

**PENGARUH PENAMBAHAN SARI BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus
polyrhizus*) DAN LAMA FERMENTASI PADA KUALITAS YOGHURT
DAN KEANEKARAGAMAN BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)**

SKRIPSI

**Oleh:
SALSABILA NURAULIA
NIM. 220602110122**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

**PENGARUH PENAMBAHAN SARI BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus
polyrhizus*) DAN LAMA FERMENTASI PADA KUALITAS YOGHURT
DAN KEANEKARAGAMAN BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)**

SKRIPSI

**OLEH
SALSABILA NURAULIA
NIM. 220602110122**

**Diajukan Kepada
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam
memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.)**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2026**

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Salsabila Nuraulia
NIM : 220602110122
Program Studi : Biologi
Judul Skripsi : Pengaruh Penambahan Sari Buah Naga Merah
(*Hylocereus polyrhizus*) dan Lama Fermentasi
pada Kualitas Yoghurt dan Keanekaragaman
Bakteri Asam Laktat (BAL)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji pada tanggal 3 Juni 2026 dan diterima sebagai bagian dari persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

(.....)

Pembimbing II : Kivah Aha Putra, M.Pd.I
NIP. 19900425 202321 1 024

(.....)

Tim Penguji : Ir. Liliek Harianie AR, M.P
NIP. 19620901 199803 2 001

(Ketua) (.....)

Dr. Muhammad Saefi, M.Pd
NIP. 19920101 202203 1 002

(Anggota) (.....)



Ketua Program Studi Biologi

Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 19671113 199402 2 001

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji dan syukur ke hadirat Allah SWT atas rahmat, ridha, dan karunia-Nya yang memberikan segala nikmat kesehatan, kemudahan, dan kelancaran kepada penulis dalam menyusun skripsi dan dapat menyelesaikannya dengan baik. Shalawat serta salam semoga selalu tercurah dan limpahkan kepada Baginda Rasulullah SAW. Semoga kita semua mendapatkan syafaat beliau di hari akhir. Aamiin. Skripsi ini penulis persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua tercinta, Ibu Dewi Suyatmi dan Bapak Iwan Setiawan, yang senantiasa memanjatkan doa tulus, kasih sayang, dan perhatian tiada henti, memberikan motivasi, menjadi sumber semangat, selalu membersamai saya, serta memberikan dukungan lahir dan batin dalam setiap langkah kehidupan saya. Terima kasih, Mama dan Babeh, atas segala pengorbanan, perjuangan, keikhlasan, dan kesabaran yang telah diberikan sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Karya ini menjadi salah satu bukti perjuangan, pengorbanan, dan cinta yang memberikan pendidikan terbaik bagi saya.
2. (Almh.) Ibu Eka Nurhidayati dan Bapak Edi Junaedi, yang juga selalu mendukung, mendoakan, dan memberikan kasih sayang yang tulus sejak saya lahir hingga saat ini. Paman Yanto & Bibi Ela yang selalu mendoakan dan mendukung saya.
3. Kakak-kakak tersayang, Tya Dasfyana, Dwiki Wirawan, Ilham Fadillah, Angga Yudha, Fitriyani, Risa, dan adik-adik tersayang, Faiz, Irna, dan Ara, yang selalu memberikan dukungan, doa, dan semangat bagi saya. Terima kasih atas segala waktu dan tenaga yang telah dicurahkan, selalu memberikan kebahagiaan, dan selalu membuat saya rindu rumah. Kedua keponakanku tersayang, Hannah Haiqa dan Kinanti Prameswari, yang selalu memberikan kebahagiaan dan warna baru dalam hidup saya. Terima kasih, sayang-sayangku.
4. Para dosen dan laboran Program Studi Biologi, khususnya Ibu Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P., selaku dosen pembimbing, Bapak Kivah Aha Putra, M.Pd.I selaku dosen pembimbing agama, Ibu Ir. Liliek Harianie, M.P., dan Bapak Dr. Muhammad Saefi, M.Pd., selaku dosen penguji, serta Bapak Suyono, M.P., selaku dosen wali saya, yang telah sabar membimbing, mengarahkan, dan memberikan banyak ilmu selama proses perkuliahan maupun penelitian. Berkat bimbingan dan ilmu yang diberikan, skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Semoga Bapak dan Ibu senantiasa diberikan kesehatan, kebahagiaan, dan keberkahan oleh Allah SWT.
5. Para sahabat saya, Ananda, Imas, Khofifah, Putri, dan Yumna. Terima kasih selalu memberikan waktu, doa, dukungan, motivasi, dan selalu membersamai saya dalam keadaan apa pun. Semoga Allah selalu menjaga persahabatan kita.
6. Teman-teman Biologi Angkatan 2022, terutama kelas Biologi D, KKM 33 Artha Bhakti, USA 3/34, Wolu Human, serta seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu, yang telah memberikan dukungan, motivasi, dan kebersamaan selama proses perkuliahan.

7. Terima kasih pula kepada diri saya sendiri, karena sudah bisa menjalani dan melewati setiap proses hingga sampai pada titik ini. *You did it very well, little Abil. May Allah always bless you every single day of your life, guide every step you take, and ease every path you pursue to achieve your dreams.*

Malang, 5 Mei 2026

Salsabila Nuraulia

MOTTO

“Allah tidak akan membebani seseorang, kecuali menurut kesanggupannya...” (QS. Al-Baqarah [2]:286).

“Jika langkahku kemarin terasa berat, itu karena Allah tahu bahwa aku mampu. *Fa inna ma'al-'usri yusra, inna ma'al-'usri yusra.*” (QS. Al-Insyirah [94]:5-6).

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Salsabila Nuraulia
NIM : 220602110122
Program Studi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi pada kualitas yoghurt dan keanekaragaman bakteri asam laktat (BAL)

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

Malang, 03 Juni 2026

Yang membuat pernyataan,



Salsabila Nuraulia

NIM. 220602110122

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 dengan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.

PENGARUH PENAMBAHAN SARI BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) DAN LAMA FERMENTASI PADA KUALITAS YOGHURT DAN KEANEKARAGAMAN BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)

Salsabila Nuraulia, Evika Sandi Savitri, Kivah Aha Putra

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim Malang

ABSTRAK

Yoghurt merupakan produk olahan susu dengan kandungan gizi tinggi yang dibuat melalui fermentasi menggunakan bakteri asam laktat (BAL), namun memiliki cita rasa asam yang khas sehingga perlu penambahan perisa alami seperti sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) untuk menetralkan rasa asam sekaligus meningkatkan nilai gizi dan daya tarik produk. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penambahan sari buah naga merah dan lama fermentasi terhadap karakteristik BAL, total BAL, kadar asam, dan pH yoghurt. Metode yang digunakan meliputi karakterisasi BAL secara makroskopis dan mikroskopis (pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, uji katalase, uji tipe fermentasi), penghitungan total BAL dengan metode total plate count menggunakan media MRSA, pengukuran kadar asam melalui titrasi asam basa dengan NaOH 0,1N, serta pengukuran pH menggunakan pH meter. Penelitian ini menggunakan konsentrasi sari buah naga merah 0%, 10%, dan 15% dengan variasi lama fermentasi 0 hari, 2 hari, dan 3 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat BAL yang diperoleh diduga termasuk ke dalam genus *Lactobacillus* (berbentuk basil) dan *Streptococcus* (berbentuk kokus), dengan karakteristik Gram positif, tidak membentuk endospora, katalase negatif, dan homofermentatif. Perlakuan terbaik diperoleh pada kombinasi konsentrasi 15% dengan lama fermentasi 2 hari, menghasilkan kadar asam 0,97% (b/b), nilai pH 4,48, serta total BAL $3,9 \times 10^9$ CFU/mL. Disarankan penelitian lanjutan untuk melakukan uji aktivitas antibakteri dan uji organoleptik guna memastikan keamanan pangan serta kelayakan produk.

Kata kunci: Yoghurt, Fermentasi, Bakteri Asam Laktat, Buah Naga Merah, Kadar Asam

**THE EFFECT OF THE ADDITION OF RED DRAGON FRUIT JUICE
(*Hylocereus polyrhizus*) AND FERMENTATION TIME ON YOGHURT QUALITY
AND LACTIC ACID BACTERIA (LAB) DIVERSITY**

Salsabila Nuraulia, Evika Sandi Savitri, Kivah Aha Putra

Biology Program, Faculty of Science and Technology, Universitas Islam Negeri Maulana
Malik Ibrahim Malang

ABSTRACT

Yogurt is a dairy product with high nutritional content made through fermentation using lactic acid bacteria (LAB), but it has a distinctive sour taste, so it is necessary to add natural flavors such as red dragon fruit juice (*Hylocereus polyrhizus*) to neutralize the sour taste while increasing the nutritional value and product appeal. This study aimed to analyze the effect of adding red dragon fruit juice and fermentation time on LAB characteristics, total LAB, acid content, and pH of yogurt. The methods used included macroscopic and microscopic characterization of LAB (Gram staining, endospore staining, catalase test, fermentation type test), calculation of total LAB using the total plate count method on MRSA media, measurement of acid content through acid-base titration with 0.1N NaOH, and pH measurement using a pH meter. This study used red dragon fruit juice concentrations of 0%, 10%, and 15% with fermentation time variations of 0 days, 2 days, and 3 days. The results showed that the LAB isolates obtained were presumed to belong to the genera *Lactobacillus* (bacillus-shaped) and *Streptococcus* (coccus-shaped), with characteristics of Gram-positive, non-endospore-forming, catalase-negative, and homofermentative. The best treatment was obtained at a combination of 15% concentration with 2 days of fermentation, producing an acid content of 0.97% (w/w), a pH value of 4.48, and a total LAB of 3.9×10^9 CFU/mL. Further research is recommended to conduct antibacterial activity tests and organoleptic tests to ensure food safety and product feasibility

Keywords: Yoghurt, Fermentation, Lactic Acid Bacteria, Red Dragon Fruit, Acidity Level

ومدة التخمر على جودة الزبادي وتنوع (*Hylocereus polyrhizus*) تأثير إضافة عصير فاكهة التنين الأحمر (BAL) بكتيريا حمض اللاكتيك

سلسبيل نور اوليا، إيفيكا ساندري سافطري، كفاح آحا فوترا

برنامج دراسة الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج

مستخلص البحث

الزبادي منتج ألبان غني بالعناصر الغذائية، يُصنع عن طريق التخمر باستخدام بكتيريا حمض اللاكتيك، إلا أنه يتميز بمذاق حامض لاذع، لذا يُضاف إليه نكهات طبيعية مثل عصير فاكهة التنين الأحمر (*Hylocereus polyrhizus*) لمعادلة هذا المذاق الحامض مع تعزيز قيمته الغذائية وجاذبيته. هدفت هذه الدراسة إلى تحليل تأثير إضافة عصير فاكهة التنين الأحمر ومدة التخمر على خصائص بكتيريا حمض اللاكتيك، وعددها الكلي، ومحتوى الحموضة، ودرجة حموضة الزبادي. شملت الطرق المستخدمة توصيف بكتيريا حمض اللاكتيك مجهريًا وعيانيًا (صبغة غرام، صبغة الأبواغ الداخلية، اختبار الكاتالاز، اختبار نوع التخمر)، وحساب العدد الكلي لبكتيريا حمض اللاكتيك باستخدام طريقة العد الكلي على وسط MRSA، وقياس محتوى الحموضة عن طريق معايرة الحمض والقاعدة باستخدام هيدروكسيد الصوديوم 0.1N، وقياس درجة الحموضة باستخدام جهاز قياس الحموضة. استخدمت هذه الدراسة تراكيز مختلفة من عصير فاكهة التنين الأحمر: 0%، 10%، و15%، مع فترات تخمر مختلفة: 0 يوم، 2 يوم، و3 أيام. أظهرت النتائج أن عزلات بكتيريا حمض اللاكتيك المستخلصة يُفترض أنها تنتمي إلى جنسي العصيات اللبنية (*Lactobacillus*) (على شكل عصيات) والمكورات العقدية (*Streptococcus*) (على شكل مكورات)، وتتميز بكونها موجبة الغرام، وغير مُكوّنة للأبواغ الداخلية، وسلبية الكاتالاز، ومتجانسة التخمر. وقد تم الحصول على أفضل النتائج عند استخدام تركيز 15% مع يومين من التخمر، مما أدى إلى محتوى حمضي قدره 0.97% (وزن/وزن)، وقيمة أس هيدروجيني (pH) تبلغ 4.48، وعدد إجمالي لبكتيريا حمض اللاكتيك قدره $10^9 \times 3.9$ وحدة تشكيل مستعمرة/مل. يوصى بإجراء المزيد من الأبحاث لإجراء اختبارات النشاط المضاد للبكتيريا والاختبارات الحسية لضمان سلامة الغذاء وجودة المنتج.

الكلمات المفتاحية: الزبادي، التخمر، بكتيريا حمض اللاكتيك، فاكهة التنين الحمراء، نسبة الحموضة

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah wa Syukrulillah senantiasa terpanjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-nya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul “Pengaruh penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi pada kualitas yoghurt dan keanekaragaman bakteri asam laktat (BAL)”. Untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Hj. Ilfi Nurdiana, M.Si., CAHRM., CRMP. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Agus Mulyono, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Prof. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P., selaku Dosen Pembimbing I yang telah membimbing, mengajari, serta memberikan arahan penuh kesabaran dan keikhlasan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan studi akhir dengan baik.
5. Kivah Aha Putra, M.Pd.I selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing, mengajari, serta memberikan arahan dengan penuh kesabaran dan keikhlasan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan studi akhir dengan baik.
6. Ir. Liliek Harianie, M.P., selaku Dosen Penguji I yang telah mengarahkan, memberi masukan dan pembelajaran dengan penuh keikhlasan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi akhir dengan baik.
7. Dr. Muhammad Saefi, M.Pd., selaku Dosen Penguji II dan Dosen Kolokium yang telah membimbing, mengajari, dan memberi arahan dengan baik serta penuh keikhlasan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi akhir dengan baik.
8. Suyono, M.P., selaku dosen wali yang telah membimbing dan memberikan masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan studi akhir dengan baik.
9. Seluruh dosen dan laboran di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang setia menemani penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium tersebut.
10. Teruntuk Mama tersayang dan Babeh yang selalu memanjatkan segala doa yang tulus, kasih sayang dan perhatian tiada henti, memberikan motivasi, menjadi sumber semangat, serta dukungan lahir dan batin sehingga penulis dapat menyelesaikan studinya sampai akhir.
11. Untuk Almh. Ibu yang selalu memberikan doa dan semangat di sela-sela sakitnya, Bapak yang selalu memberikan semangat, dukungan, serta doa, seluruh keluarga, terutama keponakan-keponakan tersayang yang selama ini menjadi sumber kebahagiaan dan semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan studinya sampai akhir.

12. Teman-teman seperjuangan Program Studi Biologi, terutama Kelas D yang telah menjadi tempat berbagi ilmu, canda, dan tawa. Sahabat-sahabat tersayang, yang selama ini selalu menerima keluh kesah dan bahagia, sehingga penulis dapat menyelesaikan studinya sampai akhir.

Penulis berharap laporan ini dapat memberikan manfaat bagi diri penulis sendiri maupun para pembacanya. Penulisan laporan ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga saran dan kritik yang membangun sangat dibutuhkan penulis untuk perbaikan dalam menulis laporan di kemudian hari.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

DAFTAR ISI

HALAMAN COVER	1
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	v
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
مستخلص البحث	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan.....	9
1.4 Manfaat.....	9
1.5 Hipotesis	10
1.6 Batasan Masalah	10
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 12
2.1 Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>)	12
2.2 Susu	17
2.3 Yoghurt.....	18
2.4 Bakteri Asam Laktat.....	23
2.4.1 Fase Pertumbuhan Bakteri	26
2.5 Kualitas Yoghurt	27
2.5.1 Uji pH	32
2.5.2 Uji Kadar Asam	33
2.5.3 Uji Total Bakteri Asam Laktat	35
2.5.4 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat	37
2.5.4.1 Identifikasi Makroskopis	38
2.5.4.2 Pewarnaan Gram.....	39
2.5.4.3 Pewarnaan Endospora.....	40
2.5.4.4 Uji Katalase	42
2.5.4.5 Uji Tipe Fermentasi	43
2.6 Hasil Penelitian Penambahan Sari Buah Naga Merah terhadap Kualitas Yoghurt.....	44

BAB III METODE PENELITIAN	47
3.1 Rancangan Penelitian	47
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	48
3.3 Alat dan Bahan	48
3.3.1 Alat	48
3.3.2 Bahan	49
3.4 Prosedur Penelitian	49
3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	49
3.4.2 Pembuatan Media	50
3.4.3 Pembuatan Yoghurt	50
3.4.4 Pembuatan Sari Buah Naga Merah.....	50
3.4.5 Pembuatan Yoghurt dengan Penambahan Sari Buah Naga Merah.....	51
3.4.6 Uji Sifat Kimia.....	51
3.4.6.1 Uji Total Asam Laktat	51
3.4.6.2 Uji pH	52
3.4.7 Uji Total Bakteri Asam Laktat	52
3.4.8.1 Identifikasi Makroskopis	54
3.4.8.2 Pewarnaan Gram.....	54
3.4.8.3 Pewarnaan Endospora.....	55
3.4.8.4 Uji Katalase	55
3.4.8.5 Uji Tipe Fermentasi	56
3.5 Analisis Data	56
 BAB IV HASIL & PEMBAHASAN.....	 57
4.1 Pengaruh Penambahan Sari Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) dan Lama Fermentasi terhadap Keanekaragaman BAL	57
4.1.1 Isolat BAL	57
4.1.2 Pewarnaan Gram.....	62
4.1.3 Pewarnaan Endospora	65
4.1.4 Uji Katalase	67
4.1.5 Uji Tipe Fermentasi.....	69
4.2 Pengaruh Penambahan Sari Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) dan Lama Fermentasi terhadap Kualitas Yoghurt	73
4.2.1 Nilai pH	73
4.2.2 Total Asam Titrasi.....	78
4.2.3 Total Bakteri Asam Laktat	83
4.3 Tokoh Muslim	89
 BAB V PENUTUP.....	 92
5.1 Simpulan.....	92
5.2 Saran	93
 DAFTAR PUSTAKA.....	 94
 LAMPIRAN-LAMPIRAN	 109

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan gizi pada buah naga (Aryanta dkk. 2022).....	15
Tabel 2.2 Syarat mutu yoghurt (SNI 2981:2009)	30
Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan konsentrasi sari buah naga merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) dengan lama fermentasi	47
Tabel 4.1 Karakteristik morfologi dan hasil uji pada BAL.....	59
Tabel 4.2 Hasil uji total BAL dengan variasi konsentrasi dan lama fermentasi ...	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah naga merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>)	14
Gambar 2.2 <i>Plain</i> Yoghurt.....	19
Gambar 2.2.1 Proses pembentukan laktosa menjadi asam laktat melalui jalur EMP	21
Gambar 2.3 Morfologi bakteri asam laktat, (a) <i>L. bulgaricus</i> dan (b) <i>S.</i> <i>thermophilus</i> (Hendarto dkk. 2019).	24
Gambar 4.1 Isolat bakteri dari sampel yoghurt (Dokumentasi pribadi, 2026).....	58
Gambar 4.2 Hasil uji pH dengan variasi konsentrasi dan lama fermentasi	74
Gambar 4.3 Hasil uji kadar asam dengan variasi konsentrasi dan lama fermentasi.....	79

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Kerangka Penelitian.....	109
Lampiran 2. Data Hasil Penelitian	110
Lampiran 3. Hasil Uji Statistik ANOVA	113
Lampiran 4. Dokumentasi Hasil Penelitian	118
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian.....	129
Lampiran 6. Jurnal Bimbingan.....	130
Lampiran 7. Hasil <i>Similiraty</i>	131

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Yoghurt merupakan produk olahan susu yang dibuat melalui proses fermentasi menggunakan BAL, umumnya menggunakan bakteri *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, serta *Bifidobacterium* (Salmazo *et al.*, 2023). Proses fermentasi yoghurt memecah laktosa menjadi gula sederhana yang mudah dicerna, galaktosa dan glukosa, oleh enzim β -galaktosidase (Wahab *et al.*, 2024). Yoghurt mengandung banyak manfaat, seperti vitamin, mineral, protein, lemak, dan karbohidrat (Sumi *et al.*, 2023). Yoghurt sebagai sumber prebiotik, dapat dikonsumsi oleh penderita intoleran laktosa. Konsumsi yoghurt secara rutin dapat meningkatkan kekebalan tubuh, serta bioavailabilitas nutrisi (Tjatur *et al.*, 2020).

Yoghurt dapat dikategorikan menjadi beberapa jenis, yaitu yoghurt *plain* dan yoghurt dengan bahan tambahan. Yoghurt *plain* merupakan jenis yoghurt murni yang dibuat hanya dari susu yang difermentasi menggunakan bakteri asam laktat (Jonathan *et al.*, 2022). Sedangkan yoghurt dengan bahan tambahan sintetis seperti pemanis (aspartam, sukralosa), pewarna (*tartazine*, *sunset yellow*, *azorubine*, *amaranth*) atau pengawet (kalium sorbat) (Bankole *et al.*, 2023). Penelitian yang dilakukan oleh Filippone *et al.* (2023) memberikan hasil jika yoghurt dengan flavor tambahan lebih diminati masyarakat terutama kalangan remaja. Sementara itu, *plain* yoghurt kurang diminati karena rasanya yang terlalu asam, tidak ada rasa manis, dan aromanya netral. Penggunaan bahan tambahan sintetis pada pangan dinyatakan aman dalam

jumlah yang telah ditentukan batas asupan harian, namun penelitian yang dilakukan Magnuson *et al.* (2007) tambahan pada produk pangan dalam jangka panjang, dapat memicu peningkatan risiko penyakit obesitas, sindrom metabolik, diabetes tipe 2, serta penyakit kardiovaskular. Penambahan bahan alami seperti buah-buahan, dapat meningkatkan daya tarik konsumen karena memberikan warna dan cita rasa, serta meningkatkan kandungan gizi (serat pangan, vitamin, mineral, antioksidan) (Purba *et al.*, 2023). Penambahan bahan alami seperti sari buah merupakan salah satu inovasi untuk meningkatkan daya tarik produk dari segi rasa, warna, dan nutrisi. Terdapat beberapa penelitian yang telah menambahkan sari buah atau sayur pada yoghurt, seperti *strawberry*, mangga, *blueberry*, delima, buah bit, jagung, wortel, cengkeh, buah naga, pisang, apel, buah merah, serta anggur. Penelitian yang dilakukan oleh Roy *et al.* (2019) membandingkan uji sensori pada yoghurt dengan penambahan jus buah anggur, yang memberikan hasil jika yoghurt dengan penambahan buah lebih disukai dari segi warna, tekstur, dan rasa. Allah SWT menyediakan segala macam yang ada di bumi untuk menunjang kehidupan makhluknya, sebagaimana firman Allah dalam Al-Qur'an surah An-Nahl [16]: 11 yang berbunyi:

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Artinya: “Dengan (air hujan) itu Dia menumbuhkan untukmu tumbuh-tumbuhan, zaitun, kurma, anggur, dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir.” (QS. An-Nahl [16]: 11).

Telah dijelaskan dalam Tafsir Al-Mishbah bahwa Allah SWT, jika melalui curahan air hujan, menumbuhkan tanaman-tanaman tersebut, ada yang berumur pendek hingga panjang dan banyak manfaatnya. Tumbuhan berupa zaitun, kurma,

anggur, dan segala macam buah-buahan lainnya. Ayat tersebut, yang secara spesifik menyebutkan zaitun, kurma, dan anggur sebagai contoh tumbuhan bermanfaat, pada hakikatnya tidak membatasi lingkup karunia Ilahi. Prinsip universal yang terkandung di dalamnya justru menegaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan beraneka ragam jenis buah-buahan di berbagai belahan bumi, disesuaikan dengan kondisi ekosistem dan kebutuhan masyarakat setempat. Tafsir Thabari menjelaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan bagi umat manusia tumbuhan, dengan menyebutkan secara spesifik tiga jenis buah, zaitun, kurma, dan anggur yang manusia turut andil dalam proses budidayanya, dan “*wa ming kullits-tsamarât*” dan segala macam buah-buahan menandakan seluruh tanaman, yang berfungsi sebagai sumber pangan, baik sebagai komoditas primer maupun sekunder. Ayat ini menjelaskan nikmat dan karunia Ilahi.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa, Allah SWT telah menurunkan air hujan yang menumbuhkan buah zaitun, kurma, anggur, dan segala macam buah lainnya yang bermanfaat bagi kehidupan makhluk hidup di bumi. Potongan ayat “*wa ming kullits-tsamarât*” memiliki arti "dan segala macam buah-buahan", menandakan seluruh tanaman, salah satunya buah naga. Buah naga berasal dari wilayah Amerika Tropis dan kini dibudidayakan secara luas di Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Buah naga memiliki banyak manfaat, baik dari segi tampilannya yang menarik, kulit buah yang mirip seperti sisik naga, warnanya yang merah keunguan, rasanya yang manis, dan kandungan gizinya, vitamin, dan antioksidan yang baik untuk tubuh. Oligosakarida yang terkandung dalam buah, jika dikombinasikan dengan probiotik, dapat memberikan efek sinbiotik untuk meningkatkan kesehatan pencernaan tubuh.

Penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) pada yoghurt bertujuan untuk memanfaatkan sari buah naga sebagai pewarna alami karena betasianin pada buah naga merah merupakan kelompok pigmen betalain yang memberikan warna merah-ungu khas dan dapat melawan stres oksidatif dan memiliki kemampuan untuk menekan sel-sel kanker (Indrawati *et al.*, 2025). Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan salah satu buah potensial untuk inovasi pada produk yoghurt, yang mengandung berbagai zat gizi berupa air, energi, protein, lemak, karbohidrat, serat, abu, kalsium, natrium, kalium, fosfor, zat besi, magnesium, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin C, dan vitamin E. Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) kaya akan senyawa bioaktif seperti hidroksisinamat, karotenoid (β -karoten dan likopen), flavonoid, betalain, betasianin, dan betaxanthin yang berperan sebagai antioksidan. Senyawa-senyawa tersebut dapat meningkatkan kemampuan yoghurt dalam melindungi sel tubuh dari stress oksidatif, menjaga kesehatan pembuluh darah, mengurangi risiko penyakit jantung, serta membantu mempertahankan kestabilan tekanan darah (Rohanah *et al.*, 2023).

Buah naga merah mengandung tiga kelompok utama oligosakarida, yaitu galaktooligosakarida (rafinosa dan stakiosa), maltooligosakarida (maltotriosa, maltotetraosa, maltopentaosa, maltoheksaosa, dan maltoheptaosa), serta fruktooligosakarida (Khalili *et al.*, 2014). Oligosakarida yang terkandung dalam buah naga merah berperan sebagai prebiotik yang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri probiotik dalam yoghurt. Kombinasi ini menghasilkan efek sinbiotik, yaitu interaksi antara probiotik dan prebiotik yang berfungsi meningkatkan keseimbangan mikrobiota usus, mendukung kesehatan sistem

pencernaan, serta membantu meningkatkan daya tahan tubuh (Aryanta, 2022). Buah naga merah memiliki kandungan kalium, fosfor, magnesium, dan natrium yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan manggis, mangga, maupun nanas (Hossain *et al.*, 2021). Kandungan total fenol pada buah naga merah lebih tinggi daripada buah tropis lainnya, serta kandungan flavonoid berperan pada sel-sel otak dan pembuluh darah dalam membantu menurunkan risiko penyakit jantung serta menjaga kestabilan tekanan darah (Febriani *et al.*, 2024). Fortifikasi sari buah naga merah pada yoghurt tidak hanya memperbaiki warna dan cita rasa, tetapi juga meningkatkan aktivitas antioksidan, memberikan efek sinbiotik, serta memperkaya kandungan gizi. Produk yoghurt yang dihasilkan berpotensi berkembang sebagai pangan fungsional karena mampu memberikan manfaat fisiologis tambahan di luar pemenuhan kebutuhan gizi dasar, terutama dalam menjaga kesehatan pencernaan, kardiovaskular, dan perlindungan sel tubuh dari kerusakan oksidatif.

Penelitian Ong *et al.* (2012) menyatakan jika buah naga merah menghasilkan bakteri asam laktat. BAL yang diisolasi dari buah naga merah, yaitu *E. faecalis* dan *E. durans*. Hasil analisis molekuler menggunakan sekuensing gen 16S rRNA dan metode RFLP mengonfirmasi bahwa *E. faecalis* merupakan spesies yang paling dominan ditemukan dalam fermentasi jus buah naga merah, dan *E. durans* ditemukan dalam jumlah yang lebih sedikit. Sementara itu, dalam penelitian Musthari *et al.* (2019), BAL yang diisolasi dari buah naga merah hanya diidentifikasi hingga tingkat genus, sehingga spesiesnya tidak diketahui. Berdasarkan temuan, karakteristik tersebut termasuk ke dalam kelompok Gram positif, berbentuk basil dan kokus, dan memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Shi *et al.* (2025) menyatakan

jika hasil isolasi dari daging buah naga merah yang diidentifikasi secara molekuler menggunakan sekuensing gen 16S rRNA sebagai *Pediococcus acidilactici*. Sementara itu, Tatebale *et al.* (2024) menyatakan jika hasil isolasi dari daging buah naga merah dengan identifikasi sampai tingkat genus didapatkan hasil jika dalam daging buah naga merah terdapat BAL, yaitu *Lactobacillus* dan *Lactococcus*.

SNI 2981:2009 menyatakan jika, untuk total asam laktat sebesar 0,5-2,0% (b/b), total BAL minimal 10^7 cfu/mL. Penelitian Nugroho *et al.* (2023), yoghurt yang dibuat menggunakan bahan baku susu sapi berbeda, yaitu susu pasteurisasi, susu UHT, dan susu bubuk, menunjukkan perbedaan nilai pH, total asam laktat, serta total BAL yang sesuai dengan SNI 2981:2009. Dunggio *et al.*, (2022) melakukan penelitian yoghurt dengan penambahan buah naga merah sebanyak 20% memberikan pengaruh kualitas yang baik terhadap total padatan terlarut dan kadar vitamin C. Penelitian yang dilakukan oleh Siregar *et al.* (2023) membuktikan bahwa yoghurt dengan penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) menunjukkan pengaruh nyata terhadap nilai pH, aktivitas air, viskositas, kadar asam, kadar protein, kadar abu, serta aktivitas antioksidan. Produk yoghurt yang dihasilkan juga telah memenuhi standar mutu yoghurt berdasarkan SNI 2981:2009, dengan formulasi terbaik diperoleh pada penambahan sari buah naga merah konsentrasi 10%.

Hasil serupa pada penelitian yang dilakukan oleh Frilanda *et al.* (2022) menyatakan bahwa penambahan sari buah naga merah hingga konsentrasi 15% masih memenuhi SNI, dengan peningkatan total bakteri asam laktat, penurunan pH, dan peningkatan kadar asam. Namun, penelitian yang dilakukan oleh Kasmiyetti *et al.* (2022) memberikan hasil bahwa yoghurt dengan penambahan buah naga merah

konsentrasi 25% dengan lama inkubasi selama 8 jam pada suhu 36 °C terhadap lama penyimpanan berpengaruh pada penurunan mutu yoghurt (pH dan total BAL), dengan penyimpanan pada suhu yang berbeda (4–5 °C, 10 °C, dan 25 °C). Lama penyimpanan hari pertama, produk memenuhi SNI, tetapi semakin lama penyimpanan hingga hari ke-28, pH dan jumlah BAL cenderung berada di bawah standar. Namun, pada penelitian yang telah dilakukan, pengujiannya tidak mencakup pengaruh konsentrasi sari buah naga dan lama penyimpanan terhadap karakterisasi bakteri asam laktat, pH, kadar asam, serta total bakteri asam laktat secara simultan. Selain itu, pada konsentrasi 10% dan 15% belum ada penelitian mengenai pengaruh lama penyimpanan terhadap karakterisasi bakteri asam laktat.

Berdasarkan identifikasi tersebut, penelitian ini dirancang untuk menganalisis sifat kimia (pH dan kadar asam), mikrobiologi (total BAL), dan karakteristik BAL pada yoghurt dengan penambahan buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan konsentrasi 0%, 10%, dan 15% yang bertujuan menentukan batas optimum penambahan sari buah naga antara kondisi tanpa fortifikasi hingga mendekati batas penurunan mutu serta lama fermentasi 0 hari, 2 hari, dan 3 hari untuk memantau perubahan kualitas dari kondisi awal hingga awal penurunan stabilitas produk. Kombinasi kedua faktor tersebut memungkinkan penentuan formulasi yoghurt fungsional yang paling stabil, aman, dan memenuhi standar mutu yang difermentasi pada suhu ruang (24-25°C) terhadap kualitas yoghurt. Lama fermentasi 0 hari digunakan sebagai kontrol, 2 hari untuk melihat kualitas dan stabilitas produk setelah beberapa hari fermentasi, dan 3 hari digunakan untuk mengamati perubahan serta kesesuaian standar konsumsi yang ditinjau dari total bakteri asam laktat, total kadar asam, dan pH.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis karakteristik bakteri asam laktat, total bakteri asam laktat, serta sifat kimia (pH dan kadar asam). Karakterisasi bakteri asam laktat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri asam laktat yang terdapat pada yoghurt setelah ditambahkan sari buah naga merah pada berbagai konsentrasi dan lama fermentasi. Pengujian bakteri asam laktat dilakukan untuk menilai viabilitas bakteri, kualitas fermentasi yang baik, dan keamanan produk untuk dikonsumsi. Pengujian total asam laktat dilakukan untuk menilai kestabilan yoghurt. Pengujian pH dilakukan sebagai indikator tingkat keasaman serta keberhasilan fermentasi. Dengan demikian, penelitian ini dapat memberikan data yang jelas dan menyeluruh untuk menentukan konsentrasi penambahan sari buah naga merah yang optimal. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi berbagai kalangan, terutama bagi industri pangan dalam mengembangkan varian yoghurt yang inovatif.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana karakteristik genus BAL yang dihasilkan dari penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi pada yoghurt?
2. Bagaimana pH dan kadar asam yang dihasilkan dari penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi pada yoghurt?
3. Berapa total bakteri asam laktat yang dihasilkan dari penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi pada yoghurt?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk menganalisis karakteristik bakteri asam laktat hingga tingkat genus yang dihasilkan dari penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi pada yoghurt.
2. Untuk menganalisis sifat kimia (pH dan kadar asam) yang dihasilkan dari penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi pada yoghurt.
3. Untuk menganalisis sifat mikrobiologi (total bakteri asam laktat) yang dihasilkan dari penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi pada yoghurt.

1.4 Manfaat

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi terhadap pengembangan ilmu dan teknologi pangan, khususnya di bidang mikrobiologi pangan. Hasil penelitian dapat menjadi referensi mengenai interaksi antara komponen bioaktif dalam buah dengan bakteri asam laktat.
2. Hasil penelitian dapat dimanfaatkan sebagai dasar ilmiah dan data acuan bagi industri pangan yang bergerak di bidang pengolahan susu dan produk fermentasi, untuk mengembangkan inovasi produk yoghurt dengan memanfaatkan bahan baku lokal.

1.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah:

1. Bakteri asam laktat yang diisolasi dari yoghurt dengan penambahan sari buah naga merah memiliki perbedaan morfologi koloni, dengan bentuk sel *coccus* dan *bacillus*, serta perbedaan genus, *Streptococcus* dan *Lactobacillus*.
2. Konsentrasi sari buah naga merah 15% dan lama fermentasi 2 hari berpengaruh signifikan terhadap sifat kimia (pH dan kadar asam), mikrobiologi (total bakteri asam laktat), dibandingkan dengan kontrol tanpa penambahan sari buah naga merah.
3. Penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi pada yoghurt berpengaruh untuk menurunkan pH, meningkatkan kadar asam dan total bakteri asam laktat.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Penelitian ini dilakukan dengan penambahan sari buah naga merah 0%, 10%, dan 15% dengan 3 kali pengulangan.
2. Lama fermentasi dilakukan selama 0 hari, 2 hari, dan 3 hari.
3. Pembuatan yoghurt hanya menggunakan satu jenis susu, yaitu susu sapi UHT.
4. Pembuatan yoghurt menggunakan starter merek Biokul yang mengandung bakteri asam laktat *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium*.
5. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang (24–25 °C).
6. Karakterisasi bakteri asam laktat dengan pengamatan makroskopis, pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, uji katalase, dan uji tipe fermentasi.

7. Parameter yang dianalisis terbatas pada sifat kimia (pH dan kadar asam) dan karakteristik mikrobiologi yang mencakup total dan keanekaragaman BAL.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Kekayaan alam yang Allah anugerahkan kepada manusia sejatinya merupakan karunia besar yang seharusnya dimanfaatkan dengan bijak untuk kemaslahatan dan kesejahteraan bersama. Segalanya telah diatur sedemikian rupa oleh Allah untuk para umat-Nya. Hal tersebut telah dijelaskan di dalam Al-Qur'an, pada QS. Al-Hijr [15] : 19-20 yang berbunyi:

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رَوَاسِيَ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا
مَعَايِشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرَازِقِينَ

Artinya: “Kami telah menghamparkan bumi, memancangkan padanya gunung-gunung, dan menumbuhkan di sana segala sesuatu menurut ukuran-Nya. Kami telah menjadikan di sana sumber-sumber kehidupan untukmu dan (menjadikan pula) makhluk hidup yang bukan kamu pemberi rezekinya.” (QS. Al-Hijr [15] : 19-20).

Tafsir Al-Mishbah menjelaskan jika Allah swt. menumbuhkembangkan di bumi ini aneka ragam tanaman untuk kelangsungan hidup dan menetapkan bagi tiap-tiap tanaman itu masa pertumbuhan dan penuaian tertentu, sesuai dengan kuantitas dan kebutuhan makhluk hidup. Demikian juga, Allah swt. menentukan bentuknya sesuai dengan penciptaan dan habitat alamnya. Dalam tafsir al-Muntakhab, ayat ini dinilai sebagai menegaskan suatu temuan ilmiah yang diperoleh melalui pengamatan di laboratorium, yaitu setiap kelompok tanaman masing-masing memiliki kesamaan dilihat dari sisi luarnya, demikian juga sisi dalamnya. Bagian-bagian tanaman dan sel-sel yang digunakannya untuk pertumbuhan memiliki kesamaan-kesamaan yang praktis tak berbeda. Meskipun antara satu jenis dengan lainnya dapat dibedakan, tetapi semuanya dapat

diklasifikasikan dalam satu kelompok yang sama. Berbicara tentang makhluk-makhluk Ilahi yang lemah dan yang bertebaran di permukaan bumi ini, baik manusia yang lemah karena tua, sakit, atau anak-anak, maupun binatang-binatang melata yang membutuhkan bantuan manusia yang memiliki kemampuan. Bahwa ada di antara penghuni bumi yang lemah, maka itu bukan berarti bahwa yang kuat. adalah yang memberi mereka rezeki sehingga dapat bertahan hidup. Bukan mereka yang memberinya rezeki, tetapi Allah swt. Bagaimana mungkin manusia-manusia yang merasa kuat itu yang memberi mereka rezeki, padahal mereka sendiri dianugerahi rezeki oleh Allah swt. Itu semua menunjukkan betapa kuasa Allah swt.

Ayat tersebut mengingatkan bahwa manusia tidak hanya berhak menggunakan sumber daya alam, tetapi juga memiliki tanggung jawab untuk merawat, mengurus, dan melestarikannya agar tetap memberi manfaat bagi masa kini dan masa yang akan datang. Kekayaan alam bukan hanya untuk memenuhi kebutuhan hidup, tapi juga bentuk amanah yang harus dijaga sebagai tanda rasa syukur kepada Allah swt. yang menciptakan segalanya. Salah satu kekayaan alam adalah buah naga, yang merupakan tanaman yang dapat tumbuh subur dan berlimpah di Indonesia. Buah naga merah berasal dari Amerika Tengah dan Selatan, khususnya wilayah Meksiko dan Kosta Rika, sebelum kemudian menyebar ke Asia Tenggara, termasuk Indonesia, sebagai hasil adaptasi dan budidaya yang berhasil (Folla & Bulan, 2023). Buah ini termasuk dalam famili Cactaceae dan genus *Hylocereus*, yang dikenal sebagai tanaman kaktus merambat dengan kemampuan berbuah yang tinggi di daerah tropis dan subtropis (Lim *et al.*, 2025). Klasifikasi buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) menurut Hasanah dkk. (2024) adalah:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Angiospermae
Ordo	: Cactales
Famili	: Cactaceae
Genus	: <i>Hylocereus</i>
Spesies	: <i>Hylocereus polyrhizus</i>



Gambar 2.1 Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Karakteristik fisik buah naga merah meliputi kulit berwarna merah cerah dengan sisik hijau, daging buah berwarna merah tua hingga merah keunguan (Gambar 2.1), serta biji kecil berwarna hitam yang tersebar merata di dalam daging buah (Risnayanti dkk., 2015). Tekstur daging buah yang segar dan rasa manis asam menjadikan buah ini populer sebagai bahan pangan segar maupun olahan. Kandungan nutrisi buah naga merah sangat kaya, terutama dalam hal vitamin C, serat pangan, dan mineral seperti zat besi dan magnesium (Rohanah dkk., 2023). Selain itu, buah ini mengandung senyawa bioaktif seperti betalain, flavonoid, dan polifenol yang berperan sebagai antioksidan (Harni *et al.*, 2023). Senyawa-senyawa tersebut berkontribusi pada aktivitas biologis buah naga merah, termasuk efek

antiinflamasi, antikanker, dan perlindungan terhadap stres oksidatif (Nishikito *et al.*, 2023).

Tabel 2.1 Kandungan gizi pada buah naga (Aryanta, dkk., 2022).

Kandungan Zat Gizi	Total per 100 gram
Air	85,7 gr
Energi	71 kal
Protein	1,7 gr
Lemak	3,1 gr
Karbohidrat	9,1 gr
Serat	3,2 gr
Abu	0,4 gr
Kalsium	13 mg
Natrium	10 mg
Kalium	128 mg
Fosfor	14 mg
Seng	0,4 mg
Vitamin B1	0,5 mg
Vitamin B2	0,3 mg
Vitamin B3	0,5 mg
Vitamin C	1 mg
Vitamin E	0,4 mg
Magnesium	0,10 mg

Manfaat buah naga merah dalam bidang kesehatan telah banyak diteliti, menunjukkan potensi dalam menurunkan kadar gula darah, meningkatkan sistem imun, dan mendukung kesehatan jantung (Aryanta, 2022). Selain itu, buah ini juga digunakan dalam aplikasi produk pangan seperti jus, selai, dan produk fermentasi pada yoghurt yang memanfaatkan kandungan nutrisinya untuk meningkatkan nilai gizi dan daya tarik konsumen (Putri *et al.*, 2024). Pengembangan produk berbasis buah naga merah terus berkembang seiring dengan meningkatnya kesadaran akan pangan fungsional.

Penambahan buah naga merah pada yoghurt merupakan inovasi produk pangan yang menggabungkan manfaat probiotik dari yoghurt dengan kandungan nutrisi dan senyawa bioaktif dari buah naga merah. Buah naga merah kaya akan

serat, vitamin C, dan antioksidan seperti betalain yang dapat meningkatkan nilai gizi yoghurt serta memberikan warna dan rasa yang menarik (Rohanah dkk., 2023). Penambahan buah naga pada yoghurt tidak hanya meningkatkan kandungan nutrisi, tetapi juga dapat memperbaiki tekstur dan aroma produk sehingga meningkatkan daya tarik konsumen (Siregar *et al.*, 2023).

Buah naga merah menghasilkan bakteri asam laktat (BAL). Penelitian yang dilakukan oleh Ong *et al.* (2012) menyatakan bahwa hasil isolasi buah naga merah termasuk dalam genus *Enterococcus*. Hasil tersebut telah diidentifikasi secara fenotipik dan genotipik dengan menunjukkan dua spesies utama, yaitu *Enterococcus faecalis* dan *Enterococcus durans*. Kedua spesies tersebut merupakan bakteri Gram positif, katalase negatif, dan bersifat homofermentatif, yaitu menghasilkan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Secara fisiologis, isolat mampu tumbuh pada rentang pH 4,4 hingga 9,6, suhu 10°C dan 45°C, serta pada media dengan konsentrasi NaCl 6,5%, yang merupakan karakteristik khas genus *Enterococcus*. Hasil analisis molekuler menggunakan sekuensing gen 16S rRNA dan metode RFLP mengonfirmasi bahwa *E. faecalis* merupakan spesies yang paling dominan ditemukan dalam fermentasi jus buah naga merah, sedangkan *E. durans* ditemukan dalam jumlah yang lebih sedikit dan proses fermentasi alami pada buah naga merah cenderung didominasi oleh anggota genus *Enterococcus*, tanpa ditemukannya genus BAL lain. Sementara itu, penelitian Musthari dkk. (2019) menyatakan terdapat isolat BAL hasil fermentasi alami. Identifikasi dilakukan berdasarkan karakteristik morfologi dan uji biokimia, yang menunjukkan bahwa isolat tersebut merupakan bakteri Gram positif dengan bentuk basil dan kokus serta memiliki sifat khas BAL seperti toleransi terhadap pH rendah

dan kadar garam tertentu. Namun, penelitian tersebut belum melakukan identifikasi molekuler sehingga spesies bakteri belum ditentukan secara pasti.

2.2 Susu

Susu merupakan salah satu produk hewani yang berperan bagi kesehatan, karena memiliki kandungan nutrisi yang tinggi. Pangan jenis hewani merupakan sumber protein yang didalamnya mengandung asam amino essensial yang tidak dapat disuplai dari bahan lainnya. Kandungan gizi yang terkandung dalam susu segar yang dihasilkan sapi perah, yaitu protein, lemak, vitamin, dan mineral yang baik untuk tubuh (Brilianty dkk. 2022). Selain itu, susu merupakan bagian penting yang berperan dalam meningkatkan gizi masyarakat. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2025, tingkat produksi susu di Indonesia pada tahun 2023 sebesar 837.223,20 ton dan pada tahun 2024 mengalami peningkatan menjadi 808.352.840,61 ton. Produk olahan susu merupakan hasil modifikasi dari susu segar melalui proses tertentu yang melibatkan penambahan atau pengurangan komponen nutrisi serta penambahan rasa, sehingga menghasilkan produk yang lebih diminati, khususnya produk olahan susu yang mengalami proses fermentasi yang diketahui memiliki berbagai manfaat yang baik bagi kesehatan tubuh. Telah dijelaskan dalam HR Abu Nuaim, Akhlakun Nabi wa Adabuh, [Darul Muslim: 1998] yang berbunyi:

عَنْ ابْنِ عَبَّاسٍ قَالَ : كَانَ أَحَبَّ الشَّرَابِ إِلَى رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ اللَّبَنُ

Artinya: “*Diceritakan dari Ibnu Abbas, ia berkata: Sungguh minuman yang paling disenangi oleh Rasulullah shallallâhu ‘alaihi wa sallam adalah susu.*” (HR Abu Nuaim, Akhlakun Nabi wa Adabuh, [Darul Muslim: 1998], juz III, halaman 298).

Berdasarkan riwayat dari Ibnu Abbas yang dikutip oleh Abu Nuaim, Rasulullah shallallâhu ‘alaihi wa sallam menunjukkan preferensi konsisten

terhadap susu sebagai minuman yang paling disenangi, baik dalam konteks kehidupan sehari-hari di tengah para sahabat maupun Isra Mi'raj. Dalam Isra Mi'raj, saat disuguhkan tiga pilihan minuman, yaitu susu, madu, dan khamar, beliau secara sadar memilih susu. Secara ilmiah, pilihan ini tidak semata-mata bersifat personal, melainkan mengandung indikasi nilai kesehatan. Susu dikenal sebagai minuman yang kaya akan kalsium, protein, dan lemak sehat, serta bersifat netral dan menyehatkan bagi tubuh, berbeda dengan khamar yang memabukkan dan madu yang, meskipun bermanfaat, lebih bersifat terapeutik daripada pokok. Dalam perspektif gizi, susu juga merupakan sumber hidrasi dan nutrisi lengkap yang sesuai dengan pola hidup bersih dan *thayyib*. Adapun pemilihan susu oleh Nabi di Sidratul Muntaha, ketika dua sungai surgawi belum tampak jelas sementara Sungai Nil dan Eufrat telah dikenal sebagai sumber peradaban dan kesuburan, dapat dimaknai sebagai isyarat bahwa susu merupakan simbol dari kesederhanaan, kemurnian, dan keberkahan rezeki yang halal lagi baik, sejalan dengan nilai-nilai syariat yang mengedepankan kemaslahatan jasmani dan rohani.

2.3 Yoghurt

Produk olahan susu yang paling umum adalah yoghurt yang dihasilkan melalui proses fermentasi dengan menggunakan bakteri asam laktat. Yoghurt merupakan produk fermentasi susu yang dihasilkan melalui aktivitas bakteri asam laktat, terutama *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* (Timo & Purwantiningsih, 2020). Karakteristik yoghurt meliputi tekstur kental, rasa asam yang khas, serta aroma fermentasi yang dihasilkan oleh metabolit mikroorganisme selama proses fermentasi (Mansur & Hidayat, 2019).

Faktor-faktor seperti jenis susu, suhu fermentasi, dan lama fermentasi sangat mempengaruhi kualitas fisik dan sensorik yoghurt.



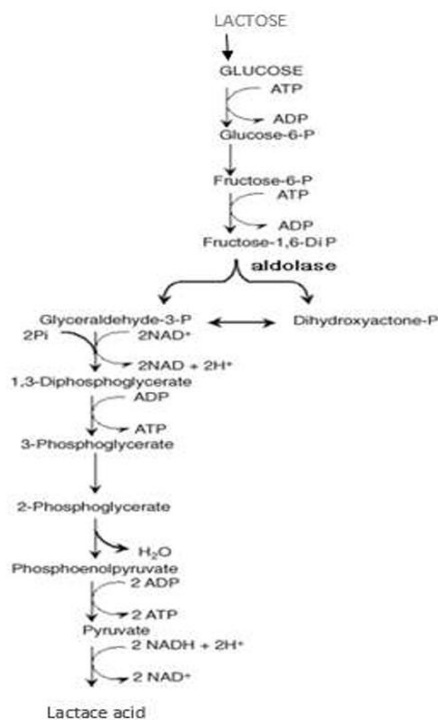
Gambar 2.2 Plain Yoghurt

Mekanisme pembuatan yoghurt melibatkan proses biokimia dan mikrobiologis melalui aktivitas simbiosis yang umumnya menggunakan bakteri *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Susu pasteurisasi pada suhu optimum 42°C dengan penambahan kultur bakteri, memasuki fase adaptasi sebelum memulai metabolisme laktosa. *S. thermophilus* tumbuh lebih cepat pada fase awal memecah laktosa menjadi asam laktat melalui jalur glikolitik yang dapat menyebabkan penurunan pH (Dan *et al.*, 2023). Kondisi asam selama proses fermentasi memicu denaturasi protein whey dan destabilisasi misel kasein yang dapat membentuk tekstur ciri khas yoghurt. *L. bulgaricus* dengan proteolitik yang tinggi menghasilkan peptida dan asam amino untuk pertumbuhan *S. thermophilus*, dan *S. thermophilus* menyediakan asam format dan senyawa volatil yang merangsang metabolisme *L. bulgaricus*.

Mekanisme biokimiawi dalam produksi yoghurt melibatkan proses transformasi laktosa menjadi asam laktat melalui aktivitas metabolisme dua bakteri utama, yaitu *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Proses dimulai dengan hidrolisis laktosa dalam susu oleh enzim β -galaktosidase yang

dihasilkan bakteri, yang mengubah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa. Selanjutnya, glukosa masuk ke jalur glikolisis *Embden–Meyerhof–Parnas* (EMP), suatu jalur metabolisme anaerob yang terjadi di sitoplasma sel bakteri (Hendarto *et al.*, 2019). Dalam jalur EMP, glukosa mengalami fosforilasi menjadi glukosa-6-fosfat dengan bantuan enzim glukokinase dan ion Mg^{2+} sebagai kofaktor. Senyawa ini kemudian diisomerisasi menjadi fruktosa-6-fosfat oleh enzim fosfoglucoisomerase, lalu difosforilasi lagi menjadi fruktosa-1,6-bifosfat oleh fosfofruktokinase (Gambar 2.2.1).

Fruktosa-1,6-bifosfat kemudian dipecah oleh enzim aldolase menjadi dua molekul triosa fosfat, yaitu dihidroksiaseton fosfat dan gliseraldehida-3-fosfat. Kedua senyawa ini dapat saling diubah, dan akhirnya menghasilkan dua molekul gliseraldehida-3-fosfat. Setiap molekul gliseraldehida-3-fosfat kemudian dioksidasi menjadi 1,3-bifosfoglisarat dengan bantuan enzim gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenase, sambil mereduksi NAD^+ menjadi NADH. Selanjutnya, 1,3-bifosfoglisarat diubah menjadi 3-fosfoglisarat oleh enzim fosfoglisarat kinase, disertai produksi ATP. Melalui serangkaian reaksi yang melibatkan enzim fosfoglisaromutase, enolase, dan piruvat kinase, 3-fosfoglisarat akhirnya diubah menjadi asam piruvat. Asam piruvat kemudian direduksi menjadi asam laktat oleh enzim laktat dehidrogenase, dengan menggunakan NADH yang dihasilkan sebelumnya. Produksi asam laktat yang menurunkan pH susu, menyebabkan denaturasi protein dan pembentukan gel khas yoghurt (Hendarto *et al.*, 2019).



Gambar 2.2.1 Proses pembentukan laktosa menjadi asam laktat melalui jalur EMP (Hendarto, dkk., 2019).

Kandungan nutrisi yoghurt sangat kaya dan bervariasi tergantung pada bahan baku dan proses produksi. Yoghurt mengandung protein berkualitas tinggi, kalsium, vitamin B kompleks, serta lemak dan karbohidrat dalam jumlah yang seimbang (Purwantiningsih *et al.*, 2022). Selain itu, yoghurt juga merupakan sumber probiotik yang berperan penting dalam kesehatan pencernaan. Kandungan nutrisi ini menjadikan yoghurt sebagai makanan yang bernilai gizi tinggi dan mudah dicerna sehingga cocok untuk berbagai kelompok usia, termasuk anak-anak dan lansia (Arifani *et al.*, 2023).

Senyawa bioaktif dalam yoghurt terutama berasal dari metabolit yang dihasilkan oleh bakteri probiotik selama fermentasi. Senyawa tersebut meliputi asam organik, peptida bioaktif, dan eksopolisakarida yang memiliki aktivitas antioksidan, antimikroba, dan imunomodulator (Dinić *et al.*, 2023). Peptida bioaktif

yang terbentuk selama fermentasi dapat memberikan efek positif pada tekanan darah dan kesehatan kardiovaskular (Frilanda dkk, 2022). Selain itu, probiotik dalam yoghurt juga berkontribusi pada keseimbangan mikrobiota usus yang berperan dalam pencegahan berbagai penyakit gastrointestinal.

Manfaat yoghurt telah banyak diteliti dan terbukti memberikan efek positif pada kesehatan manusia. Konsumsi yoghurt secara rutin dapat meningkatkan sistem imun, memperbaiki fungsi pencernaan, serta membantu pengendalian berat badan dan kadar gula darah (Yunita dkk, 2024) serta menjadi alternatif yang lebih tolerabel bagi penderita intoleransi laktosa, karena selama proses fermentasi, laktosa telah dihidrolisis menjadi asam laktat sehingga mengurangi risiko terjadinya gangguan pada sistem pencernaan. Protein kasein dan whey pada yoghurt yang diolah dengan bakteri *Lactobacillus* dapat menurunkan resiko alergi (Purwatiningsih, dkk., 2022). Yoghurt juga berperan dalam pencegahan osteoporosis melalui kandungan kalsiumnya yang tinggi. Studi klinis menunjukkan bahwa konsumsi yoghurt dapat mengurangi risiko infeksi saluran pernapasan dan meningkatkan kesehatan metabolik (Mansur dkk, 2019).

Guna memenuhi kebutuhan konsumen tertentu, produk yoghurt dimodifikasi untuk meningkatkan kandungan gizi, rasa, dan fungsionalitasnya. Modifikasi ini diwujudkan melalui penambahan senyawa bioaktif seperti serat, ekstrak buah, dan probiotik, serta dengan menciptakan varian yoghurt yang lebih rendah lemak atau bebas laktosa (Wang *et al.*, 2025). Teknologi fermentasi juga terus dikembangkan untuk menghasilkan yoghurt dengan tekstur lebih halus dan stabilitas mikroba yang lebih baik (Caleja *et al.*, 2016). Inovasi ini bertujuan untuk memperluas pasar yoghurt dan meningkatkan manfaat kesehatannya.

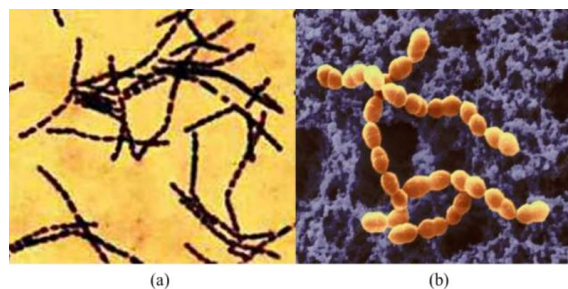
2.4 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroorganisme yang mampu menghasilkan berbagai metabolit seperti asam laktat, hidrogen peroksida, senyawa antimikroba, serta produk metabolik lain yang memberikan dampak positif terhadap kesehatan manusia (Nurhasanah dkk, 2020). BAL tergolong bakteri gram positif, tidak membentuk spora, dan sebagian besar strainnya tidak menghasilkan enzim katalase. Selain itu, BAL memiliki kemampuan bertahan dalam kondisi asam dan bersifat fakultatif anaerob. Kelompok bakteri ini juga dikategorikan sebagai mikroorganisme yang memenuhi standar GRAS (Generally Recognized as Safe), yang berarti aman dan bermanfaat bagi manusia (Finanda dkk, 2021). Sebagian besar BAL merupakan bakteri nonpatogen, meskipun terdapat beberapa spesies tertentu yang bersifat patogen. BAL adalah bakteri mesofilik dengan beberapa strain yang menunjukkan sifat termofilik, mampu tumbuh pada rentang suhu antara 5 hingga 45°C dan pH hingga 3,8. Selain itu, BAL memiliki aktivitas proteolitik dengan kebutuhan asam amino yang spesifik (Risna *et al.*, 2022).

Mekanisme kerja BAL tidak melibatkan degradasi protein secara merusak, melainkan melalui fermentasi berbagai jenis karbohidrat menjadi asam-asam organik (Rahmiati & Simanjuntak, 2019). BAL dinamakan demikian karena salah satu produk utama fermentasinya adalah asam laktat. Secara morfologi dan fisiologi, BAL merupakan bakteri gram positif, tidak membentuk endospora, katalase negatif, nonmotil, dan mampu mengubah karbohidrat menjadi asam laktat. Untuk karakterisasi BAL, diperlukan pengujian tipe fermentasi, toleransi suhu, serta toleransi terhadap garam (NaCl) (Dewi dkk, 2022).

Berdasarkan produk akhir metabolisme, BAL diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. BAL homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat sebagai produk fermentasi utama, sedangkan BAL heterofermentatif menghasilkan asam laktat beserta produk lain seperti asam asetat, etanol, dan karbon dioksida. Contoh genus BAL homofermentatif meliputi *Pediococcus*, *Streptococcus*, serta beberapa strain dari genus *Lactococcus* dan *Lactobacillus*. Sementara itu, genus BAL heterofermentatif mencakup *Weissella*, *Leuconostoc*, dan beberapa strain dari genus *Lactobacillus* (Chotiah & Damayanti, 2018).

Bakteri Asam Laktat (BAL) secara luas dimanfaatkan sebagai kultur starter pada industri pangan, khususnya dalam proses fermentasi. BAL memiliki kapabilitas untuk mensintesis asam laktat dari beragam sumber karbon sehingga mempercepat proses pengasaman pada bahan pangan. Hal ini berperan dalam memperpanjang masa simpan produk dan merupakan salah satu metode pengawetan. Selain asam laktat, BAL yang diaplikasikan pada produk fermentasi juga mampu menghasilkan senyawa-senyawa dengan aktivitas antibakteri, seperti asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin (Risna *et al.*, 2022a). Peran strategis BAL dalam industri pangan mencakup perbaikan profil sensori (cita rasa) dan pengawetan produk-produk fermentasi (Yulianti *et al.*, 2022)



Gambar 2.3 Morfologi bakteri asam laktat, (a) *L. bulgaricus* dan (b) *S. thermophilus* (Hendarto dkk. 2019).

Berdasarkan karakteristik metabolisme, BAL dapat diklasifikasikan ke dalam dua subkelompok utama, yaitu mikroorganisme homofermentatif dan heterofermentatif (Finanda *et al.*, 2021). Kelompok homofermentatif secara dominan hanya memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolisme. Sebaliknya, kelompok heterofermentatif, di samping menghasilkan asam laktat, juga menghasilkan produk sampingan seperti karbon dioksida, asam asetat, dan etanol. Nur (2022) menyatakan bahwa secara taksonomi, bakteri penghasil asam laktat tersebar dalam beberapa garis keturunan yang berbeda, meliputi famili Bacillaceae (dengan genus *Bacillus*), famili Sporolactobacillaceae (dengan genus *Sporolactobacillus*), famili Bifidobacteriaceae (yang mencakup genus *Aeriscardovia*, *Alloiscardovia*, *Bifidobacterium*, *Gardnerella*, *Metascardovia*, *Parascardovia*, dan *Scardovia*), serta ordo Lactobacillales. Kelompok filogenetik ini terdiri dari 500 spesies dengan enam famili, yaitu:

1. Famili Aerococcaceae mencakup genus *Abiotrophia*, *Aerococcus*, *Dolosicoccus*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Globicatella*, dan *Ignavigranum*.
2. Famili Carnobacteriaceae terdiri dari genus *Alkalibacterium*, *Allofustis*, *Alloiococcus*, *Atopobacter*, *Atopococcus*, *Atopostipes*, *Carnobacterium*, *Desemzia*, *Dolosigranulum*, *Granulicatella*, *Isobaculum*, *Lacticigenium*, *Marinilactibacillus*, *Pisciglobus*, dan *Trichococcus*.
3. Famili Enterococcaceae memiliki genus *Bavariicoccus*, *Catelllicoccus*, *Enterococcus*, *Melissococcus*, *Pilibacter*, *Tetragenococcus*, dan *Vagococcus*.

4. Famili Lactobacillaceae hanya terdiri dari dua genus, yaitu *Lactobacillus* dan *Pediococcus*.
5. Famili Leuconostocaceae mencakup genus *Leuconostoc*, *Fructobacillus*, *Oenococcus*, dan *Weissella*.
6. Famili Streptococcaceae meliputi genus *Lactococcus*, *Lactovum*, dan *Streptococcus*

2.4.1 Fase Pertumbuhan Bakteri

Pertumbuhan bakteri terdiri atas empat fase utama yang menggambarkan perubahan populasi sel dalam suatu lingkungan terkontrol (Risna *et al.*, 2022). Fase pertama adalah fase lag atau fase adaptasi, bakteri melakukan penyesuaian fisiologis terhadap kondisi lingkungan baru. Pada fase ini, terjadi sintesis enzim, RNA, dan komponen seluler lainnya yang diperlukan untuk mempersiapkan pembelahan sel. Durasi fase lag bervariasi tergantung pada jenis medium, ukuran inokulum awal, kondisi pH, suhu, dan riwayat fisiologis sel. Fase ini dapat berlangsung dari beberapa menit hingga beberapa jam, dan merupakan respons adaptif terhadap stres lingkungan sebelum memasuki periode pertumbuhan aktif (Hendarto *et al.*, 2019).

Setelah fase lag, bakteri memasuki fase eksponensial atau fase log, terjadi peningkatan jumlah sel secara logaritmik. Fase log terjadi aktivitas metabolisme sel mencapai puncaknya, dan pembelahan sel berlangsung dengan kecepatan konstan. Faktor yang mempengaruhi fase eksponensial meliputi ketersediaan nutrisi, suhu optimum, pH, dan karakteristik genetik bakteri. Waktu generasi, yaitu interval yang diperlukan untuk satu sel membelah menjadi dua, dapat dihitung pada fase ini. Fase

eksponensial sangat penting dalam proses fermentasi karena pada tahap ini bakteri memproduksi metabolit primer seperti asam laktat (Nuraida *et al.*, 2014).

Setelah nutrisi mulai terbatas dan produk metabolik terakumulasi, bakteri memasuki fase stasioner, yang laju pertumbuhan seimbang dengan laju kematian sel, sehingga jumlah sel tetap konstan. Meskipun tidak terjadi pertumbuhan bersih, sel-sel tetap melakukan aktivitas metabolik dan pembelahan terbatas. Fase stasioner sering kali dipicu oleh habisnya sumber karbon, akumulasi senyawa toksik, atau perubahan kondisi lingkungan. Beberapa bakteri dapat membentuk spora atau menginduksi ekspresi gen yang terkait dengan ketahanan sel dalam fase ini. Fase terakhir adalah fase kematian, di mana laju kematian sel melebihi laju pembentukan sel baru. Penurunan jumlah sel dapat terjadi secara eksponensial akibat kekurangan nutrisi, akumulasi produk sisa metabolik yang bersifat inhibitor, atau kerusakan struktural sel. Pada beberapa kondisi, fase kematian dapat diikuti oleh fase kelangsungan hidup jangka panjang oleh sebagian kecil populasi yang mampu beradaptasi dengan kondisi stress (Risna *et al.*, 2022).

2.5 Kualitas Yoghurt

Yoghurt merupakan produk olahan susu yang dihasilkan melalui proses fermentasi menggunakan bakteri asam laktat, terutama *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Proses fermentasi ini tidak hanya memberikan cita rasa khas dan tekstur yang kental tetapi juga meningkatkan nilai gizi dan daya simpannya. Kualitas yoghurt sangat ditentukan oleh parameter mikrobiologi, kimia, fisika, dan organoleptik. Di Indonesia, standar mutu yoghurt secara keseluruhan diatur dalam SNI 2981:2022 tentang Yoghurt yang menjadi acuan wajib bagi industri dalam memproduksi produk yang aman, bermutu, dan

layak konsumsi (Badan Standardisasi Nasional [BSN], 2022). Telah dijelaskan dalam QS. Al-Maidah [5]: 88 yang berbunyi:

وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا عَوَاتِقُوا اللَّهَ الَّذِي أَنْتُمْ بِهِ مُؤْمِنُونَ

Artinya: “Makanlah apa yang telah Allah anugerahkan kepadamu sebagai rezeki yang halal lagi baik, dan bertakwalah kepada Allah yang hanya kepada-Nya kamu beriman.” (QS. Al-Ma’idah [5] : 88).

Tafsir Al Mishbah Jilid 03 menjelaskan, Dan makanlah makanan yang halal, yakni yang bukan haram lagi baik, lezat, bergizi dan berdampak positif bagi kesehatan dari apa yang Allah telah rezezikikan kepada kamu, dan bertakwalah kepada Allah dalam segala aktivitas kamu yang kamu terhadap-Nya adalah mu'minin, yakni orang-orang yang mantap keimanannya. Yang dimaksud dengan kata makan dalam ayat ini, adalah segala aktivitas manusia. Pemilihan kata makan, di samping karena ia merupakan kebutuhan pokok manusia, juga karena makanan mendukung aktivitas manusia. Tanpa makan, manusia lemah dan tidak dapat melakukan aktivitas. Ayat ini memerintahkan untuk memakan yang halal lagi baik.

Tafsir Thabari jilid 9 menjelaskan, konsumsilah makanan yang halal (diperbolehkan secara syariat) lagi baik (thayyib, yakni memenuhi standar kesehatan, kebersihan, dan keamanan) dari rezeki yang telah Allah berikan kepada kalian. Maksud dari perintah tersebut adalah agar kalian hanya mengonsumsi apa yang secara tegas dihalalkan oleh Allah. Oleh karena itu, wahai orang-orang yang beriman, hendaklah kalian takut (bertaqwa) dengan tidak melampaui batas-batas ketentuan syariat, sehingga kalian tidak serta-merta menghalalkan apa yang telah diharamkan atau mengharamkan apa yang telah dihalalkan. Bersikaplah cermat dan waspada, karena pelanggaran terhadap ketentuan tersebut berpotensi mendatangkan

kemurkaan Allah, atau akan berdampak pada penerimaan balasan atas pelanggaran tersebut.

Telah dijabarkan maksud ayat tersebut, yaitu Allah SWT memerintahkan orang-orang beriman untuk mengonsumsi rezeki yang halal dan *thayyib* (baik) sebagai bagian dari ketakwaan. Rezeki yang halal tidak hanya mencakup jenis makanan yang diperbolehkan syariat, tetapi juga cara memperolehnya harus sesuai dengan aturan agama. Sementara itu, kriteria *thayyib* menekankan bahwa makanan tersebut harus bergizi, menyehatkan, dan memberikan dampak positif bagi tubuh maupun jiwa. Hal ini penting karena makanan yang dikonsumsi tidak hanya memengaruhi kondisi fisik, tetapi juga spiritual dan akhlak seseorang. Allah juga mengingatkan bahwa tidak semua yang halal otomatis baik; ada makanan yang halal namun kurang bergizi atau bahkan makruh, sehingga umat Islam harus selektif dalam memilih. Perintah ini tidak terbatas pada makanan semata, tetapi juga mencakup seluruh aktivitas kehidupan, karena prinsip "halal dan *thayyib*" menjadi landasan dalam menjalani hidup yang berkah.

Secara mikrobiologis, SNI 2981:2022 menetapkan persyaratan yang ketat untuk menjamin keamanan pangan. Standar ini mensyaratkan jumlah bakteri asam laktat hidup (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) minimal sebanyak 10^7 koloni/gr. Persyaratan ini penting karena bakteri probiotik inilah yang memberikan manfaat kesehatan bagi saluran pencernaan (Fithriani *et al.*, 2019). Pemenuhan persyaratan mikrobiologi menjadi indikator utama bahwa proses fermentasi berjalan dengan baik dan produk terhindar dari kontaminasi (BSN, 2022).

Tabel 2.2 Syarat mutu yoghurt (SNI 2981:2009)

No.	Kriteria Uji	Satuan	Yogurt tanpa perlakuan panas setelah fermentasi			Yogurt dengan perlakuan panas setelah fermentasi		
			Yoghurt	Yoghurt rendah lemak	Yoghurt tanpa lemak	Yoghurt	Yoghurt rendah lemak	Yoghurt tanpa lemak
1	Keadaan							
1.1	Penampakan	-	Cairan kental - padat			Cairan kental - padat		
1.2	Bau	-	Normal/khas			Normal/khas		
1.3	Rasa	-	Asam/khas			Asam/khas		
1.4	Konsistensi	-	Homogen			Homogen		
2	Kadar lemak (b/b)	%	Min. 3,0	0,6-2,9	Maks. 0,5	Min. 3,0	0,6-2,9	Maks. 0,5
3	Total padatan susu bukan lemak (b/b)	%		Min. 8,2			Min. 8,2	
4	Protein (N x 6,38) (b/b)	%		Min. 2,7			Min. 2,7	
5	Kadar abu(b/b)	%		Maks. 1,0			Maks. 1,0	
6	Keasaman (dihitung sebagai asam laktat) (b/b)	%		0,5-2,0			0,5-2,0	
7	Cemaran logam							
7.1	Timbal (Pb)	Mg/Kg		Maks. 0,3			Maks. 0,3	
7.2	Tembaga (Cu)	Mg/Kg		Maks. 20,0			Maks. 20,0	

Tabel 2.2 Lanjutan

No.	Kriteria Uji	Satuan	Yogurt tanpa perlakuan panas setelah fermentasi			Yogurt dengan perlakuan panas setelah fermentasi		
			Yoghurt	Yoghurt rendah lemak	Yoghurt tanpa lemak	Yoghurt	Yoghurt rendah lemak	Yoghurt tanpa lemak
7.3	Timah (Sn)	Mg/Kg		Maks. 40,0			Maks. 40,0	
7.4	Raksa (Hg)	Mg/Kg		Maks. 0,03			Maks. 0,03	
8	Arsen	Mg/Kg		Maks. 0,1			Maks. 0,1	
9	Cemaran mikroba							
9.1	Bakteri <i>Coliform</i>	APM/g atau koloni/g		Maks. 10			Maks. 10	
9.2	<i>Salmonella</i>	-		Negatif/25 g			Negatif/25 g	
9.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	-		Negatif/25 g			Negatif/25 g	
10	Jumlah bakteri starter	Koloni/g		Min. 10 ⁷			-	

Parameter kimia menjadi penentu utama mutu dan kesesuaian produk. SNI 2981:2022 menetapkan kadar lemak susu minimum sebesar 2,7% untuk *plain* yoghurt dan kadar protein minimum 3,0%. Kadar keasaman, yang dihasilkan dari fermentasi, harus tidak kurang dari 0,6% yang dinyatakan sebagai asam laktat. Kadar asam ini tidak hanya memengaruhi rasa tetapi juga berfungsi sebagai pengawet alami dan penghambat pertumbuhan mikroba perusak (Setiadi & Husni, 2024). Selain itu, standar juga mengatur batasan maksimum cemaran logam

berat seperti timbal (Pb) dan timah (Sn) untuk memastikan produk bebas dari bahaya kimia yang dapat membahayakan kesehatan konsumen dalam jangka panjang (BSN, 2022).

2.5.1 Uji pH

Derajat keasaman (pH) merupakan suatu satuan pengukuran yang menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan suatu larutan. Istilah "pH" berasal dari simbol "p" yang menyatakan operator matematika logaritma negatif dan "H" yang merupakan simbol kimia untuk unsur hydrogen (Sumampow dkk, 2025). Secara definitif, pH didefinisikan sebagai negatif logaritma dari aktivitas ion hidrogen (H^+). Nilai pH memberikan informasi kuantitatif mengenai derajat keasaman atau alkalinitas berdasarkan konsentrasi ion H^+ , dengan rentang skala pengukuran dari 0 hingga 14 (Bayu & Ratna, 2011).

Suatu larutan diklasifikasikan sebagai asam apabila memiliki nilai pH kurang dari 7, yang mengindikasikan konsentrasi ion hidrogen (H^+) lebih tinggi dibandingkan ion hidroksida (OH^-). Sebaliknya, larutan bersifat basa jika nilai pH-nya lebih besar dari 7, yang menandakan konsentrasi ion OH^- lebih dominan daripada ion H^+ (Basuki, 2021). Metode pengukuran pH dapat dilakukan menggunakan kertas indikator universal yang berprinsip pada pengamatan perubahan warna strip indikator terhadap pH larutan (Bayu & Sugito, 2017). Namun, metode ini memiliki keterbatasan dalam hal akurasi dan presisi karena rentan terhadap kesalahan subjektivitas dalam interpretasi warna, terutama pada larutan sampel yang berwarna atau keruh. Untuk memperoleh hasil pengukuran yang lebih akurat dan presisi, penggunaan pH meter elektrometrik sangat dianjurkan (Bayu & Ratna, 2011).

Standar Nasional Indonesia (SNI) 2981:2022 tentang Yoghurt menetapkan persyaratan mutu yang komprehensif, termasuk batasan untuk parameter keasaman. Meskipun SNI secara eksplisit menyatakan kadar keasaman minimum (dinyatakan sebagai asam laktat) sebesar 0,6%, nilai pH merupakan alat ukur operasional yang langsung dan cepat untuk memantau pencapaian target keasaman tersebut. Nilai yoghurt yang baik biasanya berkisar antara 4,0 hingga 4,6. Nilai di bawah 4,0 dapat mengindikasikan over-fermentasi yang menghasilkan rasa yang terlalu tajam dan tajam (*over acid*), sedangkan nilai yang mendekati atau di atas 4,6 menunjukkan bahwa fermentasi tidak optimal atau tidak lengkap, yang dapat mempengaruhi rasa, aroma, viskositas, dan daya simpan produk. Dengan demikian, pengukuran pH merupakan prosedur wajib dalam industri untuk memastikan konsistensi dan kesesuaian produk dengan standar yang berlaku (Rahayu dkk, 2020).

2.5.2 Uji Kadar Asam

Kadar asam merupakan parameter kimiawi fundamental dalam penentuan mutu dan keamanan yoghurt. Berbeda dengan pengukuran pH yang mengukur aktivitas ion hidrogen, uji kadar asam (biasanya dinyatakan sebagai persen asam laktat) mengukur jumlah total asam tertitrasi yang terdapat dalam produk yoghurt (Nugroho dkk, 2023). Parameter ini secara langsung mengkuantifikasi hasil metabolisme bakteri asam laktat (BAL) selama proses fermentasi, di mana laktosa diubah menjadi asam laktat. Kadar asam yang memadai tidak hanya bertanggung jawab terhadap pembentukan flavor khas yoghurt, tetapi juga berfungsi sebagai penghambat alami terhadap pertumbuhan mikroorganisme perusak dan patogen sehingga memperpanjang masa simpan produk (Kasmiyetti dkk., 2022). Pengukuran kadar asam melalui metode titrasi alkalimetri dengan menggunakan

indikator phenolphthalein merupakan metode standar yang diakui secara internasional dan diadopsi dalam standar nasional (Frilanda dkk, 2022).

Standar Nasional Indonesia (SNI) 2981:2022 tentang yoghurt menetapkan persyaratan mutu yang jelas dan tegas mengenai kadar asam produk yoghurt. SNI mensyaratkan kadar asam minimum sebesar 0,6% yang dinyatakan sebagai asam laktat. Persyaratan ini tidak hanya menjamin terbentuknya karakteristik sensori yang diinginkan (rasa dan aroma asam yang khas), tetapi juga memastikan bahwa proses fermentasi telah berlangsung dengan sempurna sehingga produk memiliki stabilitas mikrobiologis yang adequate (Kasmiyetti dkk, 2022). Kadar asam di bawah 0,6% mengindikasikan fermentasi yang tidak optimal atau tidak lengkap, yang dapat menyebabkan flavor yang kurang berkembang, tekstur yang lemah, dan rentan terhadap kontaminasi mikroba. Sebaliknya, kadar asam yang terlalu tinggi (*over acidification*) dapat menghasilkan rasa yang terlalu tajam dan tidak disukai konsumen (Rahayu dkk, 2020).

Prosedur pengujian kadar asam sesuai SNI 2981:2022 melibatkan teknik titrasi dengan menggunakan larutan standar NaOH 0,1 N. Sampel yoghurt ditimbang secara teliti, dilarutkan dalam air bebas CO₂, dan kemudian dititrasi dengan NaOH hingga mencapai titik akhir titrasi yang ditandai dengan perubahan warna menjadi merah muda yang tidak hilang selama 30 detik. Perhitungan kadar asam dilakukan berdasarkan volume NaOH yang digunakan hingga titik ekuivalen. Metode ini, meskipun terlihat sederhana, memerlukan ketelitian dan pengalaman dalam mengamati titik akhir titrasi, terutama pada sampel yoghurt yang berwarna atau keruh, untuk menghindari kesalahan pembacaan (BSN, 2022; Sari *et al.*, 2022).

Beberapa faktor proses produksi secara signifikan mempengaruhi kadar asam akhir yoghurt. Penelitian oleh Wulandari & Santoso (2021) menunjukkan bahwa konsentrasi kultur starter, suhu, dan waktu inkubasi fermentasi memiliki korelasi positif dan signifikan terhadap akumulasi asam laktat. Suhu inkubasi yang lebih tinggi (dalam kisaran optimum BAL) dan waktu fermentasi yang lebih lama umumnya menghasilkan kadar asam yang lebih tinggi. Selain itu, komposisi susu dasar, khususnya kandungan padatan total dan laktosa, juga berperan sebagai substrat yang tersedia untuk konversi menjadi asam laktat. Variasi dalam kualitas dan komposisi susu dapat menyebabkan fluktuasi dalam kadar asam akhir sehingga menegaskan pentingnya kontrol proses yang ketat dan pengujian rutin untuk memastikan konsistensi produk (Wulandari & Santoso, 2021).

2.5.3 Uji Total Bakteri Asam Laktat

Bakteri utama yang digunakan dalam pembuatan yoghurt adalah *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*, yang bekerja secara sinergis dalam memfermentasi laktosa menjadi asam laktat (Dewi dkk, 2022). Keberadaan BAL hidup dalam jumlah yang memadai pada produk akhir menjadi indikator kualitas terpenting, karena secara langsung berkorelasi dengan manfaat probiotik dan keasaman produk. Standar Nasional Indonesia telah menetapkan persyaratan ketat mengenai jumlah minimal BAL dalam yoghurt, yang menjamin kualitas dan manfaat produk bagi konsumen (Fithriani *et al*, 2019).

Standar Nasional Indonesia (SNI) 2981:2022 tentang Yoghurt menetapkan persyaratan jumlah total BAL hidup minimum sebesar 10^7 CFU/mL (Hidayat dkk, 2013). Persyaratan ini sejalan dengan standar internasional yang dikeluarkan oleh *Food and Agriculture Organization* (FAO) dan *World Health Organization* (WHO)

serta *Codex Alimentarius Commission*. Jumlah ini dianggap sebagai tingkat minimal yang diperlukan untuk memberikan manfaat kesehatan, termasuk menjaga keseimbangan mikroflora usus, meningkatkan absorpsi nutrisi, dan mendukung sistem imun. Selain jumlah total BAL, SNI juga mensyaratkan adanya kedua jenis bakteri starter (*S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*) dalam produk akhir, yang membedakan yoghurt sejati dari produk fermentasi susu lainnya (Rahmiati & Simanjuntak, 2019).

Metode pengujian total BAL dalam SNI 2981:2022 mengacu pada metode standar yang diakui secara internasional, yaitu menggunakan teknik hitungan cawan (*plate count*) dengan media spesifik seperti MRS agar dan M17 agar. Sampel yoghurt dilakukan pengenceran bertingkat menggunakan larutan pengencer steril (seperti peptone water 0,1%) untuk mendapatkan konsentrasi yang sesuai. Penumbuhan dilakukan secara anaerob pada suhu 37°C selama 48-72 jam (Nugroho dkk, 2023). Koloni yang tumbuh kemudian dihitung dan dinyatakan sebagai *Colony Forming Unit* per milliliter (CFU/mL). Metode ini dipilih karena reliabilitas dan akurasi dalam mengkuantifikasi bakteri viable, meskipun memerlukan waktu dan ketelitian dalam pelaksanaannya (Canon dkk, 2023).

Faktor produksi dan penyimpanan dapat mempengaruhi viabilitas BAL dalam yoghurt. Penelitian oleh Wulandari & Santoso (2021) menunjukkan bahwa suhu fermentasi, pH akhir, dan kondisi penyimpanan berpengaruh signifikan terhadap kelangsungan hidup BAL (Nugroho dkk, 2023). Suhu penyimpanan yoghurt yang ideal adalah 4°C, karena suhu yang lebih tinggi dapat mempercepat penurunan jumlah BAL hidup. Selain itu, tingkat keasaman produk yang terlalu tinggi ($\text{pH} < 3,8$) juga dapat menurunkan viabilitas BAL selama penyimpanan.

Penambahan prebiotic seperti inulin dan FOS (*fructooligosaccharides*) telah terbukti dalam beberapa penelitian dapat meningkatkan ketahanan hidup BAL selama penyimpanan dengan berperan sebagai sumber nutrient (Hidayat dkk, 2013).

2.5.4 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif, tidak membentuk spora, non-respirasi namun aerotoleran, yang menghasilkan asam laktat sebagai salah satu produk fermentasi utama melalui pemanfaatan karbohidrat (Ayivi *et al.*, 2020). Bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir katabolisme karbohidrat dan juga membentuk substansi organik lain yang berkontribusi pada karakteristik organoleptik unik, seperti rasa, tekstur, dan aroma. Dillon (2014) menyatakan jika genus dari bakteri asam laktat terdiri dari *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Carnobacterium*, *Fructobacillus*, *Oenococcus*, dan *Weissella*. Bakteri asam laktat juga telah diklasifikasikan ke dalam genus dan spesies yang berbeda berdasarkan karakteristik produksi asamnya dari fermentasi gula dan pertumbuhannya pada suhu spesifik. Selain itu, bakteri asam laktat dapat dikelompokkan sebagai organisme homofermentatif atau heterofermentatif berdasarkan kemampuannya memfermentasi karbohidrat (Fauziyah *et al.*, 2023). Bakteri asam laktat homofermentatif, seperti *Lactococcus* dan *Streptococcus*, menghasilkan dua molekul laktat dari satu molekul glukosa, sedangkan bakteri asam laktat heterofermentatif, seperti *Leuconostoc*, *Weissella*, dan beberapa *Lactobacilli*, menghasilkan laktat, etanol, dan karbon dioksida dari satu molekul glukosa (Ali *et al.*, 2019).

Karakterisasi bakteri asam laktat meliputi pengamatan bentuk sel, susunan, serta sifat pewarnaan gram. Koloni bakteri asam laktat biasanya berbentuk bulat, berwarna putih hingga krem, permukaan halus, dan cenderung kecil (Ayivi *et al.*, 2020). Secara mikroskopis setelah pewarnaan gram, bakteri asam laktat termasuk gram positif berbentuk batang (*Lactobacillus*) atau kokus (*Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*), tidak membentuk spora, dan tidak memiliki motilitas (Fauziyah *et al.*, 2023). BAL tidak menghasilkan enzim katalase, sehingga dalam uji katalase memberikan hasil negative, bersifat fakultatif anaerob, dan mampu tumbuh pada kondisi asam serta konsentrasi garam tertentu, sedangkan pada uji fermentasi gula digunakan untuk membedakan pola fermentasi homofermentatif atau heterofermentatif (Chotiah & Rini, 2018).

Ayivi dkk., 2020 menyatakan jika, untuk memastikan identitas isolat hingga tingkat genus atau spesies, metode molekuler digunakan, terutama amplifikasi dan sekuensing gen 16S rRNA. Analisis sekuens ini kemudian dibandingkan dengan database genetik untuk menentukan kedekatan filogenetik. Dengan metode ini, isolat dapat dipastikan apakah termasuk *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, dan sebagainya. Beberapa penelitian juga menambahkan uji toleransi terhadap pH rendah, suhu tertentu, dan garam empedu, untuk menilai viabilitas BAL dalam sistem pangan atau saluran pencernaan. Uji aktivitas antimikroba (misalnya produksi bakteriosin atau senyawa penghambat lain) juga dilakukan untuk mengevaluasi potensi probiotiknya (Ali *et al.*, 2019).

2.5.4.1 Identifikasi Makroskopis

Identifikasi awal bakteri asam laktat (BAL) secara makroskopis merupakan tahap dalam proses karakterisasi isolat mikroba yang diperoleh dari berbagai

sumber, seperti bahan pangan hasil fermentasi, saluran pencernaan hewan maupun manusia, serta lingkungan alami (Z. Z. N. Amaliah *et al.*, 2018). Pengamatan makroskopis dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada media selektif yang mendukung pertumbuhan BAL, seperti de Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA) (Aini *et al.*, 2022). Media ini dirancang secara khusus untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme non-BAL, sehingga memungkinkan pengamatan morfologi koloni secara lebih spesifik. Parameter utama yang diamati dalam identifikasi makroskopis mencakup bentuk koloni (misalnya bundar, tidak beraturan/irregular, atau punctiform), ukuran koloni, warna (umumnya putih susu atau krem), elevasi (seperti cembung, rata, atau timbul/raised), serta tepian koloni (entire, undulate, atau lobate) (Giyatno & Retnaningrum, 2021). Ayivi *et al.* (2020) menyatakan bahwa isolat BAL umumnya membentuk koloni berbentuk bundar, berwarna putih susu, memiliki elevasi cembung, dan tepian rata. Ciri morfologi ini mencerminkan karakteristik umum BAL yang bersifat non-motil dan tumbuh baik pada kondisi anaerob fakultatif, serta identifikasi makroskopis dapat digunakan sebagai indikator awal sebagai pembeda antar-isolat.

2.5.4.2 Pewarnaan Gram

Tahap karakterisasi mikroskopis merupakan tahap lanjutan dari identifikasi makroskopis dalam proses penentuan karakter fenotipik BAL. Salah satu teknik dasar yang digunakan dalam tahap ini adalah pewarnaan Gram, yang berfungsi untuk membedakan bakteri berdasarkan struktur dinding selnya (Aini *et al.*, 2022). Metode ini memanfaatkan perbedaan ketebalan lapisan peptidoglikan dalam dinding sel bakteri, sehingga dapat mengelompokkan mikroorganisme menjadi Gram positif dan Gram negatif. BAL secara umum tergolong Gram positif karena

memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal, sehingga mampu mempertahankan kompleks pewarna kristal violet–iodium dan menghasilkan warna akhir ungu atau biru ketika diamati di bawah mikroskop cahaya (Damayanti *et al.*, 2024).

Pewarnaan Gram biasanya diamati pada perbesaran 1000× dengan minyak imersi. Selain memastikan sifat Gram positif, pengamatan mikroskopis ini juga memberikan informasi penting mengenai morfologi sel (misalnya berbentuk kokus atau basil) serta pola pengelompokan sel (misalnya berpasangan, berantai, atau bergerombol). Berdasarkan berbagai hasil penelitian, BAL umumnya diklasifikasikan ke dalam dua bentuk morfologi utama: kokus (bulat), yang sering dijumpai pada genus *Streptococcus* dan *Pediococcus*, serta basil (batang), yang umum ditemukan pada genus *Lactobacillus* dan *Lactococcus* (Giyatno & Retnaningrum, 2021). Isolat BAL yang diperoleh dari berbagai sumber fermentasi secara konsisten memperlihatkan warna ungu atau biru pada pewarnaan Gram, yang mengonfirmasi sifat Gram positifnya. Morfologi yang diamati juga mendukung klasifikasi tersebut, dengan bentuk sel basil dan/atau kokus sebagai karakteristik dominan (Nurmailah *et al.*, 2024). Selain itu, pengamatan mikroskopis juga mengidentifikasi ciri khas lain dari BAL, yaitu non-motil (tidak memiliki flagela atau alat gerak) serta tidak membentuk spora (*non-spore forming*). Sifat ini menjadi indikator fenotipik penting dalam membedakan BAL dari kelompok bakteri lain yang memiliki kemampuan motilitas atau sporulasi.

2.5.4.3 Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora merupakan teknik pewarnaan yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan struktur dorman berupa endospore pada bakteri. Endospora bersifat sangat resisten karena memiliki lapisan pelindung yang tebal dan

mengandung keratin dan kalsium dipikolinat yang menyebabkan sulit ditembus oleh pewarna biasa. Tujuan utama pewarnaan ini adalah membantu mengidentifikasi bakteri pembentuk spora, menentukan lokasi dan bentuk spora di dalam sel, serta memahami mekanisme ketahanan bakteri terhadap kondisi ekstrem lingkungan. Metode Schaeffer-Fulton sering digunakan dengan prinsip menggunakan zat warna primer *Malachite green* melalui pemanasan sebagai mordant, karena dinding endospora impermeabel terhadap bahan kimia. Setelah pemanasan, preparat didinginkan dan dibilas dengan air sehingga *Malachite green* keluar dari sel vegetatif tetapi tetap terperangkap dalam endospore. Selanjutnya, diberikan pewarna tandingan (*counterstain*) berupa safranin yang mewarnai sel vegetatif menjadi merah atau merah muda. Hasil akhirnya menunjukkan kontras yang jelas endospora berwarna hijau, sedangkan sel vegetatif berwarna merah/pink.

Secara prosedural, tahapan pewarnaan dilakukan secara sistematis, yaitu pembuatan sediaan apus bakteri pada kaca objek, fiksasi panas, kemudian preparat dipanaskan sambil ditetesi *Malachite green* selama beberapa menit agar pewarna masuk ke struktur spora. Setelah itu, preparat didinginkan dan dicuci dengan air sebagai dekolorisasi, lalu diberi safranin selama $\pm 1-2$ menit, dibilas, dikeringkan, dan diamati di mikroskop . Pemanasan berfungsi meningkatkan permeabilitas dinding spora sehingga pewarna terperangkap permanen, sedangkan sel vegetatif kehilangan *Malachite green* dan menyerap safranin . Dengan demikian, metode ini merupakan pewarnaan diferensial struktural yang mampu membedakan fase dorman dan fase aktif bakteri.

Pada bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, atau *Pediococcus*, secara biologis bakteri tersebut tidak membentuk endospora. Oleh

karena itu, pada pewarnaan endospora seharusnya seluruh sel tampak berwarna merah atau merah muda tanpa adanya struktur hijau di dalam sel. Warna merah menunjukkan bahwa sel vegetatif menyerap safranin karena tidak memiliki struktur spora yang dapat mempertahankan malachite green, yang menunjukkan bahwa hasil tersebut menandakan bakteri non-sporogenik, sesuai karakter bakteri asam laktat yang umumnya tidak tahan terhadap kondisi ekstrem melalui pembentukan spora.

2.5.4.4 Uji Katalase

Uji katalase merupakan salah satu metode biokimiawi mendasar yang digunakan dalam proses karakterisasi fenotipik bakteri asam laktat (BAL) setelah tahap konfirmasi pewarnaan Gram (Nuryanti *et al.*, 2021). Prinsip dasar dari uji ini adalah untuk mendeteksi keberadaan enzim katalase, yakni enzim yang berperan penting dalam detoksifikasi senyawa hidrogen peroksida (H_2O_2) — produk sampingan toksik dari proses metabolisme aerobik. Enzim katalase bekerja dengan mengubah H_2O_2 menjadi air (H_2O) dan gas oksigen (O_2), yang secara kimia dapat dituliskan sebagai reaksi: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (Sianipar *et al.*, 2020). Apabila bakteri memiliki enzim katalase aktif, maka penambahan larutan hidrogen peroksida 3% pada koloni akan memicu terbentuknya gelembung gas oksigen sebagai tanda reaksi positif. Sebaliknya, tidak adanya gelembung menunjukkan reaksi negatif. Pada BAL, hasil pengujian umumnya menunjukkan sifat katalase negatif, menandakan ketiadaan atau rendahnya aktivitas enzim katalase (Candra & Rahadiyanti, 2020).

Sifat katalase negatif merupakan ciri khas fisiologis BAL yang membedakannya dari kelompok bakteri Gram positif lainnya seperti

Staphylococcus dan *Bacillus*, yang pada umumnya bersifat katalase positif. Hal ini disebabkan karena BAL secara fisiologis tergolong mikroaerofilik hingga anaerob fakultatif, sehingga tidak bergantung pada enzim katalase sebagai mekanisme perlindungan terhadap radikal bebas (Anggraini & Mustakim, 2025). Sebagai gantinya, BAL dapat memiliki sistem detoksifikasi alternatif, seperti enzim peroksidase, yang mampu menangani paparan H_2O_2 dalam jumlah terbatas. Karakteristik ini menjadikan uji katalase sebagai indikator awal yang sangat penting dalam proses seleksi isolat, karena dapat membantu membedakan BAL sejati dari kontaminan Gram positif lainnya (Wahyuni *et al.*, 2025).

2.5.4.5 Uji Tipe Fermentasi

Uji tipe fermentasi merupakan kriteria biokimiawi esensial untuk mengklasifikasikan bakteri asam laktat (BAL) ke dalam dua kelompok besar: homofermentatif dan heterofermentatif. Klasifikasi ini didasarkan pada jalur metabolisme karbohidrat yang digunakan untuk mendegradasi heksosa, seperti glukosa. Bakteri homofermentatif, seperti beberapa spesies *Lactobacillus*, *Lactococcus*, dan *Streptococcus*, menggunakan jalur Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) dan secara dominan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir utama, dengan produksi gas yang minimal atau tidak ada. Sebaliknya, bakteri heterofermentatif, seperti genus *Leuconostoc* dan beberapa spesies *Lactobacillus*, memanfaatkan jalur 6-fosfoglukonat/fosfoketolase, yang menghasilkan campuran produk akhir berupa asam laktat, etanol/asam asetat, dan gas. Uji tipe fermentasi gas ini secara praktis dilakukan dengan menumbuhkan isolat BAL pada media cair yang dilengkapi dengan tabung durham terbalik, di mana terbentuknya gelembung

gas di dalam tabung durham setelah inkubasi akan mengindikasikan tipe heterofermentatif.

Diferensiasi tipe fermentasi gas memiliki implikasi signifikan terhadap pemanfaatan BAL dalam industri pangan. Isolat homofermentatif, dengan konversi gula yang efisien menjadi asam laktat, sangat disukai dalam produksi produk fermentasi yang memerlukan asidifikasi cepat dan tekstur stabil, seperti yoghurt dan keju tertentu. Penelitian oleh Anindita (2022) menegaskan bahwa karakterisasi genus BAL memerlukan penentuan tipe fermentasi untuk memahami jalur biokimia isolat. Sementara itu, kelompok heterofermentatif, dengan kemampuan menghasilkan karbon dioksida, asam asetat, dan etanol dan senyawa volatil lainnya (seperti diasetil dan asetaldehida), memainkan peran penting dalam pembentukan aroma, cita rasa, dan tekstur berongga (gas *eye*) pada produk seperti keju, *sauerkraut*, dan *bekasam* (Wieczorek & Drabińska, 2022).

2.6 Hasil Penelitian Penambahan Sari Buah Naga Merah terhadap Kualitas Yoghurt

Penelitian yang telah dilakukan oleh Siregar *et al.* (2023), formulasi optimal yoghurt dengan penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dicapai pada konsentrasi 10%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan tersebut memenuhi persyaratan Standar Nasional Indonesia (SNI) untuk parameter fisikokimia, meliputi pH (4,18), aktivitas air (0,86), total asam tertitrasi (0,64%), dan kadar abu (0,68%). Selain itu, penambahan sari buah pada tingkat ini memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan kadar protein serta karakteristik sensori seperti aroma, warna, dan rasa. Secara keseluruhan, konsentrasi 10% dinilai

sebagai formulasi terbaik berdasarkan kesesuaian dengan SNI, karakteristik sensori, dan komposisi kimia.

Penelitian yang dilakukan oleh Frilanda *et al.* (2022) pulp buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dalam formulasi *set yoghurt* memberikan dampak signifikan terhadap peningkatan viabilitas bakteri asam laktat, total asam, dan reduksi nilai pH. Peningkatan konsentrasi pulp buah naga merah berkorelasi positif dengan peningkatan total BAL dan total asam, serta berkorelasi negatif dengan nilai pH. Konsentrasi perlakuan optimal, yaitu 15%, meregistrasi viabilitas BAL tertinggi, mencapai $9,52 \times 10^8$ CFU/ml, serta total asam 1,12%. Analisis parameter keasaman menunjukkan bahwa semua konsentrasi aditif pulp buah naga merah (5%, 10%, dan 15%) berhasil mempertahankan nilai pH dalam rentang standar SNI (3,8–4,4). Kontrasnya, kontrol negatif (0% pulp) justru menghasilkan nilai pH 4,57, melampaui batas maksimum standar. Implikasi dari temuan ini adalah bahwa pulp buah naga merah tidak hanya berfungsi sebagai substrat nutrisi bagi aktivitas metabolisme BAL, tetapi juga berperan krusial dalam memodifikasi lingkungan fermentasi untuk mencapai profil keasaman yang sesuai dengan standar mutu. Secara komprehensif, berdasarkan evaluasi multi-parameter (viabilitas BAL, pH, dan total asam), konsentrasi 15% ditetapkan sebagai formulasi yang bagus serta memenuhi seluruh persyaratan SNI dan menginduksi karakteristik fermentasi yang paling optimal.

Penelitian Dunggio dkk. (2022) menyatakan jika variasi suhu fermentasi terhadap sifat kimia yoghurt yang diformulasikan dengan konsentrasi 20% sari buah naga merah, jika suhu fermentasi merupakan faktor determinan yang secara signifikan memengaruhi total padatan terlarut (TPT), kadar vitamin C, dan total

asam produk. Analisis optimasi suhu menunjukkan suhu fermentasi terbaik adalah 42°C, yang menghasilkan nilai TPT tertinggi sebesar 3,06 °Brix dan kadar vitamin C sebesar 6,35 mg. Namun, untuk parameter total asam, suhu fermentasi 46°C menghasilkan nilai tertinggi, yaitu 41,19 dan melebihi Batasan Standar Nasional Indonesia (SNI). Penelitian ini memberikan gambaran bahwa kualitas akhir yoghurt tidak hanya ditentukan oleh formulasi (konsentrasi buah), tetapi juga sangat dipengaruhi oleh parameter proses, yaitu suhu fermentasi.

Penelitian yang dilakukan oleh Kasmiyetti dkk. (2022), *yoghurt* buah naga merah yang diformulasikan dengan penambahan 25% sari buah. Penelitian ini memfokuskan analisis pada pengaruh durasi penyimpanan terhadap viabilitas bakteri asam laktat (BAL) dan profil kestabilan pH produk. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa selama periode penyimpanan dingin 4-5°C dan pada suhu ruang 24°C, total viabilitas BAL pada yoghurt dengan 25% sari buah naga merah mengalami fluktuasi. Konsentrasi BAL secara konsisten berhasil dipertahankan di atas ambang batas minimum yang ditetapkan oleh SNI 2981:2009 (minimal 10^7 CFU/ml) hingga hari ke-28. Nilai pH produk terstabilisasi dalam rentang 3,35–3,5 sepanjang durasi penyimpanan, mencerminkan kesesuaian dengan standar kisaran pH yoghurt berdasarkan SNI. Konsentrasi 25% terbukti efektif tidak hanya dalam menghasilkan karakteristik sensori yang bagus, tetapi juga menjamin stabilitas mikrobial dan kimiawi yang memadai pascaproduksi hingga 21 hari pada suhu penyimpanan yang direkomendasikan.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan parameter pH serta kadar asam dan eksplorasi dengan parameter karakterisasi bakteri asam laktat dan total bakteri asam laktat menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 faktor dengan 3 kali pengulangan. Faktor pada penelitian ini, meliputi konsentrasi sari buah naga merah (K) dan lama fermentasi (L).

Perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Sari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan Lama Fermentasi

Lama Fermentasi (L)	Konsentrasi		
	K0	K1	K2
L0	K0L0	K1L0	K2L0
L1	K0L1	K1L1	K2L1
L2	K0L2	K1L2	K2L2
K ⁺			

Keterangan:

K0L0: Konsentrasi sari buah 0% dan lama fermentasi 0 hari
K1L0: Konsentrasi sari buah 10% dan lama fermentasi 0 hari
K2L0: Konsentrasi sari buah 15% dan lama fermentasi 0 hari
K0L1: Konsentrasi sari buah 0% dan lama fermentasi 2 hari
K1L1: Konsentrasi sari buah 10% dan lama fermentasi 2 hari
K2L1: Konsentrasi sari buah 15% dan lama fermentasi 2 hari
K0L2: Konsentrasi sari buah 0% dan lama fermentasi 3 hari
K1L2: Konsentrasi sari buah 10% dan lama fermentasi 3 hari
K2L2: Konsentrasi sari buah 15% dan lama fermentasi 3 hari
K⁺ : Kontrol positif (yoghurt komersial)

Penelitian ini menggunakan 3 variabel yang terdiri dari variabel kontrol, variabel bebas, dan variabel terikat. Variabel kontrol dari penelitian ini adalah suhu dan jenis media. Variabel bebas dari penelitian ini, yaitu konsentrasi penambahan sari buah naga merah dan lama fermentasi. Konsentrasi sari buah naga merah, meliputi 0% (Kontrol), 10% (10 mL), dan 15% (15 mL), sedangkan lama fermentasi yang digunakan, meliputi 0 jam (Kontrol), 2 hari, dan 3 hari. Variabel terikat dari penelitian ini, yaitu keanekaragaman bakteri asam laktat, sifat kimia (pH dan kadar asam), dan mikrobiologi (total bakteri asam laktat).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Rangkaian penelitian dilaksanakan pada Oktober 2025, Desember 2025–Februari 2026, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Islam Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kompor, panci, sendok, pisau, mangkuk, saringan, jar kaca, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, jarum ose, termometer, *hot plate*, erlenmeyer, mikropipet, timbangan, gelas ukur, beaker glass, labu ukur, *colony counter*, autoklaf, spidol, vortex, bunsen, *object & cover glass*, pH meter, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, mikroskop, lemari pendingin, *magnetic stirrer*, pipet tetes, buret & statif.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan untuk pada penelitian ini adalah susu UHT, buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), starter yoghurt merk biokul, gula pasir, media MRSA, MRSB, CaCO_3 1%, H_2O_2 , NaCl 0,9%, indikator pp, NaOH 0,1 N, aquades, alkohol 70% & 95%, aluminium foil, kapas, plastik wrap, lateks, masker, spirtus, *blue tip*, kristal violet, iodine, safranin, malachite green, *object & cover glass*, buffer pH 4 dan 7, tisu, spidol, label.

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur yang dilaksanakan pada penelitian ini ialah sebagai berikut:

3.4.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi alat merupakan langkah awal yang penting dalam melakukan penelitian untuk memastikan kebersihan dan mencegah terjadinya kontaminasi mikroorganisme asing ataupun bakteri yang masuk. Sterilisasi bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme patogen dan pembusuk dari semua peralatan yang bersentuhan langsung dengan bahan atau produk. Alat-alat yang akan di sterilisasi dilakukan pencucian hingga bersih, diikuti dengan pengeringan. Untuk cawan petri dibungkus dengan kertas, sedangkan alat gelas ditutup bagian mulutnya dengan kapas dan kasa, lalu ditutup kembali menggunakan plastik wrap dan dibungkus dengan plastik bening serta diikat. Proses sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (per *square inch*). Peralatan yang tidak tahan terhadap suhu tinggi, dilakukan disinfeksi menggunakan alkohol 70% dengan penyemprotan (Sapitri *et al.*, 2024).

3.4.2 Pembuatan Media

Pembuatan media MRSA sebanyak 68,2 gram dan CaCO_3 10 gram dilarutkan ke dalam 1000 ml aquades. Media dipanaskan sambil diaduk hingga homogen, lalu mulut erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil untuk dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Mansur *et al.*, 2019). Media MRSB 4,5 gram dilarutkan dengan 81 ml aquades, dipanaskan dan diaduk dengan stirrer. Media MRSB yang telah homogen lalu dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang telah ditaruh tabung durham secara terbalik sebanyak 9 ml tiap tabungnya dan mulut tabung reaksi ditutup dengan kapas. Masing-masing media dimasukkan ke dalam plastik tahan panas untuk dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf.

3.4.3 Pembuatan Yoghurt

Pembuatan yoghurt berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Jonathan *et al.* (2022) dengan modifikasi penelitian, yaitu susu dipasteurisasi pada suhu $70\text{--}80^\circ\text{C}$ selama 15 menit, lalu tambahkan 5% gula pasir dari volume susu dengan terus diaduk agar tidak menggumpal. Dinginkan susu hingga suhu 40°C , lalu susu dimasukkan ke dalam jar kaca steril. Setiap jar ditambahkan starter yoghurt merk biokul yang mengandung bakteri *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Bifidobacterium* sebanyak 3% dari volume susu.

3.4.4 Pembuatan Sari Buah Naga Merah

Buah naga merah matang yang kulitnya berwarna merah tua dan memiliki tekstur lembut, dicuci lalu dikupas kulitnya dan daging buah dipotong kecil-kecil untuk dihancurkan dengan sendok. Daging buah naga merah yang telah

dihancurkan, lalu disaring menggunakan saringan stainless. Hasil penyaringan lalu dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 15 menit, lalu didinginkan (Kasmiyetti, Amri, Rahmayeni, *et al.*, 2022).

3.4.5 Pembuatan Yoghurt dengan Penambahan Sari Buah Naga Merah

Pembuatan yoghurt dengan penambahan sari buah naga merah dilakukan berdasarkan penelitian Teguh *et al.* (2015) yang dimodifikasi. Persentase sari buah naga merah yang digunakan adalah 10%, dan 15% dari volume susu yang digunakan. Pada perlakuan 10% menggunakan 10 ml, dan 15% menggunakan 15 ml sari buah naga merah.

3.4.6 Uji Sifat Kimia

3.4.6.1 Uji Total Asam Laktat

Uji asam laktat secara kuantitatif dilakukan pada lama fermentasi 0 hari (Kontrol), 2 hari, dan 3 hari. Dihitung berdasarkan total nilai asam yang dititrasi pada metode titrasi asam basa. Sebanyak 10 mL sampel dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer. Selanjutnya, dilakukan titrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N untuk mentitrasi campuran setelah ditambahkan tiga tetes indikator phenolphthalen (PP). Jika terlihat perubahan warna merah muda, titrasi dihentikan (Frilanda *et al.*, 2022). Nilai kadar asam laktat dihitung berdasarkan rumus berikut:

$$\text{TAT (\%)} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times 90}{V \text{ sampel} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan :

V NaOH : Volume larutan NaOH (mL)

N NaOH : Normalitas larutan NaOH (mL)

V sampel : Volume sampel (mL)

90 : bobot setara asam laktat

3.4.6.2 Uji pH

Pengukuran pH pada sampel dilakukan pada lama fermentasi 0 hari (Kontrol), 2 hari, dan 3 hari. Pengukuran dilakukan menggunakan pH meter digital. Sebelum alat digunakan, pH meter terlebih dahulu dikalibrasi dengan larutan buffer standar, umumnya buffer pH 7,0 dan pH 4,0, guna memastikan hasil pengukuran yang akurat. Setelah proses kalibrasi selesai, elektroda dibilas aquades dan dikeringkan menggunakan tisu bebas serat. Selanjutnya, sekitar 10–20 mL yoghurt dimasukkan ke dalam gelas beaker yang bersih, lalu elektroda pH meter dicelupkan ke dalam sampel tersebut. Nilai pH dicatat setelah angka pada layar pH meter menunjukkan kestabilan. Setelah pengukuran, elektroda kembali dibilas dengan aquades untuk mencegah terjadinya kontaminasi antar sampel (Purwantiningsih *et al.*, 2022).

3.4.7 Uji Total Bakteri Asam Laktat

Pengujian jumlah bakteri asam laktat dilakukan pada lama fermentasi 0 hari (Kontrol), 2 hari, dan 3 hari. Uji BAL dilakukan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) sesuai dengan standar (BSN, 2009). Prosedur dimulai dengan sterilisasi peralatan dan media agar Man de Rogosa (MRSA) menggunakan autoklaf sebelum digunakan. Tabung reaksi dan rak tabung diberi tanda mulai dari pengenceran 10^{-1} dan seterusnya. Selanjutnya, dilakukan pengenceran dengan memasukkan 9 ml larutan NaCl fisiologis ke dalam tabung reaksi. Kemudian, 1 ml sampel yoghurt diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke tabung reaksi sebagai pengenceran 10^{-1} , lalu dihomogenkan. Dari tabung pengenceran 10^{-1} , diambil 1 ml larutan dan dimasukkan ke tabung reaksi lain yang berisi 9 ml NaCl fisiologis untuk pengenceran 10^{-1} , kemudian dikocok hingga homogen. Proses pengenceran ini dilanjutkan hingga mencapai pengenceran 10^{-7} . Dari tabung

pengenceran 5 hingga 7, masing-masing diambil 1 ml larutan dan diletakkan ke dalam cawan petri, dan pengenceran dilakukan secara duplo. Selanjutnya, media MRSA yang telah ditambahkan CaCO_3 1% dituangkan ke dalam cawan petri dan dihomogenkan. Setelah media mengeras, cawan petri ditempatkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Setelah inkubasi selesai, jumlah koloni bakteri asam laktat yang tumbuh dihitung menggunakan rumus berikut (Maturin & Peeler, 2001 dalam Frilanda *et al.* (2022)).

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times d}$$

Keterangan:

N = Jumlah koloni per ml produk

$\sum c$ = Jumlah total koloni pada semua *plate* (25-250)

N_1 = Jumlah dihitung pertama *plate* pada yang didapat pengenceran

N_2 = Jumlah *plate* yang dapat dihitung pada pengenceran kedua

D = Pengenceran pertama yang dihitung/memenuhi ketentuan (25-250)

3.4.8 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat dari yoghurt dengan penambahan sari buah naga merah dilakukan karakterisasi secara makroskopis meliputi morfologi pada saat di media MRSA dan pengamatan mikroskopis menggunakan pewarnaan gram. Prosedur dimulai dengan sterilisasi peralatan dan media agar Man de Rogosa (MRSA) menggunakan autoklaf sebelum digunakan. Tabung reaksi dan rak tabung diberi tanda mulai dari pengenceran 10^{-1} dan seterusnya. Selanjutnya, dilakukan pengenceran dengan memasukkan 9 ml larutan NaCl fisiologis ke dalam tabung reaksi. Kemudian, 1 ml sampel yoghurt diambil menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke tabung reaksi sebagai pengenceran 10^{-1} , lalu dihomogenkan. Dari

tabung pengenceran 10^{-1} , diambil 1 ml larutan dan dimasukkan ke tabung reaksi lain yang berisi 9 ml NaCl fisiologis untuk pengenceran 10^{-1} , kemudian dihomogenkan. Proses pengenceran ini dilanjutkan hingga mencapai pengenceran 10^{-7} . Dari tabung pengenceran 5 hingga 7, masing-masing diambil 1 ml larutan dan diletakkan ke dalam cawan petri, lalu media MRSA yang telah ditambahkan CaCO_3 1% dituangkan ke dalam cawan petri dan dihomogenkan. Setelah media mengeras, cawan petri ditempatkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik.

3.4.8.1 Identifikasi Makroskopis

Koloni yang tumbuh pada media MRSA lalu dipindahkan menggunakan jarum ose pada media MRSA baru yang telah tersuplementasi dengan CaCO_3 1% dengan metode streak plate untuk dilakukan pemurnian dan kembali diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam dan koloni yang memiliki zona bening. Pemurnian dilakukan hingga mendapatkan koloni tunggal. Setiap koloni yang tumbuh dicatat karakteristik morfologinya meliputi bentuk, warna, ukuran, tepian, dan elevasi (Amalliah dkk., 2018).

3.4.8.2 Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan memberikan alkohol 95% pada kaca objek untuk difiksasi, kemudian ditambahkan 1 tetes NaCl fisiologis, dan koloni tunggal diambil secara aseptik menggunakan jarum ose, lalu disuspensikan ke dalam NaCl fisiologis pada kaca objek. Suspensi difiksasi dengan cara dilewatkan di atas Bunsen hingga kering. Selanjutnya, kaca preparat ditetesi pewarna kristal violet sebanyak 2-3 tetes, biarkan selama 60 detik, dibilas dengan akuades, dan dikeringkan. Diberi beberapa tetes iodine dan didiamkan selama 60 detik, lalu

didekolorisasi menggunakan alkohol 95% selama 30 detik, dan dibilas kembali hingga warnanya larut, lalu dikeringkan. Setelah dibilas, preparat diberi safranin selama 30 detik dan kembali dibersihkan dengan air mengalir dan dikeringkan (Sujono *et al.*, 2022).

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan meneteskan minyak imersi pada preparat yang sudah kering dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000×. Hasil gram negatif berwarna merah muda, sedangkan gram positif berwarna ungu. Diamati karakteristik morfologi seperti bentuk dan warna, dan data dari pengamatan dicatat sebagai identifikasi bakteri (Rahman *et al.*, 2024).

3.4.8.3 Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora dilakukan dengan meneteskan alkohol 95% pada kaca preparat. Setelah difiksasi, diletakkan koloni tunggal secara aseptik dan lalu disuspensikan dengan 1 tetes NaCl fisiologis. Preparat yang telah difiksasi diletakkan di atas beaker glass berisi air mendidih dan ditutup dengan kertas saring. Diberikan 2-3 tetes malakit hijau dan dibiarkan selama 5 menit, jika malakit hijau mulai kering, maka ditetesi kembali. Preparat dicuci dengan air mengalir dan diberi 1-2 tetes safranin selama 60 detik. Preparat dicuci kembali dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat diamati dengan meneteskan minyak imersi pada preparat yang sudah kering dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Endospora akan berwarna hijau, sedangkan sel vegetative akan berwarna merah (Amaliah dkk., 2018).

3.4.8.4 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan menggunakan hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%. Isolat diambil dari kultur pemurnian dan diletakkan pada kaca objek. Diberikan satu

hingga dua tetes H_2O_2 3% dan ditambahkan ke isolat. Bakteri positif katalase ditandai dengan terbentuknya gelembung, dan jika katalase negatif maka gelembung tidak terbentuk (Amaliah dkk., 2018).

3.4.8.5 Uji Tipe Fermentasi

Uji produksi gas dilakukan dengan mengisolasi kultur pada media MRSB yang diberi tabung Durham dengan posisi terbalik untuk menangkap gas yang dihasilkan. Setelah itu, isolat diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C . Pertumbuhan bakteri diamati dengan adanya kekeruhan pada media dalam tabung (Amaliah dkk., 2018).

3.5 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini yaitu secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Deskriptif kualitatif yaitu identifikasi makroskopis, mikroskopis, uji katalase, dan uji tipe fermentasi. Deskriptif kuantitatif menyajikan data pertumbuhan bakteri asam laktat yang dianalisis dalam bentuk diagram menggunakan Microsoft excel. Uji pH dan uji total kadar asam yang diolah dengan program SPSS dengan uji *two-way* ANOVA, dengan pendekatan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor. Faktor pertama merupakan konsentrasi sari buah, dan faktor kedua merupakan lama fermentasi. Apabila hasil menunjukkan perbedaan nyata atau sangat nyata, maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

BAB IV HASIL & PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) pada konsentrasi 0%, 10%, dan 15%, serta lama fermentasi 0 hari, 2 hari, dan 3 hari terhadap nilai derajat keasaman (pH), total asam tertitrasi (TAT), total BAL, dan keanekaragaman BAL. Parameter-parameter tersebut digunakan untuk menilai kualitas yoghurt yang dihasilkan, kemudian hasilnya dibandingkan dengan SNI 2981:2009.

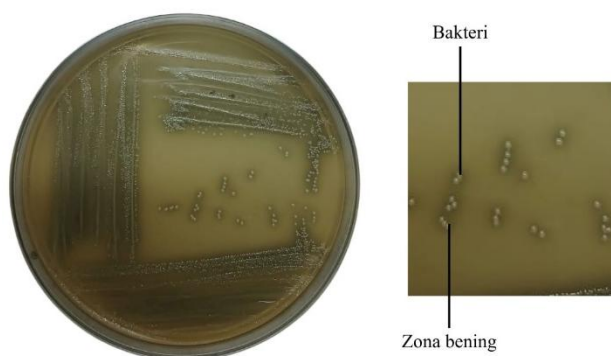
4.1 Pengaruh Penambahan Sari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan Lama Fermentasi terhadap Keanekaragaman BAL

4.1.1 Isolat BAL

Tahap awal identifikasi isolat bakteri diawali dengan karakterisasi morfologi makroskopis. Delapan belas isolat yang dihasilkan dari isolasi sampel yoghurt diamati berdasarkan ciri-ciri koloni secara makroskopis, bentuk, warna, tepi, elevasi, dan diameter koloni (Siagian *et al.*, 2024). Sementara itu, pengamatan mikroskopis dapat dilakukan dengan cara mengkultur koloni dengan zona bening dan diidentifikasi menggunakan pewarnaan Gram, pewarnaan endospora, uji katalase, serta uji tipe fermentasi (Amaliah *et al.*, 2018).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, hasil isolasi pada media MRS agar dan CaCO₃ diperoleh delapan belas isolat bakteri yang diambil dari sampel yoghurt berdasarkan zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri. Falakh *et al.* (2022) menyatakan bahwa media MRS agar yang ditambahkan dengan CaCO₃ digunakan untuk menyeleksi bakteri penghasil asam laktat. Zona bening yang terbentuk pada media, merupakan hasil reaksi antara asam organik yang diproduksi

oleh BAL dengan komponen dalam media, dan interaksi tersebut membentuk senyawa kalsium laktat ($C_6H_{10}CaO_6$) yang menyebabkan munculnya zona bening (Kurnia *et al.*, 2020). Berikut merupakan hasil isolasi bakteri dari sampel yoghurt yang menghasilkan zona bening.



Gambar 4.1 Isolat bakteri dari sampel yoghurt (Dokumentasi Pribadi, 2026).

Berdasarkan Tabel 4.1, terdapat dua puluh dua isolat, di antaranya 4 isolat kontrol positif dan delapan belas isolat sampel yoghurt. Morfologi koloni dari sampel yang telah diisolasi memiliki karakteristik yang serupa, namun berbeda ukuran. Isolat K⁺ (1), K⁺ (4), K0L0 (2), K1L0 (2), K2L0 (2), K0L1 (2), K1L1 (1), K2L1 (2), K0L2 (1), K1L2 (1), dan K2L2 (1) memiliki persamaan bentuk, tepi, dan elevasi, berwarna putih, dan berbeda ukuran. Sedangkan untuk isolat lainnya, K⁺ (2), K⁺ (3), K0L0 (1), K1L0 (1), K2L0 (1), K0L1 (1), K1L1 (2), K2L1 (1), K0L2 (2), K1L2 (2), dan K2L2 (2) memiliki persamaan bentuk, tepi, dan elevasi, berwarna krem, dan berbeda ukuran. Penelitian yang dilakukan oleh Karyawati *et al.* (2024) menyatakan bahwa hasil pengamatan makroskopis menunjukkan seluruh bakteri berbentuk sirkuler (bulat) dengan warna putih hingga kekuningan.

Tabel 4.1 Karakteristik morfologi dan hasil uji pada BAL

Isolat	Morfologi Koloni					Gram	Endospora	Katalase	Tipe Fermentasi	Genus
	Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi	Diameter (mm)					
K+ (1)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	2,0	<i>+/bacillus</i>	-	-	Homofermentatif	Lactobacillus
K+ (2)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,9	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K+ (3)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,8	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K+ (4)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	2,0	<i>+/bacillus</i>	-	-	Homofermentatif	Lactobacillus
K0L0 (1)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	2,0	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K0L0 (2)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,8	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K1L0 (1)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,9	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K1L0 (2)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,9	<i>+/bacillus</i>	-	-	Homofermentatif	Lactobacillus
K2L0 (1)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,7	<i>+/bacillus</i>	-	-	Homofermentatif	Lactobacillus
K2L0 (2)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	2,0	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K0L1 (1)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,8	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K0L1 (2)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,7	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K1L1 (1)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,5	<i>+/bacillus</i>	-	-	Homofermentatif	Lactobacillus
K1L1 (2)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,8	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K2L1 (1)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,9	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K2L1 (2)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	2,0	<i>+/bacillus</i>	-	-	Homofermentatif	Lactobacillus
K0L2 (1)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,7	<i>+/bacillus</i>	-	-	Homofermentatif	Lactobacillus
K0L2 (2)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	2,0	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K1L2 (1)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,9	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus
K1L2 (2)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,8	<i>+/bacillus</i>	-	-	Homofermentatif	Lactobacillus
K2L2 (1)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	2,0	<i>+/bacillus</i>	-	-	Homofermentatif	Lactobacillus
K2L2 (2)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	2,0	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif	Streptococcus

QS. Ali Imran [3]:190-192 menjelaskan bahwa:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِأُولَى الْأَلْبَابِ ۚ ۱۹۰ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۚ ۱۹۱ رَبَّنَا إِنَّكَ مَن تُدْخِلِ النَّارَ فَقَدْ أَخْرَجْتَهُ ۚ وَمَا لِلظَّالِمِينَ مِن أَنصَارٍ ۚ ۱۹۲

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi serta pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk atau dalam keadaan berbaring, dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), "Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka. Ya Tuhan kami, sesungguhnya orang yang Engkau masukkan ke dalam neraka, maka sungguh, Engkau telah menghinakannya, dan tidak ada seorang penolong pun bagi orang yang zalim."* (QS. Ali Imran [3]:190-192).

Tafsir Al-Mishbah jilid 02, Allah menguraikan sekelumit dari penciptaan-Nya itu serta memerintahkan agar memikirkannya, apalagi seperti dikemukakan pada awal uraian surah ini bahwa tujuan utama surah Al ‘Imran adalah membuktikan tentang Tauhid, keesaan dan kekuasaan Allah swt. Hukum-hukum alam yang melahirkan kebiasaan-kebiasaan, pada hakikatnya ditetapkan dan diatur oleh Allah Yang Maha Hidup lagi Qayyum (Maha Menguasai dan Maha Mengelola segala sesuatu). Hakikat ini kembali ditegaskan pada ayat ini dan ayat mendatang, dan salah satu bukti kebenaran hal tersebut adalah mengundang manusia untuk berpikir, karena sesungguhnya dalam penciptaan, yakni kejadian benda-benda angkasa seperti matahari, bulan dan jutaan gugusan bintang-bintang yang terdapat di langit atau dalam pengaturan sistem kerja langit yang sangat teliti serta kejadian perputaran bumi dan porosnya, yang melahirkan silih bergantinya malam dan siang, perbedaannya baik dalam masa maupun dalam panjang dan pendeknya. Terdapat tanda-tanda kemahakuasaan Allah bagi ulul albab, yakni orang-orang yang

memiliki akal yang murni. 'Kata al-albab adalah bentuk jamak dari lubb yaitu saripati sesuatu. Kacang, misalnya, memiliki kulit yang menutupi isinya. Isi kacang dinamai lubb. Ulul Albab adalah orang-orang yang memiliki akal yang murni, yang tidak diselubungi oleh “kulit”, yakni kabut ide, yang dapat melahirkan kerancuan dalam berpikir. Yang merenungkan tentang fenomena alam raya akan dapat sampai kepada bukti yang sangat nyata' tentang keesaan dan kekuasaan Allah swt.

Tafsir Al-Mishbah jilid 02, dalam ayat 191-192, dijelaskan bahwa Ulul Albab adalah orang-orang yang senantiasa mengingat Allah dalam setiap keadaan, baik ketika berdiri, duduk, maupun berbaring, serta merenungkan penciptaan langit dan bumi. Dari perenungan itu, mereka menyadari bahwa Allah menciptakan alam semesta dengan penuh hikmah dan tujuan, bukan secara sia-sia. Kesadaran tersebut membuat mereka memahami bahwa segala keburukan dan kekurangan berasal dari dosa manusia, sehingga mereka memohon perlindungan kepada Allah dari siksa neraka. Tafsir ini juga menegaskan bahwa keberadaan dan keesaan Allah dapat dikenali melalui alam semesta dan hati nurani manusia karena keyakinan kepada Allah merupakan fitrah yang melekat dalam diri setiap manusia. Selain itu, doa mereka agar dijauhkan dari neraka menunjukkan kedalaman pemahaman agama, ketulusan hati, serta besarnya harapan mereka agar mendapat rahmat dan perlindungan dari Allah SWT.

Tafsir Thabari jilid 6 menjelaskan bahwa Abu Ja'far berkata: Ayat tersebut merupakan bantahan dan argumentasi dari Allah SWT untuk orang yang mengatakan kata-kata tersebut, serta hujjat bagi semua makhluk-Nya, bahwa Dialah yang mengatur segalanya sesuai kehendak-Nya, dan kemampuan menjadikan kaya dan miskin ada di tangan-Nya. Dalam ayat 191-192, penciptaan langit dan bumi

serta pergantian malam dan siang merupakan tanda-tanda kebesaran Allah bagi orang-orang yang berakal, yaitu mereka yang senantiasa mengingat Allah dalam segala keadaan, baik berdiri, duduk, maupun berbaring. Melalui perenungan terhadap ciptaan-Nya, mereka menyadari bahwa hanya Allah yang memiliki kekuasaan mutlak atas seluruh alam semesta, mengatur kehidupan, memberi rezeki, memuliakan dan menghinakan, menghidupkan dan mematikan, serta menentukan kebahagiaan dan kesengsaraan manusia. Tafsir ini juga menjelaskan bahwa orang yang dimasukkan ke dalam neraka berarti telah dihinakan oleh Allah karena neraka merupakan bentuk kehinaan dan balasan atas perbuatan manusia di akhirat.

Ayat tersebut menegaskan bahwa penciptaan langit dan bumi adalah salah satu tanda tentang keberadaan, kekuasaan, dan kebijaksanaan Allah SWT. Pergantian siang dan malam (rotasi bumi) berhubungan dengan sains dan mengisyaratkan pentingnya ilmu pengetahuan. Arti dari *ulul albab* pada ayat tersebut adalah orang yang berakal yang dapat merasakannya, yang menghubungkan antara penciptaan langit dan bumi dengan sains, dan keseimbangan antara iman dan ilmu. Bakteri merupakan salah satu bukti keagungan Allah, yang menciptakan seluruh isi dunia dari yang terkecil hingga yang terbesar dengan fungsinya masing-masing.

4.1.2 Pewarnaan Gram

Salah satu pendekatan awal dalam karakterisasi morfologi bakteri secara mikroskopis adalah melalui uji pewarnaan Gram. Teknik ini telah lama dikenal sebagai metode pewarnaan diferensial yang paling fundamental dan paling luas diaplikasikan dalam mikrobiologi klinis maupun lingkungan (Li *et al.*, 2020). Pewarnaan Gram memungkinkan klasifikasi bakteri ke dalam dua kelompok utama

berdasarkan sifat fisis dan kimiawi dinding selnya, yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif (Li *et al.*, 2020). Prinsip dasar pewarnaan Gram sangat bergantung pada respons dinding sel bakteri terhadap rangkaian zat pewarna, terutama kristal violet dan safranin. Perbedaan ketebalan lapisan peptidoglikan serta kandungan lipid pada dinding sel menjadi faktor penentu retensi atau pelepasan kompleks kristal violet-iodin (Musthari *et al.*, 2019).

Bakteri Gram positif dengan peptidoglikan tebal dan kadar lipid rendah cenderung mempertahankan warna ungu, sementara bakteri Gram negatif kehilangan warna tersebut setelah pencucian dengan alkohol dan selanjutnya menyerap safranin sehingga tampak merah muda. Pewarna yang digunakan dalam prosedur pewarnaan Gram dapat bersifat basa (kationik) maupun asam (anionik) (Elsaadany *et al.*, 2024). Pewarna basa, seperti kristal violet dan metilen biru, mengandung gugus kromofor bermuatan positif sehingga mampu berikatan secara elektrostatik dengan komponen permukaan sel bakteri yang cenderung bermuatan negatif, seperti asam teikoat dan lipopolisakarida (Ong *et al.*, 2012). Sebaliknya, pewarna asam yang bermuatan negatif tidak dapat menembus atau mewarnai sel secara langsung karena terjadi tolakan elektrostatik dengan muatan negatif permukaan sel (Paray *et al.*, 2023).

Pengamatan morfologi isolat bakteri menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000× menunjukkan adanya variasi bentuk sel, yaitu bulat (*coccus*) pada sampel K+ (2), K+ (3), K0L0 (1), K0L0 (2), K1L0 (1), K2L0 (2), K0L1 (1), K0L1 (2), K1L1 (2), K2L1 (1), K0L2 (2), K1L2 (1), K2L2 (2) dan batang (*bacillus*) pada sampel K+ (1), K+ (4), K1L0 (2), K2L0 (1), K1L1 (1), K2L1 (2), K0L2 (1), K1L2 (2), K2L2 (1). Seluruh isolat memberikan hasil pewarnaan Gram positif yang

ditandai dengan warna ungu pada sel bakteri. Karakteristik morfologis ini mengindikasikan bahwa isolat tersebut termasuk dalam kelompok bakteri Gram positif. Paray *et al.* (2023) menyatakan jika, pewarnaan Gram merupakan metode diferensial yang membedakan bakteri berdasarkan struktur dinding selnya. Warna ungu yang muncul pada isolat mengonfirmasi bahwa bakteri tersebut tergolong Gram positif, berbeda dengan bakteri Gram negatif yang akan berwarna merah atau merah muda setelah pewarnaan tandingan dengan safranin. Bakteri Gram positif mempertahankan zat warna kristal violet selama proses dekolorisasi sehingga tampak berwarna ungu di bawah mikroskop.

Prinsip retensi warna ungu pada bakteri Gram positif berkaitan erat dengan komposisi dinding sel (Wilhelm *et al.*, 2015). Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal (20-80 nm), yang mencapai sekitar 90% dari total komponen dinding sel. Ketika dilakukan pencucian dengan alkohol (etanol) pada tahap dekolorisasi, dinding sel bakteri Gram positif mengalami dehidrasi akibat rendahnya kandungan lipid. Proses dehidrasi ini menyebabkan pori-pori dinding sel menyusut dan permeabilitasnya menurun secara signifikan, sehingga kompleks kristal violet-iodin yang telah terbentuk terperangkap di dalam lapisan peptidoglikan dan tidak dapat keluar dari sel (Frank, 2014). Kondisi ini berbeda dengan bakteri Gram negatif yang memiliki lapisan peptidoglikan tipis (2-7 nm) dan dilapisi oleh membran luar yang mengandung lipid dalam jumlah tinggi (Li *et al.*, 2020). Saat diberi perlakuan alkohol, lipid pada membran luar terlarut sehingga meningkatkan permeabilitas dinding sel dan menyebabkan kompleks kristal violet-iodin mudah tercuci. Paray *et al.* (2023) menunjukkan bahwa kristal violet tidak melintasi membran sitoplasmik bakteri, melainkan terperangkap secara kinetik di

dalam membran, sehingga mekanisme pewarnaan Gram lebih kompleks daripada pemahaman tradisional (Paray *et al.*, 2023)

4.1.3 Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora merupakan metode yang digunakan untuk karakterisasi serta deteksi keberadaan dan posisi endospora di dalam sel bakteri. Metode ini diperlukan karena endospora memiliki struktur yang sangat tahan terhadap kondisi lingkungan ekstrem, seperti suhu tinggi, radiasi, dan bahan kimia (Devinta & Zulaika, 2021). Struktur ketahanan ini disebabkan oleh lapisan keratin yang tebal pada dinding endospora, sehingga teknik pewarnaan konvensional seperti pewarnaan Gram tidak efektif untuk mewarnai endospore (Frank, 2014). Teknik pewarnaan endospora yang paling umum digunakan adalah metode Schaeffer-Fulton, yang memanfaatkan dua jenis zat pewarna khusus, yaitu *Malachite green* dan safranin. *Malachite green* berfungsi sebagai pewarna utama (*primary stain*) yang bertujuan untuk mewarnai endospora menjadi hijau, sedangkan safranin bertindak sebagai pewarna kontras (*counterstain*) yang mewarnai sel vegetatif menjadi merah atau merah muda (Santosa & Retnaningrum, 2020).

Malachite green dan safranin merupakan senyawa *triphenylmethane* yang juga banyak dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi biologi dan kimia. Pada proses pewarnaan ini, pemanasan (*steaming*) memegang peranan krusial sebagai *mordant* atau agen pemordan. Aplikasi panas bertujuan untuk memaksa *Malachite green* menembus lapisan endospora yang impermeabel (Karyawati *et al.*, 2024). Proses pemanasan menyebabkan pori-pori pada dinding endospora mengembang, sehingga zat warna dapat masuk dan

berikatan kuat dengan struktur internal endospora. Sebaliknya, sel-sel vegetatif tidak memerlukan pemanasan untuk menyerap zat warna karena dinding selnya lebih permeabel. Setelah proses pewarnaan utama, preparat dibilas dengan air suling (aquadess) yang berfungsi sebagai *decolorizer*. *Malachite green* bersifat larut dalam air (*water-soluble*). Zat warna ini akan mudah hilang dari sel vegetatif yang memiliki struktur dinding lebih sederhana, pada endospora, zat warna tetap terperangkap dan tidak dapat keluar bahkan setelah dibilas berulang kali (Kurnia *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis menggunakan metode pewarnaan endospora *Schaeffer-Fulton* pada isolat bakteri hasil fermentasi yoghurt, tidak ditemukan adanya struktur endospora. Pengamatan pada perbesaran 1000× hanya memperlihatkan sel-sel vegetatif yang terwarnai merah oleh safranin sebagai pewarna kontras. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat tersebut merupakan BAL yang tidak membentuk spora (non-sporulasi). Karakteristik tidak membentuk endospora merupakan salah satu ciri khas dari kelompok bakteri asam laktat. Penelitian yang dilakukan oleh Sugata *et al.* (2024) isolasi BAL dari susu sapi di Indonesia, seluruh isolat yang terkonfirmasi sebagai BAL menunjukkan hasil negatif pada uji pewarnaan endospora. Penelitian yang dilakukan oleh Sandi *et al.* (2018) dari silase *Hymenachne acutigluma* dan *Neptunia oleracea*, di mana sembilan isolat terpilih semuanya menunjukkan hasil negatif terhadap pembentukan endospora dan tergolong ke dalam spesies *Lactobacillus plantarum*. Tidak ditemukannya endospore pada seluruh isolat sampel yoghurt semakin memperkuat dugaan bahwa isolat tersebut termasuk ke dalam kelompok BAL.

4.1.4 Uji Katalase

Uji katalase merupakan salah satu uji biokimia dalam karakterisasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL). Pengujian ini bertujuan untuk mendeteksi kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase, yaitu enzim yang berperan dalam pemecahan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang bersifat toksik bagi sel (Sugata *et al.* 2024). Uji katalase menjadi pembeda yang penting karena bakteri asam laktat secara khas tidak menghasilkan enzim tersebut. Prosedur uji katalase dilakukan dengan meneteskan larutan hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan konsentrasi 3% pada koloni isolat bakteri yang telah ditumbuhkan pada media padat (Amanullah *et al.*, 2021). Aplikasi H_2O_2 dilakukan secara langsung pada permukaan koloni, dan hasil pengamatan segera dilakukan karena reaksi enzimatik berlangsung cepat. Penggunaan H_2O_2 3% telah menjadi konsentrasi standar yang paling umum digunakan dalam uji katalase untuk mengidentifikasi bakteri (Aini *et al.*, 2022).

Hasil uji katalase diinterpretasikan berdasarkan adanya atau tidaknya pembentukan gelembung gas pada permukaan isolat setelah penambahan H_2O_2 . Reaksi katalase yang melibatkan pemecahan hidrogen peroksida oleh enzim katalase mengikuti persamaan: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (Santosa & Retnaningrum, 2020). Pembentukan gelembung gas (O_2) yang segera muncul setelah penambahan H_2O_2 menunjukkan hasil positif, yang berarti bakteri tersebut memproduksi enzim katalase, dan tidak terbentuknya gelembung gas mengindikasikan hasil negatif, yang berarti bakteri tidak menghasilkan enzim katalase. Hasil negatif pada uji katalase merupakan salah satu karakteristik utama yang membedakan bakteri asam laktat dari kelompok bakteri lainnya (De Chiara *et al.*, 2025). Hasil serupa juga

ditemukan dalam penelitian BAL dari sampel yoghurt, seluruh isolat yang diperoleh menunjukkan karakteristik Gram positif dan katalase negatif.

Berdasarkan hasil pengamatan uji katalase yang dilakukan pada seluruh isolat bakteri asam laktat (BAL) sampel yoghurt, semua isolat menunjukkan karakteristik katalase negatif. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas setelah penambahan larutan hidrogen peroksida (H_2O_2) 3% pada permukaan koloni bakteri di atas objek kaca (Karyawati *et al.*, 2024). Hasil ini mengindikasikan bahwa isolat-isolat yang diuji tidak memiliki kemampuan untuk menguraikan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Karakteristik katalase negatif merupakan salah satu ciri utama yang membedakan bakteri asam laktat dari kelompok bakteri lainnya (Syahirah Azmi & Mohd Hashim, 2018). Secara umum, bakteri asam laktat diketahui tidak menghasilkan enzim katalase, sehingga termasuk dalam kelompok katalase negatif. Enzim katalase berfungsi untuk mencegah akumulasi hidrogen peroksida yang bersifat toksik bagi sel bakteri. Apabila hidrogen peroksida berhasil diuraikan oleh enzim katalase, maka akan terbentuk oksigen (O_2) yang juga dapat bersifat racun bagi sel dalam kadar berlebih (Syahirah Azmi & Mohd Hashim, 2018).

Ketidakmampuan bakteri asam laktat dalam menghasilkan enzim katalase berkaitan dengan karakteristik fisiologis BAL yang tergolong sebagai bakteri mikroaerofilik atau anaerob fakultatif (Syahirah Azmi & Mohd Hashim, 2018). Sebagian besar BAL dapat tumbuh sama baiknya di lingkungan dengan atau tanpa oksigen (tidak sensitif terhadap O_2), sehingga disebut juga sebagai anaerob aerotoleran. Bakteri asam laktat tidak memiliki porfirin dan sitokrom, serta tidak

melakukan fosforilasi transpor elektron sehingga hanya memperoleh energi dari fosforilasi substrat melalui metabolisme gula (Santosa & Retnaningrum, 2020).

4.1.5 Uji Tipe Fermentasi

Uji tipe fermentasi merupakan prosedur biokimia yang bertujuan untuk mengelompokkan bakteri asam laktat (BAL) ke dalam dua kategori utama berdasarkan pola metabolisme karbohidrat yang dijalankan, yaitu tipe homofermentatif dan heterofermentatif. Pengelompokan ini didasarkan pada perbedaan kemampuan BAL dalam menghasilkan produk akhir selama proses fermentasi glukosa atau gula lainnya (Syahirah Azmi & Mohd Hashim, 2018). Metode ini menjadi salah satu pengujian dalam karakterisasi dan identifikasi BAL karena berkaitan dengan peran metaboliknya dalam berbagai fermentasi pangan. Perbedaan mendasar antara kedua tipe fermentasi ini terletak pada produk akhir yang dihasilkan dari metabolisme glukosa (Surak *et al.*, 2024). Bakteri asam laktat homofermentatif memfermentasi satu mol glukosa menjadi dua mol asam laktat melalui jalur glikolisis (Embden-Meyerhof-Parnas), dengan menghasilkan energi bersih sebanyak 2 ATP per mol glukosa yang dimetabolisme dan bakteri asam laktat heterofermentatif memfermentasi satu mol glukosa menjadi satu mol asam laktat, satu mol etanol (atau asam asetat), dan satu mol karbon dioksida (CO_2) melalui jalur fosfoketolase, dengan hasil energi yang lebih rendah yaitu 1 ATP per mol glukosa (Huligere *et al.*, 2023). Perbedaan ini menyebabkan BAL heterofermentatif umumnya tumbuh lebih lambat dan menghasilkan koloni yang lebih kecil dibandingkan BAL homofermentatif (Elsaadany *et al.*, 2024).

Keberadaan gas karbon dioksida (CO_2) merupakan indikator utama yang membedakan kedua tipe fermentasi tersebut. Pada BAL homofermentatif,

fermentasi tidak menghasilkan gas CO₂ karena seluruh karbon dari glukosa dikonversi menjadi asam laktat, dan pada BAL heterofermentatif, produksi CO₂ merupakan produk sampingan yang selalu dihasilkan selama proses fermentasi (Sandi *et al.*, 2018). Deteksi gas ini dapat dilakukan dengan beberapa metode, antara lain uji menggunakan tabung durham (untuk menangkap gelembung gas dalam medium cair). Prosedur uji tipe fermentasi umumnya dilakukan dengan menumbuhkan isolat BAL dalam medium cair yang mengandung karbohidrat bersama dengan indikator pH seperti bromocresol green (Winatha *et al.*, 2022). Setelah inkubasi selama 1-2 hari pada suhu optimal (30-37°C), pengamatan dilakukan terhadap perubahan warna medium (yang mengindikasikan produksi asam) dan pembentukan gelembung gas (yang mengindikasikan produksi CO₂) (Karyawati *et al.*, 2024). Uji hot-loop merupakan metode sederhana yang efektif untuk mendeteksi CO₂ terlarut dalam medium—sebuah ose yang dipanaskan hingga merah dimasukkan ke dalam kultur, dan jika terbentuk gelembung gas di sekitar ose, maka isolat tersebut tergolong heterofermentatif (ose panas ke dalam kultur), atau pengamatan langsung pada media cair (Aýun *et al.*, 2023).

Berdasarkan hasil uji tipe fermentasi yang dilakukan terhadap isolat bakteri sampel yoghurt, seluruh isolat menunjukkan tidak adanya pembentukan gelembung gas pada tabung Durham. Hasil negatif terhadap produksi gas karbon dioksida (CO₂) ini mengindikasikan bahwa isolat tersebut termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat homofermentatif. Penentuan ini didasarkan pada prosedur standar uji fermentasi menggunakan media glukosa broth dengan indikator pH serta tabung Durham untuk mendeteksi gas yang dihasilkan selama proses fermentasi (Bansal *et al.*, 2013). Ciri khas dari bakteri asam laktat yang tergolong homofermentatif adalah

kemampuannya memproduksi asam laktat sebagai produk utama dari proses metabolisme gula (glukosa). Tipe fermentasi homofermentatif, satu mol glukosa dikonversi menjadi dua mol asam laktat melalui jalur glikolisis Embden-Meyerhof-Parnas (EMP), dengan menghasilkan energi bersih sebanyak 2 ATP per mol glukosa yang dimetabolisme (Ong *et al.*, 2012).

Bakteri asam laktat homofermentatif tidak mampu menghasilkan gas CO₂ karena ketiadaan enzim piruvat dekarboksilase (*pyruvate decarboxylase*) yang berperan dalam mengubah piruvat menjadi asetaldehida dan CO₂ (Finanda *et al.*, 2021). Pada bakteri heterofermentatif, enzim ini terdapat dan menyebabkan terbentuknya CO₂ sebagai produk sampingan fermentasi, dan pada jalur homofermentatif, piruvat langsung direduksi menjadi laktat oleh enzim laktat dehidrogenase (LDH) tanpa melalui tahap dekarboksilasi. Beberapa bakteri homofermentatif seperti *Lactobacillus plantarum* memiliki enzim piruvat oksidase (*pyruvate oxidase*) yang dapat diinduksi pada kondisi aerobik (Finanda *et al.*, 2021). Enzim ini mengkatalisis reaksi: $\text{piruvat} + \text{Pi} + \text{O}_2 \rightarrow \text{asetil fosfat} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$. Namun, aktivitas enzim ini tertekan (*repressed*) pada saat glukosa masih tersedia dalam medium dan meningkat ketika konsentrasi glukosa menipis, sehingga pada fase pertumbuhan eksponensial dengan ketersediaan gula yang cukup, produksi asam laktat tetap mendominasi tanpa disertai pembentukan gas CO₂ yang terdeteksi (Hendarto *et al.*, 2019).

Berdasarkan hasil penelitian dan pengamatan yang telah dilakukan, diperoleh delapan belas isolat sampel yoghurt dan empat isolat sebagai kontrol positif yang menunjukkan ciri-ciri bakteri asam laktat, sehingga dapat diidentifikasi hingga tingkat genus. Seluruh isolat memiliki karakteristik berupa bentuk

makroskopis bulat, gram positif, tidak membentuk spora, homofermentatif, dan negatif uji katalase. Isolat dengan kode K+ (1), K+ (4), K1L0 (2), K2L0 (1), K1L1 (1), K2L1 (2), K0L2 (1), K1L2 (2), dan K2L2 (1) diduga termasuk ke dalam genus *Lactobacillus*. Hal ini sesuai dengan penelitian yang menyatakan bahwa genus *Lactobacillus* berbentuk batang (*bacillus*) dengan ukuran sel berbeda pada setiap spesies, dan dapat ditemukan sebagai sel tunggal atau berantai pendek. Bakteri genus *Lactobacillus* tergolong Gram positif, yang ditandai dengan kemampuannya mempertahankan pewarna kristal violet karena memiliki lapisan peptidoglikan dinding sel yang tebal dibandingkan dengan Gram negatif, non-motil, dan tidak membentuk endospora. Bakteri homofermentatif memfermentasi glukosa melalui jalur glikolisis *Embden-Meyerhof-Parnas* (EMP) menghasilkan dua mol asam laktat per mol glukosa. Sebaliknya, bakteri heterofermentatif menggunakan jalur fosfoketolase yang menghasilkan asam laktat, karbon dioksida (CO₂), dan etanol atau asam asetat sebagai produk akhir. Genus *Lactobacillus* umumnya bersifat mikroaerofilik hingga anaerob fakultatif aerotoleran, yang berarti dapat tumbuh di lingkungan dengan oksigen terbatas atau tanpa oksigen. Kemampuan bertahan dalam kondisi aerobik ini bergantung pada keberadaan ion mangan (Mn²⁺) yang berperan dalam menetralkan spesies oksigen reaktif. Beberapa spesies dapat bernapas (*respire*) jika tersedia hemin dan menaquinone dalam media pertumbuhan dan sebagian besar *Lactobacillus* tidak memerlukan zat besi (Fe) untuk pertumbuhannya.

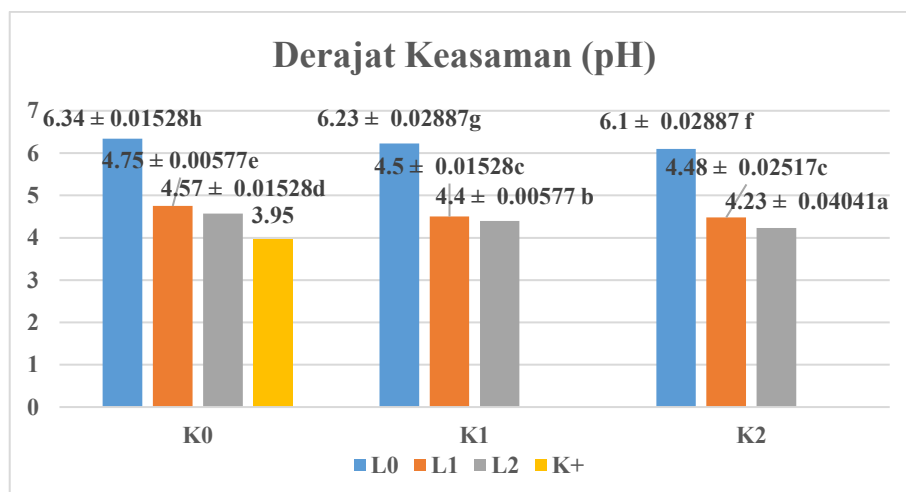
Isolat lainnya dengan kode K+ (2), K+ (3), K0L0 (1), K0L0 (2), K1L0 (1), K2L0 (2), K0L1 (1), K0L1 (2), K1L1 (2), K2L1 (1), K0L2 (2), K1L2 (1), dan K2L2 (2) diduga termasuk ke dalam genus *Streptococcus*. Genus *Streptococcus* berbentuk

bulat (kokus) hingga ovoid, dengan susunan sel yang berpasangan hingga membentuk rantai pendek hingga panjang, termasuk Gram positif, non-motil, tidak membentuk endospora, dan negatif terhadap katalase. *Streptococcus* spp. Tergolong dalam kelompok bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif obligat, yang dikenal sebagai homolactic fermentation, melibatkan metabolisme gula (seperti glukosa) melalui jalur glikolisis Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) menjadi piruvat, yang selanjutnya direduksi menjadi laktat tanpa menghasilkan produk sampingan berupa gas karbon dioksida. Seluruh sampel memiliki keanekaragaman bal yang serupa, yaitu bal genus *Streptococcus* dan *Lactobacillus*, kecuali pada sampel K0L0 dan K1L1 hanya terdapat bal genus *Streptococcus*.

4.2 Pengaruh Penambahan Sari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan Lama Fermentasi terhadap Kualitas Yoghurt

4.2.1 Nilai pH

Nilai derajat keasaman (pH) merupakan salah satu indikator penting dalam keberhasilan produk fermentasi. Nilai pH yang tidak optimum dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri, sehingga bakteri tidak tumbuh dengan baik (Malau *et al.*, 2022). Hal ini terjadi karena setiap bakteri memiliki kisaran pH optimal untuk aktivitas enzimnya. Jika pH terlalu asam atau terlalu basa, enzim-enzim yang berperan dalam metabolisme bakteri akan terdenaturasi, sehingga menghambat pembelahan sel, bahkan menyebabkan kematian sel bakteri. Kondisi ini pada akhirnya menurunkan efisiensi fermentasi dan menurunkan kualitas produk akhir.



Gambar 4.2 Hasil uji pH dengan variasi konsentrasi dan lama fermentasi

Berdasarkan Gambar 4.1, diperoleh bahwa nilai pH cenderung menurun seiring dengan lamanya waktu fermentasi dan meningkatnya variasi konsentrasi sari buah naga merah yang ditambahkan. Nilai pH pada sampel kontrol positif sebesar 3,95, sedangkan nilai pH tertinggi berada pada variasi konsentrasi sari buah naga merah 15% dengan lama fermentasi 3 hari sebesar 4,23 dan nilai terendah berada pada variasi konsentrasi sari buah naga merah 0% dan lama fermentasi 0 hari. Terdapat beberapa sampel yang nilai pH-nya tidak memenuhi SNI 2981:2009, di mana nilainya melebihi 4,5 dari standar yang telah ditetapkan, di antaranya sampel dengan variasi lama fermentasi 0 hari dan konsentrasi 0%, 10%, dan 15% serta variasi konsentrasi 0% dengan lama fermentasi 2 hari. Penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan aktivitas metabolik bakteri asam laktat selama fermentasi mampu menurunkan nilai pH pada yoghurt. BAL menghasilkan berbagai macam asam organik (asam laktat, asam sitrat, dan asam asetat). Akumulasi asam-asam organik tersebut menciptakan kondisi yang semakin asam.

Hasil analisis statistik uji normalitas dan homogenitas (Lampiran 3) menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan data homogen, yaitu nilai

signifikansi di atas 0,05 ($\text{Sig} > 0,05$). Data nilai derajat keasaman (pH) yang terdistribusi normal dan homogen dapat dilanjutkan dengan uji statistik *two-way* anova. Hasil uji statistik *two-way* anova dan dilanjutkan dengan uji Duncan menunjukkan bahwa penambahan variasi konsentrasi sari buah naga merah memiliki nilai probabilitas (sig.) sebesar 0,000 yang menunjukkan nilai lebih kecil dari alpha 0,05 dengan hasil uji F ialah nilai $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$ ($349,553 > 3,40$). Hal ini menunjukkan bahwa, pada variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) menghasilkan perbedaan nyata terhadap nilai pH. Nilai pada variasi lama fermentasi, hasil nilai probabilitas (sig.) sebesar 0,000 yang menunjukkan nilai lebih kecil dari alpha 0,05 dengan hasil uji F ialah nilai $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$ ($17427,255 > 3,40$). Hal ini menunjukkan bahwa, pada variasi lama fermentasi memberikan hasil berbeda nyata terhadap nilai pH.

Nilai probabilitas (sig.) interaksi antara variasi konsentrasi sari buah naga merah dengan lama fermentasi sebesar 0,000 yang menunjukkan nilai lebih kecil dari nilai alpha 0,05 dengan nilai $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$ ($12,628 > 3,40$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat interaksi yang signifikan antara variasi konsentrasi sari buah naga merah dan lama fermentasi dalam memengaruhi nilai pH. Hasil uji statistik *two-way* anova menunjukkan bahwa variasi konsentrasi sari buah naga merah dengan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap nilai pH ($p < 0,05$), di mana penambahan sari buah naga merah secara signifikan menurunkan nilai pH dan meningkatkan aktivitas antioksidan serta total fenolik. Sedangkan lama fermentasi dapat mengatur aktivitas metabolik bakteri starter, sehingga peningkatan penambahan sari buah naga merah dan durasi fermentasi berbanding lurus dengan penurunan nilai pH untuk keberhasilan fermentasi yoghurt.

Penelitian yang dilakukan oleh Subagiyo *et al.* (2015) menyatakan bahwa bakteri asam laktat dapat tumbuh pada pH 4–6 dengan pertumbuhan paling banyak pada pH 4. Sedangkan, pada penelitian Adamberg *et al.* (2003) memberikan hasil bahwa bakteri *S. thermophilus* dapat tumbuh pada pH maksimal 5.5, *L. bulgaricus* pada pH 5.0, dan *L. acidophilus* pada pH 5.3. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Hendarto *et al.* (2019) *L. bulgaricus* optimal pada pH 5,8 dengan suhu 44°C, sedangkan *S. thermophilus* tumbuh pada pH 6,5 dengan suhu 40°C. Menurut SNI 2981:2009, yoghurt memenuhi persyaratan mutu apabila memiliki pH 4,0-4,5 (Fatmala *et al.*, 2023).

Penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi selama 2 dan 3 hari mampu menghasilkan produk dengan kondisi yang lebih asam dibandingkan dengan sampel dengan variasi lama fermentasi 0 hari dan konsentrasi 0%, 10%, dan 15% serta variasi konsentrasi 0% dengan lama fermentasi 2 hari. Asam organik yang terbentuk selama proses fermentasi mengalami disosiasi menjadi ion H^+ (Malau *et al.*, 2022). Semakin banyaknya bakteri asam laktat, semakin tinggi konsentrasi metabolit hasil fermentasi yang terdisosiasi menjadi ion H^+ , terutama asam laktat, yang mengakibatkan nilai pH semakin menurun. Nilai pH yang terukur mencerminkan konsentrasi ion H^+ bebas dalam larutan yang menyebabkan elektroda pH meter memberikan hasil yang lebih rendah selama pengukuran seiring dengan meningkatnya keasaman tersebut (Amalia Putri *et al.*, 2024).

Nilai pH tertinggi tidak ditemukan pada variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) 0%, melainkan pada perlakuan konsentrasi 15% dengan variasi lama fermentasi 3 hari. Sampel menunjukkan bahwa pada kondisi

tersebut mekanisme fermentasi berlangsung secara optimal. Secara teoritis, penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) pada yoghurt dapat menurunkan pH dengan interaksi asam organik serta aktivitas BAL. Data hasil uji pH memberikan nilai yang bervariasi, dengan nilai pH yang paling rendah mengindikasikan tingginya akumulasi ion H^+ (Nurdini *et al.*, 2023). Konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang terlalu rendah, kurangnya waktu fermentasi, atau kondisi lingkungan yang kurang mendukung pertumbuhan BAL, senyawa bioaktif dalam buah naga merah (betasianin, polifenol, dan vitamin C) yang berperan dalam pengasaman alami dapat bersifat pro-asam yang mempercepat pelepasan ion H^+ dari metabolit fermentasi secara tidak terkendali atau menghambat sistem buffer alami susu.

Nilai pH di bawah 4,0 menunjukkan tanda overfermentasi yang menghasilkan rasa terlalu tajam (*overacid*), sedangkan nilai pH di atas 4,6 menunjukkan bahwa fermentasi tidak optimal. Kedua hal tersebut dapat memengaruhi rasa, viskositas, aroma, dan daya simpan produk. Nilai pH pada yoghurt dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah penggunaan starter bakteri, lama fermentasi, penggunaan bahan tambahan, suhu fermentasi, serta kandungan laktosa dalam susu (Adiputra *et al.*, 2022).

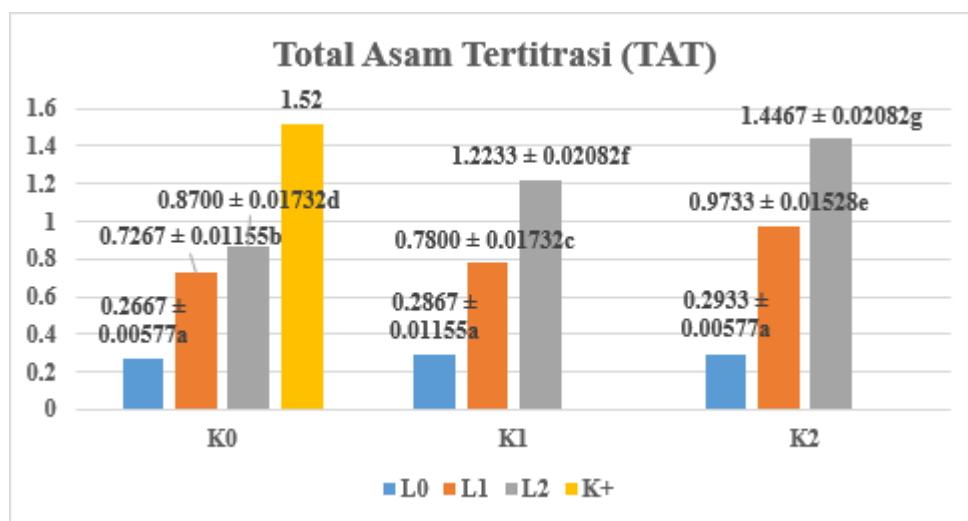
Penelitian yang dilakukan oleh Vera-Peña & Rodriguez (2020) menyatakan bahwa jika efek pro-asam terjadi karena radikal atau senyawa antara hasil metabolisme yang tidak segera distabilkan, akan tetap reaktif dan dapat memicu degradasi laktosa atau protein, yang menghasilkan peningkatan konsentrasi asam laktat, asam asetat, dan asam organik yang memberikan hasil penurunan pada uji pH. Efektivitas penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dalam

mengatur keasaman yoghurt dipengaruhi oleh konsentrasi dan kondisi sistem fermentasi. Jika konsentrasi tidak seimbang dengan aktivitas BAL, dapat menimbulkan efek pro-asam, sehingga nilai uji pH dapat lebih rendah dibandingkan dengan yoghurt tanpa penambahan sari buah naga merah. Oleh karena itu, yoghurt yang difermentasi dengan waktu lebih lama dan suhu lebih tinggi cenderung menghasilkan pH yang lebih rendah.

4.2.2 Total Asam Titrasi

Total asam tertitrasi (TAT) merupakan indikator penting dalam penilaian mutu yoghurt, karena nilai TAT menunjukkan konsentrasi total asam organik yang terkandung di dalam sampel (Arkan *et al.*, 2021). Asam organik, terutama asam laktat, terbentuk dari proses fermentasi laktosa oleh bakteri asam laktat, ketika laktosa diurai menjadi asam laktat sebagai metabolit utama. Nilai total asam

tertitrasi dinyatakan sebagai persentase asam laktat (% b/b) yang dihasilkan selama fermentasi (Adiputra *et al.*, 2022).



Gambar 4.3 Hasil uji kadar asam dengan variasi konsentrasi dan lama fermentasi

Berdasarkan Gambar 4.3, diperoleh nilai TAT yang cenderung meningkat seiring dengan lamanya waktu fermentasi dan meningkatnya variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang ditambahkan. Nilai TAT pada sampel kontrol positif sebesar 1,52% (b/b). Nilai TAT tertinggi terdapat pada variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) 15% dengan lama fermentasi 3 hari, yaitu sebesar 1,44% (b/b), sedangkan nilai TAT terendah terdapat pada sampel dengan variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) 0% dan lama fermentasi 0 hari sebesar 0,266% (b/b).

Hasil analisis statistik uji normalitas dan homogenitas (Lampiran 3) menunjukkan bahwa data terdistribusi normal dan data homogen, yaitu nilai signifikansi di atas 0,05 (Sig > 0,05). Data nilai TAT yang terdistribusi normal dan homogen dapat dilanjutkan dengan uji Duncan, dan hasilnya menunjukkan bahwa penambahan variasi konsentrasi 0%, 10%, dan 15% sari buah naga merah

(*Hylocereus polyrhizus*) memiliki nilai probabilitas (sig.) sebesar 0,000 yang menunjukkan nilai lebih kecil dari alpha 0,05 dengan hasil uji F ialah nilai F hitung > F tabel ($799,492 > 3,40$). Hal ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) menghasilkan perbedaan nyata terhadap nilai TAT. Nilai pada variasi lama fermentasi, hasil nilai lebih kecil dari alpha 0,05 dengan hasil uji F ialah nilai F hitung > F tabel ($8148,262 > 3,40$). Hal ini menunjukkan bahwa nilai variasi lama fermentasi 0 hari, 2 hari, dan 3 hari memberikan hasil berbeda nyata terhadap nilai TAT.

Nilai probabilitas (sig.) interaksi antara variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan lama fermentasi sebesar 0,000 yang menunjukkan nilai lebih kecil dari alpha 0,05 dengan nilai Fhitung > Ftabel ($274,689 > 3,40$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat interaksi yang signifikan antara variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi dalam memengaruhi nilai TAT. Hasil uji statistik *two-way* ANOVA menunjukkan bahwa variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap nilai TAT ($p < 0,05$), di mana penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) secara signifikan meningkatkan populasi bakteri asam laktat, yang mempercepat proses perombakan laktosa dan produksi asam laktat. Seiring dengan peningkatan konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), terjadi peningkatan kadar asam dalam yoghurt. Kadar asam tersebut merupakan kinerja aktivitas bakteri asam laktat yang dipengaruhi oleh perlakuan penambahan buah. Buah naga merah berperan sebagai media bagi starter bakteri asam laktat yoghurt, karena memiliki karakteristik sebagai prebiotik (Kasmiyetti, *et al.*, 2022). Sedangkan lama

fermentasi dapat mengatur aktivitas metabolik bakteri starter, sehingga penambahan sari buah naga merah dan lama fermentasi berbanding lurus dengan peningkatan nilai TAT.

Menurut SNI 2981:2009, yoghurt memenuhi persyaratan mutu apabila memiliki kadar asam total yang dihitung sebagai asam laktat 0,5-2,0% (b/b). Semakin tinggi nilai TAT, semakin asam rasa yoghurt, yang dalam batas tertentu masih dapat diterima, namun jika melebihi standar dapat menyebabkan rasa terlalu asam dan menurunkan kualitas produk.

Terdapat beberapa sampel pada pengujian TAT belum memenuhi standar yang telah ditetapkan oleh SNI 2981:2009, dengan nilai minimum kadar asam sebesar 0,5% dan maksimum 2,0% (b/b) sebagai asam laktat. Beberapa sampel dengan nilai TAT yang tidak memenuhi SNI 2981:2009 dengan nilai TAT di bawah 0,5%, antara lain sampel dengan variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) 0%, 10%, dan 15% dan lama fermentasi 0 hari. Nilai TAT yang rendah pada sampel-sampel tersebut menunjukkan bahwa produksi asam organik belum cukup untuk menciptakan kondisi asam yang diperlukan bagi pembentukan yoghurt yang berkualitas. Penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang berinteraksi dengan aktivitas metabolik BAL selama fermentasi mampu meningkatkan nilai TAT pada yoghurt.

Nilai TAT pada yoghurt dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, di antaranya adalah penggunaan starter bakteri, lama fermentasi, penggunaan bahan tambahan, suhu fermentasi, serta kandungan laktosa dalam susu (Fatmala *et al.*, 2023b). Suhu dan lama fermentasi sangat berperan pada besaran nilai TAT, karena BAL residual masih dapat menghasilkan asam laktat secara lambat (*post-*

acidification), yang menyebabkan peningkatan kadar asam selama penyimpanan. Sehingga, yoghurt yang difermentasi pada suhu yang terlalu tinggi atau pada suhu ruang dengan waktu yang terlalu lama cenderung menunjukkan nilai TAT yang lebih tinggi akibat aktivitas metabolik BAL (Situmorang *et al.*, 2025).

Nilai TAT tertinggi terdapat pada perlakuan dengan variasi konsentrasi 15% dengan lama fermentasi 3 hari, yang menunjukkan bahwa pada kondisi tersebut mekanisme produksi asam organik oleh BAL berlangsung secara optimal dengan hasil akhir asam laktat. Penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dalam pembuatan yoghurt berperan dalam menyediakan substrat tambahan bagi pertumbuhan BAL. Kandungan gula sederhana dalam sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dapat dimetabolisme oleh BAL menjadi asam organik, terutama asam laktat melalui jalur glikolisis. Data hasil uji kadar asam menunjukkan semakin tinggi konsentrasi sari buah naga merah yang ditambahkan dalam yoghurt, semakin tersedia substrat bagi BAL untuk menghasilkan asam laktat dengan meningkatnya nilai TAT seiring dengan peningkatan konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Variasi konsentrasi sari buah yang terlalu rendah dan fermentasi yang kurang optimal, produksi asam laktat tidak berlangsung secara maksimal. Kondisi ini terjadi karena rendahnya ketersediaan nutrisi bagi BAL untuk memproduksi asam laktat dalam jumlah yang signifikan.

Sampel dengan konsentrasi sari buah menunjukkan nilai TAT yang meningkat secara konsisten seiring dengan bertambahnya lama fermentasi. Pada perlakuan konsentrasi 15% dengan lama fermentasi 3 hari, nilai TAT menunjukkan angka tertinggi ($1,4467 \pm 0,02082$), yang menandakan bahwa akumulasi asam laktat mencapai kondisi optimal. Nilai TAT yang terlalu tinggi (di atas 2,0%) dapat

menyebabkan rasa yoghurt menjadi terlalu asam dan berpotensi menurunkan viabilitas BAL selama penyimpanan. Sutrisna *et al.* (2015) menyatakan bahwa kondisi lingkungan yang terlalu asam dapat menghambat pertumbuhan BAL, yang pada akhirnya akan menurunkan produksi asam laktat (Frilanda *et al.*, 2022).

Berdasarkan data hasil uji kadar asam, lama waktu fermentasi berpengaruh signifikan terhadap peningkatan nilai TAT pada yoghurt. Peningkatan variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang ditambahkan pada yoghurt, nilai TAT menunjukkan peningkatan seiring dengan bertambahnya lama fermentasi. Secara teoritis, peningkatan nilai kadar asam seiring lama fermentasi disebabkan oleh aktivitas metabolik BAL, terutama *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*, yang terus memetabolisme laktosa menjadi asam laktat selama proses fermentasi berlangsung. Dunggio *et al.* (2022) menyatakan bahwa setelah 6 jam fermentasi, terjadi penurunan pH yang cepat (asidifikasi) yang diikuti oleh peningkatan akumulasi asam laktat secara progresif. Dengan demikian, efektivitas penambahan sari buah naga merah dalam meningkatkan total asam tertitrasi pada yoghurt sangat dipengaruhi oleh konsentrasi sari buah dan lama fermentasi, di mana konsentrasi yang terlalu rendah menyebabkan produksi asam belum optimal, sementara konsentrasi yang tinggi dengan waktu fermentasi yang tepat menghasilkan nilai TAT yang maksimal (Siregar *et al.*, 2023).

4.2.3 Total Bakteri Asam Laktat

Total bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu parameter mikrobiologis yang digunakan untuk menilai keberhasilan proses fermentasi, dengan jumlah sel hidup yang berperan dalam pembentukan asam laktat dan

senyawa metabolit lain (Nugroho *et al.*, 2023). Berdasarkan data hasil uji total BAL, lama fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan total BAL pada yoghurt. Peningkatan variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang ditambahkan dalam yoghurt menunjukkan peningkatan seiring dengan lamanya durasi fermentasi. Secara teoritis, peningkatan total BAL selama fermentasi terjadi karena ketersediaan karbohidrat yang berperan sebagai substrat yang dimanfaatkan oleh kultur bakteri untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel, sekaligus membantu proses penguraian laktosa secara tidak langsung melalui peningkatan aktivitas metabolik starter.

Tabel 4.2 Hasil uji total BAL dengan variasi konsentrasi dan lama fermentasi

Sampel	Total Bakteri Asam Laktat (BAL)
K+	$4,3 \times 10^9$
K0L0	$2,4 \times 10^7$
K0L1	$2,7 \times 10^7$
K0L2	3×10^7
K1L0	$4,9 \times 10^8$
K1L1	$3,4 \times 10^9$
K1L2	$3,9 \times 10^9$
K2L0	$3,1 \times 10^8$
K2L1	4×10^9
K2L2	$4,3 \times 10^9$

Data hasil penelitian total bakteri asam laktat (BAL) yang tertera pada Tabel 4.2 menunjukkan peningkatan seiring bertambahnya variasi konsentrasi buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi. Total BAL pada sampel kontrol positif sebesar $4,3 \times 10^9$ CFU/mL. Total BAL tertinggi terdapat pada variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) 15% dan lama fermentasi 3 hari, yaitu sebesar $4,3 \times 10^9$ CFU/mL, sedangkan total BAL terendah terdapat pada sampel dengan variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) 0% dan lama fermentasi 0 hari sebesar $2,4 \times 10^7$ CFU/mL.

Berdasarkan SNI 2981:2009, produk yoghurt yang memenuhi standar mutu harus memiliki total BAL minimal sebesar 10^7 CFU/mL dengan tujuan untuk mengimbangi kemungkinan penurunan jumlah bakteri probiotik pada saat berada dalam jalur pencernaan. Jumlah tersebut menunjukkan jika populasi BAL berada pada tingkat yang cukup untuk memberikan efek probiotik serta menjaga kestabilan produk selama penyimpanan. Jumlah tersebut dipengaruhi oleh berbagai faktor, di antaranya adalah jenis dan konsentrasi starter, komposisi substrat, suhu dan waktu fermentasi, adanya bahan tambahan, serta kondisi lingkungan selama inkubasi.

Semua sampel pada pengujian total BAL sudah memenuhi standar yang telah ditetapkan oleh SNI 2981:2009, dengan minimum total bakteri asam laktat 10^7 CFU/mL. Nilai sampel minimum berada pada variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) 0%, 10%, dan 15% dengan lama fermentasi masing-masing sampel 0 hari. Hal tersebut dikarenakan pada konsentrasi 0% dengan lama fermentasi 0 hari, kondisi tersebut belum terjadi proses fermentasi yang optimal dan starter bakteri masih dalam tahap adaptasi, sehingga belum menunjukkan peningkatan populasi BAL yang signifikan. Sampel tanpa penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) tidak tersedia senyawa prebiotik untuk merangsang pertumbuhan BAL, sehingga bakteri starter hanya mengandalkan laktosa dalam susu sebagai sumber nutrisi (Zulaikhah, 2021). Tidak adanya interaksi antara penambahan sari buah dan lama fermentasi yang sangat singkat menyebabkan aktivitas metabolik BAL belum berlangsung secara maksimal, sehingga produksi BAL berada di titik minimum dibandingkan dengan sampel yang terdapat penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan lama fermentasi yang lebih lama (Kasmiyetti *et al.*, 2022).

Total BAL tertinggi berada pada sampel dengan variasi konsentrasi sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) 15% dan lama fermentasi 3 hari, yang menunjukkan bahwa pada sampel dengan penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terdapat tambahan komponen karbohidrat yang berperan penting dalam memacu pertumbuhan BAL selama proses fermentasi. Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) mengandung gula-gula sederhana, terutama glukosa dan fruktosa, serta oligosakarida yang dapat dimetabolisme oleh BAL melalui jalur glikolisis untuk menghasilkan energi lebih cepat (Aryanta, 2022). Hasil penelitian Frilanda *et al.* (2022) menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) hingga 15% menghasilkan total BAL sebesar $9,52 \times 10^8$ CFU/mL.

Kualitas dan keberhasilan fermentasi yoghurt ditentukan oleh beberapa faktor, di antaranya kualitas susu, suhu fermentasi, lama fermentasi, bahan tambahan, serta jenis dan konsentrasi kultur starter yang digunakan (Dahlan *et al.*, 2024). Suhu penyimpanan dan jenis susu sebagai bahan dasar sangat berpengaruh, dan lama inkubasi berpengaruh terhadap penurunan nilai pH dan peningkatan kadar asam, sedangkan variasi jenis starter serta perbandingan antara starter dapat mempengaruhi gula dan asam laktat selama proses fermentasi (Dahlan *et al.*, 2024). Penelitian yang dilakukan oleh (Frilanda *et al.*, 2022) memberikan hasil bahwa variasi penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) menunjukkan perbedaan nyata dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Peningkatan total BAL dikarenakan starter yang digunakan memerlukan substitusi energi dalam mengonversi laktosa pada susu menjadi asam laktat. Karbohidrat yang terkandung dalam buah naga dapat

membantu proses penguraian laktosa oleh starter dengan senyawa karbohidrat yang berkontribusi dalam mempercepat proses pertumbuhan bakteri asam laktat (Saritas *et al.*, 2024).

Allah menciptakan alam semesta beserta seluruh isinya sebagai wujud rahmat demi kemaslahatan umat manusia. Oleh karena itu, manusia diberi hak untuk memanfaatkan kekayaan alam secara optimal dalam upaya meningkatkan kesejahteraan hidupnya, sekaligus sebagai bentuk ungkapan syukur atas nikmat yang telah dianugerahkan oleh Allah SWT. Seperti yang telah difirmankan oleh Allah SWT dalam QS. Al-Baqarah [2]: 29 yang berbunyi:

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَّا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ اسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَوَاتٍ ۗ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ۝

Artinya: “Dialah (Allah) yang menciptakan segala yang ada di bumi untukmu, kemudian Dia menuju ke langit, lalu Dia menyempurnakannya menjadi tujuh langit. Dia Maha Mengetahui segala sesuatu.” (QS. Al-Baqarah [2]:29).

Tafsir Al-Mishbah jilid 2 menerangkan bahwa dipahami oleh banyak ulama menunjukkan bahwa pada dasarnya segala apa yang terbentang di bumi ini dapat digunakan oleh manusia, kecuali jika ada dalil lain yang melarangnya. Sebagian kecil ulama tidak memahami demikian. Mereka mengharuskan adanya dalil yang jelas untuk memahami boleh atau tidaknya sesuatu, bahkan ada juga yang berpendapat bahwa pada dasarnya segala sesuatu terlarang kecuali kalau ada dalil yang menunjukkan izin menggunakannya. Kata “*istawa*” pada mulanya berarti tegak lurus, tidak bengkok. Selanjutnya, kata itu dipahami secara majazi dalam arti menuju ke sesuatu dengan cepat dan penuh tekad bagaikan yang berjalan tegak lurus tidak memoleh ke kiri dan ke kanan.

Makna Allah menuju ke langit adalah kehendak-Nya untuk mewujudkan sesuatu seakan-akan kehendak tersebut serupa dengan seseorang yang menuju ke sesuatu untuk mewujudkannya dalam bentuk seagung dan sebaik mungkin. Karena itu pula, lanjutan ayat itu menyatakan *fa sawwadhunna/* lalu dijadikan-Nya, yakni bahwa langit itu dijadikan-Nya dalam bentuk sebaik mungkin, tanpa sedikit aib atau kekurangan pun. Sedangkan Tafsir Wajiz menjelaskan bahwa Tuhan yang patut untuk disembah dan ditaati itu Dialah Allah yang menciptakan dan memberikan karunia berupa segala apa yang ada di bumi untuk kemaslahatanmu, kemudian bersamaan dengan penciptaan bumi dengan segala manfaatnya, kehendak Dia menuju ke penciptaan langit, lalu Dia menyempurnakannya menjadi tujuh langit yang sangat beraturan, baik yang tampak olehmu maupun yang tidak. Dan Dia Maha Mengetahui segala sesuatu. Ilmu Allah mencakup segala ciptaan-Nya.

Ayat tersebut menegaskan tentang kekuasaan Allah SWT atas alam semesta serta urutan penciptaan yang sistematis. Allah menciptakan bumi, yang di dalamnya diciptakan untuk kemaslahatan umat manusia. Setelah penciptaan bumi, Allah menyempurnakan langit hingga tujuh lapisan, dan ayat ini ditutup dengan “*wa huwa bikulli syai in ‘alim*”. Seluruh pergerakan dan kejadian yang ada di alam semesta ini tidak luput dari pengetahuan-Nya, bahkan yang terkecil sekalipun.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa gula-gula sederhana yang terdapat dalam buah naga merah menyediakan sumber karbon yang mempercepat laju pertumbuhan BAL dan meningkatkan viabilitasnya secara optimal selama fermentasi berlangsung (Shah, 2017). Durasi fermentasi berpengaruh terhadap peningkatan total BAL karena selama proses tersebut masih tersedia nutrisi yang

dibutuhkan oleh BAL untuk tumbuh, dengan adanya gula dan sumber protein (Dunggio *et al.*, 2022).

4.3 Tokoh Muslim

Salah satu tokoh yang meneliti tentang tanaman pangan, yaitu Dr. Sami Ul-Allah, adalah seorang akademisi dan peneliti produktif di bidang pemuliaan dan genetika tanaman yang saat ini menjabat sebagai *Associate Professor* di Departemen Pemuliaan dan Genetika Tanaman, Universitas Bahauddin Zakariya (BZU), Multan, Pakistan. Beliau lahir dan menempuh pendidikan awal di Pakistan, kemudian melanjutkan studi strata satu dan strata dua di Universitas Pertanian Faisalabad dengan predikat cum laude masing-masing pada tahun 2007 dan 2009. Pada tahun 2013, beliau meraih gelar doktor di bidang pertanian dengan spesialisasi pemuliaan dan genetika tanaman dari Universitas Kassel, Jerman, dengan predikat magna cum laude. Karier akademiknya dimulai sebagai Assistant Professor di Universitas Islam Bahawalpur (2014–2016), kemudian pindah ke BZU Multan sebagai Assistant Professor (2016–2021), dan sejak Januari 2021 resmi menjabat sebagai *Associate Professor* di universitas yang sama. Sepanjang kariernya, Dr. Sami Ul-Allah telah menerima sejumlah penghargaan bergengsi, antara lain *Fulbright Fellowship* (2023–2024) sebagai *Visiting Scholar* di Amerika Serikat, beasiswa PhD dari DAAD Jerman, *HEC Indigenous Scholarship* untuk studi master, serta *Research Productivity Award* dari Pakistan Council of Science and Technology pada tahun 2017 (BZU, 2021).

Bidang penelitian utamanya mencakup adaptasi tanaman pangan terhadap cekaman abiotik seperti kekeringan, panas, salinitas, dan stres nutrisi, serta karakterisasi fenotipik dan molekuler plasma nutfah untuk sifat toleran terhadap

cekaman. Beliau juga berkontribusi dalam pengembangan dua varietas kapas unggul, yaitu MM-58 dan IUB-13, sebagai anggota tim pemulia. Dr. Sami Ul-Allah telah menerbitkan lebih dari 80 artikel ilmiah di jurnal internasional bereputasi, serta puluhan bab buku dan prosiding konferensi. Selain itu, beliau aktif sebagai *reviewer* untuk lebih dari 14 jurnal internasional, serta pernah menjabat sebagai *Guest Editor* untuk jurnal *Agriculture* (MDPI). Di lingkungan akademik, beliau mengajar lebih dari 23 mata kuliah baik di tingkat sarjana maupun pascasarjana. Dengan keterampilan yang mencakup eksperimen lapangan, pemuliaan molekuler, pengembangan tanaman transgenik, serta teknik biologi molekuler seperti PCR dan ekstraksi DNA, Dr. Sami Ul-Allah telah menjadi salah satu ilmuwan tanaman terkemuka di Pakistan yang memberikan kontribusi signifikan dalam peningkatan produktivitas dan ketahanan tanaman sereal, terutama gandum, kapas, dan jewawut (Muhammad *et al.*, 2025).

Tokoh muslim lain yang meneliti tentang mikrobiologi adalah Prof. Dr. Muhammad Asif Zahoor, yang menjabat sebagai profesor pada Institute of Microbiology di Government College University (GCU) Faisalabad, Pakistan. Beliau memperoleh gelar doktor dari Veterinary Medicine University di Vienna, Austria. Bidang utama penelitian yang ditekuninya meliputi mikrobiologi, resistensi antimikroba (AMR), dan kesehatan masyarakat, dengan fokus khusus pada surveilans AMR dari isolat yang berasal dari sumber klinis, hewan, maupun lingkungan. Berdasarkan data dari OpenAlex, Prof. Zahoor telah mempublikasikan 56 makalah ilmiah yang terakumulasi sebanyak 716 sitasi. Topik-topik yang berulang dalam publikasinya antara lain resistensi antibiotik pada bakteri, infeksi parasit dan diagnostiknya, serta dampak lingkungan dari senyawa farmasi dan

antibiotik. Salah satu studinya mengenai prevalensi dan analisis sekuens *Escherichia coli* pembawa gen resisten terhadap colistin, gentamisin, streptomisin, tetrasiklin, dan kuinolon yang diisolasi dari ayam pedaging komersial (Madni *et al.*, 2024).

Selain itu, beliau juga melaporkan diseminasi *E. coli* klinis pembawa gen *mcr-1* di Pakistan (Madni *et al.*, 2024). Penelitian lainnya mencakup resistensi multidrug pada *Mycobacterium tuberculosis* dari pasien tuberkulosis paru, deteksi molekuler produksi biofilm pada isolat *Pseudomonas aeruginosa* multidrug resisten dari sampel daging, serta isolasi dan karakterisasi molekuler bakteri indigen *Staphylococcus aureus* strain K1 yang mampu mereduksi kromium heksavalen untuk aplikasi bioremediasi. Secara keseluruhan, penelitian Prof. Zahoor secara konsisten memberikan kontribusi signifikan dalam pemahaman resistensi antimikroba melalui pendekatan *One Health* yang mengintegrasikan dimensi kesehatan manusia, hewan, dan lingkungan.

BAB V PENUTUP

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Karakteristik makroskopis bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari sampel yoghurt menunjukkan bahwa koloni berbentuk bulat, berwarna putih dan krem, bertepi rata, dengan permukaan cembung. Karakteristik makroskopis: sebelas isolat berbentuk coccus dan tujuh isolat lainnya berbentuk bacillus, Gram positif, tidak membentuk endospora, katalase negatif, tipe fermentasi homofermentatif. Seluruh sampel memiliki keanekaragaman bakteri dengan genus *Streptococcus* dan *Lactobacillus*, kecuali sampel K0L0 dan K0L1 yang hanya memiliki bal *Streptococcus*.
2. Perlakuan penambahan sari buah naga merah 15% dan lama fermentasi 3 hari memberikan peningkatan mutu paling tinggi dan sesuai dengan SNI 2891:2009 dengan pH sebesar 4,0-4,5 dan kadar asam 0,5-2,05 (b/b). Perlakuan ini menghasilkan pH dengan rata-rata 4,23 dan kadar asam 1,44% (b/b). Dibandingkan dengan yoghurt tanpa penambahan sari buah dan lama fermentasi, dengan pH sebesar 6,34 dan kadar asam 0,26% (b/b). Perlakuan tersebut terbukti berpengaruh dalam menentukan keberhasilan fermentasi dan sesuai dengan SNI 2891:2009.
3. Hasil uji total BAL, perlakuan dengan penambahan sari buah naga merah 15% dan lama fermentasi 3 hari terbukti dapat meningkatkan total BAL sebesar $4,3 \times 10^9$ CFU/mL dengan indikasi keberhasilan fermentasi. Sedangkan perlakuan yoghurt tanpa penambahan sari buah dan lama fermentasi menghasilkan total BAL yang paling rendah, yaitu sebesar $2,4 \times 10^7$ CFU/mL, namun semua

sampel sesuai dengan minimum total BAL pada anjuran SNI 2981:2009, yaitu minimal 10^7 CFU/mL.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pengujian secara menyeluruh terhadap standar mutu serta karakterisasi sifat fisikokimia. Selain itu, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri guna menentukan efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen serta uji organoleptik untuk menilai parameter sensoris. Keseluruhan rangkaian uji bertujuan untuk memberikan keamanan pangan dan memastikan kelayakan produk yang memenuhi persyaratan mutu yang ditetapkan.

DAFTAR PUSTAKA

- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2025. Produksi Susu Segar menurut Provinsi. [diakses 2025 Jun 4] <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/2/NDkzIzI=/produksi-susu-segar-menurut-provinsi.html>
- Adamberg, K., Kask, S., Laht, T. M., & Paalme, T. (2003). The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: A pH-auxostat study. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1–2), 171–183. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00537-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00537-8)
- Adiputra, R., Ramadiyanti, M., Ulfah, T., & Maesaroh, D. I. (2022). Pengaruh lama waktu inkubasi, konsentrasi starter terhadap pH, viskositas dan sifat organoleptik yoghurt susu sapi. *Composite: Jurnal Ilmu Pertanian*, 4(2), 81–92. <https://doi.org/10.37577/composite.v4i2.557>
- Aini, A., Ustiawaty, J., Kurniawan, E., & Maulana, A. (2022). Isolate and Characterization of Lactic Acid Bacteria (LAB) in Local Nira as Probiotic Starter Candidates. *Jurnal Biologi Tropis*, 22(4), 1195–1203. <https://doi.org/10.29303/jbt.v22i4.4429>
- Ali, K., Mehmood, M. H., Iqbal, M. A., Masud, T., Qazalbash, M., Saleem, S., Ahmed, S., Tariq, M. R., Safdar, W., Nasir, M. A., Saeed, M. T., Muhammad, A., & Sheas, M. N. (2019). Isolation and characterization of exopolysaccharide-producing strains of *Lactobacillus bulgaricus* from curd. *Food Science and Nutrition*, 7(4), 1207–1213. <https://doi.org/10.1002/fsn3.905>
- Amalia Putri, Y., Rifa, M., Negeri Malang, P., & Korespondensi, P. (2024). Kendali Suhu dan Monitoring pH Pada Fermentasi Yoghurt Dengan Metode PID. *Journal of Mechanical and Electrical Technology*, 03(03).
- Amaliah, N. Z. Z., Bahri, S., & Amelia, P. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah cair rendaman kacang kedelai. In *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* (Vol. 5, Number 1). www.jurnal.farmasi.umi.ac.id/index.php/fitofarmakaindonesia
- Amaliah, Z. Z. N., Bahri, S., & Amelia, P. (2018). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah cair rendaman kacang kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 5(1), 253–257. <https://doi.org/10.33096/jffi.v5i1.320>

- Amanullah, S., Kabir, M., Rahman, M., Halder, P., Hossain, S., & Samad, M. (2021). Isolation, identification and biochemical characterization of lactic acid bacteria from selected yogurt samples. *Bangladesh Journal of Livestock Research*, 64–72. <https://doi.org/10.3329/bjlr.v27i1.55170>
- Anggraini, T., & Mustakim, A. (2025). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat pada Tempoyak sebagai Fermentasi Tradisional Khas Jambi. *Pentagon : Jurnal Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*, 3(3), 77–84. <https://doi.org/10.62383/pentagon.v3i3.736>
- Anindita, N. S. (2022). Isolasi Dan Identifikasi Fenotipik Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenous Asal Air Susu Ibu (ASI). *Jurnal Teknologi Pangan*, 5(1), 18–23. <https://doi.org/10.14710/jtp.2021.22289>
- Arifani, D., Zulaikhah, S. R., & Luthfi, S. A. C. (2023). Sifat fisikokimia yoghurt buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus* L.) dengan penambahan berbagai level susu skim. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Peternakan*, 11(1), 1–5. <https://doi.org/10.20956/jitp.v11i1.25422>
- Arkan, N. D., Setyawardani, T., & Astuti, T. Y. (2021). Pengaruh Penggunaan Pektin Nabati dengan Persentase yang Berbeda terhadap Nilai pH dan Total Asam Titrasi Yogurt Susu Sapi. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 2(1), 1. <https://doi.org/10.24198/jthp.v2i1.28302>
- Aryanta, I. (2022). Manfaat Buah Naga Untuk Kesehatan. *E-Jurnal Widya Kesehatan*, 4(2), 8–13.
- Ayivi, R. D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S. O., Worku, M., Tahergorabi, R., Silva, R. C. da, & Ibrahim, S. A. (2020). Lactic Acid Bacteria: Food Safety and Human Health Applications. In *Dairy* (Vol. 1, Number 3, pp. 202–232). MDPI. <https://doi.org/10.3390/dairy1030015>
- Ayun, Q., Muthiah, S. N., & Sukmalara, D. (2023). Potensi Bakteri Asam Laktat (BAL) Dari Jus Tempe Sebagai Kandidat Probiotik. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, 8(2), 171. <https://doi.org/10.36722/sst.v8i2.1673>
- Bankole, A. O., Ironi, E. A., Awoyale, W., & Ajani, E. O. (2023). Application of natural and modified additives in yogurt formulation: types, production, and

- rheological and nutraceutical benefits. In *Frontiers in Nutrition* (Vol. 10). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1257439>
- Bansal, S., Singh, A., Mangal, M., & Sharma, S. K. (2013). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from fermented foods. *Vegetos*, 26(2), 325–330. <https://doi.org/10.5958/j.2229-4473.26.2.092>
- Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Carcho, M., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Fortification of yogurts with different antioxidant preservatives: A comparative study between natural and synthetic additives. *Food Chemistry*, 210, 262–268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.114>
- Candra, A., & Rahadiyanti, A. (2020). Efek ekstrak tomat (*solanum lycopersicum*) terhadap enzim katalase hepar tikus wistar (*rattus norvegicus*) yang terpapar minyak jelantah. *JNH (Journal of Nutrition and Health)*, 8(1).
- Chotiah, S., & Rini Damayanti Balai Besar Penelitian Veteriner, dan. (2018). *Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Kandidat Probiotik untuk Mengatasi Salmonellosis pada Ayam Pedaging (Characterization of Lactic Acid Bacteria as Probiotic Candidate to Overcome the Salmonellosis in Broiler)*.
- Dahlan, A., Wijayanti, W., Iqbal Kusumabaka Rianse, M., Naim, Y., Studi Gizi, P., Teknologi dan Kesehatan Avicenna, I., Tenggara, S., Teknologi Pagar Alam, I., Pagar Alam, K., Selatan, S., Halu Oleo, U., & Hijau Bumi Tridharma Andonohu Kambu Kendari, K. (2024). Pengaruh Jenis Susu dan Konsentrasi Starter Terhadap Kadar Asam, pH, dan Total Bakteri Asam Laktat Yoghurt. In *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian* (Vol. 6, Number 1).
- Damayanti, S., Novalina, D., & Hadi, W. S. (2024). Pengaruh pH Terhadap Stabilitas Daun Pacar Kuku Sebagai Counterstain Alternatif pada Pewarnaan Gram. *Jurnal Analis Kesehatan*, 13(1).
- Dan, T., Hu, H., Tian, J., He, B., Tai, J., & He, Y. (2023). Influence of Different Ratios of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* on Fermentation Characteristics of Yogurt. *Molecules*, 28(5). <https://doi.org/10.3390/molecules28052123>
- De Chiara, I., Marasco, R., Della Gala, M., Alfano, A., Parecha, D., Costanzo, N., Schiraldi, C., & Muscariello, L. (2025). Isolation and Partial Characterization

- of Lactic Acid Bacteria from Natural Whey Starter Culture. *Fermentation*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/fermentation11120668>
- Devinta, A., & Zulaika, E. (2021). Viability and Production Calcifying Bacterial Endospore on Sand-Cement Carrier. *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*, 8(1), 8–13. <https://doi.org/10.23960/jbekh.v8i1.184>
- Dillon, V. M. (2014). Natural Anti-Microbial Systems: Preservative Effects During Storage. In *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (pp. 941–947). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00238-X>
- Dinić, M., Jakovljević, S., Popović, N., Radojević, D., Veljović, K., Golić, N., & Terzić-Vidojević, A. (2023). Assessment of stability and bioactive compounds in yogurt containing novel natural starter cultures with the ability to promote longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Dairy Science*, 106(11), 7447–7460. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23342>
- Dunggio, S., Bulotio, N., Gorontalo, P., Studi Teknologi Hasil Pertanian Jl Muchlis Rahim, P., Panggulo Barat, D., Botupingge, K., Bone Bolango, K., Gorontalo, P., & Pos, K. (2022). Karakteristik kimia yoghurt buah naga dengan variasi suhu fermentasi (chemical characteristic dragon fruit yoghurt with variation of fermentation temperatures). In *Journal of Agritech Science* (Vol. 6, Number 1).
- Elsaadany, K., EL-Sayed, A. I. M., & Awad, S. (2024). Identification, Safety Assessment, and Antimicrobial Characteristics of Cocci Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Egyptian Dairy Products. *Foods*, 13(19). <https://doi.org/10.3390/foods13193059>
- Falakh, M. F., Asri, M. T., Biologi, J., Matematika, F., Pengetahuan, I., Universitas, A., & Surabaya, N. (2022). Uji Potensi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* L.) sebagai Antimikroba terhadap *Salmonella typhi*. 11, 514–524. <https://journal.unesa.ac.id/index.php/lenterabio/index514>
- Fatmala, N., Al Adam, K., & Risna, Y. K. (2023a). Karakteristik sensoris dan nilai pH yoghurt dengan variasi starter bakteri yang di inkubasi selama 8 jam. *Jurnal Sains Pertanian (JSP)*, 7(3), 106–109. <https://doi.org/10.51179/jsp.v7i3.2223>

- Fatmala, N., Al Adam, K., & Risna, Y. K. (2023b). Karakteristik sensoris dan nilai pH yoghurt dengan variasi starter bakteri yang di inkubasi selama 8 jam. *Jurnal Sains Pertanian (JSP)*, 7(3), 106–109. <https://doi.org/10.51179/jsp.v7i3.2223>
- Fauziyah, Z., Nia, L., Julia Nandi, F., Lingga, R., & Helmi, H. (2023). Identifikasi dan Potensi Probiotik Bakteri Asam Laktat pada Pangan Fermentasi Lokal. *JURNAL BIOS LOGOS*, 13(2), 54–64. <https://doi.org/10.35799/jbl.v13i2.47900>
- Febriani, W., Komala, R., & Yunianto, A. E. (2024). Potensi buah naga merah sebagai anti diabetes dan pemeliharaan kesehatan: sebuah tinjauan. *Media Ilmiah Kesehatan Indonesia*, 2(3), 111–119. <https://doi.org/10.58184/miki.v2i3.349>
- Filippone, A., Montepeloso, E., & Bevilacqua, A. (2023). *A Pilot Study on Sensory Evaluation of Commercial Yogurt Products by Italian Middle School Pupils*. 72. <https://doi.org/10.3390/foods2023-15031>
- Finanda, A., Hadari Nawawi, J. H., & Barat, K. (2021). *Isolasi Dan Karakterisasi Genus Bakteri Asam Laktat Dari Fermentasi Daging Buah Pisang Kepok (Musa paradisiaca L.)* (Vol. 10, Number 2).
- Folla, M. M., & Bulan, S. J. (2023). Penerapan Metode Gray Level Co-Occurrence Matrix dalam Mengklasifikasi Tingkat Kematangan Buah Naga Berbasis Citra. *Jurnal Komputer Dan Informatika*, 11(2), 210–116. <https://doi.org/10.35508/jicon.v11i2.11847>
- Frank, K. M. (2014). Microbiology in CLinical Pathology. In *Pathobiology of Human Disease: A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms* (pp. 3237–3268). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.06304-8>
- Frilanda, A., Putranto, W. S., & Gumilar, J. (2022). Pengaruh Berbagai Konsentrasi Pulp Buah Naga Merah pada Pembuatan Set Yoghurt terhadap Total Bakteri Asam Laktat, Nilai pH, dan Total Asam. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 3(1), 32. <https://doi.org/10.24198/jthp.v3i1.39239>
- Giyatno, D. C., & Retnaningrum, E. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida dari Buah Kersen (*Muntingia calabura L.*). *Jurnal Sains Dasar*, 9(2), 42–49. <https://doi.org/10.21831/jsd.v9i2.34523>

- Harni, M., Anggraini, T., B, R., & Suliansyah, I. (2023). Identifikasi kualitas warna buah naga (*Hylocereus*) dengan ekstraksi menggunakan microwave-assisted extract (mae). *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas*, 27(1), 104–109. <https://doi.org/10.25077/jtpa.27.1.104-109.2023>
- Hasanah, R. M., Narsih, U., Dimas, F., Program, A. A., S1, S., Klinik, F., Komunitas, D., & Kesehatan, I. (2024). Identifikasi Flavonoid Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) Secara Kromatografi Lapis Tipis (Klt) Dengan Pelarut Etanol 96% Dan Metanol 96%. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 8(1), 30–37.
- 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 biochemistry mechanism and optimization *Lactobacillus bulgaricus* AND *Streptococcus thermophilus* in processing quality yoghurt. In *J. Sains Dasar* (Vol. 8, Number 1).
- Hossain, F., Numan, S., & Akhtar, S. (2021). Cultivation, Nutritional Value and Health Benefits of Dragon Fruit (*Hylocereus* spp.): A Review. In *International Journal of Horticultural Science and Technology Journal homepage* (Vol. 8, Number 3). <http://ijhst.ut.ac.ir>
- Huligere, S. S., Chandana Kumari, V. B., Alqadi, T., Kumar, S., Cull, C. A., Amachawadi, R. G., & Ramu, R. (2023). Isolation and characterization of lactic acid bacteria with potential probiotic activity and further investigation of their activity by α -amylase and α -glucosidase inhibitions of fermented batters. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1042263>
- Indrawati, D. W., Purwanti, Y., Hayati, A. K., Mukti, R. A., & Nisa, K. (2025). Uji Efektivitas Larutan Prebiotik Buah Naga dalam Menghambat Pertumbuhan *Porphyromonas Gingivalis* secara in vitro. *E-GiGi*, 14(1), 26–32. <https://doi.org/10.35790/eg.v14i1.61392>
- Jonathan, H., Fitriawati, I., Arief, I., Soenarno, M., & Mulyono, R. (2022). Fisikokimia, Mikrobiologi dan Organoleptik Yogurt Probiotik dengan Penambahan Buah merah (*Pandanus conodeous* L.). *Jurnal Ilmu Produksi Dan*

- Teknologi Hasil Peternakan*, 10(1), 34–41.
<https://doi.org/10.29244/jipthp.10.1.34-41>
- Karyawati, A. T., Mauboy, R. S., Ruma, M. T. L., Bana, J. J., Amalo, D., & Suhardi, E. (2024). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Limbah Cair Tahu di Pabrik Tahu Bintang Oesapa Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang. In *Jurnal Biotropikal Sains* (Vol. 21, Number 3).
- Kasmiyetti, K., Amri, Z., Hasneli, H., Rahmayeni, S., & Mushollini, F. (2022). Pengaruh lama penyimpanan terhadap pH dan total bakteri asam laktat yoghurt dengan penambahan sari buah naga merah sebagai minuman fungsional bagi penderita hiperkolesterolemia. *Jurnal Teknologi Pangan Dan Gizi*, 21(2), 87–93. <https://doi.org/10.33508/jtpg.v21i2.2986>
- Khalili, R., Abdullah, A., & Manaf, A. (2014). Isolation And Characterization Of Oligosaccharides Composition In Organically Grown Red Pitaya, White Pitaya And Papaya. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 131–136.
- Kurnia, M., Amir, H., Handayani, D., & Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP, P. (2020). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat Dari Makanan Tradisional Suku Rejang Di Provinsi Bengkulu: “Lemea.” *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*, 4(1), 25–32.
- Li, H., Li, L., Chi, Y., Tian, Q., Zhou, T., Han, C., Zhu, Y., & Zhou, Y. (2020). Development of a standardized Gram stain procedure for bacteria and inflammatory cells using an automated staining instrument. *MicrobiologyOpen*, 9(9). <https://doi.org/10.1002/mbo3.1099>
- Lim, T. W., Lim, R. L. H., Pui, L. P., Tan, C. P., & Ho, C. W. (2025). Red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*), a superfruit rich in betacyanins pigments with antioxidative potential for hepatoprotection: A review. *Future Foods*, 11, 100562. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2025.100562>
- Madni, W. A., Mohsin, M., Nawaz, Z., Muzammil, S., Zahoor, M. A., & Asif, R. (2024). Molecular mechanism of antimicrobial co-resistance Colistin (mcr-1) and ESBLs genes among Escherichia coli isolates from commercial chickens in Pakistan. *Brazilian Journal of Biology*, 84. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.267494>

- Magnuson, B. A., Burdock, G. A., Doull, J., Kroes, R. M., Marsh, G. M., Pariza, M. W., Spencer, P. S., Waddell, W. J., Walker, R., & Williams, G. M. (2007). Aspartame: A safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. In *Critical Reviews in Toxicology* (Vol. 37, Number 8, pp. 629–727). <https://doi.org/10.1080/10408440701516184>
- Malau, I. T., Wijaya, I. M. M., & Arnata, I. W. (2022a). Variasi pH pada Media Tumbuh dan Suhu Fermentasi dalam Memproduksi Etanol oleh Isolat BU3.111E1. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 10(2), 202. <https://doi.org/10.24843/jrma.2022.v10.i02.p08>
- Malau, I. T., Wijaya, I. M. M., & Arnata, I. W. (2022b). Variasi Ph Pada Media Tumbuh Dan Suhu Fermentasi Dalam Memproduksi Etanol Oleh Isolat Bu3.111e1. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 10(2), 202. <https://doi.org/10.24843/jrma.2022.v10.i02.p08>
- Mansur, D. S., & Hidayat, M. N. (2019). Ketahanan Bakteri Asam Laktat Asal Saluran Pencernaan Broiler Terhadap pH dan Garam Empedu. *Jurnal Ilmu Dan Industri Peternakan (Journal of Animal Husbandry Science and Industry)*, 5(1), 27. <https://doi.org/10.24252/jiip.v5i1.11101>
- Maturin, L. J. J. T., & Peeler. (2001). Bacteriological Analytical Manual: Aerobic Plate Count. *Journal Food and Drug Administration*.
- Muhammad, H., Ijaz, M., Sattar, A., Ul-Allah, S., Sher, A., Asif, M., Dilshad, M., Mahmood, K., Riaz, M. W., Zaheer, M. S., Rizwan, M., & Manoharadas, S. (2025). Synergistic effects of PGPRs and fertilizer amendments on improving the yield and productivity of Canola (*Brassica napus* L.). *BMC Plant Biology*, 25(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06062-3>
- Musthari, M., Riadi, S., & Situmeang, S. M. F. (2019). Isolasi dan Identifikasi Morfologi dan Uji Aktivitas Antimikroba terhadap *Escherichia coli* dan *Candida albicans* dari Fermentasi Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *JURNAL BIOSAINS*, 5(2), 59–65. <https://doi.org/10.24114/jbio.v5i2.12794>
- Nishikito, D. F., Borges, A. C. A., Laurindo, L. F., Otoboni, A. M. M. B., Direito, R., Goulart, R. de A., Nicolau, C. C. T., Fiorini, A. M. R., Sinatora, R. V., & Barbalho, S. M. (2023). Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Other Health

- Effects of Dragon Fruit and Potential Delivery Systems for Its Bioactive Compounds. *Pharmaceutics*, 15(1), 159. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010159>
- Nugroho, M. R., Wanniatie, V., Qisthon, A., & Septinova, D. (2023). Sifat Fisik Dan Total Bakteri Asam Laktat (Bal) Yoghurt Dengan Bahan Baku Susu Sapi Yang Berbeda. *Jurnal Riset Dan Inovasi Peternakan (Journal of Research and Innovation of Animals)*, 7(2), 279–286. <https://doi.org/10.23960/jrip.2023.7.2.279-286>
- Nur, F. (2022). *Eksotisme Bakteri Asam Laktat* (Hafsan, Ed.; 1st ed., Vol. 1). PT Rajagrafindo Persada.
- Nuraida, L., Nurdin, Q., Antung, D., & Firlieyanti, S. (2014). Pengembangan Yoghurt Berisi *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* dan Viabilitasnya Selama Penyimpanan Development of Yoghurt Containing *Lactobacillus rhamnosus* and *Pediococcus pentosaceus* and their Viability during Storage 1. *Jurnal Mutu Pangan*, 1(1), 47–55.
- Nurdini, D., Herawati, E., & Nurhayatin, T. (2023). Pengaruh Dosis Starter Terhadap Nilai Ph Dan Tingkat Kesukaan Pada Yoghurt Susu Sapi (Effect Of Starter Dose On Ph Value And Level Of Preference In Cow's Milk Yogurt). *Jurnal Ilmu Peternakan*, 8. www.journal.uniga.ac.id
- Nurmailah, F., Ulfah Mu'awanah, I. A., & Widyanantara, A. B. (2024). Efektivitas Buah Delima Sebagai Alternatif Safranin Pada Pewarnaan Gram Negatif *Salmonella* Sp. *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 5(4), 11501–11507. <https://doi.org/10.31004/jkt.v5i4.35981>
- Nuryanti, S., Fitriana, & Pratiwi, R. (2021). Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Selulosa Dari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Farmasi*, 13(1), 71–79.
- Ong, Y. Y., Tan, W. S., Rosfarizan, M., Chan, E. S., & Tey, B. T. (2012). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Fermented Red Dragon Fruit Juices. *Journal of Food Science*, 77(10). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02894.x>

- Paray, A. A., Singh, M., & Amin Mir, M. (2023). Gram Staining: A Brief Review. *International Journal of Research and Review*, 10(9), 336–341. <https://doi.org/10.52403/ijrr.20230934>
- Purba, D. A. T. P., Mega, O., & Musnandar, E. (2023). Karakteristik Kimia Yoghurt dengan Penambahan Sari Wortel (*Daucus carota* L.). *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 26(1), 60–67. <https://doi.org/10.22437/jiip.v26i1.25374>
- Purwantiningsih, T. I., Bria, M. A. B., & Kia, K. W. (2022). Levels Protein and Fat of Yoghurt Made of Different Types and Number of Cultures. *Journal of Tropical Animal Science and Technology*, 4(1), 66–73. <https://doi.org/10.32938/jtast.v4i1.967>
- Putri, O., Agustiana, S., Silviyanti, T., Ulpah, S. M., & Aini, K. (2024). Pengaruh lama simpan terhadap kualitas organoleptik pada soygurt buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Journal of Tropical AgriFood*, 6(1), 35. <https://doi.org/10.35941/jtaf.6.1.2024.15550.35-41>
- Risna, Y. K., Sri-Harimurti, S.-H., Wihandoyo, W., & Widodo, W. (2022a). Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Itik Lokal Asal Aceh. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, 24(1), 1. <https://doi.org/10.25077/jpi.24.1.1-7.2022>
- Risna, Y. K., Sri-Harimurti, S.-H., Wihandoyo, W., & Widodo, W. (2022b). Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Saluran Pencernaan Itik Lokal Asal Aceh. *Jurnal Peternakan Indonesia (Indonesian Journal of Animal Science)*, 24(1), 1. <https://doi.org/10.25077/jpi.24.1.1-7.2022>
- Rohanah, R., Puspita, R. R., Wijaya, R. D., Pratiwi, R. D., & Hareva, J. A. (2023). Buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) dan buah bit (*beta vulgaris*) terhadap peningkatan kadar hemoglobin. *Holistik Jurnal Kesehatan*, 17(6), 465–472. <https://doi.org/10.33024/hjk.v17i6.11800>
- Roy, J. R., Sinthia, S. T., Roy, J. R., Sheikh, A. M., Roy, J., & mahomud, S. Md. (2019). Effect of Grape Juice on the Physiochemical and Sensory Properties of Yogurt. *IOSR Journal of Environmental Science*, 13(9), 94–100. <https://doi.org/10.9790/2402-13090194100>
- Salmazo, G. C., Dal Molin Filho, R. G., Robazza, W. da S., Schmidt, F. C., & Longhi, D. A. (2023). Modeling the growth dependence of *Streptococcus*

- thermophilus and *Lactobacillus bulgaricus* as a function of temperature and pH. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54(1), 323–334. <https://doi.org/10.1007/s42770-023-00907-5>
- Sandi, S., Yosi, F., Liana Sari, M., & Nuni Gofar, and. (2018). The Characteristics and Potential of Lactic Acid Bacteria as Probiotics in Silage Made from *Hymenachne acutigluma* and *Neptunia oleracea* lour. *E3S Web of Conferences*, 68, 1–4. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/2018680101>
- Santosa, E. A., & Retnaningrum, E. (2020). Karakterisasi Fenotipik Dan Aktivitas Antimikrobia Bakteri Asam Laktat Dari Limbah Produksi Tempe Phenotypic Characterization And Antimicrobia Activity Of Lactic Acid Bacteria From Tempe Production Waste. In *J. Sains* (Vol. 2020, Number 9).
- Sapitri, P. D., Putu, I., Pranatha, A., Pangestu, A. W., Putu, N., Erlina, N. E., Komang, N., Kartini, T. C., Gusti, I., Agung, N., & Putra, D. (2024). *JFST: Jurnal Farmasi Sains dan Kesehatan Literature Review on The Comparing Usability of Through Flow Filtration and Tangential Flow Filtration*.
- Sarıtaş, S., Mondragon Portocarrero, A. del C., Miranda, J. M., Witkowska, A. M., & Karav, S. (2024). Functional Yogurt: Types and Health Benefits. In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 14, Number 24). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/app142411798>
- Setiadi, M. K., & Husni, A. (2024). Aktivitas antioksidan dan tingkat penerimaan konsumen yoghurt yang diperkaya rumput laut *Caulerpa lentillifera*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(5), 417–430. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v27i5.53538>
- Shah, N. P. . (2017). *Yogurt in health and disease prevention*. Academic Press, an imprint of Elsevier.
- Shi, J., Chen, X., Yang, R., & Zhao, D. (2025). Mannanase from Lactic Acid Bacteria *Pediococcus acidilactici*: Production Optimization, Purification, and Application in Juice Clarification. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 197(6), 4053–4067. <https://doi.org/10.1007/s12010-025-05231-2>
- Siagian, L. S., Manalu, K., & Nasution, R. A. (2024). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Hasil Fermentasi Limbah Organik Kulit Buah (Eco-

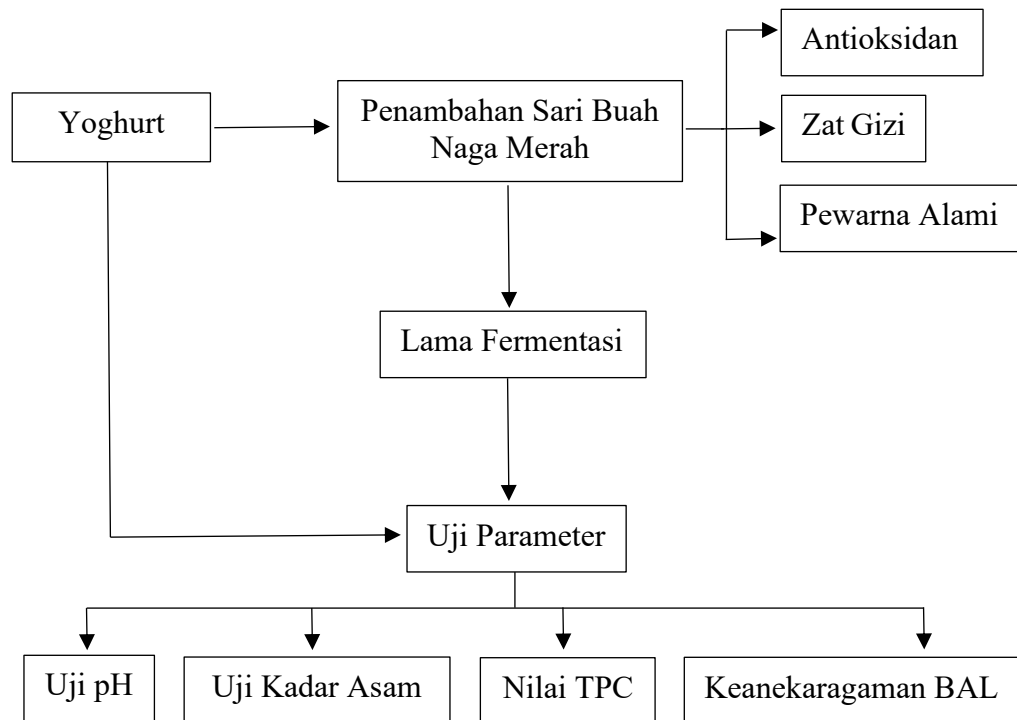
- Enzyme). *BIOEDUSAINS:Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*, 7(1), 322–334. <https://doi.org/10.31539/bioedusains.v7i1.9967>
- Sianipar, G. W. S., Sartini, S., & Riyanto, R. (2020). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Endofit pada Akar Pepaya (*Carica papaya* L). *Jurnal Ilmiah Biologi UMA (JIBIOMA)*, 2(2), 83–92. <https://doi.org/10.31289/jibioma.v2i2.312>
- Siregar, S., Apriantini, A., & Soenarno, M. (2023). Physicochemical Properties, Antioxidant Activity and Organoleptic of Yogurt with The Addition of Red Dragon Fruit Juice (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, 11(3), 141–152. <https://doi.org/10.29244/jipthp.11.3.141-152>
- Situmorang, T. S., Anjelina Simanjuntak, H., Fatahillah Pasaribu, S., Lestari, W., Enjelina Sianturi, A., & Asmara Amanzino, R. (2025). Analisis Karakteristik Organoleptik, pH, dan Total Bakteri pada Yoghurt Susu Sapi. *Herbal Medicine Journal*, 8(2), 79–84.
- Subagiyo, S., Margino, S., Triyanto, T., & Ari Setyati^{1,2}, W. A. (2015). Effects Of pH, Temperature And Salinity In Growth And Organic Acid Production Of Lactic Acid Bacteria Isolated From Penaeid Shrimp Intestine. *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 20(4), 187. <https://doi.org/10.14710/ik.ijms.20.4.187-194>
- Sugata, M., Layarda, M., Chrislin, F., & Jan, T. T. (2024). Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari susu sapi di Indonesia. *Jurnal Biologi Udayana*, 28(1), 19. <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2024.v28.i01.p02>
- Sujono, F. A. E., Prabandari, S. A., & Pramonodjati, F. (2022). PEMANFAATAN LARUTAN KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* L.) SEBAGAI COUNTERSTAIN PADA PENGEKATAN GRAM *Escherichia coli* ATCC 25922. *Avicenna : Journal of Health Research*, 5(2). <https://doi.org/10.36419/avicenna.v5i2.676>
- Sumi, K., Tagawa, R., Yamazaki, K., Nakayama, K., Ichimura, T., Sanbongi, C., & Nakazato, K. (2023). Nutritional Value of Yogurt as a Protein Source: Digestibility/Absorbability and Effects on Skeletal Muscle. In *Nutrients* (Vol. 15, Number 20). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/nu15204366>

- Surak, F. A., Ndaong, A. N., & Detha, I. R. A. (2024). Studi Literatur Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi dari Susu Kuda, Susu Kambing dan Susu Sapi. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 8(30), 1–10.
- Sutrisna, R., Nugroho Ekowati, C., & Sinaga, E. (2015). Pengaruh pH terhadap Produksi Antibakteri oleh Bakteri Asam Laktat dari Usus Itik. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 15(3), 234–238. <http://www.jptonline.or.id>
- Syahirah Azmi, N., & Mohd Hashim, A. (2018). Phenotypic and Molecular Characterisations of Lactic Acid Bacteria Isolated from Malaysian Fruits. *J. Trop. Agric. Sci*, 41(4), 1599–1612. <http://www.pertanika.upm.edu.my/>
- Tatebale, R., Naharia, O., & Lawalata, H. J. (2024). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) as Exopolysaccharide Producers. *Indonesia Biodiversity Journal*, 5(1), 8–19. <http://ejurnal.unima.ac.id/index.php/ibj>
- Teguh, P., Nugerahani, I., & Kusumawati, N. (2015). *Pembuatan yoghurt buah naga merah (Hylocereus polyrhizus L.): proporsi sari buah dan susu uht terhadap viabilitas bakteri dan keasaman yoghurt (Red dragon fruit (Hylocereus polyrhizus L.) yoghurt production: proportion of fruit juice and UHT milk on viability of bacteria and yoghurt acidity)*.
- Timo, A. M., & Purwantiningsih, T. I. (2020). Kualitas Kimia dan Organoleptik Yoghurt yang dibuat Menggunakan Kultur Yoghurt dan Jenis Susu yang Berbeda. *JAS*, 5(3), 34–40. <https://doi.org/10.32938/ja.v5i3.1022>
- Tjatur, A., Krisnaningsih, N., Ida, T., Kustyorini, W., & Selvian, R. (2020). PADA MASA INKUBASI 18 JAM SUHU RUANG. *Jurnal Sains Peternakan*, 8(2), 146–153.
- Vera-Peña, M. Y., & Rodriguez, W. L. R. (2020). Effect of pH on the growth of three lactic acid bacteria strains isolated from sour cream. *Universitas Scientiarum*, 25(2), 341–358. <https://doi.org/10.11144/JAVERIANA.SC25-2.EOPO>
- Wahyuni, C. S., Linda, T. M., & Fibriarti, B. L. (2025). Isolasi Bakteri Asam Laktat dari Makanan Tradisional Pakasam Ikan Kapiék (*Barbonymus schwanenfeldii*) yang Berpotensi Sebagai Kandidat Agen Probiotik, Antibakteri dan Biopreservatif. *BIOEDUSAINS*, 8(2).

- Wang, X., Wang, L., Wei, X., Xu, C., Cavender, G., Lin, W., & Sun, S. (2025). Invited review: Advances in yogurt development—Microbiological safety, quality, functionality, sensory evaluation, and consumer perceptions across different dairy and plant-based alternative sources. *Journal of Dairy Science*, *108*(1), 33–58. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-25322>
- Wieczorek, M. N., & Drabińska, N. (2022). Flavour Generation during Lactic Acid Fermentation of Brassica Vegetables—Literature Review. *Applied Sciences*, *12*(11), 5598. <https://doi.org/10.3390/app12115598>
- Wilhelm, M. J., Sheffield, J. B., Sharifian Gh., M., Wu, Y., Spahr, C., Gonella, G., Xu, B., & Dai, H.-L. (2015). Gram's Stain Does Not Cross the Bacterial Cytoplasmic Membrane. *ACS Chemical Biology*, *10*(7), 1711–1717. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.5b00042>
- Winatha, I. G. P. P., Hendrayana, M. A., Sukrama, I. D. M., & Budayanti, N. N. S. (2022). Karakteristik Bakteri Asam Laktat pada Feses Luwak di Beberapa Wilayah Pulau Bali. *E-Jurnal Medika Udayana*, *11*(7), 69. <https://doi.org/10.24843/MU.2022.V11.i7.P11>
- Zulaikhah, S. R. (2021). Sifat Fisikokimia Yogurt dengan Berbagai Proporsi Penambahan Sari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Sains Peternakan*, *9*(1), 7–15.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran 1. Kerangka Penelitian



Lampiran 2. Data Hasil Penelitian

L.2.1 Derajat Keasaman (pH)

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
K0L0	6.35	6.33	6.36	6.34
K1L0	6.22	6.27	6.22	6.23
K2L0	6.07	6.12	6.12	6.1
K0L1	4.75	4.76	4.75	4.75
K1L1	4.52	4.49	4.51	4.5
K2L1	4.46	4.49	4.51	4.48
K0L2	4.57	4.56	4.59	4.57
K1L2	4.41	4.40	4.41	4.4
K2L2	4.28	4.20	4.23	4.23
Kontrol	3.95			

L.2.2 Total Asam Tertitrasi (TAT)

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
K0L0	0.27	0.26	0.26	0.26
K1L0	0.28	0.28	0.30	0.28
K2L0	0.30	0.29	0.29	0.29
K0L1	0.72	0.72	0.74	0.72
K1L1	0.77	0.80	0.77	0.78
K2L1	0.96	0.99	0.97	0.97
K0L2	0.86	0.86	0.89	0.87
K1L2	1.23	1.24	1.20	1.22
K2L2	1.43	1.44	1.47	1.44
Kontrol	1.52			

L.2.3 Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Perlakuan	Seri Pengenceran						Rata-rata (CFU/mL)
	10 ⁻⁵		10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		
	Simplo	Duplo	Simplo	Duplo	Simplo	Duplo	
K0L0	169	153	133	127	46	33	2,4×10 ⁷
K1L0	179	179	150	146	135	129	2,7×10 ⁷
K2L0	195	197	165	169	151	142	3×10 ⁷
K0L1	137x2	126x2	264	231	179	181	4,9×10 ⁸
K1L1	169x2	154x2	131x2	127x2	189	186	3,4×10 ⁹
K2L1	TBUD	tbud	228x2	324x2	194	240	3,9×10 ⁹
K0L2	TBUD	109x4	147	140	193	206	3,1×10 ⁸
K1L2	TBUD	tbud	84x4	165x2	223	220	4×10 ⁹
K2L2	TBUD	tbud	168x2	173x2	117x2	241	4,3×10 ⁹
Kontrol	151x2	163x2	271	262	241	235	4,3×10 ⁹

L.2.4 Karakteristik Morfologi Koloni BAL

Isolat	Morfologi Koloni				
	Bentuk Koloni	Warna Koloni	Tepian Koloni	Elevasi	Diameter (mm)
K+ (1)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	2,0
K+ (2)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,9
K+ (3)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,8
K+ (4)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	2,0
K0L0 (1)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	2,0
K0L0 (2)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,8
K1L0 (1)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,9
K1L0 (2)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,9
K2L0 (1)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,7
K2L0 (2)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	2,0
K0L1 (1)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,8
K0L1 (2)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,7
K1L1 (1)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,5
K1L1 (2)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,8
K2L1 (1)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,9
K2L1 (2)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	2,0
K0L2 (1)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,7
K0L2 (2)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	2,0
K1L2 (1)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	1,9
K1L2 (2)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	1,8
K2L2 (1)	Bulat	Putih	Rata	Cembung	2,0
K2L2 (2)	Bulat	Krem	Rata	Cembung	2,0

L.2.5 Karakteristik Mikroskopis BAL

Isolat	Gram	Endospora	Katalase	Tipe Fermentasi
K+ (1)	<i>+bacillus</i>	-	-	Homofermentatif
K+ (2)	<i>+coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K+ (3)	<i>+coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K+ (4)	<i>+bacillus</i>	-	-	Homofermentatif
K0L0 (1)	<i>+coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K0L0 (2)	<i>+coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K1L0 (1)	<i>+coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K1L0 (2)	<i>+bacillus</i>	-	-	Homofermentatif
K2L0 (1)	<i>+bacillus</i>	-	-	Homofermentatif
K2L0 (2)	<i>+coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K0L1 (1)	<i>+coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K0L1 (2)	<i>+coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K1L1 (1)	<i>+bacillus</i>	-	-	Homofermentatif
K1L1 (2)	<i>+coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K2L1 (1)	<i>+coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K2L1 (2)	<i>+bacillus</i>	-	-	Homofermentatif
K0L2 (1)	<i>+bacillus</i>	-	-	Homofermentatif

K0L2 (2)	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K1L2 (1)	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif
K1L2 (2)	<i>+/bacillus</i>	-	-	Homofermentatif
K2L2 (1)	<i>+/bacillus</i>	-	-	Homofermentatif
K2L2 (2)	<i>+/coccus</i>	-	-	Homofermentatif

Lampiran 3. Hasil Uji Statistik ANOVA

L.3.1 Hasil Uji *Two Way* ANOVA pH

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for ph	.097	27	.200*	.981	27	.890

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptive Statistics

Dependent Variable: ph

konsentrasi	lama	Mean	Std. Deviation	N
0%	0 hari	6.3467	.01528	3
	2 hari	4.7533	.00577	3
	3 hari	4.5733	.01528	3
	Total	5.2244	.84534	9
10%	0 hari	6.2367	.02887	3
	2 hari	4.5067	.01528	3
	3 hari	4.4067	.00577	3
	Total	5.0500	.89121	9
15%	0 hari	6.1033	.02887	3
	2 hari	4.4867	.02517	3
	3 hari	4.2367	.04041	3
	Total	4.9422	.87798	9
Total	0 hari	6.2289	.10775	9
	2 hari	4.5822	.12950	9
	3 hari	4.4056	.14740	9
	Total	5.0722	.84586	27

Levene's Test of Equality of Error Variances^{a,b}

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
ph	Based on Mean	2.203	8	18	.078
	Based on Median	.511	8	18	.832
	Based on Median and with adjusted df	.511	8	8.963	.821
	Based on trimmed mean	2.017	8	18	.103

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Dependent variable: ph

b. Design: Intercept + konsentrasi + lama + konsentrasi * lama

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ph

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	18.593 ^a	8	2.324	4450.516	.000
Intercept	694.641	1	694.641	1330163.298	.000
konsentrasi	.365	2	.183	349.553	.000
lama	18.202	2	9.101	17427.255	.000
konsentrasi * lama	.026	4	.007	12.628	.000
Error	.009	18	.001		
Total	713.244	27			
Corrected Total	18.603	26			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .999)

pH

Duncan^{a,b}

Konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
15%	9	4.9422		
10%	9		5.0500	
0%	9			5.2244
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .001.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = 0.05.

pH

Duncan^{a,b}

Lama	N	Subset		
		1	2	3
3 hari	9	4.4056		
2 hari	9		4.5822	
0 hari	9			6.2289
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .001.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = 0.05.

pHDuncan^{a,b}

Interaksi	N	Subset							
		1	2	3	4	5	6	7	8
K2L2	3	4.2367							
K1L2	3		4.4067						
K2L1	3			4.4867					
K1L1	3			4.5067					
K0L2	3				4.5733				
K0L1	3					4.7533			
K2L0	3						6.1033		
K1L0	3							6.2367	
K0L0	3								6.3467
Sig.		1.000	1.000	.298	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .001.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = 0.05.

L.3.2 Hasil Uji *Two Way* ANOVA Kadar Asam**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Standardized Residual for Titrasi	.198	27	.008	.932	27	.079

a. Lilliefors Significance Correction

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Konsentrasi	1.00	0%	9
	2.00	10%	9
	3.00	15%	9
Lama	1.00	0 hari	9
	2.00	2 hari	9
	3.00	3 hari	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Titrasi

Konsentrasi	Lama	Mean	Std. Deviation	N
0%	0 hari	.2667	.00577	3
	2 hari	.7267	.01155	3
	3 hari	.8700	.01732	3
	Total	.6211	.27320	9
10%	0 hari	.2867	.01155	3
	2 hari	.7800	.01732	3
	3 hari	1.2233	.02082	3
	Total	.7633	.40605	9
15%	0 hari	.2933	.00577	3
	2 hari	.9733	.01528	3
	3 hari	1.4467	.02082	3
	Total	.9044	.50225	9
Total	0 hari	.2822	.01394	9
	2 hari	.8267	.11314	9
	3 hari	1.1800	.25239	9
	Total	.7630	.40646	27

Levene's Test of Equality of Error Variances^{a,b}

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Titrasi	Based on Mean	1.684	8	18	.171
	Based on Median	.256	8	18	.973
	Based on Median and with adjusted df	.256	8	13.366	.970
	Based on trimmed mean	1.467	8	18	.237

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Dependent variable: Titrasi

b. Design: Intercept + Konsentrasi + Lama + Konsentrasi * Lama

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Titrasi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.291 ^a	8	.536	2374.283	.000
Intercept	15.717	1	15.717	69567.213	.000
Konsentrasi	.361	2	.181	799.492	.000
Lama	3.682	2	1.841	8148.262	.000
Konsentrasi * Lama	.248	4	.062	274.689	.000
Error	.004	18	.000		
Total	20.012	27			
Corrected Total	4.295	26			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .999)

TitrationDuncan^{a,b}

Concentration	N	Subset		
		1	2	3
0%	9	.6211		
10%	9		.7633	
15%	9			.9044
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = 0.05.

TitrationDuncan^{a,b}

Lama	N	Subset		
		1	2	3
0 hari	9	.2822		
2 hari	9		.8267	
3 hari	9			1.1800
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = 0.05.

TitrationDuncan^{a,b}

Interaksi	N	Subset						
		1	2	3	4	5	6	7
K0L0	3	.2667						
K1L0	3	.2867						
K2L0	3	.2933						
K0L1	3		.7267					
K1L1	3			.7800				
K0L2	3				.8700			
K2L1	3					.9733		
K1L2	3						1.2233	
K2L2	3							1.4467
Sig.		.053	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .000.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Alpha = 0.05.

Lampiran 4. Dokumentasi Hasil Penelitian

L.4.1 Hasil Uji pH dan TAT

Sampel	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
K0L0			
			
K1L0			
			

K2L0



K0L1



K1L1



K2L1



K0L2



K1L2



K2L2



K+



L.4.2 Hasil TPC BAL

Hasil Perhitungan TPC



K+ 10⁻⁵ (1)



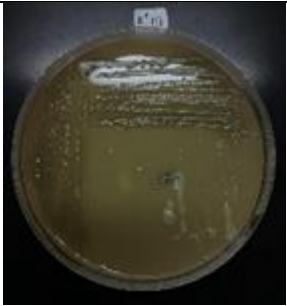
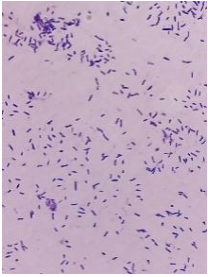
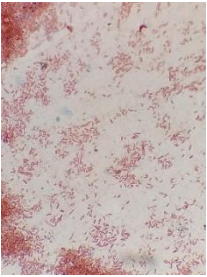
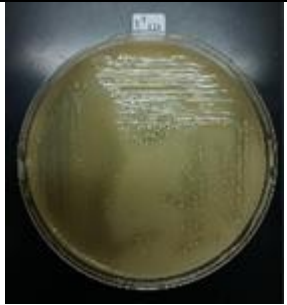
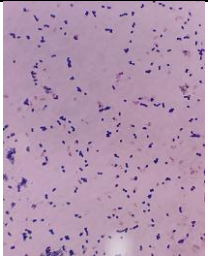
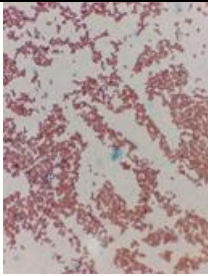
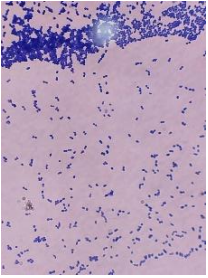
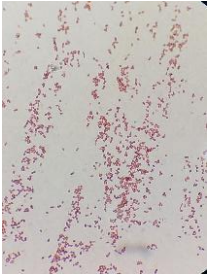
K+ 10⁻⁵ (2)

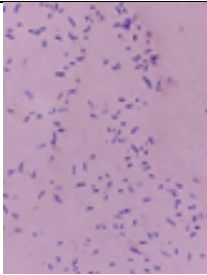
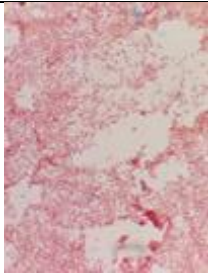
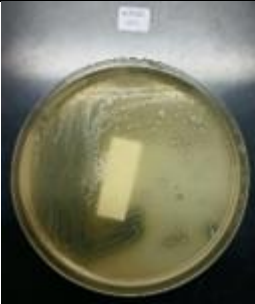
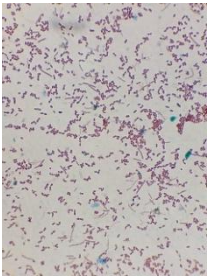
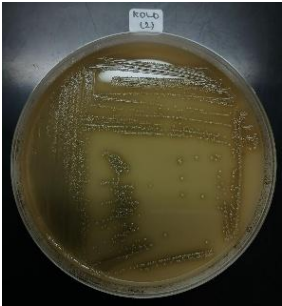
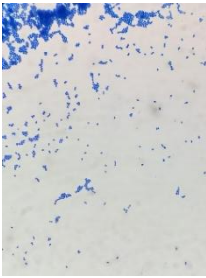
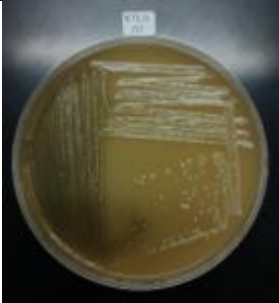
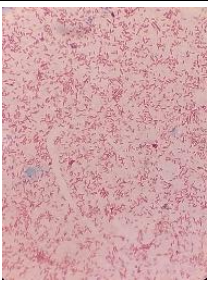


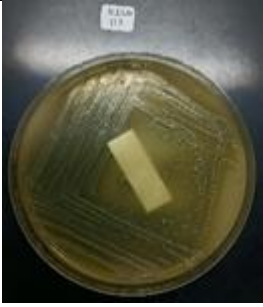
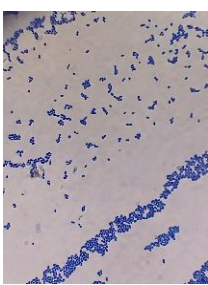
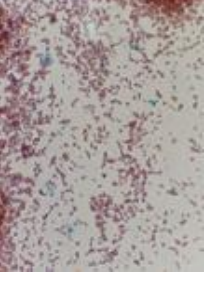
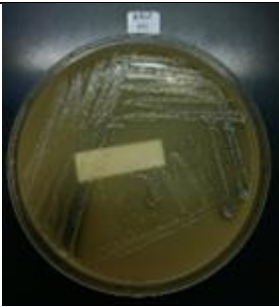
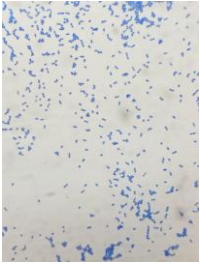
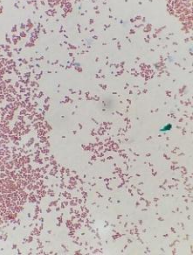
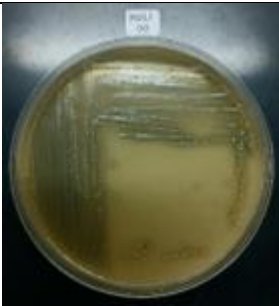
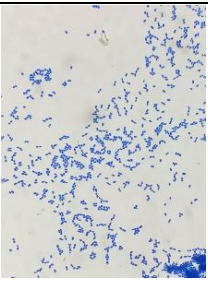
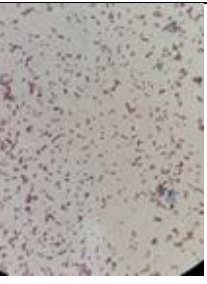
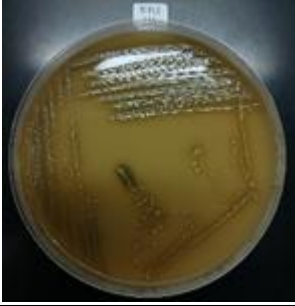
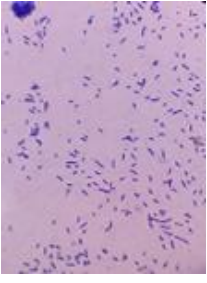
K+ 10⁻⁶ (1)

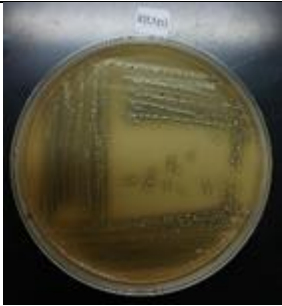
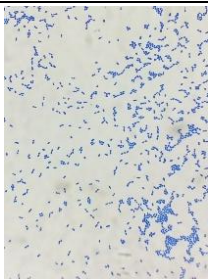
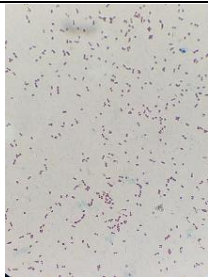
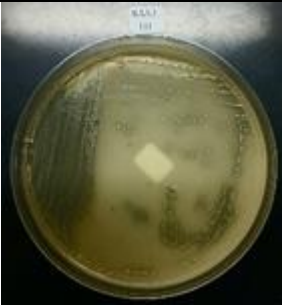
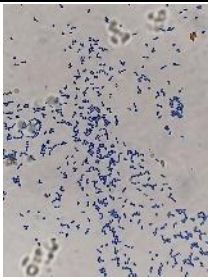
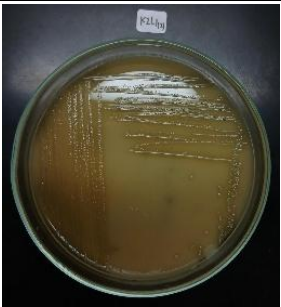
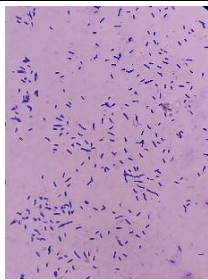
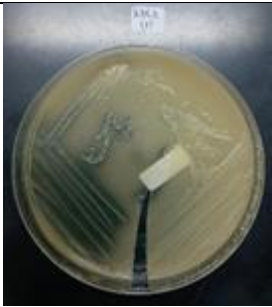
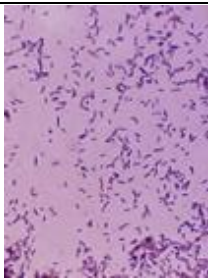
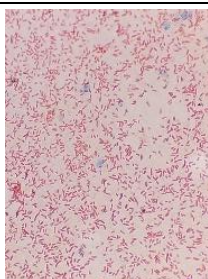
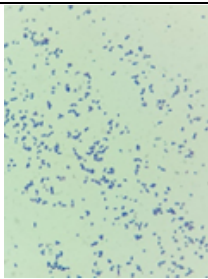
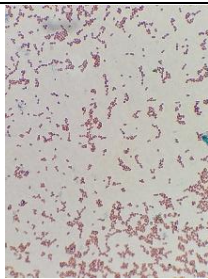
K+ 10^{-6} (2)K+ 10^{-7} (1)K+ 10^{-7} (2)

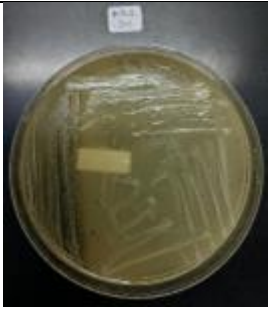
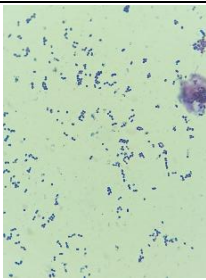
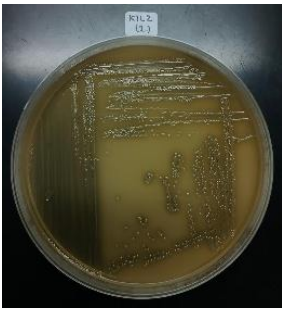
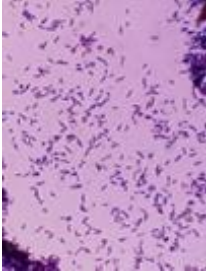
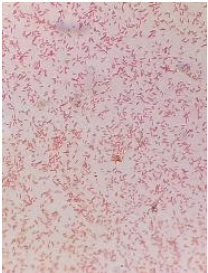
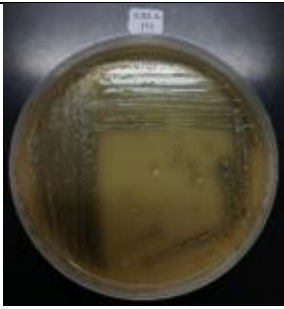
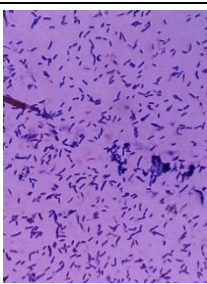
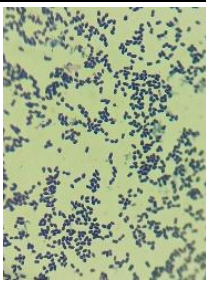
L.4.3 Dokumentasi Purifikasi, Pewarnaan Gram, dan Pewarnaan Endospora

Isolat	Purifikasi	Pewarnaan Gram	Endospora
K+ (1)			
K+ (2)			
K+ (3)			

K+ (4)			
K0L0 (1)			
K0L0 (2)			
K1L0 (1)			
K1L0 (2)			

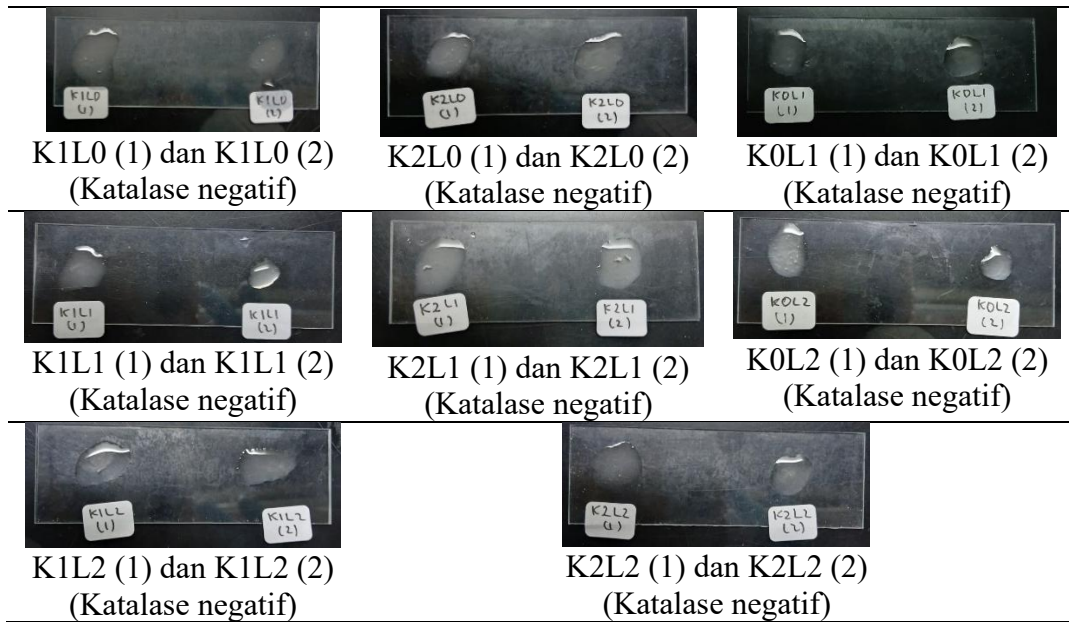
K2L0 (1)			
K2L0 (2)			
K0L1 (1)			
K0L1 (2)			
K1L1 (1)			

K1L1 (2)			
K2L1 (1)			
K2L1 (2)			
K0L2 (1)			
K0L2 (2)			

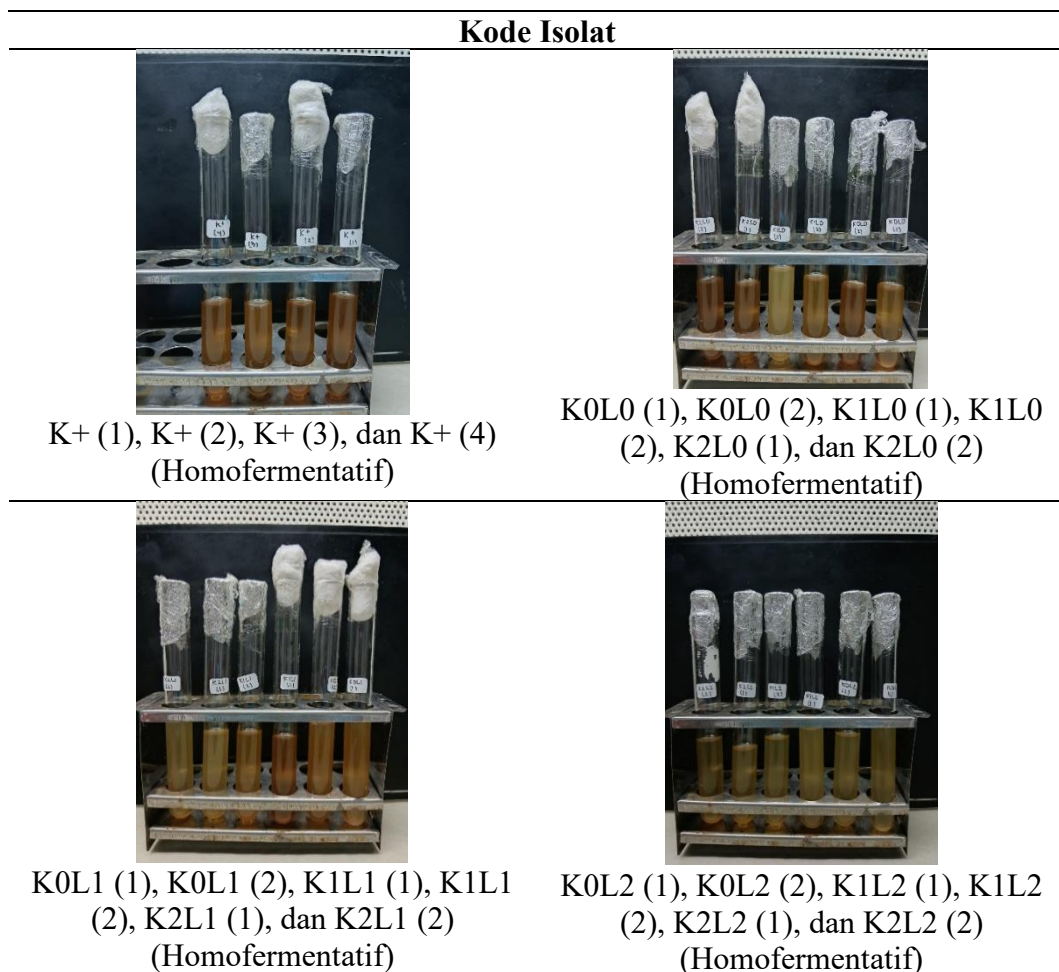
K1L2 (1)			
K1L2 (1)			
K2L2 (1)			
K2L2 (2)			

L.4.6 Dokumentasi Uji Katalase

Kode Isolat		
		
K+ (1) dan K+ (2) (Katalase negatif)	K+ (3) dan K+ (4) (Katalase negatif)	K0L0 (1) dan K0L0 (2) (Katalase negatif)



L.4.7 Dokumentasi Uji Tipe Fermentasi



Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

Gambar



Pasteurisasi susu



Penghalusan dan penyaringan buah naga merah



Pasteurisasi sari buah naga merah



Penuangan susu pasteurisasi



Penuangan sari buah naga merah pasteurisasi



Sampel lama fermentasi 0 hari



Sampel lama fermentasi 2 hari



Sampel lama fermentasi 3 hari



Serial dilution K0L0



Serial dilution K1L0



Serial dilution K2L0



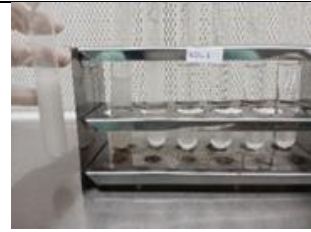
Serial dilution K0L1



Serial dilution K1L1



Serial dilution K2L1



Serial dilution K0L2



Serial dilution K1L2



Serial dilution K2L2



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
Jalan Gajayana Nomor 50, Telepon (0341) 551354, Fax (0341) 572533
Website: <http://www.uin-malang.ac.id> Email: info@uin-malang.ac.id

JURNAL BIMBINGAN SKRIPSI/TESIS/DISERTASI

IDENTITAS MAHASISWA

NIM 220602110122
Nama SALSABILA MURAUZIA
Fakultas SAINS DAN TEKNOLOGI
Jurusan BIOLOGI
Dosen Pembimbing 1 Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.
Dosen Pembimbing 2 KIVAH AHA PUTRA, M.Pd.I
Judul Skripsi/Tesis/Disertasi PENGARUH PENAMBAHAN SARI BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) DAN LAMA FERMENTASI PADA YOGURT TERHADAP KARAKTERISASI BAKTERI ASAM LAKTAT, SIFAT KIMIA DAN MIKROBIOLOGI

IDENTITAS BIMBINGAN

No	Tanggal Bimbingan	Nama Pembimbing	Deskripsi Proses Bimbingan	Tahun Akademik	Status
1	25 Juni 2025	Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.	Konsultasi topik penelitian skripsi	Genap 2024/2025	Sudah Dikoreksi
2	10 September 2025	Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.	Konsultasi judul, parameter, dan BAB I	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
3	13 Oktober 2025	Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.	Acc judul dan revisi BAB I	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
4	14 Oktober 2025	KIVAH AHA PUTRA, M.Pd.I	Konsultasi ayat dan hadis pada BAB I dan BAB II	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
5	14 Oktober 2025	Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.	Acc BAB I dan Revisi BAB II	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
6	16 Oktober 2025	Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.	Acc BAB II dan BAB III	Ganjil 2025/2026	Sudah Dikoreksi
7	19 Februari 2026	Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.	Perubahan judul skripsi setelah seminar proposal & konsultasi data hasil penelitian	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
8	11 Maret 2026	Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.	Acc data penelitian	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
9	11 Mei 2026	Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.	Bimbingan BAB IV dan V	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
10	11 Mei 2026	Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.	Acc Skripsi	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
11	12 Mei 2026	KIVAH AHA PUTRA, M.Pd.I	Bimbingan agama BAB IV	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi
12	21 Mei 2026	KIVAH AHA PUTRA, M.Pd.I	Acc Bimbingan Agama	Genap 2025/2026	Sudah Dikoreksi

Telah disetujui
Untuk mengajukan ujian Skripsi/Tesis/Disertasi

Dosen Pembimbing 2

KIVAH AHA PUTRA, M.Pd.I



Malang, _____
Dosen Pembimbing 1

Prof. Dr. ERIKA SANDI SAVITRI, M.P.



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI 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 : Salsabila Nuraulia
NIM : 220602110122
Judul : Pengaruh Penambahan Sari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) dan Lama Fermentasi pada Kualitas Yoghurt dan Keanekaragaman Bakteri Asam Laktat (BAL)

No	Tim Check plagiasi	Skor Plagiasi	TTD
1	Azizatur Rohmah, M.Sc		
2	Berry Fakhry Hanifa, M.Sc		
3	Bayu Agung Prahardika, M.Si		
4	Tyas Nyonita Punjungsari, M.Sc		
5	Maharani Retna Duhita, M.Sc., PhD.Med.Sc	22%	

Mengetahui,
 Ketua Program Studi Biologi

Prof. Dr. Retno Susilowati, M.Si
 NIP. 19671113 199402 2 001