

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dalam era modern saat ini, kesadaran masyarakat akan pentingnya menjaga kesehatan melalui pola makan yang seimbang dan bergizi semakin meningkat. Perubahan gaya hidup ini mendorong masyarakat untuk memilih alternatif pangan yang tidak hanya lezat, tetapi juga memberikan manfaat fisiologis bagi tubuh. Seiring dengan perkembangan tersebut, industri pangan turut mengarah pada inovasi produk yang tidak hanya memenuhi kebutuhan gizi dasar, melainkan juga menawarkan manfaat kesehatan tambahan. Salah satu produk yang menonjol dalam kategori pangan fungsional adalah yoghurt, yang dikenal luas karena kandungan probiotiknya yang berperan dalam menjaga kesehatan saluran pencernaan. Pangan fungsional diartikan sebagai pangan yang secara alamiah maupun telah melewati sebuah proses, mengandung suatu senyawa yang menurut kajian ilmiah dianggap memiliki fungsi fisiologis dan bermanfaat bagi kesehatan (Sekarningrum & Seveline, 2020). Pangan fungsional banyak diminati karena menawarkan cara yang praktis untuk mendukung kesehatan secara keseluruhan.

Yoghurt merupakan susu asam yang dihasilkan melalui proses fermentasi asam laktat oleh campuran bakteri asam laktat (BAL) termofilik yang membentuk rasa asam, aroma yang khas serta komponen-komponen pembentuk cita rasa (Yulia & Sutiswa, 2022). Rasa asam ini berperan dalam proses denaturasi protein susu (kasein), sehingga menyebabkan protein susu menggumpal (terkoagulasi). Perubahan ini membuat susu menjadi setengah padat dan memberikan rasa asam (Layadi et al., 2017). Asam laktat yang terkandung dalam yoghurt dapat merangsang gerak peristaltik saluran pencernaan tubuh manusia, sehingga mempercepat proses pencernaan, penyerapan, pengeluaran feses serta pembuangan bakteri patogen (Hendarto et al., 2021).

Dari segi komposisinya, yoghurt dapat dikategorikan sebagai pangan fungsional karena tidak hanya menyediakan zat gizi dasar, tetapi juga menawarkan zat gizi lain yang memberikan manfaat kesehatan tambahan (Labiba et al., 2020). Yoghurt bermanfaat bagi kesehatan anak karena memiliki probiotik untuk diare, terkhusus untuk diare yang disebabkan oleh antibiotik. Mengonsumsi yoghurt dapat meningkatkan kesehatan tulang, bermanfaat bagi orang yang memiliki tekanan darah tinggi, bahkan dapat membantu meringankan gejala sindrom iritasi usus (Zainuddin, 2024). Yoghurt yang dimaksud dalam konteks ini umumnya berbahan



seperti susu sapi atau susu kambing yang telah difermentasi dengan asam laktat. Yoghurt juga dapat terbuat dari kacang-kacangan yang dapat digunakan sebagai bahan pembuatan pangan kedelai dan kacang hijau.

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan pangan fungsional yang kaya nutrisi seperti isoflavin, saponin, leusin dan fitosterol yang dapat mencegah penyakit kardiovaskular (Supardi, 2023). Kedelai mengandung

protein kurang lebih 35%, dan dapat mencapai 40- 43% pada varietas unggul (Rani et al., 2013). Salah satu produk olahan kedelai adalah susu kedelai. Susu kedelai memiliki kandungan nutrisi yang hampir setara dengan susu hewani, tetapi biasanya dengan harga yang lebih terjangkau. Kandungan nutrisi dalam susu kedelai menjadikannya pilihan yang lebih sehat bagi banyak orang. Sari kedelai mengandung lemak, karbohidrat, fosfor, 66 provitamin A, vitamin B. Tingginya kandungan gizi membuat sari kedelai rentan rusak karena dapat dimanfaatkan oleh bakteri yang merusak (Fitriansyah & Syadi, 2014).

Protein susu kedelai memiliki susunan asam amino yang hampir sama dengan susu sapi, mengandung kalsium, fosfor, zat besi dan isoflavin yang dipercaya dapat menurunkan resiko penyakit jantung dengan membantu menurunkan kolesterol darah (Naibaho et al., 2020). Susu kedelai memiliki bau langu dan dapat menyebabkan perut kembung karena adanya kandungan rafinosa dan stakiosa kedelai yang relatif tinggi sehingga kurang diterima oleh konsumen. Maka dari itu, fermentasi susu kedelai dapat menjadi alternatif pemanfaatan susu kedelai untuk meningkatkan kenampakan, flavor atau aroma sehingga diharapkan dapat diterima oleh konsumen (Hidayati, 2010).

Selain kedelai, pembuatan yoghurt juga dapat menggunakan kacang hijau. Kacang hijau (*Vigna radiata* L.) merupakan spesies tumbuhan Fabaceae yang kaya akan protein, pati, selulosa, mineral dan vitamin. Kacang hijau mengandung asam lemak esensial (FA) yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tubuh. Kacang hijau merupakan sumber fitokimia yang kaya akan senyawa fenol dan flavonoid yang menunjukkan efek peningkatan kesehatan seperti antioksidan, antitumor dan anti radiasi (Wang et al., 2021). Protein yang terkandung pada kacang hijau sebanyak 20-25 persen dan memiliki daya cerna sekitar 77 persen pada kacang hijau mentah. Kadar asam fitat kacang hijau adalah 12,0 mg/g, lebih rendah dari kedelai yaitu 36,4 mg/g serta mengandung 27% asam lemak jenuh dan 73% asam lemak tak jenuh. Kacang hijau tidak sekedar mengandung protein nabati yang cukup tinggi, tetapi juga memiliki kandungan fosfor yang baik untuk kesehatan tulang dan mampu meningkatkan produksi air susu ibu (ASI), karena di dalam kacang hijau terdapat zat yang dapat memicu peningkatan hormon prolaktin dan oksitosin. Selain itu, kacang hijau adalah sumber bahan pangan yang rendah lemak, sehingga produk olahannya tidak mudah berbau (Sari et al., 2021).

Produk olahan kacang hijau berupa susu kacang hijau yang merupakan salah satu minuman yang berasal dari kacang hijau dan susu yang dipercaya mengandung berbagai nutrisi yang baik bagi kesehatan. Mirip dengan susu kedelai, susu kacang hijau merupakan susu nabati yang dapat dikonsumsi oleh penderita intoleransi laktosa) atau orang yang alergi terhadap susu sapi (Sari et al., 2021). Meski susu kacang hijau memang masih kalah dengan susu kedelai, namun kandungan nutrisi kacang hijau setara dengan kedelai. Penggunaan kacang hijau dan kacang kedelai dalam pembuatan yoghurt kini semakin populer dan banyak digunakan dalam pembuatan yoghurt nabati, yaitu yoghurt yang berasal dari tumbuhan



atau nabati. Secara khusus, yoghurt berbahan dasar kacang kedelai dikenal dengan nama soyghurt.

Soyghurt adalah hasil fermentasi susu kedelai dengan penambahan bakteri asam laktat (BAL) yaitu bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* (Wardani et al., 2017). Susu kedelai fermentasi memiliki aktivitas antioksidan yang baik yang didapatkan dari kandungan isoflavon yang berasal dari kacang kedelai. Sebagai pangan fungsional, soyghurt bermanfaat untuk kesehatan berkat adanya probiotik yaitu mikroorganisme hidup dalam pangan yang dapat meningkatkan kinerja dari sistem mukosal dan sistem imun, sehingga dapat meningkatkan keseimbangan penyerapan zat gizi dan jumlah mikroba dalam usus (Susanti et al., 2022).

Fermentasi merupakan salah satu proses pengolahan bahan makanan dengan memanfaatkan mikroorganisme dimana mikroorganisme tersebut akan berpengaruh terhadap proses dan produk fermentasi yang dihasilkan (Kurnia et al., 2020). Proses fermentasi memanfaatkan kemampuan mikroorganisme untuk menghasilkan metabolit primer dan sekunder dalam kondisi terkendali. Tahap awal fermentasi melibatkan pertumbuhan mikroba yang dikendalikan, terutama dalam pengembangan inokulum untuk mendapatkan sel yang hidup. Pengaturan kondisi medium, suplai oksigen, dan agitasi merupakan cara untuk mengendalikan proses fermentasi. Proses fermentasi terjadi konversi karbohidrat dan makromolekul lainnya menjadi asam organik menggunakan bakteri dalam kondisi anaerobik. Proses ini menyebabkan kandungan nutrisi bahan pangan yang difermentasi menjadi lebih baik karena lebih mudah dicerna dan diserap (Diasari et al., 2021).

Fermentasi bertujuan agar susu dapat disimpan lebih lama dan menghasilkan produk susu dengan karakteristik rasa, aroma, tekstur yang diinginkan, juga untuk menghindari atau mencegah hal-hal yang tidak menguntungkan bagi kesehatan. Makanan yang difermentasi terbukti sebagai pangan fungsional yang dapat memberikan manfaat baik bagi tubuh yang mana dapat meminimalisir risiko penyakit tertentu (Sumual et al., 2019). Fermentasi secara umum menyebabkan pemecahan laktosa menjadi asam laktat oleh enzim yang disekresikan oleh mikroba tertentu dalam usahanya untuk memanfaatkan kandungan nutrisi susu untuk pertumbuhan (Syachroni et al., 2020). Kelompok mikroba yang berperan dalam proses fermentasi bahan pangan disebut dengan probiotik.

Probiotik merupakan bakteri hidup yang dikonsumsi sebagai suplemen makanan yang mempunyai pengaruh positif terhadap kesehatan, baik pada manusia atau hewan dengan memperbaiki keseimbangan mikroflora usus (Saputri et al., 2015). Bakteri probiotik dapat memperbaiki keseimbangan mikroflora usus ketika



an pencernaan, memberikan manfaat bagi kesehatan manusia ini termasuk mengurangi gejala intoleransi laktosa dan izi dari makanan. Probiotik memiliki sifat antimutagen, anti-
okolesterolemia, serta berfungsi sebagai antagonis terhadap
nabung. Selain itu, probiotik dapat mengurangi kecenderungan
imunomodulator, mencegah diare dan meningkatkan sistem
obiotik dapat menghambat pertumbuhan bakteri berbahaya,

menurunkan hipertensi, mencegah sembelit, mengurangi senyawa karsinogen, membantu pencernaan laktosa, mendukung penyerapan mineral dan berkontribusi pada pembentukan vitamin (Diza et al., 2020).

Proses pembuatan yoghurt melibatkan proses fermentasi menggunakan bakteri asam laktat (BAL). Bakteri asam laktat adalah bakteri yang mampu memfermentasikan gula atau karbohidrat untuk memproduksi asam laktat dalam jumlah besar (Izzati et al., 2022). Asam laktat sebagai produk akhir metabolisme, menyebabkan peningkatan keasaman produk minuman pangan fermentasi. Bakteri asam laktat memanfaatkan gula sebagai sumber energi, pertumbuhan dan menghasilkan metabolit berupa asam laktat sewaktu proses (Nurhartadi et al., 2018). Selama proses metabolisme bakteri, berbagai senyawa dihasilkan, termasuk vitamin, bakteriosin, amina, dan asam lemak rantai pendek. Senyawa-senyawa ini berfungsi untuk meningkatkan rasa produk fermentasi, memperkaya nilai gizi makanan, mengurangi zat berbahaya, memperpanjang masa simpan dan mendukung kesehatan tubuh secara keseluruhan (Joshi et al., 2024).

Kelompok bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* dan *Streptococcus* merupakan kelompok bakteri yang mempunyai kemampuan untuk mengubah karbohidrat seperti laktosa dan glukosa melalui proses fermentasi menjadi asam laktat dalam jumlah yang banyak, sehingga asam laktat menjadi meningkat dengan bertambahnya gula seperti glukosa ataupun sukrosa (Handayani & Wulandari, 2016). Salah satu jenis bakteri asam laktat yang umum digunakan dalam pembuatan makanan atau minuman probiotik adalah genus *Lactobacillus*. Bakteri ini memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan. *Lactobacillus* mampu menghasilkan antibakteri, dapat mencegah penyakit diare, stimulasi sistem kekebalan tubuh, penurunan kadar kolesterol, penanganan alergi dan pencegahan dan penanganan penyakit infeksi (Anindita, 2021). Selain menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk yang dapat merusak produk, antibakteri ini dapat memperpanjang masa simpan suatu produk (Komara et al., 2022). *Lactobacillus* berfungsi untuk fermentasi dan sebagai pengawet makanan (Aini et al., 2021). Salah satu spesies *Lactobacillus* yakni *Lactobacillus plantarum*.

Lactobacillus plantarum adalah bakteri gram positif yang sering ditemukan dalam susu, daging, sayuran yang difermentasi, serta di saluran pencernaan berbagai makhluk hidup. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk tumbuh dalam kondisi anaerobik fakultatif, artinya dapat beradaptasi dan berkembang baik dalam lingkungan yang kaya oksigen maupun tanpa oksigen. Dalam suasana aerob, *Lactobacillus plantarum* dapat mengubah oksigen menjadi peroksida. Sementara itu, dalam kondisi anaerob, bakteri ini mampu menekan pertumbuhan mikroba lain,



uk menghambat mikroorganisme patogen di dalam bahan s *plantarum* menunjukkan area penghambatan yang lebih dengan jenis bakteri asam laktat lainnya (Ardilla et al., 2022). *tobacillus* ini cocok dijadikan sebagai agensi probiotik karena olahan dan garam empedu, mampu melewati asam lambung a 5, serta mampu bertahan di saluran cerna agar dapat positif bagi kesehatan (Retnowati & Kusnadi, 2014).

Pengembangan produk olahan yoghurt nabati sebagai makanan fungsional yang memiliki kandungan nutrisi seimbang diharapkan dapat meningkatkan nilai ekonomi yoghurt yang saat ini belum dimanfaatkan secara optimal. Dengan pemahaman mengenai manfaat probiotik dalam produk makanan, penting untuk melakukan biodiversifikasi pangan pada produk susu fermentasi dengan memanfaatkan kacang-kacangan yang juga memiliki nilai gizi tinggi. Berdasarkan uraian diatas, maka telah dilakukan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penambahan bakteri *Lactobacillus plantarum* terhadap kualitas nutrisi yoghurt nabati dari susu kacang kedelai dan susu kacang hijau.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan bakteri *Lactobacillus plantarum* terhadap kualitas nutrisi yoghurt nabati dari susu kacang kedelai dan susu kacang hijau.

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat penambahan *Lactobacillus plantarum* terhadap kualitas nutrisi yoghurt nabati dari susu kacang kedelai dan susu kacang hijau.



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2025- Maret 2025. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi dan Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin serta pengujian kadar protein, lemak dan glukosa dilakukan di Balai Besar Kesehatan Masyarakat Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

2.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terbagi atas dua yaitu peralatan yang digunakan dalam proses pembuatan susu nabati yaitu peralatan dapur seperti panci, kompor, blender, wadah botol, sendok dan baskom. Peralatan untuk pengujian menggunakan cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer, spatula, batang pengaduk, tabung sentrifuge, rak tabung, timbangan, ose, spoit, mikropipet, kertas pH, inkubator, lemari pendingin, oven, shaker, hot plate, laminary air flow (LAF), autoklaf, jangka sorong, waterbath dan spektrofotometer.

2.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur bakteri *Lactobacillus plantarum*, *Escherichia coli*, *Salmonella thypi*, kacang kedelai, kacang hijau, susu sapi murni (*greenfields*), air mineral, gula pasir, media deMan Ragosa Sharp Agar (MRSA), deMan Ragosa Sharp Broth (MRSB), Nutrient Agar (NA), Nutrient Broth (NB), CaCO₃, ciprofloxacin, kapas, *tissue*, blue tip, alkohol, akuades, aluminium foil, handscoon, dan kapas.

2.3 Metode Kerja

2.3.1 Pembuatan Susu Nabati

A. Pembuatan Susu Kacang Kedelai

Sebanyak 500 g biji kacang kedelai dicuci bersih lalu direndam dengan air selama 8 jam kemudian dicuci kembali dan dibuang kulitnya. Selanjutnya kacang kedelai digiling dengan bantuan blender dan ditambahkan dengan air mineral 1: 6 lalu disaring dengan kain katun bersih sebelum direbus. Kemudian direbus susu kacang kedelai dengan api sedang sambil diaduk hingga mendidih. Diamkan susu masukkan kedalam botol kaca. Disimpan susu kedelai pada dilakukan perlakuan lebih lanjut.



Susu Kacang Hijau

500 g biji kacang hijau dicuci bersih lalu direndam dengan air selama 8 jam kemudian dicuci kembali dengan cara digosok agar selaput arinya terlepas. Kemudian direbus susu kacang hijau dengan air mineral dengan perbandingan 1: 6 lalu disaring dengan kain katun bersih sebelum direbus. Kemudian direbus susu kacang hijau yang telah ditambahkan air lalu disaring

menggunakan kain katun bersih hingga dapat dipisahkan antara sari dengan ampasnya. Kemudian dilakukan perebusan dengan api sedang hingga mendidih. Didiamkan susu hingga dingin lalu dimasukkan kedalam botol kaca. Disimpan susu pada suhu dingin sebelum dilakukan perlakuan lebih lanjut.

2.3.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan yang terbuat dari kaca disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180 °C selama 2 jam dan jarum ose disterilkan dengan sterilisasi panas kering dengan nyala api bunsen sampai panas membara sedangkan peralatan yang tidak tahan panas beserta media pertumbuhan dan sampel susu disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dengan tekanan atm selama 15 menit.

2.3.3 Pembuatan Media

Media MRSA (de Man Rogosa Sharpe Agar). Sebanyak 6,2 g media MRSA dan CaCO₃ 1% dilarutkan ke dalam 100 ml akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditutup dengan menggunakan aluminium foil pada bagian mulut Erlenmeyer. Dilakukan sterilisasi secara panas basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

Media MRSB (deMan Rogosa Sharpe Broth). Sebanyak 5,2 g media MRSB dilarutkan ke dalam 100 ml akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditutup dengan menggunakan aluminium foil pada bagian mulut Erlenmeyer. Dilakukan sterilisasi secara panas basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

Media NA (Nutrient Agar). Sebanyak 2,8 g media NA dilarutkan ke dalam 100 ml akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup dengan menggunakan aluminium foil pada bagian mulut erlenmeyer. Dilakukan sterilisasi secara panas basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.

Media NB (Nutrient Broth). Sebanyak 1,3 g media NA dilarutkan ke dalam 100 ml akuades. Selanjutnya larutan dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Setelah itu, larutan dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup dengan menggunakan aluminium foil pada bagian mulut erlenmeyer. Dilakukan sterilisasi secara panas basah menggunakan autoklaf dengan suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit.



Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat dilakukan dengan cara menginokulasikan *Lactobacillus plantarum* dari kultur yang telah ada dan erlenmeyer berisi 50 mL media MRS Broth, selanjutnya media selama 24 jam.

2.3.5 Pembuatan Yoghurt Nabati

Proses pembuatan yoghurt dibuat dengan cara mencampur 100 ml susu murni (kontrol), susu kacang kedelai dan susu kacang hijau dengan gula sebanyak 5%. Kemudian dilakukan pasteurisasi pada suhu 70-80 °C selama 15 menit. Selanjutnya didinginkan hingga suhu 43-45 °C. Setelah itu diinokulasikan starter bakteri *Lactobacillus plantarum* pada masing masing susu murni, kacang kedelai dan kacang hijau sebanyak 5% dari volume susu. Dilakukan fermentasi susu selama 18 jam pada suhu 37 °C. Hasil dari perlakuan inilah yang disebut yoghurt nabati.

2.3.6 Analisis Kualitas Yoghurt

2.3.6.1 Pengujian Kadar Protein

Pengukuran kadar protein metode yang digunakan yaitu Kjeldahl (Lay et al., 2024). Metode Kjeldahl adalah metode analitik yang digunakan untuk menentukan kadar nitrogen total dalam suatu sampel, terutama digunakan untuk analisis protein. Prosedur penentuan kadar nitrogen dihitung dengan menentukan nitrogen dan dikalikan dengan faktor konversi 6,25. Kadar protein ditetapkan secara semi mikro kjeldahl. Sampel yoghurt sebanyak 0,1-1,2 gram dimasukkan ke dalam labu kjeldahl 100 ml dan ditambahkan 2 gram campuran K₂SO₄ dan CuSO₄ · 5H₂O (1:1) dan 2,5 ml H₂SO₄ pekat lalu didestruksi sampai cairan berwarna hijau jernih dan dibiarkan dingin. Setelah dingin tambahkan 10 ml akuades dan dipindahkan ke labu suling, ditambah 8-10 ml NaOH pekat (40%) sampai terbentuk warna coklat hitam dan segera disuling. Hasil penyulingan ditampung dengan erlenmeyer berisi 25 ml 0,02 N H₂SO₄ dengan 0,02 N NaOH dan juga dilakukan dengan cara yang sama untuk blanko. Kadar protein dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar protein} = \frac{(b - c) \times N \times 0,014 \times 6,25}{a} \times 100\%$$

Keterangan: a = bobot contoh (gram)
 b = titrasi blanko (ml NaOH)
 c = titrasi sampel (ml NaOH)
 N = Normalitas larutan NaOH yang digunakan

2.3.6.2 Pengujian Kadar Lemak

Prosedur penentuan kadar lemak dengan metode gravimetri (Hasan, 2009): Ditimbang 1 gram sampel yoghurt (c gram). Dimasukkan sampel dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 ml kloroform. Ditutup dengan penyumbat karet kemudian dikocok dan biarkan bermalam. Disaring menggunakan kertas saring ke dalam labu suling. Dipipet 5 ml ke dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya. Dioven dengan suhu 100 °C selama 3 jam atau biarkan pendinginan ke dalam desikator ± 30 menit. Ditimbang cawan porselin yang telah dikeringkan. Perhitungan kadar lemak dapat dihitung menggunakan rumus:



$$\text{Kadar Lemak} = \frac{P(b - a)}{C} \times 100\%$$

keterangan:

P = Pengenceran

a = Berat cawan kosong

b = Berat cawan berisi lemak setelah di oven

c = Berat contoh

2.3.6.3 Pengujian Kadar Glukosa

Penentuan kadar glukosa dengan metode spektrofotometri (Vifta & Advistasari, 2018). Diambil 1 ml sampel yoghurt dengan pipet dan di larutkan dalam 10 ml akuades, selanjutnya pipet sebanyak 10 micron (0,01 ml) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 pipet reagen warna glukosa 1000 micron/ 1 ml, lalu diinkubasi selama 10 menit dengan temperature 37 °C, terakhir membaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 545 nm.

2.3.6.4 Analisa pH

Prosedur pengukuran pH mengacu pada (Muhiddin et al., 2022). Sampel sebanyak 1 ml masing-masing dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian indikator universal dicelupkan pada sampel. Indikator universal kemudian dicocokkan pada parameter warna untuk menentukan derajat keasaman sampel.

2.3.6.5 Perhitungan Jumlah Total Bakteri

Pengukuran total bakteri dilakukan dengan menggunakan metode hitungan cawan (*Total Plate Count*) (Saputri et al., 2015). Dilakukan pengenceran terlebih dahulu kemudian sampel diambil sebanyak 1 ml pada masing- masing pengenceran yang dikehendaki dan dimasukkan ke dalam cawan petri menggunakan mikropipet 1 ml. Kemudian media MRS agar steril yang telah didinginkan sampai suhu 50 °C dimasukkan ke dalam cawan tersebut. Selama penuangan media, tutup cawan tidak boleh dibuka terlalu lebar untuk mengurangi kontaminasi dari luar. Segera setelah penuangan, cawan petri digerakkan di atas meja secara hati-hati untuk menyebarkan sel-sel bakteri asam laktat secara merata, yaitu digerakkan melingkar atau gerakan seperti angka 8. Setelah memadat cawan-cawan tersebut diinkubasi di dalam inkubator dengan posisi terbalik pada suhu 37 °C selama 48 jam. Kemudian dilakukan penghitungan jumlah mikroba (CFU/ml) dengan *colony counter*.



Uji Hambat Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella*

Bakteri Uji

Uji aktivitas antibakteri menggunakan 2 bakteri uji yaitu *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Bakteri uji tersebut kemudian diremajakan terlebih dahulu menggunakan teknik gores pada cawan petri yang selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Setelah itu, masing-masing isolat

diambil satu ose lalu disuspensikan ke dalam akuades steril 5 ml pada tabung reaksi steril, lalu suspensi dipindahkan ke cuvet dan diukur kekeruhannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm dengan transmitan 25% menggunakan akuades steril sebagai blanko.

2. Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode sumuran mengacu pada (Wardania et al., 2020). Disiapkan media NA dan dituang pada cawan petri steril ditunggu hingga memadat. Setelah memadat, diinokulasikan suspensi bakteri uji dan diratakan dengan batang bengkok hingga homogen. Kemudian media dilubangi menggunakan blue tip steril dengan cara ditempelkan hingga terbentuk sumuran pada permukaan media. Sumuran dibuat sesuai dengan jumlah sampel dan kontrol yang digunakan. Kedalam sumur tersebut diisi masing-masing 50 µl sampel yoghurt, kontrol positif (Ciprofloxacin) dan negatif (akuades) kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Semua cawan petri dibuat duplo. Hasil positif, apabila terdapat zona bening disekitar sumur dan diukur menggunakan jangka sorong.

2.4 Analisis Data

Data yang telah diperoleh selanjutnya diolah secara deskriptif dan hasil analisis disajikan dalam bentuk gambar dan tabel. Analisis deskriptif dilakukan dengan mengamati hasil pengujian kualitas nutrisi produk makanan (yoghurt) dari fermentasi bakteri probiotik. Analisis data meliputi pengukuran diameter zona hambat terhadap bakteri patogen *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*.

