

STUDI VIABILITAS *Lactobacillus plantarum* FNCC-0027 PADA SARI BUAH APEL (*Malus sylvestris* Mill) DENGAN VARIETAS YANG BERBEDA

The Viability of Lactobacillus plantarum FNCC-0027 in Apple Juice (*Malus sylvestris* Mill) with Different Varieties

Kahfi Ardhan¹), I Desak Putu Kartika²), Agus Selamat Duniaji²)

¹Mahasiswa Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

²Dosen Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana
Kampus Bukit Jimbaran, Badung-Bali

ABSTRACT

The purpose of this research was to know the viability of *Lactobacillus plantarum* FNCC-0027 in apple juice with different varieties. This research is an experimental research. Viability data of *L. plantarum* FNCC-0027 on apple juice of Manalagi variety, Anna, and Romebeauty was described. Data from the analysis before and after fermentation by *L. plantarum* FNCC-0027 on each apple juice tested using paired T Test at $\alpha = 5\%$. The total of LAB from the three apple varieties decreased from 10^5 CFU/ml to 10^4 CFU/ml with a decrease by 1 log CFU/ml. The addition of *L. plantarum* FNCC-0027 gave a significant effect in total of sugar, total of acidity, and pH of three apple varieties. Anna's apple juice has the lowest decrease of total LAB after 48 hours fermentation with the final result is $0,63 \times 10^4$ CFU/ml, total of sugar 0,95%, total of acidity 0,44%, and pH 3,55%.

Keywords : *Lactobacillus plantarum* FNCC-0027, variety of apple juice, LAB viability

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan hasil pertaniannya. Salah satu contoh hasilnya yang melimpah adalah apel, yang banyak tumbuh khususnya di lingkungan dataran tinggi seperti kota Malang. Varietas apel yang dominan dibudayakan di daerah Malang adalah varietas Manalagi, Anna, dan Romebeauty. Masing-masing apel memiliki kandungan yang berbeda sehingga mempengaruhi sifat dan karakteristik sari buah yang dihasilkan. Menurut Soelarso (1997) dan Susanto dan Rakhmad (2011), apel Manalagi mengandung gula dan asam sebesar 8,29 % dan 0,32 %. Menurut Arthey dan Ashurt., (2001), Untung (1996), dan Susanto dan Rakhmad (2011), apel Anna mengandung gula dan asam sebesar 11,50 % dan 0,61 %. Menurut Anon. (2010) dan Susanto dan Rakhmad (2011), apel Romebeauty mengandung gula dan asam

sebesar 9,79 % dan 0,35 %. Pemanfaatan sari buah apel lokal sebagai media pertumbuhan bakteri asam laktat layak untuk dikembangkan mengingat banyaknya peran Bakteri Asam Laktat (BAL) terutama dari segi fungsional untuk mengatasi masalah pencernaan (Apridani, 2013).

Dewasa ini aplikasi BAL tidak hanya digunakan untuk fermentasi produk susu, tetapi juga ke produk lain seperti sari buah yang baik untuk dijadikan media pertumbuhan bakteri asam laktat. Salah satu BAL yang dapat digunakan untuk fermentasi sari buah adalah *L. plantarum*. Menurut Gilliland (1986), *L. plantarum* tergolong bakteri gram positif, bersifat homofermentatif, bersifat katalase negatif, tumbuh optimum pada suhu 30-37°C, dan berpotensi sebagai probiotik. Penggunaan *L. plantarum* FNCC-0027 pada sari buah pernah dilakukan oleh Retnowati dan Kusnadi (2014), dengan menggunakan sari buah

*Korespondensi Penulis:

Email: kahfi_ardhan@yahoo.com¹)

kurma dengan hasil BAL dapat tumbuh optimal pada pH 3,85 dengan total BAL $4,90 \times 10^{15}$ CFU/ml. Granato *et al.*, (2010) menyatakan bahwa sari buah dapat menjadi media tumbuh yang baik bagi bakteri asam laktat.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wijayanti *et al.*, (2012) menyebutkan bahwa Viabilitas *L.plantarum* cukup stabil dalam sari buah apel dibandingkan sari buah papaya, sari buah nanas, dan sari buah tomat. Hal tersebut membuktikan bahwa sari buah apel sesuai dengan lingkungan hidup *L.plantarum* dan nutrisi yang terdapat pada sari buah apel cukup tersedia selama proses inkubasi, sehingga *L.plantarum* mampu bertahan hidup dan melakukan aktivitas metabolisme dengan memanfaatkan nutrisi yang terdapat dalam sari buah apel memiliki viabilitas yang baik pada sari buah apel. Selama proses fermentasi terjadi perubahan glukosa melalui jalur *Embden Meyerhof Parnas* untuk memproduksi asam laktat sebagai produk. Asam laktat yang dihasilkan akan menyebabkan pH sari buah menjadi rendah. Semakin banyak sumber glukosa dalam buah maka semakin banyak pula asam laktat yang dihasilkan sehingga pH juga akan menjadi rendah (Cummings *et al.*, 2001).

Kestabilan viabilitas dari *L.plantarum* pada sari buah apel diduga dipengaruhi oleh kandungan nilai nutrisi dari sari buah apel. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai viabilitas *L.plantarum* FNCC-0027 pada sari buah apel dengan varietas yang berbeda, mengingat masing-masing varietas apel memiliki kandungan nutrisi yang berbeda terutama dari kandungan gula dan asam. Sari buah apel varietas Manalagi, Anna, dan *Romebeauty* dengan penambahan BAL diharapkan mampu menjadi cikal bakal minuman sari buah apel terfermentasi dengan varietas lokal.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Pangan, Analisis Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, dan Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi, Universitas Udayana,. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai dengan November 2018.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya buah apel varietas Anna, Manalagi, dan *Romebeauty* dari pasar tradisional Badung, isolat *Lactobacillus plantarum* FNCC-0027 dari Universitas Gadjah Mada, dan air mineral merk aqua. Bahan tambahan lain yang digunakan diantaranya MRS agar, MRS broth, H₂SO₄ pekat, HCl 4 N, reagen nelson, larutan arsenomolibdat, buffer pH 4 dan pH 7, pepton, aquades, safranin, H₂O₂, kristal violet, lugol, alkohol 96%, 0.10 N NaOH, dan indikator PP. Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya gelas ukur (*pyrex*), tabung reaksi (*pyrex*), erlenmeyer (*pyrex*), blender (*Phillips*), bunsen, ose, kapas, kain saring, mikropipet (*Socorex*), tip, pH-meter, tabung reaksi (*pyrex*), cawan petri, waterbath (*Thermology*), laminar air flow (*Kojair*), inkubator (*Memmert*), aluminium foil (*Klin Pak*), dan pipet tetes.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan percobaan eksperimental, dengan menggunakan uji-T student untuk mengetahui viabilitas *L.plantarum* FNCC-0027 pada sari buah apel varietas Manalagi, *Romebeauty*, Anna sebelum dan setelah fermentasi. Perlakuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

M (Sari buah apel Manalagi)

M1 : Sebelum penambahan *L. plantarum* FNCC-0027

- M2 : Setelah penambahan *L. plantarum*
FNCC-0027
- A (Sari buah apel Anna)
- A1 : Sebelum penambahan *L. plantarum*
FNCC-0027
- A2 : Setelah penambahan *L. plantarum*
FNCC-0027
- R (Sari buah apel *Romebeauty*)
- R1 : Sebelum penambahan *L. plantarum*
FNCC-0027
- R2 : Setelah penambahan *L. plantarum*
FNCC-0027

Masing-masing perlakuan terhadap setiap varietas apel akan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 9 unit percobaan.

Pelaksanaan Penelitian

Uji Viabilitas *L. plantarum* FNCC-0027 meliputi beberapa tahapan, yakni dimulai dari penyegaran hingga tahap fermentasi pada sari buah apel. Tahapan yang dilakukan sebagai berikut :

Penyegaran dan konfirmasi isolat

Bakteri *L. plantarum* FNCC-0027 dilakukan penyegaran dengan cara diambil 100 µl stok isolat yang disimpan dalam gliserol dan diinokulasi pada 5 ml media MRS Broth selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya kekeruhan pada media. Uji konfirmasi isolat dilakukan melalui cat gram setelah penyegaran. Pewarnaan gram dilakukan dengan meneteskan isolat pada gelas objek kemudian difiksasi di atas bunsen hingga isolat menempel pada gelas objek dan diwarnai dengan kristal violet selama 1 menit kemudian dicuci dengan air. Setelah itu ditetesi dengan larutan lugol selama 1 menit kemudian dicuci dengan air. Selanjutnya gelas objek ditetesi alkohol selama 30 detik kemudian dicuci dengan air dan terakhir diwarnai dengan pewarna safranin selama 1 menit kemudian dicuci dengan air. Sel bakteri yang telah diwarnai kemudian dikeringkan dan diamati dibawah mikroskop. Hasil positif

ditandai dengan warna ungu pada isolat dan bentuk batang.

Uji konfirmasi isolat selanjutnya menggunakan uji katalase. Uji katalase dilakukan dengan dibuat tetesan isolat pada gelas objek, kemudian ditetesi dengan dua tetes larutan H₂O₂, dan diamati gelembung yang timbul. Hasil positif ditunjukkan oleh timbulnya gelembung udara (O₂) yang dihasilkan dari degradasi H₂O₂ oleh enzim - enzim katalase (Suryani *et al.*, 2010).

Pembuatan sari buah apel

Proses pembuatan sari buah apel menurut Wijayanti *et al.*, (2012) yang telah dimodifikasi adalah buah apel dikupas kulitnya. Apel dipotong ukuran kecil dan dicuci dengan air mengalir. Potongan apel dihancurkan dengan blender dengan menambahkan air dengan perbandingan 1:1. Hancuran buah disaring menggunakan kain saring. Sari buah yang didapat dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 5 menit.

Fermentasi sari buah apel dengan *L. plantarum* FNCC-0027

Proses fermentasi sari buah menurut Wijayanti *et al.*, (2012) yang telah dimodifikasi adalah diambil 100 µl stok isolat yang disimpan dalam gliserol dan diinokulasi pada 5 ml media MRS Broth selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya kekeruhan pada media.

Media berisi isolat divortex lalu dipindahkan ke dalam eppendorf sebanyak 1 ml untuk disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Setelah disentrifugasi, akan terbentuk endapan kultur mikroba pada dasar tabung eppendorf. MRS Broth di atas endapan kultur dibuang, sedangkan sel yang tertinggal dicuci sebanyak 3 kali dengan aquades steril. Pencucian sel berfungsi untuk menghilangkan sisa media yang ada dan menempel dengan endapan kultur. Aquades sisa dari pencucian terakhir dibuang, kemudian diambil sebanyak 1 ml sari buah dan dimasukkan ke dalam tabung

eppendorf. Tabung eppendorf tersebut divortex dan kultur dalam eppendorf dimasukkan ke dalam sari buah kemudian dikocok dan di vortex. Sari buah tersebut kemudian difermentasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

Variabel yang Diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini meliputi total bakteri asam laktat (Fardiaz, 1993), total gula (Nelson, 1944), total asam (AOAC, 1995) dan pH (Apriyantono *et al.*, 1989).

Analisis Data

Data yang dihasilkan dianalisis dengan Uji-T Berpasangan pada selang kepercayaan 95% dengan menggunakan SPSS 23 (Widiyanto, 2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai rata-rata total BAL sebelum dan setelah difermentasi dengan *L.plantarum* FNCC-0027 dapat dilihat pada Tabel 1 dan

nilai rata-rata total gula, total asam, dan pH pada sari buah apel sebelum dan setelah difermentasi dengan *L.plantarum* FNCC-0027 dapat dilihat pada Tabel 2.

Total Bakteri Asam Laktat

Analisis total BAL (Bakteri Asam Laktat) dilakukan untuk mengetahui perubahan total BAL sebelum dan setelah fermentasi dengan *L.plantarum* FNCC-0027 pada masing-masing jenis apel. Nilai rata-rata total BAL sebelum dan setelah fermentasi dengan *L.plantarum* FNCC-0027 pada sari buah apel dapat dilihat pada Tabel 1. dan perubahan total BAL sebelum dan setelah fermentasi dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil dari penelitian menunjukkan nilai total BAL dari ketiga varietas apel mengalami penurunan dari 10^5 CFU/ml menjadi 10^4 CFU/ml dengan tingkat penurunan sebesar 1 log CFU/ml. Terjadinya penurunan total BAL diduga karena kondisi pH sari buah apel. pH yang terlalu rendah menyebabkan BAL tidak dapat tumbuh optimal sehingga pertumbuhan dari BAL

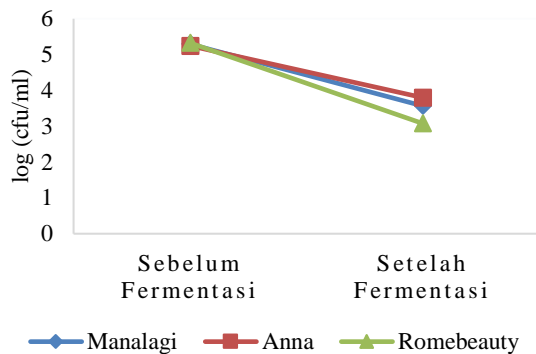
Tabel 1. Nilai rata-rata total BAL sebelum dan setelah fermentasi dengan *L.plantarum* FNCC-0027

Jenis Apel	Total BAL (CFU/ml)	
	Sebelum Fermentasi	Setelah Fermentasi
Manalagi	$1,97 \times 10^5$	$0,37 \times 10^4$
Anna	$1,76 \times 10^5$	$0,63 \times 10^4$
Romebeauty	$2,12 \times 10^5$	$0,12 \times 10^4$

Tabel 2. Nilai rata-rata total gula, total asam, dan pH sebelum dan setelah fermentasi dengan *L.plantarum* FNCC-0027

Jenis Sari Buah	Total Gula (%)		Total Asam (%)		pH	
	Sebelum	Setelah	Sebelum	Setelah	Sebelum	Setelah
Manalagi	3,59±0,04	3,46±0,01	0,15±0,01	0,20±0,01	3,91±0,02	3,34±0,04
Anna	1,56±0,05	0,95±0,03	0,43±0,01	0,44±0,03	3,68±0,01	3,55±0,03
Romebeauty	1,58±0,03	1,14±0,04	0,16±0,01	0,28±0,03	3,53±0,05	3,18±0,02

Keterangan : Nilai rata-rata diikuti dengan ± standar deviasi.



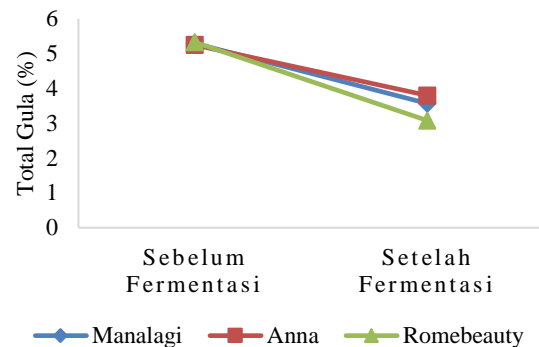
Gambar 1. Perubahan Total BAL Sebelum dan Setelah Fermentasi

menjadi terhambat. *Lactobacillus plantarum* FNCC-0027 dapat tumbuh optimal pada kisaran pH 5,3-5,6 (Buckle *et al.*, 1987). Apabila berada pada pH dibawah kisaran tersebut maka pertumbuhan dari *L.plantarum* FNCC-0027 akan terhambat.

Faktor selanjutnya karena lama proses fermentasi, yang berlangsung selama 2 hari akan mengakumulasi asam yang diperoleh dari perombakan gula sehingga menurunkan pH sari buah. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Helferich dan Weshoff, (1980) bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin banyak jumlah gula yang dikonversi menjadi asam laktat. Kandungan gula dalam sari buah juga mempengaruhi penurunan jumlah BAL. Semakin tinggi kandungan gula dalam sari buah, maka semakin banyak asam yang dihasilkan dari proses fermentasi sehingga dapat menurunkan pH.

Total Gula

Nilai rata-rata total gula dapat dilihat pada Tabel 2 dan perubahan total gula sebelum dan setelah fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan hasil uji T, penambahan *L.plantarum* FNCC-0027 memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap total gula dari sari buah apel Manalagi yaitu 3,59 % menjadi 3,46 % dengan penurunan sebesar 0,13%, total gula pada sari buah Anna yaitu 1,56 % menjadi 0,95 % dengan penurunan sebesar 0,61 %, dan total gula sari buah

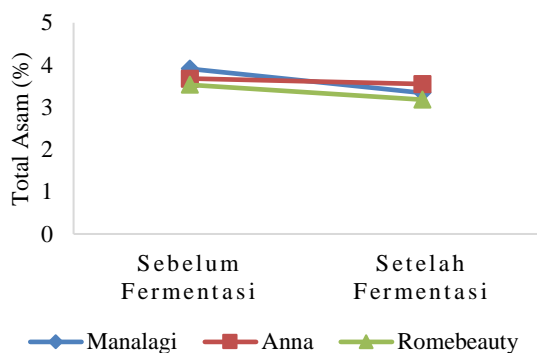


Gambar 2. Perubahan Total Gula Sebelum dan Setelah Fermentasi

Romebeauty yaitu 1,58 % menjadi 1,14 % dengan jumlah penurunan sebesar 0,44%. Terjadinya kecenderungan penurunan kadar total gula dari sari buah apel diduga akibat proses perombakan gula menjadi asam akibat proses metabolisme dari bakteri asam laktat melalui jalur lintasan *Embden Meyerhof Parnas* untuk memproduksi asam laktat sebagai produk. Asam yang dihasilkan akan menyebabkan pH sari buah menjadi rendah. Semakin banyak sumber glukosa maka semakin banyak pula asam yang dihasilkan sehingga pH juga akan menjadi rendah. Bakteri asam laktat akan mengonsumsi gula sebagai sumber karbon untuk aktivitas metabolisme, mempertahankan hidup, dan menghasilkan produk metabolik, seperti asam-asam organik. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Ray dan Bhunia (2008), bahwa pemecahan glukosa yang dilakukan oleh BAL akan menghasilkan energi untuk aktivitas BAL sehingga menghasilkan produk metabolik asam laktat.

Total Asam

Nilai rata-rata total asam dapat dilihat pada Tabel 2 dan perubahan total asam dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan hasil uji T, penambahan *L.plantarum* FNCC-0027 pada sari buah memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap total asam dari sari buah apel *Romebeauty* yaitu 0,16 % menjadi 0,28%



Gambar 3. Perubahan Total Asam Sebelum dan Setelah Fermentasi

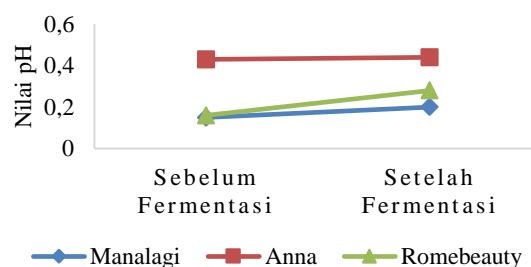
Yang mengalami peningkatan total asam sebesar 0,12 %. Bakteri asam laktat yang terkandung dalam sari buah akan merubah gula menjadi asam laktat, sehingga meningkatkan nilai total asam yang terkandung dalam bahan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Miwada *et al.*, (2006) bahwa kemampuan BAL tidak lepas dari kemampuannya dalam mengkonversi gula menjadi asam organik. Semakin tinggi konsentrasi gula maka total asam yang dihasilkan semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena gula yang terkandung dalam bahan digunakan oleh BAL tersebut sebagai nutrisi pertumbuhan dan menghasilkan asam yang lebih banyak.

Gula adalah sumber energi dan karbon yang dapat disintesa oleh BAL menjadi asam laktat selama proses fermentasi berlangsung. Semakin lama fermentasi maka total asam yang dihasilkan semakin tinggi. Hal ini dikarenakan total asam meningkat seiring dengan lama fermentasi sehingga semakin banyak waktu yang tersedia bagi bakteri asam laktat untuk merombak nutrisi yang terkandung dalam sari buah dan dapat memungkinkan terakumulasinya asam-asam organik dalam jumlah yang lebih banyak.

Nilai pH

Nilai pH sari buah apel sebelum dan setelah penambahan *L.plantarum* FNCC-0027

dapat dilihat pada Tabel 2 dan perubahan nilai pH dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Perubahan Nilai pH Sebelum dan Setelah Fermentasi

Berdasarkan hasil uji T, penambahan *L.plantarum* FNCC-0027 memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap pH dari sari buah apel Manalagi yaitu 3,91 menjadi 3,34 yang mengalami penurunan pH sebesar 0,57, penurunan pH pada sari buah Anna yaitu 3,68 menjadi 3,55 yang mengalami penurunan pH sebesar 0,13, dan penurunan pH pada sari buah *Romebeauty* yaitu 3,53 menjadi 3,18 yang mengalami penurunan pH sebesar 0,35.

Selama proses fermentasi, bakteri asam laktat akan memfermentasi karbohidrat yang ada hingga terbentuk asam laktat. Pembentukan asam laktat ini menyebabkan peningkatan keasaman dan penurunan nilai pH. Hal ini disebabkan adanya pengaruh dari gula dalam buah apel terhadap aktivitas BAL dalam memproduksi asam laktat. Bakteri asam laktat akan memanfaatkan gula dalam sari buah untuk difermentasi menjadi asam laktat, sehingga nilai pH akan turun. Djaafar dan Rahayu (2006) menyatakan bahwa selama proses fermentasi BAL akan memanfaatkan karbohidrat yang ada hingga terbentuk asam laktat yang menyebabkan penurunan nilai pH dan peningkatan keasaman.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan :

1. Viabilitas *L.plantarum* FNCC-0027 terbaik terdapat pada sari buah apel varietas Anna dengan penurunan jumlah koloni terkecil antar varietas.
2. Penambahan *L.plantarum* FNCC-0027 pada sari buah apel Manalagi menghasilkan sari buah dengan total gula 3,46%, total asam 0,20%, pH 3,34, dan total BAL $0,37 \times 10^4$. Penambahan *L.plantarum* FNCC-0027 pada sari buah apel Anna menghasilkan sari buah dengan total gula 0,95%, total asam 0,44%, pH 3,55, dan total BAL $0,63 \times 10^4$. Penambahan *L.plantarum* FNCC-0027 pada sari buah apel *Romebeauty* menghasilkan sari buah dengan dengan total gula 1,14%, total asam 0,28%, pH 3,18, dan total BAL $0,12 \times 10^4$.

Saran

Berdasarkan penelitian diatas disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh mikroenkapsulasi terhadap viabilitas *L.plantarum* FNCC-0027 pada sari buah apel berbagai varietas sehingga dapat meningkatkan pengembangan minuman terfermentasi dan menjaga kestabilan jumlah koloni BAL dalam sari buah apel.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus. 2010. Apel *Romebeauty*. <http://www.warintek.ristek.go.id/pertanian/apelRomebeauty.html>. Diakses pada 20 Januari 2019.
- AOAC. 1995. Official methods of analysis of the association of official analytical chemist. Association of Official Analytical Chemist. Washington, D.C.
- Apridani, E. 2013. Viabilitas *Lactobacillus plantarum* 1 Yang Diisolasi Dari Susu Kedelai Terfermentasi Spontan Terhadap Asam Klorida Dan Garam Empedu. Skripsi. Universitas Riau Pekanbaru. Riau.
- Apriyantono, A., N. L. Fardiaz, S. Puspita, S. Sedarwati, dan Budiyanto. 1989. Analisa Pangan. IPB Press. Bogor.
- Arthey, D., P. R. Ashurt, 2001. Fruit Processing Nutrition, Product and Quality Management. Second Edition. Aspen Publication. New York.
- Buckle, K. A., R. A. Edwards, G. H. Fleet, and M. Wooton. 1987. Ilmu Pangan. Penerjemah Hari Poernomo Adiono. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Cummings, J. H., G. T. Macfarlane, dan H. N. Englyst. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. American Journal of Clinical Nutrition. 73: 415–420.
- Djaafar, T. F. dan E. S. Rahayu. 2006. Karakteristik yogurt dengan inokulum *Lactobacillus* yang diisolasi dari makanan fermentasi tradisional. Jurnal Agroindustri 8(1) 73-80.
- Fardiaz, S. 1993. Analisis mikrobiologi pangan. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Gilliland, S.E. 1986. Bacterial Starter Cultures For Food. CRC Press, Inc. Baco Parton, Florida.
- Granato, D., G. F. Branco, F. Nazzaro, A. G. Cruz dan J. A. F. Faria. 2010. Functional foods and nondairy probiotic food development : trends, concepts and products. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety Vol. 9 : 292-302.
- Helferich, W., and D.C. Weshoff. 1980. All about yoghurt. Prentice-Hall Inc. Wesport, Connecticut.

- Miwada, I. U. S., S. A. Lindawati, dan W. Tatang. 2006. Tingkat efektifitas “starter” bakteri asam laktat pada proses fermentasi susu. *Journal of the Indonesia Animal Agriculture*, 31 (1). Pp. 32-35. ISSN 0410-6320.
- Nelson, N., 1944. A photometric adaptation of the simogyi method for the determination of glucose. *Journal of Biochem.* 153(2): 375-379.
- Ray B. & A. Bhunia.. 2008. *Fundamental of food microbiology fourth ed.* CRC press, New York.
- Retnowati P. A. dan J. Kusnadi. 2014. Pembuatan minuman probiotik sari buah kurma (*Phoenix dactylifera*) dengan isolat *Lactobacillus plantarum*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol.2 No.2 p.70-8.
- Soelarso, B. 1997. *Budidaya Apel.* PT. Kanisius, Yogyakarta.
- Suryani, Y., A. B. Oktavia, dan S. Umniyati. 2010. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah kotoran ayam sebagai agensi probiotik dan enzim kolesterol reduktase. *Biologi dan Pengembangan Profesi Pendidik Biologi. Biota.* 12 (3): 177-185.
- Susanto, W. H. dan B. Rakhmad. 2011. Pengaruh varietas apel (*Malus sylvestris*) dan lama fermentasi oleh khamir *Saccharomyces cerivisiae* sebagai perlakuan pra pengolahan terhadap karakteristik sirup. *Jurnal Teknologi Pertanian* 12 (3) : 135 – 142.
- Untung. 1996. *Apel : Jenis dan Budidayanya.* Penebar Swadaya. Jakarta.
- Widiyanto, M. A. 2013. *Statistika Terapan.* PT. Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Wijayanti, E. D., A. Fidyasari, dan F. E. Lestari . 2012. *Suplementasi Probiotik (Lactobacillus plantarum FNCC-0027) dalam Sari Buah Sebagai Alternatif Produk Pangan Fungsional.* Skripsi. Tidak Dipublikasikan. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.