

**VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DAN NILAI pH KEJU  
SEGAR DENGAN KULTUR TUNGGAL DAN CAMPURAN  
*Lactobacillus rhamnosus* DAN *Pediococcus pentosaceus*  
SELAMA PENYIMPANAN DINGIN**

---

**SKRIPSI**

---

Oleh

**Arlo Arlando**



**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS DARUL ULUM ISLAMIC CENTRE SUDIRMAN GUPPI  
UNGERAN  
2023**

**VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DAN NILAI pH KEJU  
SEGAR DENGAN KULTUR TUNGGAL DAN CAMPURAN  
*Lactobacillus rhamnosus* DAN *Pediococcus pentosaceus*  
SELAMA PENYIMPANAN DINGIN**

Oleh

ARLO ARLANDO

NIM: 19.41.0008

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh  
Gelar Sarjana Peternakan pada Program Studi Peternakan  
Fakultas Peternakan Universitas Darul Ulum Islamic Centre Sudirman GUPPI  
Ungaran

**FAKULTAS PETERNAKAN  
UNIVERSITAS DARUL ULUM ISLAMIC CENTRE SUDIRMAN GUPPI  
UNGARAN  
2023**

## **SURAT PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Arlo Arlando

Nim : 19.41.0008

Program Studi : Peternakan

Dengan ini menyatakan sebagai berikut:

1. Karya Ilmiah yang berjudul:

**Viabilitas bakteri asam laktat (bal) dan nilai ph keju segar dengan kultur tunggal dan campuran *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* selama penyimpanan dingin**, penelitian yang terkait dengan karya ilmiah ini adalah hasil dari kerja saya sendiri.

2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam karya ilmiah ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Saya juga mengakui bahwa karya akhir ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh oleh pembimbing saya, yaitu : **Ismiarti, S.Pt., M. Sc** dan **Aria Dipa Tanjung, S.Pt., M.Si.**

Apabila dikemudian hari dalam karya ilmiah ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik oleh saya, maka saya bersedia gelar akademik saya yang telah saya dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S1-Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Darul Ulum Islamic Centre Sudirman GUPPI Ungaran

Ungaran, Maret 2023



(Arlo Arlando)

Judul Skripsi : VIABILITAS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) DAN NILAI pH KEJU SEGAR DENGAN KULTUR TUNGGAL DAN CAMPURAN *Lactobacillus rhamnosus* DAN *Pediococcus pentosaceus* SELAMA PENYIMPANAN DINGIN

Nama Mahasiswa : ARLO ARLANDO

Nomor Induk Mahasiswa : 19.41.0008

Program Studi : S1-PETERNAKAN

Fakultas : PETERNAKAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji  
Dan dinyatakan lulus pada tanggal

Pembimbing Utama



Ismiarti, S.Pt, M.Sc

Pembimbing Anggota



Aria Dipa Tanjung, S.Pt., M.Si

Ketua Ujian Akhir Program Studi




Hasna Fajar Suryani, S.Pt., M.Si

Ketua Program Studi



Dr. Nadlifotul Luthfi, S.Pt., M.Si

Dekan Fakultas Peternakan


Dr. Sri Wahyuni, S.Pt., M.P

## RINGKASAN

**ARLO ARLANDO. 19.41.0008. 2023.** Viabilitas bakteri asam laktat (BAL) dan nilai pH keju segar dengan kultur tunggal dan campuran *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* selama penyimpanan dingin. (Pembimbing **ISMIARTI** dan **ARIA DIPA TANJUNG**).

Tujuan penelitian adalah mengkaji penambahan kultur tunggal maupun campuran *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* terhadap viabilitas Bakteri Asam Laktat dan nilai pH selama penyimpanan dingin serta interaksinya. Penelitian dilakukan pada 16 Agustus sampai dengan 26 September 2022 bertempat di Laboratorium Fakultas Peternakan Universitas Darul Ulum Islamic Centre Sudirman GUPPI Ungaran dan Laboratorium Ilmu dan Teknologi Susu dan Telur, Departemen Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi, kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*, rennet. Penelitian ini menggunakan RAL faktorial  $3 \times 3$  dengan 3 ulangan. Faktor I adalah: konsentrasi Bakteri Asam Laktat yang terdiri dari P1: 5% kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus*; P2: 5% kultur tunggal *Pediococcus pentosaceus*; P3: kultur campuran (2,5% *Lactobacillus rhamnosus* dan 2,5% *Pediococcus pentosaceus*). Faktor II adalah: lama penyimpanan keju pada suhu 4°C-10°C yang terdiri dari T1: penyimpanan selama 0 hari; T2: penyimpanan selama 10 hari; P3: penyimpanan selama 20 hari. Parameter yang diamati meliputi: viabilitas Bakteri Asam Laktat dan nilai pH. Data yang diperoleh diolah secara statistik dengan analisis ragam dilanjutkan menggunakan uji *duncan multiple range test* (DMRT) dengan taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan penambahan kultur tunggal maupun campuran (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*) dengan lama penyimpanan 0;10 dan 20 hari menunjukkan hasil yang berbeda nyata terhadap viabilitas BAL dan nilai pH. Berdasarkan hasil penelitian ini didapat bahwa viabilitas BAL terbaik yaitu dengan penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus* selama penyimpanan 20 hari, dan nilai pH terbaik dengan penambahan kultur campuran (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*) selama penyimpanan 10 hari.

Kata kunci: bakteri asam laktat, keju segar, nilai pH, viabilitas BAL.

## **KATA PENGANTAR**

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas berkat rahmat dan taufik-Nya sehingga penulis dapat menyusun skripsi. Melalui kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi ini utamanya kepada:

1. Ibu Ismiarti, S. Pt, M. Sc sebagai pembimbing utama dan Bapak Aria Dipa Tanjung, S.Pt., M.Si sebagai pembimbing anggota yang telah mencurahkan perhatian untuk membimbing dan mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Dr. Sri Wahyuni, S.Pt., M.P sebagai pembahas yang telah banyak memberikan saran dalam penulisan skripsi ini.
3. Bapak Sugiyono, S.Pt., M.Si selaku Pembimbing Praktek Kerja Lapang (PKL) yang telah membimbing dalam pelaksanaan PKL.
4. Ibu Hasna Fajar Suryani, S.Pt., M.Si dan Ibu Yunita K. Khotimah, S.Pt., M.P selaku panitia sidang skripsi Tahun 2023, terima kasih atas bantuan dan dukungan selama ini.
5. Ibu dan Bapak Dosen tanpa terkecuali yang telah membimbing penulis selama kuliah di Fakultas Peternakan Universitas Darul Ulum Islamic Centre Sudirman GUPPI Ungaran dan seluruh Pegawai Fakultas Peternakan terima kasih atas bantuan yang diberikan kepada penulis selama ini.
6. Ayahanda Tan Kian Tjoen dan Ibunda Tuti Saminah, atas segala doa, dukungan dan kasih sayang yang tiada henti sehingga penulis memiliki

semangat yang tinggi. Kepada Adik penulis Kelana Septianto yang telah memberikan semangat bagi penulis dalam menjalankan aktivitasnya.

7. Teman-teman satu tim Desti Retno Purwitasari dan Rima Dwi Sari Terima kasih atas kerjasama dan bantuannya selama pelaksanaan penelitian.
8. Teman-teman angkatan 2019 Fakultas Peternakan, terima kasih telah berbagi ilmu pengetahuan dengan penulis dan terimakasih atas kebersamaannya.
9. Baiq Amar Taiq, Muhamad Iqbal Salim dan Ranti Ayuningtyas, yang telah bersama membantu penulis untuk menyusun dan menyelesaikan tugas akhir ini.
10. Teman-teman KKN Reguler kelompok 1 tahun 2023 atas pengalaman yang diberikan di lokasi KKN Dusun Selelu, Desa Kawengen, Kecamatan Ungaran Timur, Kabupaten Semarang.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu, terima kasih atas segala bantuan yang diberikan kepada penulis selama menyelesaikan studi.

Penulis menyadari bahwa penyusunan Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan karena terbatasnya kemampuan dan waktu yang tersedia. Oleh karena itu saya mohon maaf atas kekurangan tersebut. Semoga Skripsi ini bermanfaat bagi pembaca dan bagi saya sendiri guna membantu dalam melaksanakan tugas-tugas masa yang akan datang.

Ungaran, April 2023



Arlo Arlando

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
RINGKASAN .....	v
KATA PENGANTAR .....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR ILUSTRASI .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB I_PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis.....	4
1.5 Hipotesis Penelitian.....	4
BAB II_TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Susu Sapi .....	5
2.2 Keju Susu Sapi .....	6
2.3 Pengasaman Keju .....	7
2.4 Bakteri Asam Laktat.....	8
2.5 Viabilitas Bakteri Asam Laktat .....	11
2.6 Nilai pH.....	12
BAB III_MATERI DAN METODE.....	13
3.1 Materi .....	13
3.2 Metode Penelitian.....	13
3.4 Rancangan Percobaan.....	18
3.5 Analisis Data .....	19
BAB IV_HASIL DAN PEMBAHASAN .....	20
4.1 Viabilitas Bakteri Asam Laktat .....	20
4.2 Nilai pH.....	23



BAB V_SIMPULAN DAN SARAN .....	27
5.1 Simpulan.....	27
5.2 Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA .....	28
LAMPIRAN.....	32
RIWAYAT HIDUP.....	42

## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Viabilitas Bakteri Asam Laktat .....	20
2. Nilai pH Bakteri Asam Laktat keju dengan kultur tunggal dan campuran selama penyimpanan .....	24
3. Tabel Sidik Ragam Viabilitas BAL.....	34
4. Tabel Duncun Multiple Range Test Viabilitas BAL.....	35
5. Tabel Duncun Perlakuan Viabilitas BAL.....	35
6. Tabel Duncun Lama Penyimpanan Viabilitas BAL.....	35
7. Tabel Duncun Interaksi Perlakuan Viabilitas BAL.....	35
8. Tabel Sidik Ragam Nilai pH .....	38
9. Tabel Duncun Multiple Range Test Nilai pH .....	39
10. Tabel Duncun Perlakuan Nilai pH .....	39
11. Tabel Duncun Lama Penyimpanan Nilai pH .....	39
12. Tabel Duncun Interaksi Nilai pH .....	39

## DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Prosedur Pembuatan Sampel .....	16
2. Pasteurisasi Susu .....	40
3. Pengecekan Suhu Susu Sebelum ditambahkan Kultur .....	40
4. Pengukuran Kultur yang Akan digunakan .....	40
5. Penambahkan Kultur kedalam Susu .....	40
6. Pengecekan pH Susu pada Masa Inkubasi .....	40
7. Penambahan Reneet .....	40
8. Susu yang Mengalami Pengumpalan .....	41
9. Pemeraman .....	41
10. Hasil Pemeraman.....	41
11. Pengujian Nilai pH Keju .....	41
12. Sampel Uji Viabilitas BAL .....	41
13. Hasil Uji Viabilitas BAL.....	41

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Perhitungan Data Viabilitas Bakteri Asam Laktat .....	32
2. Perhitungan Nilai pH.....	36
3. Dokumentasi Penelitian.....	40

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Keju adalah suatu bentuk pengolahan susu dengan memisahkan zat-zat padat dalam susu melalui proses pengentalan atau koagulasi. Beragamnya jenis pangan di Indonesia memicu beberapa industri untuk mengembangkan produk berbasis susu. Keju merupakan produk susu yang memiliki karakteristik fisik dan kimia yang spesifik dibandingkan produk susu lainnya serta berpotensi sebagai probiotik. Pembuatan keju merupakan proses dehidrasi susu dan dipengaruhi oleh faktor lain seperti kultur, pengasaman, dan pendinginan. Proses pengentalan ini dilakukan dengan bantuan bakteri atau enzim tertentu yang disebut rennet. Pengasaman susu perlu dilakukan agar enzim dapat bekerja dengan optimal. Cara pengasaman susu yang paling umum adalah dengan penambahan bakteri asam laktat. Bakteri yang digunakan dalam proses pembuatan keju adalah *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*.

Peranan bakteri pada proses pembuatan keju adalah untuk menghasilkan proses glikosis, yaitu proses mengubah laktosa menjadi asam laktat, asam asetat, karbon dioksida dan diasetil. Asam ini menyebabkan pH susu menjadi turun dan lebih asam. Probiotik Bakteri Asam Laktat (BAL) pada keju akan menambah sifat fungsional keju karena bakteri bermanfaat bagi kesehatan melalui perannya dalam meningkatkan kesehatan saluran pencernaan bila dikonsumsi secara teratur dan jumlah cukup. Bakteri probiotik pada keju harus tetap hidup dan bertahan selama

pemrosesan dan penyimpanan produk. Selain itu, bakteri juga akan memberikan karakter rasa dan tekstur yang berbeda pada keju. Oleh karena itu, jika bakteri yang digunakan berbeda, maka rasa dan tekstur keju juga akan berbeda.

Probiotik adalah sekelompok mikroba hidup yang menguntungkan dan digunakan untuk mempengaruhi induk semang melalui perbaikan mikroorganisme pada saluran pencernaan (Fuller, 1992). Konsumsi probiotik pada makanan merupakan cara yang baik untuk menghidupkan kembali keseimbangan mikroflora usus. BAL sering digunakan untuk pembuatan keju dengan bahan dasar susu sapi.

Bakteri probiotik bertanggung jawab melindungi tubuh manusia dari infeksi, terutama di sepanjang permukaan mukosa saluran pencernaan. Maka dari itu perlu adanya penelitian dengan penambahan probiotik pada keju (Afiati dan Maheswari, 2014). *Lactobacillus rhamnosus* pada dosis tertentu juga dapat mengatur respon kekebalan tubuh pada saluran pencernaan (Andriani *et al.*, 2020). Sebagian besar spesies *Lactobacillus* adalah penghuni normal dan non-patogen di usus manusia dan hewan dan keberadaannya penting untuk pemeliharaan ekosistem mikroba usus. *Lactobacillus* telah terbukti memiliki aktivitas penghambatan terhadap multiplikasi enteropatogen dan mereka sangat kompetitif terutama karena produksi beberapa senyawa antimikrob. Viabilitas bakteri asam laktat memiliki pengaruh penting pada keju, hal ini dikarenakan asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat berguna untuk sumber makanan bagi bakteri serta mempengaruhi nilai pH keju.

*Pediococcus pentosaceus* adalah BAL positif yang telah terbukti pada tahun 1990-an sebagai probiotik yang dapat diaplikasikan dalam fermentasi. Sebagian besar sifat *Pediococcus pentosaceus* tidak dipelajari lebih lanjut. Masalah yang belum dipelajari dan dipecahkan dari penelitian *Pediococcus pentosaceus* yaitu seperti pengetahuan mengenai mekanisme, efek samping, penggunaan dan dosis. Bukti dari penggunaan *Pediococcus pentosaceus* yaitu pada pangan, pertanian, dan peternakan.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti membuat keju dengan penambahan probiotik dengan kultur *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*. Pembuatan keju dengan penambahan probiotik *Lactobacillus Rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* merupakan inovasi baru dalam pembuatan keju dengan harapan mampu menambah kualitas dan manfaat dari keju tersebut.

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah:

1. Mengkaji penggunaan bakteri *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* dengan level berbeda terhadap viabilitas BAL dan nilai pH.
2. Mengkaji lama penyimpanan keju segar dengan penggunaan bakteri *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* dengan level berbeda terhadap viabilitas BAL dan nilai pH.
3. Mengkaji interaksi penggunaan bakteri *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* dengan lama penyimpanan keju segar terhadap viabilitas BAL dan nilai pH.

### 1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dilakukan penelitian ini adalah:

1. Membuat inovasi produk susu berupa keju yang mengandung bakteri *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* sebagai karier yang baik untuk probiotik dan karakteristik yang baik.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pengetahuan di bidang pangan gizi dan kesehatan terutama dalam memanfaatkan bakteri *lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* pada keju susu sapi.
3. Penelitian ini dapat dijadikan referensi untuk penelitian selanjutnya.

### 1.4 Hipotesis

H<sub>0</sub> : Tidak ada pengaruh penambahan probiotik (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*) dan lama penyimpanan terhadap pH dan viabilitas BAL.

H<sub>1</sub> : Terdapat pengaruh penambahan probiotik (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*) dan lama penyimpanan terhadap pH dan viabilitas BAL.

### 1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini yaitu penambahan probiotik (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*) selama penyimpanan dingin dan interaksinya dapat menurunkan nilai pH serta mengetahui viabilitas BAL pada keju segar.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Susu Sapi

Sapi perah menghasilkan produk utama berupa susu murni yang dapat dikonsumsi oleh manusia. Susu adalah cairan berwarna putih, yang diperoleh dari pemerahan sapi atau hewan menyusui lainnya, yang dapat dikonsumsi atau digunakan sebagai bahan pangan yang sehat, serta tidak dikurangi komponennya atau ditambah bahan-bahan lain (Grahatika, 2009). Sapi perah yang banyak dipelihara di Indonesia adalah sapi perah *Friesian Holstein (FH)*. Sapi *FH* merupakan bangsa sapi perah yang memiliki tingkat produksi susu tertinggi dengan kadar lemak yang relatif rendah dibandingkan sapi perah lainnya (Riski *et al.*, 2016).

Kabupaten Semarang merupakan salah satu daerah yang mempunyai populasi sapi perah urutan kedua di Provinsi Jawa Tengah yaitu sebanyak 36.961 ekor dengan produksi susu sebanyak 32.647.413 liter/tahun, namun demikian kualitas susunya masih dianggap rendah dengan kandungan protein 2,68% (Sarah *et al.*, 2016). Susu sapi segar merupakan medium yang baik sekali untuk pertumbuhan bakteri dan jenis jenis mikroba lainnya. Semua jenis bakteri dapat tumbuh jika media atau substrat untuk tumbuhnya cocok. Oleh karena itu bakteri cepat berkembang di dalam susu (Navyanti dan Adriyani, 2015).

## 2.2 Keju Susu Sapi

Keju merupakan suatu produk pangan yang berasal dari hasil penggumpalan (koagulasi) protein susu. Selain dari kasein (protein susu), komponen susu lainnya seperti lemak, mineral-mineral dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak juga terbawa dalam gumpalan partikel-partikel kasein. Komponen-komponen susu yang larut dalam air tertinggal dalam larutan sisa dari hasil penggumpalan kasein yang disebut *whey* (Yulia *et al.*, 2015). (Putri dan Juhroni, 2021) menjelaskan dalam penelitiannya bahwa keju juga mengandung omega-3, asam amino sistein, serta beragam jenis antioksidan, seperti riboflavin, beta karoten, dan glutathione.

Meningkatnya kebutuhan dan konsumsi keju dalam negeri perlu diimbangi dengan produksi keju, utamanya yang berbahan dasar susu sapi yang diproduksi oleh peternak lokal, dengan teknologi dan bahan-bahan yang disesuaikan dan/atau tersedia secara lokal. Teknik pembuatan keju dengan *direct acidification* atau pengasaman langsung dapat menghasilkan keju lunak dan berwarna putih (*white soft cheese*) (Sumarmono dan Suhartati, 2016).

Keju merupakan salah satu jenis makanan yang diolah dengan proses fermentasi. Cara pengolahan ini menjadikan keju mengandung bakteri probiotik yang diketahui baik untuk menjaga kesehatan saluran pencernaan. Keju diduga dapat mengontrol tekanan darah dan mencegah hipertensi. Hal tersebut dikarenakan kandungan kalsium yang tinggi di dalamnya (Putri dan Juhroni, 2021).

### 2.3 Pengasaman Keju

Teknik pengasaman keju dilakukan dengan dua cara, yaitu *direct acidification* dan *indirect acidification*. Teknik pertama yaitu *direct acidification* atau pengasaman langsung dapat menghasilkan keju lunak dan berwarna putih (*white soft cheese*) dan dikonsumsi tanpa melalui proses pematangan (*ripening*). Eksplorasi terhadap teknik *direct acidification*, utamanya yang menggunakan ekstrak buah masih sangat terbatas. Padahal teknik tersebut dapat menghasilkan keju yang lunak, mudah meleleh (*high meltability*), mudah mulur (*good stretchability*) dan membentuk serat-serat saat diregangkan sehingga cocok untuk digunakan dalam pembuatan pizza maupun keju olesan. Pada teknik tersebut, tahap pengasaman biasanya dilakukan dengan menambahkan asam organik, misalnya asam cuka, asam laktat, atau ekstrak buah (Sumarmono dan Suhartati, 2011).

Teknik kedua yaitu *indirect acidification* pengasaman keju secara fermentasi dengan bantuan mikroorganisme. Bakteri asam laktat berfungsi memfermentasikan laktosa dalam susu menjadi asam laktat. Asam yang dihasilkan akan menurunkan pH dan sebagai akibatnya kasein akan menggumpal hingga terbentuk *curd*. Proses pengasaman menggunakan fermentasi membutuhkan waktu yang relatif lebih lama dibandingkan dengan pengasaman dengan zat asam langsung. Hal ini disebabkan karena pada fermentasi diperlukan waktu yang lebih lama bagi pertumbuhan mikroorganisme hingga mampu menghasilkan asam yang akan menurunkan pH hingga sesuai untuk kerja rennet (Wardhani *et al.*, 2018).

## **2.4 Bakteri Asam Laktat**

Suhu dan lama pematangan mempengaruhi karakteristik hasil keju. Pematangan pada suhu yang berbeda, menyebabkan perubahan nilai pH, viabilitas BAL, dan proses proteolisis. pH produk cenderung menurun karena aktivitas metabolisme BAL probiotik. Selama proteolisis, peptida dan protein larut menjadi asam amino sederhana yang berfungsi dalam membentuk rasa dan tekstur keju. Probiotik dapat bertahan selama pematangan dan pengolahan serta tidak menghasilkan aroma dan tekstur yang tidak biasa (Setyawardani *et al.*, 2017).

Penambahan bakteri probiotik juga mempunyai pengaruh yakni menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk (Nur *et al.*, 2015). Selama proses penyimpanan jumlah total mikroba pada keju mozzarella cenderung meningkat. Peningkatan jumlah mikroba yang tinggi disebabkan oleh adanya bakteri asam laktat yang ditambahkan sebagai agen probiotik, bakteri asam laktat dapat tumbuh baik pada keju karena memiliki nilai pH rendah (Nur *et al.*, 2015).

Bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan nilai pH untuk menghambat bakteri patogen seperti *Salmonella* dan *Staphylococcus aureus* (Nur *et al.*, 2015). Penambahan bakteri probiotik juga mempunyai pengaruh yakni menghambat pertumbuhan mikroba pembusuk (Nur *et al.*, 2015).

### **2.4.1 *Lactobacillus rhamnosus***

*L. rhamnosus* R21 secara *in vitro* memiliki sifat tahan terhadap garam empedu, tahan terhadap pH rendah, dapat menghambat pertumbuhan bakteri

patogen seperti: *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* (Puspawati *et al.*, 2010). *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* yang diisolasi dari ASI ibu menyusui di Bogor memiliki potensi sebagai bakteri probiotik. *L. rhamnosus* R23 menunjukkan kemampuan untuk mencegah diare yang disebabkan karena infeksi Enteropathogenic *E. coli* (EPEC) dibandingkan dengan *L. rhamnosus* lainnya yang diisolasi dari ASI. *P. pentosaceus* A38 yang juga diisolasi dari ASI memiliki kemampuan untuk menurunkan kolesterol dengan mekanisme asimilasi dan dekonjugasi garam empedu (Nuraida *et al.*, 2014).

Selama pembuatan keju berbasis susu, bakteri asam laktat (BAL) memainkan peran penting untuk proteolisis kasein, memecah kasein menjadi peptida yang lebih kecil seperti oligopeptida, dipeptida, dan asam amino (Sumarmono *et al.*, 2020). Penggabungan bakteri asam laktat probiotik (BAL) seperti *Lactobacillus spp* dan *Bifidobacteria spp* selama pembuatan keju berkontribusi pada sifat nutraceutical keju (Sumarmono *et al.*, 2020).

*Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), pada awalnya ditemukan oleh Sherwood Gorbach dan Barry Goldwin, yang melakukan penelitian dengan mengisolasi sampel bakteri dari manusia dewasa yang sehat (Deswindra *et al.*, 2018). Bakteri baik ini merupakan bakteri gram positif alami yang diidentifikasi sebagai jenis probiotik dikarenakan bakteri ini dapat bertahan terhadap cairan asam lambung dan cairan empedu, memiliki tingkat pertumbuhan yang baik, dan dapat menempel (adhesi) ke lapisan epitel usus. Sejak ditemukannya bakteri ini sudah banyak diteliti dan dapat dengan mudah

ditemukan dalam berbagai produk probiotik yang tersedia komersial (Deswindra *et al.*, 2018).

*Lactobacillus rhamnosus* merupakan salah satu agen probiotik yang diketahui memiliki efek menguntungkan dalam mencegah penyakit asma. Agen probiotik ini dapat ditemukan di berbagai macam makanan fermentasi dan saluran pencernaan manusia (Deswindra *et al.*, 2018).

#### **2.4.2 *Pediococcus pentosaceus***

*Pediococcus pentosaceus* termasuk ke dalam genus *Pediococcus* yang merupakan bakteri Gram positif, bakteri pada genus ini adalah BAL satu-satunya yang bisa membagi tubuhnya tegak lurus secara langsung membentuk tetrad, Sel bakteri ini dalam bentuk tunggal berbentuk sferikal dengan ukuran diameter 0,6 – 1,0 µm Bakteri ini bersifat *anaerob* fakultatif sampai mikroaerofilik, tidak bergerak, dan tidak berspora. Nama bakteri ini berasal dari bahasa Latin, yaitu dari kata *pentosum* yang artinya pentosa. *Pentosaceus* artinya “yang berhubungan dengan pentosa”. Bakteri ini tumbuh dengan baik pada pH 4,5-8,0 dengan suhu maksimum 39-45 °C, berbeda dengan jenis *Pediococcus* lainnya, bakteri ini lebih tidak tahan panas (Pasari, 2021).

BAL melalui proses fermentasi maupun metabolit yang dihasilkannya, dapat digunakan untuk memperpanjang masa simpan, serta menghambat pertumbuhan mikroba patogen dan pembusuk. Bakteri *Pediococcus pentosaceus* merupakan salah satu bakteri asam laktat yang potensial dalam menghasilkan asam laktat (Nurlaela *et al.*, 2016).

*Pediococcus pentosaceus* toleran terhadap asam dan pengembangan bakteri ini sangat penting karena kemampuannya sebagai kultur *starter* untuk memfermentasi berbagai makanan seperti daging, sayuran, dan keju. Selain itu, bakteri ini sedang banyak diteliti karena kemampuan probiotik dan kemampuan dalam menghasilkan senyawa antimikroba (bakteriosin), yang sangat berguna dalam industri pengawetan makanan (Yeni dan Sunarti, 2016).

## **2.5 Viabilitas Bakteri Asam Laktat**

Viabilitas selama fermentasi dan selama penyimpanan menjadi isu utama, karena untuk memberikan manfaat kesehatan, bakteri probiotik harus berada dalam produk minimum  $10^6$  CFU/g. Pengembangan produk probiotik yang dibuat dengan menggunakan lebih dari satu kultur dengan sifat fungsional yang berbeda, perlu mempertimbangkan kompatibilitas kultur (Nuraida *et al.*, 2014).

Dalam Pembuatan keju yang menggunakan kultur bakteri, hal yang harus diperhatikan dalam kelangsungan hidup bakteri tersebut adalah matriks keju selama proses produksi dalam jumlah yang cukup dengan menghitung unit koloni. Penambahan mikroorganisme probiotik tidak berpengaruh langsung terhadap komposisi keju yang disimpan pada suhu 4°C (garam, lemak, protein dan pH). Produk susu fermentasi merupakan cara yang umum dilakukan dalam memanfaatkan bakteri probiotik komersil dalam makanan. Cara terbaik untuk mendapatkan manfaat probiotik adalah dengan mengonsumsinya secara rutin, sehingga mampu mempertahankan atau meningkatkan keseimbangan mikroba usus (Afiati dan Maheswari, 2014).

## 2.6 Nilai pH

Salah satu karakteristik penting dalam penilaian mutu susu pada pembuatan keju adalah pH karena pH medium sangat penting bagi stabilitas bakteri probiotik selama penyimpanan (Afiati dan Maheswari, 2014). Nilai pH yang tinggi merupakan kondisi yang kurang menguntungkan bagi proses penggumpalan keju yang membutuhkan pH optimum yaitu asam (Afiati dan Maheswari, 2014).

Semakin tinggi konsentrasi BAL yang ditambahkan maka jumlah asam laktat yang dihasilkan semakin tinggi maka pH semakin rendah dan semakin lama proses fermentasi terjadi penguraian laktosa susu menjadi asam laktat menyebabkan peningkatan keasaman, yang ditandai dengan penurunan nilai pH (Yulia *et al.*, 2015). Sumarmono *et al.*,(2020) menyatakan bahwa *curd* keju asam atau keju lunak memiliki nilai pH bervariasi antara 4,7 hingga 5,8.

Nilai pH juga mempengaruhi jenis mikroba yang dapat tumbuh. Mikroba pada umumnya dapat tumbuh pada kisaran pH 3 hingga pH 6. Kebanyakan bakteri mempunyai pH optimum, yaitu pH dimana pertumbuhannya maksimum, berkisar antara 5,0 – 7,5 (Nur *et al.*, 2015).



## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

Penelitian dilaksanakan pada 16 Agustus sampai dengan 26 September 2022 bertempat di Laboratorium Peternakan Universitas Darul Ulum Islamic Centre Sudirman Ungaran dan Laboratorium Ilmu dan Teknologi Susu dan Telur, Departemen Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

#### **3.1 Materi**

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi, *deMann Rogosa Sharpe Agar (MRSA)* (Merck, Germany), *deMann Rogosa Sharpe Broth (MRSB)* (Merck, Germany), rennet, buffer 4 dan 7, NaCl fisiologis 0,85%, dan kultur murni *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*. Alat yang digunakan dalam penelitian berupa kompor, gas, panci, spatula, cawan petri, timbangan, laminar *air flow*, thermometer, saringan, pH meter (Hanna Instrument, USA).

#### **3.2 Metode Penelitian**

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode eksperimen. Tahap penelitian meliputi persiapan alat dan bahan, pembuatan *starter*, pembuatan produk keju, pengujian parameter dan analisis data.

### **3.2.1 Persiapan Bahan dan Peralatan**

Pelaksanaan penelitian diawali dengan persiapan bahan dan alat yang diperlukan selama proses penelitian berlangsung. Alat yang digunakan dalam keadaan bersih dan siap digunakan dan bahan-bahan yang digunakan sesuai prosedur yang digunakan.

### **3.2.2 Pembuatan Starter**

Pembuatan kultur bakteri mengikuti petunjuk Nurhartadi *et al.* (2018) yang dimodifikasi kultur murninya dan lama inkubasi. Pembuatan kultur starter dilakukan dengan cara menginokulasikan 100 mikroliter kultur murni yang disimpan dalam media MRSB pada 100 ml susu skim kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam sehingga dihasilkan dengan starter induk (*mother culture*). Starter induk sebanyak 5 gram kemudian ditambahkan susu skim sebesar 100 ml dan diinkubasi 37°C selama 18 jam sehingga terbentuk starter kerja.

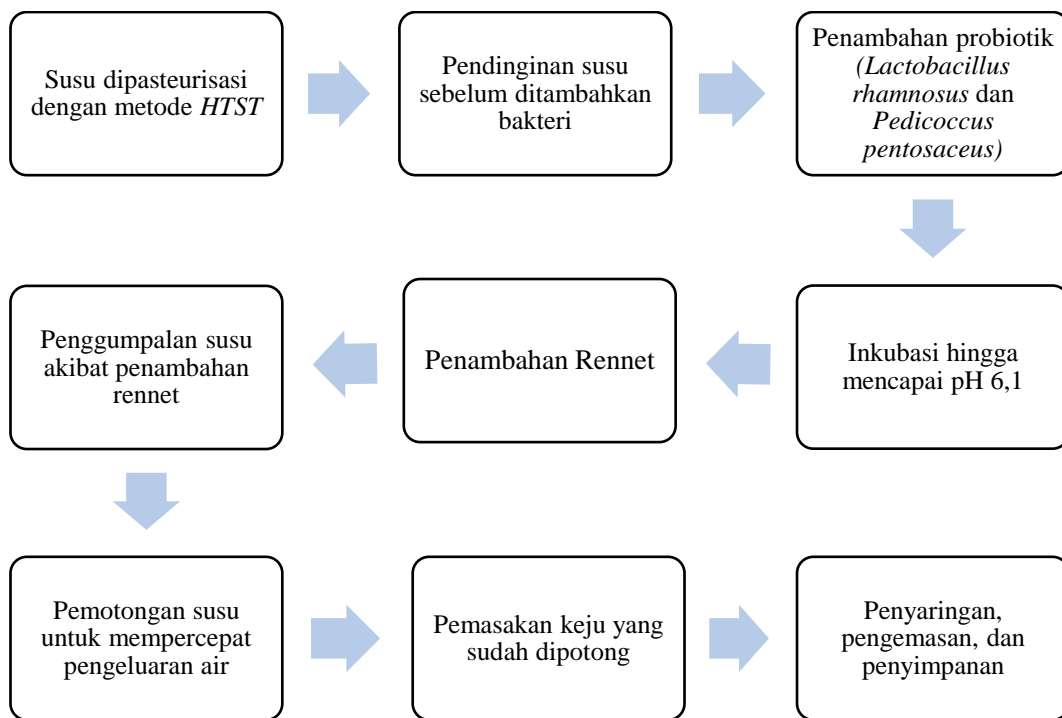
### **3.2.3 Pembuatan Keju**

Tahapan dalam pembuatan keju susu sapi dengan penambahan probiotik (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*) mengikuti petunjuk Afiati dan Maheswari (2014) yang telah dimodifikasi sebagai berikut:

- a) Susu yang akan digunakan dalam pembuatan keju dipasteurisasi terlebih dahulu menggunakan teknik HTST (*High Temperatur Short Time*) pada suhu 72°C selama 15 detik.

- b) Susu didinginkan mencapai suhu 45°C untuk penambahan bakteri *Lactobacillus rhamnosus* dan 37°C untuk penambahan bakteri *Pediococcus pentosaceus*.
- c) Susu yang telah dipasteurisasi ditambahkan bakteri sesuai dengan perlakuan yang digunakan.
- d) Susu yang telah diberi bakteri (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*), kemudian diinkubasi dengan suhu 38°C hingga mencapai pH 6,1.
- e) Susu yang sudah mencapai pH 6,1 ditambahkan rennet dengan perhitungan 8/2,5 dari jumlah susu.
- f) Susu yang telah diberi rennet akan menggumpal.
- g) Susu yang telah menggumpal dipotong dadu agar mempercepat pengeluaran air pada keju.
- h) Keju yang sudah dipotong dipanaskan mencapai suhu 36°C.
- i) Dilanjutkan dengan penyaringan, penambahan garam, pengemasan, dan penyimpanan.

Bagan tahapan pada pembuatan keju susu sapi dengan penambahan bakteri (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pedicoccus pentosaceus*) dapat dilihat pada Ilustrasi 1 berikut.



Ilustrasi 1 Prosedur Pembuatan Sampel

### 3.3 Pengujian Parameter

#### 3.3.1 Pengujian Viabilitas Bakteri Asam Laktat (BAL)

Pengujian viabilitas BAL mengacu pada Purwijantiningasih (2014), tiap sampel diencerkan dengan NaCl fisiologis steril 0,85% hingga diperoleh konsentrasi larutan  $10^{-1}$ , kemudian dilarutkan kembali hingga mencapai larutan  $10^{-8}$ . Sebanyak 25 gram sampel dihaluskan dan ditambah 225 ml NaCl fisiologis steril ( $10^{-1}$ ), selanjutnya dari pengeceran  $10^{-1}$  diambil 1 ml dan dimasukkan ke

dalam NaCl fisiologis pada tabung reaksi sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-2}$  dan seterusnya sampai  $10^{-8}$ . Selanjutnya dari setiap sampel diambil 0,1 ml larutan dan dituang ke dalam petri steril yang berisi media MRSA dan diratakan secara aseptis menggunakan driglaksi. Sampel diinkubasi pada suhu  $38^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam, kemudian diamati dan dilakukan perhitungan terhadap koloni yang terbentuk. Perhitungan jumlah bakteri mengacu pada penelitian Azizah *et al.*(2018) dengan rumus perhitungan sebagai berikut:

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

Keterangan :

N: Jumlah koloni per ml produk (log CFU/gram)

$\sum c$ : Jumlah total koloni pada semua plate (25 log CFU/gram -250 log CFU/gram)

$n_1$ : Jumlah plate yang dapat dihitung pada pengenceran pertama

$n_2$ : Jumlah plate yang dapat dihitung pada pengenceran kedua

d: Pengenceran pertama yang dihitung/ memenuhi ketentuan (25 log CFU/gram - 250 log CFU/gram)

### 3.3.2 Nilai pH

Tahapan pengukuran nilai pH menggunakan metode Surya dan Muakhid (2022) yang dimodifikasi pada sampel yang digunakan. Nilai pH diukur dengan cara pengambilan tiap sampel 10 gram yang telah dihaluskan dengan dicampur aquades 10 ml. Sebelum mengukur nilai pH, alat pH meter dikalibrasikan dahulu dengan cara mencelupkan alat elektroda pH meter pada cairan buffer yang

memiliki pH 7, kemudian elektroda pH meter dicelupkan kedalam sampel sebanyak 20 ml dan menunggu sekitar 2 menit sampai nilai pH yang tertera pada monitor tidak berubah.

### 3.4 Rancangan Percobaan

Penelitian eksperimen ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 3×3 dan tiap unit dilakukan 3 kali pengulangan, sehingga total keseluruhan unit percobaan adalah 27 unit percobaan. Faktor pertama adalah penambahan kultur bakteri tunggal dan campuran yaitu:

P1: 5% *Lactobacillus rhamnosus*

P2: 5% *Pediococcus pentosaceus*

P3: 5% campuran *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*.

Faktor kedua adalah lama penyimpanan pada suhu 4°C -10°C yaitu:

T0: Penyimpanan selama 0 hari

T1: Penyimpanan selama 10 hari

T2: Penyimpanan selama 20 hari

Perubahan yang diamati dalam penelitian ini adalah Kadar Air dan TAT pada keju disetiap lama penyimpanan. Model linier Rancangan Acak Lengkap Faktorial sebagai berikut (Susilowati, 2015):

$$Y_{ger} = \mu + \alpha g + \beta e + (\alpha\beta)ge + \varepsilon_{ger}$$

$Y_{ger}$  : Pengamatan pada ulangan ke-r yang mendapat faktor A taraf ke  
dan faktor B taraf ke-e

$\mu$  : Nilai Tengah dari kadar air dan TAT sampel

- $\alpha_g$  : Pengaruh faktor A taraf ke-g  
 $\beta_e$  : Pengaruh faktor B taraf ke-e  
 $\alpha\beta_{ge}$  : Pengaruh interaksi faktor A taraf ke-g dan faktor B taraf ke-e  
 $\varepsilon_{ger}$  : Komponen galat oleh faktor ke A taraf ke-g, faktor B taraf ke-e  
 dan ulangan ke-r / pengaruh acak yang menyebar normal  $(0, \sigma^2)$   
 g : Perlakuan (P) 1, 2, dan 3  
 e : Perlakuan (T) 1, 2, dan 3  
 r : Ulangan 1, 2, dan 3

### 3.5 Analisis Data

Data dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial, data signifikan dilakukan uji lanjut menggunakan *duncan multiple range test* (DMRT) dengan taraf 5% (Afiati dan Maheswari, 2014).

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Viabilitas Bakteri Asam Laktat

Viabilitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam produk keju memiliki peran penting karena adanya efek menguntungkan dari keberadaan sel tersebut bagi kesehatan tubuh manusia. Penambahan kultur starter *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* berpengaruh nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap Viabilitas BAL. Penyimpanan selama 0, 10, 20 hari pada suhu dingin memiliki pengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap viabilitas BAL. Terjadi interaksi antara penambahan kultur tunggal dan campuran selama penyimpanan dingin yang berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) pada viabilitas BAL.

Rata-rata viabilitas BAL dalam penelitian ini berkisar antara 4,10-7,60 log CFU/gram. Viabilitas tertinggi selama penyimpanan dingin adalah penyimpanan 20 hari dengan penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus*, sedangkan untuk rataan viabilitas terendah yaitu pada perlakuan ketiga dengan penambahan kultur campuran selama penyimpanan 0 hari.

Tabel 1 Viabilitas Bakteri Asam Laktat

Perlakuan	Viabilitas BAL (log CFU/gram)			Total	Rerata
	T0	T1	T2		
<i>Lr</i>	4,56 <sup>c</sup>	5,82 <sup>bc</sup>	7,60 <sup>a</sup>	17,99	6,00 <sup>a</sup>
<i>Pp</i>	4,97 <sup>c</sup>	4,98 <sup>c</sup>	6,24 <sup>b</sup>	16,19	5,40 <sup>b</sup>
<i>Lr+Pp</i>	4,10 <sup>c</sup>	5,10 <sup>c</sup>	6,22 <sup>b</sup>	15,42	5,14 <sup>c</sup>
Rerata	4,55 <sup>c</sup>	5,30 <sup>b</sup>	6,69 <sup>a</sup>		

\* Keterangan: *Lr* (*Lactobacillus rhamnosus*), *Pp* (*Pediococcus pentosaceus*)

\* Huruf superskrip yang berbeda pada kolom dan baris rerata yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ( $P < 0,05$ )



Viabilitas BAL dengan penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus* berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai viabilitas BAL yang tinggi yaitu 6,00 log CFU/gram. Nilai viabilitas BAL *Lactobacillus rhamnosus* memiliki nilai viabilitas paling tinggi dibandingkan dengan penambahan kultur tunggal *Pediococcus pentosaceus* dan kultur campuran (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*). Hal ini dikarenakan nilai pH yang semakin turun menyebabkan viabilitas BAL semakin baik. Nilai pH yang rendah baik untuk kelangsungan hidup Bakteri Asam Laktat. Hal ini sesuai pendapat Aji *et al.* (2022) bahwa pH dengan nilai lebih dari 4 ideal bagi pertumbuhan BAL, akan tetapi nilai pH yang terlalu rendah dapat mengakibatkan BAL mengalami kematian.

Penambahan kultur tunggal *Pediococcus pentosaceus* berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai viabilitas BAL yang lebih rendah dari penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus* yaitu 5,40 log CFU/gram. Nilai pH mempengaruhi viabilitas BAL, semakin rendah nilai pH maka viabilitas BAL semakin baik. Menurut Setiarto *et al.* (2017) pembentukan asam laktat pada saat fermentasi akan menurunkan nilai pH. Nilai pH keju pada penelitian ini dengan penambahan kultur tunggal *Pediococcus pentosaceus* selama penyimpanan pada suhu dingin mengalami kenaikan, akan tetapi tidak terlalu tinggi sehingga mempengaruhi viabilitas Bakteri Asam Laktat. Oleh sebab itu pada perlakuan kedua tidak mengalami kenaikan yang tinggi seperti perlakuan pertama. Beberapa species atau strain memiliki nilai viabilitas yang berbeda, *Pediococcus pentosaceus* memiliki pengaruh yang kurang baik terhadap viabilitas BAL, hal ini

selaras dengan penelitian (Nuraida *et al.*, 2014) bahwa viabilitas produk dengan campuran *Pediococcus pentosaceus* memiliki pengaruh yang kurang baik dibandingkan dengan penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamosus*.

Viabilitas BAL dengan penambahan kultur campuran (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*) berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai viabilitas BAL yang lebih rendah yaitu 5,14 log CFU/gram, Nilai viabilitas BAL dengan penambahan kultur campuran memiliki nilai viabilitas paling rendah dibandingkan dengan penambahan kultur tunggal. Adanya interaksi dari dua bakteri mengakibatkan nilai viabilitas BAL yang kurang maksimal, dikarenakan bakteri *Lactobacillus rhamnosus* menghambat pertumbuhan *Pediococcus pentosaceus* selama penyimpanan dingin. Hal ini sesuai pendapat (Nuraida *et al.*, 2014) *Lactobacillus rhamnosus* R23 menghambat pertumbuhan *Pediococcus pentosacesus* A38 selama penyimpanan, oleh karena itu kedua bakteri tersebut kurang baik digunakan sebagai kultur *starter* campuran.

Penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus* 5% memiliki viabilitas BAL tertinggi pada penyimpanan 20 hari, hal ini dikarenakan semakin lama penyimpanan keju pada suhu dingin mengakibatkan nilai pH turun sehingga membuat viabilitas BAL pada keju dengan penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus* 5% memiliki viabilitas yang baik sebagai tempat hidup BAL. Hal ini sesuai dengan pendapat Setiarto *et al.* (2017) bahwa nilai pH sangat berkaitan dengan kadar asam laktat yang dihasilkan oleh BAL selama penyimpanan.

Penyimpanan keju berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap viabilitas BAL yang dihasilkan, pada penyimpanan 0 hari memiliki nilai viabilitas yang paling rendah, hal ini karena pada saat hari ke-0 BAL belum mengalami perkembangan sehingga nilai viabilitas BAL masih rendah. Menurut (Setiarto dan Widhyastuti, 2017), Peningkatan viabilitas BAL terjadi karena pada saat jam ke-0 BAL mengalami fase awal yaitu fase lag dimana BAL akan menyesuaikan dengan lingkungan hidupnya. Setelah itu pada jam ke-24 mulai terjadi peningkatan viabilitas karena pertumbuhan BAL telah memasuki fase logaritmik. Pada penyimpanan 10 hari BAL sudah mengalami aktivitas sehingga nilai pH menjadi turun yang mengakibatkan meningkatnya viabilitas BAL. Menurut (Nizori *et al.*, 2008) Nilai keasaman dan pH memiliki hubungan erat dengan meningkatnya jumlah mikroba diikuti dengan meningkatnya aktivitas metabolisme sehingga produksi asam laktat semakin meningkat sedangkan nilai pH menurun.

#### **4.2 Nilai pH**

Berdasarkan analisis sidik ragam pada penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* memberikan pengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai pH yang dihasilkan. Penyimpanan selama 0, 10, 20 hari pada suhu dingin memiliki pengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai pH. Interaksi antara penambahan BAL kultur campuran dan lama penyimpanan memiliki pengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai pH.

Rataan pada tabel 2 menunjukkan bahwa rata-rata nilai pH menggunakan kultur tunggal dan campuran (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*) selama penyimpanan dingin menghasilkan nilai pH keju yang

beragam berkisar 5,29-5,34. Nilai pH keju dengan penambahan kultur campuran (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*) menghasilkan nilai pH terendah yakni 5,29, sedangkan perlakuan dengan penambahan kultur tunggal *Pediococcus pentosaceus* menghasilkan nilai pH tertinggi yakni 5,43.

Tabel 2 Nilai pH Bakteri Asam Laktat keju dengan kultur tunggal dan campuran selama penyimpanan

Perlakuan	Nilai pH			Total	Rerata
	T0	T1	T2		
<i>Lr</i>	5,40 <sup>b</sup>	5,33 <sup>bc</sup>	5,30 <sup>c</sup>	16,03	5,34 <sup>b</sup>
<i>Pp</i>	5,40 <sup>b</sup>	5,40 <sup>b</sup>	5,50 <sup>a</sup>	16,30	5,43 <sup>c</sup>
<i>Lr+Pp</i>	5,30 <sup>c</sup>	5,10 <sup>d</sup>	5,47 <sup>ab</sup>	15,87	5,29 <sup>a</sup>
Rerata	5,37 <sup>b</sup>	5,28 <sup>a</sup>	5,42 <sup>c</sup>		

\* Keterangan: *Lr* (*Lactobacillus rhamnosus*), *Pp* (*Pediococcus pentosaceus*)

\* Huruf superskrip yang berbeda pada kolom dan baris rerata yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ( $P < 0,05$ )

Nilai pH dengan penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus* berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai nilai pH yang rendah yaitu 5,34. Nilai pH yang menurun pada penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus* diakibatkan karena adanya aktivitas BAL yang mengubah glukosa menjadi asam laktat dan fruktosa selama proses penyimpanan dingin. Menurut Amar dan Marwati (2017), semakin lama proses penyimpanan semakin banyak total BAL dan mengakibatkan terjadinya penurunan nilai pH. Semakin lama penyimpanan keju pada suhu dingin mengakibatkan asam laktat yang terbentuk semakin banyak, sehingga menyebabkan pH keju semakin turun. Hal ini menggambarkan bahwa laktosa diubah menjadi asam laktat, asam laktat yang tinggi diakibatkan oleh aktivitas BAL sehingga nilai pH keju mengalami penurunan.

Nilai pH dengan penambahan kultur tunggal *Pediococcus pentosaceus* berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai nilai pH yang rendah yaitu 5,43, nilai

pH dengan penambahan kultur tunggal *Pediococcus pentosaceus* memiliki hasil lebih tinggi dari penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus*. Meskipun nilai pH dengan penambahan kultur tunggal *Pediococcus pentosaceus* lebih tinggi akan tetapi nilai ini terbilang baik untuk standar pH keju. Hal ini sesuai dengan penelitian (Budiman *et al.*, 2017) yaitu menghasilkan nilai pH antara 5,5-5,3. Turunnya nilai pH keju karena adanya aktivitas bakteri asam laktat dalam keju tersebut. Menurunnya nilai pH berkaitan dengan aktivitas bakteri asam laktat yang meningkat yang menggunakan laktosa pada keju tersebut. Meningkatnya nilai pH selama penyimpanan dingin dipengaruhi oleh kultur tunggal *Pediococcus pentosaceus*. Beberapa kultur dapat meningkatkan nilai pH, hal ini sesuai dengan pendapat Nur *et al.* (2015) bahwa beberapa BAL mempengaruhi nilai pH yang meningkat selama penyimpanan dingin.

Nilai pH dengan penambahan kultur campuran (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*) berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai pH yang rendah yaitu 5,29, penambahan kultur campuran dapat secara aktif memproduksi asam secara bersamaan sehingga menurunkan nilai pH. Hal ini serupa dengan penelitian (Nizori *et al.*, 2008) Perlakuan dengan menggunakan *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* dan *L. acidophilus* dapat secara bersama-sama aktif memproduksi asam sehingga keasamannya bisa mencapai 4,38. Adanya kultur *Lactobacillus rhamnosus* juga memiliki peran yang baik dalam menurunkan nilai pH, akan tetapi kultur ini menghambat pertumbuhan kultur *Pediococcus pentosaceus*. Terhambatnya perkembangan *Pediococcus pentosaceus* tidak terlalu mempengaruhi nilai pH pada keju dengan kultur campuran. Hal ini selaras dengan

penelitian (Nuraida *et al.*, 2014) nilai pH dengan campuran (1:1) menghasilkan pH 3,81 dimana nilai ini terbilang baik.

Penyimpanan keju berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai pH yang dihasilkan, nilai pH pada saat penyimpanan 0 hari lebih tinggi dari penyimpanan 10 hari. Hal ini dikarenakan pada saat awal penyimpanan BAL belum terlalu aktif. Setelah penyimpanan 10 hari BAL mulai aktif sehingga menghasilkan asam yang menurunkan nilai pH. Menurut (Afiati dan Maheswari, 2014) penurunan terus terjadi selama masa penyimpanan, hal ini dimungkinkan karena proses metabolisme berlangsung secara ideal dan kondisi konstan, dimana tingkat produksi asam sebanding dengan jumlah bakteri, walaupun ketika pertumbuhan melambat atau bahkan berhenti karena terjadi akumulasi asam laktat, sistem enzim bakteri masih dapat terus melanjutkan perubahan dari laktosa menjadi asam.

Kenaikan pada penyimpanan 20 hari diakibatkan bakteri *Pediococcus pentosaceus* terhambat oleh *Lactobacillus rhamnosus*, sehingga bakteri *Pediococcus pentosaceus* tidak menghasilkan asam yang berpengaruh terhadap kenaikan nilai pH pada hari ke 20. Hal ini sesuai pendapat (Nuraida *et al.*, 2014) *Lactobacillus rhamnosus* R23 menghambat pertumbuhan *Pediococcus pentosacesus* A38 selama penyimpanan, oleh karena itu kedua bakteri tersebut kurang baik digunakan sebagai kultur *starter* campuran. Kenaikan nilai pH pada penyimpanan hari ke-20 tidak terlalu banyak, sehingga nilai pH pada penelitian ini sesuai penelitian (Budiman *et al.*, 2017) yang menghasilkan keju dengan nilai pH 5,5-5,3.

## **BAB V**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Simpulan**

Berdasarkan penelitian, viabilitas BAL terbaik terdapat pada penambahan kultur tunggal *Lactobacillus rhamnosus* selama penyimpanan 20 hari, dan nilai pH terbaik dengan penambahan kultur campuran (*Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus*) selama penyimpanan 10 hari.

#### **5.2 Saran**

Pembuatan keju probiotik disarankan menggunakan bakteri *Lactobacillus rhamnosus* karena mampu menghasilkan viabilitas BAL dan nilai pH terbaik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afiati, F., dan Maheswari, R. R. 2014. Pemanfaatan bakteri probiotik indigenus dalam pembuatan keju lunak [*Utilization of Indigenous Probiotic Bacteria in the Production of Soft Cheese*]. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*. **25**(1), 7–7.
- Aji, M. W. F., Kalsum, U., dan Suryanto, D. 2022. Pengaruh lama penyimpanan produk enkapsulasi probiotik *whhey* terhadap kadar asam laktat dan nilai ph. *Dinamika rekasatwa: Jurnal Ilmiah (e-Journal)*. **5**(02).
- Amar, A., dan Marwati, S. M. (n.d.) 2018. Karakteristik keju lunak saga (*adenanthera pavonina, linn.*) Dengan berbagai kemasan dan waktu simpan yang berbeda saga (*adenanthera pavonina, linn.*) *Soft Cheese Characteristic Variation based on Various Packaging and Shelf Life*. **6**(1), (14-15)
- Andriani, A. D., Lokapirnasari, W. P., Karimah, B., Hidanah, S., Al-Arif, M. A., Soeharsono, N. H., dan Harijani, N. 2020 Efektifitas probiotik *lactobacillus casei* dan *lactobacillus rhamnosus* sebagai pengganti *antibiotic growth promoter* terhadap total kolesterol, *low density* lipoprotein dan *high density* lipoprotein ayam broiler. *Jurnal Medik Veteriner*. **3**(1), 114–122.
- Azizah, N., Suradi, K., dan Gumilar, J. 2018. Pengaruh konsentrasi bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei* terhadap mutu mikrobiologi dan kimia mayonnaise probiotik. *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*. **18**(2), 79–85.
- Budiman, S., Hadju, R., Siswosubroto, S. E., dan Rembet, G. D. G. 2017. Pemanfaatan enzim rennet dan *lactobacillus plantarum* yn 1.3 terhadap ph, *curd* dan total padatan keju. *Zootec*. **37**(2), 321–328.
- Deswindra, M. R., Oktarlina, R. Z., dan Bustomi, E. C. 2018. Potensi agen probiotik *Lactobacillus rhamnosus* sebagai modalitas terapi asma. *Jurnal Majority*. **7**(3), 222–227.
- Fuller, R. 1992. *History and development of probiotics*. In *Probiotics* (pp. 1–8). Springer. **(9-10)**
- Grahatika, R. 2009. Identifikasi dan pemeriksaan jumlah total bakteri pada susu sapi di kabupaten karanganyar. *Univerversitas Muhammadiyah Surakarta*. **(11-12)**



- Navyanti, F., dan Adriyani, R. 2015. Hygiene sanitation, phisical qualities and bacterial in fresh cow's milk of x milk company in Surabaya. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*. **8**(1), 36–47.
- Nizori, A., Suwita, V., Surhaini, M., Melisa, T. C. S., dan Warsiki, E. 2008. Pembuatan soyghurt sinbiotik sebagai makanan fungsional dengan penambahan kultur campuran *streptococcus thermophilus*, *lactobacillus bulgaricus* dan *lactobacillus acidophilus*. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. **18**(1), 20-22.
- Nur, S. N., Saloko, S., dan Kisworo, D. 2015. Kajian mutu dan daya simpan keju mozzarella probiotik dari susu kerbau. *Pro Food*. **1**(1), 24–32.
- Nuraida, L., Nurdin, Q., dan Firlieyanti, A. S. 2014. Pengembangan yoghurt berisi *lactobacillus rhamnosus* dan *pediococcus pentosaceus* dan viabilitasnya selama penyimpanan. *Jurnal Mutu Pangan: Indonesian Journal of Food Quality*. **1**(1), 47–55.
- Nurhartadi, E., Nursiwi, A., Utami, R., dan Widayani, E. 2018. Pengaruh waktu inkubasi dan konsentrasi sukrosa terhadap karakteristik minuman probiotik dari *whey* hasil samping keju. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. **11**(2), 73–93.
- Nurlaela, S., Sunarti, T. C., dan Meryandini, A. 2016. Formula media pertumbuhan bakteri asam laktat *Pediococcus pentosaceus* menggunakan substrat *whey* tahu. *Jurnal Sumberdaya Hayati*. **2**(2), 31–38.
- Pasari, W. 2021. Kualitas fisik dan mikrobiologi daging sapi yang diawetkan dengan substrat antimikroba (*pediococcus pentosaceus*) baf 715 yang dikemas vakum selama penyimpanan pada suhu ruang. *Universitas Jambi*. **2**(1), (20-22)
- Purwijantiningsih, E. 2014. Viabilitas bakteri asam laktat dan aktivitas antibakteri produk susu fermentasi komersial terhadap beberapa bakteri patogen enterik. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. **2**(1), 15–21.
- Puspawati, N. N., Nuraida, L., dan Adawiyah, D. R. 2010. Penggunaan berbagai jenis bahan pelindung untuk mempertahankan viabilitas bakteri asam laktat yang di isolasi dari air susu ibu pada proses pengeringan beku [utilization of various cryogenic agents during freeze drying to maintain the viability of lactic. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*. **21**(1), 59–59.
- Putri, R., dan Juhroni, H. 2021. Pelatihan pembuatan keju untuk memenuhi kebutuhan nutrisi tulang dan gigi anak masa golden age. *Abdihaz: Jurnal Ilmiah Pengabdian Pada Masyarakat*. **3**(2), 87–95.

- Riski, P., Purwanto, B. P., dan Atabany, A. 2016. Produksi dan kualitas susu sapi FH laktasi yang diberi pakan daun pelepah sawit. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*. **4**(3), 345–349.
- Sarah, S., Suprayogi, T. H., dan Sudjatmogo, S. 2016. Kecernaan protein ransum dan kandungan protein susu sapi perah akibat pemberian imbalanced hijauan dan konsentrat ransum yang berbeda (*protein digestibility and milk protein of dairy cow fed at the ration of the difference ratio forage and concentrates*). *Animal Agriculture Journal*. **4**(2), 229–233.
- Setiarto, R. H. B., dan Widhyastuti, N. 2017. Pengaruh starter bakteri asam laktat dan penambahan tepung talas termodifikasi terhadap kualitas yogurt sinbiotik. *Indonesian Journal of Industrial Research*. **11**, 18–30.
- Setiarto, R. H. B., Widhyastuti, N., Saskiawan, I., dan Safitri, R. M. 2017. Pengaruh variasi konsentrasi inulin pada proses fermentasi oleh *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. *Biopropal Industri*. **8**(1), 1–17.
- Setyawardani, T., Rahardjo, A. H. D., dan Sulistyowati, M. (2017). Chemical characteristics of goat cheese with different percentages of mixed indigenous probiotic culture during ripening. *Media Peternakan*. **40**(1), 55–62.
- Sumarmono, J., Setyawardani, T., dan Santosa, S. A. 2020. Effect of Storage Conditions on The Characteristics and Composition of Fresh Goat Cheese Containing Probiotics. *Animal Production*. **21**(1), 56–63.
- Sumarmono, J., dan Suhartati, F. M. 2011. Sifat fungsional keju lunak yang dibuat dari susu sapi dengan metode *direct acidification*. *Prosiding Semnas FP Universitas Jendral Soedirman*. **1**(3), 592–598.
- Sumarmono, J., dan Suhartati, F. M. 2016. Yield dan komposisi keju lunak (soft cheese) dari susu sapi yang dibuat dengan teknik *direct acidification* menggunakan ekstrak buah lokal. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. **1**(3).
- Surya, A. A., dan Muakhid, B. 2022. Pengaruh lama penyimpanan suhu ruang limbah whey terhadap jumlah mikroba dan nilai keasaman. *Dinamika Rekasatwa*. **5**(02).
- Susilowati, M. 2015. *Perancangan Percobaan*. Universitas Udayana Press, Denpasar.

- Wardhani, D. H., Jos, B., dan Cahyono, H. 2018. Komparasi jenis koagulan dan konsentrasinya terhadap karakteristik curd pada pembuatan keju lunak tanpa pemeraman comparison of coagulants and concentrations on curd characteristics of unripened soft cheese. *Jurnal Rekayasa Kimia Dan Lingkungan*. **13**(2), 209–216.
- Yeni, A. M., dan Sunarti, T. C. 2016. Penggunaan substrat whey tahu untuk produksi biomassa oleh *Pediococcus pentosaceus* E. 1222. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. **26**(3).
- Yulia, B. M., Zaini, M. A., dan Kisworo, D. 2015. Pengaruh penambahan probiotik (*Lactobacillus casei*) dan lama penyimpanan terhadap sifat kimia keju mozzarella dari susu kerbau Sumbawa. *Pro Food*. **1**(1), 33–39.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1 Perhitungan Data Viabilitas Bakteri Asam Laktat

Perlakuan (P)	Ulangan	Lama Penyimpan (T) hari			Total
		0	10	20	
P1 (5% Lr)	1	4,45	5,26	7,23	16,93
	2	4,41	6,04	8,20	18,66
	3	4,83	6,18	7,36	18,37
Sub Total		13,69	17,47	22,7963	53,96
P2 (5% Pp)	1	4,96	5,78	6,08	16,82
	2	5,11	3,92	6,30	15,33
	3	4,85	5,23	6,34	16,42
Sub Total		14,92	14,92768	18,72263	48,57
P3 (2,5% Lr dan 2,5% Pp)	1	4,26	5,08	5,30	14,64
	2	4,04	5,00	7,11	16,15
	3	4,00	5,23	6,26	15,49
Sub Total		12,30	15,30527	18,67025	46,27
Total		40,91413	47,7057	60,18918	148,81

\* Keterangan: Lr (*Lactobacillus rhamnosus*), Pp (*Pediococcus pentosaceus*)

a. Derajat bebas (db)

$$\begin{aligned} \text{db total} &= (A*B*R) - 1 \\ &= (3*3*3) - 1 = 26 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{db perlakuan} &= (AB - 1) \\ &= (3*3) - 1 = 8 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{dbA} &= A - 1 \\ &= 3 - 1 = 2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{dbB} &= B - 1 \\ &= 3 - 1 = 2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{dbA*B} &= (A-1) (B - 1) \\ &= (3 - 1) (3 - 1) = 4 \end{aligned}$$

### Lampiran 1. (Lanjutan)

$$\begin{aligned} \text{db galat} &= \text{dbT} - \text{dbP} \\ &= 26 - 8 = 18 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. FK} &= \text{Faktor korelasi} \\ &= \frac{Y..^2}{ABr} = \frac{148,81^2}{3 \times 3 \times 3} \\ &= 820,1527 \end{aligned}$$

#### c. Jumlah kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} \text{JK total} &= \sum(Y_{ijk})^2 - FK \\ &= (4,45^2 + 4,41^2 + 4,83^2 + \dots + 6,26^2) - 820,1527 = 32,15804 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum \sum Y_{ij}^2}{r} - FK \\ &= \frac{(13,69^2 + 17,47^2 + 22,796^2 + \dots + 18,67^2)}{3} - 820,1527 = 27,38473 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKA} &= \frac{\sum \sum Y_{ij}^2}{br} - FK \\ &= \frac{(53,96^2 + 48,57^2 + 46,27^2)}{3 \times 3} - 820,1527 = 3,463405 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKB} &= \frac{\sum (\sum Y_{.j})^2}{ar} - FK \\ &= \frac{(40,91^2 + 47,705^2 + 60,189^2)}{3 \times 3} - 820,1527 = 21,24036 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKA} \times \text{B} &= \text{JKP} - \text{JKA} - \text{JKB} \\ &= 27,38473 - 3,463405 - 21,24036 = 2,680962 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK galat} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 32,15804 - 27,38473 = 4,77331 \end{aligned}$$

#### d. Kuadrat tengah (KT)

$$\begin{aligned} \text{KT perlakuan} &= \text{JKP} / \text{dbP} \\ &= 27,38473 / 8 = 3,423091 \end{aligned}$$

**Lampiran 1. (Lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 \text{KTA} &= \text{JKA/dbA} \\
 &= 3,463405/2 = 1,731702 \\
 \text{KTB} &= \text{JKB/dbB} \\
 &= 21,24036/2 = 10,62018 \\
 \text{KTA*B} &= \text{JKA*B/dbA*B} \\
 &= 2,680962/4 = 0,670241 \\
 \text{KT galat} &= \text{JKG/dbG} \\
 &= 4,77331/18 = 0,265184 \\
 \text{F hitung (A)} &= \text{KTA/KTG} \\
 &= 1,731702/0,265184 = 6,530194 \\
 \text{F hitung (B)} &= \text{KTB/KTG} \\
 &= 10,62018/0,265184 = 40,04837 \\
 \text{F hitung (A*B)} &= \text{KT(AB)/KTG} \\
 &= 0,670241/0,265184 = 2,527456
 \end{aligned}$$

e. Koefisien keragaman (KK)

$$\text{KK} = (\sqrt{\text{KTG} / \tilde{Y}}) 100\% = 3,71$$

**Tabel 3 Tabel Sidik Ragam Viabilitas BAL**

Sumber Keragaman	JK	db	KT	Fhit	F Tabel	
					0,05	0,01
<b>P</b>	27,38472912	8	3,423	12,908	2,51	3,71
<b>A</b>	3,463404687	2	1,732	6,530		
<b>B</b>	21,24036227	2	10,620	40,048		
<b>A*B</b>	2,680962171	4	0,670	2,527		
<b>G</b>	4,773309939	18	0,265			
<b>Total</b>	59,54276819	26				

\*F hitung perlakuan >F tabel (5% ), hal ini menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap viabilitas BAL

**Lampiran 1. (Lanjutan)**

**Tabel 4 Tabel Duncun Multiple Range Test Viabilitas BAL**

P	2	3
Tabel Duncun 0,05%	2,97	3,12
$\sqrt{\text{KTG/r}}$		0,297
Nilai Duncun 0,05%	0,883	0,928

**Tabel 5 Tabel Duncun Perlakuan Viabilitas BAL**

Perlakuan	Rerata	DMRT+0,05	Simbol
P1	6,00	6,88	a
P2	5,40	6,32	b
P3	5,14		c

**Tabel 6 Tabel Duncun Lama Penyimpanan Viabilitas BAL**

Lama Penyimpanan	Rerata	Rerata + DMRT 5%	Simbol
20 hari	6,69	7,57	a
10 hari	5,30	6,22	b
0 hari	4,55		c

**Tabel 7 Tabel Duncun Interaksi Perlakuan Viabilitas BAL**

	2	3	4	5	6	7	8	9
Tabel Duncun 5%	2,97	3,12	3,21	3,27	3,32	3,36	3,38	3,40
Akar KTG/r	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
DMRT	0,88	0,93	0,95	0,97	0,99	1,00	1,01	1,01

rata-rata	rata-rata	selisih	simbol
P1T2	7,60		a
P2T2	6,24	1,36	b
P3T2	6,22		b
P1T1	5,82		bc
P3T1	5,10	1,14	c
P2T1	4,98		c
P2T0	4,97		c
P1T0	4,56		c
P3T0	4,10		c

\* Huruf superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ( $P < 0,05$ )

Lampiran 2 Perhitungan Nilai pH

Perlakuan (P)	Ulangan	Lama Penyimpan (T) hari			Total
		0	10	20	
P1 (5% Lr)	1	5,4	5,3	5,3	16
	2	5,4	5,3	5,3	16
	3	5,4	5,4	5,3	16,1
Sub Total		16,2	16	15,9	48,1
P2 (5% Pp)	1	5,4	5,4	5,5	16,3
	2	5,3	5,4	5,5	16,2
	3	5,5	5,4	5,5	16,4
Sub Total		16,2	16,2	16,5	48,9
P3 (2,5% Lr dan 2,5% Pp)	1	5,3	5,1	5,4	15,8
	2	5,3	5,1	5,5	15,9
	3	5,3	5,1	5,5	15,9
Sub Total		15,9	15,3	16,4	47,6
Total		48,3	47,5	48,8	144,6

\* Keterangan: Lr (*Lactobacillus rhamnosus*), Pp (*Pediococcus pentosaceus*)

a. Derajat bebas (db)

$$\begin{aligned} \text{db total} &= (A*B*R) - 1 \\ &= (3*3*3) - 1 = 26 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{db perlakuan} &= (AB - 1) \\ &= (3*3) - 1 = 8 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{dbA} &= A - 1 \\ &= 3 - 1 = 2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{dbB} &= B - 1 \\ &= 3 - 1 = 2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{dbA*B} &= (A-1) (B - 1) \\ &= (3 - 1) (3 - 1) = 4 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{db galat} &= \text{dbT} - \text{dbP} \\ &= 26 - 8 = 18 \end{aligned}$$



## Lampiran 2. (lanjutan)

b. FK = Faktor korelasi

$$\begin{aligned} &= \frac{Y_{..}^2}{ABr} = \frac{144,6^2}{3 \times 3 \times 3} \\ &= 774,4133 \end{aligned}$$

c. Jumlah kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} \text{JK total} &= \sum(Y_{ijk})^2 - FK \\ &= (5,4^2 + 5,4^2 + 5,4^2 + \dots + 5,5^2) - 774,4133 = 0,366667 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum \sum Y_{ij}^2}{r} - FK \\ &= \frac{(16,2^2 + 16^2 + 16,9^2 + \dots + 16,4^2)}{3} - 774,4133 = 0,333333 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKA} &= \frac{\sum \sum Y_{ij}^2}{br} - FK \\ &= \frac{(48,1^2 + 48,9^2 + 47,6^2)}{3 \times 3} - 774,4133 = 0,095556 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKB} &= \frac{\sum (\sum Y_{.j})^2}{ar} - FK \\ &= \frac{(48,3^2 + 47,5^2 + 48,8^2)}{3 \times 3} - 774,4133 = 0,095556 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JKA} \times \text{B} &= \text{JKP} - \text{JKA} - \text{JKB} \\ &= 0,333333 - 0,095556 - 0,095556 = 0,142222 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JK galat} &= \text{JKT} - \text{JKP} \\ &= 0,366667 - 0,333333 = 0,033333 \end{aligned}$$

f. Kuadrat tengah (KT)

$$\begin{aligned} \text{KT perlakuan} &= \text{JKP} / \text{dbP} \\ &= 0,333333 / 8 = 0,041667 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{KTA} &= \text{JKA} / \text{dbA} \\ &= 0,095556 / 2 = 0,047778 \end{aligned}$$

**Lampiran 2. (lanjutan)**

$$\begin{aligned}
 \text{KTB} &= \text{JKB}/\text{dbB} \\
 &= 0,095556/2 = 0,047778 \\
 \text{KTA*B} &= \text{JKA*B}/\text{dbA*B} \\
 &= 2,680962/4 = 0,035556 \\
 \text{KT galat} &= \text{JKG}/\text{dbG} \\
 &= 0,033333/18 = 0,001852 \\
 \text{F hitung (A)} &= \text{KTA}/\text{KTG} \\
 &= 0,047778/0,001852 = 25,8 \\
 \text{F hitung (B)} &= \text{KTB}/\text{KTG} \\
 &= 0,047778/0,001852 = 25,8 \\
 \text{F hitung (A*B)} &= \text{KT(AB)}/\text{KTG} \\
 &= 0,035556/0,001852 = 19,2
 \end{aligned}$$

g. Koefisien keragaman (KK)

$$\text{KK} = (\sqrt{\text{KTG}} / \tilde{Y}) 100\% = 3,71$$

**Tabel 8 Tabel Sidik Ragam Nilai pH**

Sumber Keragaman	JK	db	KT	Fhit	F Tabel	
					0,05	0,01
P	0,333333333	8	0,042	22,5	2,51	3,71
A	0,095555556	2	0,048	25,8		
B	0,095555556	2	0,048	25,8		
A*B	0,142222222	4	0,036	19,2		
G	0,033333333	18	0,002			
<b>Total</b>	<b>0,7</b>	<b>26</b>				

\*F hitung perlakuan >F tabel (5% ), hal ini menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap nilai pH

**Lampiran 2. (lanjutan)**

**Tabel 9 Tabel Duncun Multiple Range Test Nilai pH**

P	2	3
Tabel Duncun 0,05%	2,97	3,12
$\sqrt{KTG/r}$		0,025
Nilai Duncun 0,05%	0,074	0,078

**Tabel 10 Tabel Duncun Perlakuan Nilai pH**

Perlakuan	Rerata	DMRT+0,05	Simbol
P3	5,29	5,36	a
P1	5,34	5,42	b
P2	5,43		c

**Tabel 11 Tabel Duncun Lama Penyimpanan Nilai pH**

Lama Penyimpanan	Rerata	Rerata + DMRT 5%	Simbol
10 hari	5,28	6,16	a
0 hari	5,37	6,29	b
20 hari	5,42		c

**Tabel 12 Tabel Duncun Interaksi Nilai pH**

	2	3	4	5	6	7	8	9
Tabel Duncun 5%	2,971	3,117	3,210	3,274	3,320	3,356	3,383	3,404
Akar KTG/r	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
DMRT	0,074	0,077	0,080	0,081	0,082	0,083	0,084	0,085

rata rata	rata-rata	selisih	Simbol		
P2T2	5,50		a		
P3T2	5,47	0,03	ab		
P1T0	5,40	0,1	0,067	b	
P2T1	5,40		0	b	
P2T0	5,40		0,00	b	
P1T1	5,33		0,067	bc	
P1T2	5,30		0,1	0,03	c
P3T0	5,30			0	c
P3T1	5,10			0,2	d

\* Huruf superskrip berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan nyata ( $P < 0,05$ )

### Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Ilustrasi 2 Pasteurisasi Susu



Ilustrasi 3 Pengecekan Suhu Susu Sebelum ditambahkan Kultur



Ilustrasi 4 Pengukuran Kultur yang Akan digunakan



Ilustrasi 5 Penambahkan Kultur kedalam Susu



Ilustrasi 6 Pengecekan pH Susu pada Masa Inkubasi



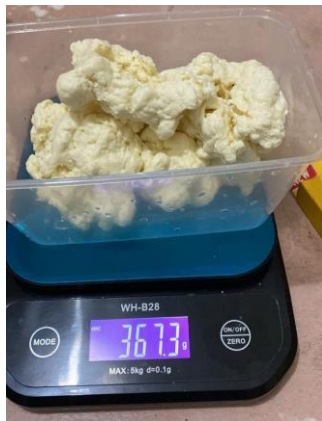
Ilustrasi 7 Penambahan Rencet



Ilustrasi 8 Susu yang Mengalami Pengumpalan



Ilustrasi 9 Pemeraman



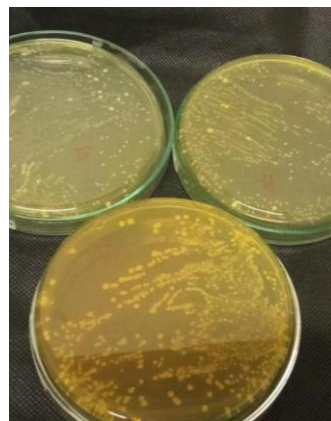
Ilustrasi 10 Hasil Pemeraman



Ilustrasi 11 Pengujian Nilai pH Keju



Ilustrasi 12 Sampel Uji Viabilitas BAL



Ilustrasi 13 Hasil Uji Viabilitas BAL

## RIWAYAT HIDUP



Arlo Arlando lahir di Kabupaten Semarang, Provinsi Jawa Tengah pada tanggal 08 Mei 2000. Penulis lahir dari pasangan Tan Kian Tjoen dan Tuti Saminah. Merupakan anak pertama dari dua bersaudara, yakni Kelana Saptianto. Ketika tahun 2012 penulis menyelesaikan pendidikan dasar di SD Kanisius Bedono, kemudian melanjutkan ke jenjang Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 1 Jambu tamat pada tahun 2015. Kemudian masuk di SMK Theresiana Bandungan mengambil jurusan Agribisnis Ternak Unggas (ATU) dan lulus pada 2018.

Sebelum melanjutkan pendidikan di Universitas Darul Ulum Islamic Centre Sudirman GUPPI Ungaran Fakultas Peternakan, penulis sempat memasuki dunia kerja di PT Sreeya Sewu Indonesia selama 1 tahun. Selama berkuliah penulis mengikuti Organisasi Mahasiswa Pecinta Alam. Kemudian penulis mencapai titik akhir perkuliahan dengan penelitian berjudul **“Viabilitas Bakteri Asam Laktat (Bal) Dan Nilai Ph Keju Segar Dengan Kultur Tunggal Dan Campuran *Lactobacillus rhamnosus* Dan *Pediococcus pentosaceus* Selama Penyimpanan Dingin”** pada tanggal 17 Januari 2023.