

# Enumerasi BAL dari *Whey Starter* dan Analisis Volume *Whey* yang Dihasilkan dalam Pembuatan Yogurt

Ni Luh Putu Manik Widiyanti<sup>1\*</sup>, I Wayan Sukra Warpala<sup>2</sup>, Maulana Fajar Shodique Al Achmad<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Program Studi Biologi, Universitas Pendidikan Ganesha, Singaraja, Indonesia

\*[putu.manik@undiksha.ac.id](mailto:putu.manik@undiksha.ac.id)

## ABSTRAK

Yogurt adalah minuman kesehatan berbahan dasar susu yang difermentasi oleh bakteri asam laktat. Proses fermentasi bahan pangan dapat meningkatkan cita rasa, aroma, tekstur dan kandungan utama dari bahan pangan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dua hal, meliputi (1) enumerasi bakteri asam laktat (BAL) dari *whey starter* (2) menganalisis perbedaan volume *whey* dalam pembuatan yogurt menggunakan variasi volume *whey* induk berbeda, dan untuk mengetahui karakteristik yogurt yang di hasilkan dari variasi volume *whey* yang berbeda dalam pembuatan yogurt. Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental sungguhan (true experiment) dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Hasil penelitian menunjukkan bahwa (1) enumerasi BAL dari *starter whey* didapatkan  $4,9 \times 10^6$  CFU/mL nilai signifikansi sebesar  $0,000 < 0,05$  sehingga dapat dinyatakan bahwa (1) perbedaan volume *whey* dari pembuatan yogurt menggunakan variasi volume *whey* induk yang berbeda; dan (2) karakteristik yogurt yang dihasilkan dari variasi volume *whey* yang berbeda dalam pembuatan yogurt adalah kurang kental dan agak kental.

**Kata Kunci:** Enumerasi, Karakteristik yogurt, Pembuatan yogurt, Variasi volume *whey*

## 1. PENDAHULUAN

Yogurt adalah minuman fermentasi yang mengandung bakteri asam laktat, yang memberikan manfaat kesehatan potensial bagi sistem pencernaan dengan mendorong pemulihan keseimbangan mikroba di dalam saluran usus manusia. Belakangan ini, telah ada pengakuan yang berkembang di kalangan individu tentang pentingnya menjaga kesehatan seseorang melalui konsumsi produk yang bermanfaat, seperti yogurt. Yogurt diketahui memiliki manfaat potensial seperti menurunkan kolesterol, menghambat pertumbuhan bakteri patogen, dan menurunkan risiko kanker. Yogurt menunjukkan atribut kunci tertentu, termasuk tekstur yang kental hingga sebagian padat, aroma yang dapat dilihat, rasa asam, dan komposisi yang seragam.

Gianti dan Evanuari (2011) menyatakan bahwa proses fermentasi bahan pangan dapat meningkatkan cita rasa, aroma, tekstur dan kandungan utama dari bahan pangan tersebut. Selain itu, fermentasi dapat menurunkan kadar gula dan menghasilkan dampak pengasaman sehingga memberikan rasa segar. Yogurt mempunyai kekentalan dan rasa khas sehingga dapat dijadikan sebagai produk susu alternatif bagi konsumen. Yogurt dapat memperbaiki proses pencernaan protein dan lemak, merangsang sekresi cairan yang diperlukan untuk proses pencernaan seperti air liur, cairan lambung, empedu dan pankreas serta mengurangi timbulnya reaksi alergi terhadap laktosa. Hiperkolesterolemia dapat diatasi dengan mengkonsumsi minuman yang mengandung mikroflora yang dapat memperbaiki keseimbangan mikroflora intestinal atau minuman probiotik dengan menghasilkan laktat. Bakteri yang digunakan untuk starter dalam pembuatan minuman laktat akan mempengaruhi tekstur, flavor dan aroma laktat. Berbagai spesies bakteri yang berperan dalam fermentasi untuk menghasilkan minuman laktat untuk menghasilkan citarasa minuman laktat, antara lain *Lactobacillus bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei* dan *Streptococcus thermophilus*.

Bakteri *Lactobacillus* sp mampu menghasilkan asam laktat dan bakteriosin. Fungsi dari keduanya adalah menekan pertumbuhan dan membunuh bakteri patogen dalam usus. *Lactobacillus bulgaricus* sangat berperan dalam pembentukan aroma minuman laktat. *Lactobacillus acidophilus* dapat menurunkan keasaman dengan cepat, *Streptococcus thermophilus* berperan dalam pembentukan citarasa minuman probiotik (Jannah dkk., 2014). *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*, ketiga jenis bakteri asam laktat ini bersifat homofermentatif yaitu menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dalam fermentasi karbohidrat dan sebagian kecil asetat melalui mekanisme glikolisis. Bakteri asam laktat yang bersifat heterofermentatif melalui jalur pentosa fosfat, sebagian besar diubah menjadi asam asetat, asam propionat dan butirir melalui jalur asetil- KoA (Novia, 2012).

Laktosa pada susu akan dihidrolisis menjadi glukosa dan galaktosa yang kemudian melalui glikolisis dan fermentasi akan diubah menjadi asam laktat dan asetaldehid dalam proses fermentasi yogurt. Selain itu kasein (protein susu) akan mengental dan membuat yogurt menjadi kental. Yogurt tanpa lemak

menurut SNI (Badan Standardisasi Nasional, 2019) adalah yogurt dengan kandungan lemak maksimal 0,5% dengan total padatan bukan lemak minimal 8,2%. Total padatan susu (termasuk lemak) pada pembuatan yogurt berkisar dari 9-20%. Kandungan total padatan 12-14% sudah cukup untuk mendapatkan konsistensi yogurt yang baik. Berkurangnya komponen lemak dalam yogurt akan mengurangi total padatan yogurt sehingga berakibat pada kurang baiknya karakteristik yogurt serta meningkatkan terjadinya pemisahan *whey* pada yogurt.

*Whey* susu didefinisikan sebagai serum atau bagian air dari susu yang tersisa setelah pemisahan *curd* dan merupakan hasil koagulasi protein susu dengan asam atau enzim proteolitik. Komposisi *whey* masih mengandung 50% nutrisi susu. Komponen terbesar *whey* adalah laktosa (4,5-5%) (Utami, dkk., 2017). Laktosa dapat dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri asam laktat untuk menghasilkan berbagai senyawa metabolit seperti asam laktat dan antimikroba melalui proses fermentasi. Proses fermentasi menaikkan jumlah bakteri asam laktat *whey* hingga 48%, dan aktivitas antioksidan hingga 27,7% (Rahman, 2014). Antimikroba pada fermentasi asam laktat dimanfaatkan sebagai terapeutik karena menghambat pertumbuhan bakteri patogen. *Whey* mengandung laktoferin yang berfungsi sebagai antioksidan (Utami, 2017). *Whey* sebagai produk yang bermanfaat untuk manusia membutuhkan teknologi pengolahan lebih lanjut, antara lain dalam pembuatan yogurt kembali. Berdasarkan hal tersebut, karakteristik yogurt sangat penting untuk diteliti dilihat dari volume *whey* dan *curd* yogurt yang dihasilkan serta jumlah bakteri asam laktat dalam enumerasi yang terkandung dalam *starter whey* dengan menggunakan volume *starter whey* yang bervariasi.

## 2. METODE

### 2.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah *true experimental* dengan desain Rancangan Acak Lengkap, dengan rancangan *Posttest Control Group Design*, yang mengacu rumus Gazpers (1991) dengan formulasi :  $t(r-1) \geq 20$ . Perlakuan dengan menggunakan variasi volume *starter whey* yaitu 3 ml, 6 ml dan 9 ml dalam setiap 30 ml susu *low fat* yang telah dipasteurisasi. Diinkubasi pada incubator (modifikasi) selama 1 x 24 jam. Replikasi dilakukan sebanyak 8 kali.

### 2.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan penelitian adalah sebagai berikut: gula pasir, *starter* yogurt kering untuk membuat yogurt induk, alkohol 70%, alkohol 95%, susu rendah lemak, akuades steril, medium MRS Agar (*De Man, Rogosa Sharpe Agar*) digunakan untuk media pertumbuhan bakteri asam laktat.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: autoklave, neraca digital, termometer air dan thermometer ruang, *waterbath*, penangas, erlenmeyer, beaker glass, pH meter, tissue, laminar airflow, tabung reaksi, aluminium foil, plastik, kertas, karet, bunsen, gelas plastik/kaca, inkubator modifikasi, cawan petri, spatula, pipet tetes, pipet ukur (*spoit/syringe*).

### 2.3. Prosedur Kerja

Prosedur kerja penelitian adalah sebagai berikut.

1. Aktivasi *starter* yogurt.
2. *Starter* yogurt sebanyak 6.5 gr *starter* kering ditambahkan 7 ml gula 10% dan 200 ml air mineral. Diinkubasi selama 1 x 24 jam.
3. Membuat *starter* induk dengan cara 300 ml susu *full cream* UHT ditambahkan 7 ml gula 10% dan 7 ml *starter* aktif.
4. Membuat yogurt dengan cara 300 ml susu *low fat* ditambahkan gula konsentrasi 10% sebanyak 10 ml dan tambahkan 30 ml *starter* induk dan diinkubasi selama 1 x 24 jam
5. Isolasi *whey* yogurt dan dihitung volume *whey* dan padatannya
6. BAL ditumbuhkan pada medium MRSA dari *whey* hasil isolasi
7. Inkubasi BAL pada inkubator selama 1 x 24 jam
8. Dilakukan enumerasi
9. *Whey* ditambahkan sesuai volume perlakuan (3 ml, 6 ml dan 9 ml) pada masing-masing 30 ml susu *low fat* dan 15% gula dengan sumber karbon gula pasir.
10. Kontrol dibuat tanpa penambahan *starter* dan gula pada susu.
11. Diinkubasi pada inkubator modifikasi selama 1 x 24 jam
12. Isolasi *whey* dan dihitung volume *whey* dan padatan untuk setiap perlakuan

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1 Enumerasi BAL

Berikut adalah hasil dari enumerasi bakteri asam laktat (BAL) waktu penelitian.

Tabel 1. Hasil enumerasi BAL *starter* induk

Pengenceran	Jumlah koloni BAL (CFU/mL)
10 <sup>-1</sup>	>300 (TBUD)
10 <sup>-2</sup>	>300 (TBUD)
10 <sup>-3</sup>	>300 (TBUD)
10 <sup>-4</sup>	140 x 10 <sup>4</sup>
10 <sup>-5</sup>	73 x 10 <sup>5</sup>
10 <sup>-6</sup>	2 x 10 <sup>6</sup>
10 <sup>-7</sup>	0
Total	4,9 x 10 <sup>6</sup> CFU/mL

Keterangan : TBUD : Terlalu Banyak Untuk Dihitung

Tabel 2. Hasil Enumerasi *Starter Whey* Untuk Perlakuan

Pengenceran	Jumlah koloni BAL (CFU/mL)
10 <sup>-1</sup>	>300 (TBUD)
10 <sup>-2</sup>	>300 (TBUD)
10 <sup>-3</sup>	>300 (TBUD)
10 <sup>-4</sup>	>300 (TBUD)
10 <sup>-5</sup>	216 x 10 <sup>5</sup>
10 <sup>-6</sup>	12 x 10 <sup>6</sup>
10 <sup>-7</sup>	1 x 10 <sup>7</sup>
Jumlah	2,16 x 10 <sup>7</sup> CFU/mL

Keterangan : TBUD : Terlalu Banyak Untuk Dihitung

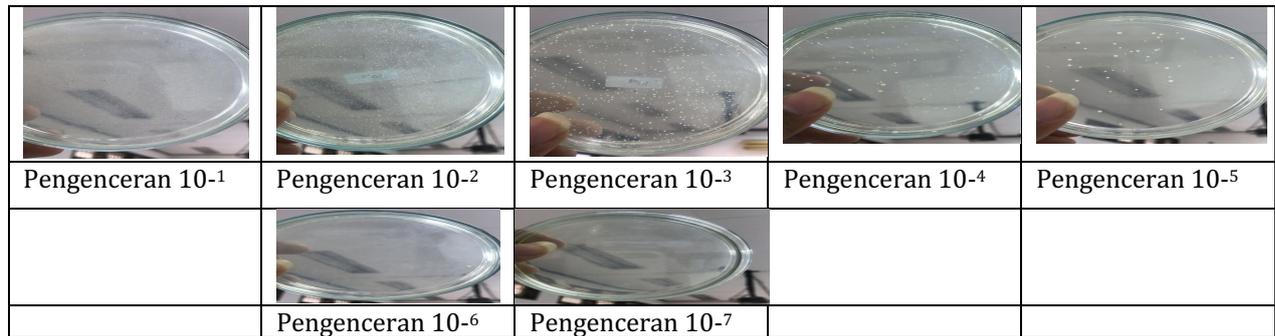
### 3.2 Pengukuran pH dan Suhu Inkubasi

Bakteri yang memfermentasi laktosa menghasilkan yogurt dan asam laktat, sehingga akan menurunkan pH medium. Suhu yang dibutuhkan untuk membuat yogurt, bervariasi sesuai dengan jenis bakteri yang memfermentasi, sesuai dengan **Tabel 3** di bawah.

Tabel 3. pH dan Suhu Inkubasi Saat Penelitian

No	pH				Suhu inkubasi (incubator modifikasi) membuat yogurt	Suhu incubator pertumbuhan BAL
	Susu	<i>Starter</i> aktif	<i>Whey</i> induk	yogurt <i>Whey</i> perlakuan	°C	°C
1	7	6	5	4	46	37

Dari hasil analisis statistik menggunakan SPSS versi 16. didapatkan hasil sebagai berikut



Gambar 1. Jumlah mikroba pada setiap pengenceran

Hasil uji statistic non parametrik K-S, menunjukkan data berdistribusi normal, seperti pada **Tabel 4**

Tabel 4. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Volume	whey	curd
N		32	32	32
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	2.5000	11.0312	10.8438
	Std. Deviation	1.13592	1.06210E1	1.02583E1
Most Extreme Differences	Absolute	.170	.296	.300
	Positive	.170	.296	.300
	Negative	-.170	-.172	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z		.962	1.676	1.698
Asymp. Sig. (2-tailed)		.313	.007	.006
a. Test distribution is Normal.				
Hasil uji K-S menunjukkan data berdistribusi normal dilanjutkan dengan uji statistic Mannova dan didapatkan hasil uji homogenitas Levene's test menunjukkan data tidak homogen seperti tabel dibawah ini				

Tabel 5. Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

	F	df1	df2	Sig.
whey	7.915	3	28	.001
curd	17.247	3	28	.000
Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.				
a. Design: Intercept + Volume				

Hasil Uji Mannova, replikasi ditunjukkan oleh Tabel 6, uji Multivariat ditunjukkan oleh Tabel 7, dan karena data tidak homogen, dilanjutkan dengan uji *post hock test* menggunakan *Ganes-Howell*, seperti Tabel 9.

Tabel 6. Between-Subjects Factor

		Value Label	N
Volume	1	volume 3ml	8
	2	volume 6 ml	8
	3	volume 9 ml	8
	4	kontrol	8

Tabel 7. Multivariate Tests<sup>c</sup>

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	
Intercept	Pillai's Trace	.773	45.862 <sup>a</sup>	2.000	27.000	.000
	Wilks' Lambda	.227	45.862 <sup>a</sup>	2.000	27.000	.000
	Hotelling's Trace	3.397	45.862 <sup>a</sup>	2.000	27.000	.000
	Roy's Largest Root	3.397	45.862 <sup>a</sup>	2.000	27.000	.000
Volume	Pillai's Trace	.656	4.554	6.000	56.000	.001
	Wilks' Lambda	.374	5.710 <sup>a</sup>	6.000	54.000	.000
	Hotelling's Trace	1.591	6.894	6.000	52.000	.000
	Roy's Largest Root	1.539	14.361 <sup>b</sup>	3.000	28.000	.000
a. Exact statistic						
b. The statistic is an upper bound on F that yields a lower bound on the significance level.						
c. Design: Intercept + Vol						

Dari uji Mannova menunjukkan bahwa nilai signifikansi menunjukkan nilai  $p < 0,05$  yang menunjukkan ada perbedaan signifikan diantara perlakuan.

Tabel 8. Tests of Between-Subjects Effects

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	whey	1988.594 <sup>a</sup>	3	662.865	12.305	.000
	curd	1425.344 <sup>b</sup>	3	475.115	7.242	.001
Intercept	whey	3894.031	1	3894.031	72.285	.000
	curd	3762.781	1	3762.781	57.357	.000
Volume	whey	1988.594	3	662.865	12.305	.000
	curd	1425.344	3	475.115	7.242	.001
Error	whey	1508.375	28	53.871		
	curd	1836.875	28	65.603		
Total	whey	7391.000	32			
	curd	7025.000	32			
Corrected Total	whey	3496.969	31			
	curd	3262.219	31			
a. R Squared = .569 (Adjusted R Squared = .522)						
b. R Squared = .437 (Adjusted R Squared = .377)						

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	whey	1988.594 <sup>a</sup>	3	662.865	12.305	.000
	curd	1425.344 <sup>b</sup>	3	475.115	7.242	.001
Intercept	whey	3894.031	1	3894.031	72.285	.000
	curd	3762.781	1	3762.781	57.357	.000
Volume	whey	1988.594	3	662.865	12.305	.000
	curd	1425.344	3	475.115	7.242	.001
Error	whey	1508.375	28	53.871		
	curd	1836.875	28	65.603		
Total	whey	7391.000	32			
	curd	7025.000	32			
Corrected Total	whey	3496.969	31			
	curd	3262.219	31			

**Tabel 8** menunjukkan bahwa model terkoreksi, intercept dan perlakuan volume *starter whey* terhadap volume *whey* dan padatan (*curd*) yang dihasilkan dalam pembuatan yogurt menunjukkan nilai  $p < 0,05$  yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan diantara model, intercept dan perlakuan. Selanjutnya dilakukan uji lanjut dengan *post hock test* dengan menggunakan *Games Howell* karena data tidak homogen dari uji Levene's test dan didapatkan hasil seperti pada **Tabel 9** di bawah.

**Tabel 9.** Hasil Uji Post Hock Dengan *Games Howell* Sebagai Berikut

Games-Howell

Dependent Variable			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
	(I) Volume	(J) Volume				Lower Bound	Upper Bound
whey	volume 3ml	volume 6 ml	-14.1250*	2.89820	.003	-22.9890	-5.2610
		volume 9 ml	-11.7500	5.03825	.147	-26.7951	3.2951
		kontrol	4.7500	2.61691	.342	-3.9124	13.4124
	volume 6 ml	volume 3ml	14.1250*	2.89820	.003	5.2610	22.9890
		volume 9 ml	2.3750	4.48186	.949	-11.9114	16.6614
		kontrol	18.8750*	1.24553	.000	14.7521	22.9979
	volume 9 ml	volume 3ml	11.7500	5.03825	.147	-3.2951	26.7951
		volume 6 ml	-2.3750	4.48186	.949	-16.6614	11.9114
		kontrol	16.5000*	4.30531	.026	2.2487	30.7513
	kontrol	volume 3ml	-4.7500	2.61691	.342	-13.4124	3.9124
		volume 6 ml	-18.8750*	1.24553	.000	-22.9979	-14.7521
		volume 9 ml	-16.5000*	4.30531	.026	-30.7513	-2.2487
curd	volume 3ml	volume 6 ml	-9.8750	4.30713	.175	-23.4757	3.7257
		volume 9 ml	-5.5000	5.56456	.758	-21.6867	10.6867
		kontrol	8.0000	4.08831	.288	-5.5330	21.5330
	volume 6 ml	volume 3ml	9.8750	4.30713	.175	-3.7257	23.4757
		volume 9 ml	4.3750	4.01087	.704	-8.2114	16.9614
		kontrol	17.8750*	1.35538	.000	13.3885	22.3615
	volume 9 ml	volume 3ml	5.5000	5.56456	.758	-10.6867	21.6867
		volume 6 ml	-4.3750	4.01087	.704	-16.9614	8.2114
		kontrol	13.5000*	3.77492	.036	1.0044	25.9956
	kontrol	volume 3ml	-8.0000	4.08831	.288	-21.5330	5.5330
		volume 6 ml	-17.8750*	1.35538	.000	-22.3615	-13.3885
		volume 9 ml	-13.5000*	3.77492	.036	-25.9956	-1.0044

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 65.603.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel 9 di atas nampak bahwa perlakuan pemberian volume *starter whey* 3 ml dengan 6 ml berbeda bermakna, sedangkan dengan perlakuan 9 ml dan kontrol tidak berbeda bermakna terhadap volume *whey* yang dihasilkan. Perlakuan pemberian *starter* volume *whey* 6 ml dengan 9 ml tidak bermakna dan dengan kontrol berbeda bermakna. Perlakuan 9 ml dengan kontrol berbeda bermakna. Hasil padatan yang dihasilkan, menunjukkan bahwa hanya perlakuan 6 ml dan 9 ml terhadap kontrol menunjukkan perbedaan yang bermakna dalam fermentasi tersebut. Hal ini tergantung pada susu yang digunakan dan jumlah *starter whey* yang dipergunakan, keberadaan bakteri dalam larutan saat pengambilan untuk volume perlakuan, karena pada penelitian ini tidak melakukan enumerasi di setiap perlakuan. Dalam pembuatan yogurt ini kontrol (tanpa pemberian *starter*) tidak berbeda bermakna terhadap perlakuan 3 ml terhadap padatan yang dihasilkan.

*Whey* dari hasil pembuatan yogurt dapat dimanfaatkan sebagai *starter* yogurt karena masih mengandung mikroba yaitu kelompok Bakteri Asam Laktat (BAL) (Oktafiyanti et al, 2022). Dalam penelitian ini, jumlah mikroba yang terdapat pada *whey* yang dijadikan *starter* dalam pembuatan yogurt adalah  $2,16 \times 10^7$  CFU/ml, dengan karakteristik padatan yang dihasilkan sesuai dengan tekstur yogurt dari kurang kental sampai agak kental. Seperti yang disampaikan oleh Utami et al (2017) menyatakan bahwa, semakin banyak konsentrasi gula dalam media maka total asam laktat setelah fermentasi meningkat. Pada penelitian ini ditambahkan gula sebanyak 15% pada formulasi susu, *starter* dari *whey* F1 (perlakuan) dan gula 15% dan pH yogurt adalah 4. Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri adalah adanya nutrisi untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Semakin tinggi konsentrasi (NH<sub>2</sub>)HPO<sub>4</sub> dan

sukrosa maka rerata total BAL akan semakin meningkat Total gula mengalami penurunan setelah proses fermentasi, karena sukrosa dimanfaatkan oleh bakteri asam laktat sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhan yang selanjutnya akan dirombak menjadi asam laktat. Mikroba membutuhkan gula untuk aktivitas metabolisme dan perkembangbiakan sel. Hal tersebut berkaitan dengan peningkatan jumlah sel bakteri, dimana semakin banyak sel bakteri yang ada, maka sukrosa akan semakin banyak digunakan untuk metabolisme sel. Total gula akan semakin menurun seiring dengan makin tingginya konsentrasi  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  yang ditambahkan. Penurunan total gula dikarenakan proses metabolisme dari sel mikroba. Mikroba akan merombak senyawa karbon (sukrosa/gula) menjadi energi untuk pertumbuhan dan asam laktat sebagai metabolitnya. Penambahan  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  sebagai sumber nitrogen dan sukrosa sebagai sumber karbon diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri asam laktat sehingga dapat mempengaruhi aktivitas antibakterinya. Jika semakin tinggi konsentrasi sukrosa yang diberikan, maka nilai pH dari minuman fermentasi *whey* keju yang dihasilkan semakin rendah. Hal tersebut dikarenakan perlakuan penambahan sukrosa diduga dapat memberikan nutrisi tambahan bagi bakteri asam laktat untuk metabolisme dan pertumbuhan sel. Dengan tersedianya nutrisi yang optimal, maka aktivitas bakteri asam laktat akan meningkat sehingga menyebabkan jumlah asam hasil metabolisme juga meningkat. Hal ini pula dinyatakan oleh peneliti lain, seperti pernyataan berikut. Semakin tinggi konsentrasi laktosa pada *whey* menyebabkan aktivitas mikroba semakin tinggi dan penguraian laktosa menjadi gula sederhana yang dimetabolisme menjadi asam laktat juga akan semakin tinggi pula. Penambahan *yeast extract* sebesar 4% dapat menghasilkan jumlah asam laktat yang tertinggi. Hal ini dikarenakan *yeast extract* merupakan sumber nitrogen organik yang memiliki komponen nutrisi yang beragam dan kompleks serta kaya oleh asam-asam amino yang dibutuhkan untuk aktivitas mikroorganisme *whey* keju dengan penambahan sumber nitrogen dapat digunakan sebagai medium fermentasi (Utami et al, 2017). Selama proses inkubasi, probiotik mengubah protein menjadi sumber karbon dan energi, serta menghidrolisis lemak menjadi asam lemak dan gliserol secara optimal (Maryana, 2014) Pengaruh penambahan sumber nitrogen dengan jenis yang berbeda juga terjadi pada jenis BAL lainnya. Peningkatan jumlah BAL diikuti penurunan nilai total gula seiring dengan lamanya waktu fermentasi. Adanya penurunan kadar glukosa selama proses fermentasi menunjukkan tingkat konsumsi glukosa oleh bakteri *P. pentosaceus*. Hasil pengukuran diketahui bahwa nilai total gula yang terkandung pada media (Safitri et al, 2016). Peneliti lain menyatakan bahwa penambahan tingginya konsentrasi sukrosa menghasilkan penurunan nilai penerimaan karakteristik flavor (Zhu & Duan, 2017). Penambahan sumber karbon yang lain yaitu inulin 1% dan 2% dalam pembuatan yogurt tidak berpengaruh terhadap pH dan keasaman selama dalam penyimpanan yogurt (Mazloomi et al, 2011).

Kadar lemak dan protein semakin menurun berbanding terbalik dengan meningkatnya jumlah bakteri yang terkandung dalam susu fermentasi. Semakin besar pengenceran maka semakin sedikit jumlah bakteri dalam susu tersebut, sehingga kandungan protein dan lemak akan semakin besar Pada metabolisme protein, *Lactobacillus fermentum* menghasilkan enzim LAB cystathionine- $\gamma$ -lyase untuk proses metabolisme methionin dan sistein. Cystathionine Lyase (CxL) ini memberikan kontribusi berupa flavor yang khas pada produk susu fermentasi Gänzle et al dalam (Maryana, 2014).

Konsentrasi *whey* pada beberapa tingkat konsentrasi dapat digunakan untuk menghasilkan yogurt dimana berefek pada karakterisasi fisikokimia dan kualitasnya. Konsentrasi *whey* pada tingkat 10% untuk fortifikasi untuk menghasilkan tipe yogurt yang sesuai. Peningkatan konsentrasi komponen *whey* lebih dari 10% mengakibatkan peningkatan dalam rasa pahit, perubahan penampakan dan warna, flavor dan tekstur membuatnya tidak dapat diterima oleh konsumen. Peningkatan dalam keasaman, NPN, laktosa dan sineresis (padatan yang dipisahkan dari *whey*) dan total padatan diobservasi sebagai konsentrasi *whey* yang ditingkatkan lebih dari 10% dalam formulasi yogurt (Rashid et al., 2019).

Penurunan kadar proksimat juga berkaitan dengan peningkatan jumlah asam laktat yang dihasilkan selama fermentasi. Asam laktat merupakan metabolit yang dihasilkan dari laktosa yang digunakan oleh bakteri. Semakin tinggi asam laktat, maka pH susu fermentasi semakin rendah dan rasanya menjadi lebih asam. Penurunan kadar asam laktat menunjukkan adanya kesesuaian antara jumlah bakteri pada masing-masing seri pengenceran dengan aktivitas metabolisme laktosa sebagai sumber energi. Aroma yang khas dan tajam pada yoghurt merupakan peran dari *L. bulgaricus*. *Lactobacillus* juga menghasilkan substansi-substansi yang bersifat menghambat terhadap pertumbuhan mikroba yang tidak sesuai. Produk metabolit utama dari bakteri ini adalah asam laktat dan komponen aroma seperti asetildehid dan diasetil. *Lactobacillus* menghasilkan hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dan senyawa penghambat (bulgarikan). Produk menjadi lebih awet karena bakteri yang tidak diinginkan terhambat pertumbuhannya oleh *Lactobacillus*. *S. thermophilus* dalam pertumbuhannya lebih cepat serta menghasilkan asam dan karbondioksida. Cita rasa dan tingkat keasaman dalam yoghurt juga dipengaruhi oleh *S. thermophilus* karena perannya dalam menurunkan pH. Selain itu, aroma yang ditimbulkan pada yogurt juga merupakan akibat peran dari *S. thermophilus* (Hendarto et al, 2021).

Faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi kemampuan bakteri untuk tumbuh dan berkembang ialah suhu. Setiap kultur bakteri memiliki beberapa strain mikroba yang mempunyai suhu optimum yang berbeda-beda untuk dapat tumbuh dan berkembang ( Budiarti et al, 2013) . Tinggi rendahnya kadar asam laktat dipengaruhi oleh kemampuan bakteri asam laktat dalam membentuk asam laktat yang ditentukan oleh jumlah starter, jenis starter yang digunakan dan keadaan lingkungan fermentasi selama inkubasi (Nurhasanah dkk., 2019). Optimalisasi *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* pada proses pengolahan yogurt yang berkualitas dapat diperhatikan 2 faktor utama yang mempengaruhi yaitu suhu pertumbuhan kedua bakteri yang harus optimal 42°C serta pH yang optimal 6,15 (Hendarto et al, 2021). Pada penelitian ini suhu inkubator (modifikasi) dalam pembuatan yogurt adalah 46 ° C, sesuai dengan Oktaviani dkk yang menyatakan bahwa BAL jenis termofilik yaitu *Streptococcus thermophilus* masih dapat tumbuh pada suhu berkisar 45-65°C dan optimal pada suhu 55°C(Oktaviani, 2022). pH dan suhu berpengaruh terhadap karakteristik pertumbuhan *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus*. Kondisi pertumbuhan optimal ditemukan pada pH 6,5 dengan suhu 40°C untuk *S. thermophilus* dan pH 5,8 dengan suhu 44°C untuk *L. bulgaricus*. Bakteri *L. bulgarius* dan *S. thermopillus* akan melakukan proses fermentasinya secara optimal pada suhu 40-45°C sehingga dapat memproduksi asam laktat yang diinginkan. Pernyataan ini sesuai dengan hasil penelitian ini, dimana yogurt yang optimal dihasilkan pada suhu 45,8°C. Pada suhu optimal serta lingkungan yang mendukung, *S. thermopilus* akan tumbuh terlebih dahulu daripada *L. Bulgarius*, dimana *S. thermopilus* akan merangsang pertumbuhan *L. bulgarius* dan menurunkan pH dengan memproduksi asam laktat, asam format, asetaldehida, dan asam asetat. Begitu juga dengan *L. bulgarius* akan mengeluarkan glisin, asam amino, dan histidin yang diperlukan *S. Thermopilus* (Hendarto, dkk., 2021). Pada penelitian ini didapatkan kisaran pH 4-5. pH 4 didapatkan pada yogurt hasil fermentasi perlakuan. Sedangkan pH 5 didapatkan dari *whey starter* yogurt indyk.

Perbedaan suhu optimal dalam pertumbuhan bakteri asam laktat dalam menghasilkan yogurt diperoleh dari peneliti yang lainnya. Yogurt merupakan produk susu yang mengalami fermentasi oleh bakteri asam laktat pada suhu 37-45°C. Kombinasi kultur paling bagus untuk pembuatan yoghurt yaitu *Lactobacillus bulgaricus* dengan kondisi optimum untuk pertumbuhannya adalah pH 5,5 dengan suhu 37°C dan *Streptococcus thermophilus* dengan kondisi optimum untuk pertumbuhannya adalah pH 6,8 dengan suhu 37°C. Enzim-enzim yang terlibat dalam pembuatan yogurt meliputi enzim glukokinase, fosfoglukoisomerase, fosfofruktokinase, a-Idolase, gliseraldehid-3-fosfatdehidrogenase, fosfoglisarat kinase, fosfgliserotmutase, enolase, piruvatkinase dan dehydrogenase (Zakaria dkk., 2013).

Semakin banyak mikroba yang ada maka akan semakin asam pula hasil yang dihasilkan (Oktafiyanti et al, 2022). *Starter whey* yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan pH 5 dan jumlah BAL 2,16 x 10<sup>7</sup> CFU/mL Setelah dilakukan perlakuan whey, didapatkan hasil yogurt dengan pH 4 dengan hasil terbentuknya padatan yogurt bervariasi. Untuk makanan yang mengandung probiotik seperti yogurt jumlah minimal yang diperlukan adalah 10<sup>6</sup> CFU/ml. Nilai pH terendah terdapat pada susu yang difermentasi dengan starter komersial, sedangkan pada kultur tunggal *L. acidophilus*, dan ganda *S. thermophilus* dengan kombinasinya masih berkisar antara pH 5-6. *Starter L. acidophilus* membutuhkan waktu minimal 12 jam inkubasi untuk menghasilkan metabolit primer berupa asam laktat, sedangkan untuk starter *S. thermophilus* memiliki sifat menyukai suasana mendekati pH 6,5. Starter ini dapat menstimulasi pertumbuhan dari *starter* lain dengan mensintesis asam format. Dengan meningkatnya jumlah populasi mikroba maka aktivitas metabolismenya juga akan meningkat. Hasil metabolisme sebagian besar berupa asam laktat yang diikuti oleh adanya penurunan nilai pH yang terjadi akibat koagulasi protein dari proses fermentasi susu.

Menurut SNI 2981:2009 (Badan Standardisasi Nasional, 2009) maksimal mengandung lemak 0,5% sedangkan yogurt konvensional minimal mengandung lemak 3%. Pengurangan kadar lemak pada susu dalam pembuatan yogurt akan menurunkan total padatan sehingga mengurangi karakteristik tekstural yogurt (Koiriyah & Fatchiyah, 2013). Dalam penelitian ini menggunakan susu rendah lemak sehingga karakteristik yogurt yang dihasilkan adalah kurang kental dan agak kental,

## 4. KESIMPULAN DAN SARAN

### 4.1 Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan yang bermakna perlakuan volume *starter whey* terhadap volume *whey* dan padatan (*curd*) yang dihasilkan dalam pembuatan yogurt dengan sumber karbon gula pasir,
2. Hasil yang terbaik adalah perlakuan dengan 6 ml *starter whey* baik untuk volume *whey* dan padatan yang dihasilkan dalam pembuatan yogurt

### 4.2 Saran

Whey dalam pembuatan yogurt dapat dimanfaatkan kembali dalam pembuatan yogurt karena masih mengandung bakteri asam laktat (BAL) yang akan memfermentasi medium susu.

## 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Pemerintah RI melalui dana DIPA DIPA BLU Universitas Pendidikan Ganesha Nomor: SP DIPA-023.17.2.677530/2022 Revisi II tanggal 14 April 2022 Sesuai dengan Kontrak Penelitian Nomor: **844/UN48.16/LT/2022**
2. Tim peneliti yang sangat membantu dalam penyelesaian penelitian ini
3. Semua pihak yang membantu yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

## 6. DAFTAR PUSTAKA

- Badan Standardisasi Nasional. (2009). SNI 2981: 2009 Tentang Yogurt. *Jakarta: Pusat Standarisasi Industri Departemen Perindustrian.*, 1–60.
- Budiarti, C., Budi, S., Abduh, M., & Pramono, Y. B. (2015). *Pengaruh Whey dan Ekstrak Buah terhadap Total Bakteri Asam Laktat, Nilai pH, dan Adhesiveness Yoghurt*. 4(4), 130–132.
- Gaspersz, V. (1991). *Metode Perancangan Percobaan Untuk Ilmu-Ilmu Pertanian, Ilmu-Ilmu Teknik dan Biologi*. Bandung : Armico
- Gianti, I; Evanuarini, H. (2011). Pengaruh Penambahan dan lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Fisik Susu Fermentasi. 6(1), 28–33.
- Hendarto, R. D., Handayani, P. A., Esterelita, E., & Handoko, A. Y. (2021). Mekanisme Biokimiawi dan Optimalisasi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dalam Pengolahan Yoghurt yang Berkualitas. *Jurnal Sains Dasar*, 8(1), 13–19. <https://doi.org/10.21831/jsd.v8i1.24261>
- Jannah, A. M., Legowo, A. M., Pramono, Y. B., & Al-baarri, A. N. (2014). *Total Bakteri Asam Laktat, pH, Keasaman, Citarasa dan Kesukaan Yogurt Drink dengan Penambahan Ekstrak Buah Belimbing*. 3(2).
- Khoiriyah, L. K., & Fatchiyah, F. (2013). Karakter Biokimia dan Profil Protein Yogurt Kambing PE Difermentasi Bakteri Asam Laktat (BAL). *The Journal of Experimental Life Sciences*, 3(1), 1–6. <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2013.003.01.01>
- Maryana, D. (2014). Pengaruh Penambahan Sukrosa Terhadap Jumlah Bakteri Dan Keasaman Whey Fermentasi dengan Menggunakan Kombinasi *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus acidophilus*.
- Mazloomi, S. M.1; Shekarfroush, S. S.2\*; Ebrahimnejad, H.3 and Sajedianfard, J. (2011). *Effect of adding inulin on microbial and physico- chemical properties of low fat probiotic yogurt*. 12(2), 93–98
- Novia, D. (2012). Pembuatan Yogurt Nabati Melalui Fermentasi Susu Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris*) Menggunakan Kultur Backslop . Jakarta : Universitas Indonesia
- Nurhasanah, N., Meutia Sadewi, S., Supriyanto, R., & Laila, A. (2019). Analisis Kadar Protein, Lemak, Dan Total Asam Laktat Dari Fermentasi Kefir Berbahan Baku Kolostrum Sapi. *Analit: Analytical and*
- Oktafiyanti, K., Kalsum, U., & Wadjidi, M. F. (2022). Pengaruh Suhu dan Lama Pengerinan Proses Enkapsulasi Pada Whey terhadap Jumlah Mikroba dan Nilai pH. *Jurnal Dinamika Rekasatwa*, 5(1), 58–63.
- Rahman, S. (2014). *Studi Pengembangan Dangke sebagai Pangan Lokal Unggulan dari Susu Di Kabupaten Enrekang*. 3(2), 41–45.
- Rashid, A. A., Huma, N., Saeed, S., Shahzad, K., & Ahmad, I. (2019). *Characterization and Development of Yoghurt from Concentrated Whey* *Characterization and Development of Yoghurt from Concentrated Whey*. February 2020. <https://doi.org/10.11648/j.ijfet.20190301.11>
- Richard Hendarto, D., Putri Handayani, A., Esterelita, E., & Aji Handoko, Y. (2021). Mekanisme Biokimiawi dan Optimalisasi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dalam Pengolahan Yoghurt yang Berkualitas. *Jurnal Sains Dasar*, 8(1), 13–19. <https://doi.org/10.21831/jsd.v8i1.24261>
- Safitri, N., Candra Sunarti, T., & Meryandini, A. (2016). Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* Menggunakan Substrat Whey Tahu Formulation of Whey Tofu-based Media for the Cultivation of Lactic Acid Bacteria *Pediococcus pentosaceus*. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 2(2), 1–8. <http://biologi.ipb.ac.id/jurnal/index.php/jsdhayati>
- Utami, R., Nurhartadi, E., Nursiwi, A., Angela, M., Andriani, M., Fitriyaningsih, I., Phqjxqndq, I., Nh, E., Shpshqwxndq, U. W., Dvdp, D., Gdq, O., Nh, H., Odnwdw, D., Nh, G. D. Q., Irupxodvl, U. D. Q., Ihupqwdvl, P., Phqjkdvlondq, D. Q. J., Udq, N. H., Mxpodk, G., & Dgdodk, W. (2017). *Fermentasi Whey Keju menggunakan biji kefir (Kefir grain) dengan Variasi Sumber Nitrogen*. 37(4), 377–385.
- Zakaria, Y., Yurliasni, Y., Delima, M., & Diana, E. (2013). Analisa Keasaman dan Total Bakteri Asam Laktat Yogurt Akibat Bahan Baku dan Persentase *Lactobacillus casei* yang Berbeda. *Jurnal Agripet*, 13(2), 31–35. <https://doi.org/10.17969/agripet.v13i2.817>

Zhu, X., & Duan, Z. (2017). *Effect of Incubation Time and Sucrose Addition on the Characteristics of Cheese Whey Yoghurt*. *Effect of Incubation Time and Sucrose Addition on the Characteristics of Cheese Whey Yoghurt*. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/193/1/012008>