

NILAI pH DAN KEKENTALAN *COCOGURT* DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK DAUN STEVIA

pH Value and Viscosity of Cocogurt with Addition Stevia Leaf Extract

Zafira Raharjanti*, Yoyok Budi Pramono, Ahmad Nimatullah Al-Baarri

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

*Korespondensi dengan penulis (zraharjanti@gmail.com)

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Abstrak

Cocogurt (coconut yogurt) merupakan minuman fermentasi dari bakteri asam laktat yang berbahan dasar santan kelapa dan memiliki karakteristik seperti yogurt. Penambahan ekstrak daun stevia dilakukan sebagai pemanis untuk meningkatkan cita rasa *cocogurt*. Berbeda dari sukrosa, ekstrak daun stevia memiliki kalori yang lebih rendah sehingga baik untuk kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak daun stevia terhadap nilai pH dan kekentalan dari *cocogurt*. Penelitian ini dilakukan dengan 4 perlakuan dan 5 kali ulangan menggunakan perlakuan variasi penambahan ekstrak daun stevia yaitu T0 0%, T1 0,5%, T2 2% dan T3 3,5%. Penelitian ini menggunakan bahan baku kelapa parut, daun stevia bubuk, susu skim dan starter yogurt. Hasil dari penelitian yang telah dilakukan adalah penambahan konsentrasi ekstrak daun stevia yang berbeda akan memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap nilai pH dan kekentalan *cocogurt*. Perlakuan yang paling optimal adalah penambahan ekstrak daun stevia sebanyak 0,5%.

Kata kunci : *cocogurt*, stevia, pH, kekentalan, organoleptik

Pendahuluan

Di Indonesia, kelapa merupakan salah satu komoditas hasil perkebunan yang memiliki tingkat produksi yang cukup tinggi. Badan Pusat Statistik menyatakan bahwa produksi kelapa di Indonesia pada tahun 2017 adalah sekitar 2,9 juta ton. Selain tingginya jumlah produksi, kelapa memiliki peluang yang cukup besar untuk dijadikan berbagai macam produk pangan olahan terutama untuk bagian daging buahnya. Salah satunya adalah santan kelapa yang merupakan hasil perasan dari buah kelapa. Santan kelapa merupakan salah satu bahan pangan yang umumnya digunakan sebagai tambahan dalam proses pembuatan makanan di kehidupan sehari-hari. Penambahan santan kelapa memberikan tekstur yang lebih *creamy*, lembut dan memberikan cita rasa yang khas. Namun, belum banyak yang mengaplikasikan santan kelapa sebagai bahan dasar pembuatan minuman. Jika dibandingkan dengan susu sapi, santan kelapa memiliki kandungan nutrisi yang lebih tinggi dari susu sapi. Selain itu, santan kelapa juga akan memberikan tekstur yang lebih kental (Yaakob *et al.*, 2012). Yogurt yang dibuat dengan santan kelapa umumnya disebut sebagai *cocogurt* yang merupakan perpaduan antara kata *coconut* (asal kata bahasa Inggris yang berarti kelapa) dan yogurt.

Cocogurt (coconut yogurt) merupakan suatu produk hasil fermentasi bakteri asam laktat yang berbahan dasar santan kelapa. Santan kelapa merupakan hasil pemerasan daging kelapa yang sebelumnya telah diparut (Chairunnisa *et al.*, 2010). Santan memiliki peran untuk memberikan aroma, cita rasa dan tekstur pada suatu produk olahan. Santan merupakan emulsi lemak dalam air yang cukup stabil. Namun dalam waktu penyimpanan 5-10 jam di suhu ruang dapat menyebabkan santan terpisah menjadi dua fase, yaitu fase skim (mengandung air) pada bagian bawah dan fase krim (mengandung lemak) pada bagian atas permukaan. Selain itu, santan memiliki masa simpan hingga 6 jam jika ditempatkan pada suhu ruang sebelum mengalami kerusakan seperti adanya perubahan warna, timbul aroma tengik dan pecahnya emulsi santan (Gea *et al.*, 2016).

Dalam pembuatan *cocogurt* dapat dilakukan penambahan stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M.) sebagai pemanis pengganti dari penggunaan sukrosa. Ekstrak daun stevia memberikan nilai lebih terhadap kesehatan, karena memiliki jumlah kalori yang lebih rendah dari gula sukrosa. Stevia memiliki kandungan diterpen, triterpen, tannin, stigmasterol, minyak atsiri dan delapan senyawa pemanis diterpen glikosida yang memiliki tingkat kemanisan 200-300 kali gula sukrosa. Glikosida merupakan suatu molekul yang terdiri dari gula (glikon) yang berikatan dengan molekul non gula (aglikon). Kedua molekul tersebut dihubungkan dengan ikatan glikosida (Marlina dan Widyastuti, 2018). Delapan senyawa pemanis tersebut adalah stevioside, steviolbioside, rebaudioside-A, rebaudioside-B, rebaudioside-C, rebaudioside-D, rebaudioside-E dan Dulcoiside-E. Rasa manis dalam daun stevia sebagian besar berasal dari kandungan steviosida (3-10% dari berat kering daun) dan rebaudioside (1-3% dari berat kering daun) (Chalimah, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk melakukan penambahan ekstrak daun stevia dalam pembuatan *cocogurt* guna mengetahui pengaruhnya terhadap nilai pH dan kekentalan yang dihasilkan.

Materi dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari – Maret 2019 di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

Materi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kelapa parut yang diperoleh dari pasar Jati Semarang, daun stevia bubuk, susu skim, *starter yogurt (yogourmet)* dan alutan buffer (pH 4 dan 7). Alat yang digunakan adalah termometer, panci, timbangan analitik, gelas beker, pH meter dan inkubator.

Metode

Penelitian yang dilakukan meliputi persiapan ekstrak daun stevia, pembuatan starter yang terdiri dari bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus acidophilus*, pembuatan *cocogurt* dengan penambahan ekstrak daun stevia dan pengujian kualitas *cocogurt*.

Persiapan Santan

Santan dibuat dengan cara dicampurkannya 600 gram kelapa parut dengan 1200 ml air panas bersuhu 60°C atau dengan perbandingan 1:2. Kelapa parut kemudian diperas dan disaring untuk dipisahkan dari air santan yang diperoleh. Air santan disimpan dalam tempat yang tertutup sebelum akan digunakan.

Persiapan Ekstrak Daun Stevia

Daun stevia bubuk berukuran 80 mesh dilarutkan dalam air panas bersuhu 100°C dengan perbandingan 1:30. Larutan kemudian didiamkan selama 30 menit hingga terbentuk endapan, selanjutnya larutan disaring sehingga diperoleh filtrat yang akan digunakan dalam proses pembuatan *cocogurt*. Ekstrak daun stevia disimpan dalam wadah tertutup terlebih dahulu sebelum akan digunakan (Wuryanto dan Susanto, 2014).

Persiapan Starter *Cocogurt*

Starter yogurt yang terdiri dari campuran bakteri *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus acidophilus* disiapkan terlebih dahulu. Starter F1 dibuat dengan disiapkannya 500 ml susu skim, selanjutnya dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 10 menit. Susu skim dibiarkan hingga mencapai suhu 43 – 45°C dan diinokulasikan dengan 1 sachet kemasan starter yogurt dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi F1 selesai, dilakukan pembuatan starter F2 dengan dibuatnya medium 50 bagian susu skim dan 50 bagian santan. Medium yang telah homogen dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 10 menit dengan menggunakan autoklaf. Medium didiamkan hingga mencapai suhu 43-45°C, kemudian diinokulasi dengan starter F1 sebanyak 5%. Proses inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Starter F2 selanjutnya siap digunakan untuk pembuatan *cocogurt*.

Pembuatan *Cocogurt*

Pembuatan *cocogurt* dilakukan dengan disiapkannya santan sebanyak 1200 ml, kemudian dibagi dan dimasukkan ke dalam 4 botol jar dengan isi tiap botol sebanyak 300 ml. Setiap botol sampel ditambahkan susu skim sebanyak 15% dari total santan. Ekstrak daun stevia bubuk ditambahkan sesuai dengan perlakuan, yaitu 0% untuk T0, 0,5% untuk T1, 2% untuk T2 dan 3,5% untuk perlakuan T3, lalu diaduk hingga homogen (Reis *et al.*, 2011). Setelah homogen, santan dipasteurisasi dengan selama 10 menit pada suhu 80°C. Santan yang telah disterilisasi didinginkan dengan cepat hingga mencapai suhu 45°C, setelah itu diinokulasikan dengan starter sebanyak 5%. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 6 jam. *Cocogurt* yang telah jadi disimpan dalam keadaan dingin, yaitu pada suhu 5°C (Syaputra *et al.*, 2015).

Pengukuran Nilai pH

Pengukuran nilai derajat keasaman (pH) dilakukan dengan pH meter yang telah dikalibrasi dengan larutan buffer standar pH 7 dan 4. Elektroda dibilas dengan akuades kemudian dikeringkan dengan tisu. Pengukuran pH sampel dilakukan dengan dicelupkannya elektroda ke dalam 10 ml sampel hingga terbaca nilai pH yang telah stabil (AOAC, 1995). Elektroda dibilas dengan akuades setiap dilakukan pergantian sampel.

Penentuan Kekentalan dengan Uji Organoleptik

Pengujian sifat organoleptik dilakukan oleh 20 orang panelis semi terlatih yang dipilih dari mahasiswa Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang secara acak. Penilaian dilakukan dengan disediakannya 20 ml sampel perlakuan T0, T1, T2 dan T3 kepada setiap panelis untuk dicicipi dan dinilai berdasarkan rangking dengan parameter tingkat kekentalan. Penilaian dilakukan pada formulir yang telah disediakan dengan metode uji rangking.

Analisis Data

Data hasil pengujian pengukuran nilai pH dilakukan dengan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dengan taraf signifikansi 5% untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan. Apabila terdapat pengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*). Data hasil pengujian sifat organoleptik diuji dengan analisis non parametrik Kruskal-Wallis dengan taraf signifikansi 5%, apabila terdapat pengaruh nyata maka dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Analisis data dilakukan dengan aplikasi SPSS 16.0 *for Windows*.

Hasil dan Pembahasan

Nilai pH

Berdasarkan hasil yang terdapat pada Tabel 1, terdapat pengaruh nyata ($p < 0,05$) pada nilai pH pada semua perlakuan, mulai dari T0, T1, T2 hingga T3. Nilai pH terendah terdapat pada perlakuan T0 yaitu dengan nilai $4,46 \pm 0,05$ sedangkan nilai pH tertinggi terdapat pada perlakuan T3 yaitu dengan nilai $5,20 \pm 0,07$. Hal tersebut menunjukkan nilai pH pada sampel *cocogurt* mengalami kenaikan seiring dengan penambahan ekstrak daun stevia. Nilai pH adalah indikator yang digunakan untuk menentukan tingkat keasaman atau kebasahan dari suatu produk. Semakin rendah nilai pH *cocogurt* menunjukkan bahwa tingkat keasamannya semakin tinggi. Nilai pH dapat dipengaruhi oleh kandungan asam yang secara alami terdapat dalam suatu bahan pangan, seperti misalnya kandungan asam lemak yang terdapat pada buah kelapa yang merupakan bahan utama dalam proses pembuatan santan dalam produk *cocogurt* (Antu *et al.*, 2017). Santan segar umumnya memiliki nilai pH asam namun

mendekati netral. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya derajat keasaman atau pH dari santan segar secara umum berkisar antara 5,6 hingga 6,3 (Alyaqoubi *et al.*, 2015).

Jika dibandingkan dengan santan segar, *cocogurt* memiliki pH yang lebih rendah. Produksi asam oleh bakteri asam laktat merupakan salah satu faktor yang menyebabkan rendahnya nilai pH dari *cocogurt*. Selama proses fermentasi, aktivitas bakteri asam laktat akan menyebabkan terbentuknya asam-asam organik yang berasal dari pemecahan laktosa dan karbohidrat sederhana lainnya (Agustina *et al.*, 2015). Selama proses fermentasi, asam-asam organik seperti asam laktat, asam sitrat dan asam asetat akan terdisosiasi menjadi ion H⁺, penelitian sebelumnya menyatakan bahwa semakin banyak asam organik maka akan menyebabkan banyak ion H⁺ yang terbentuk, dengan begitu nilai hasil pengukuran pH akan semakin menurun (Widodo *et al.*, 2015). Hal tersebut juga berkaitan dengan adanya aktivitas bakteri asam laktat pada *cocogurt*. Aktivitas *Streptococcus thermophilus* akan membuat pH menjadi kurang lebih 5,5 dan penurunan pH selanjutnya akan dilakukan oleh aktivitas fermentasi oleh bakteri *Lactobacillus* (Ismawati *et al.*, 2016).

Nilai pH pada *cocogurt* mengalami kenaikan yang menandakan bahwa penambahan stevia menyebabkan semakin sedikitnya asam organik yang terbentuk. Hal tersebut dikarenakan kandungan gula pada stevia yang dapat digunakan secara maksimal dalam pertumbuhan bakteri asam laktat untuk membentuk asam organik. Menurut penelitian yang dilakukan sebelumnya kandungan *stevioside* pada daun stevia tidak dapat digunakan untuk menunjang pertumbuhan bakteri, seperti pada bakteri *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* (Kishta-Derani *et al.*, 2016). Jumlah kandungan asam yang terbentuk selama proses pertumbuhan bakteri yang dibiakkan pada media yang mengandung *stevioside* lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil asam yang diperoleh dari bakteri yang tumbuh pada media yang mengandung sukrosa, glukosa, maupun fruktosa. Selain itu, ekstrak daun stevia yang juga berperan sebagai pemanis, umumnya dapat mengurangi tingkat keasaman dan menaikkan pH dari minuman fermentasi. Semakin banyak penambahan gula maka pH akan cenderung mengalami peningkatan karena sel bakteri starter dapat mengalami osmosis jika dibiakkan dalam larutan dengan kadar gula tinggi sehingga pertumbuhannya terhambat dan laju fermentasi akan mengalami penurunan (Permatasari *et al.*, 2018).

Tabel 1. Hasil Uji Analisis *Cocogurt* dengan Penambahan Ekstrak Daun Stevia

Parameter Uji	Satuan	Perlakuan			
		T0	T1	T2	T3
Nilai pH		4,46 ± 0,05 ^a	4,82 ± 0,08 ^b	5,06 ± 0,11 ^c	5,20 ± 0,07 ^d
Sifat Organoleptik					
Kekentalan		3,40 ± 0,82 ^c	2,85 ± 0,93 ^b	2,10 ± 0,85 ^a	1,80 ± 1,15 ^a

Keterangan

*Data ditampilkan sebagai nilai rerata dari 4 ulangan

*Superscript huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan nyata (P<0,05)

*T0, T1, T2, T3, dan T4 = Konsentrasi penambahan ekstrak daun stevia 0%, 0,5%, 2% dan 3,5%

*Untuk sifat organoleptik rata-rata terendah menunjukkan intensitas tertinggi terhadap tingkat kekentalan

Tingkat Kekentalan dengan Uji Organoleptik

Berdasarkan data yang terdapat pada Tabel 1, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan nyata (p<0,05) pada perlakuan T0 dan T1, namun perlakuan T3 dan T4 tidak berbeda nyata. Penambahan ekstrak daun stevia pada *cocogurt* dapat meningkatkan kekentalan, karena gula dapat mengikat air yang dapat menyebabkan larutan menjadi semakin kental. Viskositas atau kekentalan merupakan kemampuan untuk menahan suatu fluida untuk mengalir (Gunawan *et al.*, 2012). Ekstrak daun stevia memiliki kemampuan untuk mengikat air, seiring dengan menurunnya kadar air akibat terikat oleh gula laju aliran fluida pada *cocogurt* juga akan mengalami penurunan, hal tersebut dapat menyebabkan viskositas semakin meningkat. Viskositas juga memiliki nilai yang berbanding lurus dengan total padatan terlarut *coogurt*. Seiring dengan penambahan gula maka total padatan terlarut yogurt akan semakin meningkat, hal tersebut dapat membuat viskositas atau kekentalan yogurt semakin tinggi (Hanzen *et al.*, 2016).

Peningkatan viskositas juga dapat terjadi karena protein pada santan mengalami koagulasi akibat penurunan pH yang disebabkan oleh asam-asam organik yang terbentuk karena fermentasi oleh bakteri asam laktat. Selama proses fermentasi, bakteri asam laktat akan mendegradasi monosakarida dan menghasilkan asam laktat sebagai metabolit, semakin banyak asam yang terbentuk maka jumlah koagulan protein juga akan semakin meningkat dan membuat tekstur semakin kental (Prasetyo *et al.*, 2017). Umumnya koagulasi akan terjadi ketika protein telah mencapai titik isoelektriknya. Santan akan mencapai titik isoelektrik pada pH 4,5. Pada kondisi tersebut protein akan terdenaturasi, kemudian santan akan terbentuk menjadi tiga fase. Lapisan teratas terdiri dari minyak, kemudian di bagian tengah terdapat lapisan protein dan lapisan air akan berada di bagian paling bawah (Arsana *et al.*, 2017).

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa produk *cocogurt* yang ditambahkan ekstrak daun stevia telah memenuhi standar sesuai dengan SNI 2981:2009. Secara keseluruhan, perlakuan T1 yang memiliki hasil terbaik dengan penambahan ekstrak daun stevia sebanyak 0,5%. Semakin banyak ekstrak daun stevia yang ditambahkan maka nilai pH akan mengalami peningkatan. Sedangkan uji organoleptik variasi penambahan ekstrak daun stevia menghasilkan pengaruh nyata (P<0,05) terhadap tingkat kekentalan *cocogurt*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun stevia yang ditambahkan maka akan meningkatkan kekentalan *cocogurt*.

Daftar Pustaka

- Agustina, Y., R. Kartika dan A. S. Panggabean. 2015. Pengaruh Variasi Waktu Fermentasi terhadap Kadar Laktosa, Lemak, pH dan Keasaman pada Susu Sapi yang Difermentasi Menjadi Yogurt. *Jurnal Kimia Mulawarman* 12(2): 97-100.
- Alyaqoubi, S., Abdullah, A., Samudi, M., Abdullah, N., Addai, Z. R., & Musa, K. H. (2015). Study of Antioxidant Activity and Physicochemical Properties of Coconut Milk (Pati Santan) in Malaysia. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 7(4): 967-973.
- Antu, M. Y., R. Hasbullah dan U. Ahmad. 2017. Dosis Blansir untuk Memperpanjang Umur Simpan Daging Buah Kelapa Kopyor. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian* 13(2): 92-99.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis Chemist*. Vol. 1A. Washington : AOAC Inc.
- Arsana, M. E., A. N. Mulawarman, I. W. Temaja dan I. B. P. Sukadana. 2017. Analisis Experimental Mesin Produksi Vco dengan Pemanfaatan Sistem Refrigerasi untuk Meningkatkan Kapasitas Produksi Industri VCO Rumah Tangga. *Prosiding SNITT POLTEKBA* 2(1): 229-236.
- Chairunnisa, H., W. S. Putranto dan J. Lepa. 2010. Karakteristik Produk Fermentasi dari Bahan Baku Kombinasi Susu Kambing dengan Ekstrak Kedelai, Ekstrak Jagung, atau Santan Kelapa. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 21(1): 91-94.
- Chalimah, S. 2015. Pudding Agar Waluh (*Cucurbita moschata*) Alternatif untuk Penderita Diabetes dengan Pemanis Daun Stevia (*Stevia rebaudiana*). *Proceeding University Research Colloquium* 2015 1(1): 201-207.
- Gea, S., K. Sebayang dan T. A. Aththorick. 2016. Peningkatan Kualitas Produksi Santan Kelapa sebagai Bahan Baku Industri Kuliner di Kota Medan. *Jurnal Abdimas Talenta* 1(1): 92-96.
- Gunawan, A., D. E. Sihotang dan M. Y. Thoha. 2012. Pengaruh Waktu Pemasakan dan Volume Larutan Pemasak terhadap Viskositas Pulp dari Ampas Tebu. *Jurnal Teknik Kimia* 18(2):1-8.
- Hanzen, W. E., U. S. Hastuti dan B. Lukiat. 2016. Kualitas Yoghurt dari Kulit Buah Naga Berdasarkan Variasi Spesies dan Macam Gula Ditinjau dari Tekstur, Aroma, Rasa dan Kadar Asam Laktat. *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Enviromental, and Learning* 13(1): 849-856.
- Ismawati, N., Nurwantoro dan Y. B. Pramono. 2016. Nilai pH, Total Padatan Terlarut, dan Sifat Sensoris Yoghurt dengan Penambahan Ekstrak Bit (*Beta vulgaris* L.). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 5(3): 89-93.
- Kishta-Derani, M., G. F. Neiva, J. R. Boynton, Y. E. Kim and M. Fontana. 2016. The Antimicrobial Potential of Stevia in An In Vitro Microbial Caries Model. *American Journal of Dentistry* 29(2): 87-92.
- Permatasari, D. R. I., Purwadi dan H. Evanuraini. 2018. Kualitas Kefir dengan Penambahan Tepung Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana Bertoni*) sebagai Pemanis Alami. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak* 13(2): 91-97.
- Prasetyo, J. Y., Z. Handayani dan K. Harismah. 2017. Pembuatan Yoghurt Kulit Semangka dengan Pemanis Stevia serta Uji Sifat Kimia dan Sifat Fisika. *Proceeding The 6th University Research Colloquium* 6(1): 171-176.
- Reis, R. C., V.P. Minim, H. M. Bolini, B. R. Dias, L. A. Minim dan E. B. Ceresino. 2011. Sweetness Equivalence of Different Sweeteners in Strawberry Flavored Yogurt. *Journal of Food Quality* 34(3): 163-170.
- Widodo, W., N. Munawaroh dan I. Indratiningsih. 2015. Produksi Low Calorie Sweet Bio-Yoghurt dengan Penambahan Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana*) sebagai Pengganti Gula. *AGRITTECH* 35(4): 464-473.
- Wuryantoro, H. dan W. H. Susanto. 2014. Penyusunan Standard Operating Procedures Industri Rumah Tangga Pangan Pemanis Alami Instan Sari Stevia (*Stevia rebaudiana*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2(3): 76-87.
- Yaakob, H., N. R. Ahmed, S. K. Daud, R. A. Malek, R. A. dan R. A. Rahman. 2012. Optimization of Ingredient and Processing Levels for The Production of Coconut Yogurt Using Response Surface Methodology. *Food Science and Biotechnology* 21(4): 933-940.