

**PENGARUH PENAMBAHAN VARIASI
KONSENTRASI STARTER TERHADAP VIABILITAS
BAKTERI ASAM LAKTAT YOGURT
KOLOSTRUM SAPI**

PROPOSAL SKRIPSI



OLEH:

IVANDER JEVON SUWITO

6103010017

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA
SURABAYA**

2013

**PENGARUH PENAMBAHAN VARIASI
KONSENTRASI STARTER TERHADAP VIABILITAS
BAKTERI ASAM LAKTAT YOGURT
KOLOSTRUM SAPI**

PROPOSAL SKRIPSI

Diajukan Kepada
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya
untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Teknologi Pertanian
Program Studi Teknologi Pangan

OLEH:

IVANDER JEVON SUWITO
NRP 6103010017

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA
SURABAYA
2013**

**LEMBAR PERNYATAAN
PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya sebagai mahasiswa Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya:

Nama: Ivander Jevon Suwito

NRP : 6103010017

Menyetujui karya ilmiah saya:

Judul:

Pengaruh Penambahan Variasi Konsentrasi Starter terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laktat Yogurt Kolostrum Sapi

Untuk dipublikasikan/ditampilkan di internet atau media lain (Digital Library Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya) untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, Desember 2013

Yang menyatakan,

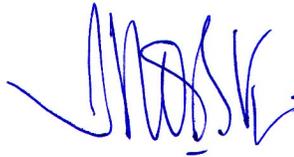


Ivander Jevon Suwito

LEMBAR PENGESAHAN

Proposal Skripsi dengan judul “**Pengaruh Penambahan Variasi Konsentrasi Starter terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laktat Yogurt Kolostrum Sapi**” yang diajukan oleh Ivander Jevon Suwito (6103010017) telah diujikan pada tanggal 29 November 2013 dan dinyatakan lulus oleh Tim Penguji.

Ketua Penguji,



Ir. Indah Kuswardani, MP.

Tanggal: 12-12-2013

Mengetahui,
Fakultas Teknologi Pertanian
Dekan,



Ir. Adrianus Rulianto Utomo, MP.

Tanggal:

LEMBAR PERSETUJUAN

Proposal Skripsi dengan judul “**Pengaruh Penambahan Variasi Konsentrasi Starter terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laktat Yogurt Kolostrum Sapi**” yang diajukan oleh Ivander Jevon Suwito (6103010017) telah diujikan dan disetujui oleh Dosen Pembimbing.

Dosen Pembimbing II,



Drs. Sutarjo Surjoseputro, MS.

Tanggal: 12-12-2013

Dosen Pembimbing I,



Ir. Indah Kuswardani, MP.

Tanggal: 12-12-2013

**LEMBAR PERNYATAAN
KEASLIAN KARYA ILMIAH**

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Proposal Skripsi saya yang berjudul:

**Pengaruh Penambahan Variasi Konsentrasi Starter terhadap
Viabilitas Bakteri Asam Laktat Yogurt Kolostrum Sapi**

Adalah hasil karya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara nyata tertulis, diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila karya saya tersebut merupakan plagiarisme, maka saya bersedia dikenai sanksi berupa pembatalan kelulusan atau pencabutan gelar, sesuai dengan peraturan yang berlaku (UU RI No. 22 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional Pasal 25 ayat 2) dan Peraturan Akademik Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya Pasal 30 ayat 1 (e) Tahun 2012.

Surabaya, Desember 2013



Ivander Jevon Suwito

Ivander Jevon Suwito, NRP 6103010017. **Pengaruh Penambahan Variasi Konsentrasi Starter terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laktat Yogurt Kolostrum Sapi.**

Di bawah bimbingan:

1. Ir. Indah Kuswardani, MP.
2. Drs. Sutarjo Surjoseputro, MS.

ABSTRAK

Yogurt merupakan produk koagulasi susu yang dihasilkan melalui proses fermentasi Bakteri Asam Laktat (BAL), *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan atau tanpa penambahan lain yang diizinkan. Yogurt merupakan minuman fungsional terkait dengan efek kesehatannya. Masyarakat umumnya mengenal yogurt dengan bahan baku susu sapi, seiring dengan perkembangan teknologi dilakukan inovasi produk yogurt salah satunya dengan bahan baku kolostrum sapi.

Kolostrum sapi terdapat dalam jumlah yang masih melimpah walaupun sudah diberikan kepada anak sapi. Menurut Conte dan Scarantino (2008), kolostrum sapi berwarna putih agak kekuningan yang merupakan hasil sekresi dari kelenjar susu sapi pada awal masa laktasi sampai 1-7 hari setelah kelahiran anak sapi yang kaya akan antibodi dan mineral.

Penambahan konsentrasi starter akan mempengaruhi aktifitas Bakteri Asam Laktat (BAL), mengingat kolostrum sapi memiliki sifat antimikroba yang tinggi. Oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh penambahan variasi konsentrasi starter terhadap jumlah viabilitas bakteri yogurt kolostrum.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Faktor Tunggal dengan dasar Rancangan Acak Kelompok (RAK) yaitu penambahan variasi konsentrasi starter 10% (v/v), 11% (v/v), 12% (v/v), 13% (v/v), 14% (v/v), 15% (v/v). Masing-masing perlakuan akan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Parameter yang diuji meliputi pH dan total BAL. Data yang diperoleh secara statistik dengan uji ANOVA (*Analysis of Varians*) pada $\alpha = 5\%$ dan jika ada beda nyata maka akan dilanjutkan dengan uji Beda Jarak Nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk menentukan taraf perlakuan mana yang memberikan perbedaan nyata.

Kata kunci: yogurt, kolostrum sapi, viabilitas bakteri asam laktat.

Ivander Jevon Suwito, NRP 6103010017. **Effect of Various Concentration Addition of Starter Lactic Acid Bacteria Viability of Bovine Colostrum Yoghurt.**

Advisory Committee:

1. Ir. Indah Kuswardani, MP.
2. Drs. Sutarjo Surjoseputro, MS.

ABSTRACT

Yoghurt is a milk product coagulation produced through fermentation of Lactic Acid Bacteria (LAB), *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophiles* with or without the addition other permitted. Yoghurt is functional drink that related with healthy effects. Many people know yoghurt with raw material of milk cow, along with the development of technology innovation is one yoghurt products with raw materials of bovine colostrum.

Bovine colostrum present in an amount that is still abundant despite being given to calf. According to Conte and Scarantino (2008), bovine colostrum is yellowish white color is the result of the secretion of the mammary gland in early lactation cows until 1-7 days after birth the calf are rich in antibodies and minerals.

The addition is expected to affect the activity concentration starter Lactic Acid Bacteria (LAB), given bovine colostrum has high antimicrobial. Therefore conducted a study to determine the effect of various concentration on the amount of starter yoghurt bacteria viability colostrum.

The experimental design will be use is a single factor RBD (Randomized Block Design) addition of various concentration of starter 10% (v/v), 11% (v/v), 12% (v/v), 13% (v/v), 14% (v/v), 15% (v/v). Each treatment will be repeated 4 times. The parameters will be analyzed are pH and total LAB. Obtained data will be analyzed statistically by ANOVA (Analysis of Varians) at $\alpha = 5\%$. If there is a significant difference, then it is continued by DMRT (Duncan's Multiple Range Test) to determine which level of treatment that gives significant differences.

Keywords: yoghurt, bovine colostrum, lactic acid bacteria viability.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat, rahmat, dan bimbingan-Nya maka penulis dapat menyelesaikan Proposal Skripsi dengan judul **“Pengaruh Penambahan Variasi Konsentrasi Starter terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laktat Yogurt Kolostrum Sapi”**. Penyusunan Proposal Skripsi ini merupakan salah satu syarat akademis untuk menyelesaikan program Strata-1 (S-1) di Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Penelitian yang akan dilakukan ini merupakan bagian dari penelitian **“Pemanfaatan Susu Kolostrum untuk Pembuatan Yogurt: Kajian Perbedaan Jumlah Susu Skim dan Starter terhadap Sifat Fisik, Kimia, Mikrobiologis dan Aktivitas Antimikroba Yogurt Kolostrum”** yang mendapatkan dana hibah bersaing dari DIKTI.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sulit bagi penulis untuk menyelesaikan makalah ini. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ir. Indah Kuswardani, MP. dan Drs. Sutarjo Surjoseputro, MS. selaku dosen pembimbing penulis yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran dalam mengarahkan penulis selama penelitian dan penyusunan makalah.
2. Orang tua dan keluarga penulis yang telah memberikan bantuan dan dukungan baik berupa material maupun moril.
3. Sahabat, teman dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan dan motivasi kepada penulis.

Makalah ini masih belum sempurna, karena itu diharapkan kritik dan saran untuk penyempurnaannya. Semoga makalah ini membawa manfaat bagi pembaca.

Surabaya, Desember 2013

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Yogurt	5
2.1.1. Jenis Yogurt	7
2.1.2. Pengolahan Yogurt	8
2.1.2.1. Bahan Baku Yogurt	8
2.1.2.1.1. Susu	8
2.1.2.1.2. Gula Pasir	11
2.1.2.1.3. Starter Yogurt	12
2.1.2.2. Teknis Pengolahan Yogurt	16
2.2. Kolostrum Sapi	19
2.2.1. Komponen Kimiawi Kolostrum Sapi	19
2.2.2. Manfaat Kolostrum Sapi	23
BAB III. HIPOTESA	26
BAB IV. BAHAN DAN METODOLOGI PENELITIAN	27
4.1. Bahan	27
4.1.1. Bahan untuk Penelitian	27
4.1.2. Bahan untuk Analisa	27
4.2. Alat	27
4.2.1. Alat untuk Penelitian	27
4.2.2. Alat untuk Analisa	28
4.3. Waktu dan Tempat Penelitian	28

4.3.1. Waktu Penelitian	28
4.3.2. Tempat Penelitian	28
4.4. Rancangan Penelitian	28
4.5. Pelaksanaan Penelitian	29
4.5.1. Pembuatan Starter Yogurt	30
4.5.1.1. Peremajaan Kultur Stok	30
4.5.1.2. Pembuatan Kultur Starter	31
4.5.1.3. Pembuatan Starter ST dan LB pada susu UHT	31
4.5.2. Pembuatan Yogurt Kolostrum	32
4.6. Metode Analisa	35
4.6.1. Pengujian pH	35
4.6.2. Pengujian Total Bakteri asam Laktat pada Yogurt dengan Angka Lempeng Total (ALT).....	36
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Struktur Bangun Sukrosa	11
Gambar 2.2. Bakteri Asam Laktat: (a) <i>Streptococcus thermophilus</i> , (b) <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dan (c) BAL dalam yogurt	13
Gambar 2.3. Diagram Alir Pembuatan Yogurt	17
Gambar 4.1. Diagram Alir Peremajaan Kultur Stok BAL	30
Gambar 4.2. Diagram Alir Pembuatan Kultur <i>Starter</i> BAL	31
Gambar 4.3. Diagram Alir Pembuatan <i>Starter</i> LB dan ST pada Susu UHT	31
Gambar 4.4. Diagram Alir Penelitian Pembuatan Yogurt Kolostrum Sapi	35
Gambar 4.5. Diagram Alir Pengujian Viabilitas Bakteri Yogurt dengan Angka Lempeng Total (ALT).....	37

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Standar Nasional Yogurt	6
Tabel 2.2. Komposisi Kimia Susu Sapi Segar	9
Tabel 2.3. Standar Nasional Susu Segar	10
Tabel 2.4. Perbandingan Komposisi Kolostrum Sapi dan Susu Segar.....	20
Tabel 2.5. Perbandingan Komponen Bioaktif Kolostrum dengan Susu Sapi.....	24
Tabel 4.1. Rancangan Penelitian	29
Tabel 4.2. Formulasi Pembuatan Yogurt Kolostrum Sapi	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Bahan Penelitian	46
Lampiran B. Prosedur Sterilisasi Cup	52
Lampiran C. Pengujian ALT Kultur <i>Starter</i> dan <i>Starter</i> Susu ...	53

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Yogurt adalah salah satu produk olahan berbasis susu yang semakin tinggi tingkat permintaan konsumen. Yogurt didefinisikan sebagai produk koagulasi susu yang dihasilkan melalui proses fermentasi bakteri asam laktat, *Lactobacillus bulgaricus* (LB) dan *Streptococcus thermophilus* (ST), dengan atau tanpa penambahan bahan lain yang diijinkan. Penambahan kedua jenis bakteri tersebut dimungkinkan terjadinya degradasi laktosa dan produksi asam laktat yang berakibat pada penurunan pH sehingga terbentuk gumpalan yogurt.

Yogurt merupakan minuman fermentasi baktri asam laktat yang bermanfaat untuk kesehatan saluran pencernaan karena dapat memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam usus manusia. Akhir-akhir ini masyarakat mulai menyadari pentingnya menjaga kesehatan dengan mengkonsumsi suatu produk yang bermanfaat antara lain dengan mengkonsumsi yogurt. Menurut Winarno dan Fernandez (2007), mengkonsumsi yogurt juga dapat membantu mengatasi masalah *lactose intolerance* karena adanya BAL yang memiliki enzim β -galaktosidase yang dapat memecah laktosa susu menjadi glukosa dan galaktosa. Yogurt juga dapat menurunkan kolesterol, menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan mengurangi resiko terjadinya kanker (Tamime dan Robinson, 2007). Karakteristik yogurt harus memiliki kenampakan kental sampai semi padat, bau yang khas, rasa yang asam serta konsistensi yang homogen.

Menurut Badan Standarisasi Nasional (2009), standar yogurt yang baik harus memiliki kandungan protein minimal 2,7% dan total

padatan tanpa lemak minimal 8,2%. Standart jumlah bakteri asam laktat yang terdapat pada yogurt adalah $\geq 1 \times 10^6$ CFU/g, pH yogurt sekitar 4,4-4,6 dan mengandung 0,7-1,1% asam laktat (Codex Alimentarius, 2008).

Masyarakat umumnya mengenal yogurt berasal dari susu sapi yang dilakukan proses fermentasi oleh bakteri asam laktat dan akan menghasilkan produk dengan rasa asam, seiring dengan perkembangan teknologi dan pemikiran yang maju, dilakukan berbagai penelitian untuk menemukan inovasi produk yogurt dengan tujuan meningkatkan penerimaan konsumen dan sifat fungsional produk. Para ahli pangan terus menggali bahan-bahan yang melimpah di alam namun kurang dimanfaatkan, yang melimpah maupun hasil sisa yang dapat dimanfaatkan, salah satunya adalah kolostrum sapi.

Kolostrum sapi terdapat dalam jumlah yang masih melimpah walaupun sudah diberikan kepada anak sapi. Menurut Conte dan Scarantino (2008), kolostrum sapi berwarna putih agak kekuningan yang merupakan hasil sekresi dari kelenjar susu sapi pada awal masa laktasi sampai 1-7 hari setelah kelahiran anak sapi yang kaya akan antibodi dan mineral, setelah itu susu yang dihasilkan akan mengalami perubahan komposisi mendekati komposisi susu sapi pada umumnya.

Kolostrum yang dimanfaatkan untuk pembuatan yogurt bukan kolostrum hari pertama maupun kedua pemerahan karena jumlah kolostrum yang dihasilkan terlalu sedikit untuk diaplikasikan sebagai bahan baku yogurt dan pada proses pemanasan kolostrum akan mudah menggumpal. Kolostrum yang digunakan adalah kolostrum hari keempat dan kelima karena jumlah kolostrum sapi pada hari tersebut sekitar 5-6 liter setiap masa laktasi, jumlahnya terlalu berlebihan untuk kebutuhan anak sapi (1-2 liter), selain itu viskositas kolostrum pada hari keempat dan kelima hampir menyerupai susu sapi segar pada umumnya sehingga

dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku yogurt, walaupun terdapat perbedaan komposisi dengan susu sapi segar.

Kolostrum sapi memiliki kadar total padatan sebesar 23%, lemak 6,7%, protein 5,3% dan mineral 1,0%, sedangkan susu sapi segar memiliki kadar total padatan sebesar 13%, lemak 4%, protein 4% dan mineral 0,74% (Rice dan Rogers, 1990). Hal tersebut menunjukkan komposisi nutrisi kolostrum lebih tinggi dibandingkan susu sapi segar, namun kadar laktosa kolostrum lebih rendah dibandingkan susu sapi. Kolostrum sapi hanya mengandung 2,7% laktosa, sedangkan susu sapi segar mengandung 4,5% laktosa (Rice dan Rogers, 1990).

Apabila dilihat dari komponen protein, perbandingan kasein dan *whey* pada kolostrum berbeda dengan susu sapi. Kasein dan *whey* memiliki peranan dalam hal pembentukan *curd* pada yogurt. Kasein dan *whey* akan terdenaturasi membentuk koagulan selama proses pengolahan yogurt. Penambahan susu skim sebagai sumber protein untuk mengimbangi komponen protein kolostrum khususnya kasein dan *whey*. Susu skim yang digunakan dalam bentuk bubuk, karena kadar total padatan (protein, vitamin dan mineral) kolostrum sapi belum sesuai standar atau tidak sesuai dengan harapan produk akhir sehingga dilakukan penambahan, sedangkan kadar air kolostrum sudah cukup tinggi sehingga tidak perlu dilakukan penambahan air kedalam susu skim. Penambahan susu skim diharapkan dapat memperbaiki dan meningkatkan kekokohan *curd* yogurt yang dihasilkan.

Berdasarkan penelitian pendahuluan, penambahan starter dibawah 10% dibutuhkan waktu inkubasi yang terlalu lama sehingga tidak efektif dalam pembuatan yogurt dan pertumbuhan bakteri asam laktat menjadi tidak optimal. Penambahan variasi konsentrasi starter pada pembuatan yogurt dikarenakan adanya sifat antimikroba pada kolostrum sapi yang mempengaruhi aktivitas bakteri asam laktat (BAL) sehingga

akan mempengaruhi sifat fisikokimia, mikrobiologi dan sensoris yogurt yang dihasilkan. Dalam penelitian ini dibuat yogurt dengan pengaruh variasi konsentrasi starter sehingga didapat berbagai perlakuan konsentrasi starter dalam pembuatan yogurt kolostrum sapi. Perbedaan konsentrasi tersebut menyebabkan perbedaan komposisi media bagi bakteri yang memfermentasi sehingga dapat mempengaruhi aktivitasnya yang dapat diamati dari jumlah bakteri asam laktat. Oleh sebab itu perlu dilakukan kajian terhadap pengaruh penambahan variasi konsentrasi starter terhadap viabilitas bakteri asam laktat dalam yogurt kolostrum sapi. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi starter sebesar 10% (v/v), 11% (v/v), 12% (v/v), 13% (v/v), 14% (v/v) dan 15% (v/v).

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh penambahan variasi konsentrasi starter terhadap jumlah bakteri asam laktat pada yogurt kolostrum sapi?

1.3. Tujuan

Mengetahui pengaruh penambahan variasi konsentrasi starter terhadap jumlah bakteri asam laktat pada yogurt kolostrum sapi.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Yogurt

Kata “yogurt” berasal dari bahasa Turki yaitu *jugurt* atau *yogurut* yang artinya susu asam (Surajudin dkk., 2004). Menurut Badan Standarisasi Nasional (2009), *yogurt* adalah produk yang diperoleh dari fermentasi susu dan atau susu rekonstitusi dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophiles* dan atau Bakteri Asam Laktat (BAL) lain, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diizinkan. *Yogurt* memiliki tekstur semisolid, tingkat keasaman yang rendah (pH 4,25-4,5), rasa dan aroma yang khas (Hui, 1991).

Yogurt merupakan salah satu produk susu yang memiliki peluang besar dikembangkan di Indonesia, apabila dipandang dari berbagai sudut kesehatan, rasanya yang enak dan bebas dari laktosa, baik untuk para penderita *lactose intolerance* karena yogurt akan merangsang pembentukan enzim laktase sehingga dapat memecah laktosa.

Menurut Badan Standarisasi Nasional (2009), starter *yogurt* harus memenuhi jumlah bakteri minimal yaitu 10^7 koloni/g. Starter dipersiapkan dengan mengembangkan kultur *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermopilus* secara terpisah dan mencampurnya sebelum ditambahkan ke dalam susu yang difermentasikan. Hal ini disebabkan apabila inokulum dicampurkan langsung, maka salah satu kultur akan dominan dan akan menekan pertumbuhan yang lain.

Yogurt dengan flavor dan keasaman yang diinginkan dapat diperoleh apabila jumlah organisme yang ditambahkan seimbang (Soeparno, 1992). Yogurt bermanfaat untuk mengaktifkan kerja bakteri

yang bersahabat (*friendly bacteria*) didalam usus sehingga dapat memperbaiki dan menyempurnakan fungsi pencernaan makan dalam usus kita, menyembuhkan sembelit, diare akibat intoleransi laktosa, menetralsir asam lambung pada penderita maag (*gastritis*) baik akut maupun kronis, mengatasi perut kembung, menurunkan kadar kolesterol darah serta aman bagi penderita jantung (Moeljanto dan Wiryanta, 2002).

Tabel 2.1. Standar Nasional Yogurt

No	Kriteria Uji	Satuan	Yogurt
1.	Kedaaan		
1.1	Penampakan	-	cairan kental-padat
1.2	Bau	-	normal/khas
1.3	Rasa	-	asam/khas
1.4	Konsistensi	-	homogen
2.	Kadar Lemak (b/b)	%	min. 3,0
3.	Total padatan susu bukan lemak	%	min. 8,2
4.	Protein (Nx6,38) (b/b)	%	min. 2,7
5.	Kadar abu (b/b)	%	maks. 1,0
6.	Keasaman (dihitung sebagai asam laktat) (b/b)	%	0,5-2,0
7.	Cemaran logam		
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,3
7.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	maks. 20,0
7.3	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40,0
7.4	Raksa (Hg)	mg/kg	maks. 0,03
8.	Arsen	mg/kg	maks. 0,1
9.	Cemaran mikroba		
9.1	Bakteri <i>coliform</i>	APM/g atau koloni/g	maks. 10
9.2	<i>Salmonella</i>	-	negatif/25 g
9.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	negatif/25 g
10.	Jumlah bakteri Starter	koloni/g	min. 10

*sesuai dengan Pasal 2 (istilah dan definisi)

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (2009).

2.1.1. Jenis Yogurt

Yogurt yang umum ada di pasaran terdiri atas berbagai jenis. Menurut Tamime dan Robinson (2007), yogurt dapat dibagi menjadi beberapa kriteria, yaitu fisik, kimia, rasa dan macam lainnya. Berdasarkan proses pembuatan, yogurt dibedakan menjadi dua tipe, yaitu *set* yogurt dan *stirred* yogurt.

a. *Set* yogurt

Set yogurt merupakan yogurt yang memiliki tekstur yang sangat kental, umumnya berwarna putih dan rasanya sangat asam. Tipe yogurt ini diinkubasi dengan kultur dalam kemasan kecil yang siap jual sehingga gel atau koagulum yang terbentuk berasal dari aktivitas kultur starter itu sendiri (Winarno dkk., 2003).

Yogurt tipe ini memiliki koagulum yang kokoh, namun memiliki kelemahan karena mudah mengalami sineresis apabila proses pembuatan dan suhu penyimpanan tidak dikendalikan dengan baik. Semakin lama penyimpanan juga mengakibatkan sineresis.

b. *Stirred* yogurt

Yogurt jenis ini memiliki tekstur yang lebih cair dibandingkan *set* yogurt. Yogurt difermentasi dengan kultur pada wadah besar, selanjutnya koagulum yang terbentuk kemudian dipecah dengan proses pengadukan agar produk mudah dialirkan ke dalam kemasan yang lebih kecil (Winarno dkk., 2003). Gel atau koagulum yang terbentuk dalam kemasan kecil bukan merupakan hasil aktivitas kultur starter tapi karena penambahan penstabil seperti gelatin (Helferich dan Westhoff, 1980 dalam Winarno, 2003). Penambahan penstabil dalam yogurt dapat mencegah terjadinya sineresis sehingga yogurt tidak mudah rusak.

Yogurt biasanya dilakukan penambahan pemanis, perasa, pewarna maupun buah-buahan sebagai pelengkap. *Stirred* yogurt umumnya lebih disukai oleh masyarakat.

2.1.2. Pengolahan Yogurt

Prinsip pengolahan yogurt adalah fermentasi susu dengan cara penambahan bakteri-bakteri termofilik (tumbuh baik pada suhu tinggi), *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Adanya fermentasi menyebabkan rasa yogurt menjadi asam, karena ada perubahan laktosa menjadi asam laktat oleh bakteri. Apabila diinginkan rasa yang tidak terlalu asam, dapat ditambahkan pemanis (gula, sirup) maupun berbagai flavor buatan.

Proses pembuatan yogurt harus dilakukan secara higienis untuk menghindari masuknya kotoran maupun bakteri yang tidak diinginkan, sehingga tidak dihasilkan yogurt yang kurang baik. Ciri-ciri yogurt yang rusak adalah encer, mempunyai bau yang menyimpang dari yogurt atau membusuk, timbul gas, tumbuh jamur atau kapang pada permukaan yogurt.

2.1.2.1 Bahan Baku Yogurt

Bahan yang digunakan dalam pembuatan yogurt terdiri dari bahan baku dan bahan tambahan. Bahan baku berupa susu, sukrosa (gula pasir) dan bibit atau starter. Bahan tambahan berupa pemanis, penstabil, buah-buahan, pewarna dan lain-lain.

2.1.2.1.1. Susu

Susu yang digunakan dapat berupa susu sapi segar, susu UHT, susu skim atau campuran antara susu sapi segar atau susu UHT dengan susu skim.

a. Susu Sapi Segar

Menurut SNI 3141.1:2011, susu segar (*raw milk*) adalah cairan yang berasal dari ambing sapi sehat dan bersih, yang diperoleh dengan cara pemerahan yang benar, yang kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun

kecuali pendinginan. Susu sapi segar adalah susu segar yang dihasilkan oleh sapi tanpa adanya penambahan bahan lain.

Susu sapi mengandung sejumlah nutrisi dan mempunyai kandungan total padatan sebesar 10%. Susu sapi yang baik harus memiliki total padatan sekitar 15-16 g/100g, apabila tidak terpenuhi dapat ditambahkan bahan lain seperti susu skim dan gula. Komposisi kimia susu sapi segar dapat dilihat pada Tabel 2.2. Susu segar memiliki pH sekitar 6,6-6,7. Aktivitas mikroorganisme menyebabkan pH turun sedangkan pH di atas 6,7 disebabkan oleh penyakit ambing mastitis yang menyebabkan perubahan keseimbangan mineral dalam susu (Buckle dkk., 2009).

Tabel 2.2. Komposisi Kimia Susu Sapi Segar

Komposisi	Kandungan (per 100g susu)
Air	87,10 g
Laktosa	4,80 g
Lemak	3,90 g
Protein	3,40 g
Vitamin A	160 IU
Vitamin C	2,00 mg
Vitamin D	0,5-4,4 IU
Vitamin E	0,08 mg
Kalsium	0,125 g
Potassium	0,140 g
Fosfor	0,096 g

Sumber : Buckle dkk., 2009

Susu segar rentan tercemar oleh mikroorganisme karena nutrisinya yang lengkap dan kandungan air yang sangat tinggi, sehingga dalam penerimaan bahan baku berupa susu yang dapat diterima oleh produsen yogurt minimal harus sesuai dengan SNI (Tabel 2.3) dan selanjutnya tambahan sesuai standar tertentu dari produsen tersebut.

b. Susu UHT (*Ultra High Temperature*)

Susu *Ultra High Temperature* (UHT) merupakan susu yang telah melalui proses sterilisasi suhu tinggi (135-150° C) dengan waktu kontak sekitar 2-6 detik (Winarno dan Fernandez, 2007). Menurut Effendi

(2009), sterilisasi merupakan proses thermal untuk mencapai suhu di atas titik didih dan dilakukan untuk meniadakan segala bentuk kehidupan mikroorganisme beserta sporanya. Susu UHT biasanya dikemas aseptik dalam kemasan karton *tetrapack multilayer*. Adanya kombinasi UHT dan pengemasan aseptik dapat meningkatkan umur simpan susu sapi.

Tabel 2.3. Standar Nasional Susu Segar

No	Karakteristik	Satuan	Syarat
a.	Berat jenis (pada suhu 27,5 ⁰ C) minimum	g/mL	1,0270
b.	Kadar lemak minimum	%	3,0
c.	Kadar bahan kering tanpa lemak minimum	%	7,8
d.	Kadar protein minimum	%	2,8
e.	Warna, bau, rasa, kekentalan	-	Tidak ada perubahan
f.	Derajat asam	⁰ SH	6,0 - 7,5
g.	pH	-	6,3 – 6,8
h.	Uji alkohol (70%) v/v	-	Negatif
i.	Cemaran mikroba, maksimum:		
	1. <i>Total Plate Count</i>	CFU/mL	1x10 ⁶
	2. <i>Staphylococcus aureus</i>	CFU/mL	1x10 ⁶
j.	3. <i>Enterobacteriaceae</i>	CFU/mL	1x10 ⁶
	Jumlah sel somatis maksimum	sel/mL	4x10 ⁵
k.	Residu antibiotika (golongan penisilin, tetrasiklin, aminoglikosida, makrolida)	-	Negatif
l.	Uji pemalsuan	-	Negatif
m.	Titik beku	⁰ C	-0,520 s.d -0,560
n.	Uji peroxidase	-	Positif
o.	Cemaran logam berat, maksimum:		
	1. Timbal (Pb)	µg/mL	0,02
	2. Merkuri (Hg)	µg/mL	0,03
	3. Arsen (As)	µg/mL	0,1

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (2011).

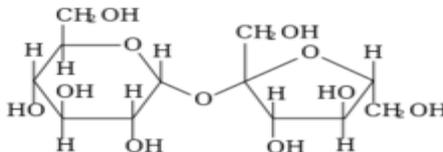
c. Susu skim

Susu skim adalah bagian susu yang tertinggal setelah krim diambil sebagian atau seluruhnya. Susu skim diperoleh dari pemisahan susu menjadi skim dan krim. Susu skim mengandung semua komponen gizi dalam susu yang tidak dipisahkan, kecuali lemak dan vitamin-vitamin yang larut dalam lemak (Herawati, 2011). Susu skim memiliki kandungan lemak yang rendah yaitu sekitar 0,1-1,0% dan memiliki nilai kalori sekitar 55% dari total energi susu (Buckle dkk., 2009; Walstra dan Jennes, 1983)

Pembuatan yogurt biasanya menggunakan susu skim dalam bentuk bubuk, hal ini disebabkan kadar total padatan (protein, vitamin, dan mineral) dari susu segar belum cukup atau belum sesuai standar sehingga dilakukan penambahan, sedangkan kadar air susu segar sudah cukup tinggi sehingga tidak perlu dilakukan penambahan air dari susu skim.

2.1.2.1.2. Gula Pasir

Gula pasir adalah hasil kristalisasi sukrosa yang merupakan disakarida ($C_{12}H_{22}O_{11}$) dan dapat dipecah menjadi monosakarida oleh enzim invertase yaitu D-glukosa dan D-fruktosa. Struktur bangun sukrosa dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Struktur Bangun Sukrosa
Sumber: DeMan, 1997

Gula pasir berperan dalam pembentukan tekstur dan cita rasa yogurt, selain itu juga berfungsi sebagai substrat yang digunakan BAL dalam proses fermentasi, namun apabila gula ditambahkan terlalu tinggi akan dapat menghambat pertumbuhan BAL serta menurunkan viskositas

yogurt (Kim dkk, 1995 dalam Tamime dan Robinson, 2007). Penambahan gula dalam pembuatan yogurt dilakukan sebelum susu dipanaskan agar dapat terdistribusi secara merata dan tidak menyebabkan konsistensi yogurt menurun (Tamime dan Robinson, 2007).

2.1.2.1.3. Starter Yogurt

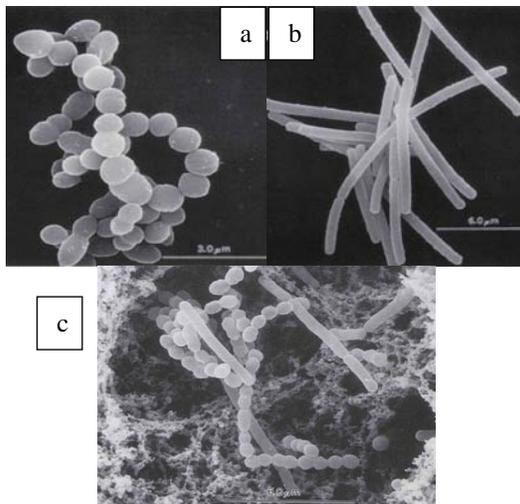
Starter *yogurt* adalah biang *yogurt* yang mengandung dua strain bakteri yang sedang tumbuh dan berkembang biak. Pertumbuhan bakteri starter dipengaruhi oleh banyak faktor, yaitu komposisi kimia susu, jumlah inokulum yang ditambahkan, temperatur susu, waktu inkubasi dan waktu pendinginan. Kultur starter memegang peranan penting dalam pembuatan *yogurt* karena mempengaruhi flavor serta tekstur *yogurt*. Menurut Helferich dan Westhoff (1980), *yogurt* yang menggunakan kultur starter campuran dari beberapa bakteri asam laktat akan menghasilkan nilai organoleptik yang lebih baik dibandingkan dengan bentuk kultur tunggal.

Starter yang digunakan untuk *yogurt* melibatkan bakteri probiotik yaitu bakteri golongan bakteri asam laktat (BAL), genus *Lactobacillaceae* dan *Streptococcaceae*. Kultur *yogurt* *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (LB) dan dan *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus* (ST). Kedua bakteri tersebut tidak dapat mencapai usus dalam keadaan usus (Shah, 2000), namun keduanya dapat membantu memperbaiki pemanfaatan laktosa pada orang yang intoleran terhadap laktosa (Surono, 2004). Menurut Seveline (2005), suatu mikroorganisme dapat digunakan sebagai probiotik yang dapat memberikan efek kesehatan jika mempunyai syarat sebagai berikut:

- a. Tahan terhadap asam, terutama asam lambung dengan pH antara 1,5-2,0 (kondisi tidak makan) dan pH 4,0-5,0 (sehabis makan).
- b. Stabil terhadap garam empedu dan mampu bertahan hidup selama berada dalam usus kecil.

- c. Memproduksi senyawa antimikroba seperti asam laktat, hydrogen peroksida, dan bakteriosin
- d. Mampu menempel pada sel usus manusia, dapat membentuk koloni, memiliki aktivitas antagonis terhadap pathogen, mampu mengatur sistem daya tahan tubuh, dan mempercepat penyembuhan infeksi.
- e. Tumbuh baik dan berkembang dalam saluran pencernaan
- f. Dapat berkoagregasi (kemampuan untuk berinteraksi antarkultur untuk saling menempel) membentuk lingkungan mikroflora yang normal dan seimbang.
- g. Aman dikonsumsi oleh manusia.

LB dan ST memiliki kemampuan untuk memecah karbohidrat menjadi asam-asam organik yang akan menurunkan pH susu. Selain itu protein juga akan terhidrolisis menjadi nitrogen dan amino yang digunakan sebagai pertumbuhan BAL dan menyebabkan protein menjadi lebih mudah dicerna (Winarno, 2007).



Gambar 2.2. Bakteri Asam Laktat: (a) *Streptococcus thermophilus*, (b) *Lactobacillus bulgaricus* dan (c) BAL dalam yogurt
 Sumber: Institute of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University (2013)

LB dan ST memiliki kemampuan untuk memecah karbohidrat menjadi asam-asam organik yang akan menurunkan pH susu. Selain itu protein juga akan terhidrolisis menjadi nitrogen dan amino yang digunakan sebagai pertumbuhan BAL dan menyebabkan protein menjadi lebih mudah dicerna (Winarno, 2007).

Dua peranan penting starter selama fermentasi, yaitu pembentuk asam yang menyebabkan rasa dan aroma yang khas, serta sebagai pembentuk komponen citarasa seperti aseton, asetaldehida, diasetil dan senyawa karbonil lainnya (Helferich dan Westhoff, 1980 dalam Winarno, 2003).

1. *Lactobacillus bulgaricus*

Lactobacillus bulgaricus merupakan salah satu jenis BAL yang dimanfaatkan dalam proses pembuatan *yogurt*. Bakteri gram positif ini merupakan bakteri yang paling umum digunakan dalam pembuatan makanan fermentasi. *Lactobacillus bulgaricus* dapat memfermentasi glukosa dan laktosa menjadi asam laktat, asetaldehid, asam sitrat, dan sejumlah asam organik lain (Winarno dkk., 2003).

LB merupakan bakteri anaerob fakultatif yang berarti bakteri tersebut dapat hidup pada media yang tidak mengandung oksigen. Bakteri ini mengubah glukosa menjadi asam susu dan energi (Dwidjoseputro, 2010). LB bersifat termofilik dengan suhu pertumbuhan optimum 45°C dan pH sekitar 5,5. Buchanan dan Gibson (1974) menyebutkan klasifikasi *Lactobacillus bulgaricus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Procaryotae
Divisa	: Bacteria
Ordo	: Lactobacilliales
Famili	: Lactobacilliaceae
Genus	: Lactobacillus
Species	: <i>Lactobacillus delrueckii</i>

Subspecies : *Lactobacillus delrueckii ssp. Bulgaricus*

Karakteristik *Lactobacillus delrueckii ssp. Bulgaricus* adalah sebagai berikut (Hui, 1992):

- a. Berbentuk batang dengan lebar 0,8-1,0 μm , membentuk rantai.
- b. Termasuk gram positif, katalase negatif.
- c. Melakukan fermentasi homolaktik.
- d. Suhu pertumbuhan minimal 15°C, suhu pertumbuhan maksimal 52°C dan suhu pertumbuhan optimal 40-47°C.
- e. pH optimum untuk pertumbuhan adalah sedikit asam atau sekitar 5,5.
- f. Tidak mampu bertahan pada suhu 60°C selama 30 menit.
- g. Asam terbentuk berasal dari glukosa dan laktosa.
- h. Mampu memproduksi D-asam laktat secara homofermentatif sedangkan amino diproduksi dengan arginin.
- i. Dinding sel terdiri dari L-lisin-D-aspartat.

Lactobacillus bulgaricus merupakan spesies yang menyumbangkan sebagian besar flavor yogurt dan ketika digabungkan dengan *Streptococcus thermophilus*, jumlah asetaldehida meningkat. Akumulasi asetaldehida merupakan hal penting pada produksi yogurt. LB menghasilkan valin, histidin dan glisin yang dapat merangsang pertumbuhan dan produksi asam dari bakteri *Streptococcus thermophilus*.

2. *Streptococcus thermophilus*

Menurut Buchanan dan Gibson (1974), klasifikasi *Streptococcus thermophilus* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Procaryotae
Divisa	: Bacteria
Ordo	: Streptococcales
Famili	: Streptococcaceae
Genus	: Streptococcaceaeae
Species	: <i>Streptococcus salivarius</i>

Subspecies : *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*

ST memiliki pH optimum untuk pertumbuhannya sekitar 6,5 dengan suhu 45°C (Helferich dan Westhoff, 1980 dalam Wahyudi, 2006). pH akhir yang diperoleh setelah bakteri ini tumbuh adalah 4,5 (Heller, 2001). Karakteristik *Streptococcus thermophilus* menurut Hui (1992) adalah sebagai berikut:

- a. Berbentuk bulat dengan diameter 0,7-0,9µm, berpasangan/membentuk rantai panjang pada media asam/suhu tinggi.
- b. Termasuk gram positif, katalase negatif.
- c. Melakukan fermentasi homolaktik.
- d. Suhu pertumbuhan minimal 20°C, suhu pertumbuhan maksimal 50°C dan suhu pertumbuhan optimum 39-46°C.
- e. Mampu bertahan pada suhu 60°C selama 30 menit.
- f. Mampu memproduksi asam dalam jumlah yang tetap dan dalam waktu yang cepat selama pengolahan.

ST tumbuh lebih dahulu pada awal inkubasi dan memproduksi asam laktat, asam asetat, asetaldehida dan asam format. Adanya asam format dan penurunan pH menghasilkan stimulan yang dapat merangsang pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus*. *Streptococcus thermophilus* lebih berperan pada pembentukan citarasa yogurt.

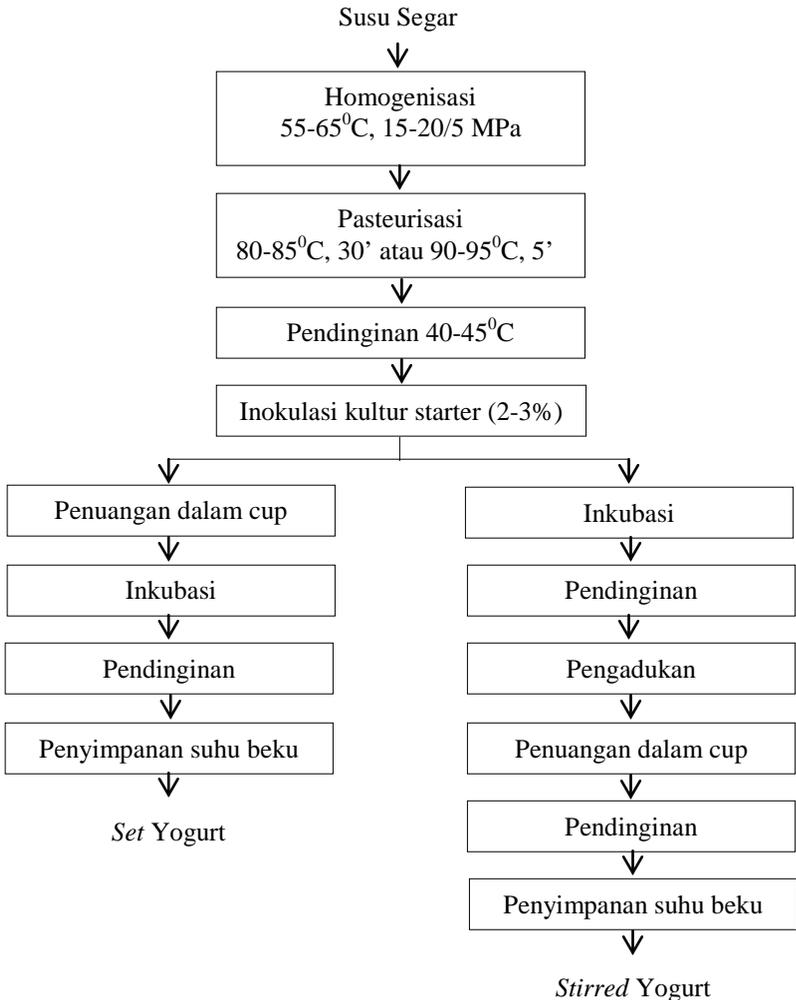
2.1.2.2. Teknis Pengolahan Yogurt

Tahapan proses pembuatan yogurt (Gambar 2.3), yaitu:

1. Proses Persiapan Bahan Baku (Susu Segar)

Susu sudah distandarisasi terlebih dahulu agar selalu menghasilkan produk yang seragam. Susu yang sesuai standar dapat mudah dilakukan pengontrolan. Susu dilakukan proses homogenisasi menggunakan *double stage* dengan tekanan 10-20 MPa pada stage pertama dan 5 MPa pada stage kedua. Homogenisasi bertujuan untuk

memperkecil ukuran globula lemak sehingga lemak lebih tersebar secara merata pada susu dan meningkatkan intensitas warna putih karena lemak yang terdispersi secara merata. Proses ini juga dapat meningkatkan konsistensi dan viskositas dari yogurt yang dihasilkan (Trachoo, 2002).



Gambar 2.3. Diagram Alir Pembuatan Yogurt
Sumber: Lee and Lucey (2010)

2. Proses Pasteurisasi

Pasteurisasi dilakukan dengan suhu 80-85⁰C selama 30 menit atau 90-95⁰C selama 5 menit dengan tujuan membunuh mikroorganisme patogen dan pembusuk sehingga starter dapat tumbuh dengan baik, tidak terjadi kompetisi. Bakteri starter sensitif terhadap oksigen sehingga perlakuan panas dapat membantu untuk mengurangi oksigen. Pasteurisasi juga dapat meningkatkan *physical properties* dan *microstructure* dari yogurt (Lee dan Lucey, 2010).

3. Proses Pendinginan

Susu yang telah dipasteurisasi diturunkan suhunya hingga 40-45⁰C sebelum dilakukan inokulasi starter bertujuan agar suhu susu, media pertumbuhan starter, tidak terlalu panas. Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kultur mati ketika diinokulasikan. Suhu 40-45⁰C adalah suhu yang masih dapat ditolerir bagi starter untuk melakukan metabolisme.

4. Proses Inokulasi Starter

Setelah suhu sekitar 40-45⁰C, kultur starter diinokulasikan ke dalam susu. Starter yang digunakan adalah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* sebanyak 2-3% dari total susu. Biasanya starter yang digunakan dengan perbandingan 2:1. Berdasarkan berbagai penelitian, disarankan kultur starter ditumbuhkan terlebih dahulu dalam susu selama 8-12 jam sebelum diinokulasi pada susu yang akan diolah menjadi yogurt (Ohiokpehai, 2003).

Proses selanjutnya yang akan membedakan antara *set* yogurt dan *stirred* yogurt. Apabila proses pembuatan *set* yogurt, susu dituang ke dalam cup lalu diinkubasi, sedangkan pada proses pembuatan *stirred* yogurt, susu diinkubasi terlebih dahulu baru dilakukan pengadukan (*agitation*) dan dikemas dalam wadah-wadah yang lebih

kecil. Pengolahan *stirred* yogurt biasanya dilakukan penambahan stabilizer maupun pengental untuk memperoleh tekstur yang diinginkan.

2.2. Kolostrum Sapi

Kolostrum merupakan sekresi kelenjar ambing yang terkumpul selama beberapa minggu terakhir masa kehamilan sapi beberapa saat setelah melahirkan dan disekresikan segera setelah melahirkan. Kolostrum merupakan cairan transisi antara pra-kolostrum dan air susu normal yang dikonsumsi oleh manusia maupun mamalia.

Kolostrum mulai diproduksi sekitar 3-6 minggu sebelum melahirkan, disekresikan dan disimpan oleh kelenjar ambing selama sekitar 2-7 hari terakhir pada masa kehamilan sampai dengan sekitar 1-7 hari pertama setelah melahirkan.

Kolostrum yang terbaik adalah kolostrum yang dihasilkan pada 24 jam pertama karena mengandung enzim protease dan asam amino tripsin dalam jumlah yang cukup besar. Enzim ini memiliki peran dalam melindungi immunoglobulin, menghancurkan molekul besar yang ada dalam sistem pencernaan dan menyebabkan gangguan pencernaan (Saputra, 2008).

2.2.1. Komponen Kimiawi Kolostrum Sapi

Sapi yang baru saja melahirkan memproduksi kolostrum tidak hanya dalam 1 hari, selama kolostrum diproduksi, komponen kimiawi dari kolostrum yang dihasilkan berbeda sesuai dengan waktu pasca melahirkan. Kolostrum mengandung makronutrien seperti protein (immunoglobulin), karbohidrat (laktosa), lemak, vitamin, mineral, dan komponen bioaktif seperti hormon pertumbuhan dan antimikroba (Ahmadi et al., 2011). Kadar komponen kimiawi akan mengalami penurunan seiring dengan masa laktasinya. Komponen kimiawi kolostrum sapi selama masa produksi dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Kolostrum sapi selain mengandung sejumlah makronutrisi, juga mengandung beberapa molekul biologis aktif yang penting untuk fungsi tertentu. Kolostrum memiliki lebih dari 90 komponen bioaktif alami, termasuk faktor pertumbuhan dan faktor antimikroba yang merupakan komponen bioaktif utama pada kolostrum. Faktor pertumbuhan meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan anak sapi yang baru lahir sedangkan faktor antimikroba memberikan kekebalan pasif dan melindungi terhadap infeksi selama minggu pertama hidup. Aktivitas antimikroba yang terutama pada kolostrum adalah imunoglobulin, walaupun kolostrum juga mengandung faktor antimikroba lainnya seperti laktoferin, laktopreoksidase dan lisozim (Pakkanen dan Alto, 1997). Semua unsur ini bekerja secara sinergis dalam memulihkan dan menjaga kesehatan tubuh (Ahmadi et al., 2011; Rucketbusch et al., 1991).

Tabel 2.4. Perbandingan Komposisi Kolostrum Sapi dan Susu Segar

Spesifikasi	Kolostrum sapi	Susu Segar
Total Padatan (%)	23.0	13.0
Total Protein (%)	14.0	4.0
Casein (%)	4.8	2.5
Immunoglobulins (%)	6.0	0.09
Lemak (%)	6.7	4.0
Laktosa (%)	2.7	4.9
Mineral (%)	1.0	0.74

Sumber: Ahmadi *et al* (2008).

Imunoglobulin merupakan protein dan seperti protein pada umumnya, imunoglobulin juga akan mengalami denaturasi jika dipanaskan pada suhu tinggi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Green *et al.* (2003) kolostrum yang dipasteurisasi dengan suhu 72°C selama 15 detik akan menurunkan kualitas dari komponen bioaktif kolostrum terutama imunoglobulin (IgG) sebesar 28,4% sedangkan penelitian yang lain dengan menggunakan suhu pasteurisasi 71,7°C

selama 15 detik menurunkan Konsentrasi IgG sampai 25% (Stabel *et al.*, 2004).

Imunoglobulin G (IgG) merupakan imunoglobulin utama dalam kolostrum sapi (Larson, 1992) yang tersusun atas dua macam rantai polipeptida, yaitu rantai berat (*heavy chain*) dan rantai ringan (*light chain*). Tiap rantai ringan dan rantai berat dihubungkan oleh ikatan disulfida. Kedua rantai ringan dan rantai berat identik sehingga antibodi mempunyai dua *antigen-binding sites* dan mampu mengikat dua struktur identik bersamaan.

Imunoglobulin G terdiri dari dua macam sub-kelas yaitu IgG1 dan IgG2. Kandungan IgG1 dalam kolostrum sebanyak 80-90% (Larson, 1992). Imunoglobulin G1 merupakan antibodi utama kolostrum sapi mengandung komponen utama IgG yang digunakan sebagai indikator untuk menentukan kualitas kolostrum yang diproduksi. Selain itu, kualitas imunoglobulin dalam kolostrum yang dihasilkan juga tergantung dari musim, ras sapi, umur induk, kesehatan kelenjar ambing, waktu pemerahan dan periode kering kandang (Aldrige *et al.*, 1992; Arthington, 1999).

Penelitian McMartin *et al.* (2006) menyatakan bahwa pemanasan kolostrum dengan suhu 60°C dalam waktu 120 menit tidak mempengaruhi konsentrasi IgG, Selain itu, perlakuan tersebut juga tidak mengubah viskositasnya. Pasteurisasi konvensional pada suhu 63°C selama 30 menit hanya menurunkan 12,3% IgG (Melyan *et al.*, 1995).

Laktoferin adalah glikoprotein pengikat zat besi (Fe³⁺) yang ditemukan dalam kolostrum, susu, dan sel-sel pada semua spesies mamalia. Laktoferin dianggap molekul penting dalam pertahanan tubuh dan memiliki banyak fungsi biologis, seperti antimikroba, antioksidan, antikanker, ikut serta dalam seksresi imun lokal dengan bekerja sinergis bersama imunoglobulin dan protein protektif lain, menyediakan *iron-*

binding antioxidant protein dalam jaringan, mendukung pertumbuhan sel hewan seperti limfosit dan sel usus (Losnedahl *et al.*, 1998). Connely (2001) menyatakan, bahwa laktoferin merupakan protein multi fungsi seperti membantu penyerapan zat besi di usus, pertumbuhan sel usus, melindungi dari serangan mikroba penyebab infeksi dan sebagai sistem kekebalan tubuh.

Aktivitas antimikroba Laktoferin dan turunannya dibagi menjadi tiga mekanisme utama: a) pengikatan zat besi dari media yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan bakteri, b) pengikatan langsung Laktoferin pada membran mikroba, khususnya terhadap lipopolisakarida di bakteri gram negatif, menyebabkan kerusakan struktural yang fatal untuk membran luar dan penghambatan replikasi virus; dan c) pencegahan lampiran mikroba untuk sel-sel epitel atau enterosit.

Laktoperoksidase adalah glikoprotein yang terjadi secara alami dalam kolostrum, susu, dan sekresi manusia dan hewan lainnya dan memiliki aktivitas biologis seperti antimikroba, dapat memberikan efek sinergik dengan imunoglobulin, laktoferin dan lisozim serta merupakan enzim antibakteri utama pada kolostrum. Laktoperoksidase merupakan enzim yang paling banyak yang terdapat dalam kolostrum dan susu sapi serta tahan terhadap pH rendah (pH sekitar 3) dan cairan lambung manusia (Korhonen, 2009). Laktoperoksidase terdiri dari grup heme dengan Fe^{3+} dan mengkatalis oksidasi thiosianat (SCN^-) dengan adanya hidrogen peroksida (H_2O_2) yang menghasilkan produk oksidasi perantara hipothiosianat (OSCN^-) yang menghambat metabolisme bakteri melalui oksidasi kelompok essential *sulphahydryl* dalam enzim mikroba dan membran protein lain (Pruitt *et al.*, 1985).

Dalam sejumlah penelitian *in vitro*, laktoperoksidase terbukti aktif terhadap berbagai mikroorganisme, termasuk bakteri, virus, fungi,

jamur, dan protozoa, selain itu laktoperoksidase juga diketahui bersifat bakterisidal terhadap bakteri patogen gram negatif dan bakteri pembusuk serta bersifat bakteriosin terhadap bakteri gram positif (Seifu et al., 2005).

Lisozim merupakan antibakterial dan merupakan enzim litic yang dapat ditemukan pada sejumlah cairan tubuh mamalia termasuk kolostrum. Berdasarkan beberapa penelitian, aktivitas antibakterial yang terdapat pada lisozim tidak hanya berasal dari aktivitas enzimatik, juga berasal dari property kationik dan hidropobik (Pellegrini *et al.*, 1992). Lisozim menunjukkan aktivitas yang tinggi terhadap bakteri mesofilik dan termofilik yang menghasilkan spora. Lisozim masih efektif bahkan setelah dikonsumsi karena agak dapat bertahan terhadap enzim pencernaan. Menurut Yamaguchi *et al.*, (1993), keberadaan laktoferin meningkatkan aktivitas antibakteri lisozim terhadap *E. Coli*. Kandungan komponen bioaktif yang terdapat dalam kolostrum dapat dilihat pada Tabel 2.5.

2.2.2. Manfaat Kolostrum Sapi

Kolostrum berperan dalam melawan virus dan infeksi dengan cara bekerja sama dengan sel darah putih. Keuntungan lain dari kolostrum dalam bidang medis, yaitu efektif melawan berbagai macam penyakit seperti osteoporosis, diabetes, penyakit jantung, flu, hepatitis, gangguan pencernaan seperti sindrom iritasi perut, radang usus besar dan juga bisul (Struff dan Sprotte, 2008).

Banyaknya keuntungan yang terdapat dalam kolostrum, cairan susu berwarna kuning sangat baik untuk dikonsumsi. Kolostrum dapat meningkatkan penyerapan nutrisi dalam tubuh, meningkatkan kepadatan tulang, membuat kulit tampak lebih muda, membantu membakar lemak dan meningkatkan energi dalam tubuh.

Tabel 2.4. Perbandingan Komponen bioaktif Kolostrum dengan Susu Sapi

Komponen	Kolostrum (per liter)	Susu (per Liter)	Referensi
Imunoglobulin			
IgG1	50-90 g	0,30-0,40 g	Elfstrand <i>et al.</i> , 2002
IgG2	1,6-2,1 g	0,03-0,08 g	Elfstrand <i>et al.</i> , 2002
IgA	3,2-6,5 g	0,04-0,06 g	Elfstrand <i>et al.</i> , 2002
IgM	3,8-6,1 g	0,03-0,06 g	Elfstrand <i>et al.</i> , 2002
Antimikroba			
Laktoferin	0,2-5 g	0,07-1,2 g	Korhonen, 1977
Lakoperoksidase	11-45 mg	13-30 mg	Korhonen, 1977
Lisozim	0,14-0,7 g	0,07-0,6 mg	Korhonen, 1977
β - lactoglobulin	8,0 g	3,3 g	Korhonen, 2003
α - lactalbumin	1,4-2,6 g	1,2 g	Korhonen, 2003
<i>Glycomacro peptide</i>	2,5 g	1,2 g	Korhonen, 2003
Cytokines			
IL-1 β	840 μ g	3 μ g	Hagiwara <i>et al.</i> , 2000
IL-1ra	5,2 mg	27 μ g	Hagiwara <i>et al.</i> , 2000
IL-6	77 μ g	0,15 μ g	Hagiwara <i>et al.</i> , 2000
TNF- α	926 μ g	3,3 μ g	Hagiwara <i>et al.</i> , 2000
IFN- γ	260 μ g	0,21 μ g	Hagiwara <i>et al.</i> , 2000
Growth Factor			
IGF-1	100-2000 μ g	4-27 μ g	Gauthier <i>et al.</i> , 2006
IGF-2	200-600 μ g	<10 μ g	Pakkanen & Aalto, 1997
GH	<1 μ g	<0,03 μ g	Scammell, 2001
EGF	4-8 mg	<2 μ g	Scammell, 2001
TGF- β 1	12-43 μ g	0,8-4 μ g	Gauthier <i>et al.</i> , 2006
TGF- β 2	150-1150 μ g	13-71 μ g	Gauthier <i>et al.</i> , 2006

Sumber: Bourdy *et al.*, (2008)

Kolostrum juga diketahui tidak mempunyai efek samping jika digunakan untuk pengobatan. Menurut Thapa (2005), kandungan alami dari kolostrum dapat mengobati dan mencegah berbagai penyakit, baik yang sifatnya infeksi maupun non infeksi. Kolostrum juga diketahui tiga kali lebih efektif mencegah flu dibandingkan dengan vaksinasi (Cesarone *et al.* 2007).

Faktor pertumbuhan alami yang terdapat dalam kolostrum juga berfungsi untuk meningkatkan sistem metabolisme tubuh, memperbaiki system DNA dan RNA tubuh, mengaktifkan sel limfosit T, meningkatkan kepadatan tulang (mencegah osteoporosis), menyehatkan kulit (kulit tampak lebih muda), membantu membakar lemak dan meningkatkan energi dalam tubuh (Blum dan Hammon, 1999).

Disamping faktor pertumbuhan, kolostrum sapi juga memiliki fungsi sebagai sumber nutrisi dan faktor imun. Fungsi kolostrum bagi kekebalan anak yang baru dilahirkan adalah sebagai media transfer antibodi dari induk kepada anak. Peran kolostrum dalam reaksi imun adalah menunjang metabolisme optimal tubuh dan meningkatkan kekebalan karena terdapat komponen bioaktif seperti imunoglobulin yang menyediakan efek anti mikrobial utama terhadap mikroba dan imunisasi pasif bagi anak sapi (Korhonen *et al.*, 2000a)

Senyawa antimikroba berperan dalam mengontrol proses kehidupan, merangsang perkembangan saluran pencernaan dan menyediakan perlindungan non-spesifik melawan infeksi dan mikroorganisme pathogen seperti rotavirus, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Clostridium difficile*, *Streptococcus mutans*, *Cryptosporidium parvum* dan *Helicobacter pylori* (Elfstrad *et al.*, 2002; Korhonen *et al.*, 2000b).

BAB III

HIPOTESA

Ada pengaruh penambahan variasi konsentrasi starter terhadap viabilitas bakteri asam laktat dalam yogurt kolostrum sapi.

BAB IV

BAHAN DAN METODOLOGI PENELITIAN

4.1. Bahan

4.1.1. Bahan untuk Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah kolostrum sapi (dihasilkan dari induk sapi setelah 4-5 hari melahirkan anak sapi) diperoleh dari Peternakan Sapi Perah “Rukmini”, susu UHT *full cream* “Ultramilk”, susu skim “Sunlac” diperoleh dari supermarket “Hokky” Surabaya, kultur stok *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040 dan *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041, gula pasir “Gulaku” diperoleh dari supermarket “Bilka” Surabaya, akuades dari “PT. Megah Sejahtera Scientif”. Bahan lain seperti media MRS *Broth* dan media agar diperoleh dari Laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya (FTP-UKWMS), kultur ST dan LB serta semua media diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Industri Pangan FTP-UKWMS. Spesifikasi bahan penelitian terdapat pada Lampiran A.

4.1.2. Bahan untuk Analisa

Bahan-bahan analisa yang digunakan dalam penelitian ini adalah, MRS *Broth* (merk “Pronadisa Cat. 1215.00”), Agar “*Bacto Agar*”(merk “MERCK 214010”), Pepton *from meat* (merk “Merck 1.07224”). Spesifikasi MRS *Broth*, Agar “*Bacto Agar*”, dan Pepton *from meat*. Bahan pembantu yang digunakan untuk analisa adalah akuades, alkohol 96% dan spiritus.

4.2. Alat

4.2.1. Alat untuk Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian adalah inkubator “WTC Binder”, autoklaf, oven “WTC Binder”, timbangan *digital* analitis “Sartorius Gold” PG 5001-S, *refrigerator* “Sharp”, cup plastik “Lionstar” 145mL, gelas ukur 100 mL, pipet ukur 1 mL; 10 mL; 25 mL, erlenmeyer 250 mL, thermometer 100°C, tabung reaksi, rak tabung reaksi, bunsen, *waterbath* “LabTech”, kawat ose berkolong, sumbat kapas, kertas coklat, plastik PP dan korek api.

4.2.2. Alat untuk Analisa

Alat-alat yang digunakan untuk analisa adalah pH meter “Trans Instrument” TI-2100, erlenmeyer 250 mL “Schoot Duran”, beker gelas 100 mL; 250 mL, gelas ukur 100 mL “Pyrex”, pipet ukur 1 mL “Pyrex” pipet volume 10 mL “Pyrex”, timbangan digital “Mettler Toledo”, sendok tanduk, batang pengaduk, botol semprot, dan bunsen.

4.3. Waktu dan Tempat Penelitian

4.3.1. Waktu Penelitian

Penelitian pendahuluan dilaksanakan pada bulan Juli 2013 sampai bulan September 2013. Penelitian utama dilaksanakan pada bulan September 2013 sampai Desember 2013.

4.3.2. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Industri Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

4.4. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Faktor Tunggal dengan dasar Rancangan Acak Kelompok (RAK) yaitu penambahan variasi konsentrasi starter pada pembuatan yogurt kolostrum sapi sehingga diperoleh 6 perlakuan. Masing-masing perlakuan akan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali sehingga akan diperoleh total 24

unit eksperimen. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.1. Faktor perlakuan dalam penelitian ini adalah :

C_1 = Konsentrasi starter 10% (v/v).

C_2 = Konsentrasi starter 11% (v/v).

C_3 = Konsentrasi starter 12% (v/v).

C_4 = Konsentrasi starter 13% (v/v).

C_5 = Konsentrasi starter 14% (v/v).

C_6 = Konsentrasi starter 15% (v/v).

Tabel 4.1. Rancangan Penelitian

Proporsi konsentrasi starter dan susu kolostrum sapi (C)					
C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6
$C_1(1)$	$C_2(1)$	$C_3(1)$	$C_4(1)$	$C_5(1)$	$C_6(1)$
$C_1(2)$	$C_2(2)$	$C_3(2)$	$C_4(2)$	$C_5(2)$	$C_6(2)$
$C_1(3)$	$C_2(3)$	$C_3(3)$	$C_4(3)$	$C_5(3)$	$C_6(3)$
$C_1(4)$	$C_2(4)$	$C_3(4)$	$C_4(4)$	$C_5(4)$	$C_6(4)$

Parameter yang akan diuji adalah viabilitas bakteri asam laktat yogurt kolostrum dan pH. Data yang diperoleh dari masing-masing pengujian akan dianalisa dengan statistik menggunakan uji ANOVA (*Analysis of Varians*) pada $\alpha=5\%$ untuk mengetahui apakah perlakuan memberikan pengaruh nyata pada setiap parameter pengujian. Apabila hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan nyata, maka dilanjutkan dengan uji perbedaan untuk menentukan taraf perlakuan mana yang memberikan perbedaan nyata. Uji perbedaan dilakukan dengan Uji beda jarak nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test/ DMRT*) pada $\alpha = 5\%$

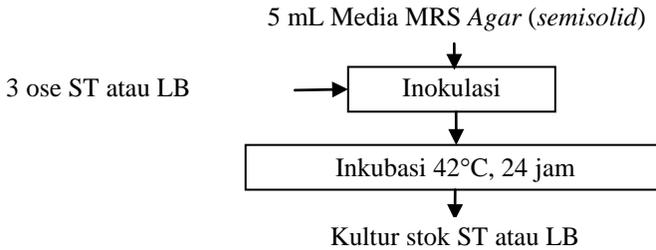
4.5. Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan melalui dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian lanjutan. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk menentukan kisaran konsentrasi starter yang digunakan terhadap kolostrum sapi pada pembuatan yogurt kolostrum. Penelitian lanjutan menerapkan hasil penelitian sesuai dengan faktor yang ditentukan dan menganalisa perlakuan yang dilaksanakan dalam percobaan.

4.5.1. Pembuatan Starter Yogurt

4.5.1.1. Peremajaan Kultur Stok

Kultur stok yang digunakan dalam pembuatan yogurt adalah kultur stok LB dan ST. Tahapan peremajaan kultur stok dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Diagram Alir Peremajaan Kultur Stok BAL
Sumber: Fardiaz, 1989

Penjelasan proses:

1. Inokulasi

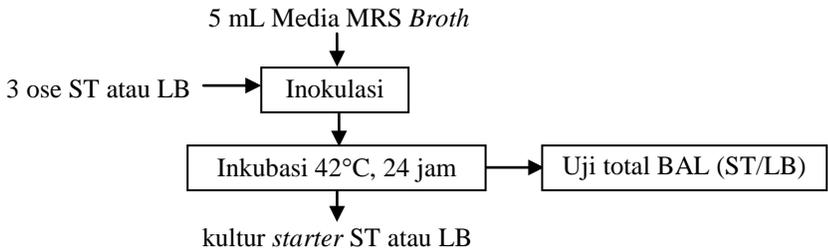
Tahapan ini bertujuan untuk menginokulasikan starter ST dan LB ke dalam masing-masing media de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar dengan menggunakan ose berkolong sebanyak 3 ose. Proses inokulasi dilakukan secara aseptis yaitu dengan dilakukan di dekat nyala api.

2. Inkubasi

Tujuan dari tahapan ini adalah untuk memberi kesempatan bagi ST dan LB untuk tumbuh dengan memanfaatkan nutrisi yang ada pada media MRS agar. Proses ini dilakukan pada suhu 42°C karena suhu ini merupakan suhu optimal bagi pertumbuhan BAL (Hui, 1992).

4.5.1.2. Pembuatan Kultur Starter

Tahapan pembuatan kultur *starter* dapat dilihat pada Gambar 4.2. Penghitungan jumlah bakteri pada kultur *starter* terdapat pada Lampiran C.



Gambar 4.2. Diagram Alir Pembuatan Kultur *Starter* BAL

Sumber: Fardiaz, 1989

Penjelasan proses:

a. Inokulasi Starter

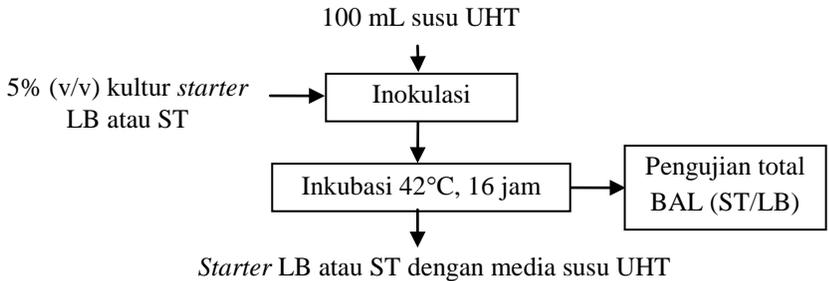
Tahapan ini bertujuan untuk menginokulasikan starter ST dan LB ke dalam masing-masing media de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) *broth* dengan menggunakan ose berkolong sebanyak 3 ose. Proses inokulasi dilakukan secara aseptis yaitu dengan dilakukan di dekat nyala api.

b. Inkubasi

Tujuan dari tahapan ini adalah untuk memberi kesempatan bagi ST dan LB untuk tumbuh dengan memanfaatkan nutrisi yang ada pada media MRS *broth*. Proses ini dilakukan pada suhu 42°C karena suhu ini merupakan suhu optimal bagi pertumbuhan BAL (Hui, 1992).

4.5.1.3. Pembuatan *Starter* ST dan LB pada Susu UHT

Tahapan pembuatan *starter* ST dan LB pada susu UHT dapat dilihat pada Gambar 4.3. Penghitungan jumlah bakteri pada *starter* terdapat pada Lampiran C.



Gambar 4.3. Diagram Alir Pembuatan *Starter* LB dan ST pada Susu UHT

Sumber: Djaafar dan Rahayu, 2006

Penjelasan proses:

a. Inokulasi Starter

Tahapan ini bertujuan untuk menginokulasikan kultur murni LB ke dalam susu UHT sebanyak 5% dari volume larutan susu UHT yang digunakan. Proses inokulasi dilakukan secara aseptis yaitu dengan dilakukan di dekat nyala api.

b. Inkubasi

Tujuan dari tahapan ini adalah untuk memberi kesempatan bagi LB untuk memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam laktat dan metabolit lain. Proses ini dilakukan pada suhu 42°C karena suhu ini merupakan suhu optimal bagi pertumbuhan BAL (Hui, 1992).

4.5.2. Pembuatan Yogurt Kolostrum

Proses pembuatan yogurt kolostrum berdasarkan formulasi unit terdapat pada Tabel 4.2 dengan diagram alir penelitian pembuatan yogurt dapat dilihat pada Gambar 4.4.

Penjelasan dari tahapan pembuatan yogurt kolostrum adalah :

a. Pasteurisasi

Pasteurisasi dilakukan pada suhu 77°C selama 15 menit. Pasteurisasi dilakukan untuk membunuh semua bakteri patogen pada susu

sapi segar yang akan digunakan sehingga tidak mempengaruhi pertumbuhan BAL.

Pasteurisasi juga bertujuan untuk mengurangi kandungan air dan oksigen pada susu selain itu pemanasan juga menyebabkan denaturasi protein whey sehingga dapat diperoleh konsistensi yang baik dan seragam pada produk akhir (Buckle dkk., 2009).

b. Pendinginan

Pendinginan dilakukan hingga mencapai 40-45°C untuk mengondisikan suhu pertumbuhan yang optimum bagi BAL (Hui, 1992).

c. Inokulasi

Inokulasi adalah pemberian *starter* LB dan ST pada susu yang telah bersuhu 42°C. Penambahan masing-masing untuk LB dan ST (perbandingan = 1 : 1).

d. Pengemasan

Pengemasan yogurt dilakukan pada kemasan cup *polipropilene* kapasitas 145 mL yang sebelumnya telah disemprot dengan alkohol dan disterilkan dengan sinar UV selama satu jam. Pelabelan dilakukan untuk membedakan antara satu perlakuan dengan yang lain.

Tabel 4.2. Formulasi Pembuatan Yogurt Kolostrum Sapi

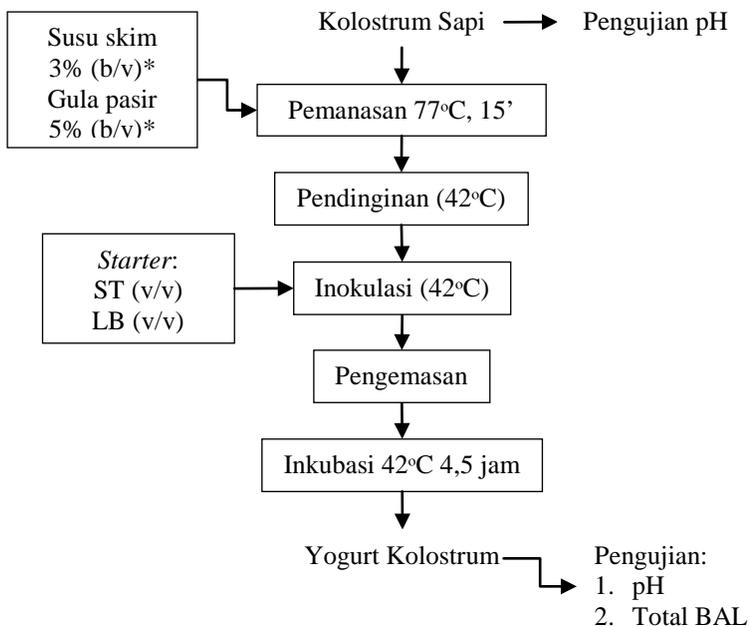
Bahan-bahan	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
Kolostrum sapi (mL)	400	400	400	400	400	400
Susu skim 3% (^b / _v)* (g)	12	12	12	12	12	12
Gula pasir 5% (^b / _v)* (g)	20	20	20	20	20	20
Starter ST (^v / _v) (mL)	20	22	24	26	28	30
Starter LB (^v / _v) (mL)	20	22	24	26	28	30
Total unit percobaan	472	476	480	484	488	492

Keterangan:

* = dihitung dari kolostrum sebelum dipanaskan (400 mL).

Contoh perhitungan (untuk C₁) :

- a. Kolostrum sapi → 400 mL.
- b. Susu skim 3% (^b/_v)* → $3/100 \times 400 \text{ mL} = 12 \text{ g}$.
- c. Gula pasir 5% (^b/_v)* → $5/100 \times 400 \text{ mL} = 25 \text{ g}$.
- d. Starter LB 5% (^v/_v) → $5/100 \times 400 \text{ mL} = 20 \text{ mL}$.
- e. Starter ST 5% (^v/_v) → $5/100 \times 400 \text{ mL} = 20 \text{ mL}$.



Gambar 4.4. Diagram Alir Penelitian Pembuatan Yogurt Kolostrum Sapi
Sumber: Tamime dan Robinson, 2007 (dengan modifikasi)

e. Inkubasi

Inkubasi dilakukan selama kurang lebih 4,5 jam untuk memberi kesempatan bagi LB dan ST dalam memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam laktat. Inkubasi dilakukan didalam inkubator pada suhu 42°C yang merupakan suhu pertumbuhan optimum BAL.

4.6. Metode Analisa

4.6.1. Pengujian pH (Apriyantono dkk., 1989)

Tahapan pengukuran pH meter adalah sebagai berikut:

1. Sebelum digunakan pH meter dikalibrasi dengan mencelupkan elektroda pH meter ke dalam larutan buffer pH 7,0.

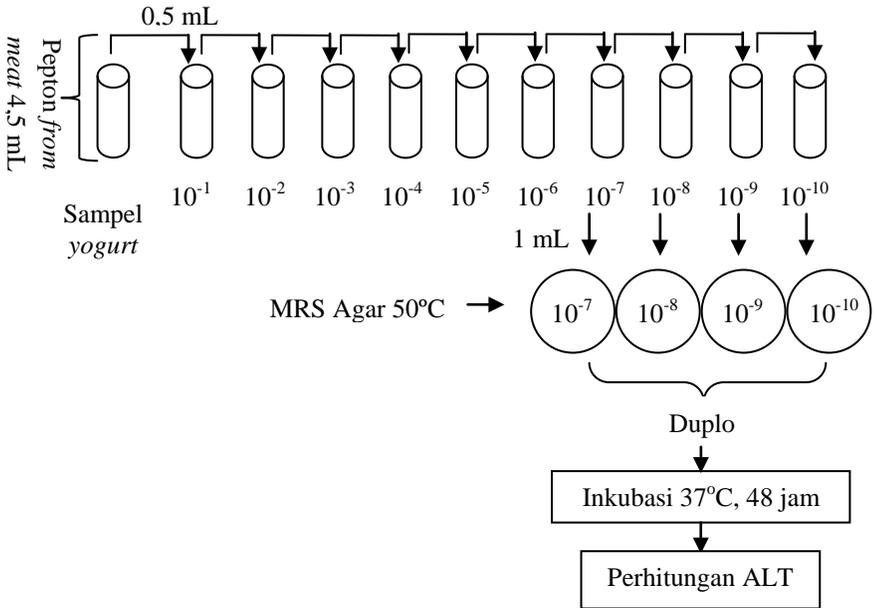
2. Elektroda pH meter dicuci dengan akuades menggunakan botol semprot. Sisa akuades yang masih menempel pada sisi-sisi elektroda dikeringkan dengan *tissue*.
3. Elektroda dicelupkan dalam sampel yogurt dan dibiarkan beberapa saat untuk memperoleh pembacaan yang stabil.
4. Catat angka tersebut sebagai pH sampel.

4.6.2. Pengujian Total Bakteri Asam Laktat pada Yogurt dengan ALT/Angka Lempeng Total (Fardiaz, 1989)

Tahapan pengujian ALT adalah sebagai berikut:

1. Pencairan media MRS Agar (agar 1,2%) dengan cara pemanasan pada penangas air, kemudian dilakukan pendinginan pada suhu 50°C selama 5 menit.
2. Pembuatan *pepton from meat* 0,1% dan dipepet masing-masing 4,5mL ke dalam satu seri tabung reaksi.
3. Yogurt diambil sebanyak 0,5 mL dengan menggunakan pipet steril, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi air pepton 0,1% sebanyak 4,5 mL dan dihomogenkan (pengenceran 10^{-1}).
4. Pemipetan 0,5 mL dari pengenceran 10^{-1} dan masukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 4,5 mL air pepton 0,1% (pengenceran 10^{-2}). Ulangi langkah ini sampai pengenceran 10^{-10} . Pada pengenceran 10^{-7} - 10^{-10} segera ambil 1 mL kemudian masukkan cawan petri steril.
5. Menuangkan media MRS agar yang sudah didinginkan ke dalam masing masing cawan petri \pm 10mL kemudian dirotasi angka delapan dan didiamkan hingga media memadat.
6. Menginkubasi dalam inkubator dengan suhu 37 C selama 48 jam
7. Melakukan penghitungan Total BAL.
8. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan suatu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan, dapat dihitung sebagai satu koloni.

9. Suatu deretan (rantai) koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni



Gambar 4.5. Diagram Alir Pengujian Viabilitas Bakteri Yogurt dengan Angka Lempeng Total (ALT)

Ciri-ciri koloni yang dihitung sebagai BAL adalah sebagai berikut:

1. Bentuk koloni: bulat
2. Kenaikan permukaan: rata
3. Tepi koloni: utuh
4. Tekstur: halus, basah, opaque
5. Warna: putih
6. Ukuran: 0,1-0,3 mm

Standar perhitungan:

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang terdapat jumlah koloni 30-300. Melakukan perbandingan dengan memperhitungkan tingkat

pengenceran yaitu jumlah koloni pada pengenceran lebih tinggi dibagi dengan besar tingkat pengenceran lalu dibandingkan dengan jumlah koloni pada pengenceran lebih rendah dibagi dengan besar tingkat pengenceran

2. Apabila hasil perbandingan lebih kecil atau sama dengan 2, maka hitung rata-rata dari kedua jumlah koloni tersebut juga dengan memperhitungkan tingkat pengenceran.
3. Apabila hasil perbandingan lebih besar dari 2, maka yang dilaporkan hanya jumlah koloni pada tingkat pengenceran yang lebih rendah dengan memperhitungkan tingkat pengenceran.
4. Apabila pada semua pengenceran menghasilkan kurang dari 30 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan dengan cara jumlah koloni pada pengenceran terendah dibagi dengan besarnya tingkat pengenceran.
5. Apabila pada semua pengenceran menghasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran yang tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan dengan cara jumlah koloni pada pengenceran tertinggi dibagi dengan besarnya tingkat pengenceran.
6. Jika digunakan dua cawan petri (duplo) pada setiap pengenceran, maka data yang diambil harus dari kedua cawan.

Rumus perhitungan (Fardiaz, 1989):

1. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari 2 angka, yaitu angka pertama di depan koma angka kedua di belakang koma. Jika angka ketiga sama dengan atau lebih besar dari 5, harus dibulatkan satu angka lebih tinggi pada angka kedua.

2. Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan kurang dari 30 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.
3. Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran yang tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih dari 300 koloni dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.
4. Jika cawan petri dari dua tingkat pengenceran menghasilkan koloni dengan jumlah antara 30-300, dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan 2, tentukan rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan pengencerannya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar dari 2, yang dilaporkan hanya hasil terkecil.
5. Jika digunakan 2 cawan petri (duplo) per pengenceran, data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh diambil salah satu meskipun salah satu dari cawan duplo tersebut tidak memenuhi syarat di antara 30 dan 300 koloni.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmadi, M., Velcirov, A-B., Scurtu M., Ahmadi, T. dan Olariu, L. 2011. Benefits of Bovine Colostrum in Nutraceutical Products, *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 17 (1): 42-45.
- Aldridge, B. M., F. B. Garry and R. Adams. 1992. Neonatal septicaemia in calves, *JAVMA*. 203(9): 1324 – 1329.
- Apriyantono, A., D. Fardiaz, N. L. Puspitasari, Sedarmawati, dan S. Budiyo. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor.
- Arthington, J. 1999. Colostrum Management in newborn calves. *The Florida Cattleman and Livestock Journal*.
- Badan Standarisasi Nasional. *SNI 2981:2009: Yogurt*. http://sisni.bsn.go.id/index.php?/sni_main/sni/detail_sni/10235. (4 April 2013).
- Badan Standarisasi Nasional. *SNI 3141.1:2011: Susu Segar: Bagian 1-Sapi*. http://sisni.bsn.go.id/index.php?/sni_main/sni/detail_sni/11914. (16 April 2013).
- Buchanan, R. E. dan N.E. Gibson. 1974. *Bergeys Manual of Determination Bacteriology 8th edition*. Baltimore: The Williams and Wilkins Company.
- Buckle, K.A., Edwards, R. A., Fleet, G. H. dan Wootton, M. 2009. *Ilmu Pangan*. Penerjemah: Hari Purnomo dan Adiono. Jakarta: UI Press.
- Blum, J. W. And H. Hammon. 2000. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. *Livestock Production Science*. 66, 151-159
- Bourdy, C., J. P. Dehoux., D. Portetelle and A. Buldgen. 2008. Bovine colostrum as a natural growth promoter for newly weaned piglets: a review, *Biotechnol Agron Soc Environ*. 12(2):157-170.
- Cesarone, M. R., G. Belcaro., A. Di Renzo., M. Dugall., M. Cacchio., I. Ruffini., L. Pellegrini., G. Del Boccio., F. Fano., A. Ledda., A.

- Bottari., A. Ricci., S. Stuard and Vinciguerra. 2007. Prevention of Influenza Episodes With Colostrum Compared With Vaccination in Healthy and High-Risk Cardiovascular Subjects: The Epidemiologic Study in San Valentino, *Clin Appl Thromb Hem.* 13(2):130-136.
- Codex Alimentarius, 2008. *Codex Standart For Fermented Milk CODEX STAND 243*. Food Agriculture Organization.
- Connely, O. M. 2001. Antiinflamantory Activities of Lactoferrin (review), *J Am Coll Nut* 20 (2): 389S-395S.
- Conte, F. dan Scarantino, S. 2008. A Study on The Quality of Bovine Colostrum: Physical, Chemical and Safety Assessment, *Int. Food Research J.* 20 (2): 925-931.
- DeMan, J.M. 1997. *Kimia Makanan*. Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung.
- Dwidjoseputro, D. 2010. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Djaafar, T. F. dan E. S. Rahayu. 2006. Karakteristik Yogurt dengan Inokulum *Lactobacillus* yang Diisolasi dari Makanan Fermentasi Tradisional. *Agros.* 8 (1), 73-80.
- Effendi, H. M. S. 2009. *Teknologi Pengolahan dan Pengawetan Pangan*. Bandung: Alfabeta.
- Elfstrand, L., H. L. Mansson., M. Paulsson., L. Nyberg and B. Akesson. 2002. Immunoglobulins, growth factors and growth hormone in bovine colostrum and the effects of processing, *Int Dairy J.* 12:879-887.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan: Penuntun Praktek Laboratorium*. Bogor: IPB Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi.
- Green, L., S. Godden., J. Feirtag. 2003. Effect of batch and high temperature-short time pasteurization on immunoglobulin G concentrations in colostrum (*Abstract*). *J Dairy Sci.* 86 (Suppl. 1):246.
- Helferich, W. dan D. Westhoff. 1980. *All About Yogurt*. Practice Hall Inc., New Jersey

- Heller, Knut J. 2001. Probiotic Bacteria In Fermented Foods: Product Characteristics And Starter Organisms¹⁻³. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(suppl): 374S-9S.
- Herawati, D. A. dan D. Andang Arif Wibawa. 2011. Pengaruh Konsentrasi Susu Skim Dan Waktu Fermentasi Terhadap Hasil Pembuatan Soyghurt. *Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan* 1 (2)
- Hui, Y. H., (Ed.) 1991. *Encyclopedia of Food Science and Technology Vol. 4*. USA: A Wiley-Interscience Publications.
- Hui, Y. H. 1992. *Dairy Science and Technology Handbook volume 1: Principles and Properties*. New York: VCH Publishers, Inc.
- Institute of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University. Microbime. <http://jpkc.njau.edu.cn/spwswx/cankao/ShowArticle.asp?ArticleID=314>. (23 September 2013).
- Korhonen, H., P. Marnila and H. S. Gill. 2000a. Bovine milk antibodies for health, *Br J Nutr*. 84:35-46.
- Korhonen, H., P. Marnila and H. S. Gill. 2000b. Milk immunoglobulins and complements factor, *Br J Nutr*. 84:S75-80.
- Korhonen, H. (2009a) Bioactive components in bovine milk. (dalam *Bioactive Components in Milk and Dairy Products* (ed. Y. Park), pp. 15-42). Wiley-Blackwell, Ames, IA.
- Larson, B. L. 1992. Immunoglobulins of the mammary secretions, (dalam *Advanced Dairy Chemistry. Proteins*, Volume 2, P.F. Fox, ed), Elsevier Applied Science, London. pp. 231-254.
- Lee, W. J and Lucey, J. A. 2010. Formation and Physical Properties of Yogurt, *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 23 (9): 1127-1136.
- Losnedahl, K. J., H. Wang., M. Aslam., S. Zou and W. L. Hurley. 1998. Antimicrobial factor in milk. [terhubung berkala]. <http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=229> [25 Oktober 2013].
- McMartin, S., S. Godden., L. Metzger., J. Feirtaq., R. Bey., J. Stabel., S. Goyal., J. Fetrow., S. Wells and H. C. Jones. 2006. Heat treatment

- of bovine colostrum. I: effect of temperature on viscosity and immunoglobulin G level, *J Dairy Sci* 89(6):2110-2118.
- Meylan, M., M. Rings., W. P. Shulaw., J. J. Kowalski., S. Bech-Nielsen and G. F. Hoffsis. 1995. Survival of *Mycobacterium paratuberculosis* and preservation of immunoglobulin G in bovine colostrum under experimental conditions simulation pasteurization, *Am J Vet Res* 57:1580–1585.
- Moeljanto, R. D. dan Wiryanta, B. T. W. 2002. *Khasiat dan Manfaat Susu Kambing: Susu Terbaik dari Hewan Ruminansia*. Tangerang: AgroMedia Pustaka.
- Ohiokpehai, O. 2003. Processed Food Products and Nutrient Composition of Goat Milk, *Pakistan. J. Nutr.* 2 (22): 68-71.
- Pakkanen, R. and J. Aalto.1997. Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum – review paper. *Int. Dairy J.*7: 285–297.
- Pellegrini, A., U. Thomas., R. Von Fellenberg and P. Wild. 1992. Bactericidal Activities of Lysozim and Aprotinin Against Gram-negative and Gram-positive bacteria Related to their Basic Character, *Journal of Applied Bacteriology*. 72: 180-187.
- Pruitt, K. M and B. Reiter. 1985. Biochemistry of Peroxidase system (dalam the Lactoperoxidase System Chemistry and Biological Significane.. K. M. Pruitt and J. Tenovuo, Eds). PP.143-178. New York: Marcel Dekker.
- Rucketbusch, Y., L. P. Phaneuf and R. Dunlop. 1991. *Physiology of small and Large Animals*. Philadelphia-Hamilton: B.C. Decker, Inc.
- Seifu , E., E. M. Buys and E. F. Donkin. 2005. Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications: a review. *Trends in Food Science and Technology* 16 : 137 – 154 .
- Seveline. 2005. Pengembangan Produk Probiotik dari Isolat Klinis Bakteri Asam Laktat dengan Menggunakan Teknik Pengeringan Semprot dan Pengeringan Beku, *Thesis*, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Saputra, F. 2008. Perbandingan Komposisi dan Daya Antimikroba antara Susu Sapi Segar (UHT), Kolostrum Sapi Segar dan Kolostrum

Sapi Bubuk, Skripsi S-1, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Fakultas Teknobiologi, Jakarta.

Struff, W. G. dan Sprotte, G.. 2007. Bovine Colostrum as A Biologic in Clinical Medicine: A Review, *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 45 (4): 193-202.

Struff, W. G. dan Sprotte, G.. 2008. Bovine Colostrum as A Biologic in Clinical Medicine: A Review-Part II, *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 46 (5): 211-225.

Sumarmono, J. 2012. Teknologi Hasil Ternak: Susu Fermentasi dan Keju. <http://panganhewani.blog.unsoed.ac.id/files/2012/04/THT-Kuliah-5-dan-6.pdf>. (3 April 2013).

Suparno. 1992. *Prinsip Kimia dan Teknologi Susu*. Yogyakarta : UGM Press.

Surajudin, Fauzi R., dan Purnomo, D. 2004. *Yoghurt Susu Fermentasi yang Menyehatkan*. Jakarta: AgroMedia Pustaka..

Suh, H. J., Kim, K. M., Lee, H., Lee, S. W., Choi., Y. M. 2004. Thermal Kinetics on Antiradical Capacity of Mullberry Fruit Extract. *Europe Food Research Technology* 219: 80-83.

Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. 2007. *Yoghurt Science and Technology Third Edition*. England: Woodhead Publishing Limited.

Thapa, B. R. 2005. Therapeutic potentials of bovine colostrums. *Ind J Pediatr*, 72: 849-852.

Trachoo, N. 2002. Yoghurt: The Fermented Milk, *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 24 (4): 727-737.

Walstra, P. dan R. Jenness. 1983. *Dairy Chemistry and Physics*. New York: John Wiley and Sons, Inc.

Winarno, F.G., Ahnan, W.W. dan Widjajanto, W. 2003. *Flora Usus dan Yogurt*. Bogor: M-Brio Press.

Winarno, F. G. dan Fernandez, I. E. 2007. *Susu dan Produk Fermentasinya*. Bogor: M-Brio Press.

Yamaguchi, Y., M. Semmel., L. Stanislawski., A.D. Strosberg and M. Stanislawski. 1993. Virucidal Effects of Glucose Oxidase and Peroxidase or Their Protein Conjugates on Human Immunodeficiency VirusType 1, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 37: 26-31.

LAMPIRAN A BAHAN PENELITIAN

1. Kolostrum Sapi Segar

Kolostrumsapi segar yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Peternakan Sapi Perah “Rukmini” yang berada di Jl. Bendul Merisi. Kolostrum sapi segar yang digunakan dapat dilihat pada Gambar A.1. Kondisi kolostrum sapi yang digunakan yaitu:

1. Kolostrum diperah pada pukul 5.00 dan dibeli pada pukul 06.00
2. Kolostrum berwarna kekuningan.
3. Kolostrum diperah dengan cara manual menggunakan pekerja
4. pH kolostrum sapi 6,4-6,5

Spesifikasi kolostrum sapi segar “Rukmini” menurut penelitian yang dilakukan Kumala (2011), yaitu:

- a. Kadar protein susu : 2,00 %
- b. Kadar lemak susu : 1,87 %
- c. Berat jenis : 1,028
- d. Total asam : 6,84 °SH
- e. Total bakteri : $1,1 \times 10^6$ CFU/mL



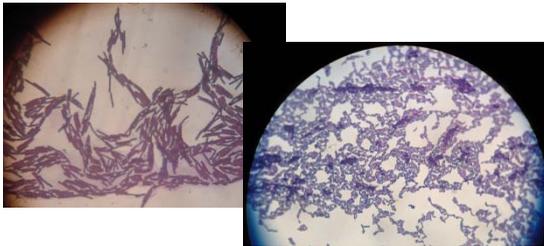
Gambar A.1. Kolostrum Sapi Segar “Rukmini”

2. Susu UHT *Full Cream* “Ultra Milk” Ultra Jaya

Takaran saji 1 kotak (200 mL) Jumlah sajian per kemasan: 1		
Komponen	Satuan	Jumlah (per 200 mL)
Lemak total	6	g
Lemak jenuh	3	g
Kolesterol	15	mg
Protein	6	g
Karbohidrat total	10	g
Gula	0	g
Natrium	40	mg
Kalium	390	mg

3. Kultur Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat yang digunakan dalam pembuatan yogurt (diamati dengan pengecatan gram) dapat dilihat pada Gambar A.3



Gambar A.3. *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus* (kiri) dan *Streptococcus salivarius ssp. Thermophilus* (kanan)

Ciri Makroskopis *Streptococcus thermophiles* (ST) FNCC 0040

1. Bentuk koloni: bulat
2. Kenaikan permukaan: rata
3. Tepi koloni: utuh
4. Tekstur: halus, basah, opaque
5. Warna: putih
6. Ukuran: 0,1-0,3 mm

Ciri Mikroskopis *Streptococcus thermophiles* (ST) FNCC 0040

1. Jenis Pengecatan : Gram
2. Bentuk Sel : Bulat
3. Susunan Sel : Tunggal, Berpasangan
4. Warna Sel : Ungu
5. Sifat Gram : Positif
6. Pembesaran linier: 1.500x

Ciri Makroskopis *Lactobacillus bulgaricus* (LB) FNCC 0041

1. Bentuk koloni: bulat
2. Kenaikan permukaan: rata
3. Tepi koloni: utuh
4. Tekstur: halus, basah, opaque
5. Warna: putih
6. Ukuran: 0,1-0,3 mm

Ciri Mikroskopis *Lactobacillus bulgaricus* (LB) FNCC 0041

1. Jenis Pengecatan : Gram
2. Bentuk Sel : Batang
3. Susunan Sel : Tunggal, Berantai
4. Warna Sel : Ungu
5. Sifat Gram : Positif
6. Pembesaran linier : 1.500x

4. Pepton from Meat(Merck 1.07224.1000)

Komponen	Jumlah (g/L)
<i>Amino nitrogen (as N)</i>	3.0-5.0%
<i>Appearance</i>	<i>Light brownish-yellow granulate</i>
<i>Expiration date</i>	<i>Exp 60 months from mfg date</i>
<i>Loss on drying (105°C)</i>	6.0% max
<i>Nitrite (NO₂)</i>	<i>Passes test</i>
<i>pH (5%, water)</i>	6.5-7.5
<i>Suitability for microbiology</i>	<i>Passes test</i>

<i>Sulfated ash (800°C)</i>	15.0% max
<i>Test date</i>	<i>Per Merck CofA</i>
<i>Total nitrogen (N)</i>	11.0-14.0%

Cara pembuatan :

- Pelarutan 0,1% (b/b) pepton dengan akuades.
- Pemipetan 4,5mL larutan ke dalam tabung reaksi.
- Sterilisasi dengan autoklaf 121°C (15 psi) selama 15 menit.

5. Susu Skim “Sunlac”

Komponen	Jumlah (%)
Air	3,6
Protein	34,5
Lemak	0,8
Karbohidrat	53,3
Mineral	7,8
Vitamin (/100g)	
Vitamin C	15,00 mg
Pantotenat	2,90 mg
Vitamin B ₁	0,25 mg
Vitamin B ₂	1,80 mg
Vitamin B ₃	0,84 mg
Vitamin B ₆	0,30 mg
Biotin	0,21 µg
Folat	59,00 µg
Vitamin B ₁₂	4,00 µg
Mineral (/100g)	
Kalsium	1243 mg
Potassium	1813 mg
Fosfor	1000 mg
Sodium	390 mg
Magnesium	119 mg
Mineral (/100g)	
Seng (Zn)	3,80 mg
Besi (Fe)	0,21 mg
Tembaga (Cu)	43,00 µg
Mangan	32,00 µg

6. Media MRS Broth (Pronadisa Cat. 1215.00)

Komponen	Jumlah (g/L)
<i>Bacteriological peptone</i>	10,00
<i>Beef extract</i>	8,00
<i>Yeast extract</i>	4,00
<i>Dextrose</i>	20,00
<i>Tween-80</i>	1,00
<i>Dipotassium phosphate</i>	2,00
<i>Sodium acetate</i>	5,00
<i>Ammonium citrate</i>	2,00
<i>Magnesium sulfate</i>	0,20
<i>Manganese sulfate</i>	0,05

Cara pembuatan:

- a. Pelarutan 52,2 gram bubuk MRS Broth (untuk 1L akuades).
- b. Pemipetan 5mL larutan ke dalam tabung reaksi
- c. Sterilisasi dengan autoklaf 121°C (15 psi) selama 15 menit.

7. Agar “Bacto agar 214010”

<i>Physical and Chemical Properties</i>	
<i>Ash %</i>	3.6
<i>Clarity, 1.5% Soln (NTU)</i>	4.3
<i>Loss on Drying (%)</i>	17.3
<i>pH, 1.5% Solution</i>	6.5
<i>Gel Strength (g/cm²)</i>	600
<i>Gelation Point (°C)</i>	35°C
<i>Melting Point (°C)</i>	88°C
<i>Inorganics (%)</i>	
<i>Calcium</i>	0.179
<i>Chloride</i>	0.021
<i>Cobalt</i>	<0.001
<i>Copper</i>	<0.001
<i>Iron</i>	0.002
<i>Lead</i>	<0.001
<i>Magnesium</i>	0.068
<i>Manganese</i>	<0.001
<i>Nitrate</i>	<0.005
<i>Phosphate</i>	<0.005
<i>Potassium</i>	0.121
<i>Sodium</i>	0.837
<i>Sulfate</i>	1.778
<i>Sulfur</i>	0.841
<i>Tin</i>	<0.001
<i>Zinc</i>	<0.001
<i>Biological Spore Count, CFU/g</i>	
<i>Spore Count</i>	<1,000
<i>Standard Plate Count</i>	<1,000

Keterangan :

- Media untuk perhitungan ALT menggunakan agar 1,2% (b/v).
- Media semi solid untuk kultur stok menggunakan agar 0,9% (b/v).

Cara pembuatan:

- Pelarutkan bubuk agar dan bubuk MRS *broth* dalam akuades.
- Pemanasan larutan hingga mendidih dan jernih.

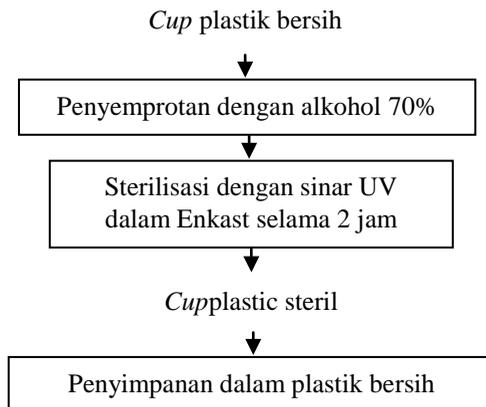
- c. Penyuntikan 5mL larutan ke dalam tabung reaksi.
- d. Sterilisasi dengan autoklaf 121°C (15 psi) selama 15 menit.

LAMPIRAN B PROSEDUR STERILISASI *CUP*

1. Spesifikasi *Cup*:

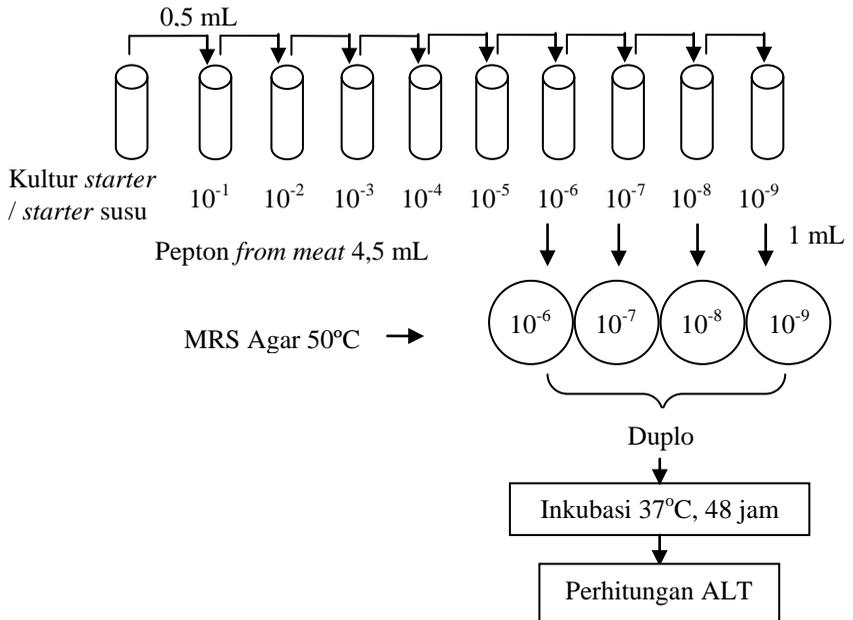
- a. Merek : Lionstar
- b. Volume : 145mL
- c. Ukuran : 74 mm (d) x 69mm (t)
- d. Jenis plastik : Polipropilen
- e. Produsen : PT. CahayaPerdana Plastics, Jakarta- Indonesia

2. Prosedur sterilisasi *cup* dapat dilihat pada Gambar B.1



Gambar B.1 Diagram Alir Proses Sterilisasi *Cup*

LAMPIRAN C
PENGUJIAN ALT KULTUR *STARTER* DAN *STARTER* SUSU



Gambar C.1. Diagram Alir Pengujian Jumlah Bakteri pada Kultur *Starter* dan *Starter* Susu dengan Angka Lempeng Total (ALT)