

**PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA DAN SUSU SKIM SEBAGAI
KRIOPROTEKTAN TERHADAP TOTAL BAL DAN KADAR ASAM
LAKTAT YOGHURT KERING BEKU**

SKRIPSI

**Disusun Oleh:
QOTRUN NADA ALAWIYAH
NIM. 17620114**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA DAN SUSU SKIM SEBAGAI
KRIOPROTEKTAN TERHADAP TOTAL BAL DAN KADAR ASAM
LAKTAT YOGHURT KERING BEKU**

SKRIPSI

**Oleh:
Qotrun Nada Alawiyah
NIM. 17620114**

**Diajukan Kepada
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM MEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

SKRIPSI

**PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA DAN SUSU SKIM
SEBAGAI KRIOPROTEKTAN TERHADAP TOTAL BAL DAN
KADAR ASAM LAKTAT YOGHURT KERING BEKU**

SKRIPSI

Oleh:

QOTRUN NADA ALAWIYAH

NIM.17620114

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:

15 Juni 2022

Pembimbing I



Ir. Liliek Harianie, A.R, MP
NIP. 196209011998032001

Pembimbing II



Dr. H. M. Imamudin, Lc. MA
NIP. 197406022009011010

Ketua Program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2002

SKRIPSI

PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA DAN SUSU SKIM SEBAGAI KRIOPROTEKTAN TERHADAP TOTAL BAL DAN KADAR ASAM LAKTAT YOGHURT KERING BEKU

SKRIPSI

Oleh:

QOTRUN NADA ALAWIYAH

NIM. 17620114

telah dipertahankan

di depan Dewan Penguji Skripsi dan dinyatakan diterima
sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains (S.Si)

Penguji Utama : Prof. Dr. Ulfah Utami, M. Si
NIP. 196505091999032002



Ketua Penguji : Prof. Dr. Bayyinatul Muchtaromah, M, Si
NIP. 197410182003122002



Sekretaris Penguji : Ir. Liliek Harianie, A.R, MP
NIP. 196209011998032001



Anggota Penguji : Dr. H. M. Imamudin, Lc. MA
NIP. 197406022009011010



Mengesahkan,
Ketua program Studi Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2002

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan rasa syukur kepada Allah SWT, skripsi ini dipersembahkan kepada semua orang yang telah mendoakan, memotivasi, serta mendukung penulis dalam menyelesaikannya, khususnya kepada:

1. Kedua Orang Tua saya, Bapak H. Hamid dan Ibu Hj. Sitrowati yang telah merawat, mendidik serta mendoakan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik
2. Kakak saya, Wardatul Washilah yang selalu memberi suport kepada penulis.
3. Didik Wahyudi, M. Si., selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan kepada penulis dari awal hingga akhir studi
4. Ir. Liliek Harianie, A.R, MP., selaku dosen pembimbing skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga, serta ilmu untuk memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik
5. Dr. H. M. Imamudin, Lc,M.A., selaku dosen pembimbing agama yang telah sabar memberikan bimbingan terkait integrasi sains dan islam
6. Retno Novitasari H. D., M.Sc., selaku laboran Mikrobiologi yang memberi arahan dan bimbingan selama penelitian
7. Teman-teman kontrakan “Halal Entertainment” yang senantiasa membantu dari awal hingga akhir penelitian.
8. Teman-teman seperjuangan Wolves Biologi 2017 dan D’Werkewer 2017 yang telah memberikan semangat dan senantiasa memotivasi penulis untuk menyelesaikan studi ini dengan baik

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Qotrun Nada Alawiyah
NIM : 17620114
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan
Susu Skim terhadap Total Bakteri
Asam Laktat dan Kadar Asam Laktat
Yoghurt Kering Beku

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, dan / atau pikir orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan dan/atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 15 Juni 2022

Yang membuat



Qotrun Nada Alawiyah
NIM. 17620114

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

MOTTO

“Sesungguhnya Bersama Kesusahan Ada Kemudahan”

PENGARUH KONSENTRASI SUKROSA DAN SUSU SKIM SEBAGAI KRIOPROTEKTAN TERHADAP TOTAL BAL DAN KADAR ASAM LAKTAT YOGHURT KERING BEKU

Qotrun Nada Alawiyah, Ir. Liliek Harianie, AR. MP, Dr.M. Imamuddin., Lc
Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Yoghurt merupakan produk susu fermentasi yang banyak dikonsumsi masyarakat. Yoghurt mengandung bakteri asam laktat yang tidak tahan lama di suhu ruang. Sehingga dilakukan upaya untuk membuat yoghurt dalam bentuk serbuk dengan menggunakan teknik pengeringan beku (*Freeze Dryer*). Proses pengeringan beku menggunakan suhu rendah dapat merusak sel bakteri sehingga perlu adanya zat krioprotektan berupa sukrosa dan susu skim dengan konsentrasi yang berbeda. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mempertahankan total bakteri asam laktat yang dihitung dengan metode TPC dan kadar asam laktat dengan titrasi asam sebagai parameternya. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap.*one way* ANOVA yaitu jenis krioprotektan, konsentrasi yang digunakan 0%,5%,10%,15%, dan wujud yoghurt. Berdasarkan hasil analisis statistik perlakuan konsentrasi sukrosa dan susu skim memberikan pengaruh tidak signifikan terhadap total bakteri asam laktat dan memberi pengaruh secara signifikan terhadap kadar asam laktat yoghurt.

Kata Kunci : Krioprotektan, Pengeringan Beku, Yoghurt

Effect Of Concentration Of Sucrose And Skim Milk as Cryoprotectants on Total Lab and Lactic Acid Levels Of Freeze Dried Yogurt

Qotrun Nada Alawiyah, Ir. Liliek Harianie, AR. MP, Dr. H.M. Imamuddin., Lc

Biology Study Program, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Yogurt is a fermented milk product that is widely consumed by the public. Yogurt contains lactic acid bacteria which do not last long at room temperature. So an effort was made to make yogurt in powder form using the Freeze Dryer technique. Freeze-drying process using low temperatures can damage bacterial cells, so it is necessary to have cryoprotectants in the form of sucrose and skim milk with different concentrations. The purpose of this study was to maintain the total lactic acid bacteria calculated by the TPC method and the levels of lactic acid using acid titration as a parameter. This study used a completely randomized design method. One way ANOVA was the type of cryoprotectant, the concentration used was 0%, 5%, 10%, 15%, and the form of yogurt. Based on the results of statistical analysis, the concentration of sucrose and skim milk had an insignificant effect on the total lactic acid bacteria and had a significant effect on yogurt lactic acid levels.

Keywords : Cryoprotectant, Freeze Drying, Yoghurt

تأثير تركيز السكروز والحليب الخالي من الدسم كمواد واقية من التجمد على إجمالي مستويات وحمض اللاكتيك من الزبادي المجفف بالتجميد LAB

قطر الندى علاوية, ليليك حارياي, محمد إمام الدين

قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج

الملخص

الزبادي هو منتج حليب مخمر يستهلكه الجمهور على نطاق واسع. يحتوي الزبادي على بكتيريا حمض اللاكتيك التي لا تدوم طويلاً في درجة حرارة الغرفة. لذلك تم بذل جهد لصنع الزبادي في شكل مسحوق باستخدام تقنية التجفيف بالتجميد. تستخدم عملية التجفيف بالتجميد درجات حرارة منخفضة، لذلك من الضروري وجود مواد واقية من التجمد على شكل سكروز وحليب خالي الدسم بتركيزات مختلفة. الهدف من هذه الدراسة هو الحفاظ على مجموع بكتيريا حمض اللاكتيك المحسوبة بطريقة TPC ومستويات حمض اللاكتيك باستخدام معايرة الحمض كعامل. استخدمت هذه الدراسة طريقة التصميم العشوائي الكامل العامل (CRD) ثلاثة عوامل، وهي نوع الوافي من التجمد على شكل سكروز وحليب خالي الدسم، وكان التركيز المستخدم 0.5٪، 5.0٪، 10.0٪، العامل الثالث، وهي اللبن، لوحظ في شكل سائل ومسحوق. بناءً على نتائج التحليل الإحصائي، كان لتركيز السكروز والحليب الخالي من الدسم تأثير معنوي على مجموع بكتيريا حمض اللاكتيك ومستويات حمض اللاكتيك في اللبن.

الكلمات الرئيسية: بكتيريا حمض اللاكتيك، واقية من التجمد (كاريو فروتكتان)، التجفيف بالتجميد

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr Wb.

Bismillahirrahmanirrahim, Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana Sains (S.Si). Kedua, shalawat serta salam penulis haturkan pada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umat Islam dari jaman kegelapan hingga zaman yang terang benderang. Puji syukur Alhamdulillah penulis telah menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “Pengaruh Mikroenkapsulasi Menggunakan Susu Skim dan Sukrosa Berdasarkan total BAL dan Kadar Asam Laktat Yoghurt”

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan, dukungan, bimbingan, dan do'a sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini. Ucapan terima kasih ini penulis ucapkan kepada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Sri Harini, M.Si., selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P., selaku Kaprodi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Ir. Liliek Harianie A.R.,M.P selaku dosen pembimbing yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran.
5. Dr. H. M. Imamudin, Lc., M.A., selaku dosen pembimbing II yang telah membimbing penulis dengan keikhlasan dan kesabaran dan bersedia meluangkan waktu untuk penulis bisa mengerjakan tugas akhir hingga selesai
6. Didik Wahyudi, M.Si selaku Dosen Wali yang telah membimbing penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir
7. Prof. Dr. Ulfah Utami, M. Si dan Prof. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
8. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang serta Laboran di Program Studi Biologi Universitas Islam Malang yang telah memberikan bimbingan dan bantuan kepada penulis
9. Umi Dra. Hj. Sitrowati dan Abi Drs. H. Hamid, MM., serta seluruh keluarga besar tercinta yang telah memberikan doa, dukungan materil, dan motivasi kepada penulis hingga bisa menyelesaikan tugas akhir hingga selesai.

10. Teman-teman angkatan 2017, teman-teman kelas D, dan teman-teman kontrakan “Halal Entertainment” yang telah banyak membantu dalam pelaksanaan penelitian hingga tugas akhir dapat terselesaikan dengan baik.

Semoga semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan yang berlimpah dari Allah SWT. Penulis telah berusaha untuk menuliskan skripsi ini dengan baik, apabila masih terdapat kesalahan dan kekurangan dalam skripsi ini, penulis mengharapkan saran dan masukan yang membangun untuk bisa dilakukan perbaikan.

Wassalamualaikum Wr.Wb.

Malang, 8 Juni 2022

Qotrun Nada Alawiyah

DAFTAR ISI

SKRIPSI	i
SKRIPSI	ii
SKRIPSI	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
المخلص	x
KATA PENGANTAR	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan	7
1.4 Manfaat	8
1.5 Hipotesis.....	8
1.6 Batasan Masalah.....	8
BAB II	10
TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Integrasi	10
2.2 Yoghurt	12
2.3 Bakteri Asam Laktat (BAL).....	13
2.4 Mekanisme Fermentasi Bakteri Asam Laktat	16
2.5 Metode Mikroenkapsulasi (Freeze Drying)	19
2.6 Krioprotektan	22
2.7 Total Bakteri Asam Laktat (BAL)	25

2.8 Kadar Asam Laktat	26
BAB III.....	29
METODE PENELITIAN	29
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	29
3.2 Variabel Penelitian	30
3.2.1 Variabel Bebas	30
3.2.2 Variabel Terikat	30
3.3 Waktu dan Tempat	30
3.4 Alat dan Bahan.....	30
3.4.1 Alat.....	30
3.4.2 Bahan.....	31
3.5 Metode Penelitian.....	31
3.6 Prosedur Penelitian.....	31
3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	31
3.6.2 Penambahan Krioprotektan.....	31
3.6.3 Pembuatan Media <i>de Man Rogosa and Sharpe Agar</i> (MRSA)	32
3.6.4 Pengujian Total Bakteri Asam Laktat	32
3.6.5. Pengujian Kadar Asam Laktat	33
3.7. Analisis Data	33
BAB IV	35
HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Total Bakteri Asam Laktat	35
4.2 Kadar Asam Laktat	43
BAB V.....	48
PENUTUP.....	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN.....	59

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.1 Rataan Total Bakteri Asam Yoghurt Cair	27
Tabel 4.1.1 Rataan Total Bakteri Asam Yoghurt Serbuk	29
Tabel 4.2.1 Rataan Kadar Asam Laktat Yoghurt Cair	33
Tabel 4.2.2 Rataan Kadar Asam Laktat Yoghurt Serbuk	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Data Yoghurt Cair dan Serbuk	45
Lampiran 2. Hasil Analisis Spss Yoghurt Cair dan Serbuk	49
Lampiran 3. Gambar Pengamatan	57
Lampiran 4. Kartu Konsultasi Pembimbing Biologi	60
Lampiran 5. Kartu Konsultasi Pembimbing Agama	61
Lampiran 6. Bukti Plagiasi	62

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Yoghurt adalah produk susu fermentasi yang dikonsumsi masyarakat karena rasa, nutrisi, dan manfaat kesehatannya (Weerathilake, 2014). Yoghurt berasal dari susu fermentasi yang umumnya dilakukan oleh 2 spesies Bakteri Asam Laktat (BAL) yaitu *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* (Corrieu, 2016). *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* diakui aman dikonsumsi dan tidak mengakibatkan patogenitas, di Amerika Serikat bakteri ini memiliki status *Generally Recognized As Safe* (GRAS) (Martinovic, 2020). Allah berfirman dalam Al-Qur'an surah Al-Baqarah ayat 168, yang berbunyi:

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ
عَدُوٌّ مُّبِينٌ ١٦٨

Artinya: "Wahai manusia! Makanlah dari (makanan) yang halal dan baik yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah setan. Sungguh, setan itu musuh yang nyata bagimu" (QS. Al-Baqarah [2]: 168).

Ibnu Jarir Ath-Thabari dalam tafsirnya kitab tafsir Ath-Thabari menjelaskan kata حَلَالًا طَيِّبًا yang menunjukkan makna halal secara mutlak, suci, tidak najis, dan tidak haram. Berdasarkan tafsir Kemenag (2021), manusia diperintahkan untuk makan dari makanan yang tidak haram, yaitu makanan halal baik dari segi dzatnya maupun cara memolehnya. Selain yang halal, makanan yang dikonsumsi juga harus bersifat baik, yaitu makanan yang bergizi, aman, tidak mendatangkan penyakit dan juga tidak berlebihan. Manusia dapat

memperoleh makanan tersebut dari bumi yang telah Allah sediakan untuk semua makhluk-Nya. Dengan begitu, dalam memenuhi kebutuhan jasmaninya, maka Allah melarang manusia untuk mengikuti rayuan setan yang selalu melanggar ketentuan dari Allah dalam hal memperoleh makanan.

Allah juga menyediakan bahan-bahan di bumi ini untuk menunjang kehidupan makhluknya, sebagaimana firman Allah dalam Al-Qur'an surat Al-Ma'idah ayat 112 yang berbunyi:

إِذْ قَالَ الْحَوَارِيُّونَ يُعِيسَى ابْنُ مَرْيَمَ هَلْ يَسْتَطِيعُ رَبُّكَ أَنْ يُنَزِّلَ عَلَيْنَا مَائِدَةً مِنَ السَّمَاءِ ۗ قَالَ أَتَقُولُونَ اتَّقُوا اللَّهَ إِنَّ كُنْتُمْ مُؤْمِنِينَ ۝ ١١٢

Artinya: “(Ingatlah) ketika para pengikut setia Isa berkata, “Wahai Isa putra Maryam, sanggupkah (bersediakah) Tuhanmu menurunkan hidangan dari langit kepada kami?” Isa menjawab, “Bertak-walah kepada Allah jika kamu orang-orang mukmin.” (QS. Al-Ma'idah [5]: 112).

M. Quraish Shihab dalam tafsirnya kitab tafsir Al-Misbah (2002) menjelaskan pada ayat ini kata مَائِدَةٌ yang berarti wadah yang berisi hidangan atau hidangan atau makanan yang dihidangkan. Pada ayat ini Allah menceritakan antara pertanyaan kaum Hawariyyin yang selanjutnya diterangkan jawaban Nabi Isa terhadap kaum tersebut. Dalam jawaban tersebut Nabi Isa menyuruh mereka agar bertakwa kepada Allah, dengan cara tidak meminta atau mengajukan permintaan apa saja yang terkesan mereka meragukan Allah, termasuk di dalamnya mereka meminta Allah untuk menurunkan hidangan. Allah maha kuasa atas segalanya. Memberikan hidangan berupa makanan merupakan sesuatu yang telah Allah berikan tanpa mereka minta. Allah maha mulia, Allah telah

memberikan karunia terhadap hamba-Nya atas segala sesuatu yang ada di bumi, Allah juga telah menyediakan segala kebutuhan termasuk di dalamnya tempat tinggal, pakaian, dan makanan. Oleh karena itu, tugas kita sebagai manusia hendaknya dapat memanfaatkan dan mengolah apapun yang telah disediakan oleh Allah untuk menunjang kebutuhan hidup manusia (Kemenag, 2019). Adapun salah satu upaya yang bisa dilakukan untuk menjalankan perintah Allah yaitu mengonsumsi minuman yang baik bagi kesehatan, misalnya yoghurt. Menurut Syainah (2014) menyatakan bahwa diantara manfaat yang dimiliki yoghurt yaitu sebagai antidiare, meningkatkan pertumbuhan, mengatur kadar kolesterol dalam darah, membantu penderita lactose intolerance.

Yoghurt merupakan produk fermentasi susu yang mengandung BAL, menurut Gaidhani (2015) bakteri karakteristik BAL yang paling dikenal terkait dengan sifat pengawet adalah kemampuannya untuk menghasilkan asam, yang pada gilirannya menunjukkan aktivitas antimikroba. Bhattacharya (2018) Pengasaman susu melindungi susu terhadap mikroorganisme pembusuk dan poliferasi patogen, BAL juga melepaskan bakteriosin dan asam yang berpotensi untuk dijadikan pengawet alami yang aman untuk dikonsumsi. Menurut Trisnawita (2018) kelangsungan hidup probiotik salah satunya dipengaruhi oleh suhu penyimpanan. (2011) Yoghurt yang mengandung probiotik memiliki umur pendek pada penyimpanan suhu ruang, sifat ini menimbulkan masalah baik bagi konsumen dan produsen karena manfaat mengonsumsi bakteri probiotik hanya diperoleh jika dikonsumsi dalam jumlah yang tepat. Bakteri *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* merupakan jenis probiotik yang saling mendukung dan bersimbiosis

dalam pertumbuhan dalam proses fermentasi. Menurut Lindawati (2014) tingginya produksi yoghurt seiring dengan jumlah konsumen, namun yang banyak dipasarkan adalah yoghurt cair yang memiliki kadar air yang tinggi sehingga mudah ditumbuhi oleh bakteri patogen, sehingga perlu adanya inovasi atau adanya pembaharuan terkait dengan produksi yoghurt. Allah SWT berfirman dalam surah Al-Baqaroh ayat 30 seperti ayat dibawah ini:

وَإِذْ قَالَ رَبُّكَ لِلْمَلَائِكَةِ إِنِّي جَاعِلٌ فِي الْأَرْضِ خَلِيفَةً قَالُوا أَتَجْعَلُ فِيهَا مَنْ يُفْسِدُ فِيهَا وَيَسْفِكُ الدِّمَاءَ وَنَحْنُ نُسَبِّحُ بِحَمْدِكَ وَنُقَدِّسُ لَكَ قَالَ إِنِّي أَعْلَمُ مَا لَا تَعْلَمُونَ ۝ ٣٠

Artinya: *“Ingatlah ketika Tuhanmu berfirman kepada para malaikat: Sesungguhnya Aku hendak menjadikan seorang khalifah di muka bumi”. Mereka berkata: “Mengapa Engkau hendak menjadikan (khalifah) di bumi itu orang yang akan membuat kerusakan padanya dan menumpahkan darah, padahal kami senantiasa bertasbih dengan memuji Engkau dan mensucikan Engkau?” Tuhan berfirman: ‘Sesungguhnya Aku mengetahui apa yang tidak kamu ketahui’” (QS. Al-Baqarah [2]: 30).*

Berdasarkan tafsir Al-Misbah pada AL-Baqaroh ayat 30 dinyatakan bahwa Allah SWT menciptakan manusia untuk menjadi Khalifah-Nya di bumi. Kata “menjadi Khalifah” dalam ayat tersebut mengandung makna bahwa Allah SWT menjadikan manusia wakil atau pemegang kekuasaan-Nya mengurus dunia dengan jalan melaksanakan segala yang diridhai-Nya di muka bumi ini. Untuk dapat melaksanakan tugasnya menjadi khalifah Allah, manusia diberi akal pikiran dan kalbu yang tidak diberikan kepada makhluk lain. Oleh karena itu, terdapat tanda-tanda yang harus dipahami manusia (ulul albab). Ulul Albab adalah orang-orang yang selalu mengingat Allah dan merenungkan hakikat ciptaan-Nya. Sebagai makhluk hidup yang dibekali dengan akal pikiran manusia diharuskan

selalu mengingat Allah SWT dalam melakukan tugas-tugas keilmuan dengan cara menganalisis dan mencari sebab yang terjadi dalam suatu masalah yang tidak diketahuinya. Sebagai makhluk hidup yang dibekali dengan pikiran manusia diharuskan selalu mengingat Allah SWT dalam melakukan tugas-tugas keilmuan, dan selalu menggunakan pikirannya untuk memikirkan segala sesuatu yang telah diciptakan oleh Allah SWT melalui penelitian ilmiah. Al-Qur'an menekankan pentingnya mengamati fenomena alam yang terjadi (Shihab, 2012). Ayat tersebut mengingatkan bahwa salah satu dari yang Allah perintahkan adalah melaksanakan tugas-tugas keilmuan, diataranya dalam konteks ini melakukan inovasi atau pembaharuan terhadap yoghurt yang bertujuan untuk memperpanjang masa simpan dan tanpa merusak kandungan didalamnya.

Freeze-drying atau liofilisasi adalah salah satu teknik mikroenkapsulasi yang bekerja melalui proses dehidrasi dan bekerja dengan cara membekukan suatu campuran bakteri dan penyalut kemudian mengurangi tekanan di sekitarnya agar air yang dibekukan dapat menyublim langsung dari fasa padat ke fasa gas selama 72 jam (Ariesca, 2015). Prosesnya dilakukan dengan membekukan probiotik dengan adanya bahan pelindung pada suhu rendah, diikuti dengan sublimasi air pada kondisi vakum. Salah satu keuntungan terpenting adalah transisi fase air dan oksidasi dapat dihindari. Untuk meningkatkan aktivitas probiotik setelah pengeringan beku dan juga menstabilkannya selama penyimpanan (Chavarri et al., 2012). Kelebihan produk hasil kering beku yaitu tidak rentan ditumbuhi mikroorganisme patogen, pengeringan beku melalui proses sublimasi sehingga menghasilkan produk kering yang porus, porositas akan membuat produk mudah

dilarutkan, selanjutnya produk kering beku bisa disimpan tanpa refrigasi (Hariyadi, 2013). Sedangkan kelemahan dari teknik pengeringan beku dapat mengakibatkan kerusakan pada membran sel dan mengakibatkan sel terkepung dalam kristal es sehingga merusak membran dan sel menjadi lisis (Wowk, 2007).

Upaya untuk meminimalisir terjadinya kerusakan pada sel, dapat dilakukan dengan menambahkan krioprotektan. Krioprotektan adalah senyawa kimia yang mencegah sel atau jaringan dari kerusakan karena pembekuan (Bhattacharya, 2018). Menurut Rizqiati (2006) penggunaan karbohidrat dan protein sebagai krioprotetan dapat menjaga ketahanan terhadap bakteri probiotik. Kemudian dilanjutkan oleh penjelasan Morgan et, al (2006) sukrosa dapat berfungsi sebagai bahan pelindung untuk bakteri, aman dikonsumsi, dan mampu meningkatkan rasa manis. Menurut Kim et al. (2021) penggunaan penyalut susu skim dapat menghambat rekristalisasi es di saat proses pembekuan pada mikroenkapsulasi metode freeze-drying. Hal ini karena laktosa dan berbagai protein susu (kasein, laktoglobulin, laktoglobulin, albumin serum sapi, laktoferin di antara lainnya) memiliki kemampuan untuk melindungi struktur dan fungsi seluler bakteri selama dehidrasi dan rekristalisasi es.

Berdasarkan penelitian sebelumnya dari Roosynda (2015) menyatakan bahwa variasi konsentrasi sukrosa dan susu skim yang ditambahkan sebagai krioprotektan pada bakteri *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, dan *L. plantarum* dan hasil paling optimum pada konsentrasi 5%, tetapi tidak jauh berbeda hasilnya dengan yang ditambahkan sukrosa 10% dan 15% sehingga penggunaan dengan kedua konsentrasi tersebut masih diperbolehkan. Menurut Maryana (2014)

penggunaan sukrosa dengan konsentrasi tinggi akan mengakibatkan tekanan osmotik menjadi tidak seimbang antara cairan luar dan dalam sel sehingga menjadi lisis hingga mengakibatkan kematian pada sel bakteri, sehingga perlu dilakukan pada beberapa konsentrasi untuk mendapatkan konsentrasi yang optimum. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu penghitungan total bakteri asam laktat. Penghitungan total BAL bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri yang digunakan untuk pengawetan dengan menggunakan metode hitung cawan (TPC) (Soesatyoningih, 2020). Selanjutnya adalah uji kadar asam laktat yang mana jumlah asam laktat sebagai hasil fermentasi menunjukkan aktivitas bakteri asam laktat (Tari, 2020).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Adakah pengaruh jenis krioprotektan, konsentrasi, dan wujud yoghurt terhadap total bakteri asam laktat yoghurt?
2. Adakah pengaruh jenis krioprotektan, konsentrasi, dan wujud yoghurt terhadap kadar asam laktat yoghurt?

1.3 Tujuan

Tujuan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh jenis krioprotektan, konsentrasi, dan wujud yoghurt terhadap total bakteri asam laktat yoghurt.

2. Untuk mengetahui pengaruh jenis krioprotektan, konsentrasi, dan wujud yoghurt terhadap kadar asam laktat yoghurt.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan ilmu tentang pengaruh krioprotektan (susu skim dan sukrosa) terhadap total bakteri asam laktat dan kadar asam laktat yoghurt cair dan yoghurt serbuk.
2. Mendapatkan informasi jenis krioprotektan (susu skim dan sukrosa) yang paling berpengaruh terhadap total bakteri asam laktat dan kadar asam laktat yoghurt cair dan yoghurt serbuk.
3. Hasil penelitian dapat digunakan untuk pengembangan dan praktik serta sebagai acuan bagi penelitian ilmu biologi khususnya mikrobiologi pangan.

1.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Ada pengaruh jenis krioprotektan, konsentrasi, dan wujud yoghurt terhadap total bakteri asam laktat yoghurt.
2. Ada pengaruh jenis krioprotektan, konsentrasi, dan wujud yoghurt terhadap kadar asam laktat yoghurt.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Yoghurt yang digunakan adalah yoghurt plain instan
2. Penambahan susu skim dan sukrosa tidak dikombinasikan
3. Konsentrasi sukrosa yaitu 0%,5%,10%,15%
4. Konsentrasi susu skim yaitu 0%,5%,10%,15%
5. Media pertumbuhan bakteri adalah MRSA
6. Pelarut krioprotektan yang digunakan adalah PBS (Phosphat Buffer Saline)
7. Metode mikroenkapsulasi yang digunakan yaitu pengeringan beku (Freeze Drying)
8. Metode penghitungan total bakteri asam laktat menggunakan TPC
9. Pengeringan beku (Freeze drying) dilakukan selama 3 x 24 jam dengan suhu -72°C dan tekanan 100 mTorr

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Integrasi

Yoghurt merupakan minuman fermentasi yang telah banyak diproduksi dan dikonsumsi, namun perlu adanya inovasi untuk mampu mempertahankan dan meningkatkan kualitas yoghurt. Salah satu dari perintah Allah kepada manusia yang berakal adalah berpikir, sehingga dapat terus mengembangkan dan memanfaatkan semua yang telah Allah ciptakan. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam surat Ali Imran ayat 191 sebagai berikut:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمٰوٰتِ
وَالْاَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَطْلًا سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۱۹۱

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (190) (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka"*.(Q.S: Ali-Imran [3]: 190-191).

Dalam Surat Ali Imran berdasarkan Tafsir Ibnu Kasir menjelaskan bahwa terdapat beberapa tanda kekuasaan Allah yang ada dilangit dan bumi yang mampu dijangkau oleh indera yang dimiliki makhluk-makhluk yang Allah ciptakan diantaranya daratan, laut, gunung, hewan, serta berbagai jenis makanan. Kekuasaan Allah memberikan tanda-tanda yang ditujukan kepada hamba-hambanya agar menjadi ulul albab. Ulul Albab bukan hanya orang-orang yang selalu mengingat Allah tapi juga merenungkan hakikat ciptaan-Nya. Manusia

adalah makhluk hidup yang dibekali dengan akal agar selalu mengingat Allah SWT dalam melaksanakan tugas-tugas keilmuan, dan selalu menggunakan pikirannya untuk memikirkan semua yang telah diciptakan oleh Allah SWT melalui penelitian ilmiah. Al-Qur'an menekankan pentingnya mengamati fenomena alam yang terjadi (Abdullah, 2003). Makhluk hidup yang berperan dalam proses fermentasi yoghurt adalah bakteri. Sebagaimana dijelaskan dalam surah Al Baqarah ayat 26:

﴿إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةٌ فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ۚ ۲۶﴾

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka. Dan adapun mereka yang kafir mengatakan: ‘Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?’ dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik.*” (QS. Al-Baqarah [2]: 26).

Abdullah bin Muhammad Alu Syaikh dalam tafsirnya kitab tafsir Ibnu Katsir (2003), pada penggalan ayat *فَمَا فَوْقَهَا* (yang lebih rendah dari itu), terdapat dua pendapat. Pendapat pertama, memiliki arti “yang lebih kecil” dan hina sebagaimana jika seseorang disifati dengan tabi’at keji dan kikir. Pendapat kedua memiliki arti “yang lebih besar darinya” karena tidak ada yang lebih hina dan kecil dari pada perumpamaan nyamuk. Kedua pendapat tersebut menunjukkan bahwa kuasa Allah SWT atas segala sesuatu yang diciptakan, dengan berbagai ukuran karena tidak satupun sesuatu yang diciptakannya dianggap remeh bahkan

sesuatu atau makhluk yang tidak bisa dilihat dengan mata telanjang. Hanya orang-orang beriman yang mempercayai dan meyakini bahwa setiap apapun yang di ciptakan oleh Allah SWT memiliki manfaat bagi kehidupan manusia.

Sebagaimana Allah SWT menciptakan mikroorganisme, meskipun ukurannya sangat kecil akan tetapi keberadaannya membawa manfaat yang besar bagi kehidupan manusia. Salah satunya yaitu bakteri yang berperan dalam industri fermentasi sehingga banyak dimanfaatkan oleh manusia. Menurut Hill (2014) Bakteri yang lebih dikenal sebagai pembawa penyakit pada kondisi tertentu akan memberikan manfaat, salah satu bakterinya adalah Bakteri Asam Laktat (BAL) kelompok probiotik.

2.2 Yoghurt

Kata yoghurt berasal dari bahasa turki yaitu kata “jugurt” yang berarti susu asam (Budiastuti, 2012). Yoghurt adalah produk yang diperoleh dari susu yang dipasteurisasi, kemudian di fermentasi oleh bakteri yang umumnya menggunakan *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* yang mengakibatkan terjadinya pengasaman dan susu terkoagulasi (Rahman, 2015). Yoghurt merupakan sumber makronutrien terutama kandungan protein, vitamin, kalsium, fosfor, dan mineral (Samicha, 2014). Vitamin yang terkandung dalam yoghurt yaitu vitamin A, B kompleks, B1 (thiamin), B2 (Riboflavin), B6 (Piridoksin), B12 (Sianokobalamin), vitamin C, vitamin D, E, asam folat, asam nikotinat, asam pantotenat, biotin dan kolon (Gahruie, 2015). Manfaat mengonsumsi yoghurt antara lain untuk intoleransi laktosa, menekan pertumbuhan bakteri patogen yang mampu menginfeksi saluran

pencernaan, mereduksi kanker di saluran pencernaan, mereduksi jumlah kolesterol dalam darah dan stimulasi sistem saraf, stimulasi pembuangan kotoran (Astuty, 2021)

Faktor yang mempengaruhi kualitas yoghurt antara lain jenis strain bakteri probiotik, Kriteria yang diinginkan untuk pemilihan probiotik adalah bakteri yang memiliki sifat fungsional, tanpa memberikan dampak negatif secara teknologikal dan keamanannya. Strain probiotik yang dipilih dapat menunjukkan efek antagonis terhadap terhadap berbagai mikroorganisme yang mengakibatkan hilangnya viabilitas sel (Terpou et al, 2019). Faktor kedua yaitu lama penyimpanan yang biasanya disimpan dalam kondisi beku, hal ini dikarenakan kondisi beku bisa mengakibatkan kerusakan pada sel bakteri probiotik. Pembekuan dapat memberikan tekanan mekanik yang ditimbulkan oleh perkembangan kristal es di dalam sel. Lama penyimpanan pada sel bakteri probiotik merupakan pokok masalah untuk mempertahankan viabilitas bakteri (Terpou et al, 2019).

2.3 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri Asam Laktat (BAL) termasuk dalam bakteri gram positif, tidak membentuk spora, bersifat aerotoleran, dan asam laktat merupakan salah satu dari hasil fermentasi yang menggunakan karbohidrat dan berkontribusi pada rasa, tekstur, dan aroma (Quinto *et al.*, 2014). BAL memiliki dinding sel berupa peptidoglikan yang memiliki komponen berupa peptida atau beberapa asam amino serta glikan atau karbohidrat (Zoumpopoulou et al, 2018). Bakteri asam laktat

telah diklasifikasikan dalam genus/spesies yang berbeda berdasarkan jenis asam yang diproduksi dengan memfermentasi gula dan pertumbuhannya pada suhu tertentu (Ayivi, 2020). Berdasarkan jenis fermentasinya, bakteri asam laktat dibagi menjadi fermentasi homofermentatif dan heterofermentatif (Abbasiliasi, 2017). Menurut Gupta (2018) bahwa BAL membutuhkan nutrisi yang kompleks seperti asam amino, vitamin (B1, B6, B12, dan biotin), sehingga BAL banyak ditemukan di habitat yang kaya akan nutrisi misalnya pada susu dan dalam tubuh manusia tepatnya usus.

Berdasarkan sisi ketahanan hidupnya secara fisiologis, BAL mampu bersaing menjadi bakteri yang dominan pada berbagai kondisi lingkungan (Papadimitriou, 2018). Di dalam tubuh BAL mampu bertahan melewati sistem pencernaan yang memiliki pH rendah yaitu + 1,5 (Reyes & nava, 2015) kemampuan ini menyebabkan BAL bertahan hidup dan kemudian tumbuh berkembang di dalam perut manusia maupun hewan untuk menekan bakteri patogen (Yulita, 2014) Selain ketahanan terhadap lingkungannya, BAL juga berperan penting dalam menciptakan komponen kimia bahan pangan yang dapat mempertajam aroma, memperbaiki tekstur, dan mengubah mutu akhir produk, menghasilkan substansi antimikroba dan berperan sebagai probiotik (Nguyen et al, 2013). Dalam memproduksi senyawa antimikroba yaitu bakteriosin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Mallesha, 2010). Mekanisme kerja bakteriosin sebagai antimikroba menurut Anumdu (2019) yaitu mampu menghambat produksi energi, selain itu mengurangi stabilitas membran sitoplasma sehingga terjadi kebocoran yang mengakibatkan keluar masuknya

molekul sel yang mampu menghambat pertumbuhan sel hingga kematian bakteri patogen.

Streptococcus thermophilus memiliki karakteristik berbentuk kokus, bakteri gram positif membentuk rantai, dan memiliki pH optimum 6,5 (Hidayat, 2006). *Streptococcus thermophilus* dalam pembentukan asam laktat melalui fermentasi laktosa hingga mencapai pH 5,5. Selain itu juga akan melepaskan oksigen dan menghasilkan senyawa volatile. *S. thermophilus* adalah spesies yang digunakan dalam starter kultur. Bakteri ini termasuk bakteri yang membutuhkan suhu yang lebih tinggi untuk proses inkubasi yaitu sekitar 35-43°C (Mahmood, 2013). Menurut Uriot (2017) *S. thermophilus* adalah satu-satunya spesies dari genus streptococcus yang digunakan dalam industri makanan dan telah dikonsumsi manusia tanpa menimbulkan penyakit. Keamanan spesies ini juga telah diakui aman oleh Food and Drug Administration (FDA). Selanjutnya, manfaat *S. thermophilus* menurut Hidayat (2006) yaitu efisien dalam mencerna laktosa, mampu menghancurkan bakteri patogen dan merangsang sitokin yang terlibat dalam suatu kekebalan serta meningkatkan nilai makanan dengan pembuatan mikronutrien.

Lactobacillus bulgaricus termasuk bakteri gram positif yang berbentuk basil serta tidak membentuk endospore, bersifat homofermentatif, mikroaerofilik, tidak menghasilkan enzim katalase dan bukan patogen. Bakteri ini akan mengubah laktosa dalam susu menjadi asam laktat. Suhu optimum pertumbuhan yaitu 37°C dan pH optimum yaitu 5,5. Enzim proteolitik dari *Lactobacillus bulgaricus* akan menguraikan protein yang terkandung dalam susu sehingga menghasilkan asam

amino dan peptide yang mampu menstimulasi pertumbuhan *Streptococcus thermophilus* (Hendarto, 2019). *L. bulgaricus* berperan dalam menghasilkan rasa, selain itu juga menghasilkan metabolit-metabolit yang menjadi sumber dan citarasa yang spesifik dan substansi-substansi yang bersifat menghambat terhadap pertumbuhan mikroba yang tidak sesuai. *L. bulgaricus* menghasilkan hidrogen peroksida (H_2O_2) dan senyawa penghambat yang disebut bulgarikan, selain itu menghasilkan asam laktat dari pemecahan glukosa. (Hou, 2015).

2.4 Mekanisme Fermentasi Bakteri Asam Laktat

Fermentasi merupakan suatu proses perubahan struktur kimia bahan organik dengan menggunakan enzim sebagai biokatalisator (Suprihatin, 2010). Tujuan fermentasi dilakukan dalam industri pangan yaitu agar kandungan senyawa fenolik bioaktif meningkat (Sharma, 2020). Fermentasi yang terjadi pada yoghurt yaitu *Streptococcus thermophilus* akan tumbuh dan menghasilkan asam laktat yang menjadikan kondisi menjadi asam sehingga menstimulasi pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus*. pH optimum pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* yaitu 3,5-3,8 sedangkan batas toleransi pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* yaitu pada 4,2-4,4 sehingga pertumbuhannya terhambat. Laktosa susu menjadi substrat bakteri dan mengubahnya menjadi asam laktat sehingga menimbulkan adanya perubahan akibat fermentasi (Rofiah, 2015)

Homofermentatif adalah proses fermentasi yang menghasilkan asam laktat sebagai hasil utama, hasil jalur homofermentatif dalam mengubah glukosa menjadi asam piruvat melalui jalur glikolisis, dan menghasilkan asam laktat

(Hatti-Kaul, 2018). Mekanisme homofermentatif menurut Reece (2014) Laktosa akan dipecah menjadi glukosa dan galaktosa. Galaktosa dirombak menjadi glukosa-6-fosfat melalui jalur Leloir. Setelah diubah menjadi glukosa, galaktosa baru bisa melalui jalur EMP dan diubah menjadi asam laktat. Namun, karena kemampuan memasuki jalur Leloir ini sangat lemah maka hanya sebagian kecil galaktosa yang diubah menjadi asam laktat sedangkan sebagian besar tetap dalam bentuk galaktosa pada produk akhir (Karinawatie, 2008).

Glukosa akan dipecah menjadi glukosa-6-fosfat yang dibantu oleh enzim heksokinase dengan menggunakan energi berupa ATP. Glukosa 6 fosfat akan diubah menjadi fruktosa 5 fosfat dengan bantuan fosfoglukoisomerase yang mana isomerase merupakan jenis enzim pengubah glukosa menjadi fruktosa karena keduanya merupakan isomer. Fruktosa 6 fosfat akan diubah menjadi fruktosa 1,6 bifosfat yang dibantu oleh enzim fosfofruktokinase yang berperan dalam mentransfer gugus fosfat dari ATP ke gula, menginvestasikan satu molekul ATP dalam glikolisis. Sejauh ini, 2 ATP telah digunakan dengan gugus fosfat di kedua ujung yang berlawanan dan gula siap untuk dipecah menjadi dua. Selanjutnya fruktosa 1,6 bifosfat akan dipecah menjadi 2, yaitu dihidroksiaseton fosfat dan gliseraldehid 3 fosfat dengan bantuan enzim aldolase yang berperan dalam membelah molekul gula menjadi 2 gula berkarbon tiga. Diantara kedua gula berkarbon 3 terdapat enzim isomerase. Reaksi ini tidak pernah mencapai kesetimbangan dalam sel, sebab enzim berikutnya dalam glikolisis hanya menggunakan gliseraldehida 3 fosfat sebagai substrat dan tidak menggunakan dihidroksiaseton fosfat.

Selanjutnya Reece (2014) pemecahan gliseraldehid 3 fosfat menjadi 1,3 Bifosfogliserat karena mendapat tambahan gugus fosfat. Pemecahan ini dibantu oleh enzim triosa fosfat dihidrogenase. Kemudian 1,3 Bifosfogliserat akan dipecah menjadi 3 fosfogliserat dengan bantuan fosfogiserokinase. Selanjutnya 3 fosfogliserat akan dipecah menjadi 2 fosfogliserat dengan bantuan enzim fosfogliseromutase yang berperan dalam merelokasi gugus fosfat yang tersisa dan mempersiapkan substrat untuk reaksi berikutnya. Kemudian 2 fosfogliserat mengalami kondensasi (melepas molekul air) dengan bantuan enzim enolase yang mana enolase menyebabkan ikatan ganda terbentuk dalam substrat dengan mengekstraksi satu molekul air, sehingga menjadi fosfoenolpiruvat. Tahap selanjutnya yaitu pemecahan fosfoenolpiruvat menjadi piruvat yang diubah oleh enzim piruvat kinase. Glukosa telah diuraikan dan dioksidasi menjadi 2 molekul piruvat, produk akhir jalur glikolitik. Piruvat direduksi secara langsung oleh NADH untuk membentuk laktat sebagai produk akhir, tanpa pelepasan CO₂ (laktat merupakan bentuk terionisasi dari asam laktat).

Menurut Hatti-Kaul (2018) Heterofermentatif yaitu proses fermentasi yang menghasilkan asam laktat, asam asetat, etanol, dan asam organik lainnya. Mekanisme heterofermentatif menurut (Widodo, 2019) yaitu pemecahan glukosa menjadi glukosa-6-phosphat yang dibantu oleh enzim heksokinase dan ATP akan diubah menjadi ADP. Glukosa-6-phosphat diubah menjadi 6 fosfoglukonat dengan bantuan glukosa-6-fosfat dehidrogenase yang mana NAD diubah menjadi NADH. 6-fosfoglukonat akan diubah menjadi ribulosa-6-fosfat dengan bantuan 6-fosfoglukonat dehidrogenase sehingga menghasilkan 1 NADH dan 1 CO₂.

Selanjutnya ribulosa-5-fosfat akan diubah menjadi xilulosa-5-fosfat dengan bantuan ribulosa-5-fosfat-3-epimerase. Kemudian xilulosa-5-fosfat akan melakukan fosfoketolase sehingga berubah terbentuk gliseraldehid-3-fosfat dan asetil fosfat. Asetil fosfat akan diubah menjadi asetil CoA dengan bantuan fosfotransacetylase yang ditambahkan gugus CoA dengan melepaskan gugus fosfor. Asetil CoA akan diubah menjadi asetaldehid dengan bantuan asetaldehid dehydrogenase NAD^+ yang berubah menjadi NADH dan melepas CoA. Asetaldehid akan diubah menjadi etanol dengan bantuan alcohol dehydrogenase sehingga NADH dibutuhkan untuk menjadi NAD^+ . Pada perubahan xilulosa-5-fosfat akan mengalami fosfoketolase menjadi gliseraldehid-3-fosfat kemudian melalui jalur EMP yang mana NAD^+ akan berubah menjadi NADH dan menambahkan gugus fosfat. 1,3 difosfoglisarat melalui jalur EMP dengan bantuan 2 ATP akan diubah menjadi piruvat kemudian dengan bantuan laktase dehydrogenase akan mengubah NADH menjadi NAD^+ untuk membentuk laktat.

2.5 Metode Mikroenkapsulasi (Freeze Drying)

Mikroenkapsulasi bakteri merupakan cara untuk menjaga dan melindungi bakteri dari berbagai hal yang dapat merusak sel bakteri. Perusakan sel bakteri dapat diminimalisir dengan cara menambahkan penyalut pada proses mikroenkapsulasi. Penyalut adalah bahan yang digunakan untuk menyalut atau melapisi bahan inti (bakteri). Penggunaan penyalut berfungsi untuk melindungi bakteri terhadap pengaruh lingkungan, meningkatkan stabilitas, mencegah penguapan dan menutupi rasa atau bau yang tidak enak yang dikeluarkan dari

bakteri. Penyalut yang biasa digunakan pada proses mikroenkapsulasi berbahan dasar gum, protein dan karbohidrat seperti gum arab, pati, laktosa, sukrosa, maltodekstrin, agar, gelatin, ampas tebu, chitosan, karagenan, albumin, kasein dan susu skim (Terpou et al., 2019).

Freeze drying atau yang sering disebut pengeringan beku adalah teknik pengolahan pangan dengan teknik non termal, teknik ini dilakukan dengan menghilangkan kandungan air di dalam produk pangan melalui pembekuan, kemudian sublimasi untuk mengubah fase padat menjadi gas dengan mengendalikan suhu dan tekanan pada pengolahannya (Habibi, 2019). Pengeringan beku adalah proses perlindungan bakteri probiotik yang digunakan sebagai kultur starter produk yang bermanfaat bagi kesehatan (Goktepe, 2005). Proses penghilangan air bertujuan untuk meningkatkan umur simpan produk pangan yang mengandung biakan bakteri yang diolah dengan pengeringan beku. Proses pengeringan beku adalah suatu teknik yang bertujuan untuk mengawetkan bahan bioaktif yang terkandung dalam suatu produk serta akan menyusut dan mudah larut dalam air (Chen *et al*, 2005). Beberapa tahun terakhir, perkembangan pangan beralih pada penggunaan teknik non termal yaitu teknik pengolahan pangan menggunakan panas dalam suhu yang relatif rendah yang memiliki kelemahan yaitu banyak menghilangkan kandungan zat gizi dengan tujuan mempertahankan mutu dari produk pangan yang dihasilkan (Moses, 2014). Keunggulan produk dengan menggunakan metode pengeringan beku dibandingkan metode lainnya yaitu produk yang dihasilkan tidak akan berkurang kandungan nutrisinya, daya rehidrasi produk meningkat dengan hasil pengeringan

yang berongga (Martin, 2014). Selama pembekuan, pembentukan kristal es di pelarut akan mengakibatkan sel bakteri menjadi terkepung dan mampu merusak dinding sel sehingga mengakibatkan sel mati (Wowk, 2007). Suhu pembekuan yang akan digunakan yaitu $+ -24^{\circ}\text{C}$ dalam waktu 24 jam. Fase pembekuan menjadi fase paling kritis karena pada produk makanan pembekuan bisa memecah dinding sel (Shukla, 2011). Penghilangan air sebanyak 95% yang terjadi di dalam sel bakteri saat proses pembekuan akan mengakibatkan kerusakan dinding sel, tepatnya di lipid karena bisa mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid. Peran air yang terkandung dalam sel berperan dalam menstabilkan integritas struktural dan fungsional melalui berbagai ikatan lemah yang terdapat di dinding sel. Hilangnya air pada dinding sel akan mengakibatkan penurunan fungsi sel (Meng, 2008).

Tahapan yang dilakukan saat pengeringan beku yaitu pembekuan, pengeringan primer, dan pengeringan sekunder. Pada saat pembekuan dilakukan penurunan suhu hingga -24°C , tujuan dari tahap ini adalah mengubah fase air menjadi fase padat. Dilanjutkan dengan pengeringan primer bertujuan untuk menghilangkan kandungan air yang telah dibekukan melalui proses sublimasi dengan meningkatkan suhu hingga 0°C dan menurunkan tekanan agar gas yang terbentuk saat meningkatkan suhu terbangun keluar. Setelah terbangunnya kandungan air sebanyak 95%, dilakukan pengeringan sekunder dengan meningkatkan tekanan dan suhu 35°C dengan tujuan untuk mengkondisikan agar produk yang dihasilkan mampu beradaptasi dengan suhu ruang (Shukla, 2011). Produk yang telah dihasilkan umumnya aktivitas enzimnya tidak mati, namun dalam kondisi inaktif karena rendahnya kandungan air dalam produk. Hal itu

dilakukan agar produk pengeringan beku saat terpapar oksigen dapat teroksidasi. Oleh karena itu dalam pengolahannya produk yang telah dihasilkan harus dikemas dengan kemasan yang melindungi dari O₂ seperti dengan bahan aluminium atau plastic. Serta lebih baik menggunakan vacuum packaging agar meminimalisir udara dalam kemasan (Habibi, 2019).

2.6 Krioprotektan

Krioprotektan merupakan bahan yang ditambahkan untuk memberikan perlindungan terhadap sel dari kerusakan akibat pembekuan sehingga viabilitas sel selama penyimpanan tetap tinggi. Kemampuan krioprotektan yaitu untuk menstabilkan struktur makromolekul sel terhadap pengaruh terbentuknya kristal es dengan memperkuat gaya hidrofobik. Krioprotektan juga akan menstabilkan sel atau membran melawan pengaruh kondisi lingkungan yang kurang mendukung yang ditimbulkan oleh perlakuan pembekuan (Nowak, 2020). Umumnya substansi yang dapat menjadi krioprotektan memiliki sifat kelarutan yang tinggi sehingga mudah untuk direhidrasi kembali setelah menjadi bubuk kering, tidak bersifat toksik serta higroskopisitasnya tinggi karena berperan dalam mengikat air yang terkandung dalam produk yang akan dikeringbekukan (Wowk, 2007).

Menurut (Roosynda, 2015) krioprotektan dibagi menjadi 2 berdasarkan sifat penetrasinya yaitu bersifat koligatif dan non koligatif. Krioprotektan koligatif memiliki kemampuan untuk masuk ke dalam sel, digunakan dalam konsentrasi tinggi dan akan mempengaruhi titik beku, krioprotektan ini sesuai untuk proses pembekuan cepat yang biasanya dilakukan pada suhu (-72) – (-80). Sedangkan

krioprotektan nonkoligatif tidak dapat terpenetrasi ke dalam sel dan digunakan dalam konsentrasi rendah, krioprotektan ini cocok untuk pembekuan lambat yang biasanya dilakukan pada suhu misalnya susu skim dan sukrosa. Bahan pelindung non koligatif memiliki kemampuan yang lebih efektif untuk mencegah kerusakan sel pada pembekuan lambat. Hal ini dikarenakan bahan pelindung tersebut dapat meningkatkan kemampuan sel dalam melakukan penyembuhan atau penyembuhan kembali (recovery) dari kerusakan fisik maupun biokimia.

Fungsi krioprotektan adalah untuk melindungi BAL pada suhu rendah dari kerusakan akibat pembekuan, selain itu krioprotektan mampu menurunkan titik beku yoghurt. Hal ini didasarkan pada sifat koligatif larutan yaitu sifat larutan tergantung pada banyaknya partikel zat yang terlarut dalam larutan, salah satu sifat koligatif larutan adalah penurunan titik beku (Karinawatie, 2008). Penambahan zat yang dijadikan sebagai pelindung pada saat pengeringan beku akan meningkatkan stabilitas probiotik (Shukla, 2011) yaitu dengan menambahkan sukrosa sebagai krioprotektan yang akan meningkatkan viabilitas bakteri asam laktat secara signifikan (Roosynda, 2015). Mekanisme sukrosa sebagai krioprotektan yaitu dengan mengikat molekul air disekitarnya sehingga ketika terdapat air yang diikat maka pembekuan tidak akan terjadi sepenuhnya (Wowk, 2007).

Viabilitas disaat mikroenkapsulasi dapat ditingkatkan dengan penambahan penyalut berupa krioprotektan dalam produk makanan. Krioprotektan melindungi sel mikroba dari dehidrasi, tekanan osmotik dan kerusakan membran yang menyebabkan hilangnya viabilitas sel dan aktivitas pengasaman. Adapun beberapa

krioprotektan seperti glukosa, sukrosa, trehalosa, laktosa, sorbitol, protein dan susu skim yang telah digunakan untuk meningkatkan viabilitas dan kelangsungan hidup sel selama freeze drying dan penyimpanan (Kavitake et al., 2018). Sedangkan menurut (Ayu et al., 2021) susu skim merupakan bahan umum yang digunakan dan dapat meminimalisir kerusakan pada sel bakteri yang dimikroenkapsulasi menggunakan metode freeze drying.

Sukrosa merupakan jenis gula disakarida yang terbentuk dari ikatan antara glukosa dan fruktosa. Sifat fisik yang dimiliki tidak berwarna, larut dalam air dan etanol. Sukrosa memiliki rumus empiris $C_{12}H_{22}O_{11}$ dengan berat molekul 342.3, kristal sukrosa memiliki densitas 1.588 sedangkan dalam bentuk larutan 26% memiliki densitas 1.108 pada suhu 20°C. komponen gula seperti sukrosa telah banyak dipelajari sebagai salah satu agen protektan yang baik dalam stabilitas membrane dan protein sel. Disakarida tersebut mampu mempertahankan struktur dan fungsi protein selama pengeringan beku dengan mencegah denaturasi protein (Olsson, 2020). Pada penelitian Roosynda (2015) menyatakan bahwa dampak sukrosa telah terbukti efisien ketika ditambahkan dalam media pengeringan untuk *Lactobacillus bulgaricus*.

Susu skim memiliki kandungan protein sebesar 33-35.7% dan kadar laktosa sebesar 49.5%-52% (Goulding, 2020). Menurut Clarizza (2015) susu skim merupakan salah satu jenis krioprotektan non koligatif yang sesuai dengan pengeringan lambat, hal ini dikarenakan susu skim mampu mencegah cedera sel dengan menstabilkan konstituen membrane sel. Hasil yang didapatkan dari penambahan susu skim ini adalah struktur produk yoghurt yang berongga (porus)

dan mudah larut serta mengandung protein yang mampu memberikan lapisan perlindungan bagi sel bakteri.

2.7 Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Parameter yang digunakan dalam penelitian ini yaitu penghitungan total bakteri asam laktat (BAL), yang mana menurut SNI (2009) yoghurt mengandung total BAL berkisar antara 10⁷-10⁹ CFU/ml dan dilanjutkan dengan penjelasan Prabandari (2011) bahwa kualitas yoghurt salah satunya ditentukan dari jumlah BAL. Menurut Rosmania & Yanti (2020) jumlah bakteri yang tumbuh di suatu media dapat diketahui dengan perhitungan. Adapun metode perhitungan koloni bakteri dibedakan menjadi dua cara, yaitu perhitungan langsung dan perhitungan tidak langsung.

1. Perhitungan bakteri langsung bertujuan untuk mengetahui jumlah seluruh bakteri, baik yang mati maupun yang masih hidup, adapun metode yang digunakan adalah turbidimetri. Metode turbidimetri adalah suatu metode cepat perhitungan jumlah bakteri dalam suatu larutan dengan menggunakan spektrofotometer. Menurut Seniati (2019) hasil perhitungan metode turbidimetri berupa nilai absorbansi atau *Optical Density* (OD). Populasi bakteri dalam larutan atau media cair ditentukan berdasarkan tingkat kekeruhan media sehingga mampu mempengaruhi banyaknya cahaya yang ditransmisikan menembus media. Kelebihan metode ini adalah cepat, tidak mahal, dan tidak destruktif, sedangkan kekurangannya adalah cahaya yang diserap tidak bisa membedakan bakteri yang masih hidup dan sudah mati (Warokka dkk, 2016)

2. Perhitungan secara tidak langsung bertujuan untuk mengetahui jumlah koloni bakteri yang masih hidup saja. Contoh metode perhitungan secara tidak langsung adalah metode Total Plate Count (TPC) atau hitung cawan. Metode TPC adalah metode enumerasi untuk memperkirakan total bakteri dengan asumsi bakteri yang ada tersebut tersebar merata dalam suatu sampel (Soesatyaningsih & Azizah, 2020). Prinsip metode ini adalah jika sampel yang diuji mengandung bakteri hidup dan membentuk koloni di media agar kemudian dihitung koloninya tanpa bantuan mikroskop (Isnawaida, 2020). Prinsip kerja TPC adalah berdasarkan kelipatan homogenisasi atau seri pengenceran sampel. Hasil enumerasi dinyatakan dalam satuan Colony Forming Unit (CFU) yang menunjukkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh dalam setiap milliliter atau gram sampel yang dihitung dari banyaknya cawan dan volume yang digunakan serta faktor pengenceran. Perhitungan TPC menggunakan colony counter yang memiliki prinsip yaitu memanfaatkan lup atau kaca pembesar sel bakteri yang tumbuh pada media (Wicaksono dkk, 2019). Kelebihan metode ini adalah jika kandungan bakterinya terlalu banyak maka bisa dilakukan pengenceran, kelemahan metode ini yaitu membutuhkan persiapan dan waktu inkubasi lama.

2.8 Kadar Asam Laktat

Asam laktat adalah salah satu asam organik, yang terbentuk dari hasil fermentasi antara karbohidrat susu (laktosa) dengan bakteri sehingga dapat

memproduksi asam laktat kurang lebih 0,73%-1,92% (Hendarto, 2019). Asam laktat merupakan salah satu asam yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan berbagai produk baik pada industry makanan dan minuman maupun polimer (Istianah & Gunawan, 2017) asam laktat atau asam 2-hidroksipropanoat (nama IUPAC) memiliki rumus molekul ($\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$) dalam rumus kimia $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$. Asam laktat di alam memiliki 2 jenis isomer yaitu D (-) dan L (+) asam laktat. Isomer yaitu D (-) tidak dapat dicerna oleh tubuh manusia atau dalam kata lain berbahaya untuk dikonsumsi, dan L (+) asam laktat yang dapat dicerna oleh tubuh manusia dan banyak digunakan dalam industry makanan dan farmasi (Maryanti dkk, 2019) Dalam masa pertumbuhannya, bakteri akan menggunakan laktosa untuk sumber energi dan karbon. Tingkat keasaman yoghurt dapat ditentukan dari derajat pH yang dimiliki. pH berpengaruh terhadap kualitasnya, yoghurt yang memiliki pH asam apabila disimpan pada suhu dingin, jika terkontaminasi akan cepat mengalami penurunan kualitas. Standar SNI terkait kadar asam laktat yoghurt yaitu sekitar 0,5-2,0% (Prabandari, 2011).

Asam laktat dapat diproduksi melalui sintesis kimia maupun proses fermentasi. Proses sintesis asam laktat terjadi melalui hidrolisa laktonitril yang berasal dari asetaldehida dan hydrogen sianida. Pembentukan asam laktat melalui proses secara kimia hanya dapat menghasilkan campuran dari kedua isomer asam laktat. Sementara itu, pembentukan asam laktat secara biologis dapat dihasilkan satu isomer atau campuran dari dua isomer asam laktat yang berbeda tergantung pada mikroorganisme, substrat, dan kondisi pertumbuhan yang digunakan (Maryanty dkk, 2019). Menurut Nurdyansyah & Hasbullah (2018) asam laktat

dihasilkan oleh bakteri asam laktat (BAL). senyawa asam laktat yang diproduksi mikroba dari hasil fermentasi memiliki kemurnian yang tinggi yaitu 90%-95%. Kemudian menurut Setiarto dkk (2018) sebagian besar asam laktat yang dihasilkan akan diubah menjadi asam asetat, propionate, dan butirrat melalui jalur asetil-KoA.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Penelitian eksperimental dilakukan dengan memanipulasi variable penelitian dan membandingkan dengan kontrol (Payadnya & Gustri, 2018). Dalam penelitian ini dilakukan manipulasi pada jenis zat krioprotektan yaitu sukrosa (S), susu skim (SK), wujud yoghurt yang terdiri dari cair (C) dan serbuk (S), kemudian konsentrasi zat yaitu 0% (1), 5% (2), 10% (3), 15% (4). Adapun rancangan penelitian yang digunakan pada data total bakteri asam laktat dan kadar asam laktat yaitu rancangan penelitian parametrik menggunakan uji *one way anova* dan uji lanjut DMRT dengan desain penelitian seperti pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan

Jenis Zat	Wujud Yoghurt	Konsentrasi	Perlakuan
Sukrosa (S)	Cair (C)	0% (1)	SC1
		5% (2)	SC2
		10% (3)	SC3
		15% (4)	SC4
Skim (SK)		0% (1)	SK1
		5% (2)	SK2
		10% (3)	SK3
		15% (4)	SK4
Sukrosa (S)	Serbuk (S)	0% (1)	SS1
		5% (2)	SS2
		10% (3)	SS3
		15% (4)	SS4
Skim (SK)		0% (1)	SKS1
		5% (2)	SKS2
		10% (3)	SKS3
		15% (4)	SKS4

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis zat krioprotektan, konsentrasi zat (0%,5%,10%15%), dan wujud yoghurt.

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah total bakteri asam laktat dan kadar asam laktat.

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2021 sampai dengan bulan Desember 2021. Bertempat di Laboratorium Center for Development of Advanced Science and Technology (CDAST) Universitas Negeri Jember dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pengeringan beku dilakukan di Laboratorium CDAST. Sedangkan pengujian total bakteri asam laktat dan kadar asam laktat di Laboratorium Mikrobiologi.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah freeze dryer, autoclaf, inkubator, tabung reaksi, botol kaca, buret, nampan, tip biru, tip kuning, mikropipet, cawan petri, rak tabung reaksi, hot plate, timbangan analitik, labu ukur, gelas beker, corong, pipet tetes, Erlenmeyer, kamera.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah yoghurt plain, Alkohol 96%, NaOH 0.1 N, media MRSA, aquades, fenolftalein 1%, susu skim, sukrosa.

3.5 Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari 3 faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi krioprotektan (0%,5%,10%,15%) yang terdiri dari 4 taraf, faktor kedua adalah jenis krioprotektan (susu skim dan sukrosa) yang terdiri dari 2 taraf dan faktor ketiga wujud yoghurt (cair dan serbuk).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Kemudian dilakukan sterilisasi alat dengan cara dibungkus alat-alat kaca dengan kertas dan dimasukkan pada plastik tahan panas ukuran 1 kg, kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi (per square inchi) selama 15 menit.

3.6.2 Penambahan Krioprotektan

Yoghurt yang berada dalam botol kaca sebanyak 50 ml ditambahkan sukrosa dengan konsentrasi masing-masing 0%,5%,10%,15% Kemudian dihomogenkan secara aseptis. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam tabung freeze dryer dan dikeringbekukan selama 24 jam dan dilanjutkan dengan pengujian total BAL dan

kadar asam laktat. Selanjutnya penambahan susu skim juga dilakukan dengan metode yang sama.

3.6.3 Pembuatan Media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA)

Pembuatan media MRSA dimulai dari penimbangan media bubuk MRSA sebanyak 65,13gram kemudian dilarutkan dalam 1000 ml aquades. Setelah itu media disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit, selanjutnya media dituang ke cawan petri sebanyak 10 ml dan ditunggu hingga dingin dan bisa digunakan.

3.6.4 Pengujian Total Bakteri Asam Laktat

Pengujian total BAL sampel yoghurt diawali dengan pengenceran menggunakan aquades dengan perbandingan 1:9, dan akan dilakukan pengenceran hingga 10⁸. Selanjutnya disiapkan 8 tabung reaksi kemudian diisi sebanyak 0,9 ml aquades sebagai pelarut. Pengenceran pertama diambil sebanyak 0,1 ml sampel yoghurt lalu dilarutkan dalam aquades kemudian dihomogenkan, setelah homogen diambil sebanyak 0,1 ml larutan pada pengenceran 1 dan dimasukkan ke tabung kedua dan dihomogenkan

Langkah selanjutnya yaitu dengan mengambil sampel yoghurt dari pengenceran 10⁷ dan 10⁸ masing-masing sebanyak 1 ml kemudian diletakkan di cawan petri steril, selanjutnya media MRSA yang sudah dingin dituang diatas cawan petri, namun sebaiknya tutup cawan petri tidak dibuka terlalu lebar untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi. Kemudian dihomogenkan dengan cara

digerakkan membentuk angka 8. Setelah itu ditunggu hingga padat dan diinkubasi dengan posisi terbalik selama 48 jam dengan suhu 37°C. Adapun rumus perhitungan total bakteri asam laktat menurut Joni (2018) yaitu:

Jumlah Bakteri = 1 : Faktor pengenceran.

3.6.5. Pengujian Kadar Asam Laktat

Yoghurt diambil ke dalam Erlenmeyer sebanyak 10 ml kemudian ditambahkan 2-3 tetes fenolftalen 1% sebagai indikator. Selanjutnya diisi biuret dengan larutan Natrium Hidroksida (NaOH) 0,1 N lalu dititrasi hingga berubah warna menjadi kemerahan (Rahman, 2015). Adapun rumus yang digunakan dalam perhitungan kadar asam laktat menurut Suhaeni (2018) yaitu:

Kadar Asam 

Ket.

V1 = Volume NaOH (ml)

V2 = Volume yoghurt drink (ml)

N = Normalitas NaOH (0,1)

B = Berat molekul asam laktat (90)

3.7. Analisis Data

Data pengamatan yang telah diperoleh selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel. Analisis data dilakukan menggunakan rangkaian analisis sidik ragam one way ANOVA hingga mampu menentukan perlakuan yang paling baik menggunakan program spss. Apabila hasil yang diperoleh dari sidik ragam

berbeda nyata artinya terdapat pengaruh Variabel bebas (jenis krioprotektan, konsentrasi krioprotektan, dan wujud yoghurt) terhadap total bakteri asam laktat dan kadar asam laktat maka perlu dilakukan uji lanjut DMRT (Duncan Multiple Range Test).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Total Bakteri Asam Laktat

Pengamatan terhadap yoghurt cair dan yoghurt serbuk dengan perlakuan jenis krioprotektan, konsentrasi krioprotektan, dan pengeringan beku dengan parameter total bakteri asam laktat dan kadar asam laktat. Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan SPSS 25.0 didapatkan bahwa perlakuan sukrosa berpengaruh terhadap total bakteri asam laktat cair maupun serbuk. Sehingga dilanjutkan dengan uji lanjut. Hasil uji lanjut DMRT taraf 5% seperti tabel 4.1.1 dibawah ini:

Tabel 4.1.1 Rataan Total Bakteri Asam Laktat Yoghurt Cair

Perlakuan	Total BAL (CFU/ml) Yoghurt Cair
SC1	2.94×10^8
SC2	3.02×10^8
SC3	3.03×10^8
SC4	3.06×10^8
SKC1	3×10^8
SKC2	3.2×10^8
SKC3	2.82×10^8
SKC4	2.81×10^8

Perlakuan pertama yaitu penambahan sukrosa yang dilakukan pada yoghurt cair. Menurut Zuitoun (2018) Sukrosa terdiri dari unit glukosa dan fruktosa melalui hubungan glikosidik yang merupakan jenis disakarida paling

melimpah di lingkungan karena juga yang paling banyak terkandung dalam jaringan tumbuhan. Selanjutnya menurut Oluwatosin (2022) bahwa spesies bakteri yang menggunakan karbohidrat ini mampu menghasilkan berbagai enzim untuk berperan dalam proses ini, diantaranya yaitu enzim ekstraseluler yang diekspor ke lingkungan untuk memecah karbohidrat menjadi entitas yang lebih kecil dan dapat diserap oleh bakteri dan dimetabolisme.

Penggunaan sukrosa sebagai substrat pertumbuhan bakteri perlu untuk diperhatikan kadar yang dibutuhkan, menurut jurnal Maryana (2014) penambahan sukrosa yang terlalu banyak dapat menurunkan total bakteri karena proporsi sumber karbon yang berlebih sehingga terjadi perubahan lingkungan. konsentrasi sukrosa yang terlalu tinggi menyebabkan kondisi lingkungan menjadi hipertonik sehingga cairan intraseluler mengalir keluar yang mengakibatkan dehidrasi dan pengerutan sel mikroorganisme (plasmolisis). Dilanjutkan oleh pendapat Maryana (2014) bahwa masing-masing strain memiliki toleransi yang berbeda terhadap kadar sukrosa.

Hasil data total BAL (Lampiran 1) yang didapatkan kemudian diolah dengan SPSS versi 25.0 untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan yang diberikan terhadap kelompok uji. Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas, data menunjukkan nilai yang homogen dan normal (> 0.05) sehingga dapat dilakukan uji parametrik one way ANOVA, hasil yang didapatkan yaitu > 0.05 (Lampiran 2) sehingga menunjukkan hasil yang tidak signifikan dan tidak dilakukan uji lanjut DMRT. Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada tabel 4.1.1 bahwa total bakteri terbanyak yang didapatkan yaitu pada perlakuan SC4

(sukrosa 15%), dan total bakteri paling sedikit yaitu pada perlakuan kontrol (sukrosa 0%). Namun hasil ini tidak bisa dijadikan patokan sepenuhnya, karena berdasarkan metode yang dilakukan, tidak ada waktu inkubasi yang cukup untuk metabolisme bakteri, menurut Mardalena (2016) masa inkubasi yang dibutuhkan bakteri asam laktat yaitu 24-48 jam, sehingga kemungkinan besar hasil yang didapatkan sepenuhnya berasal dari yoghurt instan yang digunakan, bukan dari tambahan sukrosanya. Menurut Hasan (2014) semakin lama waktu inkubasi, maka aktivitas mikroba semakin meningkat dan jumlahnya semakin banyak, sehingga mengakibatkan pH pada media menurun, hal ini membuktikan terjadinya perubahan kimia pada komponen gula menjadi komponen asam.

Perlakuan selanjutnya yaitu penambahan susu skim terhadap yoghurt cair. Susu skim memiliki kadar lemak yang rendah namun memiliki kandungan laktosa dan protein yang tinggi yaitu sekitar 49.2% dan pH 6.6, laktosa merupakan karbohidrat utama dalam susu yang dapat digunakan oleh bakteri sebagai sumber energi untuk pertumbuhannya (Septiani, 2013). Menurut Sintasari (2014) protein yang terkandung dalam susu skim merupakan sumber nitrogen sedangkan laktosa mengandung sumber karbon dan energi bagi bakteri. Dalam jurnal Diputra (2013) jumlah BAL yang ditambahkan susu skim seiring dengan bertambahnya konsentrasi susu skim, semakin banyak ditambahkan maka semakin banyak nutrisi yang tersedia bagi pertumbuhan BAL.

Berdasarkan data total BAL dari yoghurt cair yang ditambahkan susu skim (Lampiran 1) juga tidak menunjukkan nilai yang signifikan saat dilakukan uji one way ANOVA (> 0.05) (Lampiran 2) sehingga tidak dilakukan uji lanjut DMRT.

Hasil total BAL terbanyak didapatkan dari perlakuan SKC2 (skim 5%) dan yang paling sedikit yaitu pada SKC4 (skim 15%). Berdasarkan metode, uji total BAL dilakukan setelah pencampuran susu skim dan yoghurt, sehingga waktu untuk bakteri melakukan metabolisme dengan susu skim terlalu singkat, dan hasil yang didapatkan tidak bisa dijadikan sebagai acuan hasil yang akurat, dan hal itu menjadi salah satu alasan tidak berpengaruhnya perlakuan terhadap kelompok uji. Menurut Krisnaningsih (2015) yoghurt yang ditambahkan susu skim memiliki nilai syneresis yang lebih rendah dibandingkan yoghurt dengan susu segar sehingga memiliki masa simpan yang lebih lama, masa inkubasi menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas mikroorganisme dalam proses metabolisme energi, sehingga jika waktu inkubasinya kurang dari waktu optimal, maka belum terjadi interaksi antara susu skim dan bakterinya.

Tabel 4.1.2 Rataan Total Bakteri Asam Laktat Yoghurt Serbuk

Perlakuan	— Total BAL (CFU/ml) Yoghurt Serbuk
SS1	1.58×10^8
SS2	1.65×10^8
SS3	1.66×10^8
SS4	2.17×10^8
SKS1	1.59×10^8
SKS2	1.85×10^8
SKS3	1.73×10^8
SKS4	1.8×10^8

Selanjutnya pengamatan dilakukan terhadap yoghurt serbuk dengan penambahan sukrosa terhadap parameter total Bakteri Asam Laktat (BAL). Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan SPSS 25.0 diperoleh hasil one

way ANOVA yang tidak signifikan yaitu 0.05 yang menyatakan bahwa hipotesa nol (H0) ditolak dan hipotesa satu (H1) diterima. Hasil dari total bakteri asam laktat yoghurt serbuk yaitu tidak terdapat pengaruh yang signifikan pada perlakuan sukrosa terhadap yoghurt serbuk sehingga tidak dilakukan uji lanjut DMRT. Hasil total BAL didapatkan hasil terbaik yaitu pada perlakuan SS4 (sukrosa 15%) hal ini dikarenakan penambahan sukrosa saat pengeringan beku mampu memberikan perlindungan terhadap sel bakteri. Menurut Setiarto et al (2018) menyatakan bahwa pengeringan beku merupakan salah satu teknik untuk memperpanjang viabilitas dari bakteri dengan cara menyimpan sel-sel bakteri didalam sebuah enkapsulasi. Membran enkapsulasi dapat berbentuk suspensi, emulsi maupun dispersi yang berfungsi mempertahankan daya hidup bakteri, namun proses ini juga bisa merusak sel bakteri, sehingga menurut Hayek (2019) menyatakan bahwa untuk meminimalkan kerusakan sel selama pengeringan beku, diberikan pelindung yang dikenal sebagai krioprotektan yang mudah divitrifikasi dan dapat melindungi sel-sel bakteri yang tertanam selama proses pengeringan beku dan selama penyimpanan berikutnya. Allah SWT menyatakan dalam Surat Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَوْسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا
مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝ ١٠

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik.” (QS. Luqman [31]: 10).

تَوْجٌ كَرِيمٌ menjelaskan sifat baik pada suatu objek, dalam konteks ini adalah tumbuhan. Tumbuhan yang mampu bertumbuh dengan baik akan memberikan manfaat pada penanamnya. (Shihab, 2002). Misalnya tumbuhan tebu yang merupakan satu dari ribuan tumbuhan yang mampu tumbuh dengan subur dan memberikan banyak manfaat, diantaranya adalah penghasil sukrosa. Menurut Destriyani (2014) sukrosa adalah jenis gula yang dihasilkan dari tanaman tebu, dan batang tebu dapat mengakumulasi sukrosa sebanyak 12-16% dari berat basahnya. Perlakuan SS4 sebelum dan sesudah pengeringan beku menunjukkan pengurangan total BAL terkecil. Hal ini karena peran sukrosa sebagai krioprotektan memiliki kemampuan untuk melindungi struktur dan fungsi protein dalam sel mikroba (Hariyadi, 2017). Menurut Ihsan (2013) krioprotektan adalah zat kimia non elektrolit yang berperan dalam mengurangi pengaruh mematkan selama pembekuan baik berupa pengaruh larutan maupun adanya pembentukan kristal es sehingga viabilitas sel dapat dipertahankan. Menurut Hendrati (2017) Sukrosa juga mampu menurunkan titik beku dan memberikan perlindungan terhadap membran sel. Hasil penelitian sebelumnya yaitu Roosynda (2015) menyatakan bahwa penambahan sukrosa 5% menghasilkan hasil viabilitas tertinggi setelah pengeringan beku, namun penurunannya tidak jauh berbeda dengan perlakuan 10% dan 15%, sehingga penggunaan sukrosa konsentrasi 10% dan 15% masih bisa dilakukan. Penurunan tersebut menunjukkan bahwa proses pembekuan dapat menurunkan jumlah sel akibat pembentukan kristal es yang merusak membran.

Krioprotektan dipilih berdasarkan kinerja perlindungan, ketersediaan, biaya, dan karakteristik fisik yang dihasilkan dari produk akhir (Garvey, 2013). Krioprotektan probiotik yang umum digunakan adalah kelompok disakarida, diantaranya adalah trehalosa dan sukrosa. Disakarida lebih banyak digunakan sebagai zat aditif selain karena mudah divitrifikasi tetapi juga karena memiliki struktur molekul kecil yang dapat dengan mudah menggantikan molekul air yang dihilangkan selama pengeringan, sehingga mampu menjaga integritas sel (Binstis, 2018). Mekanisme disakarida sebagai zat pelindung yaitu kemampuan molekul gula untuk menembus membrane sel dan menggantikan molekul air yang berada diantara lapisan bifosfolipid yang bertindak sebagai pengatur jarak antara fosfolipid kepala yang mencegah terjadinya gesekan satu sama lain, reaksi berantai ini mampu mengubah keadaan cairan didalam sel ke fase gel yang lebih kental. Setelah terjadi rehidrasi, transisi kembali ke fase seperti kristal cair yang tidak homogen sehingga sel kehilangan integritas membrannya dan mengakibatkan kematian (Coulibaly, 2018).

Perlakuan selanjutnya adalah penambahan susu skim, diperoleh hasil nilai yang tidak memberi pengaruh secara signifikan pada variabel dependen yaitu > 0.05 , sehingga tidak dilakukan uji lanjut. Berdasarkan data yang didapatkan (Lampiran 1) yaitu perlakuan SKS3 (skim 10%) mengalami penurunan terkecil, penurunan total BAL ini dikarenakan yoghurt melalui proses pengeringan beku. Menurut Frakolaki *et al* (2021) metode freeze drying dapat merusak probiotik, sehingga perlu dilakukan penambahan penyalut atau pelindung seperti susu skim. Hal ini sejalan dengan Coba *et al.* (2018) bahwa suhu rendah dapat

mempertahankan pergerakan molekul air pada bakteri pada kapsul setelah freeze dryer. Sedangkan menurut Garvey et al. (2021) bahwa suhu rendah mengakibatkan metabolisme melambat adapun menurut Frakolaki et al. (2021) suhu rendah dapat menstabilkan kondisi kapsul setelah freeze dryer dan meningkatkan atmosfer inert atau keadaan yang tahan terhadap reaksi kimia. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dapat menghasilkan eksopolisakarida. Eksopolisakarida (EPS) di sintesis intraseluler pada membrane sitoplasma dan nukleotida gula digunakan sebagai perkusor untuk penyusunnya rantai polisakarida. EPS merupakan pelindung bagian ekstraseluler yang ditambahkan sehingga saling memiliki interaksi dalam melindungi sel.

Berdasarkan pendapat Clarizza (2015) bahwa hasil paling baik dari penambahan susu skim adalah pada konsentrasi 5%, sedangkan penambahan susu skim 15% akan menurunkan nilai viabilitas sel karena krioprotektan non-koligatif seperti susu skim biasanya diberikan dalam konsentrasi rendah, sehingga jika konsentrasi penambahannya terlalu tinggi maka semakin banyak kaca amorf yang terbentuk. Menurut Morgan *et al* (2006) adhesivitas kultur kering yang ditambahkan susu skim 20% memungkinkan adanya sel yang terhimpit oleh kaca amorf dan menyebabkan kematian sel. Susu skim mampu membentuk lapisan pelapis untuk melindungi sel organisme selama freeze drying, serbuk yang dihasilkan dari penambahan susu skim berpori dan memiliki struktur pori yang seragam di seluruh bagian partikel yang berperan sebagai tempat terperangkapnya mikroorganisme dengan lapisan pori sebagai pelindung (Gahrue, 2015).

4.2 Kadar Asam Laktat

Tabel 4.2.1 Rataan Kadar Asam Laktat Yoghurt Cair dan Yoghurt Serbuk

Perlakuan	Total Asam (%) Yoghurt Cair
SC1	0.63%
SC2	0.63%
SC3	0.56%
SC4	0.58%
SKC1	0.62%
SKC2	0.68%
SKC3	0.55%
SKC4	0.59%

Berdasarkan tabel 4.2.1 pengamatan dilakukan terhadap yoghurt cair dengan penambahan parameter kadar asam laktat. Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan SPSS 25.0 diperoleh hasil nilai signifikansi pada variabel dependen > 0.05 sehingga tidak dilakukan uji lanjut DMRT. Hasil dari kadar asam laktat yoghurt cair yaitu tidak terdapat pengaruh yang signifikan pada perlakuan sukrosa terhadap yoghurt cair. Hasil kadar asam yoghurt cair tertinggi didapatkan dari perlakuan SC1 (sukrosa 0%) dan SC2 (sukrosa 5%) sedangkan kadar asam terendah didapatkan dari perlakuan SC3 (penambahan sukrosa 10%), namun uji kadar asam laktat dilakukan pada yoghurt cair tanpa adanya inkubasi, sehingga hasilnya tidak bisa dijadikan acuan karena waktu inkubasi juga mempengaruhi aktivitas mikroorganisme. Menurut Nurhartadi (2017) waktu inkubasi akan terjadi kerjasama antara 2 bakteri asam laktat yaitu *Streptococcus thermophilus* akan menghasilkan tingkat laktase yang signifikan dan menghidrolisis laktosa menjadi glukosa dan galaktosa yang akan memproduksi asam piruvat, asam format, CO_2

yang akan menstimulasi pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* yang akan memproduksi asam amino, valin, glisin untuk pertumbuhan *S. thermophilus* yang keduanya akan menghasilkan asam laktat.

Berdasarkan data total BAL dari yoghurt cair yang ditambahkan susu skim (Lampiran 1) juga tidak menunjukkan nilai yang signifikan saat dilakukan uji one way ANOVA (> 0.05) sehingga tidak dilakukan uji lanjut DMRT. Hasil kadar asam laktat terbanyak didapatkan dari perlakuan SKC2 (skim 5%) dan yang paling sedikit yaitu pada SKC3 (skim 10%). Berdasarkan metode, uji total BAL dilakukan setelah pencampuran susu skim dan yoghurt, sehingga waktu untuk bakteri melakukan metabolisme dengan susu skim terlalu singkat, dan hasil yang didapatkan tidak bisa dijadikan sebagai acuan hasil yang akurat, dan hal itu menjadi salah satu alasan tidak berpengaruhnya perlakuan terhadap kelompok uji. Menurut Sintasari (2014) semakin tinggi konsentrasi susu skim yang ditambahkan dan semakin lama waktu inkubasi maka akan terjadi kenaikan total asam, hal ini terjadi karena laktosa meningkat sehingga aktivitas mikroba juga meningkat untuk mengubah laktosa menjadi asam laktat.

Tabel 4.2.2 Rataan Total Kadar Asam Laktat Yoghurt Serbuk

Perlakuan	Total Asam (%) Yoghurt Serbuk
SS1	0.38% a
SS2	0.41% b
SS3	0.46% d
SS4	0.43% c
SKS1	0.35% a
SKS2	0.46 % c
SKS3	0.43% b
SKS4	0.43% b

Keterangan: Berdasarkan uji DMRT 5% angka-angka yang diikuti oleh notasi (huruf) yang sama pada kolom dan baris tidak menunjukkan perbedaan nyata.

Hasil data selanjutnya didapatkan dari kadar laktat yoghurt serbuk. Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan SPSS 25.0 diperoleh hasil nilai signifikan pada variabel dependen < 0.05 . Hasil dari total bakteri asam laktat yoghurt serbuk yaitu terdapat pengaruh yang signifikan pada perlakuan sukrosa terhadap yoghurt serbuk. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kelompok uji maka dilakukan uji lanjut Duncan dengan taraf signifikansi 5%. Hasil uji lanjut Duncan menyatakan bahwa pada yoghurt serbuk dengan perlakuan SS1 berbeda nyata dengan SS2, SS3, dan SS4. Perlakuan SS2 (sukrosa 10%) mengalami penurunan kadar asam laktat terendah dan perlakuan SS0 (sukrosa 0%) mengalami penurunan kadar asam tertinggi. Menurut Thorat (2019) Perlakuan kontrol hanya menggunakan pelarut PBS sebagai kontrol negatif, sehingga tidak ada perlindungan dari zat krioprotektan saat proses pengeringan beku. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian

sebelumnya dari Yunita (2019) menyatakan bahwa pada konsentrasi 0% sukrosa mengalami penurunan kadar asam terendah, penurunan total asam titrasi karena bakteri asam laktat menggunakan krioprotektan yang terlalu banyak, sehingga semakin tinggi konsentrasi maka semakin rendah kadar asam laktat.

Perlakuan selanjutnya yaitu penambahan susu skim pada yoghurt serbuk. Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan SPSS 25.0 diperoleh hasil nilai signifikan pada variabel dependen < 0.05 . Hasil dari total bakteri asam laktat yoghurt serbuk yaitu terdapat pengaruh yang signifikan pada perlakuan sukrosa terhadap yoghurt serbuk. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang berpengaruh terhadap kelompok uji maka dilakukan uji lanjut Duncan dengan taraf signifikansi 5%. Hasil uji lanjut Duncan menyatakan bahwa pada yoghurt serbuk dengan perlakuan SKS1 berbeda nyata dengan SKS2, SKS3, sedangkan SKS3 tidak berbeda nyata dengan SKS4. SKS3 (susu skim 10%) mengalami penurunan kadar asam terendah dan SKS (susu skim 0%) mengalami penurunan kadar asam tertinggi, hal ini dikarenakan proses pengeringan beku. Proses pengeringan beku terjadi melalui mekanisme sublimasi pada suhu rendah (Hariyadi, 2013). Adapun tahapannya yaitu mengkonversi air menjadi es, pengeringan primer yaitu tahap sublimasi es dan pengeringan sekunder dengan menghilangkan air yang tidak membeku dengan desorpsi (Nireesha, 2013).

Jurnal Ayu et al (2021) juga menjelaskan bahwa susu skim menjadi bahan yang umum digunakan untuk meminimalisir terjadinya kerusakan pada sel bakteri saat dikeringbekukan dengan *freeze dryer*. Sebagaimana dijelaskan dalam Surah An-Nahl ayat 66 yaitu:

وَإِنَّ لَكُمْ فِي الْأَنْعَامِ لَعِبْرَةً لِّتُسْقُواْ مِمَّا فِي بُطُونِهِۦٓ مِنْ بَيْنِ فَرْثٍ وَدَمٍ لِّبَنَّا خَالِصًا
سَائِغًا لِّلشَّرِبِينَ ۖ ٦٦

Artinya: “Dan sesungguhnya pada binatang ternak itu benar-benar terdapat pelajaran bagi kamu. Kami memberimu minum dari pada apa yang berada dalam perutnya (berupa) susu yang bersih antara tahi dan darah yang mudah ditelan bagi orang-orang yang meminumnya” (QS. An-Nahl [16]: 66).

Menurut Tafsir Ibnu katsir dari Abdullah (2003), makna “Laban” yaitu yang berwarna putih, rasanya manis dan terpisah antara tahi dan darah melalui suatu proses dalam perut hewan dan keluar melalui saluran yang berbeda, darah mengalir melalui urat-urat, air susu mengalir melalui salurannya, dan kotoran mengalir melalui anus. Dalam konteks ini Allah telah menciptakan susu untuk dikonsumsi melalui binatang ternak, salah satu diantara jenis susunya yaitu susu skim yang menurut Oluwatosin (2022) diantara peranannya yaitu sebagai tambahan nutrisi probiotik dan menjadi zat penyalut bakteri saat proses pengeringan beku.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Jenis, konsentrasi krioprotektan, dan wujud yoghurt tidak berpengaruh terhadap total BAL yoghurt cair dan yoghurt serbuk. Penambahan sukrosa pada yoghurt memiliki hasil total bakteri asam laktat terbaik yaitu pada perlakuan sukrosa 15% dan yang hasilnya kurang baik yaitu pada sukrosa 0%. Sedangkan Penambahan susu skim pada yoghurt memiliki hasil total bakteri asam laktat terbaik yaitu pada perlakuan susu skim 10% dan yang hasilnya kurang baik yaitu pada susu skim 0%.
2. Jenis, konsentrasi krioprotektan, dan wujud yoghurt tidak berpengaruh terhadap kadar asam laktat yoghurt cair tetapi berpengaruh terhadap yoghurt serbuk Perbandingan Penambahan sukrosa pada yoghurt memiliki hasil asam laktat terbaik yaitu pada perlakuan sukrosa 10% dan yang hasilnya kurang baik yaitu pada sukrosa 0%. Sedangkan Penambahan susu skim pada yoghurt memiliki hasil kadar asam laktat terbaik yaitu pada perlakuan susu skim 10% dan yang hasilnya kurang baik yaitu pada susu skim 0%.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah agar menambahkan perbandingan dengan zat krioprotektan yang lain dan menambahkan parameter yang berkaitan dengan perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuty, E., Yunita, M., & Fadhilah, A. N. (2021). Edukasi Manfaat Yogurt Sebagai Salah Satu Probiotik Dan Metode Pembuatan Yogurt Sederhana. *Jurnal Kreativitas Pengabdian Kepada Masyarakat (PKM)*, 4(1), 129-136.
- Ariesca, A. (2015). Freeze Drying Ekstrak Temu Mangga (Curcuma mangga Val.) Dengan Penambahan Maltodekstrin Sebagai Bahan Enkapsulat (Doctoral dissertation, Prodi Teknologi Pangan UNIKA Soegijapranata).
- Abdullah bin Muhammad bin Abdurrahman Alu Syaikh. 2003. Tafsir Ibnu Katsir. Terjemahan. M. Abdul Ghoffar Jilid II, Jakarta: Pustaka Imam AsySyafi'i.
- Ayu, I. L., Ha, H. K., Yang, D. H., Lee, W. J., & Lee, M. R. (2021). Encapsulation of Lactobacillus rhamnosus GG Using Milk Protein-Based Delivery Systems: Effects of Reaction Temperature and Holding Time on Their Physicochemical and Functional Properties. *Food Science of Animal Resources*, 41(5), 894.
- Abbasiliasi, S., Tan, J. S., Ibrahim, T. A. T., Bashokouh, F., Ramakrishnan, N. R., Mustafa, S., & Ariff, A. B. (2017). Fermentation factors influencing the production of bacteriocins by lactic acid bacteria: a review. *Rsc Advances*, 7(47), 29395-29420.
- Anumudu, C. K., Ikimi, C. G., Zige, D. V., Omeje, F. I., & Gbodo, E. E. Production of Bacteriocins by Lactobacillus plantarum and Pediococcus acidilactici Isolated from Cow Milk.
- Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., ... & Ibrahim, S. A. (2020). Lactic Acid Bacteria: Food Safety and Human Health Applications. *Dairy*, 1(3), 202-232.
- Bhattacharya, S. (2018). Cryoprotectants and their usage in cryopreservation process. *Cryopreserv. Biotechnol. Biomed Biol. Sci*, 7.
- Budiastuti. 2012. *Produksi "Yoghurt Graviola" Sebagai Makanan Fungsional Sejalan dengan Pengembnagan Potensi Pertanian di Kabupaten Karanganyar*. Fakultas Peternakan Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS microbiology*, 4(4), 665.
- Coulibaly, I., Kouassi, E. K., N'guessan, E., Destain, J., Béra, F., & Thonart, P. (2018). Lyophilization (Drying Method) Cause Serious Damages to the

Cell Viability of Lactic Acid Bacteria. *Annual Research & Review in Biology*, 1-15.

Chen, H. C., Lin, C. W., & Chen, M. J. (2005). The effects of freeze drying and rehydration on survival of microorganisms in kefir. *Asian-australasian journal of animal sciences*, 19(1), 126-130.

Clarizza, V. (2015). Pengaruh Konsentrasi Cryoprotectant Susu Skim Terhadap Viabilitas *Lactobacillus Plantarum* Dad 13 Selama Pembekuan, Freeze Drying Dan Penyimpanan (Doctoral dissertation, Universitas Gadjah Mada).

Chavarri, M., Maranon, I., & Carmen, M. (2012). Encapsulation Technology to Protect Probiotic Bacteria. *Probiotics*

Corrieu, G., & Béal, C. (2016). Yogurt: the product and its manufacture.

Destriyani, L. Effect of Saving Age From Sugarcane's Water Storage Life to Sweetenestlevel of Sugarcane'Water. *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, 3(2), 142387.

Diputra, K. W., & Puspawati, N. N. (2016). Pengaruh Penambahan Susu Skim terhadap Karakteristik Yoghurt Jagung Manis (*Zea Mays* L. *Saccharata*). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 5(2), 142-152.

Frakolaki, G., Giannou, V., Kekos, D., & Tzia, C. (2021). A review of the microencapsulation techniques for the incorporation of probiotic bacteria in functional foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(9), 1515-1536.

Gahruie, H. H., Eskandari, M. H., Mesbahi, G., & Hanifpour, M. A. (2015). Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. *Food Science and Human Wellness*, 4(1), 1-8.

Garvey, C. J., Lenné, T., Koster, K. L., Kent, B., & Bryant, G. (2013). Phospholipid membrane protection by sugar molecules during dehydration—insights into molecular mechanisms using scattering techniques. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4), 8148-8163.

Gaidhani, K. A., Harwalkar, M., Bhambere, D., & Nirgude, P. S. (2015). Lyophilization/freeze drying—a review. *World journal of pharmaceutical research*, 4(8), 516-543.

Gupta, R., Jeevaratnam, K., & Fatima, A. (2018). 'Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health (A

- Review)'. Rahul Gupta, Kadirvelu Jeevaratnam, Amrin Fatima. Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health (A Review), International Journal of Emerging Technologies and Innovative Research (www. jetir. org), 5(10).
- Goktepe I, Vijay KJ, & Mohamed A. (2005). Probiotics in Food Safety and Human Health. Boca Raton: CRC Press.
- Goulding, D. A., Fox, P. F., & O'Mahony, J. A. (2020). Milk proteins: An overview. *Milk proteins*, 21-98.
- Habibi, N. A., Fathia, S., & Utami, C. T. (2019). Perubahan Karakteristik Bahan Pangan pada Keripik Buah dengan Metode Freeze Drying. JST (Jurnal Sains Terapan), 5(2), 67-76.
- Hou, J. C., Liu, F., Ren, D. X., Han, W. W., & Du, Y. O. (2015). Effect of culturing conditions on the expression of key enzymes in the proteolytic system of *Lactobacillus bulgaricus*. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B, 16(4), 317-326.
- Hendrati, P. M., Kusharyati, D. F., Ryandini, D., & Oedjijono, O. (2017). Characterization of Bifidobacteria from infant feces with different mode of birth at Purwokerto, Indonesia. Biodiversitas Journal of Biological Diversity, 18(3), 1265-1269.
- Hariyadi, P. (2013). Freeze drying technology: for better quality & flavor of dried products. Foodreview Indonesia, 8(2), 52-57.
- Hendarto, D. R., Handayani, A. P., Esterelita, E., & Handoko, Y. A. (2019). Mekanisme Biokimiawi dan Optimalisasi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dalam Pengolahan Yoghurt yang Berkualitas. Jurnal Sains Dasar, 8(1), 13-19.
- Hayek, S. A., Gyawali, R., Aljaloud, S. O., Krastanov, A., & Ibrahim, S. A. (2019). Cultivation media for lactic acid bacteria used in dairy products. Journal of Dairy Research, 86(4), 490-502.
- Hidayat, I. R., Kusrahayu, K., & Mulyani, S. (2013). Total bakteri asam laktat, nilai pH dan sifat organoleptik drink yoghurt dari susu sapi yang diperkaya dengan ekstrak buah mangga. Animal agriculture journal, 2(1), 160-167.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., ... & Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement

on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*.

Hatti-Kaul, R., Chen, L., Dishisha, T., & Enshasy, H. E. (2018). Lactic acid bacteria: From starter cultures to producers of chemicals. *FEMS microbiology letters*, 365(20).

Hidayat, dkk. (2006). *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta

Hariyadi, P. (2013). *Pengeringan beku dan aplikasinya di industri pangan*. IPB Bogor.

Hasan, A. E. Z., Artika, I. M., & Abidin, S. (2014). Produksi asam laktat dan pola pertumbuhan bakteri asam laktat dengan pemberian dosis rendah propolis trigona spp asal pandeglang indonesia. *Current Biochemistry*, 1(3), 126-135.

Isnawaida, I. (2020). *Deteksi Bakteri Coliform, Total Plate Count (TPC) Dan pH Pada Telur Ayam Dari Pasar Tradisional Maros* (Doctoral dissertation, Universitas Hasanuddin).

Istianah, N., & Gunawan, S. 2017. Kinetika Fermentasi Asam Laktat dari Tepung Sorgum Menggunakan Baker's Yeast dan *L. plantarum*. *Jurnal Rekayasa Bahan Alam dan Energi Berkelanjutan*. 1(2):49-55.

Ihsan, M. N. (2013). Pembekuan vitrifikasi semen kambing boer dengan tingkat gliserol berbeda. *TERNAK TROPIKA Journal of Tropical Animal Production*, 14(2), 38-45

Joni, L. S., Erina, E., & Abrar, M. (2018). Total Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Feses Rusa Sambar (*Cervus unicolor*) di Taman Rusa Aceh Besar (The Total of Lactic Acid Bacteria (LAB) on Feces of Sambar Deer (*Cervus unicolor*) in Taman Rusa Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 2(2), 77-85.

Krisnaningsih, A. T. N., & Efendi, A. (2015). Pengaruh penggunaan level susu skim dan masa inkubasi pada suhu ruang terhadap pH dan organoleptik stirred yogurt. *Jurnal Alam Hijau*, 6(2), 54-63.

Kim, S., Kim, J., Kim, K., & Kang, C. (2021). Survivability of Collagen-Peptide Microencapsulated Lactic Acid Bacteria during Storage and Simulated Gastrointestinal Conditions. *Fermentation*, 7, 177.

Karinawatie, S., Kusnadi, J., & Martati, E. (2008). Efektivitas Konsentrat Protein Whey dan Dekstrin untuk Mempertahankan Viabilitas Bakteri Asam

Laktat dalam Stater Kering Beku Yoghurt. *Jurnal Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang*, 9(3), 121-130.

- Kavitake, D., Kandasamy, S., Devi, P. B., & Shetty, P. H. (2018). Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods—A review. *Food Bioscience*, 21, 34-44.
- Maryana, D. (2014). Pengaruh Penambahan Sukrosa terhadap Jumlah Bakteri dan Keasaman Whey Fermentasi dengan Menggunakan Kombinasi *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus*. Universitas Hasanuddin. Skripsi.
- Mahmood, T., Masud, T., Imran, M., Ahmed, I., & Khalid, N. (2013). Selection and characterization of probiotic culture of *Streptococcus thermophilus* from dahi. *International journal of food sciences and nutrition*, 64(4), 494-501.
- Morgan, C. A., N. Herman, P. A. White and G. Vesey. 2006. Preservation of micro-organisms by drying: A review. *J. Microbiol. Methods*. 66: 183-193.
- Maryanty, Y., Saputro, F. L. W., & Prasetyo, W. 2019. Pembuatan Asam Laktat dari Selulosa oleh Bakteri *Lactobacillus delbrueckii* dengan Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus circulans*. *Jurnal Teknik dan Lingkungan*. 4(2):153-161.
- Mallesha., Shylaja, R. dan Selvakumar, D.J.H. 2010. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria From Raw and Fermented Products and Their Antibacterial Activity. *Recent Research in Science and Technology*. Vol 2(6): 42-46.
- Mardalena, M. (2016). Fase Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Tempoyak Asal Jambi yang Disimpan Pada Suhu Kamar. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*, 11(1), 58-66.
- Marcial-Coba, M. S., Cieplak, T., Cahú, T. B., Blennow, A., Knöchel, S., & Nielsen, D. S. (2018). Viability of microencapsulated *Akkermansia muciniphila* and *Lactobacillus plantarum* during freeze-drying, storage and in vitro simulated upper gastrointestinal tract passage. *Food & function*, 9(11), 5868-5879.
- Martin, A. (2014). Pengeringan bengkuang dengan sistem pengeringan beku vakum (*vacuum freeze drying system*) (Doctoral dissertation, Riau University).

- Meng, Q., & Hu, J. (2008). A poly (ethylene glycol)-based smart phase change material. *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 92(10), 1260-1268.
- Martinović, A., Cocuzzi, R., Arioli, S., & Mora, D. (2020). *Streptococcus thermophilus*: to survive, or not to survive the gastrointestinal tract, that is the question!. *Nutrients*, 12(8), 2175.
- Moses JA, Norton T, Alagusundaram K, Tiwari BK. Novel Drying Techniques for the Food Industry, *Food Engineering Reviews*, vol.6 no.3, pp.43-55, 2014.
- Nowak, D., & Jakubczyk, E. (2020). The freeze-drying of foods—The characteristic of the process course and the effect of its parameters on the physical properties of food materials. *Foods*, 9(10), 1488.
- Nireesha, G. R., Divya, L., Sowmya, C., Venkateshan, N. N. B. M., & Lavakumar, V. (2013). Lyophilization/freeze drying-an review. *International journal of novel trends in pharmaceutical sciences*, 3(4), 87-98.
- Nguyen, D. T. L., Van Hoorde, K., Cnockaert, M., De Brandt, E., Aerts, M., & Vandamme, P. (2013). A description of the lactic acid bacteria microbiota associated with the production of traditional fermented vegetables in Vietnam. *International journal of food microbiology*, 163(1), 19-27.
- Nurdyansyah, F., & Hasbullah, U. H. A. (2018). Optimasi fermentasi asam laktat oleh *Lactobacillus casei* pada media fermentasi yang disubstitusi tepung kulit pisang. *Journal of Biology*, 11(1), 64-71.
- Oluwatosin, S. O., Tai, S. L., & Fagan-Endres, M. A. (2022). Sucrose, maltodextrin and inulin efficacy as cryoprotectant, preservative and prebiotic—towards a freeze dried *Lactobacillus plantarum* topical probiotic. *Biotechnology Reports*, 33, e00696.
- Olsson, C., & Swenson, J. (2020). Structural comparison between sucrose and trehalose in aqueous solution. *The Journal of Physical Chemistry B*, 124(15), 3074-3082.
- Papadimitriou, K., Alegría, Á., Bron, P. A., De Angelis, M., Gobbetti, M., Kleerebezem, M., ... & Kok, J. (2016). Stress physiology of lactic acid bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 837-890.
- Prabandari, W. 2011. Pengaruh Berbagai Jenis Bahan Penstabil terhadap Karakteristik Fisikokimia dan Organoleptik Yoghurt Jagung. [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

- Quinto, E. J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J., & Girbés, T. (2014). Probiotic lactic acid bacteria: a review. *Food and Nutrition Sciences*, 5(18), 1765.
- Rachman, S. D., Djajasoepena, S., Kamara, D. S., Idar, I., Sutrisna, R., Safari, A., ... & Ishmayana, S. (2015). Kualitas yoghurt yang dibuat dengan kultur dua (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) dan tiga bakteri (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus acidophilus*). *Chimica et Natura Acta*, 3(2).
- Rofiah, N. F. (2015). Pemanfaatan Ekstrak Bekatul Beras Merah Sebagai Sumber Prebiotik Dalam Pembuatan Yoghurt Dengan Variasi Lama Fermentasi (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
- Rizqiati, H. 2006. Ketahanan dan Viabilitas *Lactobacillus plantarum* Yang Dienkapsulasi Dengan Susu Skim dan Gum Arab Setelah Pengeringan dan Penyimpanan. Tesis. Program Studi Ilmu Pangan. Institut Pertanian Bogor
- Roosynda, M. (2015). Pengaruh Konsentrasi Cryoprotectant Sukrosa Terhadap Viabilitas *Lactobacillus plantarum* Dad 13 Selama Pembekuan, Freeze-Drying Dan Penyimpanan (Doctoral dissertation, Universitas Gadjah Mada).
- Reece, J. B., Urry, L. A., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V., & Jackson, R. B. (2014). *Campbell biology* (Vol. 9). Boston: Pearson.
- Reyes-Nava, LA., Garduño-Siciliano, L., Estrada-delos SP., HernándezSánchez, H., A-Arauz, J-Muriel, P. dan Rivera-Espinoza, Y. 2015. Use of bile acids as a selection strategy for lactobacillus strains with probiotic potential. *Journal of Food and Nutritional Disorders*. 5(1)
- Rosmania, R., & Yanti, F. (2020). Perhitungan jumlah bakteri di Laboratorium Mikrobiologi menggunakan pengembangan metode Spektrofotometri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 76-86.
- Suhaeni, S. (2018). Uji Total Asam Dan Organoleptik Yoghurt Katuk (*Sauropus androgyneus*). *Dinamika*, 9(2), 21-28.
- Syainah, E., & Novita, S. (2014). Kajian pembuatan yoghurt dari berbagai jenis susu dan inkubasi yang berbeda terhadap mutu dan daya terima. *Jurnal Skala Kesehatan*, 5(1).

- Sintasari, R. A., Kusnadi, J., & Ningtyas, D. W. (2014). Pengaruh penambahan konsentrasi susu skim dan sukrosa terhadap karakteristik minuman probiotik sari beras merah [in press juli 2014]. *Jurnal pangan dan Agroindustri*, 2(3), 65-75.
- Samichah, S., & Syauqy, A. (2014). *Aktivitas Antioksidan Dan Penerimaan Organoleptik Yoghurt Sari Wortel (Daucus Carrota L)* (Doctoral dissertation, Diponegoro University).
- Soesetyaningsih, E., & Azizah, A. (2020). Akurasi perhitungan bakteri pada daging sapi menggunakan metode hitung cawan. *Berkala Sainstek*, 8(3), 75-79.
- Seniati, S., Marbiah, M., & Irham, A. (2019). Pengukuran kepadatan bakteri *Vibrio harveyi* secara cepat dengan menggunakan spektrofotometer. *Agrokompleks*, 19(2), 12-19.
- Sharma, O., Sultan, A. A., Ding, H., & Triggle, C. R. (2020). A Review of the Progress and Challenges of Developing a Vaccine for COVID-19. *Frontiers in immunology*, 11, 585354.
- Scharl, M., Geisel, S., Vavricka, S. R., & Rogler, G. (2011). Dying in yoghurt: the number of living bacteria in probiotic yoghurt decreases under exposure to room temperature. *Digestion*, 83(1-2), 13-17.
- Suprihatin. 2010. *Teknologi Pangan*. Surabaya. Unesa Press
- Septiani, A. H., Kusrahayu, K., & Legowo, A. M. (2013). Pengaruh penambahan susu skim pada proses pembuatan frozen yogurt yang berbahan dasar whey terhadap total asam, pH dan jumlah bakteri asam laktat. *Animal Agriculture Journal*, 2(1), 225-231.
- Shihab, Quraish M. 2012. *Tafsir al-Misbah*. Jakarta : Lentera Hati.
- Shihab, M. Q., & Al-Misbah, T. (2002). *Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shukla, S. (2011). Freeze drying process: A review. *International journal of pharmaceutical sciences and research*, 2(12), 3061.
- Trisnawita, Y. U. N. I., Silalahi, J. A. N. S. E. N., & Sinaga, S. M. (2018). The effect of storage condition on viability of lactic acid bacteria in probiotic product. *Asian J. Pharm. Clin. Res*, 11(84), 10-22159.
- Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., & Kopsahelis, N. (2019). *Probiotics in Food Systems : Significance and*

Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. *Nutrients*, 11(7).

- Tari, A. I. N., Handayani, C. B., & Hartati, S. (2020). Effect of Cryoprotectant Concentration on Starter Culture Viability Sinbiotic Yogurt with Freeze Dried Sweet Potato Extract Supplementation. *International Journal of Advance Tropical Food*, 2(1).
- Thorat, A. A., & Suryanarayanan, R. (2019). Characterization of phosphate buffered saline (PBS) in frozen state and after freeze-drying. *Pharmaceutical research*, 36(7), 1-11.
- Uriot, O., Denis, S., Junjua, M., Roussel, Y., Dary-Mourot, A., & Blanquet-Diot, S. (2017). *Streptococcus thermophilus*: from yogurt starter to a new promising probiotic candidate?. *Journal of Functional Foods*, 37, 74-89.
- Widodo., Dwi Wahyuningsih Tutik., Nurrochman Arief., Wahyuni Endang., Tono Taufiq Tiyas., Septiana Anindita Nosa., Lestari Sri., Ayu Harsita Pradipta., Surya Sukarno Ari., Handaka Robert. 2019. Bakteri Asam Laktat Strain Lokal: Isolasi sampai Aplikasi sebagai Probiotik dan Starter Fermentasi Susu. Yogyakarta. UGM Press.
- Weerathilake, W. A. D. V., Rasika, D. M. D., Ruwanmali, J. K. U., & Munasinghe, M. A. D. D. (2014). The evolution, processing, varieties and health benefits of yogurt. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(4), 1-10.
- Wowk, B. (2007). How cryoprotectants work. *Cryonics*, 28(3), 3-7.
- Warokka, K. E., & Wuisan, J. (2016). Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steenis) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-GiGi*, 4(2).
- Wicaksono, E. B., Hardianto, H., & Muliawan, A. (2019). Rancang Bangun Penghitung Jumlah Koloni Bakteri Berbasis Arduino Uno. *Teknika*, 13(2), 123-128.
- Yunita, Y., Tari, A. I. N., & Afriyanti, A. (2019). Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Sebagai Cryoprotectant Terhadap Karakteristik Sifat Kimia Yoghurt Sinbiotik Kering Beku. *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 5(2), 81-85.
- Yulita R. Viabilitas Bakteri Asam Laktat dan Aktivitas Antimikrobia Susu Fermentasi Terhadap *Streptococcus pyogenes*, *Vibrio cholera* dan *Candida albicans*. *J Teknobiologi [Internet]*. 2014;1–14.

- Zoumpopoulou, G., Tzouvanou, A., Mavrogonatou, E., Alexandraki, V., Georgalaki, M., Anastasiou, R., ... & Tsakalidou, E. (2018). Probiotic features of lactic acid bacteria isolated from a diverse pool of traditional Greek dairy products regarding specific strain-host interactions. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 10(2), 313-322.
- Zaitoun, M., Ghanem, M., & Harphoush, S. (2018). Sugars: Types and their functional properties in food and human health. *International J. Pub Health Res*, 6, 93-9.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Data Yoghurt Cair dan Yoghurt Serbuk

1. Total Bakteri Asam Laktat Yoghurt Cair dan Serbuk

Perlakuan	Pengenceran		Jumlah	Hasil	Rata-rata
	10^{-7}	10^{-8}			
Sukrosa (0%) Cair	60	55	115	3.05×10^8	2.94×10^8
	58	51	109	2.84×10^8	
	59	53	112	2.94×10^8	
Sukrosa (5%) Cair	63	56	119	3.11×10^8	3.02×10^8
	55	53	108	2.92×10^8	
	57	55	112	3.03×10^8	
Sukrosa (10%) Cair	63	57	120	3.16×10^8	3.03×10^8
	62	53	115	2.96×10^8	
	58	54	112	2.99×10^8	
Sukrosa (15%) Cair	67	51	118	2.88×10^8	3.06×10^8
	62	57	119	3.16×10^8	
	59	57	116	3.14×10^8	
Skim (0%) Cair	63	61	124	3.36×10^8	3×10^8
	63	50	113	2.81×10^8	
	59	51	110	2.84×10^8	
Skim (5%) Cair	61	58	119	3.20×10^8	3.2×10^8
	63	61	124	3.36×10^8	
	73	54	127	3.06×10^8	
Skim (10%) Cair	55	53	108	2.92×10^8	2.82×10^8
	65	45	110	2.57×10^8	
	56	54	104	2.98×10^8	
Skim (15%) Cair	69	52	121	2.94×10^8	2.81×10^8
	65	51	116	2.87×10^8	
	59	47	106	2.64×10^8	

Perlakuan	Pengenceran		Jumlah	Hasil	Rata-rata
	10^{-7}	10^{-8}			
Sukrosa (0%) Serbuk	42	30	72	1.71×10^8	1.58×10^8
	37	30	67	1.68×10^8	

	41	23	64	1.35×10^8	
Sukrosa (5%) Serbuk	52	28	80	1.66×10^8	1.65×10^8
	43	26	69	1.51×10^8	
	41	32	73	1.80×10^8	
Sukrosa (10%) Serbuk	39	30	69	1.69×10^8	1.66×10^8
	40	25	65	1.45×10^8	
	43	33	76	1.86×10^8	
Sukrosa (15%) Serbuk	51	38	89	2.15×10^8	2.17×10^8
	45	40	85	2.22×10^8	
	42	39	81	2.16×10^8	
Skim (0%) Serbuk	43	30	73	1.71×10^8	1.59×10^8
	36	26	62	1.48×10^8	
	30	29	59	1.60×10^8	
Skim (5%) Serbuk	44	32	76	1.82×10^8	1.85×10^8
	51	30	81	1.75×10^8	
	49	35	84	1.99×10^8	
Skim (10%) Serbuk	43	33	76	1.86×10^8	1.73×10^8
	51	27	78	1.60×10^8	
	41	31	72	1.75×10^8	
Skim (15%) Serbuk	49	34	83	1.94×10^8	1.8×10^8
	53	33	86	1.91×10^8	
	33	28	61	1.56×10^8	

2. Kadar Asam Laktat Yoghurt Cair dan Serbuk

Perlakuan	V2-V1	Hasil	Rata-rata
Sukrosa (0%) Cair	10.6	0.96%	1.01%
	12.2	1%	
	12.1	1.09%	
Sukrosa (5%) Cair	12	1.08%	1.08%
	11.6	1.05%	
	12.4	1.12%	
Sukrosa (10%) Cair	13	1.17%	1.13%
	12.7	1.15%	
	11.8	1.07%	
Sukrosa (15%) Cair	12.2	1%	0.94%
	10.4	0.94%	

	9.7	0.88%	
Skim (0%) Cair	10.2	0.92%	0.90%
	9.7	0.88%	
	10	0.90%	
Skim (5%) Cair	13.1	1.18%	1.13%
	12.6	1.14%	
	11.8	1.07%	
Skim (10%) Cair	12.2	1.10%	1.14%
	12.8	1.16%	
	13.1	1.18%	
Skim (15%) Cair	12.4	1.12%	1.06%
	11.7	1.06%	
	12.2	1%	

Perlakuan	V2-V1	Hasil	Rata-rata
Sukrosa (0%) Serbuk	5.1	0.46%	0.52%
	5.6	0.51%	
	6.6	0.60%	
Sukrosa (5%) Serbuk	5.2	0.47%	0.48%
	5	0.45%	
	5.7	0.52%	
Sukrosa (10%) Serbuk	7.1	0.64%	0.60%
	7	0.63%	
	6	0.54%	
Sukrosa (15%) Serbuk	6	0.54%	0.47%
	5.2	0.47%	
	4.5	0.41%	
Skim (0%) Serbuk	3.6	0.33%	0.30%
	3.1	0.28%	
	3.4	0.31%	
Skim (5%) Serbuk	5.8	0.53%	0.47%
	5.3	0.48%	
	4.5	0.41%	
Skim (10%) Serbuk	5.3	0.48%	0.52%
	6	0.54%	
	6.2	0.56%	
Skim (15%) Serbuk	6.1	0.55%	0.49%
	5.4	0.49%	
	4.8	0.44%	

Lampiran 2. Hasil Analisis Spss

1. Uji normalitas total BAL yoghurt cair + sukrosa

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	.26787605
Most Extreme Differences	Absolute	.210
	Positive	.108
	Negative	-.210
Test Statistic		.210
Asymp. Sig. (2-tailed)		.149 ^c

2. Uji homogenitas total BAL yoghurt cair + sukrosa

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
BAL	Based on Mean	.933	3	8	.468
	Based on Median	.633	3	8	.614
	Based on Median and with adjusted df	.633	3	5.882	.621
	Based on trimmed mean	.919	3	8	.474

3. Uji one way anova

ANOVA					
BAL					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.897	3	.299	17.933	.051
Within Groups	.133	8	.017		
Total	1.030	11			

4. Uji normalitas total BAL yoghurt cair + skim

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000

	Std. Deviation	.63739527
Most Extreme Differences	Absolute	.214
	Positive	.214
	Negative	-.148
Test Statistic		.214
Asymp. Sig. (2-tailed)		.136 ^c

5. Uji homogenitas total BAL yoghurt cair + skim

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
BAL	Based on Mean	4.249	3	8	.055
	Based on Median	.683	3	8	.587
	Based on Median and with adjusted df	.683	3	3.274	.615
	Based on trimmed mean	3.759	3	8	.060

6. Uji anova total BAL yoghurt cair + skim

ANOVA					
BAL					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.723	3	1.574	4.115	.059
Within Groups	3.060	8	.382		
Total	7.783	11			

7. Uji normalitas total BAL yoghurt serbuk + sukrosa

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	.22033033
Most Extreme Differences	Absolute	.196
	Positive	.122
	Negative	-.196
Test Statistic		.196
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

8. Uji homogenitas total BAL yoghurt serbuk + sukrosa

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
BAL	Based on Mean	5.537	3	8	.624
	Based on Median	.769	3	8	.543
	Based on Median and with adjusted df	.769	3	2.667	.590
	Based on trimmed mean	4.846	3	8	.533

9. Uji anova

ANOVA					
BAL					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.527	3	.176	3.901	.055
Within Groups	.360	8	.045		
Total	.887	11			

10. Uji normalitas yoghurt serbuk + skim

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	.24511407
Most Extreme Differences	Absolute	.147
	Positive	.104
	Negative	-.147
Test Statistic		.147
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

11. Uji homogenitas yoghurt serbuk + skim

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
BAL	Based on Mean	2.595	3	8	.125
	Based on Median	.445	3	8	.727
	Based on Median and with adjusted df	.445	3	3.811	.735

	Based on trimmed mean	2.324	3	8	.151
--	-----------------------	-------	---	---	------

12. Uji anova

ANOVA					
BAL					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.038	3	.346	12.314	.052
Within Groups	.225	8	.028		
Total	1.263	11			

B. Kadar Asam Laktat Yoghurt Cair dan Serbuk

1. Uji normalitas yoghurt cair + sukrosa

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	.01848833
Most Extreme Differences	Absolute	.135
	Positive	.133
	Negative	-.135
Test Statistic		.135
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

2. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ASAM	Based on Mean	.333	3	8	.802
	Based on Median	.250	3	8	.859
	Based on Median and with adjusted df	.250	3	8.000	.859
	Based on trimmed mean	.333	3	8	.802

3. Uji anova

ANOVA					
ASAM					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.011	3	.004	73.778	.050

Within Groups	.000	8	.000		
Total	.011	11			

4. Uji normalitas yoghurt cair + skim

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	.04379705
Most Extreme Differences	Absolute	.145
	Positive	.134
	Negative	-.145
Test Statistic		.145
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200 ^{c,d}

5. Uji homogenitas yoghurt cair + skim

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ASAM	Based on Mean	.333	3	8	.802
	Based on Median	.250	3	8	.859
	Based on Median and with adjusted df	.250	3	8.000	.859
	Based on trimmed mean	.333	3	8	.802

6. Uji anova

ANOVA					
ASAM					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.027	3	.009	178.000	.051
Within Groups	.000	8	.000		
Total	.027	11			

7. Uji normalitas yoghurt serbuk + sukrosa

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.0000000
	Std. Deviation	.01921174

Most Extreme Differences	Absolute	.159
	Positive	.159
	Negative	-.123
Test Statistic		.159
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200c,d

8. Uji homogenitas yoghurt serbuk + sukrosa

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ASAM	Based on Mean	.333	3	8	.802
	Based on Median	.250	3	8	.859
	Based on Median and with adjusted df	.250	3	8.000	.859
	Based on trimmed mean	.333	3	8	.802

9. Uji anova

ANOVA					
ASAM					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.009	3	.003	61.778	.000
Within Groups	.000	8	.000		
Total	.010	11			

10. Uji DMRT duncan

ASAM					
Duncan					
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Serbuk+Sukrosa+0%	3	.3833			
Serbuk+Sukrosa+5%	3		.4167		
Serbuk+Sukrosa+15%	3			.4333	
Serbuk+Sukrosa+10%	3				.4600
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

11. Uji normalitas yoghurt serbuk + skim

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		
		Unstandardized Residual
N		12
Normal Parameters,a,b	Mean	.0000000

	Std. Deviation	.03635682
Most Extreme Differences	Absolute	.178
	Positive	.178
	Negative	-.170
Test Statistic		.178
Asymp. Sig. (2-tailed)		.200c,d

12. Uji homogenitas yoghurt serbuk + skim

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ASAM	Based on Mean	.333	3	8	.802
	Based on Median	.250	3	8	.859
	Based on Median and with adjusted df	.250	3	8.000	.859
	Based on trimmed mean	.333	3	8	.802

13. Uji anova

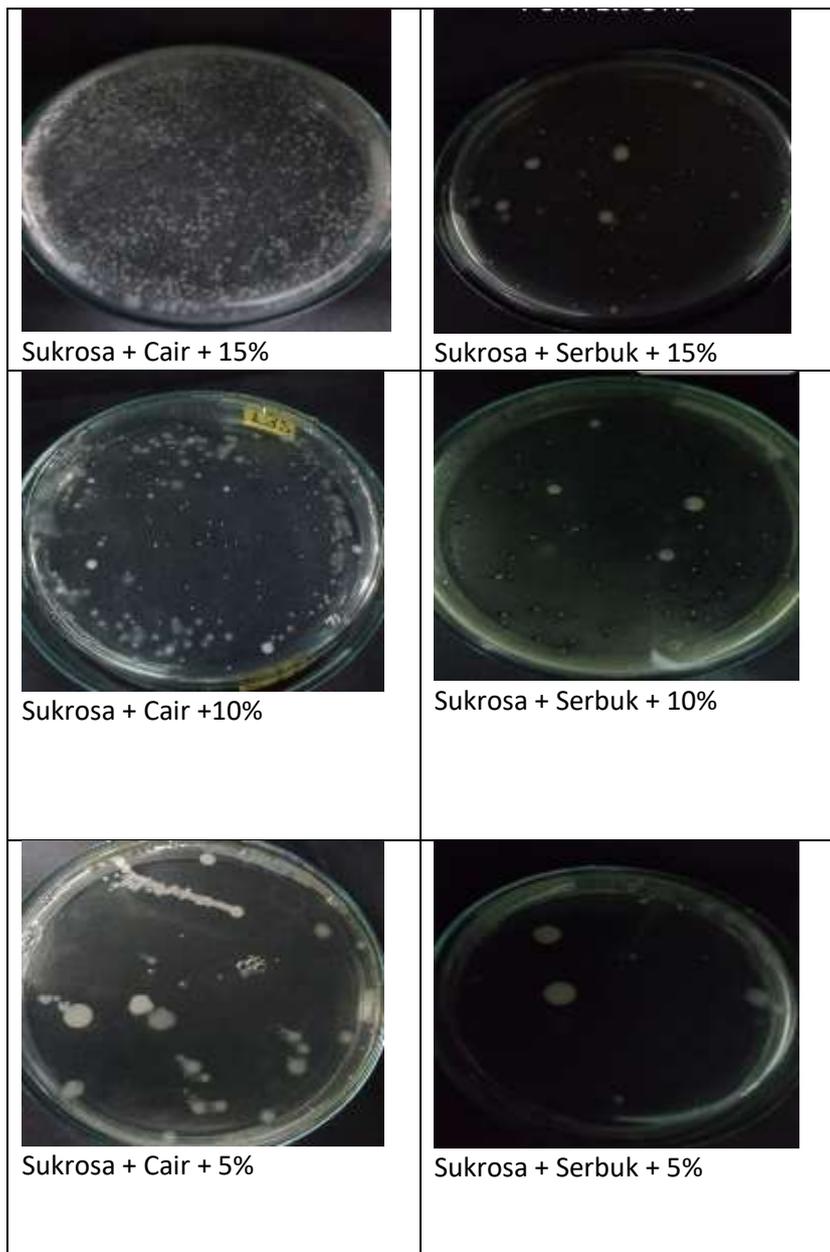
ANOVA					
ASAM					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.021	3	.007	142.667	.000
Within Groups	.000	8	.000		
Total	.022	11			

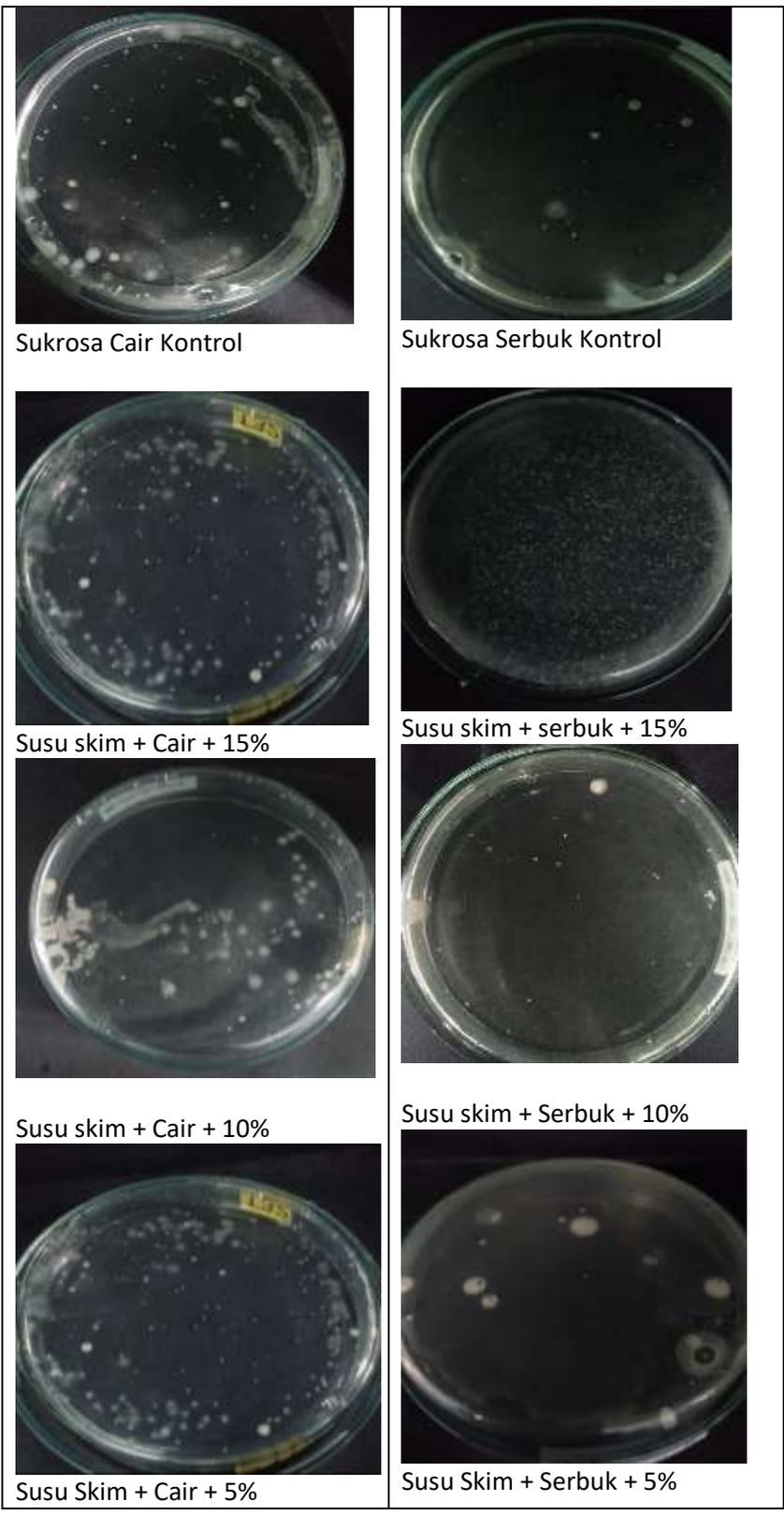
14. Uji DMRT duncan

ASAM				
Duncana				
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Serbuk+Skim+0%	3	.3500		
Serbuk+Skim+10%	3		.4333	
Serbuk+Skim+15%	3		.4333	
Serbuk+Skim+5%	3			.4633
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 3. Gambar Pengamatan

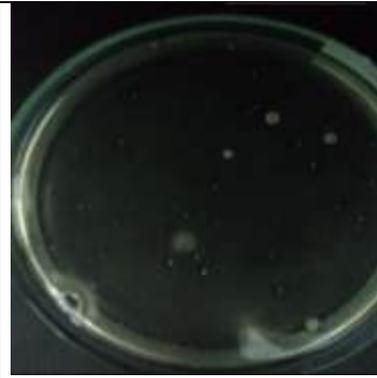
1. Gambar pengamatan uji total BAL, Kadar Asam Laktat, dan Yoghurt Kering Beku







Susu Skim + Cair + Kontrol



Susu Skim + Serbuk + Kontrol



Yoghurt Serbuk



Hasil uji titrasi

Lampiran 4.

Kartu Konsultasi Pembimbing Biologi



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Program Studi Biologi
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp. (0341) 558833, Fax. (0341) 558833

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Qotrun Nada Alawiyah
NIM : 17620114
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2021/2022
Pembimbing : Ir. Liliek Harianie, A.R, MP
Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Susu Skim sebagai Krioprotektan terhadap Total Bakteri Asam Laktat dan Kadar Asam Laktat Yoghurt Kering Beku

No.	Tanggal	Uraian Kegiatan	TTD
1.	08/03/2021	Konsultasi BAB I,II,III	
2.	15/03/2021	Konsultasi dan Revisi BAB I,II,III	
3.	12/04/2021	Revisi BAB I, II, III	
4.	03/05/2021	Konsultasi dan Revisi BAB I,II,III	
5.	25/05/2021	Konsultasi dan Revisi BAB I,II,III	
6.	31/05/2021	Konsultasi dan Revisi BAB I,II,III	
7.	17/05/2022	Revisi BAB IV dan BAB V	
8.	7/06/2022	Acc sidang	
9.	24/6/2022	Acc Yudisium	

Pebimbing skripsi

Ir. Liliek Harianie, A.R, MP NIP.
196209011998032001



Malang, 07 Juni 2022
Ketua Jurusan
Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP.197410182003122002

Lampiran 5.

Kartu Konsultasi Pembimbing Agama



KEMENTERIAN AGAMA
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
 PROGRAM STUDI BIOLOGI
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp. (0341) 558033, Fax. (0341) 558031

Nama : Qotrun Nada Alawiyah
 NIM : 17620114
 Program Studi : S1 Biologi
 Semester : Genap TA 2021/2022
 Pembimbing : Dr. H.M. Imamuddin, Lc, MA
 Judul Skripsi : Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Susu Skim sebagai Krioprotektan terhadap Total Bakteri Asam Laktat dan Kadar Asam Laktat Yoghurt Kering Beku

No.	Tanggal	Uraian kegiatan	TTD
1.	13/06/2021	Konsultasi Integrasi Al-Qur'an Proposal Skripsi BAB I	
2.	3/06/2021	Konsultasi Integrasi Al-Qur'an Proposal Skripsi BAB I	
3.	4/06/2021	Konsultasi Integrasi Al-Qur'an Proposal Skripsi BAB I	
4.	4/06/2021	Konsultasi Integrasi Al-Qur'an Proposal Skripsi BAB I	
5.	06/06/2021	Revisi BAB I-IV dan abstrak	
6.	07/06/2021	Acc sidang	
	24/06/2021	Acc Yudisium	

Pebimbing skripsi

Dr. H. M. Imamudin, Lc, MA
 NIP. 197406022009011010



Dr. Evika Sandi Savitri, M. P.
 NIP. 197410182003122002

Lampiran 6.

Bukti Plagiasi



**KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA
MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp / Faks:
(0341) 558933

Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email:
biologi@uin-malang.ac.id

Form Checklist Plagiasi

Nama : Qotrun Nada Alawiyah
NIM : 17620114
Judul : Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Susu Skim sebagai Krioprotektan terhadap Total Bakteri Asam Laktat dan Kadar Asam Laktat Yoghurt Kering Beku

No	Tim Checkplagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1.	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
2.	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
3.	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc	22%	

Mengetahui
Ketua Program Studi Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M. P
NIP. 19741018 200312 2 002