

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Autoklaf

2.1.1 Pengertian Autoklaf

Autoklaf adalah suatu alat pemanas tertutup yang digunakan untuk mensterilkan suatu alat dan benda dengan menggunakan uap bersuhu dan bertekanan tinggi biasanya suhu yang digunakan yaitu 121°C dan bertekanan 15 lbs. Jadi tekanan yang bekerja ke seluruh permukaan benda adalah 15 pon tiap inchi² (15 Psi = 15 *pounds per square inch*) yang dilakukan selama kurang lebih 15 menit. Adanya penurunan tekanan pada autoklaf tidak dimaksudkan untuk membunuh mikroorganisme, melainkan untuk meningkatkan suhu dalam autoklaf. Dengan adanya suhu tinggi, akan menyebabkan mikroorganisme dapat terbunuh atau mati. Autoklaf digunakan terutama untuk membunuh endospora, yaitu sel resisten yang diproduksi oleh bakteri. Sel ini tahan terhadap pemanasan, kekeringan, dan antibiotik. Pada spesies yang sama, endospora dapat bertahan pada kondisi lingkungan yang dapat membunuh sel vegetatif bakteri tersebut. Endospora mati pada suhu 100 °C, yang merupakan titik didih air pada tekanan atmosfer normal. Pada suhu 121 °C, endospora dapat dibunuh dalam waktu 4-5 menit, dimana sel vegetatif bakteri dapat dibunuh hanya dalam waktu 6-30 detik pada suhu 65 °C (Nurhabibah, 2014).

Ketika sumber panas dinyalakan, air dalam autoklaf lama kelamaan akan mendidih dan uap air yang terbentuk akan mendesak udara yang mengisi autoklaf.

Setelah semua udara dalam autoklaf diganti dengan uap air, katup uap/ udara ditutup sehingga tekanan udara dalam autoklaf naik. Pada saat tercapainya tekanan dan suhu yang sesuai maka proses sterilisasi dimulai dan timer akan mulai menghitung, waktu mundur. Setelah proses sterilisasi selesai, maka sumber panas dimatikan dan tekanan dibiarkan turun perlahan hingga mencapai 0 psi. Autoklaf tidak boleh dibuka sebelum tekanan mencapai 0 psi (Prasetyo, 2010).



Gambar 1. Alat Autoclaf

<http://batavialab.com/berita/detail/autoklaf-cara-aman-dan-efektif-menggunakan-autoklaf-27770.html>

Jenis autoklaf yang dapat digunakan untuk sterilisasi ada bermacam-macam mulai dari yang sederhana sampai digital (terprogram). Sumber uap autoklaf sederhana berasal dari pemanasan air yang ditambahkan ke dalam autoklaf. Pemanasan air dapat menggunakan kompor atau api bunsen sebagai sumber panas. Pada alat autoklaf sederhana, tekanan dan temperatur diatur dengan jumlah panas dari api. Kelemahan autoklaf sederhana adalah perlu adanya penjagaan dan pengaturan panas secara manual selama masa sterilisasi dilakukan sehingga

akan menambah pekerjaan. Keuntungan autoklaf sederhana adalah sifatnya yang sederhana, harganya relatif murah, tidak terpengaruh pada aliran listrik yang sering mati atau hidup yang merupakan problema pada negara-negara yang sedang berkembang serta bekerja lebih cepat dari autoklaf listrik yang seukuran dan setaraf (Dwijosaputro, 2009).

Autoklaf dengan tipe canggih menggunakan sumber energi dari listrik. Autoklaf canggih dilengkapi dengan timer dan thermostat. Apabila pengatur otomatis ini berjalan dengan baik, maka autoklaf dapat dijalankan sambil mengerjakan pekerjaan lain sehingga akan menghemat waktu. Kelemahan dari autoklaf canggih adalah bila salah satu pengatur tidak bekerja, maka pekerjaan persiapan media menjadi sia-sia dan kemungkinan menyebabkan kerusakan total pada autoklaf sendiri (Mulyaningsih dan Alluh, 2009).

Keunggulan dari autoklaf canggih adalah dapat mensterilkan alat dan bahan hingga tidak ada organisme yang hidup lagi. Autoklaf canggih hanya memerlukan waktu yang singkat untuk sterilisasi. Autoklaf menggunakan suhu dan tekanan tinggi sehingga memberikan kekuatan yang lebih besar untuk membunuh sel dibandingkan dengan udara panas biasa seperti pada umumnya autoklaf sederhana. Kelebihan lain dari autoclaf canggih yaitu sebagai alat perebus yang bertekanan tinggi (Permatasari dkk., 2013).

Kekurangan dari autoklaf adalah harus menggunakan air mendidih karena uapnya yang memenuhi kompartemen autoklaf dan terdesak keluar dari klep pengaman. Autoklaf memerlukan sumber panas yang terus menerus. Autoklaf membutuhkan peralatan yang butuh perawatan terus menerus (Fardias, 1992).

2.1.2 Prinsip Kerja Autoklaf

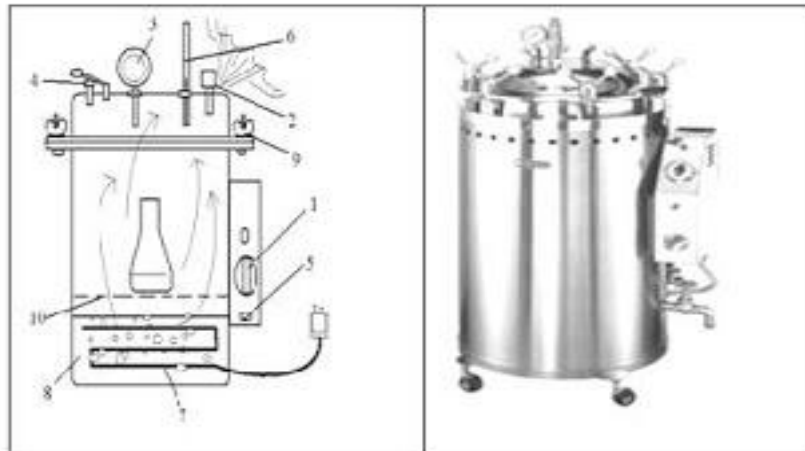
Sumber uap panas yang dihasilkan oleh autoklaf berasal dari uap panas yang dihasilkan oleh api. Autoklaf dapat dioperasikan pada suhu 115- 1500°C. Sterilisasi akan efektif bila dilakukan pada lamanya waktu, misalnya pada media nutrisi yang volumenya 25-50 mL disterilisasikan di autoklaf dengan suhu 121°C selama 15-20 menit pada tekanan 1.5 kg/cm². Pemeliharaan dan perawatan autoklaf harus selalu diperhatikan agar autoklaf dapat digunakan dalam waktu yang lama (Michael, 2017).

Penggunaan autoklaf dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

1. Sebelum melakukan sterilisasi, harus cek terlebih dahulu banyaknya air didalam autoklaf. Apabila air kurang dari batas yg telah ditentukan, maka dapat ditambah air sampai batas tersebut. Air yang digunakan adalah air dari hasil destilasi, untuk menghindari terbentuknya kerak dan karat.
2. Masukkan peralatan dan bahan yang digunakan. Jika mensterilisasi botol bertutup sulit, maka tutup harus dikendorkan.
3. Tutup autoklaf dengan rapat lalu baut pengaman dikencangkan agar tidak ada uap yang keluar dari bibir autoklaf. Klep pengaman jangan dikencangkan terlebih dahulu.
4. Nyalakan autoklaf, kemudian timer diatur dengan waktu minimal 15 menit pada suhu 121°C.
5. Tunggu sampai air mendidih sehingga uapnya memenuhi kompartemen autoklaf dan terdesak keluar dari klep pengaman. Kemudian klep pengaman ditutup

(dikencangkan) dan tunggu sampai selesai. Penghitungan waktu 15 detik dimulai sejak tekanan mencapai 2 atm.

6. Apabila alarm tanda selesai berbunyi, maka tunggu tekanan dlm kompartemen turun hingga sama dengan tekanan udara di lingkungan (jarum pada pressure gauge menunjuk ke angka nol). Kemudian klep-klep pengaman dibuka dan keluarkan isi autoklaf dengan hati-hati (Tohir, 2014).



Gambar 2. Bagian Alat Autoclaf

<http://lunawula.wordpress.com/2013/01/autoclave-dan-waterbath.html>

Keterangan :

1. Tombol pengatur waktu mundur (timer)
2. Katup pengeluaran uap
3. pengukur tekanan
4. klep pengaman
5. Tombol on-off
6. Termometer

7. Lempeng sumber panas
8. Aquades (H₂O)
9. Sekrup pengaman
10. batas penambahan air

(Lunawula,2013)

2.1.3 Jenis-jenis Autoklaf

2.1.3.1 Gravity Displacement Autoclave

Berdasarkan gravitasi, udara dalam ruang autoklaf dapat dipindahkan. Prinsip pemindahannya adalah dengan memanfaatkan keringanan uap dibandingkan dengan udara, sehingga udara terletak di bawah uap. Prinsip kerja *Gravity Displacement Autoclave* ini dimulai dengan memasukan uap melalui bagian atas autoklaf sehingga akan menyebabkan udara tertekan ke bawah. Secara perlahan, uap mulai semakin banyak sehingga akan menekan udara semakin turun dan keluar melalui saluran di bagian bawah autoklaf, selanjutnya suhu akan meningkat dan terjadilah sterilisasi. Autoklaf gravity displacement autoclave dapat bekerja pada suhu antara 121-134 °C dengan waktu 10-30 menit.

2.1.3.2 Prevacuum atau High Vacuum Autoclave

Autoklaf *Prevacuum atau High Vacuum Autoclave* ini dilengkapi pompa yang dapat mengevakuasi hampir semua udara dari dalam autoklaf. Prinsip kerja autoklaf ini dimulai dengan pengeluaran udara. Proses pengeluaran udara berlangsung selama 8-10 menit. Ketika keadaan vakum tercipta, maka uap dimasukkan ke dalam autoklaf. Akibat kevakuman udara, maka uap akan berhubungan dengan seluruh permukaan benda, kemudian suhu akan meningkat

sehingga proses sterilisasi dapat berlangsung. Autoklaf ini bekerja dengan suhu 132-135 °C dengan waktu 3-4 menit.

Steam-Flush Pressure-Pulse Autoclave Autoklaf ini menggunakan aliran uap dan dorongan tekanan di atas tekanan atmosfer dengan rangkaian berulang. Lamanya siklus pada autoklaf ini tergantung pada benda yang disterilisasi pada alat ini.

2.1.3.3 Steam-Flush Pressure-Pulse

Autoklaf *Steam-Flush Pressure-Pulse* ini menggunakan aliran uap dan dorongan tekanan diatas tekanan atmosfer dengan rangkaian berulang. Lamanya siklus autoklaf ini tergantung pada benda yang akan disterilisasikan pada alat ini (Nurhabibah, 2014).

2.2.Fermentasi

Fermentasi merupakan suatu proses kegiatan untuk mengubah suatu bahan menjadi suatu bahan lain dengan cara sederhana dengan bantuan mikroba. Proses fermentasi ini dikenal dengan bioteknologi sederhana (Hery, 2008).

Fermentasi dibagi menjadi dua jenis, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Homofermentatif merupakan fermentasi dimana produk akhirnya hanya berupa asam laktat. Contoh dari fermentasi homofermentatif adalah proses fermentasi yang terjadi dalam pembuatan yoghurt. Heterofermentatif merupakan fermentasi dimana produk akhirnya berupa asam laktat dan etanol dengan jumlah yang sama banyak. Contoh dari fermentasi heterofermentatif adalah proses fermentasi yang terjadi dalam pembuatan tape (Belitz, et al., 2009).

2.3. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu proses untuk membunuh semua jasad renik yang ada. Sterilisasi diharapkan dapat membunuh renik yang paling tahan panas yaitu spora bakteri. Sterilisasi dikatakan tidak sempurna apabila masih berlangsungnya pertumbuhan mikroorganisme. Jika sterilisasi berlangsung sempurna, maka spora bakteri yang merupakan bentuk paling resisten dari kehidupan mikrobial akan terbunuh (Lay dan Hartowo, 1992).

Sterilisasi yang biasa dilakukan dapat berupa sterilisasi secara fisik yaitu dengan pemanasan dan penggunaan sinar gelombang pendek yang dapat dilakukan selama senyawa kimia yang akan disterilkan tidak akan berubah atau terurai akibat temperatur atau tekanan tinggi. Sterilisasi secara kimia yaitu dengan penggunaan disinfektan. Serta sterilisasi secara mekanik yang digunakan untuk beberapa bahan yang akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi akan mengalami perubahan, misalnya adalah dengan menggunakan saringan/filter (Suriawiria, 2005).

Sterilisasi basah biasanya dilakukan di dalam autoklaf uap yang mulai diangkat dengan menggunakan uap air jenuh pada suhu 121°C selama 15 menit. Alasan digunakannya suhu 121°C itu disebabkan oleh tekanan 1 atm pada ketinggian permukaan laut. Autoklaf merupakan alat yang esensial dalam setiap laboratorium mikrobiologi, ruang sterilisasi di rumah-rumah sakit serta tempat-tempat lain yang memproduksi produk steril (Pleazar dan Schan, 1986).

2.4 Susu

2.4.1 Pengertian Susu

Susu sapi adalah salah satu jenis minuman yang merupakan emulsi lemak di dalam air yang mengandung gula, garam-garam, mineral dan protein dalam bentuk koloid. Air yang terdapat dalam susu berfungsi sebagai pelarut (solven) dan membentuk emulsi. Flavour (aroma) pada susu dipengaruhi oleh banyaknya lemak susu. Lemak susu dalam bentuk butir-butir disebut globula, yang berada dalam fase dispersi (penguraian). Masing-masing butir lemak dikelilingi oleh selaput protein yang sangat tipis atau serum susu yang terkumpul pada permukaan akibat adsorpsi (Muchtadi, 1992).

Susu biasanya berwarna putih kebiru-biruan sampai dengan kecoklatan. Warna susu sapi dipengaruhi oleh jenis sapi dan jenis makannya. Penyebab susu berwarna putih adalah karena penyebaran butiran-butiran lemak, kalsium kaseinat, dan kalsium fosfat pada susu. Warna kuning pada susu disebabkan terlarutnya vitamin A, kolesterol, dan pigmen karoten dalam globula lemak. Rasa manis pada susu disebabkan oleh laktosa. Selain rasa manis, rasa asin juga terkadang pada susu karena kandungan klorida, sitrat dan garam-garam mineral lainnya. Komponen lemak dan protein dalam susu menyebabkan rasa gurih pada susu (Mudjajanto, 1995).

2.4.2 Komposisi Susu

Dalam susu sapi terdapat tiga komposisi utama yaitu air, lemak, dan bahan kering tanpa lemak. Bahan kering tanpa lemak pada susu terdiri atas protein, laktosa, mineral, asam, enzim, dan vitamin. Faktor lain yang mempengaruhi komposisi susu

adalah letak geografis, musim, dan status nutrisi lemak (Susilorini, 2006). Kandungan susu sapi, antara lain 3,6% lemak, 3,2% protein, 4,7%, laktosa, 0,8% bahan mineral (Winarno, 2007).

2.5 Belimbing Manis

2.5.1 Pengertian Belimbing Manis

Menurut Ignatius dan Chatari (2015), Belimbing (*Averrhoa carambola L*) merupakan salah satu jenis buah tropis yang banyak diproduksi di Indonesia. Terdapat 13 jenis varietas belimbing manis yang terdapat di Indonesia, yaitu belimbing Demak, Sembiring, Bangkok, Filipina, Paris, Dewi, Siliwayan, Wulan, Wijaya, Taiwan, Mlaya, Penang, Madu Malaysia (*Honey Starfruit*).



Gambar 3. Belimbing

<http://jeqweb.com/gambar-buah-belimbing>

Menurut Kusumayanti, H (2014) salah satu wilayah penghasil buah belimbing yang ada di Jawa Tengah adalah di Demak. Belimbing Demak memiliki ukuran yang besar, warnanya cerah serta rasanya yang manis. Belimbing merupakan salah satu jenis buah tropis yang layak untuk dikomersialkan. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan belimbing, yaitu: penyiraman, pemupukan,

penggemburan tanah, pemangkasan, pengendalian hama dan penyakit. Selain dikonsumsi sebagai buah segar atau dibuat sebagai rujak, belimbing juga dapat dimanfaatkan sebagai tanaman peneduh, obat tradisional dan juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan olahan makanan seperti keripik belimbing dengan menggunakan vacuum frying, selai belimbing, kue nastar isi selai belimbing, syrup belimbing dan sari buah belimbing. Untuk meningkatkan daya tahan makanan olahan dari belimbing, dapat disimpan didalam kulkas dimana terlebih dahulu dikemas kedalam kemasan steril atau botol steril yang sebelumnya telah disterilkan dan dipasteurisasi selama 20 menit. Buah belimbing dapat dijadikan sumber mata pencarian untuk menambah pendapatan masyarakat terutama memperdayakan ibu rumah tangga dan remaja untuk olahan makanan dari belimbing sehingga buah belimbing mempunyai nilai lebih.

2.5.2 Klasifikasi Belimbing Manis

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Geraniales
Suku	: Oxalidaceae
Marga	: <i>Averrhoa</i>
Jenis	: <i>Averrhoa carambola L</i>

(Badan POM RI, 2008)

2.5.3 Manfaat Belimbing Manis

Buah belimbing manis adalah salah satu jenis buah yang sudah umum dikenal oleh masyarakat Indonesia yang mudah untuk ditemukan di pasar swalayan serta harganya terjangkau (murah). Buah belimbing manis (*Averrhoa carambola L*) sangat bermanfaat dalam membantu menurunkan tekanan darah karena kandungan serat, kalium, fosfor, dan vitamin C. Berdasarkan penelitian DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) dikatakan bahwa untuk menurunkan tekanan darah sangat dianjurkan mengkonsumsi makanan yang tinggi kalium dan serat, serta rendah natrium. Kandungan kalium (potassium) dalam satu buah belimbing 127 gram adalah sebesar 207 mg dan kandungan seratnya sebesar 5 gram. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan kalium dan serat dalam buah belimbing mempunyai jumlah yang cukup signifikan dalam membantu untuk menurunkan tekanan darah, ditambah dengan rendahnya kandungan natriumnya (Azzren, 2016).

Selain itu, kandungan vitamin yang terdapat pada buah belimbing dapat menurunkan tekanan darah dengan cara menurunkan sekresi hormon antidiuretik (ADH) dan rasa haus. Hormon antidiuretik diproduksi di hipotalamus serta untuk mengatur osmolalitas dan volume urin pada ginjal (Azzeren, 2016).

2.6 Yoghurt

2.6.1 Pengertian Yoghurt

Yoghurt merupakan salah satu produk hasil fermentasi susu. Starter yang digunakan adalah bibit bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan perbandingan yang sama. Kedua bakteri ini digunakan

dikarenakan perannya dalam menghasilkan asam laktat. Dengan adanya peran dari kedua bakteri ini, susu yang semula cair akan berubah menggumpal dan rasanya pun berubah menjadi rasa asam yang khas.

Jenis yoghurt sekarang beraneka ragam, yakni yang pertama yoghurt natural (plain) tanpa penambahan gula maupun flavor, dan rasanya sangat asam. Yang kedua fruit yoghurt yaitu yoghurt yang dicampur dengan sari buah (M.Khusaini, 2014).

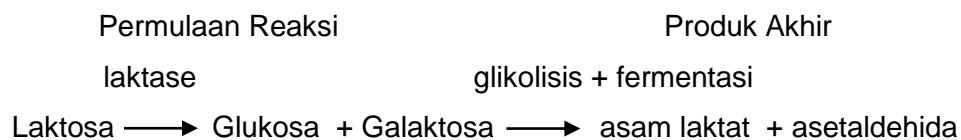


Gambar 4. Yoghurt

<http://necturajuce.com/manfaat-yoghurt-untuk-kesehatan-tubuh-kita/>

Yogurt dibuat dengan cara fermentasi laktosa (gula susu) oleh enzim bakteri. Proses ini berlangsung secara anaerobik yaitu tidak adanya oksigen. Laktosa adalah gula majemuk, terdiri dari dua gula sederhana glukosa dan galaktosa. Selama pembuatan yoghurt, laktosa dipecah oleh enzim laktase (disediakan oleh bakteri) ke dalam dua komponen, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5. Pengolahan lebih lanjut dari hasil glukosa dan galaktosa dalam produk akhir asam laktat dan asetaldehida. Produksi asam laktat dan asetaldehida menurunkan pH susu yang menyebabkan susu memiliki asam dan rasa getir. Semakin rendahnya pH akan mempengaruhi kasein (protein susu) yang menyebabkan susu mengental dan mengendap, membentuk dadih padat yang membuat yoghurt. Sisa cairan adalah berupa air dadih . Adapun

bakteri yang paling umum digunakan dalam pembuatan yoghurt adalah *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Yoghurt dibuat dengan memasukkan bakteri spesifik ke dalam susu di bawah temperatur yang dikontrol (40-50°C) dan kondisi lingkungan, terutama dalam produksi industri. Yoghurt dalam pembuatannya menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Bakteri tersebut dapat merombak gula susu alami dan melepaskan asam laktat sebagai produk sisa. Keasaman yang meningkat menyebabkan protein susu menjadi padat. Keasaman meningkat (pH =4-5) juga dapat menghindari proliferasi bakteri patogen yang potensial (bakteri yang menyebabkan yoghurt menjadi busuk) (Westminster College SIM, 2013).



Gambar 5. Reaksi enzimatik dalam produksi yoghurt.

Yoghurt mengandung bakteri yang hidup sebagai probiotik. Bakteri probiotik merupakan mikroba dari makanan yang menguntungkan bagi mikroflora didalam saluran pencernaan. Jenis Probiotik yang paling umum adalah bakteri asam laktat dari golongan *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Lactobacillus casei*. Yoghurt biasanya mengandung jutaan hingga milyaran sel bakteri-bakteri ini disetiap mililiternya. Proses pembuatan yoghurt akan mempengaruhi banyaknya keberadaan bakteri (Andayani, 2007).

Adapun beberapa manfaat mengkonsumsi susu fermentasi termasuk yoghurt, yaitu dapat memicu pertumbuhan karena dapat meningkatkan pencernaan dan penyerapan zat gizi, dapat mengurangi atau membunuh

bakteri jahat dalam saluran pencernaan, dapat menormalkan kerja usus besar (mengatasi konstipasi dan diare), efek memberikan anti kanker, berperan dalam detoksifikasi dan mengatasi stress serta mengontrol kadar kolestrol dalam darah dan tekanan darah (Robinson,1999).

2.6.2 Jenis-jenis Yoghurt

Yoghurt dapat digolongkan menjadi beberapa jenis tergantung pada metode pembuatannya, diantaranya : strained, yaitu dibuat dengan cara mengangkat air dadih dari susu ; set yoghurt, yaitu teksturnya lembut dan mampu dimasukkan ke boks atau kotak karton ; stirred, yaitu yogurt yang diaduk dan ditambahkan jus atau potongan buah (Kurniawan, 2015).

2.7 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat merupakan salah satu jenis mikroorganisme yang penting digunakan dalam fermentasi makanan, berkontribusi pada rasa dan tekstur produk fermentasi serta sifatnya yang dapat menghambat bakteri pembusukan makanan dengan memproduksi zat penghambat pertumbuhan dari sejumlah besar asam laktat. Ada beberapa bakteri asam laktat yang terlibat dalam pembuatan yoghurt, keju, mentega, sosis, acar mentimun dan sauerkraut, namun ada juga beberapa spesies yang merusak daging, bir dan anggur (Todar, 2011).

Bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram-positif yang tidak membentuk spora dan dapat melakukan fermentasi karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat. Berdasarkan taksonomi, ada sekitar 20 genus bakteri yang termasuk BAL. Bakteri asam laktat yang sering digunakan dalam

pengolahan pangan adalah *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, dan *Weissella*. Contoh produk makanan yang dibuat menggunakan bantuan Bakteri asam laktat (BAL) adalah yogurt, keju, mentega, *sour cream* (susu asam) dan produk fermentasi lainnya (Nur, 2005).

2.7.1 Lactobacillus Bulgaricus

Lactobacillus bulgaricus adalah salah satu jenis bakteri asam laktat yang sering digunakan sebagai starter pada pembuatan yoghurt. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* termasuk golongan gram positif, berbentuk batang, yang memiliki ukuran 0,5-0,8 x 2-9 μm , bakteri fakultatif anaerob (tidak membutuhkan oksigen), dan tidak memiliki spora. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* digolongkan sebagai bakteri mesofilik dengan kisaran suhu optimum 35-45⁰C, pH 4-5 dan tidak dapat tumbuh pada pH di atas 6. Bakteri ini tergolong kedalam jenis homofermentatif karena hanya dapat menghasilkan asam laktat pada produk utama dari fermentasi glukosa. Fermentasi gula pentose oleh *Lactobacillus bulgaricus* akan menghasilkan asam laktat dan asam asetat (Fardiaz, 1992).

Peningkatan keasaman air susu dipengaruhi oleh kadar asam laktat hingga mencapai titik isoelektrik protein. Titik Isoelektrik adalah suatu nilai pH dimana protein memiliki jumlah muatan negatif yang sama dengan jumlah muatan positifnya, atau dengan kata lain protein bermuatan netral atau tidak bermuatan. Pada titik inilah terjadi perubahan kelarutan (solubility) protein menjadi tidak larut (insolubility) melalui tahap proteolitik pada air susu sapi.

Keuntungan lain dari bakteri *Lactobacillus bulgaricus* yaitu menghasilkan enzim yang mengubah glukosa atau laktosa selain membentuk asam laktat. Disamping itu, aktivitas enzim proteolitiknya lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri asam laktat lainnya, menyebabkan produk yang dihasilkan dari fermentasi oleh bakteri ini memiliki cita rasa dan nilai gizi yang tinggi (Soeharsono, 2010).

2.7.2 Klasifikasi *Lactobacillus Bulgaricus*

Klasifikasi Ilmiah *Lactobacillus bulgaricus* menurut Weiss *et al*, (1984) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Divisio : Firmicutes
Class : Bacilli
Ordo : Lactobacillasles
Family : Lactobacillus
Genus : Lactobacillus
Species : *Lactobacillus delbrueckii*
Sub-Species: *Lactobacillus delbrueckii* sub
species *bulgaricus*

