

**Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) dan Penyimpanan pada Suhu 4°C terhadap Aktivitas Antioksidan Serta Antibakteri pada Yogurt Susu Sapi**

**Skripsi**



**Regina Londong Pare**

**31190301**

**Program Studi Biologi  
Fakultas Bioteknologi  
Universitas Kristen Duta Wacana  
Yogyakarta  
2023**

Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) dan Penyimpanan pada Suhu 4°C terhadap Aktivitas Antioksidan Serta Antibakteri pada Yogurt Susu Sapi

**Skripsi**

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh

Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana



**Regina Londong Pare**

**31190301**

**Program Studi Biologi**

**Fakultas Bioteknologi**

**Universitas Kristen Duta Wacana**

**Yogyakarta**

**2023**

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI**  
**SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Regina Londong Pare  
NIM : 31190301  
Program studi : Biologi  
Fakultas : Bioteknologi  
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

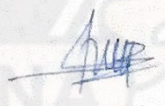
**“Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) dan Penyimpanan pada Suhu 4°C terhadap Aktivitas Antioksidan Serta Antibakteri pada Yogurt Susu Sapi”**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta  
Pada Tanggal : 30 Juni 2023

Yang menyatakan

  
(Regina Londong Pare)

31190301

# LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

PENGARUH PENAMBAHAN EKSTRAK UBI JALAR UNGU (*Ipomoea batatas* L.) DAN PENYIMPANAN PADA SUHU 4°C TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SERTA ANTIBAKTERI PADA YOGURT SUSU SAPI

Telah diajukan dan dipertahankan oleh :

**REGINA LONDONG PARE**

**31190301**

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada tanggal 15 Juni 2023

**Nama Dosen**

**Tanda Tangan**

1. Dr. Charis Amaranitini, M.Si. : \_\_\_\_\_  
(Ketua Tim Penguji/ Dosen Pembimbing II)
2. Tri Yahya Budiarmo, S.Si., M.P. : \_\_\_\_\_  
(Dosen Pembimbing I/ Tim Penguji)
3. Dr. Dhira Satwika, M.Sc. : \_\_\_\_\_  
(Tim Penguji)

**DUTA WACANA**

Yogyakarta, 26 Juni 2023

**Disahkan Oleh:**



Dekan

Ketua Program Studi Biologi

**Dr. Dhira Satwika, M.Sc.**

**Dwi Adityarini, S.Si., M. Biotech. M.Sc.**

**DUTA WACANA**

## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) dan Penyimpanan pada Suhu 4°C terhadap Aktivitas Antioksidan Serta Antibakteri pada Yogurt Susu Sapi

Nama Mahasiswa : Regina Londong Pare

Nomor Induk Mahasiswa : 31190301

Hari/ Tanggal Ujian : Kamis/ 15 Juni 2023

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama



Tri Yahya Budiarmo, S.Si., M.P.  
NIK: 934E209

Pembimbing Pendamping



Dr. Charis Amarantini, M.Si.  
NIK: 914E155

Ketua Program Studi



Dwi Adityarini, S.Si., M. Biotech. M.Sc.  
NIK: 214E556

DUTA WACANA

## PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Regina Londong Pare

NIM : 31190301

Menyatakan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

**“Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) dan Penyimpanan pada Suhu 4°C terhadap Aktivitas Antioksidan Serta Antibakteri Yogurt Susu Sapi”**

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila melakukan duplikasi skripsi atau karya ilmiah yang sudah ada.

Yogyakarta, 25 Mei 2023



Regina Londong Pare

31190301

## KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, penyertaan dan karunia-Nya, penyusunan skripsi yang berjudul “Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) dan Penyimpanan pada Suhu 4°C terhadap Aktivitas Antioksidan Serta Antibakteri pada Yogurt Susu Sapi” sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Sains di Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta.

Perjalanan panjang telah dilalui penulis hingga naskah skripsi ini dapat selesai dengan baik. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan selesai tanpa berkat penyertaan-Nya serta dukungan, nasehat dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, ijinlah penulis untuk mengucapkan terima kasih yang kepada semua pihak yang telah berperan dalam penyelesaian penulisan naskah skripsi ini, yaitu:

1. Kedua orang tua, Bapak Julmam Londong Pare dan Mama Orva Pasau’ serta kakak Tarru’, Tian, Ekky dan Patrik yang selalu ada, senantiasa mendoakan, memberikan dukungan serta motivasi selama penulis berproses di Fakultas Bioteknologi hingga mampu menyelesaikan naskah skripsi ini.
2. Bapak Dr. Dhira Satwika, M.Sc. selaku Dekan Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana serta seluruh dosen yang telah membimbing dan memberikan banyak ilmu selama penulis mengenyam pendidikan di Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana.
3. Bapak Tri Yahya Budiarmo, S.Si., M.P. dan Ibu Dr. Charis Amarantini, M.Si selaku dosen pembimbing yang sudah rela meluangkan waktu, tenaga serta bersedia membagikan ilmu, saran, nasehat, motivasi selama membimbing dan mendampingi penulis dari awal penelitian hingga penulisan naskah skripsi.
4. Kak Dewi, Pak Hari, Kak Ester dan seluruh laboran di Laboratorium Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana yang sudah banyak membantu penulis selama melaksanakan penelitian.
5. Adinda, Rindyani, teman-teman *Nine One*, teman-teman Bioteknologi angkatan 2019, teman-teman Kost Puteri Eddy dan seluruh sahabat yang sudah

banyak membantu, mendoakan, memberikan dukungan serta motivasi sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi dengan baik.

Kiranya Tuhan yang membalas semua jasa dan kebaikan yang telah diberikan. Penulis menyadari masih banyak kekurangan baik dari segi pengalaman, pengetahuan ataupun tinjauan pustaka dalam penulisan skripsi ini. Untuk itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun. Semoga karya ini menjadi berkat bagi banyak orang.

Yogyakarta, 25 Mei 2023

Regina Londong Pare





## DAFTAR ISI

SAMPUL DALAM.....	i
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
PERNYATAAN INTEGRITAS .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK .....	xii
ABSTRACT.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Yogurt.....	6
2.2. Bakteri Asam Laktat.....	8
2.2.1 <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i> .....	10
2.2.2 <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	10
2.2.3 <i>Streptococcus thermophilus</i> .....	11
2.3. Ubi Jalar Ungu ( <i>Ipomea batatas</i> ) .....	11
2.4. Antioksidan .....	12
2.5. Bakteri Patogen .....	13
2.6. Metode Uji Aktivitas Antioksidan .....	14
2.7. Metode Uji Aktivitas Antibakteri.....	16
2.8. Spektrofotometri UV-VIS .....	16
BAB III METODE PENELITIAN.....	18
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	18
3.2. Alat .....	18

3.3.	Bahan.....	18
3.4.	Peta Jalan Penelitian.....	18
3.5.	Preparasi dan Pembuatan Sari Ubi Jalar Ungu.....	19
3.6.	Pembiakan Bakteri Asam Laktat dan Bakteri Patogen.....	19
3.7.	Konfirmasi Isolat Bakteri pada Media Selektif.....	20
3.8.	Pembuatan Yogurt.....	21
3.9.	Uji Kimia Yogurt.....	22
3.10.	Ekstraksi Crude Extract Asam (CEA).....	23
3.11.	Uji Aktivitas Antibakteri.....	23
3.12.	Uji Aktivitas Antioksidan.....	24
3.13.	Analisis Data Aktivitas Antioksidan dan Perhitungan Nilai IC <sub>50</sub> .....	25
3.14.	Analisis Data.....	25
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>26</b>
4.1	Konfirmasi Isolat Bakteri Asam Laktat.....	26
4.2	Konfirmasi Bakteri Patogen.....	28
4.3	Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu dan Penyimpanan pada suhu 4°C terhadap Total Asam Laktat dan Nilai pH.....	31
4.4	Aktivitas Antioksidan Yogurt.....	33
4.5	Aktivitas Antibakteri Yogurt.....	37
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>		<b>41</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>42</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>48</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Karakteristik kimia yogurt yang baik sesuai SNI 2009 .....	8
Tabel 3 1 Perlakuan Pembuatan Yogurt.....	22
Tabel 4.1 Pengaruh Penambahan dan penyimpanan terhadap total asam yogurt ....	31
Tabel 4.2 Pengaruh Penambahan dan Penyimpanan terhadap nilai pH yogurt .....	32
Tabel 4.3 Aktivitas Antioksidan (% inhibisi terhadap DPPH) Yogurt .....	34
Tabel 4.4 Nilai IC <sub>50</sub> Yogurt Tanpa Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu.....	36
Tabel 4.5 Nilai IC <sub>50</sub> Yogurt dengan Penambahan 5% Ekstrak Ubi Jalar Ungu.....	36
Tabel 4.6 Nilai IC <sub>50</sub> Yogurt dengan Penambahan 10% Ekstrak Ubi Jalar Ungu.....	36
Tabel 4.7 Nilai IC <sub>50</sub> Yogurt dengan Penambahan 15% Ekstrak Ubi Jalar Ungu.....	36
Tabel 4.8 Nilai IC <sub>50</sub> Asam Askorbat.....	37



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Kimia Antosianin .....	13
Gambar 2.2 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan (Trisantini, 2017).....	16
Gambar 3.1 Peta Jalur Penelitian .....	19
Gambar 4.1 <i>L. bulgaricus</i> FNCC 0040 pada media MRSA+CaCO <sub>3</sub> .....	27
Gambar 4.2 Morfologi <i>L. bulgaricus</i> FNCC 0040 pada perbesaran 1000x.....	27
Gambar 4.3 <i>S. thermophilus</i> FNCC 0041 pada media MRSA+CaCO <sub>3</sub> .....	27
Gambar 4.4 Morfologis <i>S. thermophilus</i> FNCC 0041 pada perbesaran 1000x .....	27
Gambar 4.5 <i>L. plantarum</i> S1K2T1 pada media MRSA +CaCO <sub>3</sub> 1% .....	27
Gambar 4.6 Morfologi <i>L. plantarum</i> S1K2T1 pada perbesaran 1000x .....	27
Gambar 4.7 <i>E. coli</i> ATCC 25922 pada media CCA .....	29
Gambar 4.8 Morfologi <i>E. coli</i> ATCC 25922 pada perbesaran 1000x .....	29
Gambar 4.9 <i>S. typhi</i> NCTC 786 pada media SSA.....	29
Gambar 4.10 Morfologi <i>S. typhi</i> NCTC 786 pada perbesaran 1000x .....	29
Gambar 4.11 <i>S. aureus</i> ATCC 25923 pada media MSA .....	29
Gambar 4.12 <i>S. aureus</i> ATCC pada perbesaran 1000x .....	29
Gambar 4.13 Aktivitas Antibakteri Yogurt berbagai perlakuan .....	38



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Strater <i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i> & <i>L. plantarum</i> S1K2T1 .....	48
Lampiran 2. Yogurt Tanpa Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu.....	48
Lampiran 3. Yogurt dengan Penambahan 5% ekstrak ubi jalar ungu.....	48
Lampiran 4. Yogurt dengan penambahan 10% Ekstrak ubi jalar ungu .....	48
Lampiran 5. Yogurt dengan Penambahan 15% Ekstrak Ubi Jalar Ungu.....	48
Lampiran 6. Pengukuran Nilai pH .....	49
Lampiran 7. Uji Total Asam Laktat .....	49
Lampiran 8. Perlakuan Penyimpanan Sampel Yogurt Berbagai Perlakuan.....	49
Lampiran 9. Koleksi Crude Extract Asam .....	50
Lampiran 10. Uji Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat.....	50
Lampiran 11. Uji Aktivitas Antioksidan Sampel Yogurt.....	50
Lampiran 12. Perhitungan TAT H-0 dan H-2.....	51
Lampiran 13. Perhitungan TAT H-4 dan H-6.....	51
Lampiran 14 Perhitungan % Inhibisi Yogurt P1 (0% Ekstrak).....	52
Lampiran 15. Kurva Standar Yogurt P1 .....	52
Lampiran 16. Perhitungan % Inhibisi Yogurt P2 (5% Ekstrak).....	52
Lampiran 17. Kurva Standar Yogurt P2 .....	53
Lampiran 18. Perhitungan % Inhibisi Yogurt P3 (10% Ekstrak).....	53
Lampiran 19. Kurva Standar Yogurt.....	53
Lampiran 20. Perhitungan % Inhibisi Yogurt P4 (15% Ekstrak).....	54
Lampiran 21. Kurva Standar Yogurt P4 .....	54
Lampiran 22. Perhitungan % Inhibisi Asam Askorbat .....	54
Lampiran 23. Kurva Standar Asam Askorbat .....	55
Lampiran 24. Analisa Normalitas Distribusi Data pH yogurt.....	55
Lampiran 25. Analisa ANOVA Perlakuan terhadap nilai pH.....	55
Lampiran 26. Analsa rata-rata Nilai pH .....	56
Lampiran 27. Analisa ANOVA Perlakuan terhadap Total Asam Tertitrasi .....	56
Lampiran 28. Analisa Normalitas Distrubusi Data TAT .....	56
Lampiran 29. Analisa Rata-Rata Total Asam Tertitrasi.....	56
Lampiran 30. Analisa Anova Perlakuan terhadap % inhibisi .....	57
Lampiran 31. Analisa Rata-rata nilai % inhibisi Setiap Perlakuan.....	57
Lampiran 32. Analisa Anova Penyimpanan terhadap % inhibisi .....	58
Lampiran 33. Analisa Rata-rata nilai %inhibisi selama Penyimpanan .....	58

## ABSTRAK

### **Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.*) dan Penyimpanan pada Suhu 4°C terhadap Aktivitas Antioksidan Serta Antibakteri Yogurt Susu Sapi**

REGINA LONDONG PARE

Yogurt adalah salah satu produk fermentasi susu oleh bakteri asam laktat dan memiliki komponen nutrisi yang bersifat baik untuk kesehatan manusia. Inovasi pembuatan produk yogurt dengan penambahan kultur probiotik serta bahan pangan dengan kandungan bioaktif dapat meningkatkan kualitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak ubi jalar ungu serta perlakuan penyimpanan pada suhu 4°C terhadap aktivitas antioksidan serta antibakteri pada yogurt. Dibuat 4 perlakuan dalam pembuatan yogurt, yaitu tanpa penambahan ekstrak ubi jalar ungu dan dengan penambahan 5%, 10% dan 15% (v/v). Seluruh perlakuan difermentasi oleh starter *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* dan *L. plantarum* S1K2T1. Selanjutnya yogurt pada semua perlakuan disimpan pada suhu 4°C hingga 6 hari dan dilakukan pengujian parameter kimia (nilai pH dan total asam tertitrasi), uji aktivitas antioksidan dan antibakteri. Hasil pengukuran pH pada semua produk yoghurt dicapai pada nilai 4,2-4,5 dan total asam sebesar 0,56-0,78%. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan menunjukkan penambahan ekstrak ubi jalar ungu berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan aktivitas antioksidan. Hasil tertinggi pada perlakuan penambahan 15% dengan total antioksidan 70,98% dan IC<sub>50</sub> sebesar 13,96 ppm yang setara dengan 2,06 kali asam askorbat 200ppm. Penyimpanan selama 6 hari memberikan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan tetapi tidak berbeda secara signifikan sedangkan uji antibakteri dari 4 perlakuan menunjukkan adanya indikasi penghambatan terhadap bakteri *E. coli*, *S. typhi* dan *S. aureus* meskipun sangat kecil.

**Kata Kunci:** Yogurt, Antioksidan, Antibakteri, Ubi Jalar Ungu, *Lactobacillus plantarum*

## ABSTRACT

### **The Effect of Adding Purple Sweet Potato Extract (*Ipomea batatas* L.) and Storage at 4°C on Antioxidant and Antibacterial Activities of Cow's Milk Yogurt**

REGINA LONDONG PARE

Yogurt is one of the fermented dairy products produced by lactic acid bacteria from milk, which contains beneficial nutritional components for human health. The innovation of yogurt production with the addition of probiotic cultures and food ingredients containing bioactive compounds can enhance its quality. This research aims to investigate the effect of adding purple sweet potato extract and storage treatment at 4°C on the antioxidant and antibacterial activities of yogurt. Four treatments were conducted in yogurt production, namely without the addition of purple sweet potato extract and with the addition of 5%, 10%, and 15% (v/v) extract. All treatments were fermented using *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, and *L. plantarum* S1K2T1 as starter cultures. Subsequently, the yogurt was stored at 4°C for 6 days, and chemical parameters (pH value and total titratable acidity), antioxidant and antibacterial activities were examined. The pH measurements for all yogurt products were achieved within the range of 4.2-4.5, and the total acidity values were between 0.56 and 0.78%. The measurements of antioxidant activity indicated that the addition of purple sweet potato extract significantly influenced the increase in antioxidant activity. The highest result was observed in the treatment with 15% addition, showing a total antioxidant activity of 70.98% and an IC<sub>50</sub> value of 13.96 ppm, which is equivalent to 2.06 times that of 200 ppm ascorbic acid. The 6-day storage had an effect on antioxidant activity, but it was not significantly different. The antibacterial test of the four treatments showed indications of inhibition against *E. coli*, *S. typhi*, and *S. aureus* bacteria, although the effect was very weak.

**Keywords:** Yogurt, Antioxidant, Antibacterial, Purple Sweet Potato, *Lactobacillus plants*

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Susu sapi merupakan salah satu bahan pangan yang tinggi akan kandungan makronutrien, mineral, vitamin, dan senyawa bioaktif penting lainnya sehingga banyak dikonsumsi oleh masyarakat dunia untuk meningkatkan kesehatan (Cimmino *et al.*, 2023). Meskipun demikian, susu sapi memiliki masa simpan yang relatif singkat karena mudah mengalami kerusakan bahkan dapat menjadi sumber penyakit bagi manusia jika tidak diolah dengan metode yang benar dan kurang higienis (Navyanti *et al.*, 2015). Upaya yang dapat dilakukan untuk memperpanjang masa simpan susu adalah dengan pengolahan baik secara pasteurisasi (Setyawardani *et al.*, 2021) ataupun dengan fermentasi menggunakan bakteri asam laktat menjadi produk yogurt (Sun *et al.*, 2023).

Teknologi fermentasi oleh bakteri asam laktat telah banyak dimanfaatkan untuk memperpanjang masa simpan produk makanan karena telah terbukti memiliki aktivitas antijamur dan antibakteri yang berperan sebagai agen bio-pengawet (Dopazo *et al.*, 2023). Selain sebagai agen bio-pengawet, fermentasi oleh BAL pada susu juga akan meningkatkan nilai nutrisi yang memberikan dampak menguntungkan bagi kesehatan manusia (Sun *et al.*, 2023). Bakteri asam laktat memiliki kemampuan dalam melakukan perubahan komponen karbohidrat, protein serta lemak pada susu sapi menjadi bentuk yang lebih sederhana sehingga akan memudahkan tubuh untuk mencernanya. Konversi protein akan menghasilkan peptida bioaktif berupa kasein dan protein *whey* yang dapat berperan sebagai antioksidan karena mampu menstabilkan dan menghentikan reaksi berantai radikal (Rahmawati *et al.*, 2016).

Bakteri asam laktat yang umum digunakan sebagai agen fermentasi pada pembuatan produk yogurt yaitu *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus*



*thermophilus*. Hal ini didasarkan pada kemampuan kedua bakteri tersebut menghasilkan asam laktat sebagai produk utama tanpa produk samping lainnya. Seiring dengan perkembangan zaman dan munculnya gaya hidup sehat di kalangan masyarakat, mendorong pengembangan pada pembuatan produk yogurt untuk menghadirkan produk dengan sifat fungsional lebih baik. Penambahan probiotik merupakan salah satu inovasi yang telah dilakukan. *Lactobacillus plantarum* merupakan probiotik yang mampu meningkatkan produksi asam laktat selama proses fermentasi susu serta mampu menghasilkan bakteriosin antimikroba yang dapat berperan sebagai antibakteri. *L. plantarum* juga mampu bertahan pada kondisi usus yang asam bahkan mampu menurunkan bakteri patogen penyebab diare (Nugrahani *et al.*, 2020).

Selain inovasi melalui penambahan starter probiotik pada pembuatan yogurt, penamahan beberapa bahan pangan juga telah dilakukan untuk memperoleh yogurt dengan citarasa yang lebih nikmat dan bervariasi, juga tentunya dapat meningkatkan nilai nutrisi yang baik kesehatan manusia. Ubi jalar ungu merupakan salah satu umbi-umbian yang kaya akan antosianin, sebuah senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antioksidan, antibakteri, dan anti-kanker (Ramadhani *et al.*, 2018). Ubi jalar ungu juga memiliki warna ungu yang khas sehingga dapat mempercantik tampilan yogurt. Antosianin yang ditemukan pada ubi jalar ungu merupakan turunan mono atau diasetil 3-(2-glukosil) glukosil-5-glukosil peonidin. Dengan melakukan reaksi penstabilan terhadap radikal bebas, antosianin dapat berfungsi sebagai antioksidan dan mencegah kanker, penyakit degeneratif, serta penuaan. Antosianin juga terbukti dapat mencegah pertumbuhan bakteri tertentu (Rath *et al.*, 2016).

Beberapa faktor seperti proses fermentasi, jenis susu, kultur starter, kemasan, kondisi penyimpanan dan bahan tambahan juga akan berpengaruh terhadap tekstur, sifat organoleptik, reologi dan struktur mikro yogurt (Fazilah, 2018). Viskositas susu, *Water Holding Capacity*, serta sineresis

merupakan faktor penting yang perlu dipertimbangkan dalam pemilihan jenis susu. Berdasarkan penelitian Setyawardani, 2021 profil susu ditinjau dari viskositas, WHC dan sinersis susu pada susu sapi komersil lebih baik jika dibandingkan susu sapi murni sehingga menghasilkan produk yogurt yang paling baik. Selain faktor tersebut, kemudahan dalam memperoleh susu sapi komersil juga merupakan salah satu alasan dalam penggunaannya.

Penelitian sebelumnya telah melakukan kajian terhadap pengaruh penambahan ubi jalar ungu konsentrasi (0, 5, 10,15)% terhadap karakteristik pH, total asam tertitrasi, viskositas dan total padatan terlarut. Hasil yang diperoleh yaitu konsentrasi terbaik untuk menghasilkan yogurt dengan karakteristik paling baik yaitu pada konsentrasi 10% (Sayuti, 2013). Juga penelitian yang dilakukan Mustika (2019) menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan yang signifikan seiring dengan peningkatan konsentrasi ubi jalar ungu yang digunakan. Dalam penelitian tersebut ubi jalar ungu yang ditambahkan dalam bentuk ubi ungu yang direbus kemudian dihaluskan dan menggunakan variasi konsentrasi 4%, 8% dan 12% dengan menggunakan starter *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus*.

Penelitian ini difokuskan pada potensi ubi jalar ungu dalam meningkatkan aktivitas antioksidan pada produk yogurt. Hal ini didasarkan pada beberapa penelitian sebelumnya yang telah membuktikan kemampuan ubi jalar ungu dalam meningkatkan aktivitas antioksidan serta memperbaiki kualitas yogurt. Juga dilakukan penambahan starter *L. plantarum* S1K2T1 sebagai probiotik untuk meningkatkan produksi asam laktat selama proses fermentasi serta memberikana efek antibakteri karena kemampuan bakteri tersebut dalam menghasilkan bakteriosin (Amarantini *et al.*, 2020).

Penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui kemampuan ubi jalar ungu dalam meningkatkan aktivitas antioksidan yogurt dengan menggunakan variasi konsentrasi 0, 5%, 10% dan 15%. Selanjutnya dilakukan penyimpanan pada suhu 4°C untuk mengetahui pengaruh perlakuan penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan yogurt serta dilakukan uji

aktivitas antibakteri untuk mengetahui potensi yogurt ubi jalar ungu yang diberi penambahan starter *L. plantarum* S1K2T1 dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* NCTC 786 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **1.2. Rumusan Masalah**

- 1.2.1. Apakah penambahan ekstrak ubi jalar ungu dapat meningkatkan aktivitas antioksidan pada yogurt susu sapi?
- 1.2.2. Apakah perlakuan penyimpanan pada suhu 4°C berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan yogurt?
- 1.2.3. Apakah penambahan ekstrak ubi jalar ungu pada yogurt susu sapi berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri pada *Eschericia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* NCTC 786 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

- 1.3.1. Untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak ubi jalar terhadap peningkatan aktivitas antioksidan pada yogurt susu sapi.
- 1.3.2. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan penyimpanan yogurt pada suhu 4°C terhadap aktivitas antioksidan yogurt.
- 1.3.3. Untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak ubi jalar terhadap aktivitas antibakteri pada *Eschericia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* NCTC 786 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

## **1.4. Manfaat Penelitian**

- 1.3.4. Untuk memberikan informasi mengenai pengaruh penambahan ekstrak ubi jalar ungu terhadap aktivitas antioksidan pada yogurt susu sapi.
- 1.3.5. Untuk memberikan informasi mengenai pengaruh penambahan ekstrak ubi jalar terhadap aktivitas antibakteri yogurt terhadap bakteri *Eschericia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* NCTC 786 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- 1.3.6. Pemanfaatan pangan lokal ubi jalar ungu menjadi produk inovasi yogurt tinggi kandungan antioksidan yang memiliki efek positif bagi kesehatan manusia.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Yogurt

Yogurt merupakan produk hasil fermentasi susu, baik dari bahan dasar susu hewani maupun susu nabati yang difermentasi menggunakan bakteri asam laktat (Arena *et al.*, 2015; Fazilah *et al.*, 2018). Yogurt sudah dikenal oleh masyarakat dunia sejak lama, sehingga digolongkan ke dalam produk fermentasi paling tua di dunia (Fatmawati, 2013). Bakteri asam laktat yang paling umum digunakan adalah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Hal ini berhubungan dengan kemampuan kedua bakteri tersebut dalam menghasilkan produk utama berupa asam laktat yang dapat menurunkan pH produk sehingga memperpanjang masa simpan susu.

Saat ini telah dilakukan pengembangan pembuatan yogurt dengan penambahan kultur probiotik untuk menghasilkan yogurt yang memiliki sifat fungsional yang lebih baik. *Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu BAL yang memiliki kemampuan produksi asam laktat yang cukup tinggi selama proses fermentasi. Selain itu, *Lactobacillus plantarum* juga mampu bertahan pada kondisi usus yang asam bahkan mampu menurunkan bakteri patogen penyebab diare karena mampu menghasilkan bakteriosin antimikroba (Nugrahani *et al.*, 2020). Menurut Fisberg *et al.*, 2015 strain bakteri *S. thermophiles* dan *L. bulgaricus* harus tetap aktif dalam produk akhir fermentasi sebanyak  $10^7$  CFU/ml. Oleh karena kemampuan tersebut, maka *L. plantarum* sering ditambahkan pada minuman fermentasi.

Proses fermentasi oleh bakteri asam laktat (BAL) akan menyediakan komposisi gizi serta zat-zat yang dibutuhkan untuk kesehatan tubuh seperti probiotik, prebiotik atau gabungan keduanya (sinbiotik) (Pratiwi *et al.*, 2020 ; Utami *et al.*, 2020). Probiotik adalah mikroba hidup yang menguntungkan karena dapat meningkatkan keseimbangan mikrobiota usus. Sementara prebiotik merupakan bahan makanan yang tidak dapat dicerna oleh tubuh namun dapat berperan sebagai suplemen makanan untuk merangsang

pertumbuhan bakteri baik dalam usus besar. Kombinasi dari probiotik dan prebiotik (sinbiotik) akan merangsang pertumbuhan bakteri baik dengan cara implantasi suplemen makanan bagi mikroba hidup pada saluran pencernaan dan probiotik akan menjaga keseimbangan mikroba hidup. Interaksi dari sinbiotik secara selektif akan mengaktifkan metabolisme satu atau beberapa bakteri yang baik untuk kesehatan tubuh (Mariyana *et al.*, 2018; Utami *et al.*, 2020). Selain kandungan tersebut, yogurt juga kaya akan protein, kalsium, kalium, fosfor, riboflavin, vitamin B6 dan vitamin B12 (Fazilah *et al.*, 2018 ; Fisberg *et al.*, 2015).

Konsumsi yogurt dapat memberikan manfaat kesehatan bagi penderita penyakit kardiovaskular, sindrom metabolik, diabetes tipe 2, alergi dan penyakit pernapasan, mampu meningkatkan kesehatan gigi dan tulang serta memberikan efek positif bagi mikrobota usus sehingga dapat menurunkan risiko penyakit gastrointestinal dan perbaikan intoleransi laktosa terutama pada anak-anak (Fisberg *et al.*, 2015 ). Di dalam usus, bakteri asam laktat akan merangsang gerakan peristaltik pada saluran pencernaan sehingga meningkatkan proses pencernaan, penyerapan, pembuangan feses, serta pembuangan bakteri patogen dalam usus (Fatmawati *et al.*, 2013 ; Agustine *et al.*, 2018; Hendarto *et al.*, 2019).

Yogurt dapat ditemui dalam beberapa tekstur yaitu *set* yogurt dengan tekstur seperti gel atau koagulan padat, *stirred* yogurt dengan tekstur yang lebih encer (*creamy*), serta *drinking* yogurt dengan tekstur cair karena dalam pembuatannya ditambahkan *stabilizer* seperti gelatin atau karboksimetil selulosa (CMC) (Chairunnissa *et al.*, 2017). Juga dalam beberapa rasa, yaitu *plan yogurt* dengan cita rasa asam dan bau yang tajam, *fruit yogurt* dengan rasa yang lebih variatif karena diberi buah dan pemanis serta *flavored yogurt* dengan penambahan *flavor* buah dan pewarna sintesis (Pratiwi *et al.*, 2018; Chairinnissa *et al.*, 2017). Menurut Fazilah, 2018 beberapa faktor seperti proses fermentasi, jenis susu, kultur starter, kemasan, kondisi penyimpanan dan bahan tambahan (buah/sayur) akan mempengaruhi tekstur, sifat organoleptik, reologi dan struktur mikro yogurt.

Tabel 2. 1 Karakteristik kimia yogurt yang baik sesuai SNI 2009

Karakteristik Kimia	SNI Yogurt Probiotik
Kadar lemak (b/b)	$\geq 3,0 \%$
Total padatan susu bukan lemak	$\geq 8,2 \%$
Kadar Protein	$\geq 2,7\%$
Kadar Abu	$\leq 1,0 \%$
Nilai pH	3,8 – 4,5
Total Asam Laktat	0,5 – 2 %

## 2.2. Bakteri Asam Laktat

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif dengan bentuk bulat atau batang, tidak menghasilkan spora serta membutuhkan nutrisi yang kompleks untuk melakukan pertumbuhan aktif. BAL akan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir dari proses fermentasi (Okfrianti *et al.*, 2018; Surbakti *et al.*; 2019). Bakteri asam laktat (BAL) dikenal sebagai bakteri yang menguntungkan dan telah dimanfaatkan sejak lama untuk fermentasi bahan makanan berupa susu, sayuran, sereal serta daging secara tradisional (Arena *et al.*, 2015). Makanan yang difermentasi oleh Bakteri asam laktat (BAL) memiliki karakteristik organoleptik yang khas, dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama, serta mampu memberikan manfaat kesehatan bagi tubuh seperti pengurangan alergi bagi penderita *lactose intolerance* dan antagonis terhadap bakteri patogen (Castellone *et al.*, 2021; Arena *et al.*, 2015).

Terjadi tiga reaksi kimia pada susu sapi oleh bakteri asam laktat selama proses fermentasi, yaitu glikolisis dan piruvat (konversi laktosa dan sitrat), proteolisis (mengubah kasein menjadi peptida dan asam amino bebas), dan lipolisis (mengubah lemak susu menjadi asam lemak bebas). Jenis peptida bioaktif yang telah diidentifikasi pada protein susu yaitu kasein dan protein *whey* yang disajikan dalam bentuk terenkripsi dan disimpan sebagai propeptida atau peptida terminal-C matang yang hanya dilepaskan saat proteolisis. Peptida

bioaktif menunjukkan aktivitas antioksidan melalui reaksi pembentukan reduktan yang dapat bereaksi dengan radikal bebas untuk menstabilkan dan menghentikan reaksi berantai radikal (Rahmawati *et al.*, 2016). Mekanisme antioksidan yang dilakukan oleh BAL terhadap stress oksidatif akibat radikal bebas yaitu dengan mengekskresikan enzim antioksidan sebagai mekanisme pertahanan seluler akibat senyawa radikal, memacu produksi glutathion (GSH) serta meningkatkan produksi bio-molekul antioksidan misalnya EPS dan ion logam (Farida, 2019).

Menurut Okfrianti *et al.*, 2018, Bakteri asam laktat (BAL) memiliki kemampuan untuk bertindak sebagai bakteriosin, yaitu zat ekstraseluler yang terdiri dari peptida atau protein antimikroba yang mampu melawan bakteri tertentu. Karena kemampuan tersebut, BAL memiliki kemampuan sebagai pengawet alami untuk makanan fermentasi. Metode penghambatan bakteriosin adalah dengan merusak DNA dan menghentikan aktivitas kinase utama pada sel bakteri patogen sehingga berujung pada terganggunya morfologi sel, kerusakan membran serta kebocoran sitoplasma (Jiang *et al.*, 2022).

Pembuatan yogurt menggunakan BAL homofermentatif seperti *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* didasarkan pada kemampuan melakukan metabolisme pada 90% gula menjadi asam laktat. Laktosa dalam susu dapat diubah menjadi glukosa dan galaktosa melalui jalur *leloir* dengan galaktokinase sebagai enzim metabolik pertama kemudian diubah menjadi laktat. Metabolisme piruvat dari sitrat oleh BAL mengarah ke pembentukan beberapa produk akhir seperti laktat, asetat, format, dan etanol, dan senyawa aromatik seperti diacetyl, acetoin, dan butanediol yang memberikan aroma khas pada produk fermentasi (Devi, 2016). Penambahan *L. plantarum* sebagai agen probiotik mampu meningkatkan produksi asam laktat selama proses fermentasi. Selain itu, *L. plantarum* juga memiliki kemampuan dalam menghasilkan bakteriosin anti mikroba sehingga mampu menurunkan jumlah bakteri patogen penyebab diare (Nugrahani *et al.*, 2020).



### 2.2.1 *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*

*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* merupakan bakteri asam laktat (BAL) berbentuk batang dengan ukuran 0,5–0,8 x 2-9  $\mu\text{m}$ , merupakan bakteri fakultatif anaerob nonspora dan tergolong ke dalam bakteri mesofilik. *Lactobacillus bulgaricus* mampu menghasilkan asam laktat pada produk utama selama proses fermentasi sehingga tergolong ke dalam bakteri homofermentatif, dapat tumbuh pada suhu optimum 35-45°C dengan pH 4-5,5, dan tidak mampu tumbuh pada pH di atas 6. Asam laktat yang dihasilkan bersifat inhibitor bagi mikroba patogen sehingga produk fermentasi akan lebih tahan lama karena memiliki kadar asam laktat yang tinggi serta memiliki cita rasa dan nilai gizi yang tinggi. *L.bulgaricus* juga mampu menghasilkan polisakarida seperti dextran yang akan meningkatkan viskositas yogurt (Pratiwi et al., 2020).

### 2.2.2 *Lactobacillus plantarum*

*Lactobacillus plantarum* merupakan kelompok bakteri asam laktat (BAL) dengan bentuk batang, bersifat homofermentatif dan mampu tumbuh optimal pada temperatur dibawah 37°C. *L. plantarum* banyak digunakan sebagai starter dalam proses fermentasi karena berperan dalam peningkatan produksi asam laktat serta mampu menghambat kontaminasi mikroorganisme patogen karena dapat menghasilkan hidrogen peroksida dan bakteriosin yang berfungsi dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Pratiwi et al. 2020). Berdasarkan penelitian Amarantini (2020), *Lactobacillus plantarum* S1K2T1 merupakan strain bakteri asam laktat yang diisolasi dari acar mentimun. Bakteri tersebut terbukti memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Salmonella typhi* NCTC 786, *S. typhi* BPE 122.4 CCA, *S. typhi* BPE 127.1 MC, *S. typhimurium* FNCC 0050, *Pseudomonas putida* FNCC 007, *Staphylococcus aureus* ATCC 2592.3

serta bakteri nonpatogen *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Zona hambat paling kuat yang dihasilkan yaitu terhadap terhadap *S. aureus* ATCC 2592.

### 2.2.3 *Streptococcus thermophilus*

Menurut Anggraini, 2017 *Streptococcus thermophilus* merupakan kelompok bakteri asam laktat (BAL) dengan bentuk bulat dan membentuk rantai, bersifat homofermentatif, suhu optimum untuk pertumbuhan antara 37-42 °C serta pertumbuhan optimum pada pH 6,5. Dalam proses fermentasi *S. thermophilus* melakukan simbiosis dengan *L. bulgaricus* dalam metabolisme laktosa menjadi asam laktat sehingga meningkatkan keasaman yogurt, pembentukan polisakarida dan polimer glukosa yang memberikan kekentalan, kelembutan dan kestabilan pada produk akhir yogurt.

### 2.3. Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas*)

Ubi jalar (*Ipomea batatas*) digolongkan ke dalam tujuh tanaman penting terbesar di dunia dan merupakan salah satu tanaman penting di kawasan Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Hal ini karena ubi dapat dipanen sepanjang tahun sehingga dianggap mampu mengatasi ketahanan pangan (Kurnianingsih *et al.*, 2020). Ubi jalar tergolong ke dalam famili *convolvulaceae*, yaitu herba atau semak berkayu yang merayap atau membelit dan banyak ditumbuh di daerah tropis dan sub tropis (Pranata, 2021). Terdapat beberapa jenis ubi jalar dan salah satunya adalah ubi jalar ungu.

Selain mengandung banyak karbohidrat dan energi, ubi jalar ungu memiliki banyak zat penting untuk tubuh, seperti vitamin, mineral, serat pangan, dan  $\beta$ -karoten. Ubi jalar ungu juga memiliki kandungan antosianin yang tinggi, yang berkisar antara 33,90 mg/g hingga 560 mg/g, yang berfungsi sebagai antioksidan (Ticoalu *et al.*, 2016), memiliki sifat anti-kanker (Rosidah, 2014; Ramadhani, 2018) dan dapat berperan sebagai imunomodulator, antimikroba dan antiinflamasi (J *et al.*, 2022). Karena kandungan tersebut, ubi

jalar ungu dianggap sebagai makanan fungsional dan sebagai *nutraceutical* yang membantu mempertahankan fungsi fisiologis dan mengurangi masalah kesehatan, sehingga meningkatkan kesehatan manusia (Kurnianingsih et al., 2020).

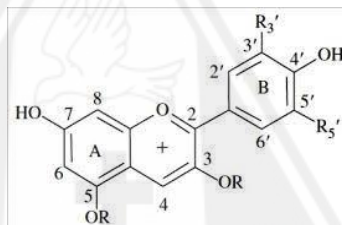
Antosianin adalah pigemen yang membuat ubi jalar ungu berwarna kemerahan. Sebagai antioksidan, antosianin mampu mengatasi kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh paparan radikal bebas. Pada tahun 2013, Husna menemukan bahwa ubi jalar berwarna ungu pekat memiliki kadar antosianin 17 kali lebih tinggi daripada ubi jalar berwarna ungu muda. Antosianin yang ditemukan pada ubi jalar ungu berasal dari sianidin dan peonidin, atau dari mono atau diasetil 3-(2-glukosil)glukosil-5-glukosil. Antosianin berfungsi untuk mencegah penuaan, kanker, dan penyakit degeneratif melalui kemampuannya untuk menangkal radikal bebas. Selain mengandung antosianin, ubi jalar ungu juga memiliki serat pangan yang berpotensi berfungsi sebagai prebiotik. Hal ini disebabkan fakta bahwa ubi jalar ungu memiliki kemampuan untuk merangsang fungsi bakteri pada saluran pencernaan serta mencegah sembelit (Rizky et al., 2015). Selain itu, ubi jalar ungu memiliki indeks karbohidrat *Low Glycemix* (LGI, 54) sehingga dapat dikonsumsi oleh orang yang menderita diabetes dan mengandung kalsium yang dapat membantu pertumbuhan gigi dan tulang (Rosidah, 2014).

#### **2.4. Antioksidan**

Antosianin merupakan suatu senyawa turunan flavonoid dan polifenol yang terdiri atas antosianidin dan gugus gula yang terikat melalui ikatan glikosida pada posisi -3 [1, 2, 6, 7] (Safari *et al.*, 2019) dan berperan sebagai antioksidan yang mampu mengatasi kerusakan oksidatif akibat paparan radikal bebas. Radikal bebas sendiri adalah suatu senyawa dengan satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada bagian orbit luarnya sehingga menyebabkan senyawa ini sangat reaktif untuk mencari pasangan elektron dengan cara mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya. Tubuh yang terpapar radikal bebas secara terus menerus akan mengakibatkan terjadinya

kerusakan sel sehingga memicu terjadinya penyakit degeneratif (Saefudin., *et al* 2013).

Antioksidan dapat menangani proses oksidatif dalam beberapa cara, seperti melalui reaksi kimia langsung, mengekstraksi radikal lipid peroksil, berikatan dengan ion logam dan memperbaiki kerusakan oksidatif, atau secara enzimatik mengekstraksi radikal bebas. Antioksidan dapat melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dengan memberikan satu elektron bebas ke radikal bebas atau menerima satu elektron yang tidak stabil (Andarina *et al.*, 2017).



Gambar 2. 1 Struktur Kimia Antosianin

Antosianin meningkatkan kemampuan penglihatan mata, bertindak sebagai anti inflamasi, mencegah diabetes, menghambat sel tumor, dan mencegah penyakit neurologis. Antosianin berfungsi sebagai antioksidan secara langsung melalui mekanisme mendonorkan hidrogen (elektron), yang dapat bereaksi dengan spesies oksigen reaktif (ROS) seperti super oksida (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), oksigen siglet (O<sub>2</sub><sup>+</sup>), peroksida (ROO<sup>-</sup>), hidrogen peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), dan hidroksil radikal (OH). Selain itu, antosianin berfungsi sebagai antioksidan secara tidak langsung melalui peningkatan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) dan glutation peroksidase, yang mengaktifkan gen yang mengkode enzim tersebut atau mengurangi pembentukan ROS dengan menghambat *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH), oksidase dan *xantine oksidase* (Amelia *et al.*, 2021).

## 2.5. Bakteri Patogen

Bakteri patogen merupakan kelompok bakteri yang bersifat saprofit dan dapat menyebabkan penyakit pada inangnya karena akan menyebabkan

perubahan fisiologi normal tubuh. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen banyak ditularkan melalui makanan (*foodborne diase*) dan akan menyebabkan penyakit diare, muntaber, infeksi saluran pencernaan serta tifus (Putri *et al.*, 2019; Ihsan, 2021). Kontaminasi pada makanan dapat terjadi pada saat proses pembuatan makanan, bisa berasal dari hewan produksi, penjamah makanan atau dari peralatan yang digunakan (Rudin *et al.*, 2021). Selain menyebabkan penyakit, bakteri patogen juga dapat menyebabkan penurunan kualitas mutu dan keamanan pangan suatu produk yang ditandai dengan perubahan rasa, aroma, warna, konsistensi dan penampakan (Ihsan, 2021; Wannite, 2021).

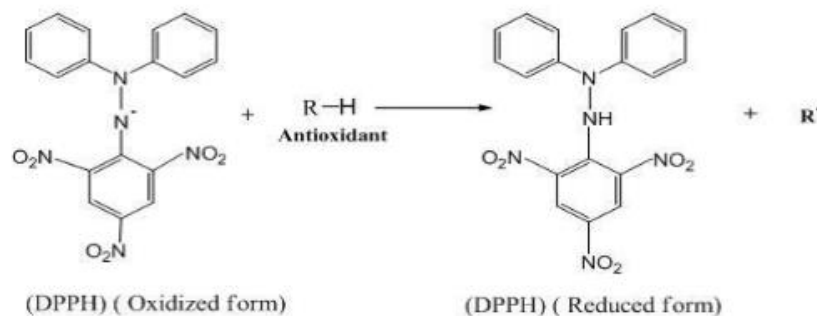
*Salmonella thypi* dan *Escherichia coli* merupakan dua kelompok bakteri patogen yang banyak menyebabkan penyakit pada manusia dan ditularkan melalui makanan. Berdasarkan laporan CDC mengenai patogen yang menyebabkan *foodborne diase* dari tahun 2000-2008, kelompok bakteri *S. thypi* menyebabkan 30% dari 1000000 kasus dan *E. coli* menyebabkan 173.000 kasus (Rudin, 2021).

## **2.6. Metode Uji Aktivitas Antioksidan**

Uji aktivitas antioksidan umumnya dilakukan dengan beberapa metode bergantung pada jenis sampel. Metode uji aktivitas antioksidan diantaranya metode reaksi dengan radikal bebas menggunakan larutan DPPH (2,2- *difenil-1-pikrilhidrazil*), reaksi reduksi-oksidasi dengan metode *Ferric Reducting Antioxidant Power* (FRAP), reaksi kelat dengan metode *Ferrous Ion Chelating* (FIC) serta uji berbasis lemak dengan metode *Thiobarbituric acid* (TBA). Struktur kimia antioksidan, sumber radikal bebas, dan karakteristik fisiko-kimia sampel yang berbeda memengaruhi hasil uji aktivitas antioksidan. Agar mendapatkan hasil yang memuaskan, metode untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan harus dipilih dengan benar dan selektif terhadap jenis sampel yang digunakan.

Jika dibandingkan dengan metode FIC dan FRAP, metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) adalah salah satu metode uji aktivitas antioksidan yang paling efisien (Maeseroh et al., 2018; Leaves et al., 2014). Sebagai senyawa radikal bebas yang stabil, DPPH hanya cukup dilarutkan dalam jumlah kecil ketika akan digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas. Jika disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang stabil akan tetap ada selama bertahun-tahun (Tristantini et al., 2016). Metode DPPH digunakan untuk mengukur kemampuan senyawa dalam menangkap radikal bebas melalui donor hidrogen. Akibatnya, larutan DPPH akan direduksi. Karena adanya donor hidrogen, reaksi antara antioksidan dan senyawa radikal bebas (DPPH) akan memasangkan keduanya, menurunkan nilai absorbansi. Adanya aktivitas antioksidan melalui reduksi DPPH dapat menyebabkan hilangnya warna ungu dari larutan DPPH menjadi warna kuning. Serapan maksimum DPPH pada panjang gelombang 517 nm (Leaves *et al.*, 2014).

Dalam beberapa penelitian sebelumnya yang menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif, aktivitas antioksidan diukur dengan metode DPPH. Ini disebabkan oleh fakta bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan, yang memungkinkannya melawan radikal bebas dan mencegah reaksi berantai. Nilai IC50 vitamin C adalah 32,65 ppm (Purwanto et al., 2017). Berdasarkan nilai IC50, aktivitas antioksidan diklasifikasikan menjadi sangat kuat (nilai IC50 kurang dari 50 ppm), kuat (nilai IC50 antara 50 dan 100 ppm), sedang (nilai IC50 antara 100 dan 150 ppm), lemah (nilai IC50 antara 150 dan 200 ppm), dan sangat lemah (nilai IC50 lebih dari 200 ppm).



Gambar 2. 2 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan (Trisantini, 2017).

## 2.7. Metode Uji Aktivitas Antibakteri

Terdapat sejumlah metode yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antibakteri, termasuk metode dilusi, metode difusi agar, dan metode difusi dilusi. Metode difusi khusus mengukur kemampuan antibakteri kuantitatif suatu senyawa, sedangkan metode dilusi mengukur kemampuan kualitatif dan kuantitatifnya (Sari et al., 2021). Analisis aktivitas antibakteri biasanya menggunakan metode difusi. Metode difusi bekerja dengan memasukkan zat antibakteri ke dalam media padat di mana mikroba uji telah diinokulasikan. Adanya daerah bening di sekeliling kertas cakram menunjukkan zona yang mencegah pertumbuhan bakteri (Nurhayati, 2020).

Uji aktivitas antibakteri secara difusi dapat dilakukan dengan metode *well diffusion* (sumuran/ difusi agar) dan *kirby bauer* (cakram/difusi cakram). Metode difusi cakram menggunakan kertas cakram untuk menyerap bahan antimikroba yang dijenuhkan ke dalam bahan uji. Setelah itu, kertas cakram diletakkan pada permukaan media yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Media agar kemudian diinkubasikan selama 18 hingga 24 jam pada suhu 37°C. Kelebihan metode difusi cakram adalah memungkinkan pengujian dengan lebih cepat pada persiapan cakram (Nurhayati, 2020).

## 2.8. Spektrofotometri UV-VIS

Salah satu metode dalam analisis kimia yang digunakan untuk menentukan jenis senyawa berdasarkan absorbansi foton adalah spektrofotometri UV-VIS, atau ultraviolet-sinar. Menurut Irawan (2019),

spektrofotometri UV-Vis dapat menyerap foton dengan panjang gelombang antara 200 and 700 nanometer. Spektrofotometri bekerja berdasarkan prinsip bahwa ketika cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), sebagian diserap ( $I$ ), dipantulkan ( $I_r$ ), dan dipancarkan ( $I_t$ ). Analisis kuantitatif dan kualitatif dapat dilakukan dengan spektrofotometri UV-VIS. Analisis kuantitatif bergantung pada nilai absorbansi spektrum dengan adanya senyawa pengompleks yang sesuai dengan unsur yang dianalisis. Sebaliknya, analisis kualitatif bergantung pada puncak spektrum suatu unsur pada panjang gelombang tertentu (Yanlinastuti, 2016).





## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2023 hingga April 2023 di Laboratorim Bioteknologi Industri, Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta.

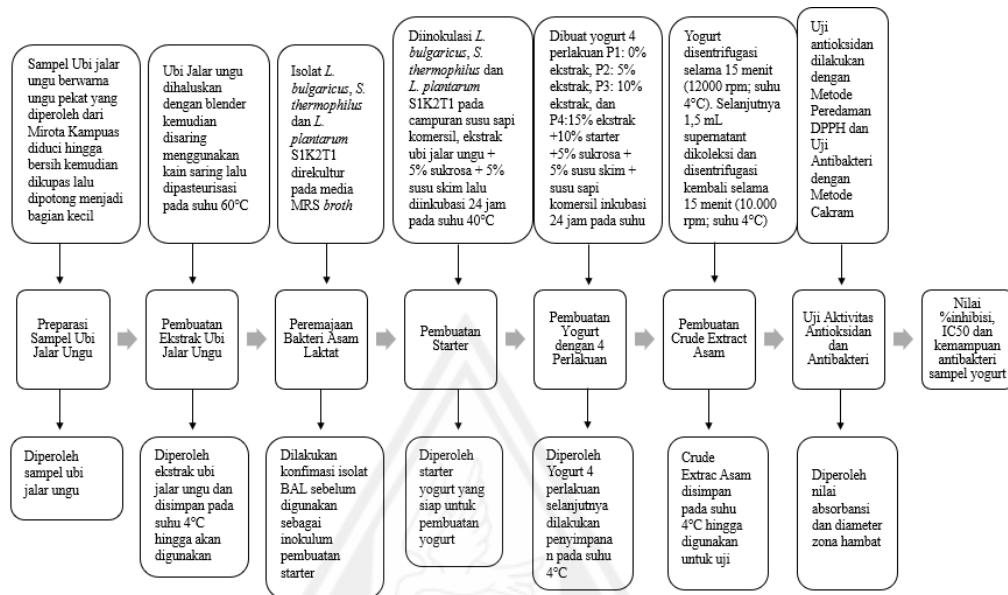
#### 3.2. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *juicer*, *blender*, jarum ose, propipet, mikropipet, sentrifugator, tabung reaksi, erlenmeyer, inkubator, autoklaf, pH meter, lemari pendingin, neraca analitik, pinset, hot plate, *laminar air flow* (LAF), yellow tip, blue tip, erlenmeyer, cawan petri, cuvet, spektrofotometer UV-Vis, botol gelap, pengaduk dan mikroskop.

#### 3.3. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pada pembuatan yogurt digunakan susu sapi pasteurisasi (GREENFIELDS), ubi jalar ungu segar berwarna ungu pekat yang diperoleh dari Mirota Kampus, susu skim, sukrosa, isolat murni *Streptococcus thermophilus* FNCC 0040, *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041 dan *Lactobacillus plantarum* S1K2T1, *Eschericia coli*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus aureus*, media MRSB dan MRSA, BPW (*Buffered Peptone Water*), CaCO<sub>3</sub>, DPPH, metanol PA, *phenolptalein* 1%, NaOH 0.1 N, MAH (*Mueller Hinton Agar*), BHI (*Brain Heart Infusion*), MSA, SSA, CCA, ciprofloxacin 200mg, ciprofloxacin disc 5 µg, dan aquadest.

#### 3.4. Peta Jalan Penelitian



Gambar 3. 1 Peta Jalur Penelitian Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu dan Penyimpanan pada Suhu 4°C terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Yogurt Susu Sapi

### 3.5. Preparasi dan Pembuatan Sari Ubi Jalar Ungu

Ubi jalar berwarna ungu pekat yang di peroleh dari Mirota Kampus sebanyak 900gr dikupas dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Sampel ubi jalar kemudian dipotong berbentuk dadu lalu ditambahkan 1800 ml aquadest dan dihaluskan menggunakan *blender* hingga berbentuk bubur. Bubur ubi disaring dengan kertas saring hingga diperoleh filtrat ubi jalar ungu (Utami, 2010). Selanjutnya ekstrak ubi jalar ungu dipasteurisasi pada suhu 60°C selama 15 menit.

### 3.6. Pemiakan Bakteri Asam Laktat dan Bakteri Patogen

#### 3.6.1 Pemiakan Bakteri Asam Laktat

Isolat murni *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0040, *Streptococcus thermophilus* FNCC 0041 dan *Lactobacillus plantarum* S1K2T1 dibiakkan dengan cara memindahkan sebanyak 1 ose kultur bakteri secara aseptis dari MRSA miring kemudian dimasukkan pada media MRSB lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

### 3.6.2 Pembiakan Bakteri Patogen

Isolat murni *Eschericia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* NCTC 786 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dibiakkan dengan cara memindahkan sebanyak 1 ose kultur bakteri secara aseptis dari BHIA miring kemudian dimasukkan pada media BHIB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

## 3.7. Konfirmasi Isolat Bakteri pada Media Selektif

### 3.7.1 Konfirmasi Isolat Bakteri Asam Laktat

Sebelum digunakan dalam pembuatan starter yogurt, isolat *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0040, *Streptococcus thermophilus* FNCC 0041 dan *Lactobacillus plantarum* S1K2T1 terlebih dahulu dikonfirmasi melalui penumbuhan pada medium selektif. Medium selektif yang digunakan adalah MRSA + CaCO<sub>3</sub>. Isolat BAL yang telah direkultur pada media MRSB diinokulasi pada medium selektif dengan metode *streak plate* 4-5 kuadran dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-72 jam hingga terbentuk koloni tunggal berwarna putih susu dengan zona bening (Amarantini *et al.*, 2020).

### 3.7.2 Konfirmasi Isolat Bakteri Patogen

Isolat *Eschericia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* NCTC 786 dan *Staphylococcus aureus* sebelum digunakan sebagai suspensi bakteri untuk uji aktivitas antibakteri terlebih dahulu dikonfirmasi melalui penumbuhan pada media selektif. Isolat bakteri patogen yang telah direkultur pada media BHIB kemudian diinokulasi dengan metode *streak plate* pada media selektif, yaitu SSA untuk *Salmonella typhi* NCTC 786, CCA untuk *Eschericia coli* ATCC 25922, dan MSA untuk *Staphylococcus aureus*. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-72 jam.

### 3.7.3 Konfirmasi Isolat Bakteri melalui Pewarnaan Gram dan Bentuk Morfologi Sel

Isolat *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0040, *Streptococcus thermophilus* FNCC 0041, *Lactobacillus plantarum* S1K2T1, *Eschericia coli* ATCC 25922,

*Salmonella typhi* NCTC 786 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 masing-masing diambil 1 ose dan diletakkan pada kaca objek yang telah dibersihkan dengan alkohol 70% dan ditetesi aquadest steril. Setelah itu dilakukan fiksasi di atas bunsen hingga kering. Selanjutnya dilakukan pengecatan gram pada masing-masing isolat dengan cara menambahkan cat gram A (kristal violet) lalu didiamkan hingga 1 menit dan dibilas dengan aquadest lalu difiksasi di atas bunsen, setelah kering dilanjutkan dengan pengecatan menggunakan cat gram B (lugol) lalu didiamkan hingga 1 menit dan dibilas dengan aquadest. Langkah selanjutnya yaitu ditetesi cat gram C (aseton alkohol) lalu didiamkan selama 10 detik dibilas dengan aquadest kemudian difiksasi di atas bunsen, dan terakhir dengan cat gram D (safranin) lalu didiamkan hingga 1 menit dan dibilas dengan aquadest. Preparat yang telah kering selanjutnya ditetesi minyak emersi untuk selanjutnya diamati bentuk morfologinya di bawah mikroskop pada perbesaran 1000x (Hamidah *et al.*, 2019).

### **3.8. Pembuatan Yogurt**

#### **3.8.1 Persiapan Inokulum Bakteri Asam Laktat**

Isolat murni *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0040, *Streptococcus thermophilus* FNCC 0041, *Lactobacillus plantarum* S1K2T1 yang telah dikonfirmasi selanjutnya dibiakkan pada 5ml MRS *broth* selama 24 jam pada suhu 37°C hingga terbentuk endapan putih di dasar tabung. Masing-masing biakan yang telah tumbuh subur kemudian divortex dan dipindahkan ke eppendorf lalu disentrifugasi pada kecepatan 5000rpm selama 5 menit untuk memisahkan massa sel dari medium. Massa sel yang diperoleh selanjutnya dicuci dengan larutan normal salin (NaCl 0,85%) sebanyak 3 kali (Dewi *et al.*, 2010).

#### **3.8.2 Pembuatan Starter Yogurt**

Dibuat 250 mL starter dengan dimasukkan sebanyak 225 mL Susu Sapi komersial (GREENFIELDS) ke dalam erlenmeyer kemudian ditambah 5%

sukrosa (12,5 gr) dan 5% susu skim (12,5 gr) kemudian dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 15 menit. Selanjutnya susu didinginkan hingga mencapai suhu 42°C. Setelah itu, diambil seluruh massa sel *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0040, *Streptococcus thermophilus* FNCC 0041 dan *Lactobacillus plantarum* S1K2T1 yang telah dicuci dengan (NaCl 0,85%) diambil dengan cara menambahkan masing-masing 2 mL susu yang telah dipasteurisasi ke dalam ependorf lalu difortex dan diinokulasi kembali pada susu sapi komersial yang telah dipasteurisasi. Setelah itu, dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 40°C hingga mencapai pH 3,8- 4,5.

### 3.8.3 Pembuatan Yogurt

Dibuat yogurt dengan 4 perlakuan seperti pada tabel 3.1 masing-masing 500mL dengan cara dipasteurisasi susu komersial, susu skim dan sukrosa pada suhu 80°C selama 15 menit kemudian ditunggu hingga mencapai suhu (40-42)°C. Setelah itu ditambahkan ekstrak ubi jalar ungu yang telah dipasteurisasi sebelumnya pada suhu 60°C selama 10 menit. Campuran susu sapi dan ekstrak ubi jalar ungu kemudian diinokulasi dengan starter dan diinkubasi pada suhu 40°C selama 24 jam.

Tabel 3 1 Perlakuan Pembuatan Yogurt

Perlakuan	Komposisi
P1	80% susu sapi komersial (v/v) + 10% starter (v/v) + 5% sukrosa (b/v) + 5% susu skim (b/v)
P2	75% susu komersial + 10% starter (v/v) + 5% sukrosa (b/v) + 5% susu skim (b/v) + 5% ekstrak ubi jalar ungu (v/v)
P3	70% susu komersial (v/v) + 10% starter (v/v) + 5% sukrosa (b/v) + 5% susu skim (v/v) + 10% ekstrak ubi jalar ungu (v/v)
P4	65% susu komersial (v/v) + 10% starter (v/v) + 5% sukrosa (b/v) + 5% susu skim (b/v) + 15% ekstrak ubi jalar ungu (v/v)

Setelah susu difermentasi, selanjutnya yogurt disimpan sampai 6 hari pada suhu 4°C dan dilakukan pengukuran nilai pH dan total asam serta pengambilan *Crude Extract* Asam setiap 2 hari sekali.

### 3.9. Uji Kimia Yogurt

### 3.9.1 Pengukuran Nilai pH

Pengujian terhadap nilai pH sampel dilakukan menggunakan pH meter. Ujung katoda indikator dicuci dengan aquades sebelum digunakan untuk uji kemudian dibersihkan dengan tissue. Setelah itu pH meter dikalibrasi menggunakan larutan buffer pH 4 dan 7. Ujung katoda yang telah dikalibrasi kemudian Sete dicelupkan pada sampel yogurt hingga angka pada pH meter konstan (Hidayat *et al.*, 2013).

### 3.9.2 Uji Total Asam Titrasi

Total asam laktat dihitung dengan metode titrasi. Sebanyak 20 mL sampel yogurt dimasukkan kedalam labu erlenmeyer untuk dititrasi dengan NaOH 0.1 N. Indikator yang digunakan adalah *phenolptalein* 1% sebagai indikator warna. Perubahan warna yang akan terjadi yaitu dari tak berwarna menjadi merah muda (Suhaeni, 2018). Kadar asam dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar Asam} = \frac{V1 \times NB}{V2 \times 1000} \times 100$$

Keterangan: V1 : Volume NaOH (ml)

V2 : Volume yoghurt drink (ml)

N : Normalitas NaOH (0,1)

B : Berat molekul asam laktat (gr)

### 3.10. Ekstraksi Crude Extract Asam (CEA)

Diambil 50 mL yogurt dan disentrifugasi selama 15 menit (12000 rpm; suhu 4°C). Selanjutnya 1,5 mL supernatant dikoleksi dan disentrifugasi kembali selama 15 menit (10.000 rpm; suhu 4°C) hingga diperoleh supernatant (*whey*) yang merupakan *Crude Extract Asam*.

### 3.11. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *disk difussion* dengan *Mueller Hinton Agar* (MHA). Bakteri indikator (*E. coli*, *S. typhi* dan

*S.aureus*) ditumbuhkan pada *Brain Heart Infusion* (BHI) pada suhu 37°C selama 16-18 jam lalu disetarakan dengan *McFarland* 0,5 ( $1 \times 10^8$  CFU/ml). Kemudian, dicelupkan kapas steril ke dalam suspensi bakteri standar, lalu dilakukan pengusapan sebanyak dua kali agar kultur uji merata pada permukaan media MHA. Penelitian ini melakukan modifikasi metode dari penelitian Amarantini *et al.*, 2019;2020 yang menggunakan sumuran menjadi difusi kertas cakram. Dibuat kertas cakram berdiameter 6 mm kemudian ditetesi dengan 50µl sampel dan ditunggu hingga kering dan diletakkan pada MHA berisi suspensi bakteri patogen. Pelat diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam setelah itu zona hambat diukur dan dihitung menggunakan persamaan:

$$L = \frac{(D1-D3)+(D2-D3)}{2}$$

keterangan:

L : Lebar zona hambat

D1 : Diameter zona hambat horizontal (mm)

D2 : Diameter zona hambat vertikal (mm)

D3 : Diameter sumuran

### 3.12. Uji Aktivitas Antioksidan

Dibuat larutan DPPH 50 ppm dengan melarutkan 5mg DPPH dengan 100 ml metanol PA. Setiap sampel dibuat menjadi 1000 ppm dengan menambahkan 1 ml metanol, 750 ppm dengan menambahkan 1,25 ml metanol, 500 ppm dengan menambahkan 1,5 ml metanol kemudian dan 250 dengan menambahkan 1,75 ml metanol. Pengujian ini dilakukan penambahan 2 ml DPPH 0,1 mM 50 ppm untuk setiap 2 ml sampel (1:1) kemudian dihomogenkan menggunakan vortex dan disimpan diruang gelap selama 30 menit. Pengujian dilakukan dengan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Af'idah *et al*, 2019). Hasil uji aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \left( \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100 \right)$$

### 3.13. Analisis Data Aktivitas Antioksidan dan Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub>

Analisis data aktivitas antioksidan dilakukan dengan menghitung persen inhibisi (%) yang diperoleh dari data absorbansi dari masing-masing sampel yogurt yang diberi perlakuan P1: 0% ekstrak, P2: 5% ekstrak, P3: 10% ekstrak, P4: 15% ekstrak dan diberi perlakuan penyimpanan pada suhu 4°C. Setelah data aktivitas antioksidan (%inhibisi) untuk masing-masing absorbansi sampel diperoleh, nilai IC<sub>50</sub> dihitung dengan menggunakan persamaan regresi non linear  $y = ax + b$  yang menunjukkan hubungan antara log konsentrasi dan persen aktivitas antioksidan (inhibisi). Nilai IC<sub>50</sub> adalah konsentrasi ekstrak yang efektif yang diperlukan untuk meredam 50% DPPH secara keseluruhan (Tristantini, 2016).

### 3.14. Analisis Data

Analisis data nilai pH, total asam dan pengaruh waktu penyimpanan serta penambahan ekstrak ubi jalar ungu dilakukan dengan menggunakan uji normalitas *saphiro-wilk* kemudian dilakukan uji lanjutan ANOVA dan *Post Hoc Turkey* dengan taraf signifikansi 5%.



## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Konfirmasi Isolat Bakteri Asam Laktat

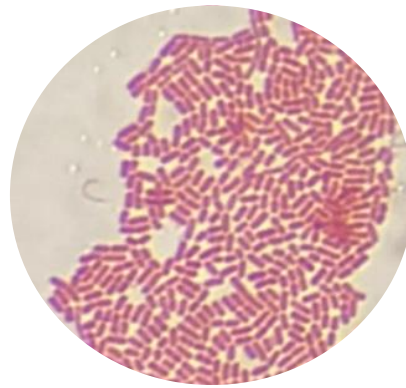
Konfirmasi isolat bakteri *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* dan *L. plantarum* S1K2T1 dilakukan untuk memastikan kemurnian dari isolat yang akan digunakan dalam pembuatan starter yogurt Metode konfirmasi isolat yang digunakan yaitu melalui pengecetan gram, pengamatan bentuk morfologi sel dan penumbuhan isolat pada media selektif.

Sebelum dilakukan konfirmasi pada isolat, terlebih dahulu dilakukan rekultur pada bakteri asam laktat dengan cara ditumbuhkan pada media MRS *broth* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam hingga terbentuk endapan putih sebagai tanda pertumbuhan isolat yang subur. Isolat bakteri asam laktat yang telah tumbuh kemudian ditumbuhkan pada media MRS agar + CaCO<sub>3</sub> 1%. Pertumbuhan bakteri asam laktat akan ditandai dengan terbentuknya zona bening disekeliling koloni tunggal berwarna putih susu (Amarantini *et al.*, 2020). Zona bening yang terbentuk merupakan aktivitas Ca-laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat (Bawole *et al.*, 2018).

Selain menggunakan metode penumbuhan pada media selektif, konfirmasi isolat juga dilakukan dengan pengecetan gram dan pengamatan bentuk morfologi. Hasil dari konfirmasi bakteri asam laktat ditampilkan pada gambar 4.1 hingga gambar 4.6



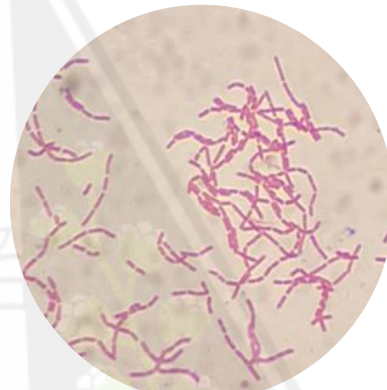
Gambar 4. 1 *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0040 pada media MRSA +CaCO<sub>3</sub> 1%



Gambar 4. 2 Morfologi *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0040 pada perbesaran 1000x



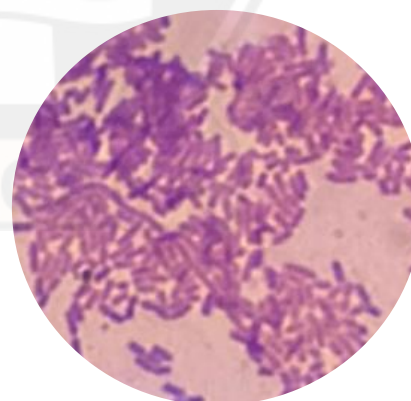
Gambar 4. 3 *Streptococcus thermophilus* FNCC 0041 pada media MRSA +CaCO<sub>3</sub> 1%



Gambar 4. 4 Morfologi *Streptococcus thermophilus* FNCC 0041 pada perbesaran 1000x



Gambar 4. 5 *Lactobacillus plantarum* S1K2T1 pada media MRSA +CaCO<sub>3</sub> 1%



Gambar 4. 6 Morfologi *Lactobacillus plantarum* S1K2T1 pada perbesaran 1000x

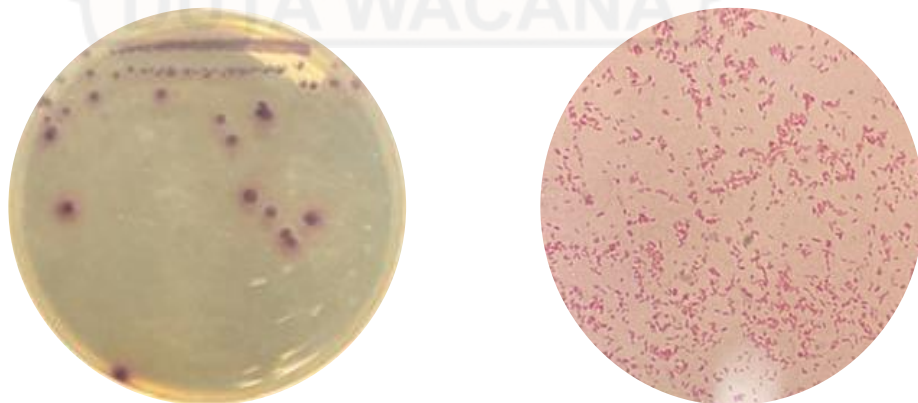
Setelah proses pewarnaan dapat dilihat *L. bulgaricus* memiliki warna merah keunguan sementara *L. plantarum* berwarna ungu (gambar 4.3 dan 4.6).

Hal ini dimungkinkan terjadi karena *L. bulgaricus* dan *L. plantarum* merupakan bakteri dari gram positif yaitu memiliki dinding sel yang tebal sehingga mampu mengikat cat kristal violet (gram A). Pada saat dilakukan pencucian dengan gram C, kristal violet tidak semuanya hilang atau bahkan tidak hilang sama sekali, sehingga pada saat diberi gram D tidak akan menyebabkan warna sel bakteri *L. bulgaricus* dan *L. plantarum* berubah menjadi merah. Berdasarkan bentuk morfologinya dapat dilihat bahwa bakteri yaitu *L. bulgaricus* dan *L. plantarum* memiliki bentuk berupa batang dengan ukuran 0,5-1,2 x 1-10  $\mu\text{m}$  dengan rantai pendek dan terdapat secara berpasangan (Nur *et al.*, 2015).

Berdasarkan gambar 4.4 dapat dilihat bahwa *S.thermophilus* merupakan bakteri gram positif yaitu memiliki dinding sel yang tebal sehingga mampu mempertahankan warna ungu dari kristal violet dan tidak menyebabkan perubahan warna setelah dicuci menggunakan aseton alkohol dan diwarnai dengan gram D. *S.thermophilus* memiliki bentuk morfologi bulat dan membentuk rantai (Anggraini *et al.*, 2017).

#### 4.2 Konfirmasi Bakteri Patogen

Konfirmasi isolat *E. coli*, *S. typhi* dan *S. aureus* dilakukan untuk memastikan kemurnian dari isolat yang akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.



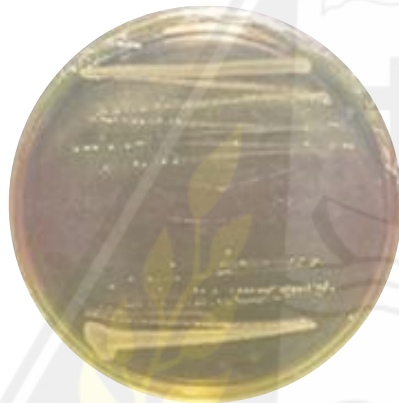
Gambar 4. 7 *Eschericia coli* ATCC 25922 pada media CCA



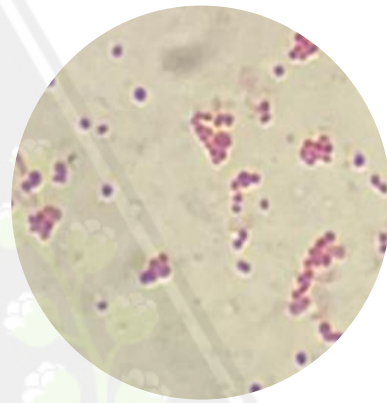
Gambar 4. 8 Morfologi *Eschericia coli* ATCC 25922 pada perbesaran 1000x



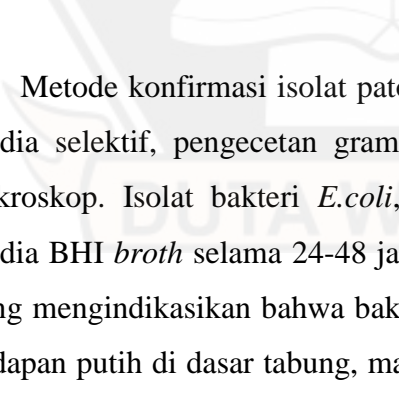
Gambar 4. 9 *Salmonella typhi* NCTC 786 pada media SSA



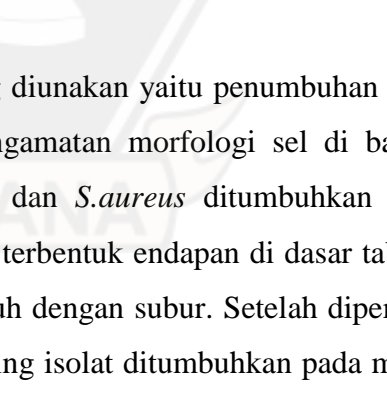
Gambar 4. 10 Morfologi *Salmonella typhi* NCTC 786 pada perbesaran 1000x



Gambar 4. 11 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media MSA



Gambar 4. 12 *Staphylococcus aureus* ATCC pada perbesaran 1000x



Metode konfirmasi isolat patogen yang diunakan yaitu penumbuhan pada media selektif, pengecetan gram, dan pengamatan morfologi sel di bawah mikroskop. Isolat bakteri *E.coli*, *S. typhi* dan *S.aureus* ditumbuhkan pada media BHI *broth* selama 24-48 jam hingga terbentuk endapan di dasar tabung yang mengindikasikan bahwa bakteri tumbuh dengan subur. Setelah diperoleh endapan putih di dasar tabung, masing-masing isolat ditumbuhkan pada media selektif yaitu *E. coli* pada CCA, *S. typhi* pada SSA dan *S. aureus* pada media MSA.

*Chromocult Coliform Agar* (CCA) merupakan media selektif diferensial yang digunakan untuk mendeteksi pertumbuhan bakteri koliform. Hasil positif

pertumbuhan *E. coli* pada media CCA ditunjukkan dengan pertumbuhan koloni warna biru violet. Dapat di lihat pada gambar 4.7 pertumbuhan bakteri pada media CCA menghasilkan koloni berwarna biru violet, sehingga dapat dikatakan bahwa isolat tersebut merupakan *E.coli*. Menurut Hamida *et al.*, 2019, *E.coli* memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim  $\beta$ -D galactosidase dan enzim  $\beta$ -D-glucuronidase yang akan mendegradasi substrat X-glucuronida dan menghasilkan produk senyawa kromogenik yang menyebabkan koloni berwarna biru violet pada media CCA.

*Salmonella-Shigella Agar* (SSA) merupakan media selektif untuk memisahkan bakteri *Salmonella* dan *Shigella*. Pertumbuhan bakteri *Salmonella* pada media SSA dicirikan dengan pertumbuhan koloni berwarna putih transparan dengan berbentuk bulat (Situmorang, 2020). Pada gambar 4.9 dapat dilihat bahwa pertumbuhan bakteri pada media SSA berbentuk bulat dan berwarna putih, sehingga dapat dikatakan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri *S. typhi*. Serta pada gambar 4.11 dapat dilihat pertumbuhan bakteri pada media *Mannitol salt agar* (MSA) berwarna putih kekuningan dikelilingi zona kuning. Menurut Dewi (2013), pertumbuhan *S. aureus* pada media MSA ditandai dengan pertumbuhan koloni berwarna putih kekuningan sebagai akibat kemampuan *S. aureus* dalam memfermentasi *mannitol*. Kondisi tersebut menyebabkan perubahan *phenol red* pada agar dari merah menjadi kuning.

Hasil pengecatan gram pada bakteri patogen dapat dilihat pada gambar 4.8, 4.10 dan 4.12. Berdasarkan ketiga hasil pengecatan tersebut, dapat dilihat bahwa *E.coli* dan *S. typhi* merupakan bakteri gram negatif karena warna yang dihasilkan setelah pengecatan gram adalah warna merah, sementara *S. aureus* merupakan bakteri gram positif karena warna yang dihasilkan setelah pengecatan gram adalah warna ungu. Hal ini terjadi karena bakteri gram negatif (gambar 4.8 dan 4.10) memiliki kandungan peptidoglikan yang lebih tipis dibandingkan bakteri gram positif (gambar 4.12) sehingga tidak dapat mempertahankan warna kristal violet setelah pencucian dengan aseton alkohol

(Dewi, 2013). Secara morfologis, dapat dilihat bahwa *E. coli* memiliki bentuk basil aerobik, *S. tiphy* berbentuk batang sementara *S. aureus* berbentuk bulat (Situmorang, 2020).

#### 4.3 Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu dan Penyimpanan pada suhu 4°C terhadap Total Asam Laktat dan Nilai pH

Nilai pH dan total asam laktat merupakan dua parameter uji kimia yang penting karena berpengaruh pada kualitas produk yogurt yang dihasilkan. Dapat dilihat pada tabel 4.1, total asam laktat yang dihasilkan setelah proses fermentasi 24 jam meningkat seiring dengan peningkatan kadar ekstrak ubi jalar ungu yang ditambahkan. Total asam laktat yang dihasilkan pada yogurt tanpa penambahan ekstrak ubi jalar ungu hanya sebanyak 0,56% sementara yogurt dengan penambahan 5%, 10% dan 15% ekstrak memiliki total asam laktat sebanyak 0,72%, 0,74% dan 0,78%. Ubi jalar ungu memiliki kandungan oligosakarida yang cukup tinggi. Oligosakarida berperan sebagai prebiotik atau sumber nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh BAL untuk tumbuh dan berkembang selama proses fermentasi.

Peningkatan kadar total asam laktat merupakan akibat dari aktivitas pemecahan gula oleh bakteri asam laktat. Oligosakarida dari ubi jalar ungu dan laktosa dari substrat susu yang tersedia akan diubah menjadi glukosa dan galaktosa kemudian diubah menjadi asam laktat (Rizky, 2019). Selain karena efek penambahan ekstrak ubi jalar ungu, kandungan asam laktat juga dipengaruhi oleh penambahan probiotik *L. plantarum* S1K2T1 yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan asam laktat selama proses fermentasi.

Tabel 4. 1 Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu dan penyimpanan pada suhu 4°C terhadap total asam yogurt

Perlakuan	Waktu Penyimpanan (hari) %				Rata-rata ± SD
	0	2	4	6	
P1	0,56	0,55	0,49	0,48	0,52 ± 0,04
P2	0,72	0,72	0,59	0,59	0,65 ± 0,07
P3	0,74	0,72	0,57	0,57	0,64 ± 0,1

P4	0,78	0,71	0,6	0,59	0,53 ± 0,3
----	------	------	-----	------	------------

Keterangan :

P1: Yogurt tanpa penambahan ekstrak ubi jalar ungu

P2: Yogurt dengan penambahan 5% ekstrak jalar ungu

P3: Yogurt dengan penambahan 10% ekstrak jalar ungu

P4: Yogurt dengan penambahan 15% ekstrak jalar ungu

Total asam laktat pada yogurt yang dibuat dengan starter *L. bulgaricus* dan *S. thermophilus* dengan penambahan probiotik *L. plantarum* S1K2T1 menghasilkan total asam laktat yang lebih sedikit jumlahnya jika dibandingkan dengan yogurt dengan penambahan ekstrak ubi jalar ungu. Hal ini dimungkinkan terjadi karena selama proses fermentasi, BAL hanya memperoleh nutrisi dari susu, susu skim dan sukrosa yang ditambahkan untuk tumbuh dan berkembang selama proses fermentasi. Karena jumlah gula yang lebih sedikit maka substrat yang dapat diubah menjadi asam laktat juga lebih sedikit jumlahnya.

Secara keseluruhan, total asam laktat yang dihasilkan dari 4 perlakuan pembuatan yogurt masih sesuai dengan baku mutu Standar Nasional Indonesia (SNI) yaitu berda pada 0,5%-2,0% (Mawarni, 2015). Meskipun terdapat peningkatan total asam laktat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak ubi jalar tetapi hasil statistik menunjukkan nilai sig ( $P > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa penambahan ekstrak ubi jalar ungu tidak berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan total asam laktat produk.

Tabel 4. 2 Pengaruh Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu dan Penyimpanan pada suhu 4°C terhadap nilai pH yogurt

Perlakuan	Waktu Penyimpanan				Rata-rata ± SD
	0	2	4	6	
P1	4,50	4,61	4,66	4,68	4,61 ± 0,07
P2	4,37	4,45	4,49	4,45	4,46 ± 0,07
P3	4,30	4,41	4,48	4,45	4,42 ± 0,09
P4	4,24	4,36	4,41	4,44	4,36 ± 0,09

Keterangan :

P1: Yogurt tanpa penambahan ekstrak ubi jalar ungu

P2: Yogurt dengan penambahan 5% ekstrak jalar ungu

P3: Yogurt dengan penambahan 10% ekstrak jalar ungu

P4: Yogurt dengan penambahan 15% ekstrak jalar ungu

Peningkatan atau penurunan nilai pH sangat erat kaitannya dengan total asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi. Total asam laktat yang dihasilkan akan diekskresikan keluar sel dan pada akhirnya akan terakumulasi sehingga menyebabkan penurunan nilai pH dan meningkatkan keasaman pada produk (Retnati *et al.*, 2009). Dapat dilihat pada tabel 4.2 bahwa nilai pH menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak ubi jalar ungu pada produk. Nilai pH pada yogurt P1 sebesar 4,50 sementara pada yogurt P4 memiliki nilai sebesar 4,24. Jika dibandingkan dengan standar pH yang baik sesuai dengan SNI 2009, maka nilai pH tersebut masih tergolong ke dalam nilai pH yang baik karena masih berada pada *range* 3,8-4,5.

Hasil statistik menunjukkan nilai sig ( $P < 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa penambahan ekstrak ubi jalar ungu berpengaruh signifikan terhadap penurunan nilai pH yogurt. Nilai pH yang baik mengindikasikan terjadinya proses produksi asam laktat oleh bakteri asam laktat selama proses fermentasi yang berpengaruh terhadap penurunan nilai pH (Irmayanti *et al.*, 2019). Data total asam laktat menurun seiring dengan masa penyimpanan yang juga berakibat pada peningkatan nilai pH yogurt. Hal ini dimungkinkan terjadi karena suhu fermentasi yang digunakan adalah 40°C sehingga menyebabkan percepatan fase lag dan fase eksponensial pada bakteri asam laktat, sehingga setelah proses fermentasi bakteri telah mencapai stasioner (Oktavia, 2015).

#### **4.4 Aktivitas Antioksidan Yogurt**

Uji aktivitas antioksidan pada sampel yogurt dilakukan dengan metode DDPH. DPPH merupakan radikal sintetik yang ketika bereaksi dengan senyawa yang memiliki kandungan antioksidan akan melakukan mekanisme donor atom hidrogen sehingga menyebabkan peluruhan warna DPPH dari ungu menjadi kuning. Hasil dari pengukuran %inhibisi yang menunjukkan aktivitas peredaman sampel yogurt terhadap DPPH 50ppm dapat dilihat pada tabel 4.3

Hasil tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan pada sampel yogurt mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak yang



ditambahkan. Hasil tertinggi pada yogurt dengan penambahan 15% ekstrak ubi jalar yaitu sebesar 70,4% dan paling rendah pada yogurt tanpa penambahan ekstrak ubi jalar ungu yaitu sebesar 49,35%. Aktivitas antioksidan pada yogurt tanpa penambahan ekstrak ubi jalar ungu tidak berbeda jauh jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan yogurt dengan penambahan 5% ekstrak ubi jalar ungu.

Tabel 4. 3 Aktivitas Antioksidan (% inhibisi terhadap DPPH) Yogurt Selama Masa Penyimpanan

Masa Penyimpanan	% inhibisi			
	P1	P2	P3	P4
0	49,35	54,67	62,2	70,98
2	53,56	55,78	60,7	70,26
4	52,01	61,6	60,2	70,01
6	57,18	61,14	60,2	69,54
Rata-rata ± SD	52,02±3,27	58,29±3,58	60,82±0,94	70,14±0,51

Keterangan :

P1: Yogurt tanpa penambahan ekstrak ubi jalar ungu

P2: Yogurt dengan penambahan 5% ekstrak jalar ungu

P3: Yogurt dengan penambahan 10% ekstrak jalar ungu

P4: Yogurt dengan penambahan 15% ekstrak jalar ungu

Hasil tersebut menunjukkan bahwa selama proses fermentasi, terjadi mekanisme proteolitik oleh bakteri asam laktat pada substrat susu sapi dalam memecah protein menjadi peptida-peptida pendek seperti *Phe-Asp-His-Val-Glu* dan *Phe-Asn-His-Leu-asp-His* yang memiliki aktivitas antioksidan karena mampu menstabilkan dan menghentikan reaksi berantai radikal pada DDPH (Muthia *et al.*, 2017).

Penelitian Farida 2019, menunjukkan hasil aktivitas antioksidan ekstrak etanol *L. fermentum* S21209 sebesar 87,76%, *L.plantarum* MB427 sebesar 90,28% dan *L. rhamnosus* R23 sebesar 88,72%. Metabolit yang diduga berperan dalam mekanisme penghambatan radikal bebas dari ekstrak *L. plantarum* yaitu *L-3-(4-hydroxyphenyl) lactic acid* (HPLA) dan *L-indole-3-lactic acid* (ILA). Kandungan tersebut dapat dikatakan mempengaruhi peningkatan aktktivitas antioksidan pada produk yogurt. Hal ini dibuktikan dengan hasil yang diperoleh pada yogurt yang difermentasi dengan starter *L.*

*bulgaricus* dan *S. thermophilus* yang diperkaya probiotik *L. plantarum* S1K2T1 memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi yaitu sebesar 49,35%.

Berdasarkan uji statistik, diperoleh data ( $P < 0,05$ ) sehingga dapat dikatakan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak ubi jalar ungu berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan aktivitas antioksidan yogurt. Berdasarkan penelitian Retnati 2009, kandungan antioksidan pada ubi jalar ungu segar sebesar 61,07%. Dengan demikian penambahan ekstrak ubi jalar ungu sebesar 5%-15% mampu meningkatkan aktivitas antioksidan pada produk yogurt. Tingginya kandungan antioksidan pada ubi jalar ungu dipengaruhi oleh kandungan antosianin dan beta-karoten yang cukup tinggi. Selama proses fermentasi, bakteri asam laktat akan mendorong terjadinya sintesis antosianin dan beta-karoten serta senyawa fenolik lainnya sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan (Retnati, 2009).

Aktivitas antioksidan pada perlakuan tanpa penambahan ekstrak dan penambahan 5% ekstrak ubi jalar ungu meningkat seiring dengan waktu penyimpanan sementara pada yogurt dengan penambahan 10% dan 15% ekstrak memiliki aktivitas antioksidan tergolong stabil sehingga tidak terjadi perubahan selama proses penyimpanan. Berdasarkan data uji statistik, diperoleh hasil ( $P > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa waktu penyimpanan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan aktivitas antioksidan yogurt namun memberikan pengaruh pada perlakuan tanpa penambahan ekstrak dan penambahan 5% ekstrak ubi jalar ungu.

Peningkatan aktivitas antioksidan pada yogurt tanpa penambahan ekstrak dan yogurt dengan penambahan 5% ekstrak selama penyimpanan pada suhu 4°C dapat terjadi karena selama proses penyimpanan dimungkinkan masih terjadi proses perombakan pada senyawa fenolik oleh bakteri asam laktat menjadi senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan (Mahardani, 2021). Hal ini berjalan seiring dengan peningkatan kadar asam laktat selama proses penyimpanan. Sementara pada yogurt dengan penambahan 10% dan 15% ekstrak ubi jalar ungu memiliki aktivitas antioksidan yogurt tergolong stabil

karena memiliki tekstur yang baik sehingga selama proses penyimpanan sudah tidak terjadi perombakan senyawa fenolik oleh bakteri asam laktat.

Untuk mengetahui konstrasi efektif dari sampel yogurt dengan perlakuan penambahan ekstrak ubi jalar ungu sebesar 0, 5%, 10% dan 15% dalam menghambat 50% radikal bebas, maka dilakukan perhitungan IC50 seperti pada tabel 4.4-4.7.

Tabel 4. 4 Nilai IC50 Yogurt Tanpa Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu

konsentrasi (ppm)	Ln konsentrasi	Absorbansi (OD 517 nm)			Rata rata	% inhibisi	IC50 (ppm)
		1	2	3			
1000	3	0,47	0,468	0,471	0,47	49,35	22,11
750	2,88	0,56	0,52	0,525	0,537	42,17	
500	2,7	0,62	0,61	0,613	0,618	33,55	
250	2,4	0,652	0,655	0,65	0,653	29,6	

Tabel 4. 5 Nilai IC50 Yogurt dengan Penambahan 5% Ekstrak Ubi Jalar Ungu

konsentrasi (ppm)	Ln konsentrasi	Absorbansi (OD 517 nm)			Rata rata	% inhibisi	IC50
		1	2	3			
1000	3	0,419	0,422	0,421	0,421	54,67	15,63
750	2,88	0,45	0,455	0,452	0,452	51,26	
500	2,7	0,573	0,573	0,576	0,574	38,15	
250	2,4	0,622	0,623	0,62	0,622	33,01	

Tabel 4. 6 Nilai IC50 Yogurt dengan Penambahan 10% Ekstrak Ubi Jalar Ungu

konsentrasi (ppm)	Ln konsentrasi	Absorbansi (OD 517 nm)			Rata rata	% inhibisi	IC50 (ppm)
		1	2	3			
1000	3	0,36	0,361	0,361	0,361	62,2	15,96
750	2,88	0,46	0,46	0,46	0,457	50,72	
500	2,7	0,49	0,486	0,489	0,487	47,52	
250	2,4	0,604	0,602	0,61	0,602	35,13	

Tabel 4. 7 Nila IC50 Yogurt dengan Penambahan 15% Ekstrak Ubi Jalar Ungu

konsentrasi (ppm)	Ln konsentrasi	Absorbansi (OD 517 nm)			Rata rata	% inhibisi	IC50 (ppm)
		1	2	3			
1000	3	0,271	0,268	0,269	0,269	70,98	13,96

750	2,88	0,355	0,354	0,351	0,353	61,93
500	2,7	0,483	0,489	0,482	0,485	47,77
250	2,4	0,552	0,548	0,55	0,55	40,73

Berdasarkan hasil perhitungan nilai IC50 di atas dapat dilihat bahwa sifat antioksidan yang dimiliki oleh keempat sampel tergolong ke dalam antioksidan sangat kuat karena nilai IC50 <50 ppm (Trisantini, 2016). Konsentrasi sampel terendah yang mampu meredam 50% radikal bebas yaitu pada yogurt dengan penambahan 15% ekstrak ubi jalar ungu dengan nilai IC50 sebesar 13,96 ppm. Hasil tersebut masih lebih besar jika dibandingkan nilai IC50 dari asam askorbat pada tabel 4.9 yaitu konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat 50% DPPH sebesar 6,75.

Tabel 4. 8 Nilai IC50 Asam Askorbat

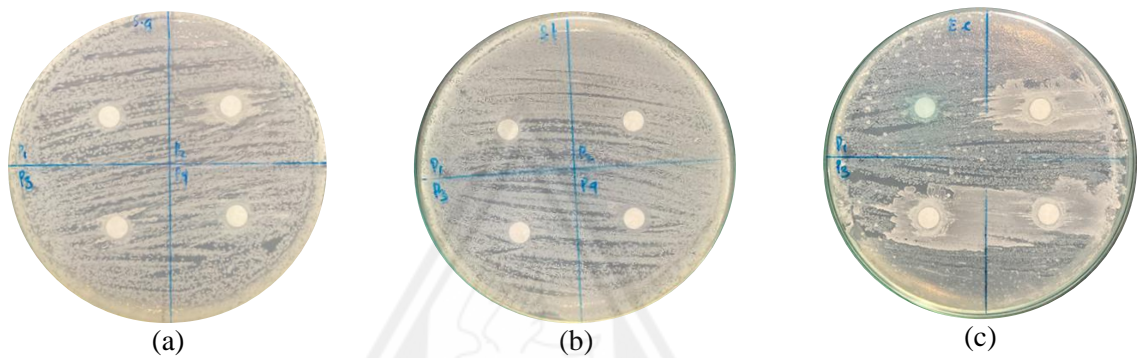
konsentrasi (ppm)	Ln konsentrasi	Absorbansi (OD 517 nm)			Rata rata	% inhibisi	IC50 (ppm)
		1	2	3			
200	2,30	0,22	0,20	0,23	0,214	76,90	6,75
150	2,18	0,29	0,29	0,30	0,295	68,21	
100	2,00	0,40	0,40	0,40	0,402	56,65	
50	1,70	0,59	0,60	0,61	0,600	35,34	

Jika dibandingkan dengan nilai IC50 asam askorbat, nilai IC50 yogurt tanpa penambahan ekstrak ubi jalar setara dengan 3,27 kali asam askorbat 200ppm, yogurt dengan penambahan 5% ekstrak ubi jalar ungu setara dengan 2,31 kali asam askorbat, yogurt dengan penambahan 10% ekstrak ubi jalar ungu setara dengan 2,36 asam askorbat dan yogurt dengan penambahan 15% ekstrak ubi jalar ungu setara dengan 2,06 kali asam askorbat 200ppm.

#### 4.5 Aktivitas Antibakteri Yogurt

Uji aktivitas antibakteri sampel CEA yogurt bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak yogurt dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen yang diwakili oleh bakteri *S.aureus*, *S. typhi* dan *E.coli*. Ketiga bakteri tersebut digunakan sebagai indikator untuk pengujian aktivitas antibakteri karena

tergolong ke dalam kelompok bakteri yang dapat menyebabkan penyakit dan disalurkan melalui makanan (*foodborne deases*). Gambar 4.13, 4.14 dan 4.15 menunjukkan hasil uji antibakteri sampel terhadap *S.aureus*, *S. typhi* dan *E.coli*.



Gambar 4. 13 Aktivitas Antibakteri Yogurt berbagai perlakuan terhadap (a)*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, (b) *Salmonella typhi* NCTC 786, (c) *Eschericia coli* ATCC 25922

Pada penelitian ini ditemukan hasil bahwa *crude extract asam* sampel yogurt dari keempat perlakuan memiliki indikasi kemampuan dalam melakukan reaksi penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *S. typhi* dan *E.coli*. Mekanisme penghambatan zat antibakteri terhadap bakteri patogen dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi zat antimikroba yang digunakan, suhu, spesies mikroorganisme indikator, kandungan bahan organik oleh sampel, dan juga pH (Hutabara *et al.*, 2013).

Beberapa penelitian sebelumnya telah membuktikan potensi yogurt terutama yang difermentasi oleh bakteri *L. plantarum* dalam melakukan mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *E.coli* (Nugrahani, 2020). Penghambatan tersebut berasal dari aktivitas asam organik berupa asam laktat dan asam asetat yang dihasilkan selama proses fermentasi susu. Asam laktat diketahui memiliki kemampuan dalam melakukan mekanisme pengrusakan pada membran luar bakteri gram negatif bahkan masuk ke dalam periplasma melalui protein porin pada membran luarnya. Asam laktat yang dihasilkan setelah proses fermentasi berada pada kisaran 0,58-0,76% dan belum mampu melakukan mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Penelitian Amarantini (2020) dengan menggunakan metode sumuran

telah membuktikan kemampuan bakteri *L.plantarum* S1K2T1 dalam memberikan sifat antagonis terhadap pertumbuhan bakteri gram positif serta bakteri gram negatif.

Kecilnya kemampuan keempat sampel yogurt dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat disebabkan oleh kemampuan bakteri tersebut bertahan pada kondisi asam melalui mekanisme pompa proton. Mekanisme tersebut dapat menyebabkan terjadinya keseimbangan pada pH dalam sel bakteri sehingga bakteriosin ataupun asam laktat yang memiliki potensi antibakteri tidak mampu berpenetrasi ke dalam sel bakteri (Khikmah, 2015). Telah terjadi beberapa fenomena resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik, seperti adanya resistensi *S. typhi* terhadap antibiotik *sulfamethoxazole* (Rahman, 2019) dan resistensi bakteri *E.coli* yang diisolasi dari ayam layer terhadap *tetracycline*, *penicillin G*, dan *Oxtetracycline* (Agustin, 2022). Resistensi antibiotik merupakan akibat dari penggunaan antibiotik secara berlebih yang akan menyebabkan mutasi genetik pada bakteri. Munculnya kemampuan resisten terhadap antibiotik pada beberapa strain bakteri dapat menimbulkan menurunnya efek dari penggunaan senyawa dengan kemampuan antibakteri terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri yang disasar (Agustin, 2022).

Konsentrasi sampel juga dianggap berpengaruh terhadap kemampuan penghambatan. Dalam penelitian ini, konsentrasi yang digunakan hanya sebesar 50µL, sehingga diduga konsentrasi tersebut belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *S. typhi* dan *E.coli*. Selain itu, penyimpanan *crude extract asam* yang cukup lama sebelum dilakukan uji aktivitas antibakteri merupakan salah satu faktor yang dimungkinkan memiliki pengaruh terhadap aktivitas antibakteri sampel. Selama proses penyimpanan dimungkinkan terjadi penurunan kandungan serta kualitas bakteriosin sampel sehingga menyebabkan kecilnya kemampuan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli*, *S.tiphy* dan *S. aureus*.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. KESIMPULAN

- 5.1.1 Penambahan ekstrak ubi jalar ungu berpengaruh signifikan terhadap peningkatan aktivitas antioksidan yogurt susu sapi. Aktivitas antioksidan tertinggi pada yogurt dengan penambahan 15% ekstrak ubi jalar ungu dengan total antioksidan sebesar 70,98% dengan konsentrasi efektif sampel dalam menghambat 50% DPPH 50ppm sebesar 13,96 ppm.
- 5.1.2 Perlakuan penyimpanan tidak berpengaruh secara signifikan terhadap aktivitas antioksidan yogurt.
- 5.1.3 Penambahan ekstrak ubi jalar tidak berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri yogurt terhadap bakteri *Eschericia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* NCTC 786 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### 5.2 SARAN

- 5.2.1 Diharapkan penelitian selanjutnya melakukan uji organoleptik untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen terhadap produk yogurt yang dihasilkan.
- 5.2.2 Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan adanya indikasi penghambatan ekstrak yogurt terhadap bakteri indikator meskipun sangat kecil sehingga penelitian selanjutnya diharapkan melakukan uji antibakteri lebih lanjut.



## DAFTAR PUSTAKA

- Af'idah, F., & Trimulyono, G. (2019). Uji aktivitas antioksidan dan kadar asam laktat yoghurt tempe kedelai (*Glycine max*) dan yoghurt tempe kacang hijau (*Vigna radiata*). *Lentera Bio*, 8(1), 17-24.
- Agustine, L., Okfrianti, Y., & Jum, J. (2018). Identifikasi Total Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Yoghurt dengan Variasi Sukrosa dan Susu Skim. *Jurnal Dunia Gizi*, 1(2), 79-83.
- Agustin, A. Laili., Novarina Sulsia., Kuntu Tirtasari., & Tenri Mega (2022). Resistensi Antibiotik Terhadap *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Ayam Layer di Desa Sesaot Kabupaten Lombok Barat. *Jurnal Unair*, 87-95.
- Amelia R., Rizkia P., & Anam C (2021). Ulasan Ilmiah : Antosianin dan Manfaatnya untuk Kesehatan; *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*, 3 (2), 11-21.
- Amarantini, C., Satwika, D., Budiarmo, T. Y., Yunita, E. R., & Laheba, E. A. (2019, December). Screening of antimicrobial-producing lactic acid bacteria isolated from traditional fish fermentation against pathogenic bacteria. In *Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 1397, No. 1, p. 012045). IOP Publishing
- Amarantini, C., Budarso, T. Y., Antika, Y. E., & Prakasita, V. C. (2020). Characterisation of *Lactobacillus plantarum* isolated from pickled cucumber, and its antagonist effect on pathogenic bacteria. *International Food Research Journal*, 27(5), 805-813.
- Andarina, R., & Djauhari, T. (2017). Antioksidan dalam dermatologi. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan: Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*, 4(1), 39-48.
- Anggraini, A. A., & Ardyati, T. (2017). Pengaruh Kombinasi Starter Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Pembuatan Keju Kedelai (Soy Cheese). *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 5(3), 83-85.
- Arena, M. P., Caggianiello, G., Russo, P., Albenzio, M., Massa, S., Fiocco, D., ... & Spano, G. (2015). Functional starters for functional yogurt. *Foods*, 4(1), 15-33.
- Badaring, D. R., Sari, S. P. M., Nurhabiba, S., Wulan, W., & Lembang, S. A. R. (2020). Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos L.*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1), 16-26.
- Bawole, K. V., Umboh, S. D., & Tallei, T. E. (2018). Uji Ketahanan Bakteri Asam Laktat Hasil Fermentasi Kubis Merah (*Brassica oleracea L.*) pada pH 3. *Jurnal MIPA*, 7(2), 20-23.
- Castellone, V., Bancalari, E., Rubert, J., Gatti, M., Neviani, E., & Bottari, B. (2021). Eating fermented: Health benefits of LAB-fermented foods. *Foods*, 10(11), 2639.

- Chairunnissa, H., Balia, R. L., & Pratama, A. (2017). Karakteristik Kimia Set Yoghurt Dengan Bahan Baku Susu Tepung Dengan Penambahan Jus Bit (Beta Vulgaris L.) (Chemical Characteristics of Set Yoghurt Based on Milk Powder With Beetroot Extract (Beta Vulgaris L.)). *Jurnal Ilmu Ternak Universitas Padjadjaran*, 17(1), 35-39.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri ISSN*, 2503.
- Cimmino, F., Catapano, A., Villano, I., Di Maio, G., Petrella, L., Traina, G., ... & Cavaliere, G. (2023). Invited review: Human, cow, and donkey milk comparison: Focus on metabolic effects. *Journal of Dairy Science*.
- Devi, S. Manjulata., & Prakash, M. H. (2016). *Fermented Milk and Dairy Products: Metabolic Characteristic of Lactic Starters*. P. Anil, K (Eds.). New York: CRC Press.
- Dewi, I. G. A. K., Putra, I. G. N. A. D., & Sujaya, I. N. (2010). Pengembangan Starter Dari *Lactobacillus* Spp. Isolat Susu Kuda Sumbawa Untuk Pembuatan Susu Terfermentasi. *Jurnal Farmasi Udayana*, 2(1), 279785.
- Dewi, L. R., Laksmiani, N. P. L., Paramita, N. L. P. V., & Wirasuta, I. M. A. G. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) dengan Metode Ferrous Ion Chelating (FIC). *Jurnal Farmasi Udayana*, 3(1), 279701.
- Dopazo, V., Illueca, F., Luz, C., Musto, L., Moreno, A., Calpe, J., & Meca, G. (2023). Evaluation of shelf life and technological properties of bread elaborated with lactic acid bacteria fermented whey as a bio-preservation ingredient. *LWT*, 114427.
- Farida, E., Jenie, B. S. L., Nuraida, L., & Giriwono, P. E. (2019). Aktivitas antioksidan dan penghambatan  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak etanol bakteri asam laktat indigenus. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 30(1), 56-63.
- Fatimatuzahro, D., Tyas, D. A., & Hidayat, S. (2019). Pemanfaatan Ekstrak Kulit Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batatas* L.) sebagai Bahan Pewarna Alternatif untuk Pengamatan Mikroskopis *Paramecium* sp. dalam Pembelajaran Biologi. *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*, 2(1), 1-7.
- Fatmawati, U., Prasetyo, F. I., & TA, M. S. (2013). Karakteristik yogurt yang terbuat dari berbagai jenis susu dengan penambahan kultur campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. *Bioedukasi*, 6(2).
- Fazilah, N. F., Ariff, A. B., Khayat, M. E., Rios-Solis, L., & Halim, M. (2018). Influence of probiotics, prebiotics, synbiotics and bioactive phytochemicals on the formulation of functional yogurt. *Journal of Functional Foods*, 48, 387-399.

- Fisberg, M., & Machado, R. (2015). History of yogurt and current patterns of consumption. *Nutrition reviews*, 73, 4-7.
- Hamidah, M. N., Rianingsih, L., & Romadhon, R. (2019). Aktivitas antibakteri isolat bakteri asam laktat dari peda dengan jenis ikan berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11-21.
- Hardoko, L. H., & Siregar, T. M. (2010). Pemanfaatan ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L. Poir) sebagai pengganti sebagian tepung terigu dan sumber antioksidan pada roti tawar. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 21(1), 25-32.
- Hendarto, D. R., Handayani, A. P., Esterelita, E., & Handoko, Y. A. (2019). Mekanisme Biokimiawi dan Optimalisasi *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dalam Pengolahan Yoghurt yang Berkualitas. *J. Sains Dasar*, 8(1), 13-19.
- Hidayat, I. R., Kusrahayu, K., & Mulyani, S. (2013). Total bakteri asam laktat, nilai pH dan sifat organoleptik drink yoghurt dari susu sapi yang diperkaya dengan ekstrak buah mangga. *Animal agriculture journal*, 2(1), 160-167.
- Hutabarat, V. L. (2013). Potensi Bakteriosin Dari Bakteri Asam Laktat Yogurt Sebagai Antibakteri Di Uji Terhadap *Shigella dysenteriae* DAN *Salmonella thypi*.
- Ihsan, B. (2021). Identifikasi Bakteri Patogen (*Vibrio* spp. dan *Salmonella* spp.) yang Mengontaminasi Ikan Layang dan Bandeng di Pasar Tradisional. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 89-96
- Irawan, A. (2019). Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran Dalam Kegiatan Penelitian Dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 1-9.
- Khikmah, N. (2015). Examine Antibacteria Activity of Commercial Fermented Dairy Products Againsts Pathogens Bacteria. *Jurnal Penelitian Saintek*, 20(1).
- Leaves, L., & Leaves, L. (2014). Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method of *ageratum conyzoides*. *American Journal of Ethnomedicine*, 1(4), 244-249.
- Mariyana, D., Tari, A. I. N., & Handayani, C. B. (2018). Potensi Yoghurt Probiotik Terhadap Kesehatan Saluran Pencernaan dan Kondisi Fisik Tikus Coba yang Diinterfensi dengan Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) ATCC (35218). *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*, 2(2), 91-98.
- okt
- Mahardani, O. T., & Yuanita, L. (2021). Efek Metode Pengolahan Dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik Dan Aktivitas Antioksidan. *UNESA Journal of Chemistry*, 10(1), 64-78.

- Muhadi, I. B. I. (2011, November). Fermentasi Mikroaerofilik *Lactobacillus acidophilus* untuk Produksi Probiotik. In *Prosiding Industrial Research Workshop and National Seminar* (Vol. 2, pp. 188-192).
- Mustika, S., Yasni, S., & Suliantari, S. (2019). Pembuatan Yoghurt Susu Sapi Segar dengan Penambahan Puree Ubi Jalar Ungu. *Jurnal Pendidikan Teknologi Kejuruan*, 2(3), 97-101.
- Muthia, K. N. S., Sarjono, P. R., & Aminin, A. L. (2017). Aktivitas antioksidan dan antibakteri produk fermentasi susu kedelai dan whey tahu menggunakan bakteri asam laktat komersial. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 20(1), 9-12.
- Navyanti, F., & Adriyani, R. (2015). Hygiene Sanitation, Physical Qualities and Bacterial in Fresh Cow's Milk of X Milk Company in Surabaya. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Unair*, 8(1), 36-47.
- Nugrahani, G., Apridamayanti, P., & Sari, R. (2020). Aktivitas antibakteri yogurt hasil fermentasi *Lactobacillus plantarum* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Cerebellum*, 6(2), 55-58.
- Nur, F., Hafsan, H., & Wahdiniar, A. (2015). Isolasi bakteri asam laktat berpotensi probiotik pada dangke, makanan tradisional dari susu kerbau di Curio Kabupaten Enrekang. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 3(1), 60-65.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41-46.
- Okfrianti, Y., Darwis, D., & Pravita, A. (2018). Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus Plantarum* C410LI dan *Lactobacillus Rossiae* LS6 yang Diisolasi dari Lemea Rejang terhadap Suhu, pH dan Garam Empedu Berpotensi sebagai Prebiotik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan*, 6(1), 49-58.
- Oktavia, H. M., Kusumawati, N., & Kuswardhani, I. (2015). Pengaruh Lama Penyimpanan Selama Distribusi dan Pemasaran terhadap Viabilitas Bakteri Asam Laktat dan Tingkat Keasaman pada Yogurt Murbei Hitam (*Morus nigra* L.). *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi (Journal of Food Technology and Nutrition)*, 14(1), 22-30.
- Pratiwi, I. S. E., Darusman, F., Shalannandia, W. A., & Lantika, U. A. (2020). Peranan Probiotik dalam Yogurt sebagai Pangan Fungsional terhadap Kesehatan Manusia. *Prosiding Farmasi*, 6(2), 1119-1124.
- Purwanto, D., Bahri, S., & Ridhay, A. (2017). Uji aktivitas antioksidan ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) dengan berbagai pelarut. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 3(1), 24-32.
- Putri, M. R. A. B., Soleha, T. U., Mustofa, S., & Apriliana, E. (2019). Identifikasi Bakteri *Salmonella Typhi* Pada Makanan Jajanan Gorengan Yang Dijual Di Depan Sekolah Dasar Negeri Kecamatan Kedaton Kota Bandar Lampung. *Jurnal Agromedicine*, 6(2).

- Ramadhani, T. B., Nurwanto., Antonius Hintono. (2018). Karakteristik Yoghurt dengan Penambahan Tepung Ubi Jalar Ungu. *Jurnal Teknologi Pangan*. 2 (2): 183-190.
- Rahayu, P. P., & Andriani, R. D. (2018). Mutu Organoleptik dan Total Bakteri Asam Laktat Yogurt Sari Jagung dengan Penambahan Susu Skim dan Karagenan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak (JITEK)*, 13(1), 38-45.
- Retnati., Adriani., Gusti F. (2015). Pengaruh Penambahan Esktrak Berbagai Jenis Ubi Jalar (*Ipomea batatas*) terhadap jumlah sel dan aktivitas antioksidan yogurt. *Biofarmasi*, 7 (2). 68-76.
- Rizky, A. M., dan E. Zubaidah. (2015). Pengaruh penambahan tepung ubi ungu jepang (*ipomea batatas*) terhadap sifat fisik, kimia, dan organoleptic kefir ubi ungu. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3 (4): 1393-1404.
- Rosidah, R. (2014). Potensi Ubi Jalar Sebagai Bahan Baku Industri Pangan. *TEKNOBUGA: Jurnal Teknologi Busana dan Boga*, 1(1).
- Saefudin, S., Marusin, S., & Chairul, C. (2013). Aktivitas antioksidan pada enam jenis tumbuhan *sterculiaceae*. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 31(2), 103-109.
- Safari A., Dwiningrum S., & Fadhlillah M. (2019). Ekstraksi Dan Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas L.*); *Al-Kimiya*, Vol. 6, No. 2 (46-51).
- Sayuti, I., Wulandari, S., & Sari, D. K. (2013). Penambahan Ekstrak Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* var. *Ayamurasaki*) dan Susu Skim terhadap Organoleptik Yoghurt Jagung Manis (*Zea mays L. Saccharata*) dengan Menggunakan Inokulum *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium sp.* *Prosiding SEMIRATA 2013*, 1(1).
- Setyawardani, E., Rahardjo, A. H. D., & Setyawardani, T. (2021). Pengaruh Jenis Susu Terhadap Sineresis, Water Holding Capacity, Dan Viskositas. 3(3), 242-251.
- Shori, A. B. (2013). Antioxidant activity and viability of lactic acid bacteria in soybean-yogurt made from cow and camel milk. *Journal of Taibah University for Science*, 7(4), 202-208.
- Situmorang, T. S. (2020). Pemeriksaan *Salmonella thypii* dan *Eschericia coli* pada Es Jagung di Pasar Tradisional Padang Bulan, Medan|| The Existence test of *Salmonella thypii* and *Eschericia coli* of Corn Ice at Padang Bulan's Traditional Market, Medan. *JURNAL PEMBELAJARAN DAN BIOLOGI NUKLEUS*, 6(1), 96-102.
- Suhaeni, S. (2018). Uji Total Asam dan Organoleptik Yogurt Katuk (*Sauropus androgyneus*). *Dinamika*, 9(2), 21-28.
- Sun, Y., Guo, S., Wu, T., Yang, Y., Shen, T., Ma, X., ... & Zhang, H. (2023). *Bifidobacterium adolescentis* B8589-and *Lacticaseibacillus paracasei* PC-01-co-

- fermented milk has more  $\gamma$ -aminobutyric acid and short-chain fatty acids than Lacticaseibacillus paracasei PC-01-fermented milk. *LWT*, 179, 114645.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Jonathan, J. G. (2016). Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH pada daun tanjung (*Mimusops elengi* L). *Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*.
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi simplisia dan ekstrak etanol daun leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). *Journal of Pharmaceutical and medicinal sciences*, 2(1).
- Utami, M. M. D., Pantaya, D., Subagja, H., Ningsih, N., & Dewi, A. C. (2020). Teknologi pengolahan yoghurt sebagai diversifikasi produk susu kambing pada kelompok ternak Desa Wonoasri Kecamatan Tempurejo Kabupaten Jember. *PRIMA J. Community Empower. Serv*, 4(1), 30.
- Wanniatie, V., Qisthon, A., Husni, A., & Olsen, E. (2021). Kualitas Mikrobiologis Susu Kambing dengan Metode Pasteurisasi High Temperature Short Time (HTST) pada Penyimpanan Berbeda. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*, 9(1), 30-35.
- Widagdha, S., & Nisa, F. C. (2015). Pengaruh Penambahan Sari Anggur (*Vitis Vinifera* L.) Dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Fisiko Kimia Yoghurt [In Press Januari 2015]. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(1), 248-258.
- Yulia, N., Wibowo, A., & Kosasih, E. D. (2020). Karakteristik Minuman Probiotik Sari Ubi Kayu dari Kultur Bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan *Streptococcus thermophilus*. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 87-94.
- Yanlinastuti, Y., & Fatimah, S. (2016). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium Dalam Paduan U-Zr Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Pengelolaan Instalasi Nuklir*, 9(17), 156444.