

**KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA DAN MIKROBIOLOGIS *CREAM*
CHEESE PROBIOTIK *Lactocaseibacillus rhamnosus*
RAL27 SELAMA PENYIMPANAN DINGIN**

SKRIPSI

Oleh:

SASKIA AYU KUSPITUTRI



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

KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA DAN MIKROBIOLOGIS *CREAM CHEESE*
PROBIOTIK *Lactocaseibacillus rhamnosus* RAL27 SELAMA PENYIMPANAN
DINGIN

Oleh

SASKIA AYU KUSPITUTRI
NIM : 23020122140150

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 : Saskia Ayu Kuspitutri
N I M : 23020122140150
Program Studi : Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut:

1. Skripsi yang berjudul: **Karakteristik Fisikokimia dan Mikrobiologis Cream Cheese Probiotik *Lactocaseibacillus rhamnosus* RAL27 selama Penyimpanan Dingin** 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,



Saskia Ayu Kuspitutri

Mengetahui:

Pembimbing Utama

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

Pembimbing Anggota

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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA DAN
MIKROBIOLOGIS CREAM CHEESE
PROBIOTIK *Lactocaseibacillus rhamnosus*
RAL27 SELAMA PENYIMPANAN DINGIN

Nama Mahasiswa : SASKIA AYU KUSPITUTRI

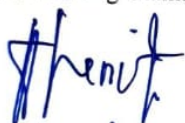
Nomor Induk Mahasiswa : 23020122140150

Program Studi/Departemen : S-1 TEKNOLOGI PANGAN / PERTANIAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal . 30 . APR . 2026

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Anggota



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

Ketua Program Studi



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



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

Dekan



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

Ketua Departemen



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

RINGKASAN

SASKIA AYU KUSPITUTRI. 23020122140150. 2026. Karakteristik Fisikokimia dan Mikrobiologis *Cream Cheese* Probiotik *Lacticaseibacillus rhamnosus* RAL27 selama Penyimpanan Dingin (Pembimbing: **HENI RIZQIATI dan NURUL HASNIAH**).

Cream cheese merupakan produk olahan susu yang memiliki banyak manfaat serta permintaannya terus meningkat. Namun, *cream cheese* probiotik memiliki tantangan utama dalam mempertahankan viabilitas probiotik serta stabilitas mutu selama masa simpan. Di sisi lain, sumber probiotik isolat lokal memiliki potensi sehingga penelitian ini menonjolkan penggunaan isolat lokal *Lacticaseibacillus rhamnosus* RAL27 yang berasal dari butiran kefir sebagai kultur tunggal. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik fisikokimia dan mikrobiologis selama penyimpanan dingin dengan penambahan isolat tunggal lokal *L. rhamnosus* RAL27.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2025 hingga Januari 2026 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan lama penyimpanan (0, 7, 14, 21, 28, dan 35 hari) dan 4 ulangan pada setiap perlakuan, dengan konsentrasi Bakteri Asam Laktat (BAL) sebesar 3% pada *cream cheese*. Parameter pengujian meliputi aktivitas air (a_w), nilai pH, dan Total Asam Titrasi (TAT), dan total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan kultur tunggal isolat lokal dari butiran kefir berupa *L. rhamnosus* RAL27 menghasilkan nilai a_w hasil stabil pada rentang 0,811–0,896 dan cenderung stabil dengan fluktuasi kecil. Nilai pH mengalami penurunan signifikan setelah hari ke-7 hingga mencapai titik 3,76, seiring dengan peningkatan TAT secara konsisten hingga 0,89% pada akhir penyimpanan akibat aktivitas fermentasi lanjutan (*post-acidification*) selama penyimpanan dingin. Penggunaan probiotik yang digunakan mampu mempertahankan viabilitas BAL pada *cream cheese* sampai akhir penyimpanan. Total BAL relatif stabil hingga hari ke-21 dan mengalami penurunan pada hari ke-35 menjadi 8,68 log CFU/mL, namun tetap berada jauh di atas ambang batas minimal syarat pangan probiotik ($> 10^6$ CFU/mL).

Berdasarkan hasil penelitian ini adalah *cream cheese* probiotik dengan penambahan isolat *L. rhamnosus* RAL27 mampu mempertahankan kualitas fisikokimia dan viabilitas mikrobiologis *cream cheese* di atas standar terapeutik hingga 35 hari penyimpanan dingin tanpa memerlukan bahan pengisi tambahan.

KATA PENGANTAR

Cream cheese merupakan produk olahan susu yang memiliki tekstur lembut sehingga dapat dioles pada produk *bakery*. Permintaan konsumen untuk gaya hidup sehat terhadap produk berbasis probiotik terus mengalami lonjakan. Akan tetapi, tantangan utama aplikasi probiotik Bakteri Asam Laktat (BAL) pada *cream cheese* adalah menjamin kelangsungan hidup bakteri fungsional serta mencegah penurunan mutu fisikokimia dan mikrobiologis selama masa simpan.

Penulis mengucapkan syukur kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi dengan judul “Karakteristik Fisikokimia dan Mikrobiologis *Cream Cheese* Probiotik *Lactocaseibacillus rhamnosus* RAL27 selama Penyimpanan Dingin” dengan baik. Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, arahan dan, dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan dan masukan untuk penyusunan skripsi kepada penulis;
2. Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan kepada penulis;
3. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro;
4. Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku Ketua Departemen Pertanian Fakultas Peternakan dan Pertanian serta selaku Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan;

5. Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Koordinator Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Peternakan dan Pertanian yang telah banyak memberikan bimbingan kepada penulis;
6. drh. Siti Susanti, Ph.D. selaku Ketua Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian dan selaku Dosen Wali yang telah banyak memberikan saran kepada penulis;
7. Seluruh Dosen dan Staf Administrasi pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan dan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah membantu penulis dalam proses belajar maupun pengurusan administrasi;
8. Keluarga terdekat penulis, Bapak Surono dan Ibu Dessy Adhini selaku orang tua penulis, Bapak Faisyal dan Ibu Mully Kurniawati selaku om dan tante penulis, Bapak Bambang Susetyo selaku kakek penulis, serta Nayla Azwa Wulandari selaku adik penulis yang selalu mendoakan, memotivasi untuk selalu bersemangat, dan terus memberikan dukungan moral maupun material
9. Tim *Cream Cheese*, Faizal Dwi Prabowo, Lembita Astya Maheswari, dan Faisya Azzahra Putri selaku tim penelitian penulis yang telah bekerja keras dan bekerja sama dengan baik selama pelaksanaan penelitian;
10. Luluk, Zulfa, Sheilla, Lembita, Shafa, Novia, Sarah, Faisya, Calista, dan Aurelia selaku sahabat penulis yang selalu membersamai dan mendukung penulis dari awal perkuliahan hingga akhir;
11. Neffi dan Paramita selaku sahabat yang senantiasa mendoakan dan mendukung penulis dari tempatnya masing-masing;

12. Tim Fejoy, Felicia, Yeni, Diani, dan Aldi selaku tim PMW yang selalu memberikan dukungan kepada penulis;
13. Fatimaisya, Najwa, dan Paramita selaku sahabat penulis sejak SMA yang selalu mendukung dan mendoakan penulis;
14. Teman-teman mahasiswa Program Studi S-1 Teknologi Pangan Angkatan 2022 Universitas Diponegoro yang turut membantu penulis untuk memberikan dukungan dan semangat dari awal perkuliahan, penelitian, hingga penyusunan skripsi;
15. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dalam pengambilan data maupun penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih memerlukan penyempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan serta sebagai pembelajaran di masa mendatang agar dapat menjadi lebih baik.

Semarang, April 2026

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. <i>Cream Cheese</i>	5
2.2. Probiotik	7
2.3. Bakteri Asam Laktat	8
2.4. Perubahan Mutu selama Penyimpanan	11
2.5. Pengujian Parameter Fisikokimia dan Mikrobiologis	12
BAB III. MATERI DAN METODE.....	17
3.1. Materi	17
3.2. Metode	18
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1. Aktivitas Air.....	29
4.2. Nilai pH.....	33

4.3.	Total Asam Titrasi	36
4.4.	Total Bakteri Asam Laktat	40
BAB V.	SIMPULAN DAN SARAN.....	44
5.1.	Simpulan	44
5.2.	Saran	44
	DAFTAR PUSTAKA.....	45
	LAMPIRAN	50
	RIWAYAT HIDUP	72

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Desain Percobaan Kombinasi Perlakuan dan Ulangan	19
2.	Hasil Analisis Kadar Lemak Total dan Kadar Air.....	31

DAFTAR ILUSTRASI

		Halaman
1.	<i>Cream Cheese</i>	5
2.	Diagram Alir Reaktivasi dan Pembuatan Kultur Stok <i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> RAL27.....	21
3.	Diagram Alir Peremajaan dan Subkultur Bakteri Asam Laktat	23
4.	Diagram Alir Produksi <i>Cream Cheese</i>	25
5.	Perubahan Aktivitas Air <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan.....	29
6.	Perubahan Nilai pH <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan.....	33
7.	Perubahan Total Asam Titrasi <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan.....	37
8.	Perubahan Total Bakteri Asam Laktat <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan.....	40

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Data Pengujian Aktivitas Air <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan	50
2.	Data Pengujian Nilai pH <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan	51
3.	Data Pengujian Total Asam Titrasi <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan	52
4.	Data Pengujian Total Bakteri Asam Laktat <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan	53
5.	<i>Output</i> SPSS Aktivitas Air <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan	54
6.	<i>Output</i> SPSS Nilai pH <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan	56
7.	<i>Output</i> SPSS Total Asam Titrasi <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan	58
8.	<i>Output</i> SPSS Total Bakteri Asam Laktat <i>Cream Cheese</i> Probiotik Selama Penyimpanan	60
9.	Data Hasil Pengujian Proksimat <i>Cream Cheese</i> Probiotik.....	62
10.	Dokumentasi Hasil Pengujian Total Bakteri Asam Laktat	64
11.	Dokumentasi Penelitian	71

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Cream cheese atau krim keju adalah produk olahan susu dengan rasa sedikit mentega dan asam yang memiliki tekstur lembut hingga dapat dioles serta memiliki penampilan mengkilap (Guna *et al.*, 2018). *Cream cheese* memiliki kandungan lemak yang melindungi sel probiotik dengan membentuk matriks padat melalui interaksi dengan kasein sehingga mampu mengenkapsulasi sel dan mengurangi paparan terhadap kondisi asam serta oksigen, yang pada akhirnya membantu menjaga viabilitasnya selama melewati sistem pencernaan (Rodrigues *et al.*, 2024). Selain itu, *cream cheese* dapat menjadi matriks yang sesuai untuk probiotik karena memiliki pH, aktivitas air, dan kandungan lemak yang mendukung viabilitas sel (Ningtyas *et al.*, 2019).

Cream cheese memiliki tren global bernilai USD 7,23 miliar pada tahun 2024 dan diperkirakan terus meningkat hingga mencapai USD 11,45 miliar pada tahun 2034 (Hernández-Figueroa *et al.*, 2025). Sejalan dengan tren gaya hidup sehat pasca pandemi Covid-19, permintaan terhadap produk berbasis probiotik sebagai pangan fungsional terus meningkat (Tologana *et al.*, 2023).

Tantangan utama penambahan probiotik Bakteri Asam Laktat (BAL) pada *cream cheese* adalah menjamin kelangsungan hidup bakteri fungsional serta mencegah penurunan mutu fisikokimia dan mikrobiologis selama masa simpan, karena sel probiotik sensitif terhadap kondisi lingkungan seperti pH asam, aktivitas

air tinggi, dan suhu penyimpanan yang dapat menurunkan viabilitas serta memicu perubahan kualitas produk. Jenis probiotik yang umum digunakan dalam industri pangan berasal dari kelompok BAL yang dikenal dengan istilah *Generally Recognized As Safe* (GRAS) dan memiliki kemampuan fermentasi yang tinggi (Plavec dan Berlec, 2020). Di antara berbagai spesies BAL, *Lactocaseibacillus rhamnosus* merupakan kelompok BAL yang secara alami ditemukan dalam saluran pencernaan manusia (Ningtyas *et al.*, 2019). Dalam penelitian ini, digunakan isolat lokal *L. rhamnosus* RAL27 yang berasal dari butiran kefir dan telah teridentifikasi mampu memproduksi eksopolisakarida (EPS) sebagai biopolimer fungsional yang berperan dalam meningkatkan stabilitas termal serta memberikan karakteristik reologi yang unik pada produk pangan (Yusuf *et al.*, 2024). Penyimpanan *cream cheese* dilakukan pada suhu 4°C serta memiliki tantangan dalam mempertahankan viabilitas BAL (Andrade *et al.*, 2023). Selama penyimpanan, perubahan kondisi fisikokimia dapat memengaruhi stabilitas produk serta viabilitas probiotik. Oleh karena itu, evaluasi karakteristik *cream cheese* selama penyimpanan diperlukan untuk mengetahui kemampuan produk dalam mempertahankan kualitas dan jumlah probiotik hingga akhir periode penyimpanan.

Penelitian ini berbeda dengan penelitian Shahraki *et al.* (2023) yang menggunakan campuran kultur (*B. adolescentis* dan *L. rhamnosus*) dengan penambahan gum herbal, penelitian Hernández-Figueroa *et al.* (2025) yang menggunakan *L. acidophilus* LA-5, maupun penelitian Ningtyas *et al.* (2019) yang menggunakan *L. rhamnosus* namun fokus pada teknik enkapsulasi. Pendekatan tersebut memiliki keterbatasan, antara lain potensi kompetisi nutrisi dan sensitivitas

terhadap oksigen pada kultur campuran, ketergantungan pada bahan tambahan untuk menjaga stabilitas, keterbatasan adaptasi strain komersial terhadap matriks pangan lokal, serta kompleksitas proses enkapsulasi yang memerlukan biaya tambahan dan berpotensi memengaruhi karakteristik sensoris. *Gap* utama dari penelitian-penelitian tersebut adalah belum adanya kajian yang secara spesifik mengevaluasi potensi isolat lokal tunggal tanpa perlakuan tambahan dalam sistem *cream cheese*. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan isolat tunggal *L. rhamnosus* RAL27 untuk mengkaji potensi intrinsiknya sebagai kultur probiotik, mengingat isolat ini memiliki kemampuan fermentasi yang baik (Yusuf *et al.*, 2024).

Pengujian *aw* dilakukan untuk mengevaluasi ketersediaan air bebas yang memengaruhi stabilitas produk dan kelangsungan hidup probiotik, sedangkan analisis pH dan TAT digunakan untuk memantau aktivitas metabolisme *L. rhamnosus* RAL27 yang berkontribusi terhadap pembentukan rasa dan tekstur (Hernández-Figueroa *et al.*, 2025). Selain itu, total BAL dianalisis untuk memastikan jumlah sel tetap berada di atas ambang batas terapeutik ($>10^6$ CFU/mL) sebagai syarat pangan probiotik (Ningtyas *et al.*, 2019). Pengujian ini dilakukan secara berkala selama penyimpanan dingin untuk menilai viabilitas bakteri hingga akhir masa simpan. Oleh karena itu, penelitian ini untuk mengetahui potensi isolat lokal tunggal dalam matriks *cream cheese* tanpa modifikasi tambahan, khususnya dalam mempertahankan viabilitas probiotik dan stabilitas mutu selama penyimpanan.

1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis karakteristik fisikokimia dan mikrobiologis *cream cheese* probiotik selama penyimpanan dingin dengan penambahan isolat lokal *L. rhamnosus* RAL27. Parameter fisikokimia meliputi nilai pH, total asam tertitrasi, dan aktivitas air. Parameter mikrobiologis meliputi total bakteri asam laktat. Manfaat penelitian diharapkan memberikan referensi ilmiah baru mengenai potensi penggunaan kultur tunggal lokal pada *cream cheese* tanpa penambahan bahan pengisi. Selain itu, penelitian ini dapat bermanfaat karena tidak hanya bernilai gizi tinggi, tetapi juga memiliki nilai fungsional probiotik yang stabil dan aman dikonsumsi untuk kesehatan pencernaan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Cream Cheese*

Cream cheese atau krim keju didefinisikan sebagai produk olahan susu dengan kategori keju lunak (*soft cheese*) dan tidak melalui proses pematangan (Yahya *et al.*, 2024). Produk ini memiliki tekstur yang lembut, rasa gurih dan sedikit asam, serta konsistensi yang halus sehingga berbeda dibandingkan keju padat (Safari *et al.*, 2024). Kualitas akhir *cream cheese* sangat ditentukan oleh komponen penyusunnya. Lemak dalam *cream cheese* memiliki komponen yang penting karena akan mempengaruhi struktur, atribut sensori, tekstur, penampilan, serta stabilitas produk (Hernández-Figueroa *et al.*, 2025).



Ilustrasi 1. *Cream Cheese*

(<https://www.kompas.com/food/read/2023/08/29/220300575/6-cara-membuat-krim-keju-ala-rumahan-untuk-bahan-cheesecake?page=all>)

Produk *cream cheese* perlu dipastikan agar tetap terjamin, sehingga harus memenuhi kriteria komposisi tertentu. *Cream cheese* minimal mengandung 33% lemak susu dan maksimal 55% kadar air dari berat total produk (Hernández-

Figuerola *et al.*, 2025). Secara umum, *cream cheese* dapat diaplikasikan sebagai topping roti, *filling* kue atau sebagai bahan baku utama industri makanan (Yuliantoro, 2021).

Proses transformasi susu menjadi *cream cheese* diawali dengan tahap fermentasi, di mana laktosa berfungsi sebagai karbohidrat utama yang digunakan oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) untuk menghasilkan asam laktat (Safari *et al.*, 2024). Aktivitas kultur BAL akan menurunkan nilai pH hingga 4,7. *Rennet* merupakan enzim koagulan yang berfungsi sebagai agen penggumpal atau pematid susu dalam proses pembuatan keju (Firdaus dan Moentamaria, 2025). Komponen aktif yang dimiliki *rennet* adalah enzim kimosin atau rennin yang berfungsi sebagai protease untuk memecah rantai protein susu. Enzim proteolitik berperan untuk memisahkan bagian padat dan bagian cair pada susu (Maharani *et al.*, 2023).

Jenis koagulan yang digunakan dalam penelitian ini, adalah *vegetable rennet*, yaitu enzim protease dari sumber tanaman sebagai alternatif pengganti kimosin hewan dalam proses koagulasi susu. Enzim ini bekerja optimal pada pH 4 – 6 dan suhu 30 – 40°C (Yahya *et al.*, 2024). Mekanisme koagulasi berlangsung melalui dua tahap, yaitu fase primer berupa hidrolisis spesifik κ - kasein pada ikatan Fenilalanin (105) dan Metionin (106) yang menghasilkan *Casein Macropeptide* (CMP), serta fase sekunder berupa agregasi misel kasein mulai dengan bantuan ion kalsium (Ca^{2+}) untuk membentuk matriks gel (Anggoro, 2023). Proses ini sangat dipengaruhi oleh interaksi antara pengasaman oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) dan aktivitas enzim *rennet*, di mana penurunan pH berfungsi mengoptimalkan kerja enzim dalam mendegradasi protein susu (Lanur *et al.*, 2025).

Koagulasi menghasilkan dua produk akhir utama, yaitu *curd* sebagai fase padat dan *whey* (Wardhani *et al.*, 2018). Laju koagulasi memengaruhi kualitas produk, karena semakin cepat proses berlangsung, semakin banyak globula lemak yang terperangkap dalam matriks *curd* meskipun juga dapat meningkatkan sineresis atau keluarnya air dari gel (Tologana *et al.*, 2023). *Curd* yang terbentuk kemudian dipisahkan dari *whey* dan dipres menggunakan *cheesecloth* untuk membentuk struktur dasar *cream cheese* (Setyawardani *et al.*, 2018). Kualitas fungsional produk yang telah terbentuk selanjutnya sangat bergantung pada kondisi lingkungan selama masa penyimpanan agar viabilitas bakteri dan karakteristik fisiknya tetap terjaga.

2.2. Probiotik

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang memberikan efek kesehatan dengan mendukung keseimbangan pertumbuhan mikrobiota di usus apabila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup (Tologana *et al.*, 2023). Jumlah sel hidup probiotik yang harus dipertahankan selama proses pengolahan dan penyimpanan adalah sebesar 10^7 – 10^9 CFU/g atau CFU/mL (Tologana *et al.*, 2023). Penambahan Bakteri Asam Laktat (BAL) probiotik ke dalam keju akan meningkatkan sifat fungsional produk melalui perannya dalam memperbaiki kesehatan saluran pencernaan jika dikonsumsi secara teratur.

Keju segar merupakan media pembawa probiotik lebih baik daripada susu fermentasi karena proses pengolahan, penggunaan suhu refrigerasi selama penyimpanan, masa simpan yang terbatas, serta kemampuan penyangganya

terhadap lingkungan saluran pencernaan yang ekstrim (Hernández-Figueroa *et al.*, 2025). Keju mampu menghantarkan probiotik dengan lebih baik karena memiliki nilai pH yang relatif tinggi dan menyediakan lingkungan yang lebih menguntungkan selama masa penyimpanan (Sumarmono *et al.*, 2020).

Penambahan BAL probiotik tidak hanya memberikan manfaat kesehatan, tetapi juga berkontribusi pada kualitas sensoris dan perbaikan sifat fisik keju (Hernández-Figueroa *et al.*, 2025). Penggunaan galur spesifik seperti *L. rhamnosus* 27 telah dikembangkan dalam pembuatan *cream cheese* rendah lemak maupun bebas lemak (Setyawardani *et al.*, 2018). Namun, penggunaan *L. rhamnosus* sebagai kultur probiotik diketahui menghasilkan tekstur keju yang lebih lunak dibandingkan perlakuan lainnya akibat kandungan air yang lebih tinggi (Setyawardani *et al.*, 2018).

Kadar air yang terlalu tinggi di dalam matriks protein menyebabkan produk menjadi kurang elastis dan lebih mudah pecah selama proses pengepresan (Setyawardani *et al.*, 2018). Penyebab terjadinya karena air berperan sebagai plastisiser yang secara tidak langsung menurunkan konsentrasi kasein dalam matriks keju (Setyawardani *et al.*, 2018). Oleh karena itu, viabilitas sel probiotik harus tetap terjaga dan bertahan selama seluruh tahap pemrosesan hingga penyimpanan produk untuk menjamin kualitas fungsional yang diharapkan.

2.3. Bakteri Asam Laktat

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok mikroorganisme anaerob fakultatif yang memiliki persebaran habitat sangat luas, mulai dari tanaman, produk

susu, sampai saluran pencernaan manusia dan hewan (Rahmiati dan Mumpuni, 2017). Secara morfologi dan sifat biologis, BAL adalah bakteri Gram-positif, tidak menghasilkan spora, bersifat non-motil, serta memiliki karakteristik katalase negatif (Detha, 2019). Kelompok bakteri ini dikategorikan sebagai mikroorganisme *Generally Recognized as Safe* (GRAS), dengan sifat non-toksik dan aman bagi kesehatan manusia (Hamidah *et al.*, 2019). Bakteri Asam Laktat dapat tumbuh dalam kondisi aerob dan anaerob serta memiliki kemampuan khas dalam fermentasi glukosa dengan menghasilkan asam laktat dengan tingkat pH pertumbuhan optimum berada pada rentang 4,0-5,0 (Detha, 2019).

Peran BAL dalam pengolahan pangan berkaitan dengan kemampuan BAL dalam memproduksi berbagai metabolit primer dan senyawa organik. Selama proses fermentasi, BAL bertindak sebagai mikroflora dominan yang mengekskresikan asam laktat, hidrogen peroksida (H_2O_2), dan senyawa anti mikroba spesifik seperti bakteriosin (Hamidah *et al.*, 2019). Produksi senyawa-senyawa tersebut dapat menurunkan pH lingkungan, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk maupun bakteri patogen. Di antara berbagai jenis BAL, galur tertentu telah dikembangkan secara spesifik karena kemampuannya dalam mensintesis eksopolisakarida (EPS) yang memberikan fungsi fungsional pada produk pangan. Salah satu galur yang memiliki potensi tersebut adalah *Lactocaseibacillus rhamnosus* RAL27, yakni isolat hasil purifikasi dari butiran kefir yang telah teridentifikasi secara molekuler. Galur ini menunjukkan karakteristik fisik yang unik melalui pembentukan tekstur lendir akibat produksi EPS, yang berperan penting dalam meningkatkan viskositas serta stabilitas matriks pangan

(Yusuf *et al.*, 2024).

Genus *Lactobacillus* pada BAL dengan spesies *L. rhamnosus* merupakan probiotik yang memberikan dampak positif signifikan bagi sistem imun dan pencernaan. Galur *L. rhamnosus* secara luas digunakan dalam industri pangan fungsional karena kemampuannya menempel pada sistem pencernaan, membantu regulasi kesehatan usus, serta mencegah terjadinya infeksi (Tulumoglu dan Erdem, 2026). Salah satu galur spesifik, yaitu *L. rhamnosus* RAL27 yang diisolasi dari butiran kefir telah teridentifikasi secara molekuler memiliki tingkat kemiripan 100% dengan spesies *Lacticaseibacillus rhamnosus* (Yusuf *et al.*, 2024).

Sebagai mikroorganisme yang menguntungkan, keberadaan BAL dalam saluran pencernaan bekerja secara kompetitif untuk mengeliminasi bakteri patogen penyebab diare. Stimulasi sistem kekebalan tubuh melalui aktivitas BAL berperan penting dalam meningkatkan kesehatan usus dan menjaga keseimbangan mikroflora intestin. Konsumsi BAL secara rutin dapat memberikan perlindungan jangka panjang terhadap kesehatan seluler, termasuk menurunkan risiko timbulnya tumor dan kanker kolon (Detha, 2019). Keberadaan BAL dalam pembuatan *cream cheese* memiliki keterkaitan dengan proses koagulasi. Penurunan pH dari aktivitas fermentasi BAL menciptakan lingkungan yang ideal bagi bekerjanya enzim penggumpal. Aktivitas yang dimiliki *L. rhamnosus* RAL27 terbukti efektif dalam menurunkan pH media, di mana pada fermentasi susu skim galur ini mampu mencapai nilai pH sebesar 3,53 dalam waktu 24 jam (Yusuf *et al.*, 2024).

2.4. Perubahan Mutu selama Penyimpanan

Penyimpanan produk pangan fungsional memiliki peran dalam menjaga viabilitas mikroorganisme probiotik, karena probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang mampu memberikan efek kesehatan dengan mendukung keseimbangan pertumbuhan mikrobiota di usus jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup (Tologana *et al.*, 2023). Agar manfaat kesehatan tersebut dapat tercapai, standar jumlah sel hidup yang harus dipertahankan selama proses pengolahan dan penyimpanan adalah berada pada kisaran 10^7 – 10^9 CFU/mL (Tologana *et al.*, 2023). Namun, penambahan probiotik dalam pembuatan keju menghadapi tantangan utama, yaitu sulitnya mempertahankan kelangsungan hidup bakteri probiotik tersebut selama tahap pengolahan hingga masa penyimpanan (Ningtyas *et al.*, 2019).

Keju segar merupakan produk alternatif dibandingkan susu fermentasi sebagai pembawa probiotik karena proses pembuatannya yang unik serta memiliki kemampuan penyangga yang baik terhadap lingkungan saluran pencernaan yang ekstrim (Hernández-Figueroa *et al.*, 2025). Faktor lain yang mendukung efektivitas keju segar sebagai pembawa probiotik adalah penggunaan suhu refrigerasi selama penyimpanan serta masa simpannya yang terbatas (Hernández-Figueroa *et al.*, 2025). Agar menjamin mutu selama masa simpan, maka penelitian ini menggunakan isolat lokal *L. rhamnosus* RAL27. Isolat ini memiliki produktivitas fermentasi yang konsisten meskipun telah dimurnikan dari butiran kefir dan mampu menghasilkan EPS yang berperan dalam meningkatkan stabilitas fisik dan reologi produk (Yusuf *et al.*, 2024). Berdasarkan hal tersebut, pengujian parameter

fisikokimia dan mikrobiologis selama penyimpanan menjadi penting agar mengetahui perubahan mutu *cream cheese* probiotik.

2.5. Pengujian Parameter Fisikokimia dan Mikrobiologis *Cream Cheese*

2.5.1. Aktivitas Air

Aktivitas air atau *water activity* (a_w) merupakan parameter yang menggambarkan jumlah air bebas yang tersedia dalam suatu produk pangan untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Perbedaan kadar air dan a_w adalah kadar air menunjukkan total air dalam produk, sedangkan a_w lebih mencerminkan kondisi air yang benar-benar berpengaruh terhadap stabilitas pangan, keawetan, laju reaksi kimia, serta aktivitas enzim (Nofreana *et al.*, 2017). Secara umum, bakteri menggunakan air bebas tersebut sebagai media utama untuk menjalankan proses pertumbuhannya (Nofreana *et al.*, 2017). Oleh karena itu, semakin tinggi nilai a_w pada suatu media, maka potensi bakteri untuk melakukan metabolisme substrat akan semakin meningkat (Safari *et al.*, 2024).

Produk keju segar seperti *cream cheese* dan *cottage cheese* diketahui memiliki persentase air serta tingkat kelembapan yang lebih besar dibandingkan keju keras dan keju semi-keras, sehingga memiliki umur simpan yang relatif lebih pendek dibandingkan jenis keju keras (Musra *et al.*, 2021). Berdasarkan Pavlatou *et al.* (2026), *cream cheese* dengan penambahan *Lactocaseibacillus paracasei* memiliki nilai a_w pada kisaran 0,91–0,95, yang menunjukkan ketersediaan air bebas yang tinggi dan mampu mendukung viabilitas bakteri asam laktat selama penyimpanan. Dalam struktur fisikokimianya, air yang terikat pada matriks *curd*

akan mengikat gugus karboksil dan gugus amino pada asam amino yang terbentuk selama proses pengolahan (Musra *et al.*, 2021). Peningkatan pertumbuhan mikrobial didorong oleh tingginya a_w akan diikuti oleh kenaikan nilai pH ke arah basa (Nofreana *et al.*, 2017). Keseimbangan nilai a_w dalam *cream cheese* sangat bergantung pada sejauh mana air bebas tersebut dapat diikat oleh komponen produk seperti lemak, garam, dan protein susu (Musra *et al.*, 2021). Protein kasein memiliki kemampuan alami untuk mengikat air, sementara penambahan garam dapat menurunkan ketersediaan air bebas dalam sistem matriks keju (Musra *et al.*, 2021).

2.5.2. Nilai pH

Potential of Hydrogen atau pH merupakan parameter kimia salah satunya digunakan dalam pengujian produk olahan susu termasuk *cream cheese*, karena memengaruhi sifat fisikokimia, mikrobiologi, hingga umur simpan produk. pH didefinisikan sebagai logaritma negatif dari konsentrasi ion hidrogen aktif (H^+) dalam suatu larutan (Basuki, 2021). Dalam pembuatan keju, aktivitas kultur starter berperan dalam mengubah laktosa menjadi asam laktat yang sehingga dapat merubah nilai pH tersebut (Mustika *et al.*, 2019). Proses fermentasi oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) ini menyebabkan jumlah ion H^+ yang terdisosiasi meningkat, sehingga terjadi penurunan pH yang kemudian menghasilkan rasa asam yang khas (Mustika *et al.*, 2019).

Penurunan pH selama proses produksi memiliki fungsi teknis dalam memicu koagulasi kasein dan pembentukan jaringan protein yang mampu menahan lemak. Berdasarkan Pavlatou *et al.* (2026), *cream cheese* dengan penambahan

Lacticaseibacillus paracasei memiliki nilai pH pada kisaran 4,78–4,98. Nilai pH pada keju umumnya cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan produk susu fermentasi lainnya, sehingga lebih menguntungkan bagi keberlangsungan hidup bakteri probiotik (Sumarmono *et al.*, 2020).

2.5.3. Total Asam Tertitrasi

Total Asam Tertitrasi (TAT) merupakan parameter kimia yang digunakan untuk menggambarkan jumlah keseluruhan asam dalam suatu produk pangan, baik dalam bentuk asam bebas maupun terikat, yang dinetralkan melalui proses titrasi dengan larutan basa. Berbeda dengan pH yang hanya mengukur konsentrasi ion hidrogen (H^+) dalam kondisi terdisosiasi, nilai TAT mencakup pengukuran total asam baik dalam kondisi terdisosiasi maupun tidak terdisosiasi (Angelia, 2017). Oleh karena itu, TAT sering dianggap sebagai penduga yang lebih akurat untuk mengevaluasi pengaruh keasaman terhadap profil rasa dan aroma produk dibandingkan dengan pengukuran pH saja (Angelia, 2017). Pada produk olahan susu seperti *cream cheese*, kadar asam tertitrasi menjadi indikator utama akumulasi asam organik, terutama asam laktat, yang dihasilkan oleh aktivitas bakteri asam laktat selama proses fermentasi (Aziz *et al.*, 2025). Berdasarkan Pavlatou *et al.* (2026), *cream cheese* dengan penambahan *Lacticaseibacillus paracasei* menunjukkan nilai TAT yang meningkat selama penyimpanan, yaitu dari kisaran 0,35–0,38% pada awal penyimpanan menjadi 0,67–0,70% pada akhir penyimpanan, yang mencerminkan berlangsungnya proses pengasaman akibat aktivitas metabolik bakteri asam laktat.

Asam titrasi memegang peranan sebagai awal untuk seluruh fase koagulasi susu dalam proses pembuatan keju (Setyawardani *et al.*, 2018). Hal ini mencakup pengaruhnya terhadap kecepatan agregasi mikrosel para-kasein serta tingkat reaktivitas enzim *rennet* yang digunakan. Selain itu, asam titrasi memengaruhi laju sineresis (pemisahan cairan *whey*) dan berfungsi sebagai penentu kemudahan transformasi susu menjadi dadih keju (Vasoncelos *et al.*, 2025). Peningkatan total asam akan menyebabkan perubahan muatan pada molekul protein kasein dan akan memperkuat jaringan protein sehingga menghasilkan tekstur yang lebih padat dan kompak (Shahraki *et al.*, 2023).

2.5.4. Total Bakteri Asam Laktat

Total Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan parameter yang menunjukkan jumlah sel mikroorganisme hidup dalam produk fermentasi dan biasanya dinyatakan dalam satuan log CFU/mL. Bakteri Asam Laktat merupakan jenis mikroorganisme yang sangat penting dalam pengolahan produk pangan maupun minuman probiotik (Agustine *et al.*, 2018). Peran utama BAL adalah mendegradasi berbagai jenis gula, seperti laktosa, menjadi asam laktat atau komponen lainnya melalui proses fermentasi (Agustine *et al.*, 2018).

Pertumbuhan total BAL sangat dipengaruhi oleh ketersediaan nutrisi di dalam media atau bahan baku. Peningkatan jumlah bakteri ini diketahui bergantung pada ketersediaan komponen seperti susu skim dan sukrosa sebagai sumber nutrisi utama (Agustine *et al.*, 2018). Selain faktor nutrisi, suhu penyimpanan memiliki pengaruh signifikan terhadap kelangsungan hidup atau viabilitas bakteri probiotik

tersebut (Sumarmono *et al.*, 2020). Oleh karena itu, kemampuan bakteri probiotik untuk tetap hidup selama tahap pengolahan hingga masa penyimpanan menjadi faktor yang sangat esensial dalam pengembangan produk keju yang mengandung probiotik (Sumarmono *et al.*, 2020). Standar jumlah sel hidup yang harus dipertahankan selama proses pengolahan dan penyimpanan adalah $>10^6$ CFU/mL (Ningtyas *et al.*, 2019). Berdasarkan Pavlatou *et al.* (2026), *cream cheese* dengan penambahan *Lactocaseibacillus paracasei* menunjukkan jumlah total bakteri asam laktat yang tetap tinggi selama penyimpanan, yaitu berkisar antara 7,51 hingga 8,21 log CFU/g. Nilai tersebut masih berada di atas batas minimal probiotik, sehingga menunjukkan bahwa viabilitas BAL dapat dipertahankan dengan baik selama masa simpan.

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Materi

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2025 sampai dengan Januari 2026. Seluruh tahapan preparasi kultur bakteri, pembuatan produk, dan analisis parameter fisikokimia dan mikrobiologis dilakukan di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

Bahan yang digunakan untuk pembuatan dan pengujian penelitian ini adalah susu sapi segar yang diperoleh dari Memoory Dairy (Semarang), isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) yaitu *Lactocaseibacillus rhamnosus* RAL27 diperoleh dari Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Yogyakarta, enzim *rennet*, *cooking cream*, garam dapur, susu skim, gliserol, media *De Man, Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA), *De Man, Rogosa and Sharpe Broth* (MRSB), larutan NaCl, akuades, alkohol 70%, larutan natrium hidroksida (NaOH) 0,1 N, serta indikator phenolphthalein (PP) 1%.

Peralatan yang digunakan dalam pembuatan dan pengujian penelitian ini adalah kompor, panci (besar dan kecil), batang pengaduk, thermometer (batang dan *gun*), *manual chopper*, jar kaca 1.000 mL, sendok sampel (besi dan plastik), sendok sayur, kontainer plastik, *aluminium foil*, *plastic wrap*, toples plastik 50 mL *showcase* (lemari pendingin) untuk penyimpanan sampel, *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, inkubator, *centrifuge*, *vortex*, mikropipet dan *microtip* (ukuran 1

mL dan 5 mL), tabung *centrifuge* (ukuran 15 mL dan 50 mL), jarum ose, cawan petri, bunsen, oven sterilisasi, timbangan (analitik dan digital), pH meter, Aw meter, buret titrasi basa, *hot plate*, *magnetic stirrer*, kayu penjepit, serta peralatan gelas standar laboratorium (*beaker glass*, erlenmeyer (ukuran 50 mL dan 250 mL), labu ukur, gelas ukur kaca (ukuran 10 mL, 100 mL, dan 1000 mL).

3.2. Metode

Metode penelitian yang dilakukan terdiri dari rancangan percobaan, prosedur penelitian, pengujian parameter, dan analisis data yang diperoleh dari hasil percobaan. Metode penelitian dijelaskan sebagai berikut.

3.2.1. Rancangan percobaan

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 kali ulangan sehingga didapatkan 24 unit percobaan. Perlakuan yang diterapkan dalam penelitian ini yaitu perbedaan lama penyimpanan produk *cream cheese* yang dibuat dengan penambahan bakteri asam laktat *Lactocaseibacillus rhamnosus* RAL27 sebagai isolat tunggal lokal. Konsentrasi bakteri yang digunakan dalam pembuatan produk adalah sebanyak 3%. Variasi lama penyimpanan yang diterapkan meliputi penyimpanan selama 0 hari (P0), 7 hari (P1), 14 hari (P2), 21 hari (P3), 28 hari (P4), dan 35 hari (P5). Desain percobaan kombinasi perlakuan dan ulangan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Desain Percobaan Kombinasi Perlakuan dan Ulangan

Ulangan	Perlakuan Lama Penyimpanan Dingin pada <i>Cream Cheese</i>					
	P0	P1	P2	P3	P4	P5
U ₁	P ₀ U ₁	P ₁ U ₁	P ₂ U ₁	P ₃ U ₁	P ₄ U ₁	P ₅ U ₁
U ₂	P ₀ U ₂	P ₁ U ₂	P ₂ U ₂	P ₃ U ₂	P ₄ U ₂	P ₅ U ₂
U ₃	P ₀ U ₃	P ₁ U ₃	P ₂ U ₃	P ₃ U ₃	P ₄ U ₃	P ₅ U ₃
U ₄	P ₀ U ₄	P ₁ U ₄	P ₂ U ₄	P ₃ U ₄	P ₄ U ₄	P ₅ U ₄

Keterangan: P = penyimpanan; U = ulangan

P0: Penyimpanan *cream cheese* selama 0 hari

P1: Penyimpanan *cream cheese* selama 7 hari

P2: Penyimpanan *cream cheese* selama 14 hari

P3: Penyimpanan *cream cheese* selama 21 hari

P4: Penyimpanan *cream cheese* selama 28 hari

P5: Penyimpanan *cream cheese* selama 35 hari

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

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

Keterangan:

Y_{ijk} = Nilai pengamatan dari perlakuan perbedaan selama penyimpanan *cream cheese* ke-i (1, 2, 3, 4, 5, 6) pada ulangan ke-j (1, 2, 3, 4)

μ = Nilai tengah perlakuan

π_i = Pengaruh perlakuan ke-i (P0, P1, P2, P3, P4, dan P5)

ε_{ij} = Galat (*error*) dari perlakuan perbedaan selama penyimpanan *cream cheese* pada taraf ke-i (P0, P1, P2, P3, P4, dan P5) dan ulangan ke-j (1,2,3,4)

Hipotesis yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

H0 = Perlakuan penyimpanan dingin tidak berpengaruh nyata terhadap fisikokimia dan mikrobiologis *cream cheese*

H1 = Perlakuan penyimpanan berpengaruh nyata terhadap fisikokimia dan mikrobiologis *cream cheese*

Hipotesis empiris di atas dijelaskan ke dalam hipotesis statistik sebagai berikut.

H0 : $\mu=\mu_2=\mu_3=\mu_4=\mu_5$

H1 : $\mu\neq\mu_2\neq\mu_3\neq\mu_4\neq\mu_5$, atau setidaknya terdapat satu pengaruh perlakuan

Kriteria pengujian analisis statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

$P \geq \text{sig } 0,05$ (dengan $\alpha = 0,05$), maka H0 diterima dan H1 ditolak

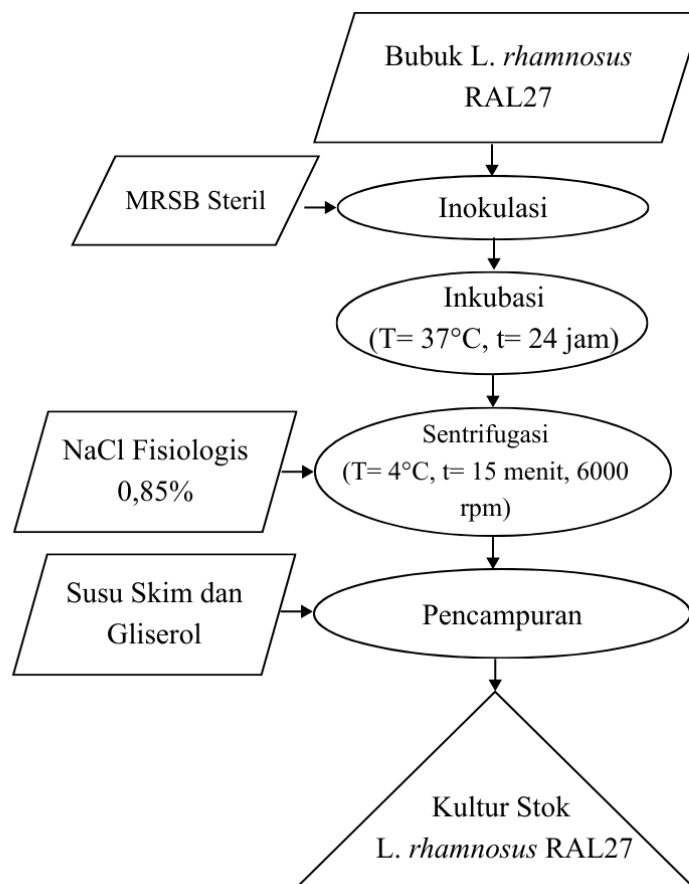
$P < \text{sig } 0,05$ (dengan $\alpha = 0,05$), maka H0 ditolak dan H1 diterima

3.2.2. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Kultur Stok *Lacticaseibacillus rhamnosus* RAL27

Prosedur pembuatan kultur stok *L. rhamnosus* RAL27 dalam penelitian ini dilakukan berdasarkan pada metode yang dikembangkan oleh Kamil *et al.* (2020). Tahapan pertama penelitian diawali dengan proses reaktivasi isolat BAL *L. rhamnosus* RAL27 yang diperoleh dari BRIN Yogyakarta dalam bentuk bubuk. Sebanyak 0,1 g bubuk BAL ditimbang dan diinokulasikan ke dalam 9 mL media MRSB steril. Suspensi tersebut kemudian dihomogenisasi menggunakan *vortex* dan diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, sel bakteri dipanen melalui proses pencucian menggunakan 10 mL larutan NaCl 0,85% steril. Proses pencucian dilakukan sebanyak dua kali dengan bantuan alat *centrifuge* untuk memisahkan endapan sel (*pellet*) dari sisa media pertumbuhan. Endapan sel yang diperoleh kemudian ditambahkan dengan campuran gliserol 20% dan susu skim 10% (rasio 1:1). Campuran tersebut dihomogenisasi menggunakan *vortex*, lalu disimpan di dalam pembeku (*freezer*) sebagai kultur stok (*culture stock*).

yang akan digunakan pada tahapan penelitian selanjutnya. Diagram alir reaktivasi dan pembuatan kultur stok *L. rhamnosus* 27 dapat dilihat pada Ilustrasi 2.



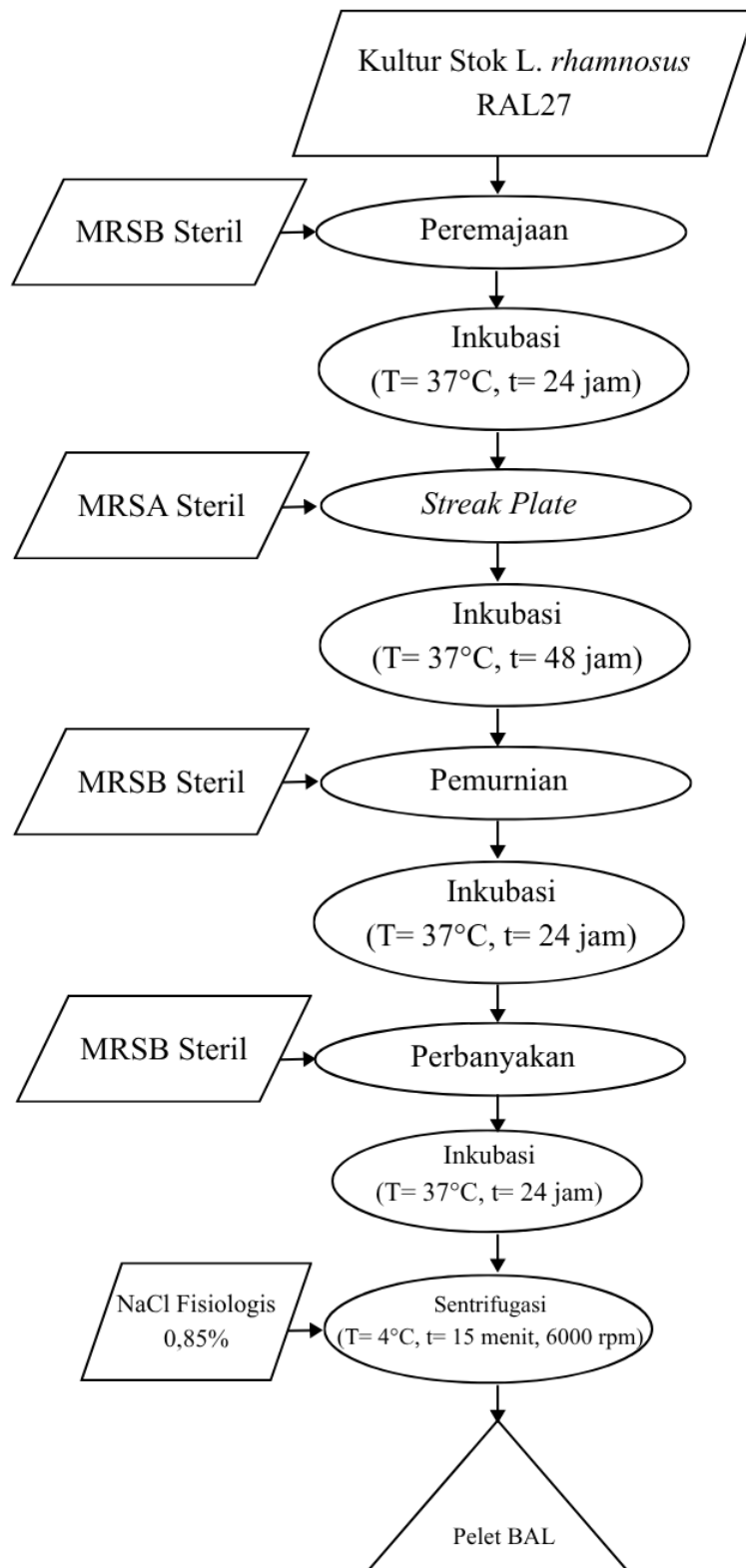
Ilustrasi 2. Diagram Alir Reaktivasi dan Pembuatan Kultur Stok *L. rhamnosus* RAL27

b. Peremajaan dan Subkultur Bakteri Asam Laktat

Prosedur preparasi dalam penelitian ini mengacu pada metode Kamil *et al.* (2020) dan Aini *et al.* (2021), yang diawali dengan tahap aktivasi stok kultur *L. rhamnosus* RAL27. Stok kultur yang telah dicairkan terlebih dahulu dihomogenisasi menggunakan vortex untuk memastikan distribusi sel yang merata. Selanjutnya, sebanyak 1 mL stok kultur diinokulasikan ke dalam 9 mL media

MRSB steril sebagai media pertumbuhan awal, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk mengaktifkan kembali sel bakteri. Kultur hasil aktivasi tersebut kemudian ditumbuhkan pada media padat melalui metode *streak plate* empat kuadran pada media MRSA, yang selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam untuk memperoleh koloni tunggal yang dominan dan murni. Koloni terpilih kemudian diperbanyak dengan cara menginokulasikan satu koloni dominan ke dalam 10 mL media MRSB steril, dihomogenisasi menggunakan vortex, dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 24 jam. Tahap perbanyakkan dilanjutkan dengan memindahkan 10 mL kultur ke dalam 90 mL media MRSB steril, kemudian dihomogenisasi dan diinkubasi pada suhu yang sama selama 24 jam untuk menghasilkan jumlah sel yang lebih tinggi dan siap digunakan sebagai starter.

Tahap selanjutnya adalah pencucian sel BAL yang dilakukan dengan mengambil kultur MRSB sesuai volume perlakuan, yaitu 22,5 mL yang setara dengan konsentrasi 3% BAL. Konsentrasi tersebut dipilih sebagai perlakuan terbaik. Kultur tersebut kemudian disentrifugasi menggunakan *centrifuge* dengan kecepatan 6.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan pelet sel dari supernatannya. Pelet sel yang diperoleh dicuci sebanyak dua kali menggunakan larutan NaCl 0,85% steril dengan volume yang disesuaikan agar memastikan sel benar-benar bebas dari sisa media pertumbuhan sebelum diinokulasikan ke dalam bahan baku. Diagram alir preparasi starter BAL dapat dilihat pada Ilustrasi 3.

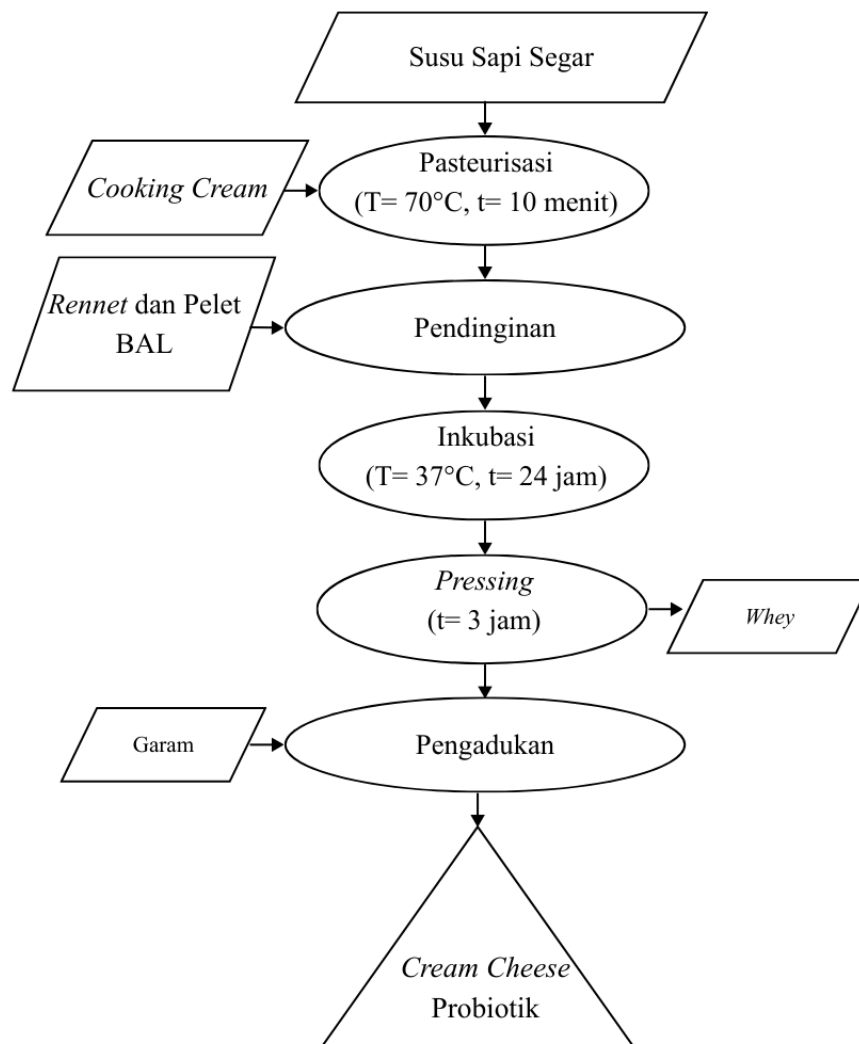


Ilustrasi 3. Peremajaan dan Subkultur Bakteri Asam Laktat

c. Produksi *Cream Cheese*

Prosedur pembuatan *cream cheese* dalam penelitian ini menggunakan metode yang dikembangkan oleh Tologana *et al.* (2023) yang dimodifikasi. Produksi *cream cheese* dimulai dengan pencampuran susu sapi segar dan *cooking cream* dengan rasio 2:1 (500 mL: 250 mL) yang kemudian dipasteurisasi secara tidak langsung (*double boiler*) pada suhu 70°C selama 10 menit. Setelah suhu campuran turun mencapai 37°C, pelet BAL dengan konsentrasi 3% dan ditambahkan dengan enzim rennet untuk memfasilitasi proses koagulasi protein. Inokulum starter *L. rhamnosus* RAL27 ditambahkan dalam bentuk pelet sel dengan konsentrasi yang setara dengan 3% (v/v) dari total volume bahan baku. Jumlah tersebut diperoleh dari hasil sentrifugasi kultur cair MRSB sebanyak 22,5 mL untuk 3% perlakuan. Adonan *cream cheese* difermentasi dalam kondisi anaerob di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Curd yang telah terbentuk setelah fermentasi kemudian dipres menggunakan kain saring (*cheesecloth*) dengan beban pemberat 500 mL air selama 3 jam untuk memisahkan cairan *whey*. Setelah dadih padat diperoleh, dilakukan penimbangan dan penambahan garam sebanyak 1% dari total berat *cream cheese* yang diperoleh kemudian diaduk hingga homogen. Produk kemudian dikemas dalam wadah tertutup dan disimpan pada suhu 4°C untuk dilakukan pengujian secara periodik pada hari ke-0, 7, 14, 21, 28, dan 35. Ilustrasi 4. Diagram alir produksi *cream cheese* dapat dilihat pada Ilustrasi 4.



Ilustrasi 4. Diagram Alir Produksi *Cream Cheese*

3.2.3. Pengujian Parameter

a. Aktivitas Air

Pengujian aktivitas air atau *water activity* (a_w) pada *cream cheese* diukur menggunakan a_w meter dengan pengujian mengacu pada Vasconcelos *et al.* (2025). Pengukuran dilakukan pada suhu 25 °C menggunakan alat pengukur a_w . Sampel dianalisis tanpa perlakuan tambahan agar mencerminkan kondisi aktual produk

setelah penyimpanan.

b. Nilai pH

Pengujian pH mengacu pada metode yang digunakan dalam penelitian Rahman *et al.* (2025). Pengukuran nilai pH pada sampel *cream cheese* dilakukan menggunakan pH meter digital. Sebelum pengukuran dilakukan, alat pH meter dikalibrasi menggunakan metode kalibrasi tiga titik dengan larutan penyangga pH 4,01; 7,00; dan 10,00 pada suhu 25°C. Sampel *cream cheese* disiapkan dengan menimbang 5 g *cream cheese* yang kemudian dihomogenisasi dalam 45 mL akuades. Nilai pH dicatat setelah elektroda gelas tercelup sempurna ke dalam larutan sampel hingga angka stabil. Seluruh pengukuran dilakukan dengan tiga kali ulangan (*triplo*).

c. Total Asam Titrasi

Sampel untuk pengujian Total Asam Titrasi (TAT) berasal dari hasil larutan hasil homogenisasi *cream cheese* dan akuades yang sebelumnya telah disiapkan untuk pengujian pH. Sebanyak 10 mL larutan sampel tersebut dimasukkan ke dalam masing-masing tiga erlenmeyer berbeda untuk dilakukan pengujian secara *triplo*. Satu (1) tetes indikator *phenolphthalein* (PP) 1% ditambahkan ke dalam setiap erlenmeyer. Selanjutnya sampel kemudian dititrasi menggunakan larutan standar Natrium Hidroksida (NaOH) 0,1 N hingga mencapai titik akhir titrasi yang ditandai dengan perubahan warna dari putih pucat menjadi merah muda yang stabil. Nilai TAT dihitung sebagai persentase asam laktat dengan

rumus sebagai berikut (Prastujati *et al.*, 2018):

$$\text{Total Asam Tertitrasi (\%)} = \frac{FP \times \text{ml titrasi NaOH} \times N \text{ NaOH} \times BM}{W \text{ sampel} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

FP = Faktor pengenceran

N = Normalitas NaOH (0,1 N)

BM = Berat molekul (90)

W = Berat sampel (g)

d. Total Bakteri Asam Laktat

Analisis total Bakteri Asam Laktat (BAL) dilakukan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) yang mengacu pada Pangestu *et al.* (2017) dengan modifikasi. Tahapan pengujian diawali dengan melakukan proses homogenisasi dengan cara melarutkan 1 g sampel ke dalam 9 mL larutan NaCl fisiologis 0,85% untuk memperoleh tingkat pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya, sebanyak 1 mL dari pengenceran 10^{-1} dipindahkan ke tabung reaksi berikutnya untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilakukan secara berseri hingga mencapai tingkat 10^{-8} atau 10^{-9} .

Sebanyak 1 mL dari empat tingkat pengenceran terakhir dipindahkan ke dalam cawan petri steril, kemudian ditambahkan 10 mL media MRSA steril dengan menggunakan metode tuang. Cawan petri kemudian digoyangkan secara perlahan agar sampel tersebar homogen, lalu didiamkan hingga media memadat. Inkubasi dilakukan dalam posisi terbalik di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam. Perhitungan populasi mikroba hanya dilakukan pada cawan yang memiliki

pertumbuhan koloni dalam rentang 30 – 300 koloni sesuai standar statistik. Jumlah bakteri dinyatakan dalam satuan *Colony Forming Units* per gram (CFU/mL) dengan rumus perhitungan sebagai berikut (Pangestu *et al.*, 2017):

$$\text{Jumlah mikroba (CFU/mL)} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

3.2.4. Analisis Data

Perhitungan statistik untuk pengujian aktivitas air, nilai pH, total asam tertitrasi, dan total bakteri asam laktat diolah dengan *Microsoft Excel* versi 2021 dan diuji secara statistik menggunakan program IBM SPSS Statistics Versi 26. Prosedur yang digunakan untuk pengujian statistik adalah tes normalitas, tes homogenitas, dan *analysis of variance* (ANOVA) dengan taraf signifikansi 5%. Apabila hasil uji ANOVA menunjukkan adanya pengaruh nyata, maka dilanjutkan uji lanjut menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.