

PERBANDINGAN VIABILITAS PROBIOTIK SOYGHURT BEKU-KERING PADA PERMEN KARAMEL ANTARA SUHU RUANGAN DAN LEMARI ES

Shaliza Putri Hermadiana¹, Eka Noneng Nawangsih^{2*}, Rudy Dwi Laksono³

Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi¹, Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi², Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi³

*Corresponding Author : eka.noneng@lecture.unjani.ac.id

ABSTRAK

SNI 2891:2009 menetapkan standar minimal bakteri asam laktat (BAL) produk yoghurt yaitu minimal 10^7 CFU/mL. *Soyghurt* merupakan produk fermentasi kacang kedelai dan ditambahkan kultur bakteri asam laktat (BAL) kedalamnya. Keunggulan *soyghurt* antara lain, rendah lemak jenuh, kaya antioksidan, dan mengandung oligosakarida sebagai prebiotik untuk mendukung pertumbuhan probiotik. Untuk mempertahankan viabilitas probiotik pada *soyghurt*, metode pengeringan beku dan mikroenkapsulasi dengan krioprotektan yaitu inulin dan sukrosa membantu mencegah kerusakan bakteri saat proses pengeringan beku. Permen karamel mengandung glukosa dan laktosa yang dapat menjadi nutrisi bagi pertumbuhan probiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas probiotik pada permen karamel yang disimpan pada minggu pertama dan keempat di suhu ruangan dan suhu lemari es menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*). Pada minggu pertama, jumlah koloni probiotik pada kedua suhu tersebut adalah 10^4 CFU/mL, sedangkan pada minggu keempat meningkat menjadi 10^7 CFU/mL. Uji normalitas menunjukkan nilai $p < 0,05$ sehingga dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon*. Hasil analisis menunjukkan perbedaan signifikan pada jumlah koloni antara minggu pertama dan minggu keempat ($p = 0,033$, $p < 0,05$) mengindikasikan bahwa lama waktu penyimpanan dengan ketersediaan nutrisi yang memadai dapat mendukung viabilitas probiotik. Selain itu, perbandingan jumlah koloni antara penyimpanan pada suhu ruangan dan suhu lemari es menunjukkan perbedaan signifikan ($p = 0,008$, $p < 0,05$) penyimpanan pada suhu lemari es lebih efektif dalam mempertahankan viabilitas probiotik. Sehingga dapat disimpulkan bahwa waktu dan suhu penyimpanan secara signifikan mempengaruhi viabilitas probiotik.

Kata kunci : permen susu karamel, probiotik, *soyghurt* beku-kering

ABSTRACT

SNI 2891:2009 sets the minimum standard of lactic acid bacteria (LAB) for yoghurt products at minimum of 10^7 CFU/mL. *Soyghurt* is a fermented product of soybeans and added lactic acid bacteria (LAB) culture into it. The benefits of *soyghurt* include low saturated fat, rich antioxidants, and contains oligosaccharides as prebiotics to support probiotic growth. To maintain viability of lactic acid bacteria (LAB) in *soyghurt*, freeze-drying and microencapsulation methods with cryoprotectants, inulin and sucrose, help prevent bacterial damage during the freeze-drying process. Caramel candy contains glucose and lactose as nutrients for probiotic growth. This study aims to determine the viability of probiotics in caramel candies stored in first and fourth weeks at room temperature and refrigerator temperature using TPC (*Total Plate Count*) method. In first week, probiotic colony count at both temperature was 10^4 CFU/mL, while in fourth week it increased to 10^7 CFU/mL. The normality test showed value of $p < 0.05$ so continued with Wilcoxon test. The analysis showed significant difference in total colonies between first week and fourth week ($p = 0.033$, $p < 0.05$) meaning that storage time with sufficient nutrient can support probiotic viability. In addition, comparison of total colonies between room temperature and refrigerator temperature showed significant difference ($p = 0.008$, $p < 0.05$) meaning storage at refrigerator temperature more effective to maintain probiotic viability. It can be concluded that storage time and temperature significantly affect the viability of probiotics.

Keywords : caramel milk candy, freeze-dried *soyghurt*, probiotic

PENDAHULUAN

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan bila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup.(Papadimitriou et al., 2016) Strain probiotik paling dominan di saluran cerna adalah *L. acidophilus* dan *B. bifidum*.(Gao et al., 2022) Berdasarkan SNI 2891:2009 syarat minimal probiotik produk *yoghurt* yaitu minimal 10^7 CFU/mL.(Badan Standarisasi Nasional, 2009.) *Soyghurt* merupakan hasil fermentasi kacang kedelai yang ditambahkan kultur bakteri asam laktat (BAL). *Soyghurt* memiliki beberapa kelebihan seperti kadar lemak jenuh rendah, kaya antioksidan, serta adanya kandungan oligosakarida pada biji kacang kedelai sebagai prebiotik yang dapat meningkatkan pertumbuhan probiotik.(Labiba et al., 2020; Nawangsih et al., 2022) Untuk mempertahankan viabilitas bakteri asam laktat pada *soyghurt* agar bisa bertahan lama maka perlu dilakukan proses pengeringan beku dan proses mikroenkapsulasi untuk melindungi bakteri dari lingkungan yang ekstrim.(Bilang et al., 2018.)

Penelitian produk pangan fungsional berbasis probiotik semakin berkembang. Permen karamel yang berbahan dasar gula dan susu mengandung glukosa dan laktosa yang menjadi sumber energi dan nutrisi untuk mendukung metabolisme dan pertumbuhan probiotik.(Nawangsih et al., 2022; Adinda., et al 2021) Adanya substrat pada permen karamel ini dapat membantu mempertahankan viabilitas probiotik sekaligus meningkatkan jumlah koloni probiotik. Pengaruh suhu dan lama penyimpanan merupakan faktor penting untuk viabilitas probiotik. Bakteri asam laktat (BAL) mempunyai kemampuan dalam adaptasi terhadap suhu panas dan suhu dingin dengan menghasilkan *Heat Shock Protein* (HSP) dan *Cold Shock Protein* (CSP).(Liu et al., 2020) Penyimpanan pada suhu ruang mendekati suhu optimum pertumbuhan probiotik yang ideal.(Saumi et al., 2023) Oleh karena itu, penyimpanan pada suhu ruang dapat meningkatkan pertumbuhan koloni dengan cepat. Sementara penyimpanan pada suhu dingin dapat mengurangi kerusakan struktur bakteri, menjaga viabilitas sel, menjaga pH, dan menghambat pertumbuhan mikroba patogen.(Ayuti et al., 2016; Liu et al., 2020)

Syarat probiotik yang harus dipenuhi yaitu tidak bersifat patogen, toleran terhadap asam lambung, serta mampu bertahan hidup selama proses pengolahan dan penyimpanan.(Trimudita & Djaenudin, 2021) Oleh karena itu, uji viabilitas berdasarkan lama dan suhu penyimpanan perlu dilakukan untuk memastikan mutu dari permen karamel probiotik, sehingga bakteri tetap hidup hingga mencapai usus dan dapat memberikan manfaat kesehatan secara optimal. Berdasarkan uraian diatas, terdapat potensi yang besar untuk mengembangkan produk pangan fungsional yaitu permen karamel probiotik yang memenuhi syarat SNI (Standar Nasional Indonesia) dengan kualitas yang baik agar bermanfaat bagi kesehatan serta dapat menjangkau masyarakat yang lebih luas.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui viabilitas probiotik pada permen karamel yang disimpan pada minggu pertama dan keempat di suhu ruangan dan suhu lemari es menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*).

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani. Penelitian dilakukan bulan November 2024 sampai Februari 2025 dan telah memperoleh persetujuan etik penelitian dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani dengan nomor etik No. 029/UH1.11/2024.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Jumlah koloni probiotik dihitung pada minggu pertama dan keempat pada suhu ruangan dan lemari es menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*), media *Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA) dengan metode cawan tuang (*pour plate*), pengenceran dilakukan hingga 10^{10} . Pengulangan dilakukan

sebanyak dua kali (duplo). Proses inkubasi dilakukan menggunakan inkubator CO₂ dengan kadar CO₂ 5% suhu 37°C. Koloni yang dapat dihitung sesuai dengan ketentuan *Standard Plate Count* (SPC) yaitu 25-250 koloni, kemudian jumlah total koloni di hitung mengikuti aturan SNI 2897:2008. Prosedur penelitian meliputi sterilisasi alat bahan, reidentifikasi bakteri, peremajaan *L. acidophilus* dan *B. Bifidum*, pembuatan starter campuran *L. acidophilus* dan *B. Bifidum*, pembuatan *soyghurt* beku kering, pencampuran probiotik *soyghurt* beku kering dengan permen karamel pada suhu 40°C. Sampel permen karamel yang sudah mengandung probiotik disimpan pada suhu ruang (20-25°C) dan suhu lemari es (2-8°C).

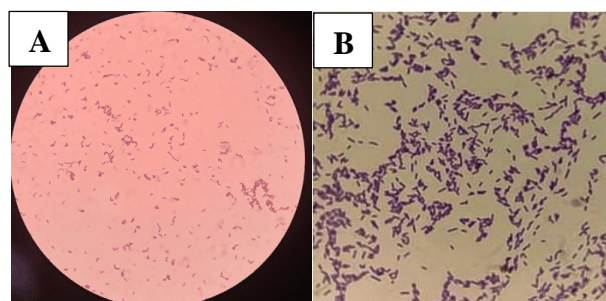
Objek penelitian yang digunakan adalah permen karamel yang mengandung probiotik, dengan kriteria inklusi permen karamel tidak berbau dan tidak berjamur. Bakteri uji yang digunakan yaitu *L. acidophilus* ATCC 4356 dan *B.bifidum* ATCC 29521. Alat yang digunakan yaitu kain saring, *juicer*, pipet media, mikropipet, *blue tip*, cawan petri steril, *hot plate*, *magnetic stirrer*, botol *schoot duran* 250 ml, rak tabung reaksi, tabung reaksi 15 ml steril, *beaker glass* 100 ml dan 1000 ml, tabung sentrifuse 15 ml dan 50 ml, timbangan analitik, spatula, gelas ukur 50ml, gelas ukur 10ml, kawat ose, *colony counter*, inkubator CO₂, lemari pendingin, autoklaf, *vortex mixer*, korek api, ose, bunsen, kaca objek, mikroskop, teflon, spatula silicone, termometer makanan, dan spidol kaca. Bahan yang digunakan yaitu starter *L.acidophilus* ATCC 4356 dan *B.bifidum* ATCC 29521, susu kedelai, MRSA (*Man Rogosa Sharpe Agar*), NaCl fisiologis 0,9%, larutan kristal violet, larutan sodium bikarbonat, larutan safranin, larutan aseton-alkohol 96% untuk antiseptik, minyak emersi, aquadest steril, susu pasteurisasi, gula pasir, *butter*, essen vanila, cuka apel.

Analisis data pada penelitian ini diolah menggunakan uji normalitas. Jika didapatkan data yang terdistribusi normal ($p>0,05$) dilanjutkan dengan Uji T Dependen karena kelompok data saling berhubungan. Jika tidak didapatkan data yang terdistribusi normal ($p<0.05$), digunakan Uji *Wilcoxon*. Analisis data dilakukan dengan menggunakan program SPSS for Windows versi 25.

HASIL

Reidentifikasi Bakteri

Untuk memastikan bakteri probiotik yang akan digunakan merupakan bakteri yang sesuai, maka dilakukan reidentifikasi bakteri secara mikroskopis dengan melakukan pewarnaan Gram. Morfologi dan warna Gram bakteri diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x. Pengamatan ini penting untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan benar-benar termasuk dalam kelompok probiotik yang diinginkan, sehingga dapat memberikan manfaat kesehatan yang optimal sesuai dengan standar yang ditetapkan.

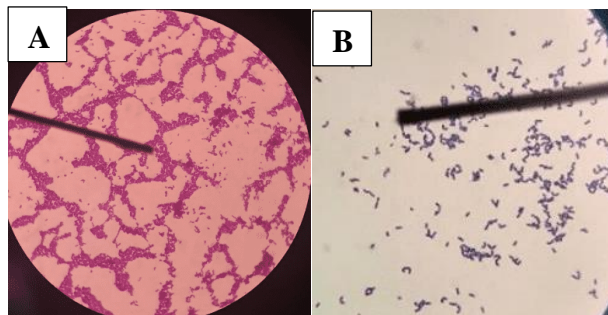


Gambar 1. Pewarnaan Gram *L. acidophilus* ATCC 4356.

A: Hasil Penelitian B: Parameter

Hasil reidentifikasi *L. acidophilus* ATCC 4356 menunjukkan bahwa morfologi *L. acidophilus* berbentuk batang (basil), berwarna ungu yang menandakan bakteri tersebut adalah

bakteri Gram positif. Gambaran tersebut sesuai dengan sifat dan morfologi *L.acidophilus* yang terdapat pada literatur, yang menyebutkan bahwa *L. acidophilus* merupakan bakteri berbentuk batang, Gram positif, dan bersifat anaerob.(Zamanpour et al., 2023) Hal ini menunjukkan kesesuaian antara hasil pengamatan dengan karakteristik yang telah diketahui dari *L. acidophilus*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri yang diuji memang merupakan *L. acidophilus*.



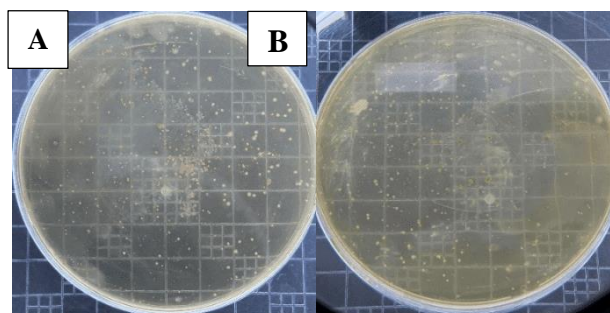
Gambar 2. Pewarnaan Gram *B. bifidum* ATCC 2952
A: Hasil penelitian B: Parameter

Hasil reidentifikasi *B. bifidum* ATCC 29521 pewarnaan Gram dengan perbesaran 1000x menunjukkan morfologi bakteri berbentuk batang (basil), berwarna ungu yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif, terdapat beberapa formasi bakteri membentuk huruf V, hasil tersebut sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa *B. bifidum* merupakan bakteri batang Gram positif, dapat dibandingkan antara gambar A dan gambar B yang menunjukkan bentuk dan pewarnaan Gram yang sama, maka dari itu dapat dipastikan bahwa bakteri tersebut merupakan *B. bifidum*.

Tabel 1. Jumlah Koloni Probiotik pada Minggu Pertama

Suhu penyimpanan	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/ml)
Suhu ruangan	$8,1 \times 10^4$
Suhu lemari es	$7,7 \times 10^4$

Berdasarkan hasil perhitungan *Total Plate Count* (TPC), jumlah koloni probiotik pada minggu pertama, baik pada penyimpanan suhu ruangan maupun suhu lemari es, masih berada di bawah standar yang ditetapkan. Hasil ini menunjukkan bahwa jumlah koloni probiotik belum mencapai syarat minimal berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI), yaitu 10^7 CFU/mL. Oleh karena itu, pada minggu pertama, viabilitas bakteri probiotik dalam permen karamel masih belum memenuhi kriteria yang diperlukan untuk dikategorikan sebagai produk probiotik yang optimal.

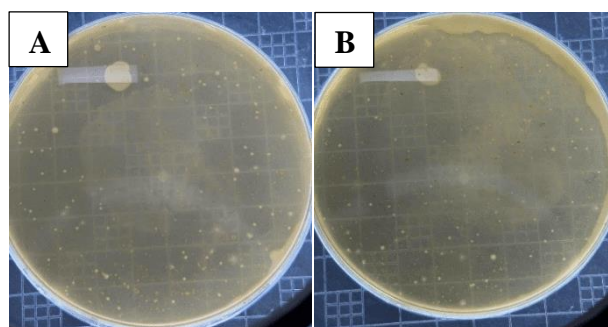


Gambar 3. Pertumbuhan Koloni Probiotik Minggu Pertama
A: pengenceran 10^1 suhu ruang; B: pengenceran 10^1 suhu lemari es

Tabel 2. Jumlah Koloni Probiotik pada Minggu Keempat

Suhu penyimpanan	Jumlah Koloni Bakteri (CFU/ml)
Suhu ruangan	$4,6 \times 10^7$
Suhu lemari es	$1,2 \times 10^7$

Pada minggu keempat, jumlah koloni probiotik, baik yang disimpan pada suhu ruangan maupun suhu lemari es, menunjukkan peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan minggu pertama dan memenuhi syarat minimal probiotik berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 2891:2009, yaitu minimal 10^7 CFU/mL. Peningkatan ini mengindikasikan bahwa bakteri probiotik mampu beradaptasi dan berkembang dengan baik selama masa penyimpanan. Dengan demikian, produk ini berpotensi memberikan manfaat kesehatan yang optimal sesuai dengan standar probiotik yang ditetapkan.



Gambar 4. Pertumbuhan Koloni Probiotik Minggu Keempat
A: pengenceran 10^1 suhu ruang; B: pengenceran 10^1 suhu lemari es

Tabel 3. Uji Perbandingan Jumlah Koloni antara Minggu Pertama dan Minggu Keempat

Perbandingan	*P-value	Interpretasi
M1 dan M4	0,033	Signifikan

Keterangan: M1 (minggu ke-1), M4 (minggu ke-4)

Berdasarkan tabel 3, menunjukkan terdapat perubahan signifikan jumlah koloni probiotik antara minggu pertama dan minggu keempat ($p < 0,05$).

Tabel 4. Uji Perbandingan Jumlah Koloni antara Suhu Ruangan dan Lemari Es

Perbandingan	*P-value	Interpretasi
Suhu ruang dan suhu lemari es	0,008	Signifikan

*Uji Wilcoxon

Berdasarkan tabel 4, menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni bakteri probiotik antara suhu ruangan dan suhu lemari es ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Perhitungan jumlah koloni pada minggu pertama, baik pada suhu ruangan dan lemari es disimpulkan hasil tersebut tidak memenuhi syarat minimal probiotik berdasarkan SNI. Hal tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang mempengaruhi viabilitas bakteri probiotik pada minggu pertama, faktor pertama adalah suhu pencampuran. *Lactobacillus sp* pada umumnya sulit bertahan hidup saat mengalami proses pengolahan pada suhu tinggi. (Trimudita, et al 2021) Pencampuran probiotik dengan permen karamel pada suhu 40°C masih tergolong tinggi, yang dapat menyebabkan stress fisiologis, dehidrasi sel, serta syok

osmotik sehingga berpotensi merusak struktur membran sel bakteri probiotik. Hal tersebut mengakibatkan banyaknya bakteri yang mati saat proses pencampuran. Faktor kedua adalah lingkungan baru dan waktu adaptasi. Pada tahap awal penyimpanan, terutama pada minggu pertama, bakteri probiotik dapat mengalami dormansi atau berada dalam fase lag, yaitu fase penyesuaian dengan lingkungan baru. Durasi fase lag pada setiap bakteri bervariasi, tergantung pada kemampuan bakteri untuk beradaptasi dengan lingkungan baru. Fase lag dipengaruhi oleh jenis media, kondisi lingkungan pertumbuhan, dan jumlah inokulum yang digunakan.(Fitri et al., 2023)

Jika kondisi lingkungan penyimpanan serupa dengan kondisi lingkungan sebelumnya, fase lag dapat berlangsung lebih cepat.(Saraswati et al., 2021.) Namun, pada penelitian ini, media dan kondisi lingkungan berbeda dengan kondisi sebelumnya, yang mana probiotik *soyghurt* beku kering sebelumnya disimpan pada suhu -20°C, kemudian dicampurkan dengan permen karamel pada suhu 40°C dan disimpan pada suhu 20-25°C dan 8°C. Sehingga fase lag yang terjadi akan cukup lama dan bakteri memerlukan waktu lebih lama untuk aktif kembali dan memulai metabolisme. Selain itu, prinsip metode TPC hanya menghitung bakteri aktif yang mampu berkembang biak pada media agar, sehingga bakteri yang dorman tidak terhitung meskipun masih hidup.(Yunita et al., 2015) Akibatnya, pertumbuhan probiotik pada minggu pertama belum optimal dan jumlah probiotik tidak meningkat signifikan.

Pada minggu keempat, jumlah koloni probiotik baik pada suhu ruangan maupun suhu lemari es menunjukkan peningkatan dibandingkan dengan minggu pertama dan telah memenuhi syarat minimal probiotik berdasarkan SNI 2891:2009 yaitu minimal 10^7 CFU/mL. Berdasarkan analisis data menggunakan Uji *Wilcoxon* terdapat perbedaan signifikan lama penyimpanan antara minggu pertama dan minggu keempat. Peningkatan jumlah koloni pada minggu keempat terjadi karena bakteri probiotik memanfaatkan kandungan glukosa dan laktosa dalam permen karamel sebagai sumber energi. Glukosa dan laktosa dimetabolisme melalui jalur *Embden Meyerhoff Parnas* (EMP), menghasilkan hasil akhir asam laktat. Asam laktat kemudian akan digunakan bakteri sebagai sumber karbon dan akan menjadi energi untuk mendukung pertumbuhan dan metabolisme bakteri.(Rahmawati et al., 2021)

Hal ini menunjukkan bahwa substrat dalam permen susu karamel masih mencukupi kebutuhan probiotik hingga minggu keempat. Kondisi lingkungan merupakan faktor yang dapat mempengaruhi daya simpan bakteri. Lingkungan penyimpanan yang tidak stabil dapat mengakibatkan stress pada sel bakteri yang berdampak pada penurunan viabilitasnya.(Utami, 2013) Dalam penelitian ini, jumlah koloni pada minggu keempat mengalami peningkatan dibandingkan minggu pertama, yang mengindikasikan bahwa kondisi lingkungan penyimpanan yang stabil baik pada suhu ruangan maupun lemari es dapat berkontribusi dalam meminimalkan stres pada mikroorganisme. Stabilitas lingkungan ini memungkinkan probiotik memanfaatkan nutrisi secara lebih efisien, sehingga mendukung pertumbuhannya. Jumlah *Lactobacillus* biasanya tetap rendah setelah fermentasi, tetapi akan meningkat seiring lama nya waktu inkubasi karena kemampuan dalam bertahan di lingkungan asam.(William B. Whitman, 2009) Hal ini mendukung mengapa jumlah koloni pada minggu keempat justru meningkat. Seiring berjalannya waktu, probiotik mampu beradaptasi dan mendominasi karena toleransinya yang lebih tinggi terhadap kondisi asam. Sehingga dapat disimpulkan bahwa waktu dan lama penyimpanan berpengaruh secara signifikan terhadap viabilitas probiotik. Penyimpanan yang lebih lama dengan kondisi lingkungan yang stabil dan nutrisi yang memadai dapat meningkatkan jumlah koloni sehingga probiotik pada permen karamel dan mampu mempertahankan stabilitas serta viabilitasnya dengan baik.

Berdasarkan analisis data mengenai perbandingan jumlah koloni antara penyimpanan pada suhu ruangan dan lemari es, menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni bakteri probiotik antara suhu ruangan dan suhu lemari es. *Lactobacillus sp* tumbuh optimal pada suhu 30-37°C.(Aditya, 2021) Penyimpanan pada suhu ruangan dapat mendukung

metabolisme dan pertumbuhan bakteri probiotik dengan cepat karena mendekati suhu optimal pertumbuhannya. Tetapi penyimpanan pada suhu tersebut dapat meningkatkan oksidasi asam lemak tidak jenuh pada membran sel, yang berpotensi mengurangi fluiditas membran yang pada akhirnya menyebabkan kebocoran pada membran sel dan dehidrasi sel.(Fassah et al., 2024) Dengan demikian, meskipun metabolisme dan pertumbuhan probiotik lebih cepat pada suhu ruang, tetapi penyimpanan pada suhu ruang cenderung mempercepat penurunan jumlah koloni probiotik dalam waktu singkat.(Fitri et al., 2023)

Disisi lain, penyimpanan pada suhu rendah dapat memperlambat metabolisme bakteri probiotik. Namun, bakteri probiotik tetap dapat tumbuh meskipun secara perlahan sehingga jumlah koloni relatif lebih stabil.(Aditya, 2021; Fitri et al., 2023; Liu et al., 2020) Mikroorganisme umumnya lebih mempertahankan viabilitas yang lebih baik pada suhu yang lebih rendah.(Fassah et al., 2024; Mulyani & Legowo, 2008) Meskipun penyimpanan pada suhu ruangan dan lemari es pada minggu keempat dapat mempertahankan viabilitas probiotik dan memenuhi syarat minimal probiotik, tetapi penyimpanan produk permen karamel probiotik pada suhu ruangan tidak disarankan karena dapat menurunkan kualitas produk dan dapat mengurangi manfaat yang terkandung didalamnya. Sehingga dapat disimpulkan pilihan suhu penyimpanan untuk produk probiotik lebih baik disimpan pada suhu rendah untuk menjaga kualitas dan viabilitas probiotik dalam jangka waktu yang lebih lama.

KESIMPULAN

Jumlah koloni bakteri probiotik mengalami peningkatan dari 10^4 CFU/mL pada minggu pertama menjadi 10^7 CFU/mL pada minggu keempat. Hasil ini menunjukkan bahwa pada minggu keempat, jumlah koloni bakteri probiotik telah memenuhi standar minimum yang ditetapkan SNI (Standar Nasional Indonesia) untuk probiotik. Berdasarkan hasil penelitian, terdapat perubahan signifikan antara lama penyimpanan pada minggu pertama dan minggu keempat dengan nilai $p = 0,033$ ($p < 0,05$), yang menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan jika didukung dengan kondisi lingkungan yang stabil dan nutrisi yang mencukupi sebagai sumber energi probiotik dapat meningkatkan jumlah koloni probiotik, sehingga jumlah koloni probiotik pada permen karamel mampu mempertahankan stabilitas serta viabilitasnya dengan baik. Selain itu, terdapat perbedaan signifikan antara penyimpanan pada suhu ruangan dan suhu lemari es dengan nilai $p = 0,008$ ($p < 0,05$). Hal ini mengindikasikan bahwa penyimpanan pada suhu rendah ($2-8^{\circ}\text{C}$) lebih efektif dalam menjaga kualitas dan viabilitas probiotik untuk jangka waktu yang lebih lama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan terimakasih kepada LPPM Unjani atas dukungan dana untuk pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Fakultas Kedokteran, khususnya staf Departemen Mikrobiologi FK Unjani, atas penyediaan fasilitas, sarana, serta bantuan teknis selama proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. (2009). Syarat Mutu Yogurt SNI 2981-2009.
- Adinda, FR., Nilda, C. Fahrizal. (2021). Kajian Pembuatan Permen Susu Karamel Dengan Penambahan *Peppermint Oil (Mentha Piperita)* Dan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L*) The Study Of Making Caramel Milk Candy With The Addition Of Peppermint Oil (*Mentha Piperita*) And Mangost Skin Extract (*Garcinia Mangostana L*). *JFP Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 6(4). www.jim.unsyiah.ac.id/JFP

- Aditya, D. *et al.* (2021). The Effect Of Temperature Variation And Storage Time On The Viability Of Lactic Acid Bacteria (Lab) And Ph Value Of Yoghurt. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*, 3(2). <http://journal.umpalangkaraya.ac.id/index.php/bjmlt>
- Ayuti, S. R., Nurliana, N., Yurliasni, Y., Sugito, S., & Darmawi, D. (2016). Dinamika Pertumbuhan *Lactobacillus casei* dan Karakteristik Susu Fermentasi Berdasarkan Suhu dan Lama Penyimpanan. *Jurnal Agripet*, 16(1), 23–30. <https://doi.org/10.17969/agripet.v16i1.3476>
- Bilang, M., Tahir, M., & Haedar, D. (2018). Mempelajari Viabilitas Enkapsulasi Sel Probiotik (*Lactobacillus plantarum* Dan *Streptococcus thermophilus*) Pada Es Krim. *Canrea Journal Food Technology, Nutritions, And Culinary*, 1(1).
- Fitri, S., *et al.* (2023). Viabilitas Probiotik Asal Fermentasi Maggot (*Hermetia illucens*) terhadap Suhu dan Lama Waktu Penyimpanan. *Jurnal Ilmu Nutrisi Dan Teknologi Pakan*, 21(3). <https://doi.org/10.29244/jintp.21.3>
- Gao, X. *et al.* (2022). *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Lactococcus* response to environmental stress: Mechanisms and application of cross-protection to improve resistance against freeze-drying. In *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 132, Issue 2, pp. 802–821. John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/jam.15251>
- Liu, S., *et al.* (2020). Cold-Stress response of probiotic *lactobacillus plantarum* K25 by iTRAQ proteomic analysis. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(2), 187–195. <https://doi.org/10.4014/jmb.1909.09021>
- Fassah, D., Hairani, A., Meryandini, A., Astuti, D., & Wiryawan, K. (2024). Shelf-life of Encapsulated Lactic Acid Bacteria Probiotics from Black Soldier Fly Larvae. *Jurnal Ilmu Nutrisi Dan Teknologi Pakan*, 22(1). <https://doi.org/10.29244/jintp.22.1>
- Mulyani, S., Legowo, A. M. (2008). Viability of Lactic Acid Bacteria, Acidity and Melting Time of Pro-biotic Ice Cream using starter *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum*. <https://www.researchgate.net/publication/279640094>
- Naila, M., Avliya, Q., & Nasrullah, N. (2020). Pengembangan Soyghurt (Yoghurt Susu Kacang Kedelai) Sebagai Minuman Probiotik Tinggi Isoflavon Soyghurt (Soymilk Yoghurt) Probiotic Drink And High Isoflavone Development. 244–249. <https://doi.org/10.2473/amnt.v4i3.2020>
- Nawangsih, EN, Tirani, BRS., Halimah, LS. (2022). Viabilitas Soyghurt *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* Setelah Dilakukan Beku Kering. *Journal of Innovation Research and Knowledge*, Vol. 2 No. 5.
- Nawangsih, EN., Kurniawati, A., Dahmaniar, M. (2015) Perbandingan Pengaruh Penambahan Glukosa dan Sukrosa terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus Acidophilus* pada Media Susu Kacang Hijau (*Vigna Radiata*). Prosiding SNIJA.
- Papadimitriou, K., *et al.* (2016). Stress Physiology of Lactic Acid Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 837–890. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00076-15>
- Rahmawati, F. Swasti, Y. R. Purwijantiningih, E. (2021). Kajian Pustaka: Kualitas Minuman Probiotik Berbahan Dasar Nabati dengan Variasi Sukrosa dan Bakteri Asam Laktat. *Jurnal Ilmu Pangan Dan Hasil Pertanian*, 4(2), 112–128. <https://doi.org/10.26877/jiphp.v4i2.7466>
- Saraswati, PW., Nocianitri, KA., Arihantana, NMIH. (2021) Pola Pertumbuhan *Lactobacillus sp.* F213 Selama Fermentasi Pada Sari Buah Terung Belanda (*Solanum betaceum Cav.*) Itepa: *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 10 (4)
- Saumi, N., Yulia, N., Rubiyanti, R. (2023). Pengaruh Waktu Penyimpanan dalam Suhu Ruang terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Ubi Jalar Oranye (*Ipomea batatas L.*). In *Prosiding Seminar Nasional Diseminasi Penelitian*, 3(1).

- Trimudita, FR. (2021). Enkapsulasi Probiotik *Lactobacillus* sp. Menggunakan Dua Tahap Proses. *Serambi Engineering*, VI(2).
- Utami, F. (2013). Pengaruh Suhu Terhadap Daya Tahan Hidup Bakteri Pada Sediaan Probiotik. Skripsi. Jakarta: Progra Studi Farmasi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- William B. Whitman. (2009). *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology The Firmicutes*: Ed; Second Edition. Vol 3. Springer Dordrecht Heidelberg London New York.
- Yunita, M., Hendrawan, Y., Yulianingsih, R. (2015). Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) Dengan Metode *Pour Plate*. In *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem* 3 (3).
- Zamanpour, S., Rezvani, R., Isfahani, A. J., & Afshari, A. (2023). *Isolation and some basic characteristics of lactic acid bacteria from beetroot (Beta vulgaris L.)* —A preliminary study. *Canrea Journal: Food Technology, Nutritions, and Culinary Journal*, 6(1), 42–56. <https://doi.org/10.20956/canrea.v6i1.980>