

**ANALISIS PERUBAHAN SIFAT MIKROBIOLOGI SUSU PASTEURISASI
VARIAN *PLAIN* DIPENGARUHI SUHU DAN WAKTU PENYIMPANAN**

SKRIPSI

Oleh

DZIHNI HERYUNI SANTIKA



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

ANALISIS PERUBAHAN SIFAT MIKROBIOLOGI SUSU PASTEURISASI
VARIAN *PLAIN* DIPENGARUHI SUHU DAN WAKTU PENYIMPANAN

Oleh

DZIHNI HERYUNI SANTIKA
NIM : 23020122130081

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 : Dzihni Heryuni Santika
NIM : 23020122130081
Program Studi : S-1 Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut:

1. Skripsi yang berjudul **Analisis Perubahan Sifat Mikrobiologi Susu Pasteurisasi Varian *Plain* dipengaruhi Suhu dan Waktu Penyimpanan** 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: **Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc.** dan **Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.**

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, 6 Agustus 2026

Penulis,



Dzihni Heryuni Santika

Mengetahui:

Pembimbing Anggota

Pembimbing Utama



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



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

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : ANALISIS PERUBAHAN SIFAT
MIKROBIOLOGI SUSU PASTEURISASI
VARIAN *PLAIN* DIPENGARUHI SUHU DAN
WAKTU PENYIMPANAN

Nama Mahasiswa : DZIHNI HERYUNI SANTIKA

Nomor Induk Mahasiswa : 23020122130081

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

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal **11 AUG 2026**

Pembimbing Utama



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

Pembimbing Anggota



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

Ketua Program Studi



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D. Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program

Dekan



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

Ketua Departemen



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

RINGKASAN

DZIHNI HERYUNI SANTIKA. 23020122130081. 2026. Analisis Perubahan Sifat Mikrobiologi Susu Pasteurisasi Varian *Plain* dipengaruhi Suhu dan Waktu Penyimpanan (Pembimbing: **SWASTIKA DEWI** dan **AHMAD NI'MATULLAH AL-BAARRI**)

Susu sebagai pangan hewani mengandung nilai gizi yang tinggi, sehingga menjadikan susu sebagai substrat yang ideal bagi pertumbuhan mikroorganisme. Pasteurisasi pada susu mampu menurunkan jumlah mikroorganisme patogen serta memperpanjang umur simpan produk tanpa merusak nilai gizinya, namun pasteurisasi tidak sepenuhnya mematikan mikroorganisme. Berdasarkan kondisi tersebut, susu memerlukan penyimpanan pada suhu yang sesuai untuk mempertahankan kualitasnya selama masa simpan sebelum didistribusikan kepada konsumen.

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan yaitu dari bulan Januari 2026 – April 2026 di Laboratorium CV XYZ, Getasan, Kabupaten Semarang. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas mikroorganisme selama tahapan proses pasteurisasi serta perubahan pH dan total asam susu pasteurisasi selama penyimpanan pada suhu dan waktu yang berbeda. Percobaan dilakukan dengan menguji susu pasteurisasi pada setiap tahapan proses dan diberi perlakuan penyimpanan suhu ruang, suhu rendah, dan suhu tinggi pada lima titik waktu tertentu. Metode pengujian yang dilakukan terhadap parameter uji reduktase menggunakan *methylene blue*, uji jumlah mikroorganisme dengan *total plate count*, pH dengan pH meter, serta total asam dengan titrasi asam basa. Data hasil pengujian diinterpretasikan secara deskriptif.

Hasil penelitian menunjukkan proses pasteurisasi terbukti mampu menekan jumlah mikroorganisme dalam susu hingga 2 log CFU/mL. Kondisi ini diperkuat dengan nilai MBRT yang menunjukkan waktu reduksi yang lebih lama setelah pasteurisasi, dan mengindikasikan rendahnya aktivitas mikroorganisme dalam susu. Namun, mikroorganisme yang masih bertahan setelah pasteurisasi dapat melakukan metabolisme yang merusak kualitas susu, terutama pada penyimpanan suhu ruang dan suhu tinggi. Aktivitas metabolisme ini berkaitan dengan peningkatan total asam dan penurunan pH. Sebaliknya, pada penyimpanan suhu rendah dapat memperlambat pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroorganisme, sehingga perubahan total asam dan pH berlangsung lebih lambat. Suhu rendah dapat mempertahankan karakteristik pH sebesar 6,8 dan total asam sebesar 0,18% hingga hari ke-6 penyimpanan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan Rahmat serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Analisis Perubahan Sifat Mikrobiologi Susu Pasteurisasi Varian *Plain* dipengaruhi Suhu dan Waktu Penyimpanan”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi Sarjana Teknologi Pangan di Universitas Diponegoro. Selama pelaksanaan penelitian dari bulan Januari hingga April 2026 di Laboratorium CV XYZ, Getasan, Kab Semarang, penulis mendapatkan banyak pengetahuan serta pengalaman berharga yang sangat berguna dalam pengembangan karir di masa depan. Dalam proses penyusunan skripsi ini, penulis mendapat dukungan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc. dan Bapak Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama dan pembimbing anggota yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini dari awal hingga akhir sehingga skripsi ini dapat selesai dengan baik.
2. Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.; Ketua Departemen Pertanian dan Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D., yang telah memberikan kesempatan, fasilitas, dan arahan selama proses perkuliahan, penelitian, hingga penulisan skripsi.
3. Bapak Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D. dan drh. Siti Susanti, Ph.D. selaku Ketua Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian serta Ketua Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan yang telah berkenan memberikan izin serta kesempatan bagi penulis untuk melaksanakan penelitian.

4. Ibu Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc. selaku dosen wali penulis yang telah memberikan dukungan dan informasi selama perkuliahan hingga menyelesaikan tugas akhir.
5. Ibu Dr. Sri Mulyani, S.Pt., M.P. dan Ibu Ulil Afidah, S.Pt., M.Sc. selaku Dosen penguji dan Bapak Fariz Nurmita Aziz, S.T.P., M.Sc. selaku Dosen Panitia sidang skripsi yang telah memberikan arahan, saran, dan masukan kepada penulis selama pelaksanaan sidang akhir skripsi dan perbaikannya sehingga penulis dapat menyempurnakan skripsi yang telah disusun dengan baik.
6. Seluruh dosen, tenaga pendidik, dan staf administrasi Fakultas Peternakan dan Pertanian terutama pada program studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro yang telah memberikan ilmu, informasi, serta fasilitas untuk penulis sampai akhirnya menyelesaikan studi.
7. Kedua orang tua penulis, Alm. Bapak Hendrik dan Ibu Nella, serta kakak penulis, Ellma yang senantiasa membiayai dan menjadi penyemangat selama menjalani perkuliahan, selalu memberikan dukungan semangat, dan menyertai penulis dengan doa.
8. Teman-teman semasa kuliah penulis yaitu Larissa, Rasya, Syalia, Diza, Vita, Sita, Ocha, Ega, Lila, Kiara, Kenny, Karen, Nana yang banyak membantu dan berbagi kenangan semasa perkuliahan.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih belum sempurna, baik dari segi materi maupun penyajiannya. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan. Pada kesempatan ini, penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan.

Semarang, Agustus 2026

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR ILUSTRASI.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Susu sapi.....	4
2.2 Susu pasteurisasi.....	5
2.3 Total Plate Count (TPC)	7
2.4 Uji Reduktase	8
2.5 Nilai pH	8
2.6 Total Asam.....	9
BAB III MATERI DAN METODE	11
3.1 Materi	11
3.2 Metode Penelitian.....	11
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1 Pertumbuhan Mikroorganisme dan Perubahan pH pada	

Proses Pasteurisasi.....	18
4.2 Perubahan pH dan Total Asam Susu Pasteurisasi selama Penyimpanan	30
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	49
5.1 Simpulan.....	49
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN.....	59
RIWAYAT HIDUP	63

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Syarat Mutu Susu Pasteurisasi Berdasarkan SNI 3951:2018.....	6
2. Rancangan Penelitian Perubahan Sifat Kimia Susu Pasteurisasi..	12
3. Total Plate Count selama Tahapan Proses Pasteurisasi.....	19
4. Perubahan pH pada Penyimpanan Suhu Rendah (4°C)	31
5. Perubahan pH pada Penyimpanan Suhu Ruang (27 °C).....	34
6. Perubahan pH pada Penyimpanan Suhu Tinggi (50 °C).....	37
7. Perubahan Total Asam Titrasi pada Penyimpanan Suhu Rendah (4°C)	40
8. Perubahan Total Asam Titrasi pada Penyimpanan Suhu Ruang (27 °C)	43
9. Perubahan Total Asam Titrasi pada Penyimpanan Suhu Tinggi (50°C).....	46

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Prosedur Penelitian dan Pengujian Parameter	14
2. Grafik Total Plate Count selama Tahapan Pasteurisasi.....	20
3. Uji Reduktase pada Tahapan Proses Susu Pasteurisasi.....	25
4. Nilai pH pada Tahapan Proses Susu Pasteurisasi.....	27
5. Perubahan pH pada Penyimpanan Suhu Rendah (4°C)	31
6. Perubahan pH pada Penyimpanan Suhu Ruang (27 °).....	34
7. Perubahan pH pada Penyimpanan Suhu Tinggi (50 °C).....	37
8. Perubahan Total Asam Titrasi pada Penyimpanan Suhu Rendah (4°C)	41
9. Perubahan Total Asam Titrasi pada Penyimpanan Suhu Ruang	43
10. Perubahan Total Asam Titrasi pada Penyimpanan Suhu Tinggi (50°C).....	46

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Data Hasil Pengujian pH Susu Pasteurisasi	60
2. Data Pengujian Nilai Total Asam Tertitrasi Susu Pasteurisasi	60
3. Data Hasil Uji Total Plate Count (TPC).....	61
4. Dokumentasi Penelitian	62

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Susu merupakan cairan yang diperoleh dari kelenjar mammae hewan mamalia dari proses pemerahan. Susu sebagai pangan hewani mengandung nilai gizi yang tinggi meliputi protein (3,5%), lemak (3,9%), laktosa (4,9%), mineral, dan vitamin (0,7%) (Lay *et al.*, 2024). Komposisi tersebut menjadikan susu sebagai substrat yang ideal untuk pertumbuhan mikroorganisme, sehingga susu dikategorikan sebagai pangan mudah rusak (*highly perishable food*). Pengolahan pasteurisasi dapat dilakukan untuk menghilangkan mikroorganisme patogen dan memperpanjang umur simpan produk tanpa merusak nilai gizinya (Pazra dan Wahyuningsih, 2022). Namun, efektivitas pasteurisasi bergantung pada konsistensi suhu dan waktu pemanasan serta higienitas setiap tahapan baik pra sampai pascapasteurisasi (Triardianto *et al.*, 2024).

Susu yang telah dipasteurisasi tetap memiliki peluang terjadinya kontaminasi meliputi sifat mikrobiologis yang mengindikasikan penurunan kualitas, sehingga penanganan produk hasil pasteurisasi perlu disimpan dalam suhu dan waktu yang tepat. Penelitian yang dilakukan oleh Rahmadini *et al.* (2024) menunjukkan bahwa penyimpanan susu pada suhu 4°C dapat menekan perubahan fisikokimia pada susu lebih lambat dibandingkan penyimpanan 10°C and 20°C. Hal ini diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Kristanti (2017) mengenai daya simpan susu pasteurisasi berkisar antara 10 sampai dengan 21 hari yang dipengaruhi oleh suhu

penyimpanan. Penelitian menunjukkan bahwa suhu penyimpanan 9°C memiliki daya simpan hanya sekitar 5 hari, sedangkan penyimpanan 4°C dapat mencapai sekitar 26 hari apabila jumlah mikroorganisme dari bahan baku rendah dan tidak terjadi kontaminasi pascapasteurisasi.

Penyimpanan susu pasteurisasi harus dikendalikan karena berkaitan dengan reaksi kimia dan aktivitas metabolisme mikroorganisme, termasuk peningkatan total keasaman serta penurunan pH yang meningkat seiring waktu dan suhu penyimpanan. Edwards *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa perbedaan suhu dan waktu penyimpanan adalah faktor utama yang memengaruhi kestabilan susu. Penelitian oleh Danah *et al.* (2019) menjelaskan suhu dingin pada penyimpanan susu pasteurisasi dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme hingga hari ke-7 disertai perubahan nilai pH dan keasaman pada susu.

Daya simpan susu pasteurisasi tidak hanya dipengaruhi oleh suhu dan waktu penyimpanan, akan tetapi faktor lainnya seperti kualitas bahan baku, jumlah bakteri awal, kondisi proses pengolahan, bahan pengemas, serta kontaminasi setelah proses pasteurisasi (Kristanti, 2017). Hal tersebut yang melandasi perlu dilakukannya analisis kualitas mikroorganisme pada setiap tahapan proses pasteurisasi, baik dari bahan baku hingga pengemasan. Pengujian dapat dilakukan dengan metode *Total Plate Count*, uji reduktase, dan uji pH. Hasil pengujian reduktase mempunyai korelasi dengan jumlah bakteri yang dibuktikan oleh penelitian Satria *et al.*, (2020) dengan waktu reduktase yang cepat pada susu segar menunjukkan banyaknya jumlah bakteri berkisar $7,9 \times 10^4$, sedangkan waktu reduktase yang lebih lama menunjukkan jumlah bakteri berkisar $3,8 \times 10^4$. Selain itu, uji pH merupakan salah

satu indikator penting kesegaran susu yang dapat dipengaruhi oleh aktivitas mikroorganisme yang menghasilkan asam.

Meskipun penelitian tentang susu pasteurisasi dan faktor-faktor yang mempengaruhi kualitas telah dilakukan sebelumnya, sebagian besar fokus pada evaluasi dampak suhu penyimpanan terhadap perubahan parameter tertentu secara terpisah. Selain itu, kajian komprehensif yang menggabungkan analisis mikrobiologis pada setiap tahapan proses pasteurisasi, perubahan keasaman dan pH susu, penetapan ambang batas pada setiap kondisi suhu penyimpanan dengan kriteria kerusakan terhadap pH dan total asam pada susu belum dilakukan, dan masih sangat terbatas pada literatur. Oleh karena itu, penelitian ini dirancang untuk mengisi gap tersebut dengan memberikan data komprehensif dan aplikatif mengenai kontrol kualitas dalam berbagai kondisi distribusi.

1.2 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efektivitas proses pasteurisasi dalam menurunkan jumlah mikroorganisme dan perubahan pH pada setiap tahapan proses pasteurisasi serta mengidentifikasi perubahan pH dan total asam pada susu pasteurisasi selama penyimpanan pada tiga kondisi suhu (4°C, 27°C, dan 50°C) untuk menentukan ambang batas konsumsi yang spesifik pada setiap kondisi penyimpanan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Susu sapi

Susu merupakan cairan yang dihasilkan dari sekresi kelenjar puting mammae yang tidak dikurangi atau ditambahkan bahan apapun. Bahan pangan seperti susu sesuai untuk kebutuhan manusia dan hewan karena mengandung zat nutrisi yang optimal, mudah dicerna, dan diserap secara sempurna (Resnawati, 2020). Hal ini menjadikan susu sebagai salah satu produk hasil peternakan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat sehari-hari karena bermanfaat bagi seluruh kalangan usia (Hidayat dan Anggraeni, 2021).

Susu adalah bahan pangan hampir sempurna yang diperoleh dari kelenjar mamalia seperti sapi, kambing, kerbau, dan jenis mamalia lainnya yang biasa dikonsumsi oleh masyarakat (Suciati dan Safitri, 2021). Zat-zat gizi yang terkandung pada susu, terutama susu sapi memiliki kandungan gizi yang lengkap. Komposisi rata-rata air susu sapi mengandung 3,3% protein, 3,8% lemak, 4,7% laktosa, 8,76% air, dan 0,7% vitamin dan mineral (Putri, 2016). Selain itu, tingginya kandungan gizi pada susu juga dapat menjadi sumber nutrisi bagi mikroorganisme yang dapat merubah karakteristik fisik dan kimiawi dari produk susu serta membahayakan bagi yang meminumnya (Hariono *et al.*, 2021).

2.2 Susu pasteurisasi

Susu murni dapat secara langsung dikonsumsi dengan memperhatikan higienitas dan keamanannya, namun perlakuan tertentu dapat dilakukan untuk memastikan susu tersebut lebih aman dari kontaminasi yang membahayakan. (Suciati dan Safitri, 2021). Pengolahan susu untuk mempertahankan mutu dan keamanan dapat dilakukan dengan proses pasteurisasi, dengan dua metode yaitu *Low Temperature Long Time* (LTLT) dengan pemanasan susu pada suhu 63–65°C selama 30 menit dan metode *High Temperature Short Time* (HTST) yaitu dengan pemanasan susu pada suhu 73 – 75 °C selama periode 15 – 16 detik (Dharmawan *et al.*, 2019.). Proses pasteurisasi tidak menyebabkan perubahan yang dibandingkan susu segar, karena pasteurisasi dirancang untuk meminimalkan kehilangan zat gizi serta mempertahankan sifat fisik dan cita rasa susu, sekaligus menurunkan jumlah mikroorganisme yang memperpanjang umur simpan (Rahmawati *et al.*, 2024).

Meskipun metode pengolahan ini efektif, terdapat beberapa keterbatasan. Salah satunya adalah daya tahan produk yang relatif singkat pada suhu ruang. Proses pasteurisasi susu memanfaatkan pemanasan dengan temperatur di bawah titik didih untuk membunuh kuman ataupun bakteri patogen, namun tidak dapat membunuh spora dari bakteri yang bersifat termoresisten atau tahan terhadap suhu tinggi (Faridah and Febrianti, 2019). Pasteurisasi berbeda dengan sterilisasi karena proses ini tidak membunuh seluruh mikroorganisme, melainkan menurunkan jumlah mikroorganisme hingga memenuhi batas keamanan yang ditetapkan oleh SNI 3951:2018 yaitu tidak melebihi jumlahnya hingga batas aman yaitu 3×10^4 CFU/mL. Hal ini menjadikan susu pasteurisasi tidak dapat bertahan pada suhu

ruang pada waktu yang lama sehingga susu sebaiknya dikonsumsi segera setelah proses pengolahan. Apabila dibiarkan terlalu lama, susu akan mengalami kerusakan disebabkan oleh bakteri yang memanfaatkan zat yang terkandung dalam susu untuk substrat pertumbuhan (Nisa *et al.*, 2022.).

Syarat mutu susu pasteurisasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat Mutu Susu Pasteurisasi Berdasarkan SNI 3951:2018

Karakteristik	Syarat	
	A	B
Bau	Khas	Khas
Rasa	Khas	Khas
Warna	Khas	Khas
Kadar lemak, % (bobot/bobot) min.	2,80	1,50
Kadar padatan tanpa lemak, % (bobot/bobot) min.	7,7	7,5
Uji Reduktase dengan methylene biru	0	0
Kadar protein, % (bobot/bobot) min.	2,5	2,5
Uji fosfatase	0	0
Total Plate Count (TPC), maks.	3×10^4	3×10^4
Coliform presumptive MPH/ml, maks.	10	10
Logam berbahaya		
As (ppm) maks.	1	1
Pb (ppm) maks.	1	1
Cu (ppm) maks.	2	2
Zn (ppm) maks.	5	5
Bahan pengawet	Sesuai dengan peraturan Menteri Kesehatan R.I No. 235/Men. Kes./Per/IV/79	

Sumber: Badan Standardisasi Nasional (SNI)

Keterangan: A = Susu pasteurisasi tanpa penyedap cita rasa

B = Susu pasteurisasi dengan penyedap cita rasa

Susu pasteurisasi dapat dioptimalkan melalui penerapan suhu pasteurisasi dan kondisi penyimpanan yang tepat untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme serta mempertahankan kualitas produk selama masa simpan. Meskipun telah mengalami proses pasteurisasi, perubahan mutu masih dapat terjadi selama

penyimpanan akibat aktivitas mikroorganisme maupun reaksi kimia yang memengaruhi karakteristik susu. Berdasarkan standar yang berlaku mengenai susu pasteurisasi (SNI 3951:2018) dapat dilakukan uji TPC dan reduktase untuk menganalisis kualitas susu pasteurisasi. Selain itu, dapat dilakukan pengujian yang mendukung seperti pH dan total asam untuk menentukan mutu dan umur simpan susu pasteurisasi.

2.3 Total Plate Count (TPC)

Susu pasteurisasi merupakan bahan pangan yang rentan terhadap kontaminasi mikroorganisme. Jumlah mikroorganisme yang terdapat dalam susu segar memengaruhi kualitas susu pasteurisasi yang dihasilkan. Metode yang dapat digunakan dalam menentukan mutu mikrobiologi adalah *Total Plate Count*. Prinsip metode TPC adalah sel mikroorganisme yang masih hidup dan ditempatkan pada media agar, sel tersebut akan berkembang biak membentuk koloni makroskopis yang bisa terlihat secara langsung tanpa memerlukan bantuan alat seperti mikroskop (Rizki *et al.*, 2022). Proses pasteurisasi susu dapat menurunkan log mikroorganisme sebesar 3 hingga 5 log, serta dapat mengeliminasi bakteri patogen tanpa menghilangkan semua mikroflora. Penelitian Priyanto *et al.* (2021) menunjukkan kandungan TPC pada susu segar dapat mencapai 5,267 log cfu/ml. Sementara itu, standar SNI 01-3951-1995 menyebutkan bahwa batas maksimal cemaran TPC pada susu pasteurisasi adalah sebesar 4,477 log cfu/mL.

2.4 Uji Reduktase

Pengujian reduktase dapat dilakukan untuk memperkuat hasil pengujian *Total Plate Count*. Prinsip dari pengujian ini adalah mengamati lama waktu perubahan warna biru menjadi warna putih setelah sampel susu dihomogenkan dengan larutan *methylene blue* (Wiranti *et al.*, 2022). Berdasarkan Standar Nasional Indonesia, hasil uji reduktase susu dikatakan baik apabila perubahan warna terjadi di atas 5 jam. Perubahan warna tersebut didasari oleh kemampuan bakteri di dalam susu untuk tumbuh dan memanfaatkan oksigen terlarut, dan menyebabkan penurunan kekuatan oksidasi-reduksi sehingga warna biru metilen yang ditambahkan tereduksi menjadi putih metilen (Arjadi *et al.*, 2016). Kualitas susu yang akan diuji ditentukan oleh waktu reduksi, semakin cepat waktu reduksinya menandakan semakin banyak bakteri yang terdapat pada susu. Penelitian yang dilakukan Rihsanny *et al.* (2025) menunjukkan bahwa susu yang dipasteurisasi dengan baik memerlukan waktu 6 jam untuk mereduksi *methylene blue* dan diperkuat oleh hasil *total plate count* yang rendah.

2.5 Nilai pH

Nilai pH adalah tingkatan keasaman yang menggambarkan jumlah ion H^+ dari asam pada susu akibat pertumbuhan mikroorganisme. Danah *et al.* (2019) menyatakan bahwa pH mempunyai hubungan erat dengan pertumbuhan bakteri dan juga dipengaruhi oleh suhu dan lama waktu penyimpanan. Tinggi rendahnya nilai pH disebabkan oleh total asam yang dihasilkan dari penguraian laktosa oleh bakteri dan aktivitas enzim yang terkandung di dalam susu (Resnawati, 2020). Peningkatan

nilai pH pada susu pasteurisasi dibandingkan dengan susu segar dapat disebabkan oleh aktivitas mikroorganisme yang tahan pada suhu tinggi, hal ini dikarenakan proses pasteurisasi tidak dapat mematikan semua bakteri patogen yang ada didalamnya. Nilai pH susu pasteurisasi tidak berbeda jauh dengan pH susu sebelum dilakukan pasteurisasi, yaitu berkisar di bawah pH netral. Hal tersebut dikarenakan proses pemanasan tidak berpengaruh terhadap nilai pH, namun dapat mengalami penurunan selama waktu penyimpanan (Maharani *et al.*, 2020).

2.6 Total Asam Titrasi

Total asam titrasi merupakan jumlah asam secara keseluruhan yang terdapat dalam suatu larutan, umumnya diikuti oleh penurunan pH akibat peningkatan keasaman. Pengujian total asam titrasi dilakukan untuk mengetahui konsentrasi asam dari sampel susu yang digunakan. Kenaikan total asam dapat terjadi seiring lamanya penyimpanan produk (Suharto *et al.*, 2021). Hal ini diperkuat dengan pernyataan Kusumaningrum *et al.* (2025) bahwa nilai total asam semakin meningkat selama waktu penyimpanan akibat aktivitas mikroorganisme yang mengubah laktosa menjadi asam laktat.

Total asam ditentukan menggunakan titrasi asam basa dengan cara menetralkan asam yang terdapat dalam sejumlah sampel dengan basa yang sudah distandarisasi dan indikator fenolftalein. Reaksi antara indikator PP dengan larutan NaOH akan membentuk perubahan warna pada sampel menjadi merah muda dan ditandai sebagai titik akhir titrasi (Wati *et al.*, 2022). Hidayat (2018) menjelaskan

mengenai standar yang ditetapkan Badan Standardisasi Nasional bahwa total asam dalam susu normalnya hanya berkisar 0,10-0,26%.

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 (Empat) bulan, yaitu pada bulan Januari – April 2026. Penelitian dilakukan di Laboratorium CV XYZ, Kec. Getasan, Kabupaten Semarang. Materi dan metode penelitian diuraikan di bawah ini.

3.1 Materi

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi susu segar yang diperoleh dari KUD Cepogo, KUD Boyolali, dan KUD Capita, susu pasteurisasi varian *plain* 250 ml, buffer pH, indikator PP 1%, NaOH 0,1 N (LabMart Pro, Indonesia), *Plate Count Agar* (PCA) (Himedia, India), NaCl fisiologis (Himedia, India), larutan methylene-blue, aquadest steril. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah buret merk Pyrex, statif dan klem, labu erlenmeyer, pipet volume, tabung reaksi, cawan petri, autoklaf (Certoclave, Austria), mikropipet (DragonLab, China), *bluetip*, vortex (Dlab, China), inkubator (Memmert, Jerman), lemari steril, *waterbath* (Memmert, Jerman).

3.2 Metode Penelitian

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

3.2.1 Rancangan Penelitian

Dalam rancangan penelitian terdapat dua bagian analisis, yaitu analisis pada setiap tahapan pasteurisasi dan penyimpanan produk pasca pasteurisasi. Analisis pada setiap tahapan pasteurisasi menggunakan analisis deskriptif meliputi pengujian pH, reduktase, dan *total plate count* yang dilakukan pada enam tahapan proses pengolahan susu, yaitu tahap prapasteurisasi (penerimaan susu segar, penyimpanan susu dalam *cooling tank*, dan penanganan susu pada tahap *mixing*), pasteurisasi, serta tahap pascapasteurisasi (susu sesaat setelah pasteurisasi dan susu setelah dikemas).

Selanjutnya, sampel yang telah dikemas disimpan pada tiga suhu penyimpanan dengan lima variasi waktu penyimpanan. Analisis data dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktor, yaitu suhu dan lama penyimpanan untuk mengetahui pengaruh kedua faktor tersebut terhadap nilai pH dan total asam. Setiap analisis dilakukan empat kali ulangan.

Tabel 2. Rancangan Penelitian Perubahan Sifat Kimia Susu Pasteurisasi

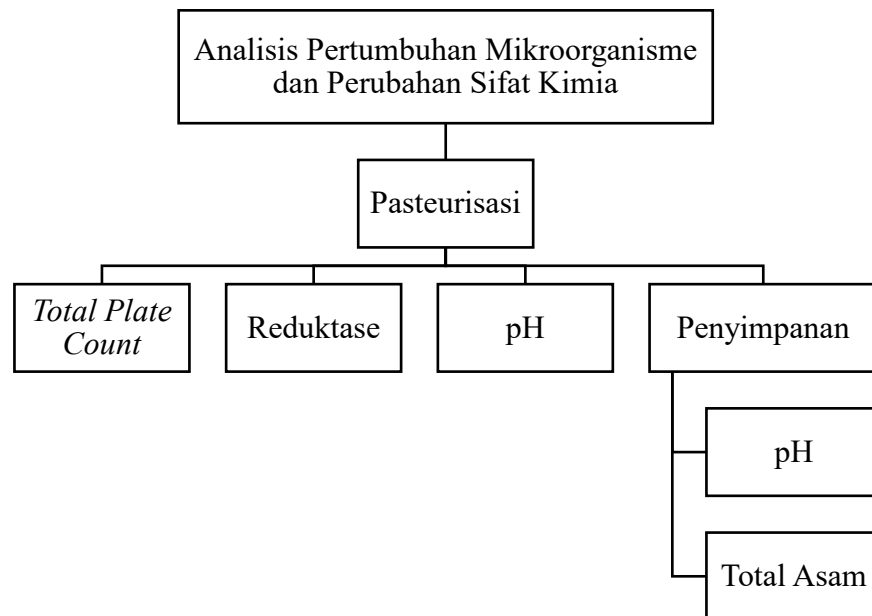
Waktu Suhu	Lama Penyimpanan (hari)								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
4°C	✓		✓		✓		✓		✓
27°C	✓	✓	✓	✓	✓				
50°C	✓	✓	✓	✓	✓				

Penggunaan perlakuan suhu dan waktu penyimpanan 4°C, 27°C, dan 50°C sebagai representasi kondisi penyimpanan dan distribusi susu pada kondisi suhu yang berbeda untuk mengetahui bagaimana peningkatan suhu mempercepat perubahan sifat kimia selama penyimpanan. Suhu 4°C merupakan kondisi penyimpanan dingin dan *cold chain* yang seharusnya digunakan untuk mempertahankan mutu susu pasteurisasi, suhu 27°C mewakili suhu ruang yang menggambarkan kondisi yang dapat terjadi selama distribusi atau penyimpanan oleh konsumen, sedangkan suhu 50°C digunakan sebagai kondisi suhu tinggi untuk memberikan gambaran kondisi yang lebih ekstrem dalam perubahan sifat kimia pasteurisasi. Sebelum dilakukan pengamatan, sampel terlebih dahulu ditempatkan selama 1 jam pada suhu perlakuan untuk memastikan sampel beradaptasi dengan kondisi suhu penyimpanan yang ditetapkan. Setelah itu, pengamatan dilakukan setiap hari. Waktu pengamatan ditentukan berdasarkan waktu kritis perubahan karakteristik produk, yaitu ketika mulai terjadi perubahan yang dapat diamati pada parameter mikrobiologis maupun kimia.

3.2.2 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang akan dilaksanakan diawali dengan pengambilan sampel pada setiap tahapan proses pasteurisasi, meliputi susu segar, susu dalam tangki pendingin (*cooling tank*), susu pada tahap *mixing*, susu selama proses pasteurisasi, susu sesaat setelah proses pasteurisasi, serta susu setelah proses pengemasan untuk dilakukan pengujian *Total Plate Count*, uji reduktase, dan pH

serta penyimpanan produk pada perlakuan suhu dan waktu penyimpanan untuk dilihat perubahan pH dan Total Asam.



Ilustrasi 1. Prosedur Penelitian dan Pengujian Parameter

3.2.3 Pengujian Parameter

Pengujian parameter pada penelitian ini meliputi total pertumbuhan mikroorganisme pada tahapan pasteurisasi serta perubahan sifat mikrobiologi selama penyimpanan. Total pertumbuhan mikroorganisme akan dilakukan pengujian *Total Plate Count*, uji reduktase, dan uji pH. Sementara itu, perubahan selama penyimpanan akan diuji dengan uji pH dan total asam.

3.2.3.1 *Total Plate Count*

Pengujian nilai *Total Plate Count* mengacu pada metode yang dilakukan oleh Mulyati *et al.*, (2019). Pengujian diawali dengan melakukan pengenceran terhadap sampel susu terlebih dahulu pada tabung reaksi menggunakan larutan pengenceran NaCl fisiologis 0,85% sampai dengan pengenceran ke 10^4 dan dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya, inokulasi dilakukan secara duplo dengan metode *pour plate* pada pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dengan mikropipet dan dimasukkan ke dalam cawan petri. Kemudian, masing-masing cawan petri tersebut dituangkan media PCA (Plate Count Agar) sebanyak 10-15 ml, dan dihomogenkan secara perlahan dengan gerakan membentuk angka delapan. Campuran didiamkan memadat setelah itu diinkubasi di dalam suhu 37°C selama 48 jam dengan kondisi cawan petri terbalik. Sebelum melakukan uji TPC, larutan pengencer NaCl fisiologis 0,85% dan media PCA disterilisasi terlebih dahulu menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Penghitungan jumlah mikroorganisme dilakukan setelah masa inkubasi menggunakan metode penghitungan manual. Seluruh koloni yang tumbuh dalam setiap cawan petri dihitung, dengan perhitungan:

$$\text{Jumlah koloni mL} = \text{jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

3.2.3.2 Uji Reduktase

Pengujian uji reduktase dilakukan dengan metode (Hidayat dan Anggraeni, 2023) dengan menggunakan MBRT. Sampel susu sebanyak 9 ml diambil menggunakan pipet steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, sampel ditetesi dengan 1 mL larutan metilen blue dan dihomogenkan secara perlahan hingga merata. Tabung reaksi akan diinkubasi pada *waterbath* dan diamati perubahan warnanya pada beberapa jam sampai terjadi dekolorisasi. Semakin cepat perubahan warna menandakan semakin tinggi aktivitas mikroorganisme yang terdapat dalam sampel susu.

3.2.3.3 Nilai pH

Pengujian nilai pH mengacu pada metode Kholifah dan Nuraeni (2025), dengan menggunakan pH meter yang di kalibrasi menggunakan larutan buffer standar (pH 4,7, dan 10). Sebanyak 20 ml susu dimasukkan ke dalam gelas beaker kemudian elektroda pH meter dimasukkan ke dalam sampel hingga terendam sepenuhnya, nilai pH akan muncul dan ditunggu hingga pembacaan stabil dan dicatat.

3.2.3.4 Total Asam Titrasi

Pengujian total asam titrasi mengacu pada metode terdahulu AOAC (2025) dalam (Kusumaningrum *et al.*, 2025), total asam diuji dengan metode titrasi dengan tahapan 20 ml sampel susu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 3

tetes indicator PP 1% lalu dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda yang tidak hilang. Total asam dihitung menggunakan rumus:

$$Total\ Asam\ (\%) = \frac{ml\ NaOH \times N\ NaOH \times 0,09}{Berat\ sampel} \times 100\%$$

3.2.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian pada tahap pasteurisasi akan dihitung rata-rata dan standar deviasi dari pengulangan, dan kemudian dianalisis secara deskriptif. Hasil pengujian parameter pH dan total asam selama penyimpanan dianalisis menggunakan regresi linier sederhana pada aplikasi Microsoft Excel 2019 dengan dihitung rata-rata dan standar deviasi. Hasil analisis disajikan dalam bentuk grafik scatter plot dengan trendline dan error bars kemudian ditentukan persamaan regresi linier dan koefisien determinasi (R^2).