

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Susu kambing merupakan salah satu hasil produk hewani dengan kandungan gizi yang tinggi, serta berpotensi untuk dikembangkan sebagai pangan fungsional. Pangan fungsional merupakan pangan yang bukan hanya memenuhi kebutuhan gizi dasar, tetapi juga memberikan manfaat fisiologis bagi kesehatan tubuh. Potensi ini didukung oleh kandungan protein, vitamin, mineral, dan komponen bioaktif alami pada susu kambing. Tingginya bioavailabilitas protein dan mineral seperti kalsium, fosfor, dan magnesium membuat zat gizi susu kambing lebih mudah dicerna, dan diserap oleh tubuh dibandingkan susu sapi (Ranadheera *et al.*, 2019). Tingkat pencernaan yang tinggi membuat susu kambing lebih mudah ditoleransi oleh individu dengan gangguan pencernaan tertentu karena ukuran globula lemak yang lebih kecil dan struktur protein yang lebih sederhana (Sumarmono *et al.*, 2015).

Meskipun susu kambing memiliki keunggulan dari segi nutrisi, namun memiliki kelemahan dari segi sensori. Susu kambing memiliki aroma khas (*goaty flavor*) seperti bau prengus yang kurang disukai saat dikonsumsi sehingga dapat menurunkan tingkat penerimaan konsumen (Feng *et al.*, 2019). Aroma prengus ini disebabkan karena fraksi lemak susu kambing memiliki asam lemak rantai pendek dan sedang seperti asam kaproat (C6), kaprilat (C8), dan kaprat (C10) (Salgado-Beltrán *et al.*, 2025). Aktivitas enzim lipase dari proses lipolisis yang menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas juga dapat memperkuat

pembentukan aroma khas susu kambing (Omar *et al.*, 2016). Solusi untuk mengurangi aroma prengus yaitu menurunkan kadar asam lemak bebas melalui pemisahan fraksi lemak susu. Penurunan kadar asam lemak rantai pendek dan menengah dapat mengurangi intensitas aroma prengus dengan signifikan (Wójtowski *et al.*, 2023).

Pengurangan aroma prengus melalui fermentasi dengan bakteri asam laktat (BAL) dapat menurunkan kadar asam lemak (Yu *et al.*, 2024). Produk fermentasi tersebut masih memiliki karakteristik yang beda dari susu segar, sehingga belum menjawab kebutuhan pengembangan susu kambing cair non-fermentasi. Pemisahan fraksi lemak melalui proses *skimming* agar dihasilkan susu skim menjadi alternatif untuk mengurangi aroma prengus tanpa mengubah karakteristik dasar susu. Namun, proses ini menurunkan kadar lemak yang berpengaruh pada tekstur dan karakteristik fisik produk. Berdasarkan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (2019), susu lemak nabati harus memiliki kadar lemak minimal 3%, sehingga proses substitusi lemak perlu diterapkan agar standar mutu terpenuhi.

Minyak nabati dapat digunakan sebagai sumber lemak alternatif karena tidak hanya berfungsi menggantikan lemak susu, tetapi juga berpotensi meningkatkan nilai fungsional produk. Penelitian menunjukkan fortifikasi susu dengan minyak *flaxseed* dapat meningkatkan kandungan asam lemak tak jenuh (Gawalek *et al.*, 2025). Minyak nabati memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti tokoferol dan polifenol sebagai aktivitas antioksidan, sehingga berpotensi menambah nilai fungsional produk susu (Zhang *et al.*, 2022; Zeb, 2021). *Virgin Coconut Oil* memiliki aktivitas antimikroba karena kandungan asam laurat yang dapat

meningkatkan stabilitas mikrobiologis produk (Widianingrum *et al.*, 2019). Namun, setiap jenis minyak nabati memiliki karakteristik yang berbeda, seperti komposisi asam lemak, kandungan senyawa bioaktif, kestabilan terhadap oksidasi, sehingga dapat menghasilkan karakteristik produk yang berbeda. Penambahan minyak nabati pada susu dapat membentuk emulsi minyak dalam air (O/W) sehingga diperlukan *emulsifier* dan *stabilizer* untuk mempertahankan kestabilan produk (Gama *et al.*, 2019). Karakteristik minyak yang berbeda dapat memengaruhi kestabilan emulsi selama pengolahan dan penyimpanan. Tahapan pengolahan seperti homogenisasi dan pemanasan dapat menyebabkan perubahan struktur emulsi, sedangkan selama penyimpanan dapat terjadi perubahan sifat kimia dan mikrobiologi produk. Perubahan tersebut dapat ditunjukkan melalui perubahan nilai pH, total asam, aktivitas antioksidan, dan *Total Plate Count* (TPC). Hal ini menandakan mutu susu kambing lemak nabati tidak hanya dipengaruhi oleh jenis minyak, tetapi juga perubahan yang terjadi selama pengolahan dan penyimpanan.

Penelitian yang dilakukan oleh Yao *et al.* (2024) menyebutkan bahwa perubahan struktur emulsi dari modifikasi komposisi dan interaksi antar komponen dapat berpengaruh terhadap stabilitas emulsi dan karakteristik produk selama pengolahan dan penyimpanan. Namun, penelitian tersebut lebih fokus pada struktur dan mekanisme emulsi secara umum, belum dijelaskan spesifik pengaruh jenis minyak nabati terhadap perubahan mutu susu substitusi selama proses pengolahan dan penyimpanan. Penelitian lain mengenai pemanfaatan minyak nabati pada susu umumnya berfokus pada perbaikan profil asam lemak atau peningkatan nilai nutrisi produk, tanpa mengamati perubahan mutu yang terjadi akibat karakteristik masing-

masing minyak selama proses pengolahan dan penyimpanan. Informasi mengenai hubungan karakteristik minyak nabati dengan perubahan parameter mutu seperti nilai pH, total asam, aktivitas antioksidan, dan TPC masih terbatas.

Berdasarkan uraian tersebut, kajian yang menggabungkan pemisahan lemak susu dengan substitusi minyak nabati pada susu kambing cair non-fermentasi, dan menganalisis perubahan mutu selama pembuatan dan penyimpanan masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini penting dilakukan untuk menganalisis pengaruh substitusi lemak susu kambing dengan variasi minyak nabati terhadap perubahan karakteristik nilai pH, total asam, aktivitas antioksidan, dan *Total Plate Count* selama pengolahan dan penyimpanan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan produk susu kambing dengan mutu dan daya terima yang lebih baik, serta memiliki nilai tambah dari aspek fungsional dan kesehatan.

1.2 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh substitusi lemak susu kambing dengan berbagai jenis minyak nabati terhadap perubahan karakteristik nilai pH, total asam, aktivitas antioksidan, dan *Total Plate Count* susu kambing lemak nabati selama proses pengolahan dan penyimpanan. Manfaat penelitian ini adalah dapat memberikan informasi mengenai perbedaan karakteristik produk dari penambahan jenis minyak nabati, sehingga dapat menjadi acuan dalam pengembangan produk susu kambing cair non-fermentasi (*future food*) dengan mutu yang lebih baik, stabil selama penyimpanan dan memiliki nilai fungsional yang meningkat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Susu Kambing

Susu kambing merupakan cairan berwarna putih dari hasil ternak yang tinggi manfaat bagi kesehatan tubuh. Susu kambing memiliki kandungan makronutrien dan mikronutrien yang lengkap seperti protein, lemak, karbohidrat, vitamin, dan mineral yang berperan mendukung pertumbuhan dan perkembangan tubuh (Nayik *et al.*, 2023). Susu kambing tergolong susu yang makin banyak diminati masyarakat karena mudah dicerna, serta minim reaksi alergi saat mengonsumsi. Susu kambing memiliki beberapa kelebihan dibandingkan susu sapi, seperti warnanya yang lebih putih, ukuran globula lemak yang lebih kecil yaitu sekitar 1,5-2 μm , tinggi kandungan lemak, protein, serta vitamin A, E, B kompleks (Cahyanti dan Legowo, 2024). Globula lemak yang lebih kecil memudahkan susu untuk terdistribusi dan homogen sehingga mudah dicerna pencernaan (Singh *et al.*, 2022). Selain itu, laktosa susu kambing yang lebih rendah dibandingkan sapi, sehingga membantu penderita *lactose intolerance* untuk mencerna laktosa dalam tubuh.

Komposisi susu kambing dapat berbeda bergantung pada berbagai faktor. Kualitas susu kambing dipengaruhi oleh pakan, jenis kambing, umur, masa laktasi, musim, genetik, perawatan dan perlakuan, dan pengolahan serta penyimpanan susu (Dewi, 2018). Menurut Badan Standardisasi Nasional (2011), susu kambing dengan mutu yang baik jika memiliki protein minimal 2,8%, lemak minimal 3%, dan berat jenis susu minimal 1,027 g/ml. Susu kambing yang baik memiliki rasa manis dan

sedikit asin karena memiliki laktosa dan garam-garam mineral (Christi *et al.*, 2024). Selain itu, susu kambing juga kandungan antialergi dan antiseptik alami dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Kandungan kalsium susu kambing membantu menjaga kesehatan tulang dan gigi, menaikkan imunitas tubuh, serta mencegah terjadinya penyakit kardiovaskuler (Anam *et al.*, 2022). Perbandingan komposisi susu kambing, susu sapi, dan susu ibu (ASI) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan Komposisi Kandungan Nutrisi Susu Kambing, Susu Sapi, dan Air Susu Ibu (ASI)

Kandungan Nutrisi	Susu Kambing (%)	Susu Sapi (%)	ASI (%)
Lemak	3,80	3,67	4,00
Zat Padat Selain Lemak	8,68	9,02	8,90
Laktosa	4,08	4,78	6,92
Total Nitrogen	3,33	3,42	1,22
Total Protein	2,90	3,23	1,10
Kasein	2,47	2,63	0,40
Vit A (IU/gram lemak)	39,0	21,0	31,9
Vit B1 (ug/100 ml)	68,0	45,0	17,0
Vit C (mg asam askorbat/100 ml)	2,00	2,00	3,60
Vit D (IU/gram lemak)	0,70	0,70	0,27

(Sumber: Wibowo dan Yuniarti, 2023)

Kelemahan susu kambing dibandingkan dengan susu lainnya yaitu memiliki aroma prengus atau lebih dikenal dengan "*goaty flavour*". Aroma prengus pada susu kambing disebabkan karena tingginya kandungan asam lemak rantai pendek dan menengah seperti asam kaproat (asam heksanoat, C6:0), kaprilat (asam oktanoat, C8:0), kaprat (asam dekanat, C10:0) dan asam laurat yang bersifat volatil (Huang *et al.*, 2020). Senyawa ini merupakan turunan asam lemak yang alami terdapat dalam fraksi lemak susu kambing dengan konsentrasi yang jauh lebih tinggi dibandingkan susu sapi. Hal ini membuat susu kambing cenderung kurang diminati

padahal memiliki kandungan terhadap kesehatan yang tinggi. Senyawa volatil lain yang berkontribusi terhadap pembentukan aroma prengus yaitu 4-etiloktanoat (asam kaprat etil ester), 4-metiloktanoat, dan p-kresol yang dihasilkan dari proses lipolisis enzimatis dan metabolisme mikroba (Salgado-Beltrán *et al.*, 2025). Salah satu cara mengatasi aroma prengus adalah dengan menurunkan kadar asam lemak rantai pendek dan menengah, sehingga dapat mengurangi intensitas aroma prengus. *Cream separator* merupakan alat yang dapat digunakan untuk memisahkan fraksi skim dan krim dalam susu. Prinsip kerja *cream separator* yaitu menggunakan gaya sentrifugal dengan proses sentrifugasi untuk memisahkan komponen susu berdasarkan berat jenis (densitas) yang berbeda (Lv *et al.*, 2026). Susu diputar dengan kecepatan tinggi sehingga menyebabkan komponen skim yang lebih berat terpisah dari krim yang lebih ringan (Gwardys *et al.*, 2025). Susu skim yang diperoleh dari hasil pemisahan dapat disebut juga dengan susu rendah lemak (Hekken *et al.*, 2017). Susu skim masih memiliki semua kandungan dalam susu kecuali lemak dan vitamin yang dapat larut pada lemak. Susu skim terdiri dari padatan susu koloid dengan kandungan laktosa, protein larut, mineral, vitamin, dan komponen lainnya (Christiansen *et al.*, 2021).

2.1.1 Komponen Profil Asam Lemak Susu Kambing

Susu kambing memiliki profil asam lemak yang khas dan berbeda dari susu sapi. Komposisi asam lemak susu kambing terdiri atas asam lemak jenuh (*Saturated Fatty Acids/SFA*) yang mendominasi sekitar 65–75%, asam lemak tak jenuh tunggal (*Monounsaturated Fatty Acids/MUFA*), dan asam lemak tak jenuh ganda

(*Polyunsaturated Fatty Acids*/PUFA). Asam lemak jenuh rantai menengah merupakan komponen yang paling dominan, termasuk asam kaprilat, asam kaprat, dan asam laurat. Ketiga komponen tersebut bersama asam kaproat termasuk *Medium-Chain Fatty Acids* (MCFA) yang secara metabolik lebih mudah diserap langsung oleh usus dan diolah menjadi energi di hati tanpa perlu proses oksidasi beta yang panjang, sehingga tidak mudah disimpan sebagai lemak tubuh (Sumarmono *et al.*, 2015).

Kandungan asam lemak tak jenuh susu kambing meliputi asam oleat (C18:1) sebagai MUFA utama, serta asam linoleat (C18:2) dan asam α -linolenat (C18:3) sebagai PUFA esensial. Asam lemak esensial tidak dapat disintesis oleh tubuh manusia sehingga harus diperoleh dari bahan pangan. Proporsi asam lemak tak jenuh pada susu kambing cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan susu sapi, sehingga dapat menjadi keunggulan susu kambing dari segi kesehatan kardiovaskularnya (Nayik *et al.*, 2023).

2.1.2 Komponen Bioaktif Susu Kambing

Susu kambing memiliki sejumlah komponen bioaktif yang berperan penting bagi kesehatan tubuh. Komponen bioaktif yang terdapat pada susu kambing yaitu peptida bioaktif, laktoferin, lisozim, imunoglobulin, dan *konjugated linoleic acid* (CLA). Peptida bioaktif diperoleh dari hidrolisis protein susu (terutama kasein dan whey protein) oleh enzim proteolitik maupun selama fermentasi, serta bersifat antihipertensi, antioksidan, dan imunomodulator (Stobiecka *et al.*, 2022). Laktoferin merupakan glikoprotein pengikat besi yang sifatnya antimikroba,

antiinflamasi, dan imunostimulasi. Lisozim merupakan enzim yang mampu menghancurkan dinding sel bakteri patogen. Immunoglobulin berperan dalam proses transfer pasif, sedangkan CLA memiliki aktivitas antikanker dan antiaterogenik.

Susu kambing selain mengandung senyawa bioaktif, juga mengandung vitamin yang larut lemak (A, D, E, K) dan vitamin yang larut air (B1, B2, B6, B12, C), serta mineral yang baik bagi tubuh seperti kalsium, fosfor, magnesium, dan kalium dengan bioavailabilitas atau tingkat pencernaan yang tinggi. Kandungan vitamin A dan E pada susu kambing lebih tinggi dibandingkan dengan susu sapi, sehingga dapat berkontribusi meningkatkan aktivitas antioksidan alami susu (Cahyanti dan Legowo, 2024). Komponen bioaktif ini yang membuat susu kambing berpotensi dijadikan sebagai bahan baku utama dalam pengembangan produk pangan fungsional.

2.1.3 Kestabilan Asam Lemak Susu Kambing

Kestabilan asam lemak susu kambing dipengaruhi oleh beberapa faktor, yang pertama yaitu derajat ketidakjenuhan asam lemak, kandungan asam lemak tak jenuh (khususnya PUFA) lebih rentan terhadap oksidasi lipid dibandingkan dengan asam lemak jenuh. Kedua, keberadaan antioksidan alami dalam susu seperti vitamin E dan A dapat membantu untuk menghambat reaksi oksidasi. Ketiga, kondisi pengolahan dan penyimpanan seperti suhu, paparan cahaya, dan kontak dengan oksigen juga dapat memengaruhi kestabilan asam lemak.

Oksidasi lipid pada susu merupakan proses autokatalitik yang dapat menghasilkan senyawa aldehid, keton, dan asam lemak bebas rantai pendek yang

berkontribusi pada faktor ketengikan dan penurunan mutu sensori produk (Wiking *et al.*, 2017). Adanya proses lipolisis dengan enzim lipase (endogen maupun dari bakteri psikrotrof) yang menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas merupakan penyebab utama dari pembentukan asam lemak volatil yang berperan dalam aroma prengus. Pemisahan fraksi lemak dengan *cream separator* lalu disubstitusi oleh minyak nabati diharapkan dapat memodifikasi profil asam lemak produk, sehingga produk menjadi lebih stabil dari segi oksidatif dan dapat lebih diterima dari segi sensoris.

2.2 Susu Lemak Nabati (*Filled Milk*)

Susu lemak nabati atau susu minyak nabati (*filled milk*) adalah susu cair yang dibuat dengan mengganti sebagian atau seluruh lemak susu dengan menggunakan minyak nabati. Menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (2019), susu lemak nabati termasuk dalam kategori pangan olahan berbasis susu. Minyak nabati memiliki kandungan asam lemak tak jenuh lebih tinggi daripada minyak hewani. Minyak nabati atau lemak nabati yang ditambahkan dapat berasal dari minyak tumbuhan, seperti biji-bijian (bunga matahari, rapeseed, kedelai), umbi (kacang tanah), buah-buahan (zaitun, palem, kelapa) (Rosalina *et al.*, 2018). Secara keseluruhan, produk ini memiliki kenampakan, komposisi umum, dan kegunaan seperti susu segar. Tujuan modifikasi ini untuk mendapatkan komposisi profil asam lemak yang lebih baik, menambah nilai fungsional, dan membentuk produk sesuai kebutuhan masyarakat (Ariyanto *et al.*, 2015). Minyak nabati yang ditambahkan dapat meningkatkan senyawa bioaktif seperti antioksidan, sehingga berkontribusi

terhadap pengembangan produk fungsional. Prinsip dari pembuatan susu lemak nabati yaitu mensubstitusi minyak dalam air sebagai sistem emulsi. Fraksi minyak diperoleh dari penambahan minyak nabati, sedangkan fraksi air diperoleh dari susu skim yang sudah dipisahkan dari lemaknya (Hawa *et al.*, 2019).

Susu skim kambing yang sudah dipisahkan dapat menghilangkan aroma prengus yang kurang diminati masyarakat, namun memiliki kelemahan dari segi fisiknya. Viskositas susu skim kambing terlalu cair apabila dibandingkan dengan susu kambing yang tidak diseparasi. Penambahan minyak nabati sering digunakan dalam industri pangan selain untuk meningkatkan nilai gizi dan karakteristik kualitas, dapat membantu meningkatkan viskositas produk (Wang *et al.*, 2022). Susu skim dicampur dengan minyak nabati supaya terdispersi dengan baik perlu dihomogenisasi dan ditambahkan *emulsifier* serta *stabilizer*. Tujuannya untuk membentuk emulsi susu yang stabil sehingga tidak terjadi pemisahan fase selama penyimpanan (Sari *et al.*, 2022). Produk dengan stabilitas emulsi kurang baik dapat menurunkan kualitas sensori dan pendistribusian nutrisi dalam susu ikut berkurang. Faktor lain yang memengaruhi susu lemak nabati yaitu jenis minyak yang disubstitusi. Setiap jenis minyak memiliki kandungan asam lemak, komposisi bioaktif, serta tingkat kejenuhan yang berbeda-beda (Lioe *et al.*, 2018). Hal ini dapat berdampak pada perubahan sifat fisik, kimia dan juga mikrobiologis dari masing-masing kandungan minyak yang berbeda. Konsumsi susu lemak nabati memiliki berbagai manfaat terhadap kesehatan tubuh karena sumber lemaknya lebih sehat. Manfaat susu lemak nabati yaitu menurunkan kadar kolesterol darah, alternatif minuman bagi penderita *lactose intolerance* atau alergi protein hewani,

menjaga berat badan, membantu menangkal radikal bebas (Maris and Radiansyah, 2021; Mutiaraningtyas and Kuswardinah, 2018; Romadani, 2023).

Minyak nabati memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan minyak hewani (lemak susu) yang membuat substitusi minyak nabati dapat dijadikan pilihan yang tepat. Keunggulan utama minyak nabati seperti tinggi profil asam lemak, kandungan kolesterol, senyawa bioaktif, dan stabilitas oksidatif. Profil asam lemak minyak nabati banyak mengandung asam lemak tak jenuh (MUFA maupun PUFA) yang lebih tinggi dibandingkan dengan lemak hewani (susu kambing) yang didominasi oleh asam lemak jenuh. Tingginya asam lemak tak jenuh khususnya PUFA dapat membantu menjaga kesehatan jantung dan pembuluh darah, fungsi otak, serta regulasi peradangan (Gawalek *et al.*, 2025). Sebaliknya, konsumsi asam lemak jenuh berlebihan dapat meningkatkan kadar kolesterol LDL dan risiko penyakit kardiovaskular. Segi aspek kandungan kolesterolnya, minyak nabati bebas kolesterol. Substitusi lemak hewani dengan minyak nabati dalam susu dapat mengurangi kandungan kolesterol, sehingga baik untuk dikonsumsi konsumen yang membatasi asupan kolesterol, seperti penderita hiperkolesterolemia atau penyakit kardiovaskular.

Segi aspek senyawa bioaktif, minyak nabati mengandung berbagai komponen bioaktif yang tidak ditemukan atau hanya sedikit berada dalam lemak susu, seperti senyawa fenolik (hydroxytyrosol, tyrosol, oleuropein), tokoferol (vitamin E), fitosterol, dan karotenoid. Senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan dapat memberikan nilai fungsional tambahan pada produk susu (Zeb, 2021). Hal ini menjadi dasar substitusi minyak nabati termasuk dalam upaya

fortifikasi dan peningkatan nilai gizi fungsional. Segi aspek kestabilan emulsi, minyak nabati yang kaya MUFA (VOO dan OO) memiliki kestabilan oksidatif yang lebih baik dibandingkan minyak yang tinggi PUFA, karena MUFA memiliki satu ikatan rangkap yang lebih tahan terhadap reaksi oksidasi dibandingkan dengan PUFA yang ikatan rangkapnya lebih banyak. Oleh karena itu, diperlukan penambahan *emulsifier* dan *stabilizer* untuk meminimalisir risiko oksidasi minyak yang kaya PUFA (SIO).

2.3 *Virgin Olive Oil (VOO)*

Virgin Olive Oil (VOO) merupakan minyak nabati yang berasal dari buah zaitun menggunakan proses mekanis tanpa perlakuan kimia, sehingga kandungan senyawa bioaktif alami tetap terjaga. VOO termasuk satu satunya minyak zaitun yang dapat dimakan karena diekstrak dari buah *Olea europaea* L. tanpa proses pemurnian (Revelou *et al.*, 2021). Proses pembuatan VOO terdiri dari pencucian, dekantasi, sentrifugasi, dan filtrasi. VOO memiliki komposisi asam lemak yang beragam bergantung dari kondisi lingkungannya seperti metode ekstraksi, varietas, dan kondisi penyimpanan (Genovese *et al.*, 2021). VOO memiliki komponen utama asam lemak tak jenuh tunggal, khususnya asam oleat atau omega-9 (C_{18:1}) yang mendominasi hingga 60-80% dari keseluruhan komposisi asam lemak, senyawa minor seperti komponen fenolik, tokoferol, dan sterol. VOO juga mengandung PUFA seperti asam linoleat (omega-6) dan omega-3. Senyawa fenolik seperti polifenol, hydroxytyrosol, tyrosol, dan oleuropein, serta antioksidan alami seperti komponen tokoferol (vitamin E) dan vitamin K mengandung aktivitas antioksidan

tinggi serta dapat menghambat reaksi oksidasi lipid, dan memberikan manfaat kesehatan (Schmidt *et al.*, 2023).

VOO memiliki kandungan fenolik yang lebih tinggi dibandingkan *olive oil* (OO) karena tidak diolah melalui proses *refined* sehingga memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat karena kandungan polifenolnya tidak hilang. Proses *refining* seperti *degumming*, *neutralization*, *bleaching*, dan *deodorization* dapat menurunkan senyawa antioksidan utama seperti *hydroxytyrosol*, *tyrosol*, dan *tocopherol* (Lucci *et al.*, 2020). Stabilitas oksidatif VOO juga cenderung lebih baik dibandingkan minyak yang tinggi kandungan PUFA. Hal ini karena VOO didominasi kandungan *Monounsaturated Fatty Acids* (MUFA) dan antioksidan alami yang mampu menekan radikal bebas (Serreli *et al.*, 2024). Kandungan senyawa fenolik VOO memiliki sifat antiinflamasi dan neuroprotektif yang dapat membantu mengurangi inflamasi, melindungi fungsi saraf, mendukung kesehatan otak, dan memperlambat pengembangan penyakit degeneratif (Alarcón-de-la-Lastra, 2022; Fuentes *et al.*, 2018). Peran VOO sebagai sumber lemak bukan hanya berkontribusi terhadap pangan fungsional, tetapi juga menjaga kesehatan tubuh.

2.4 *Olive Oil* (OO)

Olive Oil (OO) merupakan minyak nabati yang berasal dari buah zaitun matang (*Olea europaea* L.) yang diekstraksi mekanis dan biasanya telah mengalami proses pemurnian (*refining*). OO atau biasa disebut minyak zaitun bentuknya cair di suhu ruang sekitar 20 – 25°C. Proses pembuatan OO dimulai dari pemanenan, pencucian, pemecahan, malaksasi, ekstraksi, penyaringan, dan penyimpanan (Acar

dan Arslan, 2017). Kandungan utama OO yaitu asam lemak tak jenuh tunggal atau *Monounsaturated Fatty Acids* (MUFA) khususnya asam oleat hingga 75 – 85% dari total asam lemak. MUFA memiliki satu ikatan rangkap dan biasanya cair di suhu ruang. OO juga mengandung asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) seperti asam linoleat (omega-6) sebesar 6-14%. Selain itu, OO juga mengandung asam palmitat, tokoferol (vitamin E), sterol, pigmen misalnya klorofil dan karotenoid, serta senyawa bioaktif seperti senyawa fenolik, misalnya *hydroxytyrosol*, *tyrosol*, *oleuropein*, *hydroxybenzoic acid*, *oleuropein*, *caffeic acid*, *vanillic acid*, *p-coumaric acid*, dan *hydroxytyrosol derivatives* (Lucci *et al.*, 2020). Senyawa fenolik merupakan komponen minor yang berperan sebagai antioksidan alami. Asam oleat dalam aspek kesehatan dapat membantu menurunkan kadar kolesterol LDL (kolesterol jahat) dan meningkatkan kolesterol HDL (kolesterol baik) dalam tubuh. Senyawa fenolik berperan menangkap radikal bebas dan mencegah kerusakan oksidasi lipid (Tsimihodimos dan Psoma, 2024).

Kualitas OO sangat dipengaruhi oleh metode pengolahan. Perbedaan dari OO dan VOO terletak pada proses pengolahan. OO sudah mengalami tahap pemurnian, sedangkan VOO tidak, hal ini memengaruhi kandungan fenolik OO yang cenderung lebih rendah dibanding VOO (Almeida *et al.*, 2025). Kandungan fenolik berpengaruh terhadap nilai aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Senyawa fenolik berperan penting untuk melindungi minyak akibat kerusakan oksidatif selama pengolahan dan penyimpanan (Venturi *et al.*, 2017). Oleh karena itu, dalam sistem emulsi susu, penggunaan minyak nabati perlu pendispersian yang baik sehingga efek dari oksidasi minyak dapat ditekan. Selain sebagai pengganti lemak hewani

dalam susu, OO juga dapat meningkatkan nilai fungsionalitas produk dari aspek antioksidan.

2.5 *Sacha Inchi Oil* (SIO)

Sacha Inchi Oil (SIO) merupakan minyak nabati yang berasal dari hasil ekstrak biji *sacha inchi* (*Plukenetia volubilis* L.) keluarga *Euphorbiaceae*. Proses pembuatan SIO dimulai dari pengupasan biji, pencucian, pemanasan ringan atau dikeringkan, pengepresan, pemisahan, pengendapan, dan filtrasi atau deodorisasi. Kandungan SIO yang paling banyak yaitu asam lemak tak jenuh ganda, terutama omega-3 (α -linolenat) sebesar 35,2 – 50,8% dan omega 6 (linoleat) sebesar 33,4 – 41,0% (Kodahl dan Sørensen, 2021). Hal ini membuat SIO sebagai sumber *Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFA) dengan omega-3 tertinggi dibandingkan minyak nabati lainnya. SIO juga memiliki asam lemak tak jenuh ganda lainnya seperti asam g-linolenat, asam eikosatrienoat, dan asam doksosdienoat, asam lemak jenuh seperti asam butirrat, asam miristat, asam margarat, asam stearat, dan asam arakkidat, serta asam lemak tak jenuh tunggal seperti asam palmitat, asam oleat, asam gondoat, dan asam nervonat (Saputri *et al.*, 2025). Senyawa yang terkandung dalam SIO seperti senyawa fenolik, flavonoid, tanin, dan tokoferol mengandung aktivitas antioksidan yang bermanfaat bagi tubuh jika dikonsumsi.

Kelebihan SIO pada kandungan PUFA yang sangat tinggi dibandingkan dengan minyak lain, membuat SIO cocok digunakan untuk bahan fortifikasi pangan (Liu *et al.*, 2020). Namun, ikatan rangkap ganda yang tinggi membuat SIO rentan mengalami oksidasi dan perlu penanganan yang baik. Oleh karena itu, penambahan

emulsifier dan *stabilizer* dalam emulsi susu dapat membantu menjaga kestabilan oksidatif dan kualitas susu saat disimpan. Manfaat SIO bagi kesehatan seperti menurunkan risiko diabetes melitus, hipertensi, gangguan hiperaktivitas, penyakit jantung koroner, dan penyakit kulit inflamasi (Saputri *et al.*, 2025). Selain itu, kandungan antioksidan SIO juga dapat melindungi lemak dan protein dari kerusakan oksidasi.

2.6 *Virgin Coconut Oil (VCO)*

Virgin Coconut Oil (VCO) atau biasa disebut minyak kelapa merupakan salah satu jenis minyak nabati yang dibuat dari daging kelapa segar atau kelapa matang. VCO diproses secara alami atau mekanik dengan atau tanpa pemanasan tinggi, serta tanpa pemurnian maupun penambahan bahan kimia (Bose *et al.*, 2025). Proses pembuatan VCO dimulai dari pemilihan buah, pengambilan santan, pemisahan minyak, sentrifugasi atau ekstraksi dengan enzim dan uap, fermentasi, pemisahan dan pemanasan minyak, serta pemfilteran. VCO sering disebut dengan minyak yang paling sehat dan memiliki banyak nilai fungsionalitas karena proses pembuatannya tetap membuat kandungannya terjaga. Komposisi kimia yang ada dalam VCO dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Kimia *Virgin Coconut Oil* (VCO)

Sifat	Nilai
Karakteristik	
<i>Iodine value</i>	4,47 – 8,55
<i>Saponification value</i> (mg KOH/g oil)	252,45 – 260,67
<i>Acid value</i> (mg KOH/g)	0,13 – 0,27
<i>Peroxide value</i> (mEq/kg)	0,21 – 0,63
<i>Anisidin value</i>	0,16 – 0,49
Komponen	
Komposisi asam lemak (%)	
Kaproat (C _{6:0})	0,52 – 0,69
Kaprilat (C _{8:0})	7,19 – 8,81
Kaprat (C _{10:0})	5,65 – 6,59
Laurat (C _{12:0})	46,64 – 48,03
Miristat (C _{14:0})	16,23 – 18,90
Palmitat (C _{16:0})	7,41 – 9,55
Stearate (C _{18:0})	2,81 – 3,57
Oleat (C _{18:1})	5,72 – 6,70
Linoleat (C _{18:2})	0,90 – 1,72

(Sumber: Rohman, 2017)

Minyak nabati yang mengandung berbagai senyawa bioaktif biasa disebut dengan senyawa fenolik. VCO cenderung memiliki senyawa fenolik yang lebih tinggi dibandingkan minyak dengan penambahan proses RBD (*refined, bleached, dan deodorized*). Total fenolik yang terdapat pada VCO cenderung lebih besar dibandingkan minyak kelapa RBD. Kandungan total senyawa fenolik VCO lebih tinggi yaitu 37,42 – 68,12 mg GAE per 100 mL (Mohammed *et al.*, 2021). Senyawa fenolik utama VCO *rutin, 3,4-dihydroxybenzoic acid, salicylic acid, quercetin, p-coumeric acid, caffeic acid* dan *myricetin* (Vasconcelos *et al.*, 2022). Selain itu, VCO juga mengandung tokoferol (vitamin E), dan polifenol minor sebagai antioksidan alami. Kandungan fenolik dan antioksidan alami selain membantu mencegah oksidasi lemak dan protein susu, juga dapat menstabilkan pH dan total asam saat disimpan lama. VCO memiliki peran lain seperti antiinflamasi, antivirus, dan mampu memberi efek teraapeutik dalam degeneratif penyakit kronis (Zeng *et*

al., 2022).

VCO didominasi asam lemak jenuh rantai sedang atau *Medium-Chain Fatty Acids* (MCFA). Hal ini ditandai dengan rantai karbon sedang (6-12 atom karbon). Kandungan asam laurat ($C_{12:0}$) sebagai asam lemak rantai menengah paling dominan sebesar 45-52%, diikuti asam kaprilat (C_8) dan asam kaprat (C_{10}) (Bose *et al.*, 2025). Keunggulan VCO dengan kandungan MCFA khususnya asam laurat yang tinggi dan rendah ikatan rangkap yaitu memiliki sifat antimikroba dan cenderung lebih stabil terhadap oksidasi dari pemanasan dan penyimpanan. Sifat antimikroba membantu menghambat mikroba untuk tumbuh lebih cepat. Namun, kelemahan VCO yaitu tidak memiliki banyak omega-3 dan omega-6 pada aspek fungsionalitas. Manfaat VCO dalam susu yaitu dapat meningkatkan kandungan MCFA yang mudah diserap oleh tubuh, sehingga mampu meningkatkan energi tanpa disimpan sebagai lemak tubuh. Manfaat lain VCO yaitu mampu meningkatkan kadar *high density lipoprotein* (HDL) dan menurunkan kadar *low density lipoprotein* (LDL) (Chinwong *et al.*, 2017). Secara keseluruhan, penambahan VCO dalam susu lemak nabati dapat memberikan manfaat kesehatan, meningkatkan nilai fungsionalitas, memperbaiki tekstur dan viskositas produk.

2.7 *Emulsifier* (Pengemulsi) dan *Stabilizer* (Penstabil)

Emulsifier merupakan salah satu bahan tambahan pangan (BTP) yang berperan menggabungkan dua zat yang sulit bercampur. Contoh penggunaannya yaitu untuk menggabungkan minyak dan air hingga diperoleh pembentukan nano emulsi yang stabil (Fuentes *et al.*, 2021). Tugas utama *emulsifier* yaitu membantu

memperbaiki tekstur, meningkatkan stabilitas produk, membantu menurunkan tegangan permukaan dan melapisi droplet lemak, sehingga flokulasi, pengkriman, pemisahan fase, dan koalesensi dapat dicegah, dan memperpanjang masa simpan produk pangan (Jacob dan Nair, 2026). *Lesitin sunflower* dan GMS dapat digunakan menjadi *emulsifier* yang membantu dua fase berbeda dapat menyatu dengan baik.

Lesitin merupakan salah satu jenis *emulsifier* alami yang terdapat dalam berbagai jaringan tumbuhan. Lesitin *sunflower* merupakan salah satu *emulsifier* alami yang terbentuk dari fosfolipid dan trigliserida. Lesitin *sunflower* dibuat dari biji bunga matahari dengan proses ekstraksi dan pemurnian. Peran utama lesitin *sunflower* adalah sebagai *emulsifier* karena memiliki sifat amfipatik yaitu dalam satu molekulnya memiliki gugus hidrofilik yang sifatnya polar yang dan gugus lipofilik yang sifatnya nonpolar (Bot *et al.*, 2021). Gugus hidrofilik terbentuk dari gugus fosfat dan kolin yang bermuatan, sehingga dapat bersatu dengan air. Gugus lipofilik terbentuk dari dua rantai asam lemak (asam linoleat dan asam oleat), sehingga dapat bersatu dengan minyak. Sifat lesitin *sunflower* yang berlawanan membuat tegangan permukaan dua fase menurun, serta droplet minyak tidak mudah mengalami koalesensi dan menstabilkan emulsi (Schroën *et al.*, 2020). Lesitin *sunflower* memiliki komposisi asam lemak yaitu asam oleat sebesar 60-70% dan lebih besar dibandingkan lesitin kedelai. Kandungan asam oleat yang lebih tinggi membuat lesitin *sunflower* lebih stabil terhadap oksidasi dan tidak mudah berbau tengik saat disimpan (Rakariyatham *et al.*, 2024).

Glyceryl Monostearate (GMS) merupakan salah satu jenis *emulsifier* alami kelompok monogliserida non-ionik. GMS terbentuk dari gliserol yang sifatnya

polar (hidrofilik) dan rantai stearat yang sifatnya non polar (lipofilik). GMS termasuk surfaktan amfifilik yang mampu menurunkan tegangan permukaan dari fase minyak dan air (Jawale dan Bhanage, 2023). GMS memiliki nilai *hydrophilic-lipophilic balance* (HLB) sebesar 3,8 – 4,0, artinya GMS memiliki afinitas lebih besar pada fase lemak, namun tetap dapat menstabilkan emulsi O/W. Stabilisasi emulsi GMS terbentuk dari dua tahap, yaitu homogenisasi dan pendinginan. GMS saat proses homogenisasi akan bergerak ke batas antara globula minyak nabati dengan susu, membentuk lapisan *monolayer*. Ekor lipofilik akan bersatu dengan trigliserida minyak nabati, sedangkan kepala hidrofilik akan bersatu dengan susu sebagai fase air. GMS mampu menurunkan tegangan antarmuka sehingga globula minyak pecah menjadi lebih kecil (Mello dan Rousseau, 2026). Penambahan GMS dapat membuat ukuran droplet minyak dalam emulsi mengecil menjadi 100 nm atau biasa disebut dengan nanoemulsi (Gupta *et al.*, 2016). Penambahan GMS lebih dari 0,6% dapat menyebabkan *over* kristalisasi dan membuat tekstur susu menjadi cenderung berpasir.

GMS saat proses pendinginan dapat membentuk lapisan kristal kecil seperti jarum yaitu kristal β dan β' di permukaan droplet minyak dan mampu kembali sesuai keadaan awal dengan proses termal (Zhang *et al.*, 2023). Penyimpanan susu suhu 4 – 10°C dapat membuat lapisan kristal kaku dan mencegah terjadinya koalesensi. Selain *emulsifier*, GMS juga berperan sebagai pembentuk struktur. GMS dapat berikatan dengan protein utama susu melalui ikatan hidrogen. GMS yang bersatu dengan kasein atau whey protein dapat membentuk lapisan antarmuka yang lebih tahan panas serta goncangan saat penyimpanan. Interaksi ini dapat

mencegah terjadinya pemisahan fase akibat denaturasi protein saat pasteurisasi. Asam lemak tak jenuh dari minyak nabati dalam emulsi susu mudah mengalami *creaming*. Penambahan lesitin dan GMS dalam emulsi O/W dapat menghasilkan emulsi yang stabil ikut berperan membantu menurunkan *creaming* produk (Moran-valero *et al.*, 2017).

Stabilizer merupakan bahan tambahan yang berguna untuk mencegah pemisahan fase air dan minyak dalam produk pangan. Tujuan penambahan *stabilizer* yaitu untuk meningkatkan viskositas produk dan membentuk gel dengan fungsi mengurangi pergerakan, mengikat partikel, menjaga stabilitas emulsi, serta memperbaiki kenampakan produk (Amen *et al.*, 2020). Penambahan *emulsifier* dan *stabilizer* dalam sistem emulsi susu sangat penting untuk membantu menjaga tekstur dan kestabilan fisik produk. Selain itu, *emulsifier* dan *stabilizer* dapat memperkuat interaksi dari fase lemak dan air sehingga terbentuk campuran yang lebih homogen. Karagenan dapat digunakan menjadi *stabilizer* yang berperan penting dalam emulsi susu.

Karagenan merupakan hidrokoloid yang diperoleh dari alga atau rumput laut merah (*Rhodophyceae*). Peran utama karagenan dalam sistem emulsi yaitu sebagai *stabilizer* utama untuk meningkatkan viskositas dan menjaga emulsi dari pemisahan lemak maupun pengendapan partikel. Karagenan yang berinteraksi dengan kasein dan whey protein mampu membentuk lapisan tipis sebagai pelindung tetesan lemak nabati. Hal ini dapat mencegah terjadinya agregasi, koalesensi, pengkriman, dan sedimentasi (Daet *et al.*, 2025). Selain sebagai *stabilizer*, karagenan juga berperan sebagai pengental dan pembentuk gel. Secara kimia karagenan terdiri dari rantai

galaktan yang mengandung gugus sulfat, sehingga mampu bersatu dengan protein susu dan membentuk gel melalui interaksi fisik. Studi mengenai hidrokoloid susu menunjukkan pemberian karagenan dapat mencegah terbentuknya endapan serta memperbaiki tekstur emulsi dan mengurangi *creaming* (Wijaya *et al.*, 2015).

2.8 Pasteurisasi

Pasteurisasi merupakan salah satu proses pengolahan yang menggunakan suhu panas. Pasteurisasi umum diterapkan pada produk susu untuk menurunkan jumlah mikroorganisme patogen dan memperpanjang masa simpan tanpa menyebabkan perubahan yang berlebihan pada karakteristik produk (Rabbani *et al.*, 2025). Prinsip dari pasteurisasi yaitu memberikan perlakuan panas pada suhu dan waktu tertentu sehingga mikroorganisme yang berpotensi merugikan dapat diinaktivasi, serta sebagian besar komponen gizi tetap dapat dipertahankan. Pasteurisasi berbeda dengan sterilisasi (menginaktivasi seluruh mikroba termasuk spora pada suhu $>121^{\circ}\text{C}$), melainkan hanya menurunkan jumlah populasi mikroba hingga tingkat yang aman untuk dikonsumsi. Metode pasteurisasi yang sering digunakan dalam industri susu adalah *Low Temperature Short Time* (HTST) dan *High Temperature Short Time* (HTST). Metode HTST dilakukan pada suhu yang lebih tinggi yaitu 72°C selama 15 detik hingga 1 menit, sedangkan metode LTLT dilakukan pada suhu 63°C selama 30 menit (Bousbia *et al.*, 2021). Penelitian ini menggunakan metode HTST karena dapat memberikan keseimbangan antara keamanan pangan dan kualitas produk yang dihasilkan. Suhu 72°C digunakan karena sebagian besar bakteri patogen penting pada susu seperti *Listeria*

monocytogenes, *Salmonella spp.*, dan *Campylobacter jejuni* dapat diinaktivasi dengan efektif. Selain itu, waktu pemanasan yang singkat juga dapat meminimalkan kerusakan komponen sensitif terhadap panas dibandingkan dengan metode pemanasan yang lebih lama.

Proses pasteurisasi dapat memengaruhi sifat kimia susu melalui perubahan interaksi antar komponen penyusunnya. Perlakuan panas menyebabkan terjadinya denaturasi sebagian protein whey (seperti β -laktoglobulin), perubahan keseimbangan kalsium dan fosfat, serta penurunan senyawa antioksidan yang sensitif terhadap panas. Pentingnya proses pemanasan setelah homogenisasi pada produk yang mengandung lemak nabati bertujuan untuk membantu mempertahankan distribusi globula lemak yang telah terbentuk. Hal ini membuat sistem emulsi susu menjadi lebih seragam. Dampak pasteurisasi terhadap aktivitas antioksidan penting untuk dilakukan karena pemanasan saat pasteurisasi dapat memengaruhi kestabilan senyawa oksidatif yang terdapat pada minyak nabati, tergantung dari ketahanan masing-masing senyawa bioaktif terhadap tingkat ketahanan termal. Komponen fenolik seperti hydroxytyrosol dan oleuropein pada OO dapat terdegradasi suhu tinggi, sedangkan tokoferol dari SIO memiliki stabilitas oksidatif yang lebih baik (Rodríguez *et al.*, 2021).

Pasteurisasi juga salah satu tahapan proses yang menentukan stabilitas pH produk. Pasteurisasi dapat menyebabkan perubahan interaksi antara protein whey dengan misel kasein sehingga nilai pH meningkat sedikit. Susu yang telah dipasteurisasi perlu dikemas dengan metode *hot filling* untuk mencegah rekontaminasi, lalu susu didinginkan cepat dengan metode *shock cooling* untuk

menghentikan efek pemanasan serta menjaga mutu produk (Kontopodi *et al.*, 2022). Perubahan yang terjadi selama proses pasteurisasi dapat memberikan dampak terhadap mutu akhir produk, mulai dari aspek kestabilan emulsi, nilai gizi, maupun umur simpan. Suhu dan waktu pasteurisasi menjadi faktor yang penting untuk memperoleh produk dengan kualitas yang optimal.

2.9 Pengujian Parameter

Parameter penelitian adalah metode yang dilakukan dengan tujuan untuk mengobservasi obyek penelitian sehingga tujuan penelitian yang diinginkan dapat tercapai. Parameter pengujian termasuk dalam instrumen utama penelitian karena membantu memberikan gambaran spesifik tentang karakteristik obyek yang diteliti dan juga dapat merinci kompleksitas obyek penelitian sehingga lebih mudah dipelajari. Parameter pengujian yang diambil harus sesuai dengan tujuan awal yang akan diraih pada judul penelitian maupun jenis penelitian yang akan dilaksanakan.

2.9.1 Nilai pH

Nilai pH atau *potential of hydrogen* merupakan salah satu parameter kimia yang penting untuk mengetahui kestabilan kimia dan mikrobiologis produk. Pengukuran pH menggunakan alat pH meter digital. Nilai pH menggambarkan jumlah ion H^+ dalam produk dan menunjukkan tingkat keasaman produk (Aydogdu *et al.*, 2023). Prinsip pengukuran nilai pH yaitu mencelupkan elektroda kaca pada pH meter ke dalam sampel, perbedaan potensial listrik dari elektroda referensi dan sampel karena aktivitas ion H^+ lalu dikonversi menjadi angka pH (Vivaldi *et al.*,

2021). Semakin asam sampel, maka semakin banyak ion H^+ muatan positif. Elektroda pH meter digital terdiri dari satu *probe* kaca tunggal yang berisi elektroda referensi internal dan elektroda sampel eksternal. Elektroda umumnya dibuat dari kawat perak (Ag) dengan lapisan perak klorida (AgCl), sedangkan bagian *probe* berisi larutan *buffer* kalium klorida (KCl) pH 7. Pengukuran nilai pH didasarkan perbedaan ion H^+ dari *buffer* referensi dalam *probe* dengan sampel.

Elektroda pH meter harus dilakukan kalibrasi terlebih dahulu sebelum dipakai dengan *buffer* pH 4, pH 7, dan pH 10, supaya hasil pembacaan yang didapatkan akurat (Shehata *et al.*, 2023). Sampel susu kambing lemak nabati perlu dihomogenkan dan disesuaikan suhunya dahulu sebelum diukur nilai pH. Hal ini karena faktor lingkungan terutama suhu sampel dapat memengaruhi hasil pengukuran dan menjadi salah satu titik kritis (Aydogdu *et al.*, 2023). Perubahan pH selama pengolahan dan penyimpanan dapat menggambarkan adanya aktivitas mikroba, enzim, dan juga oksidasi lemak terhadap produk. Penambahan minyak nabati pada susu berpotensi memengaruhi kestabilan emulsi dan fisikokimia produk, termasuk perubahan pH susu selama disimpan (Braun *et al.*, 2019). Penambahan *stabilizer* dan *emulsifier* diharapkan mampu menekan perubahan pH dengan menghambat kerusakan kimia, mikrobiologis, dan menjaga stabilitas emulsi. Oleh karena itu, pengukuran nilai pH sangat penting dilakukan untuk mengetahui mutu susu selama proses pengolahan dan penyimpanan.

2.9.2 Total Asam

Total asam atau *total titratable acidity* (TTA) merupakan salah satu parameter kimia yang menggambarkan jumlah asam organik yang terbentuk dalam produk susu. Pengujian total asam dilakukan menggunakan metode titrasi alkalimetri dengan alat buret titrasi, larutan yang digunakan yaitu NaOH sebagai titran dan *phenolphthalein* (PP) sebagai indikator perubahan akhir titrasi (Kim *et al.*, 2019; Taprab dan Sameenoi, 2019). Prinsip pengujian total asam yaitu menetralisasi asam organik dan asam bebas pada sampel, seperti asam laktat dan asam lemak bebas menggunakan basa standar sampai diperoleh titik akhir titrasi. Tanda berakhirnya titrasi yaitu ketika sampel yang dititrasi berubah warna menjadi merah muda (*pink*) dan tidak pudar selama beberapa waktu. Proses pengujian total asam yaitu sampel susu kambing lemak nabati diencerkan dengan aquades, lalu ditambahkan indikator PP, dan dititrasi dengan NaOH sambil digoyangkan hingga warnanya berubah. Total volume titran yang dipakai untuk titrasi, digunakan untuk menghitung persentase total asam sampel (Gaur *et al.*, 2019).

Susu kambing segar memiliki total asam yang cenderung rendah. Total asam susu akan semakin meningkat seiring dengan lama waktu penyimpanan. Total asam yang terbentuk selama proses pengolahan dan penyimpanan susu berasal dari pembentukan asam laktat hasil fermentasi laktosa dari bakteri asam laktat (BAL), serta pembentukan asam lemak bebas dari hasil hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol saat proses lipolisis (Costa *et al.*, 2020; Sionek *et al.*, 2023). Selain itu, berbagai senyawa asam lain seperti asam laktat dan asam format juga dapat terbentuk saat pemanasan susu akibat degradasi laktosa (Melini *et al.*, 2017).

Penambahan minyak nabati yang berbeda jenis dalam emulsi susu dapat memengaruhi nilai total asamnya. *Sacha inchi oil* (SIO) cenderung lebih rentan oksidasi lipid dibandingkan minyak lainnya karena kandungan PUFA yang tinggi (Silva *et al.*, 2019). Namun, dalam sistem emulsi, laju oksidasi bukan hanya ditentukan dari karakteristik minyak, melainkan stabilitas fisik emulsi dan efektivitas senyawa antioksidan untuk menghambat terbentuknya radikal bebas (Velasco-Perez dan Ramos-Escudero, 2024). SIO dikenal memiliki kandungan tokoferol mampu memengaruhi stabilitas oksidatif minyak (Rodríguez *et al.*, 2021). Parameter total asam dalam susu kambing lemak nabati penting dilakukan untuk mengetahui stabilitas jumlah total asam susu apakah masih sesuai standar selama pengolahan dan penyimpanan.

2.9.3 Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan merupakan salah satu parameter kimia yang digunakan untuk mengetahui seberapa kuat sampel bisa menangkal radikal bebas, serta melindungi lemak dan protein dari kerusakan oksidatif selama diolah dan disimpan. Metode ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam susu kambing lemak nabati. Cara kerja metode ABTS yaitu radikal kation $ABTS^+$ berwarna hijau-biru akan direduksi dengan senyawa antioksidan dalam sampel sehingga terjadi penurunan intensitas warna larutan (Cano *et al.*, 2023). Jika antioksidan dalam sampel banyak, warna hijau-biru akan memudar lebih cepat dan absorbansinya menurun lebih besar. Perubahan warna yang terjadi diukur dengan alat spektrofotometer dengan panjang

gelombang 734 nm. Hasil pembacaan yang muncul dihitung dari selisih absorbansi kontrol dan sampel berdasarkan aktivitas penangkapan radikal bebas, sehingga didapatkan nilai persen inhibisi (% Inhibisi) (Kerasiotti *et al.*, 2019). Nilai % inhibisi yang semakin tinggi menandakan aktivitas antioksidan sampel semakin kuat.

Susu kambing lemak nabati memiliki antioksidan yang tersebar di fase air dan fase minyak. Metode ABTS digunakan karena memiliki keunggulan mampu mendeteksi antioksidan yang sifatnya hidrofilik dan lipofilik dalam sekali pengujian dibanding metode lainnya (Cano *et al.*, 2023). Metode DPPH cenderung lebih digunakan untuk mengukur antioksidan pada senyawa organik (lipofilik) karena tidak dapat larut dalam air (Christodoulou *et al.*, 2022). Selain itu, keunggulan ABTS yang lainnya yaitu dapat bekerja pada rentang pH yang luas dan dapat diaplikasikan untuk sampel jernih maupun keruh (Abramovic *et al.*, 2017). Sampel susu yang cenderung keruh lebih cocok dengan metode ABTS. Senyawa antioksidan atau penangkap radikal dalam susu bervariasi, baik enzimatis maupun nonenzimatis, seperti peptida bioaktif hasil pemecahan kasein, polifenol, vitamin E, dan komponen bioaktif lainnya (Stobiecka *et al.*, 2022). Senyawa-senyawa tersebut berperan penting untuk meningkatkan antioksidan dalam susu baik melalui penambahan minyak nabati maupun senyawa antioksidan alami dalam susu.

Nilai antioksidan susu cenderung menurun setelah mengalami pasteurisasi atau pemanasan. Komponen antioksidan seperti polifenol, tokoferol, maupun vitamin C tidak tahan terhadap panas. Proses pemanasan dapat menyebabkan degradasi senyawa fenolik dan mampu menurunkan kadar antioksidan pada susu karena rusaknya struktur senyawa bioaktif (Tu *et al.*, 2025). Pemanasan membuat

protein whey terdenaturasi contohnya β -laktoglobulin yang mampu mengikat polifenol, sehingga interaksi keduanya meningkat (Qie *et al.*, 2020). Hal ini membuat antioksidan terperangkap pada protein dan tidak terdeteksi saat pengujian ABTS. Selain itu, perlakuan panas dan adanya oksigen terlarut saat pasteurisasi dapat membentuk radikal bebas. Komponen antioksidan dalam susu cenderung berkurang selama proses pemanasan karena senyawa polifenol dan senyawa bioaktif lain terdegradasi untuk menetralkan senyawa radikal tersebut (Pham *et al.*, 2024). Pengujian aktivitas antioksidan penting dilakukan untuk mengetahui total antioksidan yang terdapat dalam susu kambing lemak nabati baik sebelum maupun setelah pasteurisasi pada berbagai jenis minyak berbeda.

2.9.4 Total Plate Count (TPC)

Total Plate Count (TPC) merupakan salah satu parameter mikrobiologis yang digunakan untuk mengetahui jumlah total mikroba aerob mesofilik dalam susu. Nilai TPC digunakan untuk mengukur higienitas, keamanan pangan, dan juga pendugaan umur simpan produk. Metode TPC memiliki prinsip menumbuhkan mikroba dengan media padat, lalu hasil koloni yang terbentuk dihitung secara visual dan diperoleh hasil dalam *colony forming units* (CFU) (Bhuyan *et al.*, 2023). Hasil akhir TPC dapat ditransformasi dalam bentuk log CFU/mL agar membantu proses interpretasi data. *Plate Count Agar* (PCA) digunakan dalam uji TPC sebagai media karena termasuk media non-selektif yang mampu menyediakan lingkungan untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme aerob total (Jurášková *et al.*, 2024). PCA mampu memadat dan terdiri dari pepton, ekstrak ragi, glukosa, dan agar

bakteriologis sebagai sumber nutrisi. Mikroba yang terdapat pada TPC susu kambing setelah pasteurisasi maupun disimpan yaitu bakteri asam laktat (BAL) contohnya *Lactobacillus* dan *Lactococcus*, bakteri psikrotrofik contohnya *Pseudomonas* (genus gram negatif yang dominan), bakteri pembentuk spora contohnya *Bacillus* (bakteri gram positif) karena mampu hidup setelah proses pemanasan maupun penyimpanan, serta bakteri koliform jika sanitasi kurang baik atau adanya kontaminasi (Edwards *et al.*, 2021; Monareng *et al.*, 2025). Hasil nilai TPC yang semakin tinggi, menandakan terdapat kontaminasi maupun proses penanganan yang kurang baik selama pengolahan dan penyimpanan.

Menurut Badan Standardisasi Nasional (2011), batas cemaran mikroba pada susu segar yaitu 1×10^6 CFU/mL. Menurut Badan Standardisasi Nasional (2009), batas cemaran mikroba susu pasteurisasi yaitu 5×10^4 koloni/mL. Nilai TPC yang lebih tinggi dibandingkan batas SNI umumnya dipengaruhi oleh sanitasi yang kurang baik, proses pasteurisasi kurang memadai, maupun kontaminasi ulang (Edwards *et al.*, 2021). Hasil TPC sangat dipengaruhi oleh kualitas bahan baku, efektivitas proses pemanasan, dan juga kondisi penyimpanan. Proses penyimpanan suhu dingin tetap dapat meningkatkan nilai TPC meskipun setelah dipasteurisasi, karena adanya mikroba psikrotrofik yang tetap dapat tumbuh. Penambahan jenis minyak nabati yang berbeda dalam susu kambing lemak nabati dapat memengaruhi hasil TPC. Komposisi asam lemak dapat memengaruhi stabilitas mikrobiologis produk. Sebagai contoh, VCO memiliki asam laurat dan monolaurin yang berperan sebagai antimikroba (Nitbani *et al.*, 2022). Selain jenis minyak, peran *emulsifier*, *stabilizer*, dan sistem emulsi juga membantu menekan tumbuhnya mikroba.

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2025 – Februari 2026. Penelitian dilakukan di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian (RPHP), Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan (KGP), serta Laboratorium Riset Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Materi yang digunakan dan metode penelitian yang dikerjakan, diuraikan sebagai berikut.

3.1 Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu kambing segar yang diperoleh dari peternakan lokal Nio Farm di Pedurungan, Kota Semarang (Semarang, Indonesia), *Olive Oil Bertolli* dari Deoleo S.A. (Madrid, Spanyol), *Extra Virgin Olive Oil Borges* dari Borges International Group (Barcelona, Spanyol), *Virgin Coconut Oil Organic Center* dari Organic Center Indonesia (Indonesia), *Sacha Inchi Oil Morifa* dari Morifa (Indonesia), lesitin *sunflower* bubuk *food grade* dari CnG Official Store (Indonesia), karagenan *food grade* dari Toko Kimia CV. Indrasari (Semarang, Indonesia), Gliserol monostearat (GMS) *food grade* BY Kimia & Herbal dari BY Mart (Indonesia), kalium persulfat Merck yang diperoleh dari EMD Millipore Co. (Darmstadt, Jerman), ABTS Sigma-Aldrich diperoleh dari Merck KGaA (Darmstadt, Jerman), *Plate Count Agar* (PCA) Merck yang diperoleh dari EMD Millipore Co. (Darmstadt, Jerman), NaCl

Fisiologis 0,85% One Medika yang diperoleh dari PT Jayamas Medica Industri (Surabaya, Indonesia), spiritus biru yang diperoleh dari PT Alfa Kimia Indonesia (Semarang, Indonesia), NaOH 0,1 N teknis, indikator *phenolphthalein* (PP) 1%, aquades, dan alkohol 70% yang diperoleh dari Toko Kimia CV. Indrasari (Semarang, Indonesia).

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian ini terdiri dari rancangan penelitian, prosedur penelitian, pengujian parameter, dan analisis data yang diperoleh berdasarkan hasil pengujian. Metode penelitian tersebut diuraikan secara ringkas sebagai berikut.

3.2.1. Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode penelitian eksperimental-deskriptif. Rancangan penelitian yang digunakan yaitu substitusi susu kambing lemak nabati dengan penambahan variasi jenis minyak sebagai pengganti lemak susu. Jenis minyak nabati yang digunakan sebagai perlakuan adalah *Virgin Olive Oil* (VOO), *Olive Oil* (OO), *Virgin Coconut Oil* (VCO), dan *Sacha Inchi Oil* (SIO). Metode pemisahan fraksi susu kambing menjadi skim dan krim dengan *cream separator*. Setiap jenis perlakuan disimpan selama 2 minggu dalam suhu dingin sekitar 7-10°C. Pengujian parameter yang digunakan untuk menganalisis karakteristik dari susu kambing lemak nabati adalah nilai pH, total asam, aktivitas antioksidan, dan *Total Plate Count* (TPC). Masing-masing perlakuan dilakukan 3 kali pengulangan untuk parameter aktivitas antioksidan dan *Total Plate Count*

(TPC), serta dilakukan 5 kali pengulangan untuk parameter nilai pH dan total asam.

Desain formulasi perlakuan susu lemak nabati dan desain pengujian parameter dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Formulasi Perlakuan Susu Lemak Nabati dengan Penambahan Variasi Jenis Minyak

Perlakuan	RSM (%)	VOO (%)	OO (%)	SIO (%)	VCO (%)	Lesitin (%)	Karagenan (%)	GMS (%)
RSM	100	-	-	-	-	-	-	-
VOO	96,6	3	-	-	-	0,2	0,08	0,1
OO	96,6	-	3	-	-	0,2	0,08	0,1
SIO	96,6	-	-	3	-	0,2	0,08	0,1
VCO	96,6	-	-	-	3	0,2	0,08	0,1

Keterangan:

RSM: *Raw Skim Milk* (kontrol); VOO: *Virgin Olive Oil*; OO: *Olive Oil*; SIO: *Sacha Inchi Oil*; VCO: *Virgin Coconut Oil*.

Tabel 4. Desain Pengujian Parameter

No.	Analisa Parameter	RSM	SS	VOO	OO	SIO	VCO
1.	Nilai pH	✓		✓	✓	✓	✓
2.	Total Asam	✓		✓	✓	✓	✓
3.	Aktivitas Antioksidan		✓	✓	✓	✓	✓
4.	<i>Total Plate Count</i> (TPC)	✓		✓	✓	✓	✓

Keterangan:

RSM: *Raw Skim Milk* (kontrol); SS: *Susu Segar* (kontrol); VOO: *Virgin Olive Oil*; OO: *Olive Oil*; SIO: *Sacha Inchi Oil*; VCO: *Virgin Coconut Oil*.

3.2.2 Prosedur Penelitian

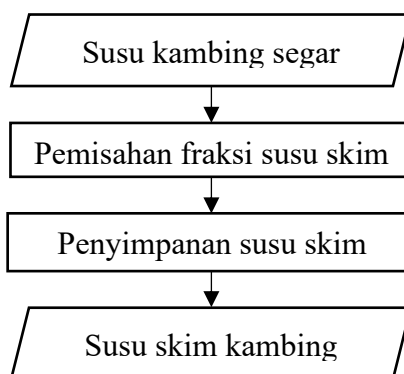
Prosedur penelitian dilakukan dengan 3 tahapan, yaitu pemisahan atau separasi skim susu kambing, pembuatan susu kambing lemak nabati, dan penyimpanan (*storing*) susu kambing lemak nabati. Pengujian parameter kimia dan mikroba yang telah ditentukan untuk menganalisis karakteristik dari susu kambing

lemak nabati. Berikut merupakan uraian prosedur penelitian yang akan dilakukan:

a. Pemisahan atau Separasi Skim Susu Kambing

Susu kambing segar setelah diperah dari peternakan lokal, dibawa menuju laboratorium dengan menerapkan sistem rantai dingin agar mutunya tetap terjaga. Sampel susu kambing segar dimasukkan dalam botol tertutup, lalu diangkut menggunakan *cooler box* berisi *ice gel*. Suhu selama perjalanan ± 20 menit dipertahankan sekitar 10°C hingga tiba di Laboratorium Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Diponegoro. Susu yang telah sampai langsung dipindahkan ke dalam *chiller* suhu 10°C dan disimpan sampai sebelum diproses lebih lanjut pada hari yang sama.

Pemisahan skim susu kambing mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Wu *et al.* (2020) dengan modifikasi. Susu kambing dilakukan separasi dengan alat *cream separator* (Indonesia) untuk memisahkan fraksi susu skim dan fraksi lemak susu. Pemisahan fraksi didasarkan pada prinsip pemisahan sentrifugal, sehingga diperoleh fraksi susu kambing yang rendah lemak. Hasil fraksi susu skim yang telah dipisahkan kemudian dimasukkan ke dalam *jar* kaca yang sudah disterilisasi. Sampel susu skim komposit tersebut digunakan untuk tahap pembuatan selanjutnya. Berikut merupakan diagram alir proses preparasi sampel.



Ilustrasi 1. Diagram alir proses pemisahan skim susu kambing

b. Pembuatan Susu Kambing Lemak Nabati

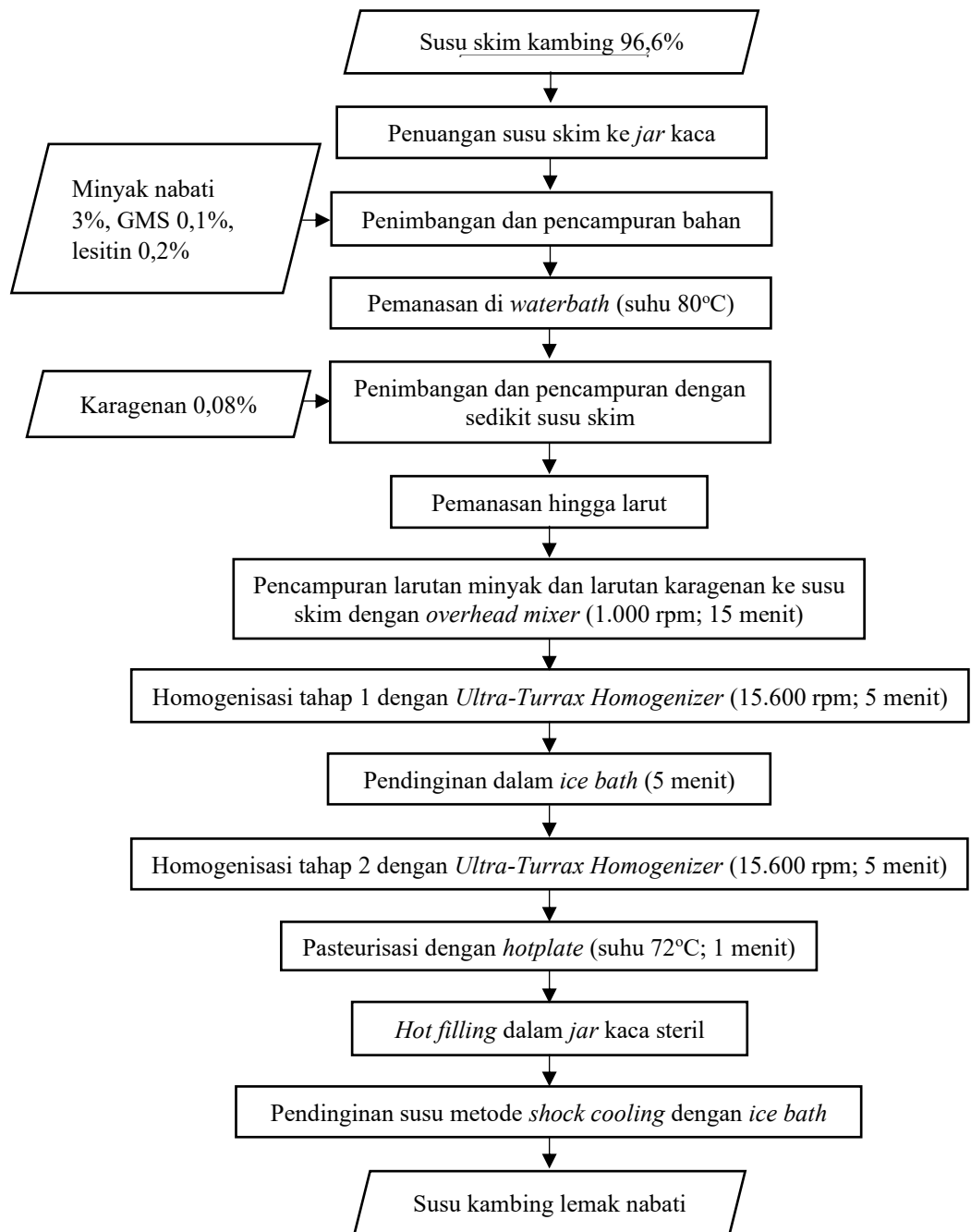
Susu skim kambing yang telah diperoleh melalui pemisahan susu segar diambil sebanyak 96,6% dari total volume keseluruhan. Susu skim dituangkan ke dalam wadah *jar* kaca berukuran 1 L, susu skim di sisakan sedikit sebagai pembilas. Minyak nabati sesuai perlakuan diukur sebanyak 3% dengan gelas ukur (HERMA, Indonesia), *emulsifier* seperti GMS ditimbang dengan timbangan analitik (Shimadzu, Jepang) sebanyak 0,1%, lesitin ditimbang sebanyak 0,2%. Gelas ukur berisi campuran minyak dan *emulsifier* dipanaskan sambil diaduk diatas *water bath* *Memmert* (Schwabach, Germany) suhu 80°C hingga tercampur rata untuk membantu proses emulsifikasi dan meningkatkan kestabilan sistem emulsi (Li *et al.*, 2020). Karagenan ditimbang sebanyak 0,08% dengan menggunakan gelas *beaker* (PYREX, Amerika), lalu dilarutkan dengan sedikit susu skim yang belum dimasukkan *jar* kaca, dan dipanaskan pada panci berisi air di atas kompor dengan api kecil sambil diaduk dengan batang pengaduk hingga karagenan larut. Karagenan yang dilarutkan dengan pemanasan pada air panas dapat membentuk sistem yang homogen (Ramadhan *et al.*, 2025). Karagenan merupakan hidrokoloid

yang berperan untuk membentuk gel dan penstabil dalam sistem emulsi (Spena dan Grizzuti, 2025).

Susu skim yang telah dituang ke *jar* kaca 1 liter lalu diletakkan ke bawah *overhead mixer* IKA RW 20 *Digital* (IKA, Jerman) pada *speed* 300 rpm. Campuran minyak yang sudah homogen dituangkan sedikit demi sedikit ke dalam susu skim sambil diaduk, lalu kecepatannya dinaikkan hingga 500 rpm agar dihasilkan dispersi awal yang lebih merata. Karagenan dituangkan secara perlahan ke dalam *overhead mixer* kemudian bilas dengan susu skim yang masih tersisa. Campuran susu tersebut diaduk selama 15 menit dengan kecepatan 1.000 rpm untuk membentuk sistem dispersi minyak dalam air yang stabil melalui gaya geser mekanis (Tan dan McClements, 2021). Campuran susu lanjut dihomogenisasi dengan metode yang mengacu pada penelitian Tu *et al.* (2025) dengan modifikasi. Proses homogenisasi menggunakan *homogenizer* IKA T-25 *Digital* ULTRA-TURRAX (Staufen, Jerman) pada kecepatan 15.600 rpm selama 5 menit dan dilakukan sebanyak 2 siklus, lalu didinginkan dalam *ice bath* selama 5 menit di antara siklus. Homogenisasi dapat meningkatkan karakteristik fisik dan stabilitas produk berbasis nabati karena proses reduksi ukuran globula lemak dan peningkatan pembentukan sistem emulsi yang lebih homogen (He dan Xu, 2024).

Suhu pasteurisasi mengacu pada metode Tan *et al.* (2020) yang menerapkan suhu pasteurisasi 72°C dengan modifikasi pada lama pemanasan selama 1 menit untuk meningkatkan efektivitas inaktivasi mikroorganisme sesuai kebutuhan penelitian. Campuran susu kambing lemak nabati dipasteurisasi dengan metode *high temperature short time* (HTST) dengan *hotplate* dan *magnetic stirrer* pada

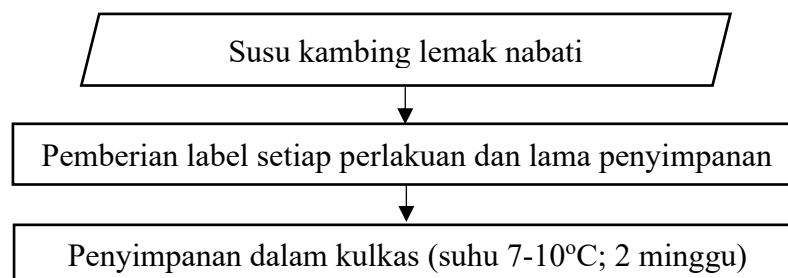
kecepatan ± 400 rpm. Pasteurisasi bertujuan untuk menurunkan jumlah mikroorganisme dan meningkatkan stabilitas produk (Rabbani *et al.*, 2025). Susu yang telah dipasteurisasi dimasukkan dalam *jar* kaca 150 ml dengan volume yang sama sebanyak 3 buah untuk pengujian dengan proses *hot filling*, *jar* kaca yang digunakan sudah disterilisasi dahulu selama 5 menit. Susu dalam *jar* kaca segera ditutup rapat untuk menghindari kontaminasi. Susu untuk sampel uji mikroba dipisahkan ke wadah *tube* dan diberi *plastic wrap*. Susu didinginkan menggunakan metode *shock cooling* dengan *ice bath* dalam wadah plastik agar suhu susu turun secara cepat (Kontopodi *et al.*, 2022). Tujuannya agar efek pemanasan tidak berkelanjutan dan mutu terjaga.



Ilustrasi 2. Diagram alir proses pembuatan susu kambing lemak nabati

c. Penyimpanan (*Storing*) Susu Kambing Lemak Nabati

Susu kambing lemak nabati yang telah selesai proses *shock cooling* lanjut ke proses pelabelan. Setiap sampel susu diberi label sesuai perlakuan dan lama penyimpanan yaitu 1 minggu dan 2 minggu. Penyimpanan susu kambing lemak nabati mengacu pada penelitian Razali *et al.* (2021). Susu dalam *jar* kaca dimasukkan dalam kulkas (*refrigerator*) pada suhu 7-10°C. Susu kambing lemak nabati disimpan dalam kulkas selama 2 minggu. Penyimpanan susu pada suhu sekitar 4°C bertujuan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme serta mempertahankan mutu produk, karena suhu rendah terbukti dapat membantu memperlambat laju kerusakan dan memperpanjang masa simpan susu selama penyimpanan (Lott *et al.*, 2023).



Ilustrasi 3. Diagram alir proses penyimpanan susu kambing lemak nabati

3.2.3 Pengujian Parameter

Pengujian parameter dilakukan untuk menganalisis karakteristik dari susu kambing lemak nabati dengan penambahan variasi minyak nabati. Pengujian yang dilakukan yaitu nilai pH, total asam, aktivitas antioksidan, dan *Total Plate Count* (TPC). Pengujian parameter tersebut diuraikan sebagai berikut. Desain tahapan pengujian parameter dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Desain Tahapan Pengujian Parameter

No	Analisa Parameter	Kontrol	Mixing	Homo-genisasi	Pasteu-risasi	H+1	H+7	H+14
1.	Nilai pH	✓	✓	✓	✓		✓	✓
2.	Total Asam	✓			✓		✓	✓
3.	Aktivitas Antioksidan	✓		✓	✓			
4.	Total Plate Count (TPC)	✓				✓		✓

Keterangan:

Kontrol: susu skim atau susu segar tanpa perlakuan; *Mixing*: pencampuran bahan; Homogenisasi: pengecilan globula lemak; Pasteurisasi: suhu 72°C selama 1 menit; H+1: penyimpanan hari ke-1; H+7: penyimpanan hari ke-7; H+14: penyimpanan hari ke-14.

a. Pengujian Nilai pH

Pengujian nilai pH dilakukan dengan metode potensiometri yang mengacu pada penelitian Kasapidou *et al.* (2023) yang dilakukan dengan menggunakan alat pH meter digital OHAUS (Amerika). Alat pH meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan larutan buffer pH 4 dan pH 7 kemudian dibersihkan dengan aquades. Alat pH meter yang sudah dibersihkan lalu dikeringkan dengan tisu. Pengukuran nilai pH dilakukan dengan mencelupkan elektroda pH meter kedalam 10 ml sampel selama beberapa saat hingga diperoleh pembacaan skala yang stabil. Setiap kali berganti sampel, pH meter harus dibersihkan dengan aquades dan dikeringkan dengan tisu. Pengukuran nilai pH pada sampel susu kambing dilakukan selama proses pembuatan dan penyimpanan hingga 2 minggu untuk mengetahui perbedaan nilai pH dari susu kambing lemak nabati.

b. Pengujian Total Asam

Pengujian total asam dilakukan dengan metode titrasi yang mengacu pada penelitian Kongsinkaew *et al.* (2024) dengan modifikasi. Sampel susu kambing lemak nabati diukur sebanyak 5 ml pada gelas ukur. Sampel dimasukkan labu erlenmeyer (HERMA, Indonesia) dan dilarutkan dalam aquades sebanyak 45 ml hingga menghasilkan volume total 50 ml. Sampel dihomogenkan lalu ditambahkan indikator PP 1% sebanyak 2 tetes. Sampel dititrasi dengan alat buret titrasi basa menggunakan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda dan stabil selama 30 detik. Perhitungan kadar total asam dihitung dengan rumus :

$$\text{Total Asam (\%)} = \frac{V_1 \times N \times B}{V_2 \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

V_1 : Volume NaOH yang digunakan (ml)

V_2 : Volume sampel susu (ml)

N : Normalitas NaOH (0,1 N)

B : Berat Molekul Asam Laktat (90)

c. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) yang mengacu pada García-martín *et al.* (2026) dengan modifikasi. Larutan kalium persulfat dibuat dengan menimbang 3,5 mg kalium persulfat dan dilarutkan dalam aquades sebanyak 5 ml. Larutan ABTS dibuat dengan menimbang 18 mg ABTS dan dilarutkan dalam aquades

sebanyak 5 ml. Larutan stok ABTS dibuat dengan mencampurkan 5 ml ABTS dengan 5 ml Kalium Persulfat lalu ditambahkan aquades hingga volume mencapai 25 ml. Larutan stok ABTS diinkubasi pada suhu ruang dalam kondisi gelap selama 12-16 jam sampai terbentuk larutan warna biru kehijauan. Larutan ABTS sebagai kontrol atau blanko koreksi dipipet dengan pipet ukur sebanyak 1 ml dan diencerkan dengan 2 ml aquades hingga didapatkan volume sebanyak 3 ml dalam 1 *glass cuvette*. Nilai absorbansi larutan blanko ABTS diukur dengan *UV-Vis Spectrophotometer Thermo Scientific Genesys 10S* (Waltham, USA) dengan panjang gelombang 734 nm. Sampel dipipet sebanyak 2 ml lalu ditambahkan 1 ml larutan stok ABTS. Sampel diinkubasi selama 1 jam dalam kondisi gelap lalu diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 734 nm. Aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel})}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100\%$$

d. Pengujian *Total Plate Count* (TPC)

Pengujian total mikroba dengan *Total Plate Count* (TPC) ditentukan menggunakan metode yang mengacu pada Ragab *et al.* (2019) dengan modifikasi. Preparasi media dilakukan dengan media *Plate Count Agar* (PCA) ditimbang lalu ditambahkan aquades dan dilarutkan diatas *hot plate magnetic stirrer REMI* (India). Media, mikrotip, dan *centrifuge tube* berisi NaCl fisiologis 0,85% yang dimasukkan plastik PE disterilisasi menggunakan *autoclave Hirayama Hiclave HVE-50* (Jepang) suhu 121oC selama 15 menit. Cawan petri disterilisasi kering dengan dibungkus kertas koran dan dimasukkan oven kadar air *Memmert* (Jerman).

Pengujian TPC dilakukan secara aseptis dalam *Laminar Air Flow B-One* (Semarang, Indonesia) untuk menghindari kontaminasi. Sampel susu kambing lemak nabati diambil sebanyak 1 ml dengan mikropipet lalu dimasukkan ke dalam *tube* berisi 9 ml larutan pengencer steril yaitu NaCl fisiologis 0,85% kemudian dihomogenkan dengan *vortex mixer B-One* (Semarang, Indonesia) sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Larutan dari *tube* pengenceran 10^{-1} yang sudah dihomogenkan, diambil 1 ml dengan mikropipet dan diencerkan kembali hingga diperoleh pengenceran 10^{-3} . Sampel susu kambing lemak nabati diencerkan sebanyak 3 tingkat pengenceran yaitu 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} , sedangkan *raw skim milk* diencerkan sebanyak 5 tingkat pengenceran kemudian diambil 3 pengenceran terakhir yaitu 10^{-3} , 10^{-4} , dan 10^{-5} . Selanjutnya, dari masing-masing pengenceran diambil 1 ml lalu diinokulasikan ke dalam cawan petri steril secara duplo. Media PCA ditambahkan ke dalam cawan petri sekitar 15-20 ml pada suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$. Suhu media dapat dicek secara berkala dengan termometer *digital Xuilee GM 320* (China). Cawan petri diputar secara perlahan membentuk angka 8 hingga suspensi sampel tercampur dengan media. Media dalam cawan didiamkan hingga memadat lalu diinkubasi dengan posisi terbalik dengan suhu 37°C selama 48 jam dalam inkubator B-One (Indonesia). Pengujian total mikroba dilakukan di 3 tahap yang berbeda yaitu *raw skim milk*, hari-1 setelah pasteurisasi, dan hari-14 setelah disimpan 2 minggu dalam kulkas. Jumlah koloni yang tumbuh di permukaan media dihitung dengan menggunakan *colony counter J-2* (China).

Perhitungan jumlah koloni dilakukan berdasarkan metode *Aerobic Plate Count* sesuai dengan pedoman *Bacteriological Analytical Manual* (BAM) dengan

syarat jumlah koloni yang terbentuk berkisar antara 15-300 koloni (U.S. Food and Drug Administration, 2025). Jika jumlah koloni berada di luar rentang 15-300, maka hasilnya tetap dicatat sebagai perkiraan jumlah mikroorganisme (*estimated count*). Hasil perhitungan jumlah koloni ditampilkan dalam satuan *colony forming unit per milliliter* (CFU/ml). Jika terdapat koloni lebih dari satu tingkat pengenceran, maka perhitungan jumlah mikroba yang digunakan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

N : Jumlah mikroorganisme (CFU/ml)

ΣC : Jumlah total koloni dari dua tingkat pengenceran terpilih

n_1 : Jumlah cawan pada pengenceran pertama

n_2 : Jumlah cawan pada pengenceran kedua

d : Faktor pengenceran dari pengenceran pertama yang dihitung

Jika hanya terdapat satu tingkat pengenceran yang berada pada rentang 15-300 koloni, maka perhitungan jumlah mikroba yang digunakan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$N = \frac{\Sigma C}{n \times d}$$

Keterangan:

N : Jumlah mikroorganisme (CFU/ml)

ΣC : Jumlah total koloni dari cawan duplo

N : Jumlah cawan

d : Faktor pengenceran

Jika semua koloni yang terbentuk berada di bawah batas hitung yaitu <15 koloni, maka hasil jumlah mikroba tetap dihitung dan digunakan sebagai perkiraan (*estimated count*). Jika semua cawan menunjukkan bahwa koloni sangat sedikit atau berjumlah 0, hasil perhitungan digunakan sebagai perkiraan (*estimated count*) dan dapat dituliskan sebagai berikut:

$$< 1 \times 10^1 \text{ CFU/ml}$$

3.2.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengujian nilai pH, total asam, aktivitas antioksidan dan *Total Plate Count* (TPC) diolah dengan menggunakan *software* Microsoft Excel tahun 2021. Data yang didapatkan kemudian disajikan dalam bentuk diagram batang untuk membandingkan antar masing-masing perlakuan dari tahapan prosesnya. Data dianalisis secara deskriptif untuk mengetahui karakteristik susu kambing lemak nabati selama proses pengolahan dengan perlakuan yang bervariasi.