

**PENGARUH KONSENTRASI INOKULUM BAKTERI ASAM LAKTAT
Lactocaseibacillus rhamnosus RAL27 TERHADAP FISIKOKIMIA CREAM
CHEESE PROBIOTIK**

SKRIPSI

Oleh

LEMBITA ASTYA MAHESWARI



**PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

PENGARUH KONSENTRASI INOKULUM BAKTERI ASAM LAKTAT
Lacticaseibacillus rhamnosus RAL27 TERHADAP FISIKOKIMIA *CREAM*
CHEESE PROBIOTIK

Oleh

LEMBITA ASTYA MAHESWARI
NIM : 23020122140110

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Lembita Astya Maheswari
N I M : 23020122140110
Program Studi : Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut :

1. Skripsi yang berjudul: **Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri Asam Laktat *Lactocaseibacillus rhamnosus* RAL27 Terhadap Fisikokimia Cream Cheese Probiotik** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu : **Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si.** dan **Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, April 2026
Penulis,



Lembita Astya Maheswari

Mengetahui :

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si.

Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : PENGARUH KONSENTRASI INOKULUM
BAKTERI ASAM LAKTAT
Lacticaseibacillus rhamnosus RAL27
TERHADAP FISIKOKIMIA CREAM
CHEESE PROBIOTIK

Nama Mahasiswa : LEMBITA ASTYA MAHESWARI

Nomor Induk Mahasiswa : 23020122140110

Program Studi/Departemen : S1 TEKNOLOGI PANGAN/PERTANIAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal ...13...MAY...2026

Pembimbing Utama

Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si.

Pembimbing Anggota

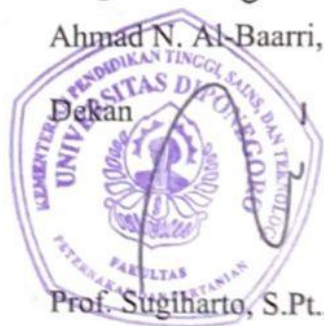
Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc.

Ketua Program Studi

Ahmad N. Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program

Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc.



Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Ketua Departemen

Ahmad N. Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

RINGKASAN

LEMBITA ASTYA MAHESWARI. 23020122140110. 2026. Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri Asam Laktat *Lacticaseibacillus rhamnosus* RAL27 Terhadap Fisikokimia *Cream Cheese* Probiotik. (Pembimbing: **HENI RIZQIATI** dan **NURUL HASNIAH**).

Cream cheese probiotik merupakan produk keju lunak hasil fermentasi susu yang dikembangkan sebagai pangan fungsional dengan penambahan bakteri probiotik. Produk ini memiliki tekstur lembut, rasa sedikit asam, serta matriks protein dan lemak yang mampu mendukung viabilitas bakteri probiotik. Penambahan bakteri asam laktat sebagai inokulum tidak hanya berperan dalam proses fermentasi dan pembentukan struktur gel, tetapi juga memengaruhi karakteristik fisikokimia seperti nilai pH, total asam tertitrasi, warna, dan kadar air. Variasi konsentrasi inokulum berpotensi menghasilkan perbedaan mutu produk, sehingga diperlukan penelitian untuk menentukan konsentrasi yang optimal.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2025 – Januari 2026 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, serta Laboratorium Gedung D, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi inokulum *Lacticaseibacillus rhamnosus* RAL27 terhadap karakteristik fisikokimia *cream cheese* probiotik serta menentukan perlakuan terbaik. Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan konsentrasi inokulum, yaitu P0 (0%), P1 (1%), P2 (3%), dan P3 (5%) dengan 5 kali ulangan. Proses pembuatan *cream cheese* dilakukan melalui tahap pasteurisasi campuran susu dan krim, penambahan rennet dan inokulum sesuai perlakuan, inkubasi fermentasi, pemisahan whey, penambahan garam, dan pengemasan. Parameter yang diamati meliputi nilai pH, total asam tertitrasi (TAT), warna (L^* , a^* , b^*), dan kadar air. Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikansi 5% dan dilanjutkan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) apabila terdapat perbedaan nyata.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan inokulum *L. rhamnosus* RAL 27 berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap nilai pH, total asam tertitrasi, warna, dan kadar air *cream cheese* probiotik. Peningkatan konsentrasi inokulum menyebabkan nilai pH menurun dari 5,65 pada P0 menjadi 3,97 pada P3, sedangkan total asam tertitrasi meningkat dari 0,35% menjadi 0,61%. Nilai kecerahan (L^*) tertinggi diperoleh pada perlakuan P2 yang menunjukkan warna putih cerah khas *cream cheese*. Kadar air meningkat signifikan pada perlakuan dengan penambahan inokulum dibandingkan kontrol. Akan tetapi, seiring bertambahnya konsentrasi inokulum, kadar air cenderung lebih kecil. Berdasarkan metode penentuan perlakuan terbaik menggunakan tabel ceklis yang disesuaikan dengan standar mutu, perlakuan P2 (3%) ditetapkan sebagai perlakuan terbaik karena menghasilkan karakteristik fisikokimia yang paling sesuai dengan kriteria.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Swt. yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi dengan judul “Pengaruh Konsentrasi Inokulum Bakteri Asam Laktat *Lactocaseibacillus rhamnosus* RAL27 terhadap Fisikokimia Cream Cheese Probiotik” dengan sebaik-baiknya.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat yang untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, dengan penuh hormat dan rasa syukur, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama, serta Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, arahan serta dukungan selama kegiatan penelitian hingga penyusunan skripsi.
2. Kedua orang tua penulis yang tersayang, Bapak Cakup Ismoyojati dan Ibu Ida Setyawati, yang tidak berhenti membawa nama penulis dalam setiap doa, senantiasa memberikan dukungan secara moral maupun material dari awal masuk perguruan tinggi, selalu memberikan motivasi kepada penulis serta senantiasa menjadi sumber kekuatan bagi penulis dalam menyelesaikan studi.
3. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D, selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan bagi penulis untuk menempuh Pendidikan di Program Studi S-1 Teknologi Pangan.
4. Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku Ketua Departemen Pertanian dan Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian dan memberikan motivasi selama penulis menempuh masa studi di Program Studi S-1 Teknologi Pangan.
5. Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D. dan drh. Siti Susanti, Ph.D.

selaku Koordinator Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian serta Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, yang telah memberikan izin dan fasilitas laboratorium yang mendukung penelitian penulis.

6. Dr. Sri Mulyani, S.Pt., M.P., selaku Dosen Wali penulis, yang telah memberikan arahan, kesempatan, dan bimbingan kepada penulis dari awal semester hingga ujian akhir.
7. Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc. dan Fariz Nurmita Aziz, S.T.P., M.Sc., selaku Dosen Penguji, yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan kritik, saran serta masukan yang membangun, sehingga menjadikan penulisan skripsi menjadi lebih baik lagi.
8. Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc., selaku Dosen Panitia Ujian Akhir, yang telah memberikan masukan dan arahan dalam penulisan skripsi ini.
9. Segenap Dosen serta Tenaga Kependidikan di Program Studi S-1 Teknologi Pangan, yang telah membimbing, mendukung, dan memberikan ilmu serta pengalaman berharga selama penulis menempuh studi. Terima kasih atas segala dedikasi, motivasi, dan perhatian yang telah diberikan.
10. Seseorang dengan inisial HRL, yang selalu membersamai penulis dari awal perkuliahan hingga penyelesaian skripsi, memberi semangat, masukan, hiburan, serta dukungan moral yang tiada henti kepada penulis. Terima kasih sudah selalu ada dan menjadi tempat bercerita serta berkeluh kesah bagi penulis.
11. Tim penelitian *cream cheese* probiotik, yaitu Faisya Azzahra Putri, Saskia Ayu Kuspitutri, dan Faizal Dwi Prabowo, yang selalu mendampingi, berbagi ilmu, memberi semangat, serta menjadi bagian dari perjalanan ini. Dukungan dan kebersamaan kalian sangat berarti dalam proses penyelesaian skripsi penulis.
12. Sahabat “REMAS”, Faisya Azzahra Putri, Saskia Ayu Kuspitutri, Novia Salsabilla Naibaho, Sarah Putri Ramadhani, Zulfa Puspa Nugrahani, Luluk Muawanah, Shafa Tasya Az Zahra, dan Aurelia Bella Xelena Wonosaputro selaku rekan seperjuangan yang selalu membersamai dan mendukung setiap proses perkuliahan dengan suka dan tawa sejak awal hingga akhir masa studi ini.
13. Sahabat “BBW”, Faisya Azzahra Putri, Saskia Ayu Kuspitutri, Shafa Tasya Az

Zahra, Zulfa Puspa Nugrahani, Calista Alvara Puriella, dan Sheilla Septiana Wibawa yang telah hadir dan kebersamaan penulis di penghujung perkuliahan dengan berbagai cerita, pengalaman, dan dukungan.

14. Nadila Yuniar, Wanda Putri Hefita, dan Putri Mhestuti Prameswari selaku sahabat dekat penulis yang selalu hadir sebagai tempat berkeluh kesah, bermain, memberi dukungan, serta menemani penulis dalam suka dan duka.
15. Saudara Andy Prayoga yang telah menjadi teman berkeluh kesah, bertukar pandangan, serta saling memberi dukungan dalam menyusun skripsi.
16. Teman-teman Teknologi Pangan 2022 yang telah memberikan semangat, dukungan, dan bantuan sejak awal masa studi sampai akhir dari penyusunan skripsi.
17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu oleh penulis, yang telah membantu dan turut hadir dalam proses penyusunan skripsi ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.
18. Diri saya sendiri, Lembita Astya Maheswari yang telah berjuang untuk menyelesaikan apa yang telah dimulai. Terima kasih telah bertahan dan tetap melangkah meski sering ragu, lelah, dan ingin menyerah. Skripsi ini mungkin tidak sempurna, tetapi proses ini menjadi pengalaman yang penuh makna.

Penulis menyadari adanya kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Besar harapan penulis adanya kritik, saran, dan koreksi yang bersifat membangun untuk menyempurnakan skripsi ini menjadi lebih baik. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca.

Semarang, April 2026

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR ILUSTRASI	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
 BAB I. PENDAHULUAN.....	 1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian	4
 BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	 5
2.1. Probiotik.....	5
2.2. Bakteri Asam Laktat	6
2.3. Susu	8
2.4. <i>Cream Cheese</i>	9
2.5. Parameter Uji <i>Cream cheese</i>	10
 BAB III. MATERI DAN METODE	 15
3.1. Materi	15
3.2. Metode.....	16
 BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	 27
4.1. Nilai pH.....	27
4.2. Total Asam Titrasi	29
4.3. Warna	31
4.4. Kadar Air.....	36
4.5. Penentuan Perlakuan Terbaik.....	39

BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	42
5.1. Simpulan	42
5.2. Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	52
RIWAYAT HIDUP	69

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Desain Rancangan Penelitian <i>Cream Cheese</i> Probiotik dengan Penambahan Inokulum <i>L. rhamnosus</i> RAL27.....	17
2.	Komposisi Bahan Pembuatan <i>Cream Cheese</i> Probiotik.....	22
3.	Nilai pH <i>Cream Cheese</i> Probiotik dengan Penambahan Inokulum <i>L. rhamnosus</i> RAL27.....	27
4.	TAT pada <i>Cream Cheese</i> dengan penambahan inokulum <i>L.rhamnosus</i> RAL27	30
5.	Warna <i>Cream Cheese</i> Probiotik dengan Penambahan Inokulum <i>L. rhamnosus</i> RAL27.....	32
6.	ΔE dan <i>Whiteness Index</i> <i>Cream Cheese</i> Probiotik dengan Penambahan Inokulum <i>L. rhamnosus</i> RAL27.....	35
7.	Kadar Air <i>Cream Cheese</i> Probiotik dengan Penambahan Inokulum <i>L. rhamnosus</i> RAL27.	36
8.	Data Analisis Perlakuan Terbaik.....	39

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor		Halaman
1.	Diagram Alir Proses Pembuatan Kultur Stok <i>L. rhamnosus</i> RAL27	19
2.	Diagram Alir Proses Peremajaan dan Preparasi Kultur <i>L. rhamnosus</i> RAL27	20
3.	Diagram Alir Proses Pembuatan <i>Cream Cheese</i> Probiotik	22
4.	Kenampakan Warna <i>Cream Cheese</i> dengan Variasi Konsentrasi Inokulum <i>L. rhamnosus</i> RAL27	33

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Data Lengkap Nilai pH <i>Cream Cheese</i> Probiotik.....	52
2. Data Lengkap Total Asam Titrasi <i>Cream Cheese</i> Probiotik	53
3. Data Lengkap Warna (L*) <i>Cream Cheese</i> Probiotik.....	54
4. Data Lengkap Warna (a*) <i>Cream Cheese</i> Probiotik.....	54
5. Data Lengkap Warna (b*) <i>Cream Cheese</i> Probiotik	56
6. Data Lengkap Kadar Air <i>Cream Cheese</i> Probiotik.....	57
7. Perhitungan <i>Whiteness Index Cream Cheese</i> Probiotik.....	58
8. Perhitungan ΔE <i>Cream Cheese</i> Probiotik.....	59
9. <i>Water Holding Capacity Cream Cheese</i> Probiotik dengan Penambahan Inokulum <i>L. rhamnosus</i> RAL27.....	60
10. <i>Output SPSS One-Way ANOVA</i> Nilai pH.....	65
11. <i>Output SPSS One-Way ANOVA</i> Total Asam Titrasi	62
12. <i>Output SPSS One-Way ANOVA</i> Warna (L*)	66
13. <i>Output SPSS One-Way ANOVA</i> Warna (a*).....	64
14. <i>Output SPSS One-Way ANOVA</i> Warna (b*).....	65
15. <i>Output SPSS One-Way ANOVA</i> Kadar Air.....	66
16. Dokumentasi Penelitian	67

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan pangan fungsional telah menjadi bagian penting dari industri pangan global seiring meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap hubungan antara pola konsumsi pangan dan kesehatan (Linnarto *et al.*, 2019). Pangan fungsional didefinisikan sebagai produk pangan yang tidak hanya memberikan nilai gizi dasar, tetapi juga mengandung komponen bioaktif yang mampu memberikan efek fisiologis positif bagi tubuh manusia. Salah satu komponen utama dalam pangan fungsional adalah probiotik yang telah terbukti mampu menyeimbangkan mikrobiota usus, menurunkan kadar kolesterol, berpotensi sebagai anti-kanker, dan meningkatkan kekebalan tubuh (Priadi *et al.*, 2020).

Dalam pengembangan produk pangan probiotik, bakteri asam laktat (BAL) berperan penting sebagai mikroorganisme starter karena kemampuannya dalam proses fermentasi serta memiliki status aman yang sesuai dengan syarat *Generally Recognized as Safe* (GRAS) (Andrade *et al.*, 2023). Salah satu strain BAL yang berpotensi untuk diaplikasikan dalam pangan yaitu *Lactocaseibacillus rhamnosus* RAL27. Penelitian Yusuf *et al.* (2024) menyatakan bahwa fermentasi kefir menghasilkan 3 isolat BAL yang memiliki kemampuan unggul dibanding BAL lain sehingga berpotensi sebagai starter tunggal atau ko-kultur eksopolisakarida (EPS), yang salah satunya yaitu *L. rhamnosus* RAL27. *L. rhamnosus* RAL27 juga dinyatakan tahan terhadap asam dan lingkungan fermentasi, serta efektif dalam

memfermentasi laktosa. Hasil fermentasi pada penelitian Yusuf *et al.* (2024) menunjukkan pembentukan koagulan yang kompak. Hal tersebut menunjukkan bahwa *L. rhamnosus* RAL27 cocok untuk produk susu fermentasi.

Cream cheese merupakan salah satu produk susu fermentasi yang memiliki beberapa keunggulan sebagai matriks probiotik, antara lain pH yang relatif lebih tinggi, kapasitas *buffer* yang baik, kadar air yang optimal, serta kandungan lemak yang dapat melindungi sel probiotik selama penyimpanan dan saat melewati saluran pencernaan (Putri *et al.*, 2021). *Cream cheese* dapat berperan sebagai *buffer* alami karena matriks susu dan kandungan lemaknya membantu menetralkan sebagian keasaman lambung, sehingga meningkatkan peluang probiotik bertahan hidup hingga mencapai usus (Andrade *et al.*, 2023). Kondisi tersebut menjadikan *cream cheese* sebagai produk yang potensial untuk mempertahankan viabilitas probiotik hingga saat dikonsumsi.

Karakteristik fisikokimia merupakan parameter penting dalam pengembangan *cream cheese* probiotik karena dapat menggambarkan kualitas, stabilitas, dan aktivitas bakteri asam laktat selama penyimpanan. Parameter seperti pH, total asam tertitrasi (TAT), kadar air, dan warna digunakan untuk mengevaluasi perubahan mutu produk akibat aktivitas fermentasi. Penurunan pH dan peningkatan total asam tertitrasi menunjukkan terbentuknya asam laktat hasil metabolisme bakteri asam laktat yang berpengaruh terhadap tekstur, cita rasa, dan kestabilan *cream cheese* (Ong *et al.*, 2020). Selain itu, kadar air dan warna menjadi indikator penting karena *cream cheese* merupakan keju segar dengan kadar air tinggi dan karakteristik warna putih kekuningan yang mudah mengalami perubahan selama

penyimpanan.

Pada *cream cheese*, parameter fisikokimia berkaitan erat dengan pembentukan struktur produk. Penurunan pH mendekati titik isoelektrik kasein menyebabkan protein susu mengalami koagulasi dan membentuk tekstur lembut khas *cream cheese*. Penelitian Wu *et al.* (2024) menunjukkan bahwa perubahan sifat fisikokimia dapat memengaruhi struktur mikro, kestabilan, dan karakteristik fungsional *cream cheese* selama penyimpanan. Oleh karena itu, pengamatan parameter fisikokimia diperlukan untuk mengetahui pengaruh penambahan *L. rhamnosus* RAL27 terhadap mutu dan kestabilan *cream cheese* probiotik.

Terdapat beberapa penelitian mengenai pengembangan produk *cream cheese* probiotik dengan penambahan bakteri asam laktat. Studi yang dilakukan oleh Tologana *et al.* (2023) menunjukkan bahwa penggunaan bakteri asam laktat dalam pembuatan *cream cheese* probiotik mampu menurunkan nilai pH dan meningkatkan total asam tertitrasi sebagai akibat dari aktivitas metabolisme bakteri selama fermentasi. Namun, penelitian tersebut hanya menggunakan satu tingkat konsentrasi inokulum, sehingga belum memberikan gambaran lengkap mengenai bagaimana variasi konsentrasi inokulum memengaruhi parameter fisikokimia lainnya seperti warna dan kadar air.

Sementara itu, penelitian Aziz *et al.* (2025) menunjukkan bahwa penambahan bakteri probiotik pada produk keju segar berpengaruh terhadap perubahan warna dan kadar air akibat interaksi antara aktivitas mikroba dan struktur matriks protein lemak keju. Meskipun demikian, penelitian tersebut tidak secara spesifik mengkaji strain *L. rhamnosus* serta tidak membandingkan beberapa tingkat

konsentrasi inokulum, sehingga belum dapat menjelaskan hubungan antara konsentrasi inokulum dan perubahan fisikokimia produk. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun pengaruh probiotik terhadap parameter fisikokimia keju telah mulai dieksplorasi, pemahaman mengenai peran spesifik strain tertentu dengan variasi konsentrasi yang berbeda masih terbatas, terutama dalam konteks pengembangan produk *cream cheese* probiotik yang memiliki karakteristik unik dibandingkan keju segar pada umumnya. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjut yang bertujuan untuk memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai pengaruh konsentrasi inokulum BAL *L. rhamnosus* RAL27 terhadap mutu fisikokimia *cream cheese* probiotik.

1.2 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi inokulum bakteri asam laktat *L. rhamnosus* RAL27 terhadap karakteristik fisikokimia *cream cheese* probiotik, meliputi nilai pH, total asam tertitrasi, warna dan komposisi kadar air. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dengan memberikan informasi mengenai konsentrasi inokulum *L. rhamnosus* RAL27 yang optimal dalam menghasilkan *cream cheese* probiotik dengan mutu fisikokimia yang baik, serta menjadi referensi dalam pengembangan produk *dairy* probiotik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Probiotik

Probiotik didefinisikan sebagai mikroorganisme hidup yang apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup dapat memberikan manfaat kesehatan bagi manusia. Keberadaan probiotik dapat membantu menjaga keseimbangan mikroba di dalam saluran pencernaan, meningkatkan respons sistem imun, serta mendukung proses penyerapan nutrisi di usus (Umasugi *et al.*, 2018). Salah satu kriteria utama dalam pemilihan probiotik adalah kemampuan bakteri bertahan terhadap kondisi saluran pencernaan (Priadi *et al.*, 2020). Lambung memiliki tingkat keasaman tinggi, sedangkan usus mengandung garam empedu dalam konsentrasi tinggi, yang dapat menurunkan viabilitas sel bakteri. Keasaman tinggi dan garam empedu berpotensi merusak membran sel serta komponen intraseluler sehingga menyebabkan kematian bakteri yang tidak toleran. Oleh karena itu, mikroba probiotik harus mampu bertahan pada pH rendah (sekitar pH 3–4) dan konsentrasi garam empedu minimal 0,3% agar dapat tetap hidup dan berfungsi di dalam saluran pencernaan.

Penambahan probiotik tidak hanya meningkatkan nilai fungsional produk, tetapi juga berpengaruh terhadap sifat fisikokimia yang dihasilkan (Lukman dan Kurniawati, 2025). Aktivitas metabolisme bakteri probiotik selama fermentasi dapat memicu pembentukan asam organik, menyebabkan perubahan pada struktur dan interaksi protein, serta memengaruhi kemampuan matriks keju dalam menahan air (Oktafiyanti *et al.*, 2024). Perubahan tersebut secara tidak langsung dapat

memengaruhi tekstur, kestabilan emulsi, dan mutu keseluruhan produk.

2.2 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroorganisme utama yang digunakan dalam produksi *cream cheese* probiotik. Sebagian besar BAL tergolong sebagai probiotik dengan ciri utama Gram positif, negatif oksidasi, dan memiliki kebutuhan nutrisi dan lingkungan fermentasi yang kompleks untuk menghasilkan metabolit asam laktat (Touret *et al.*, 2018). BAL berperan dalam fermentasi laktosa menjadi asam laktat yang menyebabkan penurunan pH (Kinteki *et al.*, 2018). Penurunan pH ini memicu koagulasi protein susu dan pembentukan struktur gel. Selain itu, BAL menghasilkan senyawa metabolit yang berkontribusi terhadap cita rasa dan aroma produk.

Beberapa genus BAL yang umum digunakan dalam industri pangan meliputi *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Leuconostoc* (Dwinianti *et al.*, 2025). Genus *Lactobacillus* merupakan kelompok BAL yang paling banyak digunakan pada produk susu fermentasi karena memiliki kemampuan fermentatif dan daya tahan yang baik terhadap kondisi asam. Beberapa spesies *Lactobacillus* yang sering digunakan antara lain *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, dan *Lactobacillus rhamnosus*. *Lactobacillus plantarum* diketahui memiliki aktivitas antimikroba, sedangkan *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus rhamnosus* banyak digunakan sebagai probiotik karena mampu bertahan pada saluran pencernaan dan penyimpanan produk fermentasi (Ningtyas *et al.*, 2019). Oleh karena itu, pemilihan jenis BAL

perlu disesuaikan dengan karakteristik produk dan tujuan fermentasi.

2.2.1 *Lactocaseibacillus rhamnosus* RAL27

BAL yang digunakan dalam sistem pangan umumnya telah dianggap aman dan memenuhi syarat *Generally Recognized as Safe* (GRAS) (Andrade *et al.*, 2023). Salah satu jenis BAL yang berpotensi untuk dikembangkan pada produk pangan, khususnya fermentasi yaitu *L. rhamnosus* RAL27. Menurut Yusuf *et al.* (2024), *L. rhamnosus* RAL27 berpotensi tinggi karena memiliki kemampuan menghasilkan eksopolisakarida, adaptif terhadap berbagai kondisi fermentasi, serta menunjukkan performa fermentasi susu yang baik. EPS yang dihasilkan berperan dalam peningkatan tekstur, stabilitas, dan daya ikat air produk susu fermentasi, sekaligus memberikan nilai tambah sebagai probiotik.

Penggunaan *L. rhamnosus* pada *cream cheese* juga didukung oleh penelitian Ningtyas *et al.* (2019) yang menunjukkan bahwa *cream cheese* mampu mempertahankan viabilitas *L. rhamnosus* selama penyimpanan dingin. Selain itu, penelitian Ismiarti *et al.* (2023) melaporkan bahwa penambahan *L. rhamnosus* pada *soft cheese* dapat memengaruhi kualitas kimia dan mikrobiologi produk selama penyimpanan. Hal tersebut menunjukkan bahwa *L. rhamnosus* berpotensi memengaruhi karakteristik fisikokimia *cream cheese*, terutama pH, total asam tertitrasi, dan stabilitas produk. Pemilihan *L. rhamnosus* RAL27 dalam penelitian ini didasarkan pada kemampuan probiotiknya, kemampuan bertahan selama penyimpanan, serta potensinya dalam memengaruhi karakteristik fisikokimia *cream cheese*. Dengan karakteristik tersebut, strain ini dinilai sesuai untuk

dikembangkan pada produk *cream cheese* probiotik yang diharapkan memiliki mutu baik dan stabil selama penyimpanan.

2.3 Susu

Susu merupakan bahan baku utama dalam pembuatan *cream cheese* yang menyediakan nutrisi lengkap bagi pertumbuhan bakteri asam laktat. Komponen protein di dalam susu adalah pengemulsi yang membantu lemak dan air dalam susu tidak dapat terpisah dengan mudah (Wardhani *et al.*, 2023). Selain protein, laktosa yang terkandung dalam susu berperan sebagai sumber karbon utama bagi mikroba selama fase fermentasi berlangsung (Abdul *et al.*, 2018). Kualitas susu segar yang digunakan sangat mempengaruhi rendemen atau jumlah *curd* yang dihasilkan pada akhir proses. Penggunaan susu dengan kualitas mikrobiologis yang baik sangat krusial untuk mencegah kegagalan fermentasi akibat kompetisi mikroba.

Kandungan padatan non-lemak dalam susu memiliki pengaruh langsung terhadap kekokohan struktur gel pada produk *cream cheese*. Selama proses pengasaman, protein kasein akan mencapai titik isoelektrik dan membentuk agregat yang memerangkap *globula* lemak serta air (Nugroho *et al.*, 2018). Variasi komposisi susu (lemak, protein, total solid) mempengaruhi pembentukan *curd* dan karakteristik tekstur keju melalui perubahan proses koagulasi dan retensi *whey* (Zheng *et al.*, 2021). Oleh karena itu, standarisasi komposisi susu sering dilakukan untuk menjamin konsistensi produk pada setiap siklus produksi. Susu yang berkualitas tinggi juga memberikan kontribusi signifikan terhadap aroma dan rasa gurih yang khas pada keju.

2.4 *Cream Cheese*

Cream cheese merupakan keju segar (*fresh cheese*) yang dibuat melalui proses koagulasi protein susu dengan bantuan asam atau enzim *rennet*, tanpa melalui tahap pematangan (*aging*) (Guna *et al.*, 2020). *Rennet* adalah enzim proteolitik yang secara tradisional mengandung kimosin untuk memicu proses penggumpalan protein susu (Maharani *et al.*, 2023). Penggunaan *rennet* dalam pembuatan *cream cheese* memungkinkan pembentukan *curd* yang lebih cepat dan lebih kuat dibandingkan pengasaman tunggal. Proses pematangan pada keju umumnya melibatkan aktivitas enzim dan mikroorganisme dalam jangka waktu tertentu yang menyebabkan degradasi protein, lemak, dan laktosa sehingga menghasilkan tekstur yang lebih padat serta flavor yang kompleks. Sebaliknya, *cream cheese* tidak mengalami proses tersebut sehingga struktur proteinnya cenderung lebih sederhana dan memiliki kemampuan mengikat air yang lebih tinggi. Kondisi ini menyebabkan *cream cheese* memiliki tekstur yang lembut, mudah dioleskan, dan kadar air relatif tinggi.

Matriks *cream cheese* memiliki potensi yang baik sebagai media pembawa (*carrier*) probiotik karena kandungan lemak dan protein yang relatif tinggi mampu memberikan perlindungan terhadap sel bakteri dari berbagai kondisi stres lingkungan, seperti paparan pH asam dan proses oksidasi selama penyimpanan bersuhu rendah (Safari *et al.*, 2024). Kondisi tersebut mendukung viabilitas probiotik hingga saat produk dikonsumsi. *Cream cheese* probiotik merupakan inovasi dari *cream cheese* konvensional yang diformulasikan dengan penambahan mikroorganisme probiotik hidup yang mampu bertahan selama proses

penyimpanan serta memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan konsumen (Aziz *et al.*, 2025).

Karakteristik *cream cheese* yang tidak mengalami proses pematangan menyebabkan parameter fisiko kimia menjadi indikator utama dalam evaluasi mutu produk. Parameter seperti pH dan total asam tertitrasi (TAT) digunakan untuk menunjukkan tingkat fermentasi dan pembentukan asam selama penyimpanan. Selain itu, kadar air menjadi parameter penting karena *cream cheese* memiliki kandungan air yang tinggi sehingga berpengaruh terhadap tekstur, kestabilan, dan umur simpan produk (Guna *et al.*, 2020). Warna *cream cheese* juga menjadi atribut mutu penting karena perubahan warna dapat mengindikasikan perubahan struktur maupun aktivitas mikroba selama penyimpanan. Oleh karena itu, parameter pH, TAT, kadar air, dan warna digunakan sebagai indikator utama dalam penelitian *cream cheese* probiotik untuk mengevaluasi kestabilan produk selama penyimpanan

2.5 Parameter Uji *Cream Cheese*

2.5.1. Nilai pH

Derajat keasaman atau yang disebut dengan pH adalah banyaknya konsentrasi ion hidrogen dalam larutan yang akan menunjukkan sifat asam atau basa dari larutan. Uji nilai pH adalah prosedur yang digunakan untuk mengukur jumlah asam dan basa yang ada pada suatu zat atau larutan (Yahya *et al.*, 2024). Nilai pH yang semakin rendah menunjukkan semakin tinggi tingkat keasaman dari suatu produk dan sebaliknya. Nilai pH dapat diukur dengan skala 0–14, dengan pH

0–6 menunjukkan asam, pH 7 menunjukkan netral, dan pH 8–14 menunjukkan basa atau alkali. Nilai pH yang turun dapat dipengaruhi oleh asam organik dan anorganik, seperti asam laktat, asam sitrat, asam asetat, dan asam fosfat (Zambelli *et al.*, 2018).

Terdapat beberapa metode yang dapat dilakukan untuk mengukur pH, yaitu dengan pH meter, indikator universal, maupun kertas lakmus. Pengukuran dengan pH meter dianggap lebih akurat daripada metode lainnya karena telah dilakukan standarisasi terlebih dahulu (Devirizanty *et al.*, 2021). Tingkat keasaman atau pH secara langsung mempengaruhi struktur fisik dan kemampuan retensi air dari protein kasein. Pada titik isoelektrik, protein akan kehilangan muatan listriknya sehingga terjadi penggumpalan yang membentuk *curd* keju (Nugroho *et al.*, 2018). Jika nilai pH terlalu rendah, keju akan cenderung memiliki tekstur yang kasar dan rasa yang terlalu tajam. Sebaliknya, pH yang terlalu tinggi menunjukkan proses fermentasi yang tidak sempurna atau kurangnya aktivitas inokulum.

2.5.2. Total Asam Titrasi

Total asam merupakan salah satu parameter kunci dalam evaluasi kualitas produk makanan dan minuman, khususnya pada produk fermentasi. Total asam titrasi (TAT) menggambarkan jumlah keseluruhan asam organik yang terbentuk selama fermentasi (Aziz *et al.*, 2025). Parameter ini mencerminkan intensitas aktivitas metabolik BAL dalam *cream cheese*. Nilai TAT umumnya berbanding terbalik dengan pH, namun memberikan informasi yang lebih mendalam terkait akumulasi asam. Total asam ditentukan dengan titrasi asam basa untuk menetralkan

asam yang terdapat dalam sejumlah (volume atau berat) sampel dengan menggunakan basa standar (Sundari, 2016). Titik akhir titrasi akan menentukan konsentrasi ion hidrogen yang ada dalam larutan asam dan basa pada konsentrasi yang terbentuk dalam larutan. Perubahan pada warna indikator menandakan sudah mencapai titik akhir titrasi.

2.5.3. Warna

Warna merupakan atribut visual penting yang memengaruhi penerimaan konsumen terhadap *cream cheese*. Warna adalah pantulan cahaya dari suatu bahan yang ditimbul dan terima oleh indera penglihatan (Fatma dan Munawaroh, 2024). Warna pada bahan makanan dapat diukur dan dianalisis menggunakan *color reader*. Hasil pengukuran parameter warna berupa nilai L^* , a^* , b^* . Nilai L^* digunakan untuk menunjukkan tingkat kecerahan sampel, nilai a^* merepresentasikan perubahan warna ke arah merah atau hijau, sedangkan nilai b^* menunjukkan perubahan warna ke arah kuning atau biru. Setiap parameter warna dinyatakan dalam bentuk angka dengan rentang nilai tertentu yang memengaruhi karakteristik warna produk yang diamati. Nilai L^* berada pada skala 0–100, di mana nilai 0 menunjukkan warna hitam dan nilai 100 menunjukkan warna putih. Nilai a^* berkisar antara 0 hingga +80 untuk warna merah dan 0 hingga –80 untuk warna hijau, sedangkan nilai b^* berkisar antara 0 hingga +70 untuk warna kuning dan 0 hingga –70 untuk warna biru (Sinaga, 2019).

Cream cheese pada umumnya memiliki warna putih hingga putih kekuningan. Semakin tinggi nilai L^* dari *cream cheese* maka semakin putih warna

keju tersebut (Yahya *et al.*, 2024). Warna *cream cheese* ini dapat dipengaruhi oleh kandungan lemak susu yang digunakan. Lemak susu mengandung pigmen alami seperti karoten yang larut dalam lemak, sehingga keberadaan dan distribusi lemak akan memengaruhi intensitas warna kuning pada keju (Milovanovic *et al.*, 2020). Semakin tinggi kandungan lemak dan semakin besar proporsi pigmen karotenoid yang tidak terkonversi, warna keju cenderung lebih kekuningan yang ditandai dengan nilai b^* lebih tinggi.

2.5.4. Kadar Air

Kadar air didefinisikan sebagai persentase jumlah air yang terkandung di dalam suatu bahan. Parameter ini merupakan salah satu karakteristik penting pada bahan pangan karena berpengaruh terhadap mutu tekstur, cita rasa, serta penampakan produk pangan (Haq *et al.*, 2018). Selain itu, kadar air juga berperan dalam menentukan tingkat kesegaran dan umur simpan bahan pangan. Oleh karena itu, pengujian kadar air perlu dilakukan baik pada produk pangan basah maupun kering. Bahan pangan dengan kadar air yang tinggi cenderung memiliki daya simpan yang lebih rendah karena kondisi tersebut mendukung pertumbuhan mikroorganisme yang dapat mempercepat terjadinya kerusakan bahan pangan (Kaban *et al.*, 2019).

Kadar air merupakan salah satu parameter utama yang menentukan mutu *cream cheese* karena berpengaruh langsung terhadap tekstur, kelembutan, stabilitas, serta daya oles produk. Semakin tinggi kadar air yang terkandung dalam *cream cheese* maka daya oles produk tersebut juga semakin mudah dioleskan (Guna *et al.*,

2020). Akan tetapi, jika kadar air yang terkandung terlalu tinggi dapat menyebabkan tekstur menjadi terlalu lembek, mudah meleleh, dan kurang stabil selama penyimpanan. Sedangkan kadar air yang terlalu rendah dapat menghasilkan *cream cheese* yang terlalu padat, kurang lembut, dan sulit dioleskan. Selain itu, *cream cheese* yang dikatakan telah terbentuk dengan baik atau matang juga dapat ditandai oleh kadar air dengan kisaran 53–80% (Apriani *et al.*, 2021).

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Mei 2025 – Januari 2026. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, dan Laboratorium Gedung D, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1 Materi

Penelitian ini dilakukan dengan penyiapan bahan dan alat yang akan digunakan untuk inokulasi kultur *L. rhamnosus* RAL27 dan pembuatan *cream cheese* probiotik terlebih dahulu. Tahap pertama, yaitu inokulasi kultur *L. rhamnosus* RAL27 menggunakan susu skim. Tahap selanjutnya, yaitu dengan pembuatan *cream cheese* probiotik dengan pengujian parameter yang terdiri dari nilai pH, total asam tertitrasi, kadar air, dan warna.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu skim (Indoprima), susu sapi segar yang diperoleh dari *Memoory Dairy* (Semarang), *cooking cream* (Anchor), garam dapur (refina), kultur starter *L. rhamnosus* RAL27 yang telah diisolasi dari kefir dan diperoleh dari Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), enzim *rennet*, akuades, alkohol 70%, MRS *Broth*, MRS Agar, gliserol, NaCl fisiologis 0,85%, NaOH 0,1N, *buffer* pH 4, *buffer* pH 7, *Phenolphthalein* (PP) 1%, dan spirtus. Sedangkan alat yang dibutuhkan adalah panci, thermometer, spatula, sendok, jar kaca (1.000 mL), baskom stainless steel, *cheesecloth*, kompor,

timbangan analitik, alat gelas (*glass equipment*), bunsen, *aluminium foil*, inkubator (Mettler), *centrifuge tube*, *rak centrifuge tube*, *laminar air flow* (LAF), autoklaf (HVE-50 Hirayama), mikropipet dan *microtip* (ukuran 1 mL dan 5 mL), *magnetic stirrer*, *hot plate*, *plastic wrap*, *refrigerated centrifuge* (Ohaus), pH meter (Ohaus), *color reader* (Konica Minolta Sensing, Inc, Jepang), buret basa, dan oven pengering.

3.2 Metode

Metode yang digunakan pada penelitian ini meliputi rancangan penelitian, prosedur penelitian, dan pengujian parameter. dan diakhir dilakukan analisis data berdasarkan hasil percobaan.

3.2.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 kali ulangan sehingga diperoleh 20 unit percobaan. Perlakuan yang diberikan pada pembuatan *cream cheese* probiotik yaitu dengan perbedaan konsentrasi inokulum *L. rhamnosus* RAL27. Perbedaan konsentrasi yang diberikan adalah P0 (0%), P1 (1%), P2 (3%), dan P3 (5%). Masing-masing perlakuan akan dianalisis berdasarkan komposisi kadar air, nilai pH, total asam tertitrasi, serta warna dengan 5 kali ulangan. Adapun rancangan penelitian yang akan dilakukan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Desain Rancangan Penelitian *Cream Cheese* Probiotik dengan Penambahan Inokulum *L. rhamnosus* RAL27

Perlakuan (P)	Ulangan (U)				
	1	2	3	4	5
0	P ₀ U ₁	P ₀ U ₂	P ₀ U ₃	P ₀ U ₄	P ₀ U ₅
1	P ₁ U ₁	P ₁ U ₂	P ₁ U ₃	P ₁ U ₄	P ₁ U ₅
2	P ₂ U ₁	P ₂ U ₂	P ₂ U ₃	P ₂ U ₄	P ₂ U ₅
3	P ₃ U ₁	P ₃ U ₂	P ₃ U ₃	P ₃ U ₄	P ₃ U ₅

Keterangan :

P₀ : 0% inokulum *L. rhamnosus* RAL 27

P₁ : 1% inokulum *L. rhamnosus* RAL 27

P₂ : 3% inokulum *L. rhamnosus* RAL 27

P₃ : 5% inokulum *L. rhamnosus* RAL 27

Model linear yang diterapkan pada rancangan percobaan ini adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \pi_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : Angka pengamatan pada ulangan *cream cheese* probiotik dengan inokulum *Lacticaseibacillus rhamnosus* RAL 27 perlakuan ke-i (i = P₀, P₁, P₂, P₃) dan ulangan ke-j (j = 1, 2, 3, 4, 5)

μ : Nilai tengah hasil pengamatan

π_i : Pengaruh perlakuan perbedaan konsentrasi inokulum *L. rhamnosus* RAL 27 (P₀, P₁, P₂, P₃)

ε_{ij} : Pengaruh galat dari perlakuan ke-i (i = P₀, P₁, P₂, P₃) dan ulangan ke-j (j = 1, 2, 3, 4, 5)

Hipotesis empiris yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

H₀ : Tidak terdapat pengaruh penambahan inokulum *L. rhamnosus* RAL27 terhadap nilai pH, total asam, kadar air dan warna pada *cream cheese* probiotik

H1 : terdapat sekurang-kurangnya satu pengaruh penambahan inokulum *L. rhamnosus* RAL27 terhadap nilai pH, total asam, kadar air dan warna pada *cream cheese* probiotik

Secara statistik, hipotesis empiris di atas dapat dijabarkan sebagai berikut :

H0 : $\mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$

H1 : $\mu_0 \neq \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$, sekurang-kurangnya terdapat satu pengaruh

Kriteria penerimaan hipotesis, yaitu sebagai berikut :

Jika $p > 0,05$ (dengan $\alpha = 0,05$), maka H0 diterima dan H1 ditolak

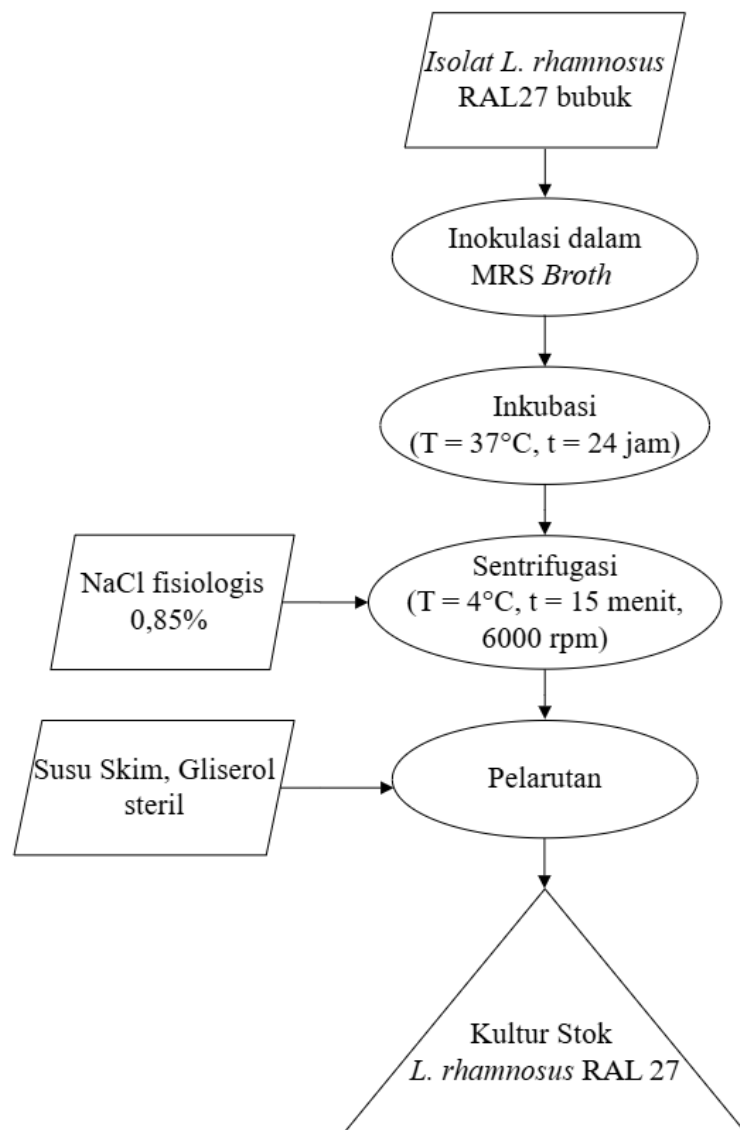
Jika $p \leq 0,05$ (dengan $\alpha = 0,05$), maka H0 ditolak dan H1 diterima

3.2.2 Prosedur Penelitian

a. Preparasi Inokulum *L. rhamnosus* RAL27

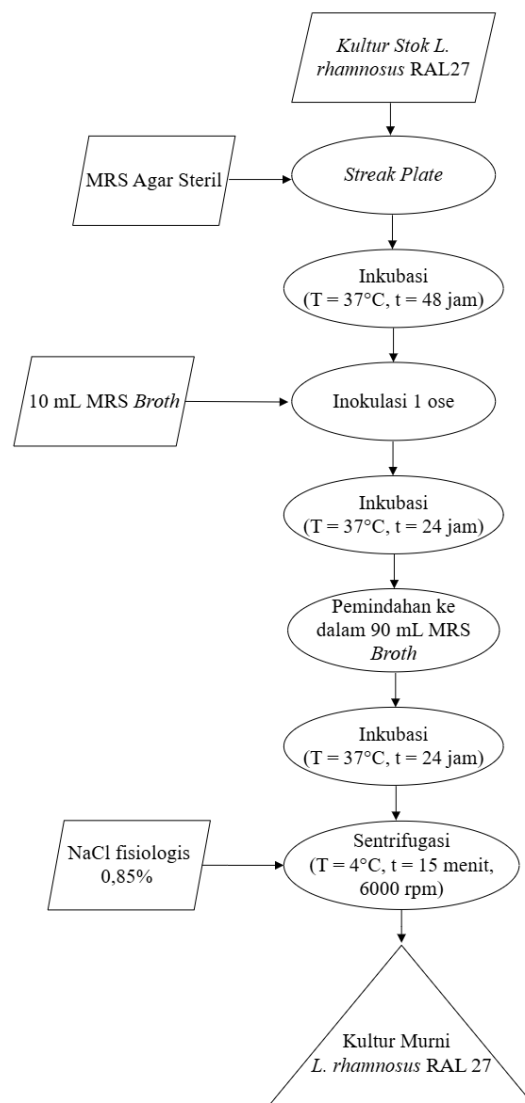
Preparasi inokulum *L. rhamnosus* RAL27 dilakukan dengan mengacu pada penelitian Kamil *et al.* (2020), dengan beberapa penyesuaian pada langkah-langkah pelaksanaannya. Sebanyak 2 g susu bubuk skim dilarutkan dalam 18 mL akuades, kemudian ditambahkan gliserol 20% dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi, 1 g isolat BAL *L. rhamnosus* RAL27 bubuk diinokulasikan ke dalam 9 mL *MRS Broth* (MRSB), dihomogenkan menggunakan *Vortex*, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur yang dihasilkan kemudian dicuci dengan larutan NaCl fisiologis steril 0,85% dengan sentrifugasi dua kali pada 6000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C untuk mendapatkan endapan. Endapan tersebut kemudian ditambahkan dengan campuran 20% gliserol dan 10% susu skim dengan rasio 1:1 (masing-masing 2,5 mL),

dihomogenkan dengan *Vortex*, ditutup rapat menggunakan parafilm, dan disimpan di dalam *freezer* sebagai kultur stok yang siap digunakan sebagai starter pada tahap pembuatan produk. Proses pembuatan kultur stok *L. rhamnosus* RAL27 dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Diagram Alir Proses Pembuatan Kultur Stok *L. rhamnosus* RAL27

Kultur stok diremajakan menggunakan metode *streak plate* yang mengacu pada Yuliana dan Azhar (2022) dengan beberapa modifikasi. Proses peremajaan dan preparasi kultur *L. rhamnosus* RAL27 dapat dilihat pada Ilustrasi 2.



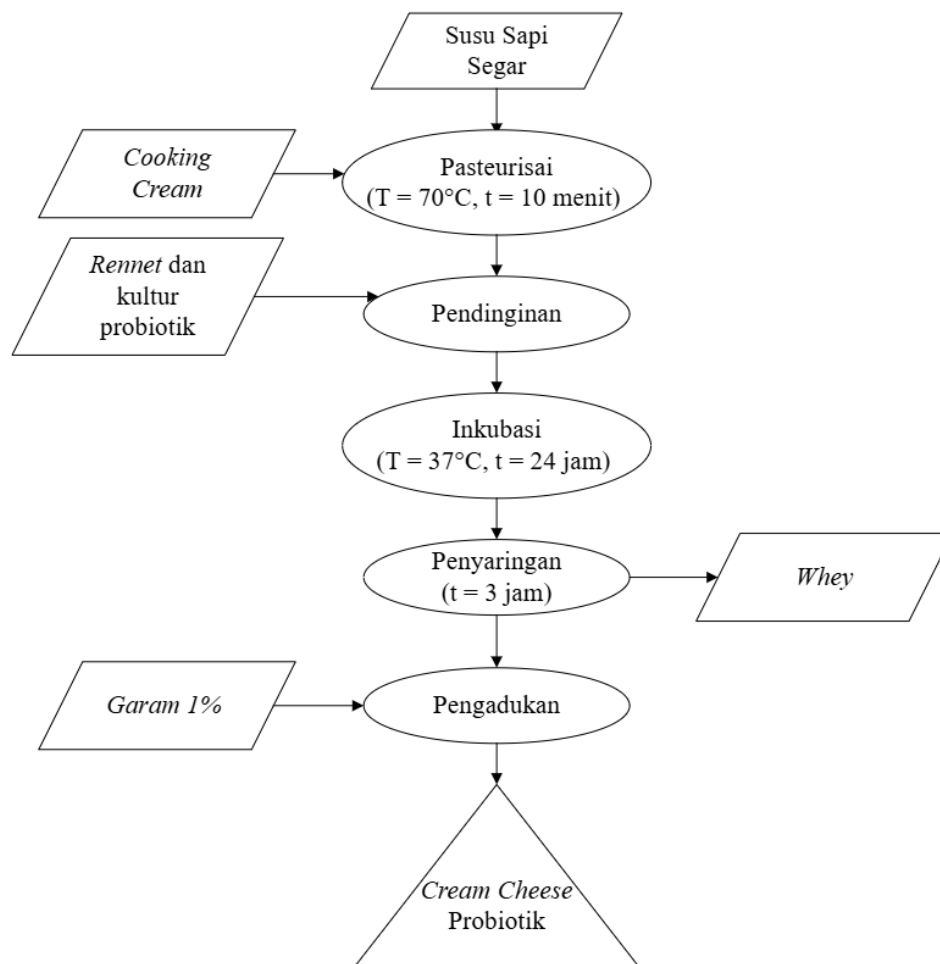
Ilustrasi 2. Diagram Alir Proses Peremajaan dan Preparasi Kultur *L. rhamnosus* Ral27

Inokulasi dilakukan pada media MRS Agar (MRSA) menggunakan metode empat kuadran, kemudian diinkubasi secara anaerob pada suhu 37°C selama 48 jam. Satu koloni besar diambil menggunakan ose dan kemudian diinokulasi ke

dalam 10 mL *MRS Broth* (MRSB) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kultur kemudian dipindahkan ke dalam 90 mL MRSB baru dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu yang sama. Setelah inkubasi, kultur dicuci tiga kali menggunakan larutan NaCl fisiologis 0,85% dengan sentrifugasi pada 6000 rpm selama 15 menit dan suhu 4°C. Proses peremajaan dan preparasi kultur *L. rhamnosus* RAL27 dapat dilihat pada Ilustrasi 2.

b. Pembuatan *Cream cheese* Probiotik

Cream cheese diproduksi dengan mengacu pada Tologana *et al.* (2023) dengan beberapa modifikasi. Produksi *cream cheese* dilakukan dengan mempasteurisasi campuran 500 mL susu segar dan 250 mL cooking cream. Proses pasteurisasi dilakukan pada suhu 70°C selama 10 menit, kemudian campuran didinginkan hingga 37°C. Selanjutnya, *rennet* ditambahkan dengan konsentrasi 0,01% (v/v). Kultur probiotik ditambahkan dengan berbagai konsentrasi, yaitu 0%, 1%, 3%, dan 5%, serta dilanjutkan dengan proses inkubasi. Tahap inkubasi atau fermentasi berlangsung pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian *cream cheese* disaring menggunakan *cheese cloth* selama 3 jam pada suhu ruang untuk memisahkan *whey*. Selama penyaringan, 100 mL air digunakan dalam wadah yang ditimpakan di atas *cream cheese* yang telah ditutup dengan plastik wrap. Setelah proses penyaringan selesai, garam ditambahkan sebanyak 1% dan diaduk secara manual, kemudian produk dikemas dalam wadah kecil yang tertutup rapat. Proses pembuatan *cream cheese* probiotik dapat dilihat pada Ilustrasi 3.



Ilustrasi 3. Diagram Alir Proses Pembuatan *Cream Cheese* Probiotik

Pembuatan *cream cheese* probiotik disesuaikan dengan formulasi yang telah ditentukan. Formulasi produk *cream cheese* probiotik dengan penambahan inokulum *L. rhamnosus* RAL27 dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Bahan Pembuatan *Cream Cheese* Probiotik

Bahan	P0	P1	P2	P3
Inokulum <i>L. rhamnosus</i> RAL27 (mL)	0	7,5	22,5	37,5
Susu Sapi Segar (mL)	500	500	500	500
<i>Cooking Cream</i> (mL)	250	250	250	250
<i>Rennet</i> 0,01% (mL)	0,075	0,075	0,075	0,075
Garam (% w/v)	1	1	1	1

Keterangan : Persentase garam berdasarkan volume *cream cheese*

3.2.3 Pengujian Parameter

Pengujian parameter yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji pH, Total Asam Tertitrasi (TAT), warna, dan kadar air. Prosedur pengujian parameter tersebut diuraikan sebagai berikut :

a. Nilai pH

Pengujian nilai pH dilakukan menggunakan alat pH meter (Ohaus). Sebelum pengukuran, pH meter dikalibrasi terlebih dahulu untuk memastikan keakuratan hasil pengujian sesuai dengan metode yang digunakan oleh Yahya *et al.* (2024). Kalibrasi dilakukan menggunakan larutan *buffer* pH 4 dan pH 7 hingga diperoleh nilai yang stabil. Setiap pergantian larutan *buffer* maupun sampel, *probe* atau elektroda dicuci menggunakan akuades dan dikeringkan dengan tisu untuk menghindari kontaminasi. Pengujian sampel dilakukan dengan melarutkan 5 g sampel ke dalam 45 mL akuades. Elektroda kemudian dicelupkan ke dalam sampel, lalu tekan tombol “Read/Enter” dan tunggu beberapa saat hingga angka yang muncul pada display pH meter stabil yang ditandai dengan adanya bunyi. Nilai pH secara langsung terlihat pada layar *display* pH meter.

b. Total Asam Tertitrasi

Uji Total asam dengan metode titrasi adalah analisis untuk mengukur jumlah asam yang terdapat dalam suatu larutan. Pengujian total asam mengacu pada penelitian Aziz *et al.* (2025) dengan total asam yang diperoleh dihitung sebagai persentase asam laktat. Pengujian sampel dilakukan dengan proses pengenceran

terlebih dahulu. Pengenceran dilakukan dengan melarutkan 5 g sampel ke dalam 45 mL akuades. Kemudian diambil sebanyak 10 mL larutan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Larutan *Phenolphthalein* (PP) 1% ditambahkan sebanyak 1 tetes ke dalam larutan sampel kemudian dititrasi dengan NAOH 0,1 N sampai titik akhir titrasi yaitu terbentuknya warna merah muda tetap dan konstan selama beberapa detik. Persentase kadar total asam dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Total Asam Tertitrasi (\%)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times P \times \text{BM Asam Laktat}}{V_{\text{sampel}} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan :

V_{NaOH} : Volume NaOH (mL)
 N_{NaOH} : Normalitas NaOH (0,1N)
 BM : Bobot molekul (90 g/mol)
 V_{Sampel} : Volume sampel (mL)
 P : Faktor pengenceran

c. Warna

Pengujian warna mengacu pada penelitian Fadhlurrohman *et al.* (2023). Pengukuran warna dilakukan menggunakan *Color reader* CR-10 (Konica Minolta Sensing, Inc, Jepang). Pengujian dimulai dengan menekan tombol "on" pada alat, kemudian dilakukan kalibrasi menggunakan standar warna putih. Untuk pengukuran, sampel *cream cheese* diratakan dalam sebuah wadah yang kemudian dilapisi atau ditutup dengan plastik wrap. Pengukuran dilakukan dengan menempelkan sensor *color reader* pada permukaan sampel dan menekan tombol pengukuran. Setiap sampel diukur warnanya pada tiga titik permukaan yang berbeda. Hasil pengukuran akan menampilkan nilai L^* (nilai gelap hingga cerah), a^* (nilai merah hingga hijau), dan b^* (nilai kuning hingga biru) pada layar alat.

Selain itu, untuk memberikan gambaran karakter warna yang lebih menyeluruh, dilakukan analisis ΔE dan *Whiteness Index* (WI). ΔE merupakan parameter yang digunakan untuk mengukur jarak antara dua warna dalam ruang warna CIE Lab*, di mana semakin besar nilai ΔE , semakin besar pula perubahan warna yang terjadi. Pada penelitian ini, ΔE digunakan untuk mengukur perubahan warna yang dibandingkan dengan perlakuan kontrol dengan menggunakan rumus berikut :

$$\Delta E = \sqrt{(L^*-L_0^*)^2 + (a^*-a_0^*)^2 + (b^*-b_0^*)^2}$$

Sedangkan *Whiteness Index* (WI) yang menunjukkan tingkat keputihan produk yang dapat dihitung berdasarkan rumus berikut :

$$Whiteness\ Index = 100 - \sqrt{(100-L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}}$$

d. Kadar Air

Pengujiann kadar air yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada prosedur Apriani *et al.* (2021) dengan menggunakan metode pengeringan sampel dalam oven hingga mencapai berat konstan. Cawan porselin terlebih dahulu diberi kode sesuai sampel, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu, cawan dikeluarkan dari oven dan didinginkan di dalam desikator selama 15 menit, kemudian ditimbang untuk memperoleh berat awal cawan. Sebanyak 2 g sampel *cream cheese* ditimbang dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya. Selanjutnya, cawan yang berisi sampel dikeringkan kembali menggunakan oven pada suhu 105°C selama 4 jam. Setelah proses pengeringan, sampel didinginkan di dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang kembali.

Pengeringan kemudian dilanjutkan kembali pada suhu yang sama selama 1 jam hingga diperoleh berat konstan. Berat dinyatakan konstan apabila selisih hasil penimbangan berturut-turut tidak melebihi 0,02 g. Nilai kadar air dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{berat sampel awal} - (\text{berat konstan} - \text{berat cawan})}{\text{berat sampel awal}} \times 100\%$$

3.2.4 Analisis Data

Data hasil pengujian pH, total asam tertitrasi, kadar air dan warna dianalisis menggunakan *software* SPSS 26.0 dengan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan signifikansi $P < 0,05$ untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Apabila terdapat adanya pengaruh yang signifikan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel atau grafik untuk mempermudah interpretasi.