

**Pengaruh Konsentrasi Sukrosa terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Buah Nanas Madu (*Ananas comosus* (L.) Merr) Terfermentasi dengan Isolat *Lactobacillus rhamnosus* SKG34**

***The Effect of Sucrose Concentration on The Characteristics of Fermented Honey Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) Probiotic Drink with *Lactobacillus rhamnosus* SKG34***

**Ni Ketut Ayu Krisna Devi<sup>1</sup>, Komang Ayu Nocianitri<sup>\*</sup>, Sayi Hatiningsih<sup>1</sup>**

PS. Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

\*Penulis korespondensi: Komang Ayu Nocianitri Email: nocianitri@unud.ac.id

**Abstract**

This research was conducted to determine the effect of sucrose concentration on the characteristics of fermented honey pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) probiotic drink with *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 and to determine the concentration of sucrose that produced the best characteristics. This research used a Completely Randomized Design (CRD) with factors of sucrose concentration that consist of 6 levels (0%, 3%, 6%, 9%, 12%, and 15%). Each treatment was repeated 3 times resulting in 18 experimental units. The data were analyzed by analysis descriptive for total LAB and pH, Analysis of Variance (ANOVA) for total sugar, total acid, and sensory evaluation. The result of the analysis shows that total sugar, total acid, and sensory evaluation brought a significant effect on the concentration of sucrose. Thus, a further test was conducted on those variables using Duncan Multiple Range Test (DMRT). The result shows that sucrose concentration can increase the total LAB and decrease pH. The addition of sucrose concentration had a significant effect on total sugar, total acid, hedonic of color and taste, score of sour and sweet taste, and overall acceptance. However, it didn't affect hedonic of aroma and score of aroma. The concentration of 9% sucrose produced the best characteristics of fermented honey pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) probiotic drink with total LAB 10,31 Log CFU/ml, total sugar 14,24%, total acid 0,38%, pH 3,36, the color, aroma, and taste were liked, the aroma typical pineapple strong, slightly sour and sweet taste were liked, and overall acceptance was liked.

**Keywords:** honey pineapple, probiotic drink, sucrose, *Lactobacillus rhamnosus* SKG34

**PENDAHULUAN**

Dewasa ini, masyarakat mulai menyadari pentingnya peranan pangan fungsional bagi kesehatan. Salah satu bentuk produk pangan fungsional yang sedang dikembangkan adalah minuman probiotik. Sebagian besar produk komersial minuman probiotik menggunakan mikroorganisme dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 adalah strain lokal bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari susu kuda Sumbawa yang juga berpotensi sebagai probiotik karena memiliki toleransi pada pH rendah (Shi *et al.*, 2012) dan kemampuan dalam menghidrolisis garam empedu

secara *in vitro* (Sujaya *et al.*, 2008). Di sisi lain, minuman probiotik yang beredar saat ini umumnya berbahan baku susu sapi, seperti yoghurt, yakult, dan kefir dengan harga yang relatif mahal. Oleh sebab itu, inovasi minuman probiotik dari bahan nabati mulai dikembangkan seperti misalnya sari buah karena memiliki kadar gula, mineral, dan vitamin yang tinggi sehingga dapat dimanfaatkan oleh bakteri probiotik (Slavin dan Lloyd, 2012). Salah satu contoh minuman probiotik dari sari buah yaitu minuman probiotik sari buah nanas (Rizal *et al.*, 2016).

Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) merupakan buah tropis dengan daging buah

berwarna kuning dan kaya akan kalium, kalsium, iodium, asam, biotin, vitamin E serta enzim bromelin (Kurniawan, 2008). Nanas memiliki banyak varietas salah satunya adalah nanas madu. Nanas madu memiliki rasa lebih manis, lebih segar dan memiliki pH yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan jenis nanas yang lain. Kandungan gula nanas madu yaitu sebanyak 8,29 g/100 g dapat dijadikan sumber energi oleh mikroorganisme untuk meningkatkan aktivitasnya (USDA National Nutrien, 2008). Menurut data Badan Pusat Statistik (BPS) Indonesia tahun 2018, produksi buah nanas di Indonesia menduduki posisi keempat sebagai komoditas unggulan buah-buahan tahunan. Pemanfaatan buah nanas sebagai bahan dasar pembuatan minuman probiotik merupakan upaya dalam penganeekaragaman pangan, meningkatkan nilai ekonomi dan diharapkan penggunaan nanas madu dapat meningkatkan kualitas sensori minuman probiotik.

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dalam proses fermentasi adalah nutrisi media sebagai sumber energi seperti sukrosa. Sukrosa dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi, pertumbuhan dan untuk menghasilkan metabolit berupa asam laktat selama proses fermentasi (Axelsson, 1998). Menurut Hayek dan Ibrahim (2013), konsentrasi sukrosa yang ditambahkan berpengaruh terhadap pertumbuhan dan aktivitas bakteri asam laktat (BAL). Konsentrasi sukrosa yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kondisi lingkungan hipertonik dan menyebabkan bakteri mengalami plasmolisis (Nurainy *et al.*, 2018). Namun sebaliknya, apabila konsentrasi sukrosa yang ditambahkan sedikit maka akan menyebabkan kurang maksimalnya

kinerja enzim mikroorganisme karena kurangnya nutrisi yang dapat dimetabolisme selama fermentasi. Menurut Jay (2000), konsentrasi sukrosa yang tepat diduga dapat memberikan kondisi optimal untuk pertumbuhan BAL. Hal ini karena konsentrasi sukrosa yang ditambahkan pada minuman probiotik harus mampu menghasilkan minuman probiotik dengan jumlah bakteri minimal  $10^6$  CFU/ml sesuai dengan standar SNI 7552:2009. Pada minuman probiotik sari buah terung belanda terfermentasi dengan *Lactobacillus rhamnosus* SKG34, penambahan sukrosa sebanyak 9% memperoleh total BAL sebanyak  $1,30 \times 10^9$  CFU/ml (Tampinongkol *et al.*, 2020). Pada minuman probiotik jambu biji dengan *Lactobacillus casei*, penambahan 4% sukrosa memperoleh karakteristik terbaik dengan total BAL sebanyak  $1,10 \times 10^{10}$  koloni/ml (Nurainy *et al.*, 2018). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh penambahan sukrosa terhadap karakteristik minuman probiotik sari buah nanas madu terfermentasi sebagai minuman probiotik yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh.

## METODE

### Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di UPT. Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana, Jl. Raya Kampus Udayana, Bukit Jimbaran.

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *L. rhamnosus* SKG34 (koleksi UPT Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana), buah nanas madu (Toko

Bapak Wahyu, Jimbaran), sukrosa (Gulaku, Tiara Dewata), air mineral (Aqua, Indomaret), alkohol 70% (Brataco), methanol (Curah), de Man Rogosa and Sharpe Agar/MRSA (Oxoid, Inggris), de Man Rogosa and Sharpe Broth/MRSB (Oxoid, Inggris), aquades, gliserol, kristal violet, kertas saring, larutan lugol, pewarna safranin, pereaksi anthrone (Merck), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, phenolphthalein (PP) 1%, glukosa standar, larutan buffer pH 4 dan 7, larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NaOH 0,1 N, HCl 4 N, plastik, aluminium foil, dan tisu.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jar, botol plastik, baskom, pisau, talenan, kain saring, cawan petri (petriq), tabung reaksi (pyrex), jarum ose, inkubator (Memmert), laminar air flow (JSR JSCB-900SB), spektrofotometer (evolution 201, USA), pH-meter (martini instrument, USA), timbangan analitik (shimadzu AUX220, Jepang), mikroskop (Olympus CX21FS1, Jerman), pipet mikro (Finnipipette), pipet volume (Iwaki pyrex), erlenmeyer (pyrex), autoclave (Tomy ES-315), magnetic stirrer (Fisher Scientific), *waterbath* (NVC thermologic, Jerman), bunsen, blender (Phillips), tip 100 $\mu$ L, tip 1000 $\mu$ L, vortex (Labnet), gelas objek, freezer (GEA), *microtube* (Eppendorf), sentrifugasi (Hitachi), gelas ukur, batang bengkok, thermometer, kulkas (Sharp), dan labu ukur.

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor perlakuan konsentrasi sukrosa yang terdiri atas 6 taraf dengan konsentrasi sukrosa 0% (S0), 3% (S1), 6% (S2), 9% (S3), 12% (S4), dan 15% (S5). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 18 unit percobaan. Data dianalisis

dengan Analisis Deskriptif untuk total BAL dan derajat keasaman (pH) dan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk total gula, total asam, dan evaluasi sensoris serta apabila perlakuan berpengaruh maka akan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) (Gomez dan Gomez, 1995).

### Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa tahap sebagai berikut:

#### Penyegaran dan Konfirmasi Isolat *Lactobacillus rhamnosus* SKG34

Dilakukan penyegaran isolat *L. rhamnosus* SKG34 dengan cara diambil 100  $\mu$ L stok isolat yang disimpan dalam gliserol 30% pada suhu -20°C dan diinokulasi pada 5 ml media MRS Broth dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya kekeruhan pada media. Tahap selanjutnya yaitu konfirmasi isolat dengan uji katalase, pewarnaan gram dan uji gas. Uji katalase dilakukan dengan dibuat tetesan isolat pada gelas objek, kemudian ditetesi dengan dua tetes larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan diamati gelembung yang timbul. Hasil positif ditunjukkan oleh timbulnya gelembung udara (O<sub>2</sub>) yang dihasilkan dari degradasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oleh enzim-enzim katalase (Suryani *et al.*, 2010).

Pewarnaan gram dilakukan dengan meneteskan isolat pada gelas objek kemudian difiksasi di atas bunsen dan diwarnai dengan kristal violet selama 1 menit, kemudian ditetesi dengan larutan lugol selama 1 menit. Tahap selanjutnya yaitu, gelas objek ditetesi aseton alkohol selama 1 menit dan terakhir diwarnai dengan pewarna safranin selama 5 detik. Sel bakteri yang telah diwarnai, dikeringkan dan diamati dibawah

mikroskop (Suryani *et al.*, 2010). Hasil berwarna ungu pada uji cat gram menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan kelompok bakteri gram positif, sedangkan hasil berwarna merah menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan kelompok bakteri gram negatif. Uji gas dilakukan dengan metode *hot loop*, dengan cara memasukkan jarum ose panas ke dalam suspensi biakan BAL. Hasil positif ditandai oleh terbentuknya gas CO<sub>2</sub> dan terbentuknya gelembung seperti buih dari hasil metabolisme glukosa (Suryani *et al.*, 2010).

### **Pembuatan Sari Buah Nanas Madu**

Pembuatan sari buah nanas madu diawali dengan sortasi buah dengan dipilih buah nanas madu yang matang dengan warna jingga kekuningan, selanjutnya buah dipisahkan dari kulitnya. Buah selanjutnya dicuci hingga bersih dengan air mengalir dan dipotong menjadi beberapa bagian. Daging buah dihancurkan dengan menggunakan blender, lalu jus buah yang dihasilkan ditambahkan air dengan perbandingan jus buah dan air 1:2. Penyaringan pada sari buah dilakukan dengan menggunakan dua lapis kain saring sehingga dihasilkan sari buah.

### **Pembuatan Starter Sari Buah Nanas Madu**

Tahapan pembuatan starter diawali dengan persiapan substrat sari buah nanas madu. Pertama, diambil 95 ml sari buah nanas yang ditambahkan gula sebanyak 5%, kemudian sari buah nanas dipasteurisasi dengan suhu 80°C selama 4,5 menit menggunakan *waterbath*. Sari buah nanas selanjutnya didinginkan hingga mencapai suhu 37°C.

Tahap selanjutnya yaitu stok kultur *L. rhamnosus* SKG34 yang sudah diinkubasi selama 24 jam pada tabung reaksi divortex. Tahap

selanjutnya yaitu, diambil 1 ml untuk disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 5 menit. Kultur mikroorganisme akan membentuk endapan pada dasar *microtube*. Supernatan di atas endapan kultur tersebut kemudian dibuang, sedangkan sel yang tertinggal dicuci sebanyak 3 kali. Pencucian sel dilakukan dengan menambahkan larutan saline ke dalam *microtube* yang berisi endapan kultur *L. rhamnosus* SKG34 lalu divortex, setelah itu *microtube* disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 5 menit dan membuang supernatan yang terbentuk setelah proses sentrifugasi. Larutan saline sisa dari pencucian terakhir dibuang, kemudian diambil sebanyak 1 ml substrat buah nanas madu dan dimasukkan ke dalam *microtube* dan divortex. Kultur dalam *microtube* dimasukkan kembali dalam sari buah hingga mencapai volume 100 ml, selanjutnya diaduk. Substrat sari buah tersebut kemudian difermentasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

### **Pembuatan Minuman Probiotik Sari Buah Nanas Madu**

Sari buah nanas madu dimasukkan ke dalam jar sebanyak ± 70 ml, lalu ditambahkan sukrosa sesuai dengan perlakuan (0%, 3%, 6%, 9%, 12% dan 15%). Masing-masing perlakuan ditambahkan kembali sari buah hingga mencapai volume 96 ml. Tahap selanjutnya, sari buah nanas dipasteurisasi dengan suhu 80°C selama 4,5 menit menggunakan *waterbath* dengan tujuan untuk menghentikan aktivitas mikroorganisme dan enzimatis pada sari buah nanas. Sari buah nanas kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 37°C agar dapat ditambahkan starter sebanyak 4%. Sari

buah nanas lalu diaduk dan difermentasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

### Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah total BAL (Fardiaz, 1993), total gula dengan metode Anthrone (Andarwulan *et al.*, 2011), total asam dengan metode titrasi netralisasi (Sudarmadji *et al.*, 2007), derajat keasaman dengan pH meter (AOAC, 1995), dan evaluasi sensoris

(Soekarto, 1985) yang meliputi uji hedonik terhadap warna, aroma, rasa, dan penerimaan keseluruhan, sedangkan uji skoring dilakukan terhadap aroma khas nanas, rasa asam, serta rasa manis.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis total BAL, derajat keasaman (pH), total asam dan total gula dari minuman probiotik sari buah nanas madu dengan perlakuan konsentrasi sukrosa dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Nilai rata-rata total BAL, total gula, total asam dan derajat keasaman (pH) dari minuman probiotik sari buah nanas madu dengan perlakuan konsentrasi sukrosa**

Konsentrasi Sukrosa	Total BAL (Log CFU/ml)	Total Gula (%)	Total Asam (%)	pH
S0 (0%)	8,67 x 10 <sup>9</sup>	4,88 ± 0,34 f	0,33 ± 0,02 b	3,41 ± 0,06
S1 (3%)	1,89 x 10 <sup>10</sup>	7,82 ± 0,25 e	0,34 ± 0,02 b	3,39 ± 0,05
S2 (6%)	2,07 x 10 <sup>10</sup>	12,19 ± 1,29 d	0,38 ± 0,02 a	3,36 ± 0,04
S3 (9%)	3,35 x 10 <sup>10</sup>	14,24 ± 0,30 c	0,38 ± 0,02 a	3,36 ± 0,04
S4 (12%)	5,10 x 10 <sup>10</sup>	17,19 ± 0,78 b	0,39 ± 0,00 a	3,35 ± 0,03
S5 (15%)	1,42 x 10 <sup>10</sup>	20,71 ± 0,51 a	0,39 ± 0,00 a	3,35 ± 0,04

Keterangan: Huruf yang sama di belakang nilai rata-rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan tidak berbeda nyata (P>0,05).

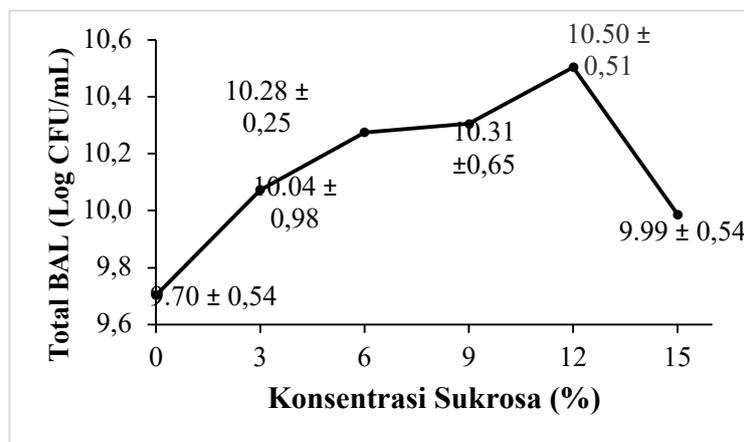
### Total BAL

Berdasarkan Tabel 1, nilai rata-rata total BAL minuman probiotik sari buah nanas madu cenderung mengalami peningkatan seiring dengan penambahan konsentrasi sukrosa. Nilai rata-rata total BAL berkisar dari 8,67 x 10<sup>9</sup> CFU/ml hingga 5,10 x 10<sup>10</sup> CFU/ml. Nilai rata-rata total BAL tertinggi ada pada perlakuan konsentrasi sukrosa 12% (S4), sedangkan nilai rata-rata total BAL terendah ada pada perlakuan konsentrasi sukrosa 0% (S0). Perubahan total BAL minuman probiotik sari buah nanas madu selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 1.

Pada Gambar 1 menunjukkan terjadinya peningkatan total BAL pada konsentrasi sukrosa 0% hingga konsentrasi sukrosa 12% yaitu dan mengalami penurunan pada pada konsentrasi 15%. Pada perlakuan konsentrasi sukrosa 0% (S0) atau tanpa penambahan sukrosa, BAL dapat tumbuh karena sari buah nanas madu mengandung gula dan nutrisi yang lain sehingga dapat dimanfaatkan oleh BAL untuk pertumbuhannya dan menghasilkan asam laktat. Peningkatan total BAL dari konsentrasi sukrosa 0% hingga 12% karena nutrisi BAL terpenuhi selama proses fermentasi sehingga membantu pertumbuhan dan metabolisme BAL.

Hal ini menunjukkan bahwa total BAL semakin meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi sukrosa. Sukrosa merupakan salah satu jenis gula yang dapat dimetabolisme selama proses fermentasi oleh BAL menjadi asam laktat (Elsaputra *et al.*, 2016). Menurut Yunus dan Zubaidah (2015), apabila semakin tinggi sukrosa yang tersedia maka semakin banyak juga substrat yang dapat dirombak oleh BAL menjadi asam

piruvat yang kemudian dapat diubah menjadi asam organik seperti misalnya asam laktat. Oleh karena itu, semakin banyak substrat yang tersedia maka pertumbuhan BAL akan semakin meningkat. Pada penelitian yang dilakukan oleh Tampinongkol *et al.* (2020), peningkatan total BAL juga terjadi seiring dengan peningkatan konsentrasi sukrosa yang ditambahkan pada minuman probiotik sari buah terung belanda.



**Gambar 1. Perubahan total BAL minuman probiotik sari buah nenas madu selama fermentasi**

Pada konsentrasi sukrosa 15% terjadi penurunan total BAL diduga karena penambahan jumlah sukrosa yang melebihi kebutuhan nutrisi *L. rhamnosus* SKG34 dapat mengubah lingkungan pertumbuhan bakteri menjadi hipertonic. Menurut Nurainy *et al.* (2018), kondisi lingkungan hipertonic dapat menyebabkan dehidrasi dan pengerutan sel mikroorganismenya karena cairan dalam sel mikroorganismenya mengalir keluar. Hal ini sesuai dengan pendapat Tamime *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa konsentrasi sukrosa yang terlalu tinggi dapat menyebabkan sel BAL mengalami lisis yang disebabkan karena adanya perbedaan tekanan osmotik.

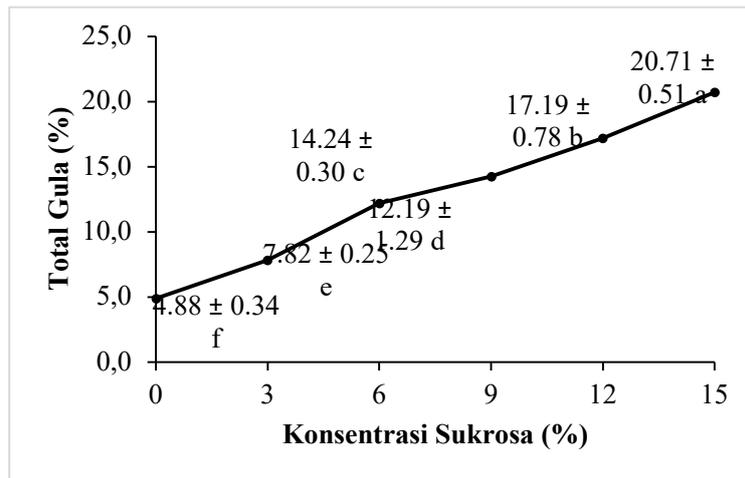
Total BAL pada minuman probiotik sari buah nenas madu yaitu  $8,67 \times 10^9$  CFU/ml sampai dengan  $5,10 \times 10^{10}$  CFU/ml. Jumlah total BAL minuman probiotik sari buah nenas madu pada perlakuan konsentrasi sukrosa ini telah memenuhi SNI 7552:2009 tentang syarat minuman susu fermentasi berperisa yaitu minimal total BAL sebesar  $10^6$  CFU/ml.

#### **Total Gula**

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh sangat nyata ( $P < 0,01$ ) terhadap nilai total gula dari minuman probiotik sari buah nenas madu. Tabel 1 menunjukkan bahwa rata-rata total gula minuman

probiotik sari buah nanas madu berkisar antara 4,88% sampai 20,71%. Rata-rata nilai total gula tertinggi terdapat pada perlakuan konsentrasi sukrosa 15% (S5) yaitu 20,71%, sedangkan terendah terdapat pada perlakuan konsentrasi sukrosa 0% (S0) yaitu 4,88%. Perlakuan

konsentrasi sukrosa 15% (S5) berbeda nyata dengan konsentrasi sukrosa 0% (S0), 3% (S1), 6% (S2), 9% (S3), dan 12% (S4). Perubahan total gula minuman probiotik sari buah nanas madu selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Perubahan total gula minuman probiotik sari buah nanas madu selama fermentasi

Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sukrosa maka total gula semakin meningkat pada minuman probiotik sari buah nanas madu. Peningkatan total gula pada konsentrasi 0% sampai 15% yaitu 4,88% menjadi 20,71%. Nilai total gula sari buah nanas madu sebelum difermentasi yaitu sebesar 4,92%. Peningkatan total gula terjadi karena semakin tinggi konsentrasi sukrosa yang ditambahkan pada minuman probiotik sari buah nanas madu maka total gula akan semakin tinggi juga. Apabila sari buah nanas madu memiliki persediaan gula sederhana yang cukup, sukrosa yang ditambahkan tidak semua dipecah menjadi gula sederhana dan diubah menjadi asam laktat saat proses fermentasi. Sisa gula yang dihasilkan dihitung sebagai total gula, sehingga semakin banyak glukosa dan

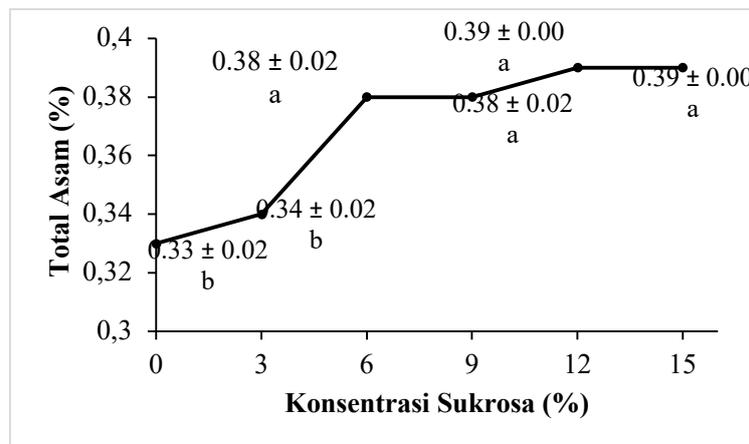
fruktosa yang terakumulasi maka total gula semakin meningkat (Sintasari *et al.*, 2014). Pada penelitian Yunus dan Zubaidah (2015), peningkatan total gula dipengaruhi oleh peningkatan konsentrasi sukrosa. Hal ini menunjukkan bahwa sukrosa pada minuman probiotik sari buah nanas terhitung sebagai total gula, sehingga total gula akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi sukrosa yang ditambahkan. BAL mengonsumsi gula selama fermentasi untuk pertumbuhannya. Sukrosa pada minuman probiotik sari buah nanas madu mengalami hidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa yang selanjutnya dimetabolisme oleh BAL.

#### **Total Asam**

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh nyata

( $P < 0,05$ ) terhadap nilai total asam dari minuman probiotik sari buah nanas madu. Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai total asam minuman probiotik sari buah nanas madu berkisar antara 0,33% - 0,39%. Nilai total asam tertinggi ada pada perlakuan konsentrasi sukrosa 12% (S4) dan 15% (S5) yaitu 0,39, sedangkan terendah ada pada perlakuan konsentrasi sukrosa 0% (S0) yaitu 0,33

yang berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi sukrosa 6% (S2), 9% (S3), dan 15% (S5), namun berbeda tidak nyata dengan perlakuan konsentrasi 3% (S1). Perubahan total asam minuman probiotik sari buah nanas madu selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3. Perubahan total asam minuman probiotik sari buah nanas madu selama fermentasi**

Pada Gambar 3 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan total asam dari perlakuan konsentrasi 0% (S0) hingga perlakuan konsentrasi 6% (S2). Pada perlakuan konsentrasi sukrosa 0% (S0) memiliki total asam terendah karena kemungkinan BAL memiliki aktivitas yang kurang optimal dalam pemanfaatan nutrisi dari sukrosa. Pada konsentrasi sukrosa 12% (S4) memperoleh nilai total asam tertinggi karena aktivitas BAL yang optimum dalam memecah sukrosa menjadi asam laktat. Total asam diukur dari asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat saat melakukan proses metabolisme selama fermentasi. Semakin tinggi konsentrasi sukrosa, maka jumlah nutrisi yang digunakan oleh mikroorganisme untuk

proses metabolisme akan semakin besar selama proses fermentasi. Peningkatan jumlah mikroorganisme tentunya menyebabkan semakin besarnya asam laktat yang dihasilkan (Sintasari *et al.*, 2014). Penurunan total asam dapat disebabkan karena menurunnya aktivitas metabolisme BAL dalam memecah gula menjadi asam laktat (Sampurno *et al.*, 2020). Menurut Kumalasari *et al.* (2012), total asam dipengaruhi oleh aktivitas BAL karena asam yang terkandung adalah hasil metabolit dari BAL. Pernyataan ini sejalan dengan Harahap *et al.* (2018), bahwa nilai total asam sejalan dengan nilai total BAL yang dihasilkan. Semakin banyak BAL yang tumbuh, maka jumlah asam laktat yang dihasilkan akan semakin

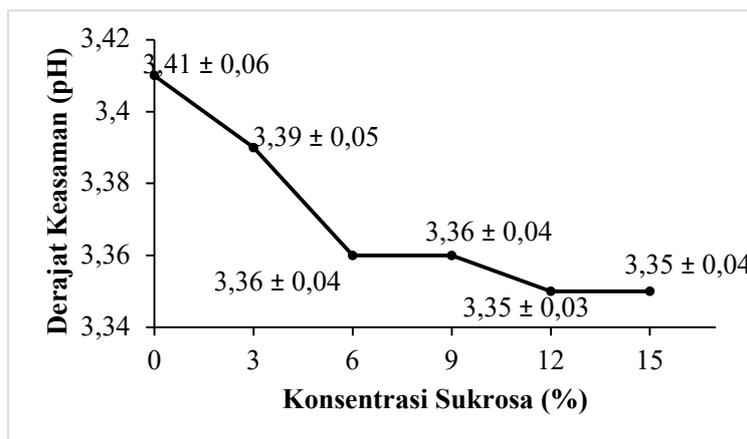
meningkat. *L. rhamnosus* SKG34 merupakan bakteri homofermentatif (tidak menghasilkan gas) dan hasil metabolismenya hanya asam laktat. Sedangkan, pada hasil metabolisme bakteri heterofermentatif adalah asam asetat, etanol, karbondioksida, dan asam laktat. Pada produk minuman probiotik sari buah nenas madu dengan *L. rhamnosus* SKG34 mampu memfermentasi glukosa menjadi asam laktat dalam jumlah yang besar yang dapat mempengaruhi cita rasa asam minuman probiotik sari buah nenas madu yang berasal dari asam laktat oleh BAL.

Total asam pada minuman probiotik sari buah nenas madu yaitu 0,33% - 0,39%. Jumlah total asam, minuman probiotik sari buah nenas

madu pada perlakuan konsentrasi sukrosa ini telah memenuhi SNI Syarat Mutu Minuman Susu Fermentasi Berperisa, yaitu 0,2% – 0,9%.

#### Derajat Keasaman (pH)

Berdasarkan Tabel 1, nilai rata-rata pH minuman probiotik sari buah nenas madu mengalami penurunan seiring dengan penambahan konsentrasi sukrosa. Nilai rata-rata pH berkisar antara 3,35 hingga 3,41. Nilai rata-rata pH tertinggi ada pada perlakuan konsentrasi sukrosa 0% (S0), sedangkan nilai rata-rata pH terendah ada pada perlakuan konsentrasi sukrosa 12% (S4) dan 15% (S5). Perubahan derajat keasaman minuman probiotik sari buah nenas madu selama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Perubahan derajat keasaman (pH) minuman probiotik sari buah nenas madu selama fermentasi

Pada Gambar 4 menunjukkan nilai bahwa pH mengalami penurunan seiring dengan peningkatan konsentrasi sukrosa. Pada proses fermentasi, BAL akan merombak substrat berupa karbohidrat untuk menghasilkan sejumlah asam laktat. Kemudian, asam laktat yang dihasilkan dari metabolisme karbohidrat dapat menurunkan pH pada lingkungan pertumbuhannya dan akan menimbulkan rasa asam (Winarno dan Fernandes,

2007). Menurut Elsaputra *et al.* (2016), konsentrasi sukrosa yang semakin meningkat dapat dimanfaatkan oleh BAL untuk pertumbuhannya, sehingga semakin banyak nutrisi yang tersedia maka pertumbuhan BAL akan semakin meningkat dan akan menghasilkan asam laktat yang lebih banyak juga serta akan terjadi penurunan pH. Namun, menurut Khotimah dan Kusnadi (2014), BAL mempunyai batasan optimal untuk dapat

menggunakan sukrosa sebagai sumber energi dan karbon sehingga tidak semua sukrosa yang ditambahkan diubah menjadi asam laktat selama proses fermentasi. Ketika total asam laktat yang dihasilkan semakin banyak, maka pH cenderung semakin menurun. Hal ini sejalan dengan pernyataan Ganzle and Follador (2012) bahwa sukrosa juga dimanfaatkan sebagai energi penunjang pertumbuhannya yang dirombak menjadi asam laktat oleh BAL sehingga dapat menurunkan pH pada minuman probiotik jambu biji merah.

### Sifat Sensoris

Sifat sensoris minuman probiotik sari buah nanas madu dilakukan dengan uji hedonik terhadap warna, aroma, rasa dan penerimaan keseluruhan serta uji skoring terhadap aroma, rasa manis dan rasa asam. Nilai rata-rata uji hedonik terhadap warna, aroma, rasa dan penerimaan keseluruhan minuman probiotik sari buah nanas madu dapat dilihat pada Tabel 2, sedangkan nilai rata-rata uji skoring terhadap aroma khas nanas, rasa manis dan rasa asam dapat dilihat pada pada Tabel 3.

**Tabel 2. Nilai rata-rata hedonik warna, aroma, rasa dan penerimaan keseluruhan minuman probiotik sari buah nanas madu**

Konsentrasi Sukrosa	Hedonik			Penerimaan Keseluruhan
	Warna	Aroma	Rasa	
S0 (0%)	4.08 ± 0,57 a	4.00 ± 0,58 a	2.36 ± 0,76 d	2.96 ± 0,73 c
S1 (3%)	4.00 ± 0,50 ab	4.04 ± 0,54 a	2.84 ± 0,75 c	3.12 ± 0,88 c
S2 (6%)	3.96 ± 0,54 ab	3.96 ± 0,54 a	3.48 ± 0,92 b	3.76 ± 0,88 b
S3 (9%)	4.00 ± 0,58 ab	3.96 ± 0,54 a	4.36 ± 0,49 a	4.36 ± 0,57 a
S4 (12%)	3.72 ± 0,46 b	3.88 ± 0,73 a	4.40 ± 0,71 a	4.44 ± 0,58 a
S5 (15%)	3,68 ± 0,56 b	4.08 ± 0,70 a	4,28 ± 0,79 a	4.28 ± 0,84 a

Keterangan: Huruf yang sama dibelakang nilai rata-rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ( $P>0,05$ ). Keterangan angka uji hedonik: 5 = sangat suka, 4 = suka, 3 = agak suka, 2 = tidak suka, 1 = sangat tidak suka.

**Tabel 3. Nilai rata-rata skoring aroma khas nanas, rasa asam dan rasa manis probiotik sari buah nanas madu**

Konsentrasi Sukrosa	Skoring		
	Aroma Khas Nanas	Rasa Asam	Rasa Manis
S0 (0%)	2.16 ± 0,85 a	3.44 ± 0,85 a	1.24 ± 0,44 e
S1 (3%)	2.44 ± 0,96 a	3.28 ± 0,61 a	1.64 ± 0,64 d
S2 (6%)	2.36 ± 0,81 a	2.84 ± 0,55 b	2.04 ± 0,68 c
S3 (9%)	2.60 ± 0,87 a	1.88 ± 0,44 c	3.04 ± 0,54 b
S4 (12%)	2.48 ± 0,92 a	1,64 ± 0,64 c	3.44 ± 0,51 a
S5 (15%)	2.68 ± 1,03 a	1,64 ± 0,49 c	3.64 ± 0,49 a

Keterangan: Huruf yang sama dibelakang nilai rata-rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata ( $P>0,05$ ). Keterangan angka uji skoring aroma khas nanas: 4 = aroma khas nanas sangat kuat, 3 = aroma khas nanas kuat, 2 = aroma khas nanas agak kuat, 1 = aroma khas nanas tidak kuat. Keterangan angka uji skoring rasa asam: 4 = sangat asam, 3 = asam, 2 = agak asam, 1 = tidak asam. Keterangan angka uji skoring rasa manis: 4 = sangat manis, 3 = manis, 2 = agak manis, 1 = tidak manis.

## **Warna**

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh nyata ( $P < 0,05$ ) terhadap nilai kesukaan warna minuman probiotik sari buah nanas madu. Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai kesukaan warna minuman probiotik sari buah nanas madu berkisar antara 3.68 – 4.08 dengan kriteria suka. Rata-rata hedonik warna terendah ada pada perlakuan konsentrasi sukrosa 15% (S5) dengan kriteria suka, sedangkan untuk rata-rata hedonik warna tertinggi ada pada perlakuan sukrosa 0% dengan kriteria suka. Perlakuan sukrosa 0% (S0) berbeda nyata dengan perlakuan sukrosa 12% (S4) dan 15% (S5), namun berbeda tidak nyata dengan perlakuan sukrosa 3% (S1), 6% (S2), 9% (S3). Perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap kesukaan warna karena panelis memiliki kesukaan yang berbeda-beda terhadap warna produk minuman probiotik sari buah nanas madu. Nanas memiliki daging buah berwarna kuning, menurut Astawan (2008), warna kekuningan pada nanas karena terdapat pigmen karoten dan santofil dimana kandungan karoten dalam buah nanas lebih besar dibandingkan santofil. Kedua pigmen tersebut memberikan warna khas pada buah nanas, yaitu kekuningan. Penelitian Anggraini (2016) menyatakan bahwa pada kondisi asam karoten bersifat tidak stabil. Pada konsentrasi asam tinggi akan mengalami isomerisasi yang dapat menyebabkan penurunan intensitas warna, sedangkan pada konsentrasi asam rendah pigmen warna semakin pekat. Turunnya intensitas warna kemungkinan menyebabkan menurunnya tingkat

kesukaan panelis terhadap warna minuman probiotik sari buah nanas madu.

## **Aroma**

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap nilai kesukaan aroma minuman probiotik sari buah nanas madu. Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai kesukaan aroma minuman probiotik sari buah nanas madu berkisar antara 3.88 – 4.08 dengan kriteria suka. Hal tersebut menunjukkan bahwa keseluruhan panelis memiliki tingkat kesukaan yang sama terhadap aroma minuman probiotik sari buah nanas madu.

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh tidak nyata ( $P > 0,05$ ) terhadap skor aroma khas nanas. Pada Tabel 3 nilai rata-rata uji skoring aroma khas nanas berkisar dari 2,16 hingga 2,68 dengan kriteria aroma khas nanas agak kuat hingga aroma khas nanas kuat. Hal tersebut menunjukkan bahwa keseluruhan panelis memiliki penilaian yang sama terhadap aroma khas nanas madu.

## **Rasa**

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh sangat nyata ( $P > 0,01$ ) terhadap nilai kesukaan rasa minuman probiotik sari buah nanas madu. Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai kesukaan rasa minuman probiotik sari buah nanas madu berkisar antara 2,36 – 4.40 dengan kriteria tidak suka hingga suka. Nilai kesukaan rasa terendah terdapat pada

perlakuan sukrosa 0% (S0), sedangkan nilai kesukaan rasa tertinggi terdapat pada perlakuan sukrosa 12% (S4) dengan kriteria suka yang berbeda tidak nyata dengan konsentrasi sukrosa 9% (S3) dan 15% (S5) dan berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi sukrosa 0% (S0), 3% (S1) dan 6% (S2). Pada uji hedonik terhadap rasa, panelis cenderung menyukai minuman probiotik sari buah nanas madu dengan konsentrasi sukrosa 9%, 12% dan 15%.

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh sangat nyata ( $P>0,01$ ) terhadap skor rasa asam minuman probiotik sari buah nanas madu. Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai rata-rata skor rasa asam berkisar dari 1,64 hingga 3,44 dengan kriteria tidak asam hingga asam. Nilai rata-rata skor rasa asam tertinggi ada pada perlakuan konsentrasi 0% (S0), sedangkan terendah ada pada perlakuan konsentrasi sukrosa 12% (S4) dan 15% (S5). Nilai skor rasa asam dengan konsentrasi 0% (S0) berbeda nyata dengan konsentrasi sukrosa 6% (S2), 9% (S3), 12% (S4), dan 15% (S5), sedangkan berbeda tidak nyata dengan konsentrasi sukrosa 3% (S1). Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh sangat nyata ( $P>0,01$ ) terhadap skor rasa manis minuman probiotik sari buah nanas madu. Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai rata-rata skor rasa manis berkisar dari 1,24 hingga 3,64 dengan kriteria tidak manis hingga manis. Nilai rata-rata skor rasa manis tertinggi ada pada perlakuan konsentrasi 15% (S5), sedangkan terendah ada pada perlakuan konsentrasi sukrosa 0% (S0). Nilai skor rasa manis dengan konsentrasi 15% (S5) berbeda nyata dengan konsentrasi sukrosa 0% (S0), 3% (S1), 6%

(S2), dan 9% (S3), sedangkan berbeda tidak nyata dengan konsentrasi sukrosa 12% (S4).

Salah satu pembentuk rasa manis pada produk pangan adalah sukrosa. Oleh karena itu, semakin tinggi konsentrasi sukrosa yang ditambahkan, maka rasa asam minuman probiotik sari buah nanas madu semakin berkurang. Hal ini karena rasa manis yang lebih mendominasi seiring dengan bertambahnya konsentrasi sukrosa. Pada rasa manis, semakin tinggi penambahan sukrosa maka rasa manis pada minuman probiotik sari buah nanas madu semakin tinggi. Oleh karena itu, semakin tinggi konsentrasi sukrosa yang ditambahkan, mengakibatkan semakin meningkatnya tingkat kesukaan panelis terhadap rasa dari minuman probiotik sari buah nanas madu.

#### **Penerimaan Keseluruhan**

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi sukrosa berpengaruh sangat nyata ( $P<0,01$ ) terhadap penerimaan keseluruhan dari minuman probiotik sari buah nanas madu. Berdasarkan hasil uji hedonik oleh panelis terhadap penerimaan keseluruhan minuman probiotik sari buah nanas madu berkisar dari 2,96 hingga 4.44 dengan kriteria biasa hingga suka. Nilai penerimaan keseluruhan tertinggi terdapat pada perlakuan sukrosa 12% (S4) dengan kriteria suka, sedangkan nilai penerimaan keseluruhan terendah terdapat pada perlakuan sukrosa 0% (S0) dengan kriteria tidak suka. Perlakuan konsentrasi 9% (S3) berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi sukrosa 0% (S0), 3% (S1), dan 6% (S2), namun berbeda tidak nyata dengan konsentrasi sukrosa 12% (S4) dan 15% (S5). Semakin tinggi sukrosa yang ditambahkan tingkat kesukaan panelis cenderung semakin meningkat

tetapi penilaian menurun pada konsentrasi sukrosa 15% tetapi berbeda tidak nyata dengan konsentrasi sukrosa 9% dan 12%.

### KESIMPULAN

Konsentrasi sukrosa pada minuman probiotik sari buah nanas madu mampu meningkatkan total BAL dan menurunkan derajat keasaman (pH). Penambahan konsentrasi sukrosa berpengaruh nyata terhadap total gula, total asam, hedonik warna dan rasa, penerimaan keseluruhan, skoring rasa asam dan manis, namun tidak berpengaruh nyata terhadap hedonik aroma dan skoring aroma. 2. Perlakuan konsentrasi sukrosa 9% menghasilkan minuman probiotik sari buah nanas madu dengan karakteristik terbaik, yaitu total BAL 10,31 Log CFU/ml, total gula 14,24%, total asam 0,38%, derajat keasaman (pH) 3,36, hedonik warna disukai (4,00), hedonik aroma disukai (3,96), hedonik rasa disukai (4,36), aroma khas nanas kuat (2,60), rasa agak asam (1,88), rasa manis (3,04), serta penerimaan keseluruhan suka (4,36).

### DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., F. Kusnandar, dan D. Herawati. 2011. Analisis Pangan. Dian Rakyat, Jakarta.
- Anggraini, S. R., S. Handayani. 2016. Pengaruh Penambahan Labu Kuning dan Karagenan Terhadap Hasil Jadi Fruit Leather Nanas. E Journal Boga. 5(1): 89-98
- Anonimus. 2009. Minuman Susu Fermentasi Berperisa. SNI 7552:2009. Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. 16th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC.
- Astawan, M. 2008. Sehat dengan Buah. PT. Dian Rakyat, Jakarta.
- Axelsson, L. 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Salminen, S. & von Wright, A. (eds). Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects 2nd Edition. New York: Marcel Dekker Inc. 1-72.
- Badan Pusat Statistik. 2018. Statistik Tanaman Buah-Buahan dan Sayuran Tahunan Indonesia 2018. <https://www.bps.go.id>. Diakses tanggal: 2 Januari 2021.
- Charalampopoulos, D., S. S. Pandiella, and C. Webb. 2002. Growth studies of potentially probiotic lactic acid bacteria in cereal-based substrates. Journal of applied microbiology. 92(5):851-859.
- Ding, W. K., dan N. P., Shah. 2008. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. International Food Journal. 15(2):219232.
- Diniyah, N., A. Subagio, dan M. Fauzi. 2013. Produksi minuman fungsional sirsak (*Anona muricata* Linn.) dengan fermentasi bakteri asam laktat. Jurnal Teknotan. 2(7):1007-1012.
- Elsaputra, E., U. Pato, and R. Rahmayuni. 2016. Pembuatan minuman probiotik berbasis kulit nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) menggunakan *Lactobacillus casei* Subsp. Casei R-68 yang diisolasi dari dadih (Doctoral dissertation, Riau University). Jurnal Faperta. 3(1):1-9.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Ganzle, M. G., dan R. Follador. 2012. Metabolism of oligosaccharides and starch in *Lactobacilli*: a review. Frontiers in Microbiology. 3(340):1-15.
- Gomes, K. A., dan A. A. Gomez. 1995. Prosedur statistik untuk penelitian pertanian. Diterjemahkan oleh: E. Sjamsuddin dan J.S. Baharsjah. UI Press, Jakarta.
- Harahap, N. O., V. S. Johan, dan U. Pato. 2018. Pembuatan minuman fermentasi sari tomat dengan menggunakan *Lactobacillus casei subsp. casei* R-68. JOM UR. 5(2):1-15.
- Hayek, S. A., and S. A. Ibrahim. 2013. Current limitations and challenges with lactic acid bacteria: A review. Food and Nutrition Sciences. 4:73-87.
- Jay, J. M. 2000. Modern Food Microbiology. [6th ed.]. Aspen Publishers, Inc. University of Nevada Las Vegas, USA.

- Kumalasari, K. E. D., Nurwantoro, dan S. Mulyani. 2012. Pengaruh kombinasi susu dengan air kelapa terhadap total bakteri asam laktat (BAL), total gula dan keasaman drink yoghurt. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1(2): 48- 53.
- Kurniawan, F. 2008. Sari Buah Nanas Kaya Manfaat–Alternatif Meningkatkan Nilai Ekonomis Hasil Panen. Sinar Tani, Sumatera Selatan.
- Nurainy, F., S. Rizal, S. Suharyono, & E. Umami. 2018. Karakteristik minuman probiotik jambu biji (*Psidium guajava*) pada berbagai variasi penambahan sukrosa dan susu skim. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 7(2):47-54.
- Retnowati, P. A., dan J. Kusnadi. 2013. Pembuatan minuman probiotik sari buah kurma (*Phoenix dactylifera*) dengan isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(2):70-81.
- Rizal, S., F. Nurainy, & M. Anggraini. 2016. Pengaruh konsentrasi CMC dan lama penyimpanan pada suhu dingin terhadap karakteristik organoleptik minuman probiotik sari buah nanas. *Prosiding Konser Karya Ilmiah Nasional*. 2:51-60.
- Sampurno, A., A. N. Cahyanti, dan E. Nofiyanto. 2020. Karakteristik yoghurt susu kambing buah nangka dan cempedak. *Jurnal Pengembangan Rekayasa dan Teknologi*. 16(2):121-128.
- Shi, T., K. Nishiyama, K. Nakamata, N. P. D. Aryantini, D. Mikumo, Y. Oda, Y. Yamamoto, T. Mukai, I. N. Sujaya, T. Urashima, dan K. Fukuda . 2012. Isolation of potential probiotic *lactobacillus rhamnosus* strains from traditional fermented mare milk produced in Sumbawa Island of Indonesia. *Bioscience, Biothecnology, and Biochemistry*. 76(10): 1897-1903.
- Sintasari, R. A., J. Kusnadi, D. W. Ningtyas. 2014. Pengaruh penambahan konsentrasi susu skim dan sukrosa terhadap karakteristik minuman probiotik sari beras merah. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(3):65-75.
- Slavin, J. L., and B. Lloyd. 2012. Health benefits of fruits and vegetables. *Advances in nutrition*. 3(4):506-516.
- Soekarto, S. T. 1985. *Penilaian Organoleptik (untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian)*. Penerbit Bharata Karya Aksara, Jakarta.
- Sudarmadji, S. dan B. Haryono. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.
- Sujaya, N., N. M. U. Dwipayanti, N. L. P. Suariani, N. P. Widarini, K. A. Nocianitri, dan N. W. Nursini. 2008. Potensi *Lactobacillus* spp. isolat susu kuda sumbawa sebagai probiotik. *J. Vet*. 9(1):33-40.
- Suryani, Yoni, A.B. Oktavia, dan S. Umniyati. 2010. Isolasi dan karakterisasi bakteri asam laktat dari limbah kotoran ayam sebagai agensi probiotik dan enzim kolesterol reduktase. *Jurnal Biota*. 12(3):177-185.
- Tamime, A. Y., A. Skriver, and L. E. Nilsson. 2006. *Fermented milks*. Blackwell, Oxford.
- USDA. 2008. *Komposisi Buah Nanas Madu/100 Gram*. National Nutrient, Jakarta.
- Winarno F. G., dan I. E Fernandez. 2007. *Susu dan produk fermentasinya*. M-BRIO PRESS, Bogor.
- Yunus, Y. dan E. Zubaidah. 2015. Pengaruh konsentrasi sukrosa dan lama fermentasi terhadap viabilitas *L. casei* selama penyimpanan beku velva pisang ambon. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2):303-312.