini disebabkan karena etanol memiliki polaritas yang lebih besar (5,2) dibandingkan dengan butanol (4,0) (Sadek, 2002). Afandi dkk. (2013) melaporkan hasil ekstraksi *rebaudioside A* yang lebih tinggi ketika menggunakan metanol dan etanol jika dibandingkan dengan pelarut organik nonpolar seperti n-hexane dan petroleum eter. Menurut Wade (1987), *stevioside* merupakan molekul besar yang bersifat polar dan mudah larut dalam metanol dan etanol. Ekstraksi *stevioside* dengan metanol memberikan hasil tinggi (Afandi dkk., 2013; Abou dkk., 2010), tetapi etanol dipilih karena selain hasil ekstraksinya tinggi juga lebih ramah lingkungan dan aman untuk kesehatan tubuh manusia (Guo-Qing dkk., 2005).

### Nilai Kalori Sweetener

Hasil uji kalori pada *sweetener* baik larutan gula maupun ekstrak daun stevia dengan bomb kalorimeter tersaji dalam Tabel 3.

Tabel 3. Nilai kalori larutan gula dan ekstrak daun stevia (kal/g)

| Ulangan | Larutan gula           | Larutan ekstrak daun stevia |
|---------|------------------------|-----------------------------|
| 1       | 1.995,76               | 1.837,81                    |
| 2       | 1.972,29               | 1.801,90                    |
| Rerata  | $1.984,03 \pm 16,60^a$ | $1.819,86 \pm 25,39^b$      |

Huruf yang berbeda dibelakang angka menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ )

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa nilai kalori ekstrak daun stevia lebih rendah ( $1.819,86 \pm 25,39$  kal/g) dibandingkan nilai kalori gula ( $1.984,03 \pm 16,60$  kal/g) sehingga ekstrak stevia disebut sebagai *sweetener* rendah kalori (Tabel 3). Hal ini berarti bahwa penambahan ekstrak daun stevia sebagai pengganti gula dalam produk *yoghurt* dapat mengurangi jumlah kalori. Nilai kalori ekstrak daun stevia yang masih cukup tinggi ( $1.819,86 \pm 25,39$  kal/g) dimungkinkan tidak hanya berasal dari *stevioside* dan bahan pemanis lainnya, tetapi juga energi yang terkandung pada residu protein dan lemak yang ada (Drewnowski, 2003). Penambahan ekstrak stevia sebagai *sweetener* berintensitas tinggi dalam *yoghurt* dapat mengurangi pemakaian gula (Chandan, 2006).

### Kualitas Produk Low Calorie Sweet Bio-Yoghurt

Komponen penting pada *yoghurt* adalah asam laktat. Asam laktat dari hasil fermentasi laktosa membantu pembentukan gel dan memberikan rasa khas (Robinson, 2002). Menurut Chandan (2006), titrasi keasaman diekspresikan sebagai persentase asam laktat dan merupakan parameter yang penting dalam *yoghurt* serta produk susu fermentasi lainnya. Pengukuran nilai pH merupakan metode paling cepat untuk mengukur asam yang dihasilkan selama fermentasi menggunakan pH meter. Rerata nilai pH dan keasaman *low calorie sweet bio-yoghurt* disajikan dalam Tabel 4.

Menurut Chandan (2006), pH minimum untuk *yoghurt* adalah 4,6. Nilai pH *yoghurt* dalam penelitian ini, baik yang menggunakan pemanis gula ( $4,27 \pm 0,15$ ) maupun yang menambahkan ekstrak daun stevia 0,5% ( $4,22 \pm 0,32$ ); 2,0% ( $4,31 \pm 0,24$ ) dan 3,5% ( $4,40 \pm 0,26$ ) telah memenuhi syarat minimal pH seperti yang disampaikan Chandan (2006). Nilai keasaman produk *yoghurt* menggunakan gula  $0,97 \pm 0,10$ , sedangkan dengan penambahan ekstrak daun stevia 0,5; 2,0;

dan 3,5% secara berurutan adalah 1,09±0,16; 1,02±0,09; dan 0,97±0,08 (Tabel 4). Menurut SNI (2009) standar keasaman untuk *yoghurt* adalah 0,5-2,0, sehingga nilai keasaman *yoghurt* hasil penelitian ini memenuhi standar keasaman yang disyaratkan oleh SNI (2009).

Tabel 4. Nilai pH dan keasaman *low calorie sweet bio-yoghurt*

| Sampel | Parameter              |                                  |
|--------|------------------------|----------------------------------|
|        | Nilai pH <sup>ns</sup> | Nilai keasaman (%) <sup>ns</sup> |
| L0     | 4,27±0,15              | 0,97±0,10                        |
| L1     | 4,22±0,32              | 1,09±0,16                        |
| L2     | 4,31±0,24              | 1,02±0,09                        |
| L3     | 4,40±0,26              | 0,97±0,08                        |

<sup>ns</sup> : *non significant*

L0 : larutan gula 7,0% (kontrol)

L1 : larutan ekstrak daun stevia 0,5%

L2 : larutan ekstrak daun stevia 2,0%

L3 : larutan ekstrak daun stevia 3,5%

Hasil analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan nilai pH dan keasaman *yoghurt* dengan penambahan gula dan ekstrak daun stevia kadar 0,5; 2,0 dan 3,5% (Tabel 4). Pemberian gula dan ekstrak daun stevia yang dilakukan setelah fermentasi, tidak berpengaruh terhadap pH dan keasaman *yoghurt*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tamime dan Robinson (1985, dalam Hattingh dan Viljoen, 2001) bahwa pemberian *sweetener* setelah fermentasi dimaksudkan agar tidak mempengaruhi jalannya fermentasi dan hanya dimaksudkan sebagai *sweetener*. Ditegaskan oleh Robinson (2002) bahwa pada level tertentu gula memiliki efek penghambat pada bakteri *yoghurt*, sehingga tingkat tambahan gula tidak boleh melebihi tingkat 10-11%. Hasil penelitian Slocum dkk. (1988), menunjukkan bahwa penambahan gula pada jam ke-3 inkubasi menghambat proteolisis, dan selanjutnya menghambat pertumbuhan bakteri *yoghurt*.

#### Total Solid, Komposisi Nutrisi dan Kalori

Rerata *total solid*, komposisi nutrisi dan nilai kalori *low calorie sweet bio-yoghurt* disajikan dalam Tabel 5. Hasil analisis statistik menunjukkan adanya pengaruh nyata (P<0,05) antara penambahan ekstrak daun stevia pada kandungan *total solid* dalam produk *low calorie sweet bio-yoghurt* (Tabel 5).

Penambahan ekstrak daun stevia mampu meningkatkan *total solid* dalam *yoghurt* (Tabel 5). Kandungan *total solid* produk *yoghurt* dengan penambahan ekstrak daun stevia 0,5; 2,0; dan 3,5%, secara berturut-turut adalah 14,11±0,02, 14,31±0,08, dan 14,72±0,05%. Sedangkan kandungan *total solid yoghurt* dengan penambahan gula 7,0% adalah 16,59±0,12% (Tabel 5). Peningkatan *total solid* ini relevan

dengan peningkatan protein dalam *yoghurt* hasil penambahan ekstrak daun stevia (Tabel 5).

Tabel 5. *Total solid*, komposisi nutrisi (protein, lemak, laktosa) dan nilai kalori *low calorie sweet bio-yoghurt*

| Sampel | Parameter               |                         |                          |                              |                          |
|--------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|
|        | <i>Total solid</i> (%)  | Protein (% BK)          | Lemak (% BK)             | Laktosa (% BK) <sup>ns</sup> | Kalori (Kkal)            |
| L0     | 16,59±0,12 <sup>d</sup> | 18,17±1,64 <sup>a</sup> | 17,28±0,37 <sup>ab</sup> | 14,67±3,12                   | 70,75±3,25 <sup>c</sup>  |
| L1     | 14,11±0,02 <sup>a</sup> | 24,05±2,58 <sup>b</sup> | 19,14±0,71 <sup>c</sup>  | 14,67±2,66                   | 54,17±3,25 <sup>a</sup>  |
| L2     | 14,31±0,08 <sup>b</sup> | 24,07±2,70 <sup>b</sup> | 17,81±0,82 <sup>bc</sup> | 17,13±2,79                   | 57,46±3,25 <sup>ab</sup> |
| L3     | 14,72±0,05 <sup>c</sup> | 24,10±2,06 <sup>b</sup> | 16,19±1,14 <sup>a</sup>  | 15,11±1,33                   | 60,74±3,25 <sup>b</sup>  |

Huruf yang berbeda dibelakang angka pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

<sup>ns</sup> : *non significant*

L0 : larutan gula 7,0% (kontrol)

L1 : larutan ekstrak daun stevia 0,5%

L2 : larutan ekstrak daun stevia 2,0%

L3 : larutan ekstrak daun stevia 3,5%

*Yoghurt* yang menggunakan *sweetener* gula sebanyak 7,0% mengandung protein paling rendah yaitu 18,17±1,64%. Saat gula diganti dengan ekstrak daun stevia sebanyak 0,5% kandungan proteinnya meningkat menjadi 24,05±2,58%. Hal ini disebabkan karena ekstrak daun stevia mengandung protein sebesar 4,59±0,01% (Tabel 1). *Yoghurt* dengan ekstrak daun stevia sebanyak 2,0 dan 3,5% secara berurutan mengandung protein 24,07±2,70% dan 24,10±2,06% (Tabel 5). Pada saat yang sama, penambahan ekstrak daun stevia tidak berpengaruh terhadap kandungan laktosa dalam produk (Tabel 5). Laktosa merupakan disakarida yang tidak terdapat dalam ekstrak daun stevia, sehingga penambahan ekstrak daun stevia tidak mengakibatkan perubahan total laktosa dalam produk. Pengaruh penambahan ekstrak daun stevia 0,5% dapat meningkatkan kadar lemak *yoghurt*, walaupun penambahan lebih tinggi (0,5 dan 3,5%) tidak berpengaruh terhadap kadar lemak *yoghurt* yang dihasilkan (Tabel 5). Menurut SNI (2009), kandungan *total solid yoghurt* minimal 8,2% dengan kandungan protein minimal 2,7% dan lemak kisaran 0,6 sampai 2,9% untuk *yoghurt* rendah lemak.

Hasil analisis statistik menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata (P<0,05) antara nilai kalori *yoghurt* yang menggunakan *sweetener* gula dibandingkan dengan ekstrak daun stevia (Tabel 5). Nilai kalori pada *yoghurt* dengan penambahan ekstrak daun stevia 0,5; 2,0; dan 3,5% secara berurutan adalah 54,17±3,25; 57,46±3,25; dan 60,74±3,25 Kkal/100g. Nilai kalori tertinggi diperoleh pada penambahan gula 7,0% yaitu sebesar 70,75±3,25 Kkal/100g. *Yoghurt* yang dipasarkan seperti *drinking yoghurt* dan *yoghurt nonfat* biasanya mengandung kalori 73-75 Kkal/100g (Bellisle dan

Drewnowski, 2003). Rendahnya kalori dalam produk *yoghurt* dengan penambahan ekstrak stevia relevan rendahnya nilai kalori dari ekstrak stevia (Tabel 3). Penggantian gula dengan ekstrak daun stevia sebagai pemanis dengan sendirinya mengurangi nilai kalori produk *yoghurt* yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Argawal dkk. (2010), yang menyatakan bahwa penambahan stevia sebagai *sweetener* dapat menggantikan gula dan mampu menurunkan nilai kalori secara signifikan.

**Total Bakteri Asam Laktat**

Total bakteri asam laktat (BAL) dalam produk *low calorie sweet bio-yoghurt* disajikan dalam Tabel 6.

Tabel 6. Total BAL (log CFU/ ml) dalam produk *low calorie sweet bio-yoghurt* selama penyimpanan 0 dan 7 hari

| Sampel               | Masa simpan (hari) |            | Rerata             |
|----------------------|--------------------|------------|--------------------|
|                      | 0                  | 7          |                    |
| L0                   | 9,02±0,65          | 10,51±0,49 | 9,77 <sup>b</sup>  |
| L1                   | 9,46±0,74          | 8,68±0,22  | 9,07 <sup>a</sup>  |
| L2                   | 9,24±0,18          | 9,24±0,07  | 9,24 <sup>ab</sup> |
| L3                   | 9,12±0,34          | 8,82±0,56  | 8,97 <sup>a</sup>  |
| Rerata <sup>ns</sup> | 9,21               | 9,31       |                    |

Huruf yang berbeda dibelakang angka pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

- <sup>ns</sup> : non significant
- L0 : larutan gula 7,0% (kontrol)
- L1 : larutan ekstrak daun stevia 0,5%
- L2 : larutan ekstrak daun stevia 2,0%
- L3 : larutan ekstrak daun stevia 3,5%

Hasil analisis statistik menggunakan analisis variansi pola faktorial 2X4 menunjukkan ada pengaruh yang nyata (P<0,05) terhadap total BAL pada *yoghurt* yang ditambahkan gula 7,0% dengan *yoghurt* yang ditambahkan ekstrak daun stevia 0,5%, dan 3,5%, tetapi tidak nyata pada penambahan 2,0% (Tabel 6). Tingginya total BAL pada *yoghurt* dengan penambahan gula 7,0% (9,77 log CFU/ml), terjadi karena ketersediaan gula (sukrosa) yang dimanfaatkan BAL sebagai sumber karbon untuk memperbanyak diri. Menurut Marth dan Steele (2001), laktosa merupakan karbohidrat utama bagi BAL, meskipun dalam konsentrasi rendah, maltosa, sukrosa, atau glukosa mampu juga dimanfaatkan untuk meningkatkan pertumbuhan.

Total BAL pada *yoghurt* dengan penambahan ekstrak daun stevia lebih rendah atau sama pada penambahan ekstrak stevia 2,0% dibandingkan *yoghurt* yang ditambahkan gula. Bakteri asam laktat (BAL) tidak mempunyai enzim untuk memecah *glycoside* yang terkandung dalam ekstrak daun stevia (Jookan dkk., 2012), sehingga mereka tidak mampu

memanfaatkannya untuk pertumbuhan. Sebagai akibatnya, jumlah total BAL dalam *yoghurt* yang mengandung ekstrak stevia sebagai pemanis tidak berubah (Tabel 6). Hal berbeda ditunjukkan ketika BAL ditumbuhkan pada *yoghurt* yang mengandung larutan gula 7,0% (Tabel 6). Dalam *yoghurt* yang mengandung sukrosa, BAL akan memanfaatkan sukrosa untuk tumbuh dan memperbanyak diri sehingga jumlah total BAL dalam *yoghurt* yang mengandung gula lebih tinggi dibandingkan dalam *yoghurt* yang mengandung ekstrak stevia (Tabel 6).

Penyimpanan *yoghurt* sampai hari ke-7 pada suhu *refrigerator* tidak berpengaruh nyata terhadap total BAL (Tabel 6). Bakteri asam laktat bersifat mesofilik dan bukan bersifat psikofilik sehingga tidak aktif melakukan metabolisme dan pertumbuhan selama disimpan suhu *refrigerator*. Sesuai dengan penelitian Sabbah dkk. (2012), penyimpanan dingin selama 7 hari tidak mampu menurunkan jumlah total BAL. Menurut Sabbah dkk. (2012), tidak ada perbedaan jumlah BAL selama 1, 14, dan 21 hari dalam penyimpanan *refrigerator*, tetapi berbeda saat penyimpanan 28 hari.

**Viabilitas *Lactobacillus acidophilus***

Total probiotik *Lactobacillus acidophilus* pada *yoghurt* disajikan dalam Tabel 7. Hasil analisis statistik menunjukkan tidak ada pengaruh yang nyata total probiotik *L. acidophilus* pada *yoghurt* dengan penambahan gula 7,0% dan *yoghurt* yang diberi ekstrak daun stevia, serta tidak ada pengaruh nyata antara total probiotik *L. acidophilus* yang disimpan pada hari ke-0 dan ke-7 (Tabel 7). Penyimpanan suhu *refrigerator* menyebabkan probiotik *L. acidophilus* tidak aktif melakukan metabolisme sehingga tidak ada pertambahan sel (Sabbah dkk., 2012). *Stevioside* tidak mengganggu keberadaan probiotik *L. acidophilus* selama penyimpanan.

Tabel 7. Total probiotik *Lactobacillus acidophilus* (log CFU/ ml) pada *low calorie sweet bio-yoghurt* selama penyimpanan 0 dan 7 hari

| Sampel               | Masa simpan (hari) |           | Rerata <sup>ns</sup> |
|----------------------|--------------------|-----------|----------------------|
|                      | 0                  | 7         |                      |
| L0                   | 8,62±0,78          | 9,39±0,27 | 9,01                 |
| L1                   | 9,15±0,16          | 9,16±0,85 | 9,15                 |
| L2                   | 9,42±0,09          | 8,84±0,18 | 9,13                 |
| L3                   | 9,07±0,32          | 8,97±0,31 | 9,02                 |
| Rerata <sup>ns</sup> | 9,06               | 9,09      |                      |

- <sup>ns</sup> : non significant
- L0 : larutan gula 7,0% (kontrol)
- L1 : larutan ekstrak daun stevia 0,5%
- L2 : larutan ekstrak daun stevia 2,0%
- L3 : larutan ekstrak daun stevia 3,5%

Menurut Hattingh dan Viljoen (2001), ketahanan bakteri probiotik dalam produk *yoghurt* dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya jenis strain yang digunakan, interaksi antara *strain*, kondisi kultur, komposisi media fermentasi, keasaman akhir, nutrisi yang terkandung, pertumbuhan promotor dan penghambat, konsentrasi gula (tekanan osmosis), *dissolved oxygen*, level inokulasi, suhu inkubasi, waktu fermentasi, dan suhu penyimpanan. Ditambahkan oleh Fabio (1989) bahwa penyimpanan *yoghurt* dalam *refrigerator* sangat baik untuk menjaga viabilitas probiotik.

**Kualitas Sensoris**

Pengujian sensoris ini bertujuan untuk mengetahui sampel produk *low calorie sweet bio-yoghurt* yang paling diterima oleh panelis dengan adanya penambahan ekstrak daun stevia yang digunakan sebagai *sweetener*. Hasil uji sensoris *low calorie sweet bio-yoghurt* disajikan dalam Tabel 8.

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak daun stevia sebagai substitusi gula tidak berpengaruh nyata terhadap penampilan dan warna *yoghurt*. Penampilan dinilai dengan skor 6,95±1,16 yaitu cukup suka (Tabel 8). Argawal dkk. (2010) melaporkan bahwa penambahan stevia tidak merubah penampilan produk. Dalam hal warna dinilai dengan skor 6,58±1,38 yaitu cukup suka (Tabel 8). Warna *yoghurt* yang ditambahkan ekstrak daun stevia pada level 0,5; 2,0 dan 3,5% secara berurutan yaitu hijau sangat muda, hijau muda, dan hijau. Menurut Abou dkk. (2010), pigmen warna hijau masih terdapat dalam ekstrak daun stevia kasar, sehingga pemurnian lebih lanjut perlu dilakukan.

Ditunjukkan pada Tabel 8 bahwa penggunaan ekstrak daun stevia sebagai substitusi gula berpengaruh nyata terhadap aroma, rasa, *mouth-feel* dan daya terima *yoghurt* (P<0,05). Aroma dinilai dengan skor 4,98±1,78 yaitu netral (Tabel 8). Skor tertinggi pada *yoghurt* yang ditambahkan gula

7,0% dengan skor 6,80 yaitu cukup suka (Tabel 8). Posisi yang lebih rendah yaitu pada penambahan ekstrak daun stevia 0,5%; 2,0% dan paling rendah pada 3,5% yang masing-masing memiliki skor 5,33 (netral); 4,13 (sedikit tidak suka); 3,67 (sedikit tidak suka) (Tabel 8). Terdapat perbedaan antara penambahan gula dan ekstrak daun stevia terhadap aroma *yoghurt*. Saat ditambahkan ekstrak daun stevia sebagai substitusi gula tingkat kesukaan terhadap aromanya menurun. Menurut beberapa panelis, *yoghurt* yang ditambahkan ekstrak daun stevia memiliki aroma seperti jamu. Aroma *yoghurt* biasanya dihasilkan oleh BAL selama fermentasi (Robinson, 2002). Beberapa senyawa yang berkontribusi terhadap aroma *yoghurt* diantaranya asetaldehida, dimetil sulfida, 2,3-butanedione, 2,3-pentanedione, 2-methylthiophene, 3-methyl-2-butenal, trisulfide, dimetil, asam asetat, dan methional (Chandan, 2006). Aroma dalam stevia timbul dari aroma volatil, tanin dan *flavonoid* yang menjadikan aromanya kurang disukai (Abou dkk., 2010).

Hasil analisis statistik pada pengujian sensoris menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak daun stevia sebagai substitusi gula berpengaruh nyata terhadap rasa *yoghurt* (P<0,05). Dalam hal ini rasa dinilai dengan skor 4,25±1,84 yaitu agak tidak suka (Tabel 8). Skor tertinggi pada *yoghurt* yang ditambahkan gula 7,0% dengan skor 5,60 yaitu sedikit suka (Tabel 8). Posisi yang lebih rendah yaitu pada penambahan ekstrak daun stevia 0,5%; 2,0% dan paling rendah pada 3,5% yang masing-masing memiliki skor 5,33 (netral); 3,13 (cukup tidak suka); 2,73 (cukup tidak suka) (Tabel 8). Penambahan ekstrak daun stevia sebagai substitusi gula menurunkan tingkat kesukaan terhadap rasa. *Stevioside* memiliki rasa yang manis pahit. *Stevioside* menurut Abou dkk. (2010) memiliki rasa sedikit pahit dan meninggalkan sisa rasa sehingga menurunkan daya terima.

Menurut Berry (2012), *mouth-feel* dapat diartikan sebagai sensasi yang dirasakan saat makanan masuk dalam

Tabel 8. Hasil uji kualitas sensoris *low calorie sweet bio-yoghurt*

| Sampel | Parameter                |                     |                   |                   |                   |                   |
|--------|--------------------------|---------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|        | Penampilan <sup>ns</sup> | Warna <sup>ns</sup> | Aroma             | Rasa              | Mouth-feel        | Daya terima       |
| L0     | 7,20                     | 6,67                | 6,80 <sup>a</sup> | 5,60 <sup>a</sup> | 5,40 <sup>a</sup> | 5,67 <sup>a</sup> |
| L1     | 6,60                     | 6,27                | 5,33 <sup>b</sup> | 5,33 <sup>a</sup> | 5,07 <sup>a</sup> | 5,73 <sup>a</sup> |
| L2     | 7,13                     | 6,80                | 4,13 <sup>c</sup> | 3,13 <sup>b</sup> | 3,20 <sup>b</sup> | 3,13 <sup>b</sup> |
| L3     | 6,87                     | 6,60                | 3,67 <sup>d</sup> | 2,73 <sup>c</sup> | 2,80 <sup>c</sup> | 2,87 <sup>c</sup> |
| Rerata | 6,95±1,16                | 6,58±1,38           | 4,98±1,78         | 4,25±1,84         | 4,12±1,72         | 4,35±1,93         |

Huruf yang berbeda dibelakang angka pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata (P<0,05)

<sup>ns</sup> : non significant

L0 : larutan gula 7,0% (kontrol)

L1 : larutan ekstrak daun stevia 0,5%

L2 : larutan ekstrak daun stevia 2,0%

L3 : larutan ekstrak daun stevia 3,5%

mulut sampai ditelan. Hasil analisis statistik pada pengujian sensoris menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak daun stevia sebagai substitusi gula berpengaruh nyata terhadap *mouth-feel* ( $P < 0,05$ ). Dalam hal ini *mouth-feel* dinilai dengan skor  $4,12 \pm 1,72$  yaitu agak tidak suka. Skor tertinggi pada *yoghurt* yang ditambahkan gula 7,0% dengan skor 5,40 yaitu netral (Tabel 8). Posisi lebih rendah yaitu pada penambahan ekstrak daun stevia 0,5%; 2,0% dan paling rendah pada 3,5% yang masing-masing memiliki skor 5,07 (netral), 3,20 (cukup tidak suka), 3,20 (cukup tidak suka) (Tabel 8). Saat ditambahkan ekstrak daun stevia sebagai substitusi gula tingkat kesukaan terhadap *mouth-feel*-nya menurun. Hasil pengujian *mouth-feel yoghurt* yang ditambahkan gula 7,0% memiliki nilai netral. Hal ini dimungkinkan karena rasa manis pahit ekstrak stevia memberikan sisa rasa yang tinggal dimulut walaupun *yoghurt* telah tertelan, sehingga menurunkan nilai *mouth-feel yoghurt*.

Hasil analisis statistik pada pengujian sensoris menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak daun stevia sebagai substitusi gula berpengaruh nyata terhadap daya terima *yoghurt* ( $P < 0,05$ ). Dalam hal ini daya terima dinilai dengan skor  $4,35 \pm 1,93$  yaitu agak tidak suka (Tabel 8). Skor tertinggi pada *yoghurt* yang ditambahkan ekstrak daun stevia 0,5% dengan skor 5,73 yaitu sedikit suka (Tabel 8). Posisi yang lebih rendah yaitu pada penambahan gula 7,0% dengan skor 5,67 yaitu sedikit suka, dan dua posisi paling rendah pada penambahan ekstrak daun stevia 2,0% dan 3,5% yang masing-masing memiliki skor 3,13 (cukup tidak suka) dan 2,87 (cukup tidak suka) (Tabel 8). Tabel 8 menunjukkan bahwa tingkat kemanisan ekstrak daun stevia yang mampu menyamai tingkat kemanisan gula 7,0% dalam *yoghurt* adalah penambahan ekstrak stevia 0,5%. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun stevia sebagai *sweetener* dan substitusi gula dalam *yoghurt* optimal pada level penambahan 0,5%.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *yoghurt* dengan penambahan ekstrak daun stevia mempunyai kualitas fisiko-kimia lebih baik dibandingkan dengan penambahan gula. Penambahan ekstrak daun stevia sebanyak 0,5; 2,0; dan 3,5% mampu meningkatkan kadar protein, tetapi tidak mempengaruhi kadar laktosa, nilai pH dan keasaman *yoghurt*. Penambahan ekstrak daun stevia sebanyak 0,5% mampu menghasilkan kadar lemak *yoghurt* yang lebih tinggi dibandingkan *yoghurt* dengan penambahan gula. Penambahan ekstrak daun stevia dalam produk *yoghurt* mampu mempertahankan viabilitas bakteri asam laktat dan probiotik. Hasil uji kualitas sensoris menunjukkan tidak ada perbedaan *yoghurt* yang menggunakan *sweetener* gula dibandingkan

dengan ekstrak daun stevia pada nilai penampilan dan warna, tetapi berpengaruh terhadap aroma, rasa, *mouth-feel*, dan daya terima. *Low calorie sweet bio-yoghurt* menggunakan ekstrak daun stevia sebagai substitusi gula yang paling diterima adalah penambahan 0,5% dan menghasilkan kalori yang paling rendah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abou, A.E., Abou-Arab, A.A. dan Abu-Salem, M.F. (2010). Physico-chemical assessment of natural sweeteners steviosides produced from *Stevia rebaudiana bertonii* plant. *Journal of Food Science* **4**: 269- 281.
- Afandi, A., Sarijan, S. dan Shaha, R. K. (2013). Optimization of rebaudioside a extraction from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) and quantification by high performance liquid chromatography analysis. *Journal of Tropical Resources and Sustainable Science* **1**: 62-70.
- Afonso, I.M., Hes, L., Maia, J.M. dan Melo, L.F. (2003). Heat transfer and rheology of stirred yoghurt during cooling in plate heat exchangers. *Journal of Food Engineering* **57**: 179-187.
- Anonim (2014). Calories in yogurt. <https://www.fatsecret.com/calories-nutrition/food/yogurt>. [03 January 2015].
- AOAC. (1975). *Official Methods of Analysis*. The Association of Official Analytical Chemists. 12<sup>th</sup> ed. W. Horwith (Ed). Benjamin Franklin Station, Washington, D.C.
- Argawal, V., Kochhar, A. dan Sachdeva, R. (2010). Sensory and nutritional evaluation of sweet milk products prepared using stevia powder for diabetics. *Ethnobiology Medicine* **4**: 9-13.
- Bellisle, F. dan Drewnowski, A. (2003). Intense sweeteners, energy intake and the control of body weight. *European Journal of Clinical Nutrition* **61**: 691-700.
- Berry, D. (2012). *Targeting Texture*. <http://www.foodproductdesign.com/articles/2012/03/targeting-texture.aspx>. [24 October 2012].
- Buchori, L. (2007). Pembuatan gula non karsinogenik non kalori dari daun stevia. *Jurnal Reaktor* **11**: 57-60.
- Chandan, R.C. (2006). *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*. Blackwell Publishing Professional, USA.
- Chattopadhyaya, D. (2007). *Prospects as an Emerging Natural Sweetener*. Veena Sharma International Food Division, India.
- Dave, R.I. dan Shah, N.P. (1997). Viability of yogurt and probiotics bacteria in yogurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal* **7**: 31-41.



- Drewnowski, A. (2003). The role of energy density. *Lipids* **38**: 109-115.
- Fabio, A. (1989). *Friendly Bacteria- Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium*. The Roger Wyburn-Mason and Jack M. Blount Foundation for Eradication of Rheumatoid Disease, America.
- FAO. (2003). *Food Energy-Methods of Analysis and Conversion Factors*. FAO Food and Nutrition Paper, Rome.
- FSA. (2000). *Chemical Safety and Toxicology Division*. Food Standards Agency, London.
- Gasmalla, M.A.A., Yang, R., Amadou, I. dan Hua, X. (2014). Nutritional composition of *Stevia rebaudiana* Bertpni Leaf: Effect of Drying Method. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **13**: 61-65.
- Guo-Qing, H., Hao-Ping, X., Qi-He, C., Ruan, H., Zhao-Yue, W. dan Traore, L. (2005). Optimization of conditions for supercritical fluid extraction of flavonoids from hops (*Humulus lupulus* L.). *Journal of Zhejiang University* **10**: 999-1004.
- Haddadin, M.S.Y., Awaishah, S.S. dan Robinson, R.K. (2004). The production of yoghurt with probiotic bacteria isolated from infants in Jordan. *Pakistan Journal of Nutrition* **3**: 290-293.
- Hadiwiyoto, S. (1994). *Teori dan Prosedur Pengujian Mutu Susu dan Hasil Olahannya*. Liberty, Yogyakarta.
- Hattingh, A.L. dan Viljoen, B.C. (2001). Yoghurt as probiotic carrier food. *Journal of International Dairy* **11**: 1-17.
- Jones, F. (1999). *Lactobacillus acidophilus*. <http://dwb.unl.edu/Teacher/NSF/C11/C11Links/www.bact.wisc.edu/scienceed/lactobacillusacidophilus.html>. [1 September 2011].
- Jookan E., Amery R., Struyf, T., Duquenne, B., Geuns, J. dan Meesschaert, B. (2012). Stability of steviol glycosides in several food matrices. *Journal of Food Agricultural and Chemistry* **24**: 10606-10612.
- Kuznesof, P.M. (2007). Steviol glycosides: chemical and technical assessment. <http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/jecfa68>. [3 February 2011].
- Markovic, I.S., Darmati, Z.A. dan Abramovic, B.F. (2007). Chemical composition of leaf extracts of *Stevia rebaudiana bertonii* grown experimentally in Vojvodina. *Journal of Serbian Chemical Society* **73**: 283-297.
- Marth, E.H. dan Steele, J.L. (2001). *Applied Dairy Microbiology*. Marcel Dekker, New York.
- Misra, H., Soni, M., Silawat, N., Mehta, D., Mehta, B.K. dan Jain, D.C. (2011). Antidiabetic activity of medium-polar extract from the leaves of *Stevia rebaudiana* Bert. (Bertoni) on alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* **3**: 242-248.
- Nielsen, S.S. (2010). *Food Analysis*. Springer New York Dordrecht Heidelberg London.
- Ouweland, A. C., Tolkkio, S. dan Salminen, S. (2001). The effect of digestive enzymes on the adhesion of probiotics bacteria in vitro. *Journal of Food Science* **66**: 856-859.
- Robinson, R.K. (2002). *Dairy Microbiology Handbook*. A John Wiley and Sons, Inc, Publication. New York.
- Rosari, R.W., Sulistiyani, S., Yossy, P. dan Nurasih, S. (2006). *Sepuluh Model Penelitian dan Pengolahannya dengan SPSS 14*. Andi Offset, Yogyakarta.
- Sabbah, M., Legowo, A.M. dan Pramono, Y.B. (2012). The effect of different ratio of bacteria (*Lactobacillus bulgaricus* + *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium longum*. ATCC15707) on characteristics of yogurt at different storage period. *Journal of Applied Food Technology* **1**: 32-38.
- Sadek, P. (2002). *Solvent Miscibility and Viscosity Chart, the HPLC Solvent Guide*. Wiley Interscience, New York.
- Saleh, S. (1996). *Statistik Non Parametrik*. Edisi 2. Badan Penerbit Fakultas Ekonomi. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Segura-Campos, M., Barbosa-Martim, E., Matus-Basto, A., Bavrera-Amaro, D., Murguria-Olmedo, M., Moguel-Ordóñez, Y. dan Betancur-Ancona, D. (2014). Comparison of chemical and functional properties of *Stevia rebaudiana* varieties cultivated in Mexican Southeast. *American Journal of Plant Sciences* **5**: 286-293.
- Slocum, S.A., Jasinski, E.M., Anantheswaran, R.C. dan Kilara, A. (1988). Effect of sucrose on proteolysis in yogurt during incubation and storage. *Journal of Dairy Science* **71**: 589-595.
- Standar Nasional Indonesia (2009). *Yogurt* (SNI 2981). Badan Standar Nasional, Jakarta.
- Sudarmadji, S., Haryono, B. dan Suhardi. (1997). *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit Angkasa, Bandung.
- Tamime, A.Y. (2006). *Fermented Milks*. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK.

Vinderola, C.G. dan Reinheimer, J.A. (1999). Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. *International Dairy Journal* **9**: 497-505.

Wade, Jr.L.G. (1987). *Organic Chemistry*. Prentice-Hall, New York.

Wallin, H. (2004). *Steviol Glycosides: Chemical and Technical Assessment*. JEFCA (FAO).