

Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) dengan Isolat *Lactobacillus rhamnosus* SKG34

*The Effect of Fermentation Time on Characteristics of Probiotic Pineapple (*Ananas comosus* L.) Juice with *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 Isolates*

Jimmy Fernando Pangaribuan¹, Komang Ayu Nocianitri^{1*}, Luh Putu Trisna Darmayanti¹

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana

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

Abstract

This study aims to determine the effect of fermentation time on the characteristics of pineapple probiotic juice with *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 isolate and determine the appropriate fermentation time to produce the best probiotic pineapple juice characteristics. This study used a Completely Randomized Design (CRD) with treatment duration of fermentation, namely 0 hours, 12 hours, 24 hours, 36 hours and 48 hours. Each treatment was repeated 3 times to obtain 15 experimental units. The data were analyzed by analyse of variance and if the treatment had a significant effect, then continued with the Duncan Multiple Range Test (DMRT). The results showed that the duration of fermentation affected the total sugar, total acid, acidity (pH), color hedonic, aroma hedonic, taste hedonic, sour and sweet taste scoring, and overall acceptance, but had no effect on total LAB. The 24-hour fermentation treatment resulted in the best characteristic of probiotic pineapple juice with total LAB 9.8×10^9 CFU/ml, total sugar 13.81%, total acid 0.54%, pH 3.47, liked color, aroma liked, slightly sour and slightly sweet flavors were liked, and overall acceptance was liked.

Keywords: *pineapple juice, Lactobacillus rhamnosus* SKG34, *probiotic drink, fermentation time*

PENDAHULUAN

Minuman probiotik adalah jenis minuman fungsional yang memiliki efek kesehatan serta mengandung probiotik. Probiotik merupakan bakteri hidup yang dapat mempengaruhi kesehatan dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam usus dan mencegah serta menyeleksi mikroba yang tidak berfungsi (Primurdia dan Kusnadi, 2014) probiotik yang terkandung didalam minuman probiotik memiliki beberapa keuntungan yaitu dari segi nutrisi maupun terapeutik. Dari segi nutrisi probiotik dapat meningkatkan jumlah produksi ribovlafin, niasin, thiamin, vitamin B₆, vitamin B₁₂, asam folat; meningkatkan jumlah ketersediaan kalsium, besi,

mangan, tembaga, dan fosfor bagi tubuh; serta meningkatkan daya cerna dari protein serta lemak (Thantsha *et al.*, 2012). Dari segi terapeutik, bakteri probiotik diklaim dapat mencegah terjadinya beberapa kondisi seperti *lactose intolerance*, alergi, diare, menurunkan kadar kolesterol, mencegah kanker usus besar, serta menghambat keberadaan bakteri patogen yang terdapat di dalam sistem pencernaan (Halim dan Zubaidah, 2013). Minuman probiotik yang sudah dikenal luas oleh masyarakat selama ini diproduksi dari hasil fermentasi susu antara lain *yoghurt*, susu asidofilus, *bulgarian milk*, *kefir*, *kumiss*, *piima*, *skyr*, *teatee*, *leben* dari Mesir, *dahi* dari India, *hamao* dari Asia Tengah, *yakult*, dan

lain-lain sehingga harganya relatif lebih mahal. Salah satu cara untuk memberikan nilai lebih terhadap produk sari buah nanas dan juga menjadi salah satu bentuk diversifikasi produk pangan adalah dengan menjadikan minuman yang mengandung probiotik.

Buah nanas termasuk dalam genus *Ananas* dan dengan nama latin *Ananas comosus* L.. Jenis nanas yang banyak tumbuh di Indonesia adalah jenis nanas Queen dan Cayene. Nanas madu termasuk dalam jenis Queen karena buah yang kecil, rasa manis, aroma harum, dan memiliki kulit kuning coklat kemerahan. Buah nanas madu merupakan salah satu buah yang sangat dikenal dan disukai oleh semua kalangan masyarakat di Indonesia. Banyak varietas nanas (*Ananas comosus* L.) termasuk dalam family bromeliase mengandung enzim proteolitik yang disebut bromelin (Hui, 1992). Bromelin dimanfaatkan untuk pengempukan daging, obat gangguan pencernaan (contohnya Benozym dan Elsazym) (ISFI, 2007), dan anti inflamasi (Secor Jr *et al.*, 2005). Enzim ini menguraikan protein dengan jalan memutuskan ikatan peptide dan menghasilkan protein yang lebih sederhana (Sumarmo, 1989). Nanas madu memiliki rasa yang lebih manis dibandingkan dengan jenis nanas lainnya karena mengandung gula yang sangat tinggi, yaitu sekitar 23,6% adalah glukosa. Salah satu cara untuk memberikan nilai lebih terhadap produk sari buah nanas adalah dengan menjadikan minuman yang mengandung probiotik.

Jenis mikroba probiotik yang biasa digunakan untuk membuat minuman probiotik berasal dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*

(Lee dan Salminen, 2008). *Lactobacillus rhamnosus* SKG 34 merupakan kandidat probiotik asli Indonesia yang diisolasi dari susu kuda liar Sumbawa (Sujaya *et al.*, 2008b). Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa bakteri *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 berpotensi untuk dikembangkan sebagai probiotik serta dalam proses fermentasi mampu mengubah maltosa dan kandungan amidon (Sujaya, 2008a). Uji *in vitro* *L. rhamnosus* SKG 34 mampu melewati simulasi kondisi lambung dengan pH 3 dan 4, tidak mengubah asam kolat primer (kolat) menjadi asam kolat sekunder (deoksikolat), serta dapat menghidrolisis garam empedu (Sujaya *et al.*, 2008b). Berdasarkan beberapa hasil penelitian pembuatan produk fermentasi yang menggunakan strain ini seperti pembuatan *bio-yoghurt* oleh Pratiwi, *et al.* (2013) terbukti dapat menurunkan kadar kolesterol darah dan pemberian *L. rhamnosus* SKG34 sebanyak 10^9 sel/hari selama 3 (tiga) minggu berpengaruh terhadap kadar kolesterol serum darah tikus putih (*R. norvegicus*) (Sujaya *et al.*, 2008a).

Proses fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain; jumlah mikroba, pH, substrat, suhu, alkohol, oksigen, garam, air, dan lama fermentasi. Lamanya waktu fermentasi yang diberikan akan berpengaruh terhadap produk yang dihasilkan karena hal ini berkaitan dengan masa inkubasi bakteri asam laktat. Lama fermentasi yang berlebihan pada produk akan menghasilkan bakteri asam laktat yang berlebihan ataupun penurunan bakteri asam laktat akibat berkurangnya kebutuhan nutrisi sehingga menyebabkan kegagalan dalam fermentasi. Penetapan lama fermentasi akan

berpengaruh terhadap sifat organoleptik dan karakteristik minuman fermentasi yang dihasilkan karena adanya perbedaan total asam yang dihasilkan oleh BAL dan akan berimbas pada menurunnya pH produk dan rasa yang dihasilkan (Trivalianza, 2004). Pada beberapa penelitian, karakteristik minuman fermentasi dipengaruhi oleh lama fermentasi. Menurut penelitian yang dilakukan Sarwini (2018) tentang pembuatan jus probiotik kombinasi mangga, pepaya dan nanas didapatkan hasil yang maksimum pada suhu 37°C dengan lama fermentasi selama 24 jam, sedangkan menurut penelitian yang dilakukan Retnowati dan Joni (2014) tentang pembuatan minuman probiotik sari buah kurma dihasilkan produk terbaik dengan lama fermentasi selama 20 jam pada suhu 37°C. Maka dari beberapa contoh penelitian tersebut dapat diketahui bahwa masing-masing fermentasi sari buah probiotik memiliki suhu fermentasi yang sama, akan tetapi lama fermentasinya dapat berbeda-beda, sehingga perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai lama fermentasi yang tepat terhadap minuman probiotik sari buah nanas.

METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari isolat *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 (koleksi UPT Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana), buah nanas, sukrosa (gulaku), air mineral (aqua), alkohol 70% (Brataco), methanol (curah), de Man Rogosa and Sharpe Agar/MRSA (Oxoid), de Man Rogosa and Sharpe Broth/MRSB (Oxoid), akuades, NaCl 0,85%,

gliserol, kristal violet, larutan lugol, pewarna safranin, pereaksi anthrone (Merck), H₂SO₄ pekat, phenolphthalein (PP) 1%, glukosa standar, larutan buffer pH 4 dan 7, larutan H₂O₂, NaOH 0,1 N, HCl 4 N, aluminium foil, plastik dan tisu.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jar, botol plastik, baskom, pisau, talenan, kain saring, kulkas (Sharp), *showcase* (Polytron), blender (Philips), *freezer* (GEA), cawan petri (Petriq), tabung reaksi (*pyrex*), jarum ose, inkubator (Memmert), *laminar air flow* (JSR JSCB-900SB), spektrofotometer (evolution 201), pH-meter (Martini Instrument MI 105), timbangan analitik (Shimadzu AUX 220), mikroskop (Olympus CX21FS1), pipet mikro (Genex Beta), pipet volume (Iwaki pyrex), erlenmeyer (pyrex), kertas saring, autoklaf (Tomy ES-315), *magnetic stirrer* (Fisher Scientific), *waterbath* (NVC Thermologic), bunsen, tip 100µL, tip 1000 µL, vortex (Labnet), gelas objek, *microtube*, sentrifugasi (Hitachi), gelas ukur, batang bengkok, buret, dan labu ukur.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan lama fermentasi yang terdiri dari 5 taraf. Taraf perlakuan dalam pembuatan minuman probiotik sari buah nanas terfermentasi pada penelitian ini adalah sebagai berikut: T0: 0 jam, T1: 12 jam, T2: 24 jam, T3: 36 jam dan T4: 48 jam.

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 15 unit percobaan. Data total BAL ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar kemudian dibahas secara deskriptif. Data

total gula, total asam, derajat keasaman (pH) dan uji sensoris dianalisis dengan *Analisis of Variance* (ANOVA) dan apabila terdapat pengaruh antara perlakuan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) (Gomez dan Gomez, 1995).

Pelaksanaan Penelitian

Penyegaran dan Konfirmasi Isolat *Lactobacillus rhamnosus* SKG34

Penyegaran bakteri *L. rhamnosus* SKG34 dilakukan dengan cara diambil 100 µL stok isolat yang disimpan dalam gliserol 30% pada suhu -20°C dan diinokulasi ke dalam tabung reaksi yang berisi pada 5 ml media MRSB diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya kekeruhan pada media. Konfirmasi isolat meliputi uji pewarna gram (Pelczar, 1986), uji katalase (Suryani *et al.*, 2010), dan uji gas (Suryani *et al.*, 2010).

Pembuatan Sari Buah Nanas

Buah nanas yang sudah matang dikupas kulitnya dan dibuang matanya, selanjutnya dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian dipotong kecil-kecil. Daging buah dihancurkan dengan menggunakan blender kemudian ditambahkan air dengan perbandingan sari buah dan air 1:2. Bubur buah disaring dengan menggunakan dua lapis kain saring sehingga dihasilkan sari buah tanpa ampas.

Pembuatan Starter Sari Buah

Persiapan starter sari buah nanas diawali dengan pembuatan substrat bakteri *L. rhamnosus* SKG34, yaitu dimasukkan sukrosa sebanyak 5% kedalam jar steril, kemudian ditambahkan sari buah nanas sampai volume 100 mL.

Sari buah nanas dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 4,5 menit dan didiamkan sampai suhu mencapai 37°C. Persiapan selanjutnya menumbuhkan stok kultur *L. rhamnosus* SKG34 yang diambil sebanyak 100 µl dalam gliserol yang disimpan di *freezer*, kemudian dimasukkan ke dalam 5 ml media MRSB dan diinkubasi selama 24 jam pada 37°C. Setelah diinkubasi, media tersebut diamati, setelah hasil positif ditunjukkan dengan kekeruhan pada media, tabung reaksi tersebut kemudian di vorteks dan diambil sebanyak 1 ml, kemudian dipindahkan ke dalam *microtube* untuk disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 5 menit hingga berbentuk endapan kultur mikroba pada dasar *microtube*. Supernatan diatas endapan kultur tersebut dibuang, sedangkan sel yang tertinggal dicuci sebanyak 3 kali.

Pencucian sel dilakukan dengan cara menambahkan larutan saline kedalam *microtube* berisi endapan kultur *L. rhamnosus* SKG34 lalu divorteks, selanjutnya *microtube* disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 5 menit, kemudian supernatan dibuang. Larutan saline sisa dari pencucian terakhir dibuang, kemudian diambil sebanyak 1 ml dari 100 ml substrat sari buah nanas dan dimasukkan ke dalam *microtube* yang berisi berisi endapan kultur *L. rhamnosus* SKG34. *Microtube* tersebut divorteks dan kultur dalam *microtube* dimasukkan kembali dalam sari buah hingga mencapai volume 100 ml kemudian diaduk. Kemudian substrat sari buah tersebut difermentasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Pembuatan Sari Buah Nanas Probiotik Terfermentasi

Sari buah nanas yang sudah ditambahkan sukrosa dengan konsentrasi 9% dimasukkan sebanyak 96 mL kedalam *jar*. *Jar* dan sari buah dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 4,5 menit dengan menggunakan *waterbath*. Setelah selesai dipasteurisasi, didiamkan hingga mencapai suhu 37°C. Selanjutnya ditambahkan starter bakteri *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 sebanyak 4% dan dilakukan fermentasi sesuai perlakuan (0 jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam dan 48 jam) pada suhu 37°C. Diagram alir pembuatan sari buah nanas probiotik terfermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.

Parameter yang Diamati

Parameter yang diamati adalah total BAL dengan metode *Total Plate Count* (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 uji sifat sensori (Soekarto, 1985).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Nilai rata-rata total BAL, total gula dan derajat keasaman (pH) dari minuman probiotik sari buah nanas dengan perlakuan lama waktu fermentasi 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 dengan perlakuan lama fermentasi

Lama Fermentasi	Total BAL (Log CFU/ml)	Total Gula (%)	Total Asam (%)	pH
T0 (0 Jam)	9,21±0,87	14,33±0,30a	0,44±0,02d	3,62±0,03a
T1 (12 Jam)	9,33±0,54	14,14±0,07ab	0,46±0,00d	3,57±0,01b
T2 (24 Jam)	9,64±0,78	13,81±0,21ab	0,54±0,02c	3,47±0,04c
T3 (36 Jam)	9,47±0,45	13,63±0,30b	0,62±0,02b	3,38±0,03d
T4 (48 Jam)	8,89±0,41	13,66±0,42b	0,66±0,04a	3,32±0,01e

Keterangan : Huruf yang sama dibelakang nilai rata-rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan berbeda tidak nyata (n = 3)

Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Nilai rata-rata total BAL minuman probiotik sari buah nanas dapat dilihat pada Tabel 1 dan pengaruh lama waktu fermentasi terhadap total BAL minuman probiotik sari buah nanas dapat dilihat pada Gambar 1.

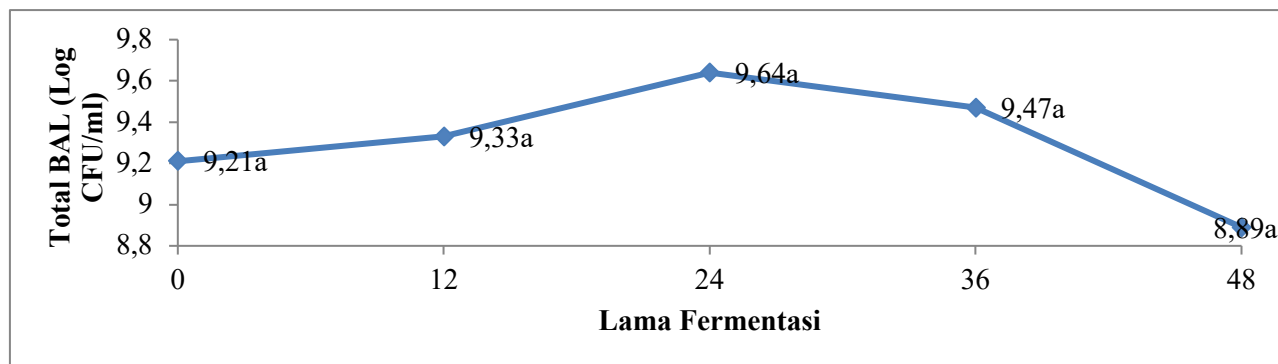
Nilai rata-rata total BAL minuman probiotik sari buah nanas berkisar antara 8,88 log CFU/ml

sampai 9,64 log CFU/ml. Gambar 1 menunjukkan peningkatan total BAL dari lama fermentasi 0 jam (T0) sampai 24 jam (T2) dan kemudian mengalami penurunan dari lama fermentasi 36 jam (T3) sampai 48 jam (T4).

Jumlah rata-rata total BAL mengalami peningkatan sampai dengan lama fermentasi 24 jam (T2) yang menunjukkan pertumbuhan sel bakteri

berada pada fase logaritmik (*log phase*), yaitu fase ketika mikroorganisme telah tumbuh dan membelah diri secara eksponensial hingga mencapai jumlah maksimum yang dapat dibantu oleh kondisi

lingkungan hal tersebut membuktikan bahwa minuman probiotik sari buah nanas merupakan media pertumbuhan yang baik bagi bakteri *Lactobacillus rhamnosus* SKG34.



Gambar 1. Grafik pengaruh lama fermentasi terhadap total BAL minuman probiotik sari buah nanas

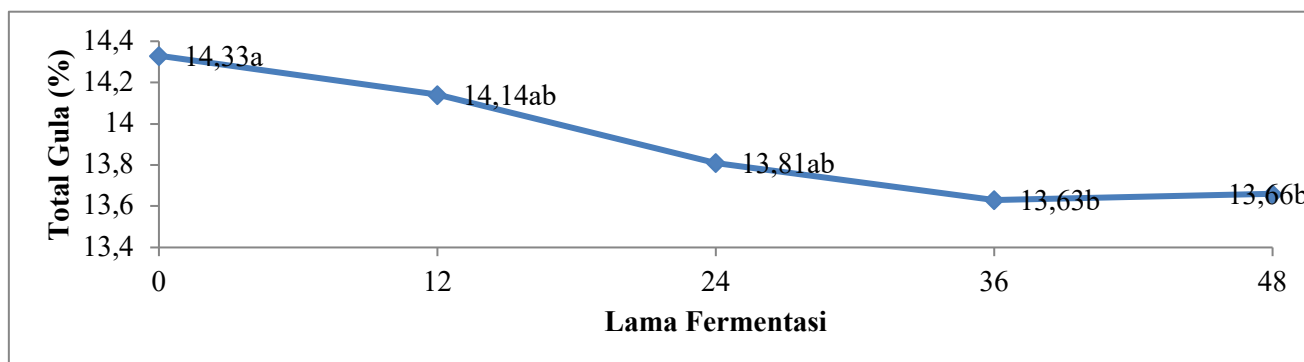
Jumlah rata-rata total BAL mengalami penurunan sampai dengan lama fermentasi 48 jam (T4) yang menunjukkan pertumbuhan sel bakteri berada pada fase menurun (*deacline or death phase*), yaitu fase ketika pertumbuhan mikroorganisme berhenti dan sel mengalami kematian secara eksponensial. Selain itu menurut Yuliana (2008), terakumulasinya produk hasil metabolisme berupa asam-asam organik seperti asam laktat, asam asetat dan asam piruvat akan menurunkan pH media sehingga menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat. Selama proses fermentasi yang terjadi, gula yang terkandung dalam minuman probiotik sari buah nanas dimanfaatkan oleh bakteri *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 untuk melakukan metabolisme sehingga terjadi pertumbuhan sel. Menurut Yunus *et*

al. (2015) waktu inkubasi bakteri asam laktat yang semakin lama akan memberikan kesempatan kepada bakteri asam laktat untuk memfermentasi gula menghasilkan asam laktat dan energi untuk pertumbuhan. Menurut Shah (2007) jumlah minimal strain probiotik yang ada dalam produk makanan adalah sebesar 10^6 CFU/g atau CFU/ml. Minuman probiotik sari buah nanas dengan semua perlakuan lama fermentasi pada penelitian ini telah memenuhi syarat minimal sebagai bahan pangan yang mengandung probiotik.

Total Gula

Nilai rata-rata total gula minuman probiotik sari buah nanas dapat dilihat pada Tabel 1 dan pengaruh lama fermentasi terhadap total gula minuman

probiotik sari buah nanas dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik pengaruh lama fermentasi terhadap total gula minuman probiotik sari buah nanas

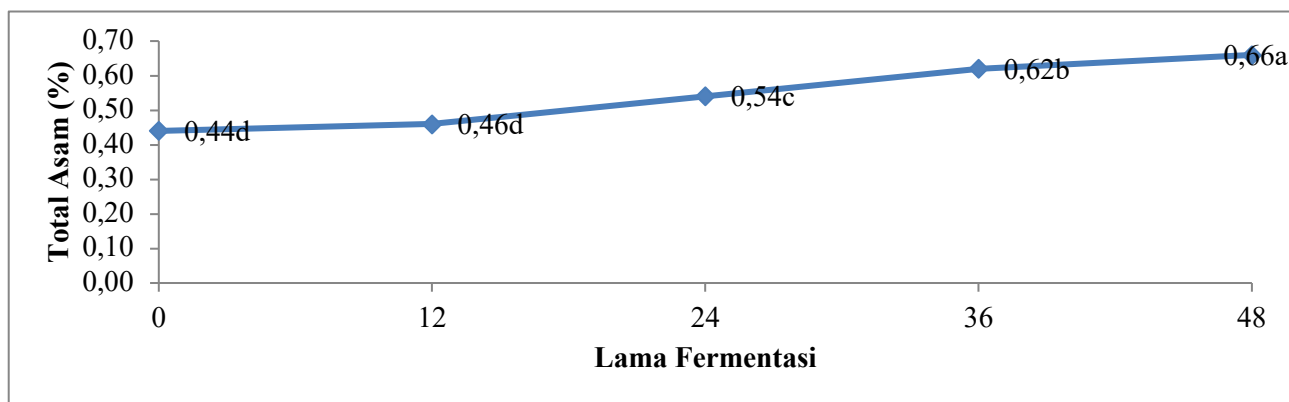
Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap total gula minuman probiotik sari buah nanas. Nilai rata-rata total gula minuman probiotik sari buah nanas berkisar antara 13,63% sampai 14,33%. Nilai total gula terendah terdapat pada perlakuan lama fermentasi 36 jam (T3), sedangkan nilai total gula tertinggi terdapat pada perlakuan lama fermentasi 0 jam (T0).

Gambar 2 menunjukkan bahwa selama proses fermentasi minuman probiotik sari buah nanas terjadi penurunan jumlah total gula, dimana semakin lama waktu fermentasi, semakin sedikit jumlah gula yang terkandung dalam minuman probiotik sari buah nanas. Lama fermentasi 0 jam dengan rata-rata total gula 14,33% yang berbeda tidak nyata dengan perlakuan lama fermentasi 12 jam, 24 jam, akan tetapi berbeda nyata dengan 36 jam dan 48 jam. Selama proses fermentasi, bakteri asam laktat

merombak gula-gula sederhana pada minuman probiotik sari buah nanas untuk dipecah melalui sistem metabolismenya sehingga menghasilkan energi untuk melakukan pertumbuhan. Menurut Koesoemawardani *et al.* (2013) gula pada media pertumbuhan akan dimanfaatkan bakteri asam laktat sebagai sumber karbon untuk aktivitas kerjanya, sehingga semakin lama fermentasi jumlah gula akan semakin menurun. Bakteri asam laktat umumnya mendapatkan energi dari glukosa, tetapi beberapa spesies juga menggunakan gula-gula seperti laktosa, sukrosa dan xilosa.

Total Asam

Nilai rata-rata total asam minuman probiotik sari buah nanas dapat dilihat pada Tabel 1 dan perubahan total asam minuman probiotik sari buah nanas dengan perlakuan lama fermentasi yang berbeda dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik pengaruh lama fermentasi terhadap total asam minuman probiotik sari buah nanas

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap total asam minuman probiotik sari buah nanas. Nilai total asam minuman probiotik sari buah nanas berkisar antara 0,44% - 0,66%. Nilai total asam terendah terdapat pada perlakuan lama fermentasi 0 jam (T0), sedangkan nilai total asam tertinggi terdapat pada perlakuan lama fermentasi 48 jam (T4).

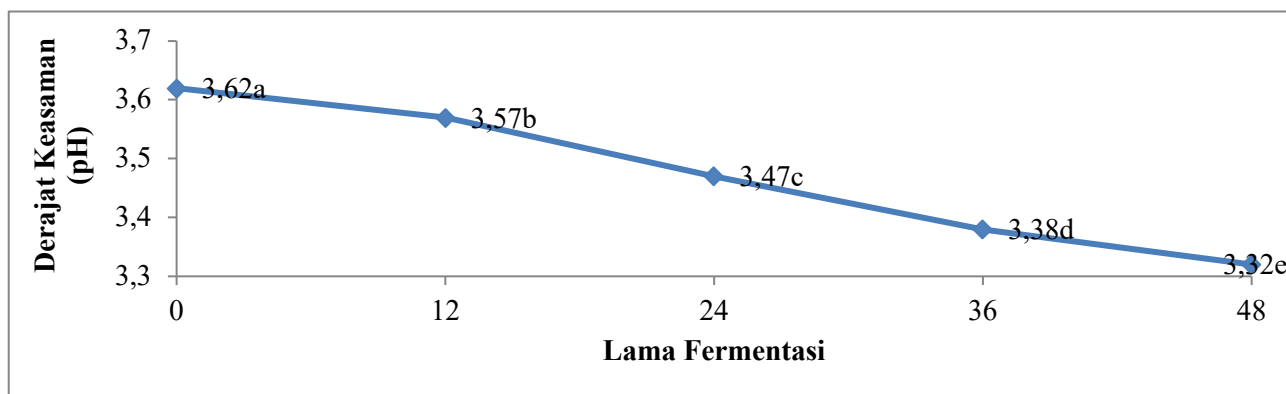
Gambar 3 menunjukkan bahwa selama proses fermentasi minuman probiotik sari buah nanas terjadi peningkatan total asam seiring semakin lama fermentasi. Peningkatan total asam terjadi pada lama fermentasi 0-48 jam, yaitu dari 0,44% menjadi 0,66%. Hal tersebut diduga terjadi karena bakteri asam laktat melalui sistem metabolismenya memanfaatkan kandungan gula pada minuman probiotik sari buah nanas sebagai sumber energi dan karbon yang kemudian menghasilkan asam laktat sebagai produk hasil metabolisme. Bakteri *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 merupakan salah satu bakteri yang bersifat homofermentatif dengan hasil utama metabolisme berupa asam laktat,

sehingga asam laktat yang dihasilkan akan mempengaruhi total asam. Menurut Yunus *et al.* (2015) semakin lama fermentasi, maka total asam yang dihasilkan akan semakin tinggi. Hal ini dikarenakan seiring meningkatnya lama fermentasi, maka semakin banyak waktu yang tersedia bagi bakteri asam laktat untuk merombak nutrisi yang terkandung dalam substrat dan dapat memungkinkan terakumulasinya asam-asam organik seperti asam laktat dalam jumlah yang lebih banyak.

Rata-rata total asam pada perlakuan lama fermentasi telah sesuai dengan SNI 7552:2009 tentang minuman susu fermentasi berperisa, dimana jumlah total asam yang dihitung sebagai asam laktat yaitu minimal 0,2% hingga 0,9%.

Derajat Keasaman (pH)

Nilai rata-rata derajat keasaman (pH) minuman probiotik sari buah nanas dapat dilihat pada Tabel 1 dan pengaruh lama fermentasi terhadap derajat keasaman (pH) minuman probiotik sari buah nanas dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik pengaruh lama fermentasi terhadap pH minuman probiotik sari buah nanas

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap derajat keasaman (pH) minuman probiotik sari buah nanas. Nilai rata-rata pH minuman probiotik sari buah nanas berkisar antara 3,62 sampai 3,32.

Gambar 4 menunjukkan bahwa selama proses fermentasi minuman probiotik sari buah nanas terjadi penurunan nilai pH seiring semakin lama fermentasi. Penurunan nilai pH tersebut merupakan akibat dari terakumulasinya asam laktat hasil metabolisme BAL selama proses fermentasi berlangsung, sehingga nilai pH akan cenderung semakin menurun seiring meningkatnya lama waktu fermentasi. Hal ini sesuai dengan rata-rata total asam yang didapat, yakni perubahan total asam yang signifikan. Menurut Prasetyo (2013), nilai pH berhubungan erat dengan total asam, dimana kenaikan pH akan menunjukkan penurunan total asam. Peningkatan total asam minuman probiotik

sari buah nanas berkaitan dengan proses metabolisme BAL dalam merombak gula menjadi asam laktat. Menurut Ayu, *et al.*, (2015). Kadar asam laktat dalam minuman probiotik meningkat karena adanya aktivitas BAL, yaitu terjadinya pemecahan komponen gula sederhana pada media yang nantinya akan menghasilkan metabolit fermentasi terhitung sebagai total asam laktat.

Sifat Sensoris

Evaluasi sifat sensoris minuman probiotik sari buah nanas dilakukan dengan uji kesukaan terhadap warna, aroma, rasa, dan penerimaan keseluruhan serta uji skor terhadap rasa asam dan rasa manis. Nilai rata-rata uji kesukaan terhadap warna, aroma, rasa, dan penerimaan keseluruhan minuman probiotik sari buah nanas dapat dilihat pada Tabel 2, sedangkan nilai rata-rata uji skor terhadap rasa asam dan rasa manis dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Nilai rata-rata hedonik warna, aroma dan penerimaan keseluruhan minuman probiotik sari buah nanas dengan perlakuan lama fermentasi.

Lama Fermentasi	Warna	Aroma	Penerimaan Keseluruhan
T0 (0 Jam)	6,25±0,64a	5,45±1,15ab	5,70±0,86ab
T1 (12 Jam)	5,55±0,89c	5,65±1,09a	5,80±1,06a
T2 (24 Jam)	6,10±0,72bc	6,00±0,86a	6,20±0,77a
T3 (36 Jam)	5,90±0,62abc	5,50±0,95ab	5,55±0,83ab
T4 (48 Jam)	5,89±0,79bc	4,90±1,12b	5,10±1,37b

Keterangan : Huruf yang sama dibelakang nilai rata rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan yang berbeda tidak nyata (n=20). Keterangan angka uji hedonik: 7= sangat suka, 6= suka, 5= agak suka, 4= biasa, 3= agak tidak suka, 2= tidak suka, 1= sangat tidak suka.

Tabel 3. Nilai rata-rata hedonik rasa, skor rasa asam dan skor rasa manis minuman probiotik sari buah nanas dengan perlakuan lama fermentasi.

Lama Fermentasi	Hedonik Rasa	Skor Rasa Asam	Skor Rasa Manis
T0 (0Jam)	5,70±0,80ab	1,90±0,64d	2,55±0,51a
T1 (12 Jam)	5,80±1,11a	2,00±0,56cd	2,20±0,62ab
T2 (24 Jam)	6,20±0,83a	2,40±0,60bc	2,10±0,79ab
T3 (36 Jam)	5,60±0,75ab	2,55±0,83b	2,00±0,65b
T4 (48 Jam)	5,00±1,62b	3,00±0,73a	1,85±0,88b

Keterangan : Huruf yang sama dibelakang nilai rata rata pada kolom yang sama menunjukkan perlakuan yang berbeda tidak nyata (n=20). Keterangan angka uji hedonik: 7= sangat suka, 6= suka, 5= agak suka, 4= biasa, 3= agak tidak suka, 2= tidak suka, 1= sangat tidak suka. Keterangan angka uji skor rasa asam: 4= sangat asam, 3= asam, 2= agak asam, 1= tidak asam. Keterangan angka uji skor rasa manis: 4= sangat manis, 3= manis, 2= agak manis, 1= tidak manis

Warna

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap nilai kesukaan warna minuman probiotik sari buah nanas. Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai kesukaan warna minuman probiotik sari buah nanas berkisar antara 5,55 - 6,25 dengan kriteria suka. Nilai kesukaan warna terendah terdapat pada lama fermentasi 12 jam (T1) dengan kriteria suka yang tidak berbeda nyata dengan 24 jam (T2), 36 jam (T3) dan 48 jam (T4) sedangkan nilai kesukaan warna

tertinggi terdapat pada lama fermentasi 0 jam (T0) dengan kriteria suka.

Perlakuan lama fermentasi berpengaruh terhadap kesukaan warna karena panelis memiliki kesukaan yang berbeda-beda terhadap warna produk minuman probiotik sari buah nanas madu terlebih karena penilaian menggunakan indera penglihatan manusia (penilaian perspektif). Warna dipengaruhi oleh komponen penyusun dalam bahan dimana warna daging buah nanas madu adalah 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. Karotenoid adalah salah satu pigmen yang menyumbangkan warna kuning, jingga dan merah pada bagian buah (Winarno, 2008). Semakin lama fermentasi maka warna pada minuman probiotik sari buah nanas akan menjadi kuning kekeruhan karena terdegradasinya pigmen karoten pada buah nanas akibat proses oksidasi, hal ini menyebabkan menurunnya kesukaan panelis terhadap warna minuman probiotik sari buah nanas.

Aroma

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan lama fermentasi berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap nilai kesukaan aroma minuman probiotik sari buah nanas. Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai kesukaan aroma minuman probiotik sari buah nanas berkisar antara 4,90 – 6,00 dengan kriteria agak suka hingga suka. Nilai kesukaan aroma terendah terdapat pada lama fermentasi 48 jam (T4) dengan kriteria agak suka, nilai kesukaan aroma tertinggi terdapat pada lama fermentasi 24 jam (T2) dengan kriteria suka. Nilai kesukaan aroma 0 jam (T0) yaitu 5,45 yang tidak berbeda nyata dengan 36 jam (T3) dan 48 jam (T4) akan tetapi berbeda nyata dengan 12 jam (T1) dan 24 jam (T2).

Rasa

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan lama fermentasi berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap nilai kesukaan rasa minuman probiotik sari buah nanas. Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai kesukaan rasa minuman probiotik sari

buah nanas berkisar antara 5,00 – 6,20 dengan kriteria agak suka hingga suka. Nilai kesukaan rasa terendah terdapat pada perlakuan lama fermentasi 48 jam (T4) dengan kriteria agak suka, sedangkan nilai kesukaan rasa tertinggi terdapat pada perlakuan lama fermentasi 24 jam (T2) dengan kriteria suka yang tidak berbeda nyata dengan 0 jam (T0), 12 jam (T1) dan 36 jam (T3).

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap skor rasa asam minuman probiotik sari buah nanas. Tabel 3 menunjukkan bahwa skor rasa asam minuman probiotik sari buah nanas berkisar antara 1,90 – 3,00 dengan kriteria agak asam sampai asam. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan lama fermentasi berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap skor rasa manis minuman probiotik sari buah nanas. Tabel 9 menunjukkan bahwa skor rasa manis minuman probiotik sari buah nanas berkisar antara 1,85 – 2,55 dengan kriteria agak manis hingga manis.

Menurut Yunus *et al.* (2015) semakin lama fermentasi, maka total asam yang dihasilkan akan semakin tinggi. Hal ini dikarenakan seiring meningkatnya lama fermentasi, maka semakin banyak waktu yang tersedia bagi bakteri asam laktat untuk merombak nutrisi yang terkandung dalam substrat dan dapat memungkinkan terakumulasinya asam-asam organik seperti asam laktat dalam jumlah yang lebih banyak, sehingga mengakibatkan nilai pH akan cenderung semakin menurun seiring meningkatnya lama waktu fermentasi, sedangkan

rasa manis yang semakin menurun dikarenakan total gula yang semakin menurun.

Penerimaan Keseluruhan

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan lama fermentasi berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap nilai penerimaan keseluruhan minuman probiotik sari buah nanas. Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai penerimaan keseluruhan minuman probiotik sari buah nanas berkisar antara 5,10 – 6,20. Nilai penerimaan keseluruhan terendah terdapat pada perlakuan lama fermentasi 48 jam (T4) dengan kriteria agak suka, sedangkan nilai penerimaan keseluruhan tertinggi terdapat pada perlakuan lama fermentasi 24 jam (T2) dengan kriteria suka.

KESIMPULAN

Lama fermentasi mampu meningkatkan total BAL, total gula, dan total asam dan mampu menurunkan pH. Perbedaan lama fermentasi berpengaruh terhadap total gula, total asam, derajat keasaman (pH), hedonic warna, hedonic rasa, skor rasa asam, skor rasa manis dan penerimaan keseluruhan, namun tidak berpengaruh terhadap total BAL. Lama fermentasi 24 jam (T2) menghasilkan minuman probiotik sari buah nanas dengan karakteristik terbaik yaitu total BAL 9,64 log CFU/ml, total gula 13,81%, total asam 0,54%, pH 3,47. Sifat sensori yang diperoleh yaitu hedonik warna 6,10 (suka), aroma 6,00 (suka), hedonik rasa 6,20 (suka), skor rasa asam 2,40 (agak asam), skor rasa manis 2,10 (agak manis), dan penerimaan keseluruhan 6,20 (suka).

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., F. Kusnandar, dan D. Herawati. 2011. Analisis Pangan. Dian Rakyat. Jakarta.
- AOAC, 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International. AOAC Intl, Washington DC.
- Astawan, M. 2008. Sehat dengan Buah. PT. Dian Rakyat, Jakarta.
- Ayu, I., Pranayanti, P. & Sutrisno, A. (2015). Pembuatan Minuman Probiotik Air Kelapa Muda (*Cocos Nucifera* L.) Dengan Starter *Lactobacillus Casei* Strain Shirota. Jurnal Pangan dan Agroindustri, 3(2), pp. 763–772
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). 2009. SNI 7552:2009-Minuman Susu Fermentasi Berperisa. Badan Standarisasi Nasional Indonesia, Jakarta.
- 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): 219-232.
- Diniyah, N., A. Subagio, M. Fauzi. 2013. Produksi Minuman Fungsional Sirsak (*Anona muricata* linn) dengan Fermentasi Bakteri Asam Laktat. Jurnal Teknotan. 2(7):1007-1012.
- Fardiaz, S. 1993. Perhitungan total populasi bal pada yoghurt. E-journal :7-8.
- Halim, C. N dan E. Zubaidah. 2013. Studi Kemampuan Probiotik Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Eksopolisakarida Tinggi Asal Sawi Asin (*Brassica juncea*). Jurnal Pangan dan Agroindustri. Vol. 1 No. 1: 129-137
- Hui, Y.H. 1992. *Encyclopedia of food science and technology*. Volume 3 John Wiley and Sons Inc. ; New York, p. 1747.
- ISFI. 2007. ISO (Informasi Spesialite Obat) Indonesia. Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia: Jakarta.
- Koesoemawardani D., S. Rizal, M. Tauhid. 2013. Perubahan sifat mikrobiologi dan kimiawi rusip selama fermentasi. Agritech 33(3) : 265-272. Jurusan Teknologi Hasil

- Pertanian Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
- Lee, K. Y., dan S. Salminen. 2009. Handbook of probiotics & prebiotics 2nd ed. New Jersey: John Wiley and sons, pp. 177-540
- Pratiwi, I.D.P.K., K.A. Nocianitri, W.R. Aryanta, Y. Ramona, I.D.M Sukrama, dan I.N. Sujaya. 2013. Efek Konsumsi Bio-Yoghurt Dari *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 Terhadap Lipid Profile Pada Manusia. *Arc.Com.Health* 2(1):40-49.
- Primurdi, E.G., dan J. Kusnadi. 2014. Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik Sari Kurma (*Phoenix dactylifera* L.) dengan isolat *L. Plantarum* dan *L. Casei*. *Jurnal Agroindustri* Vol 2(3): 98-109.
- Retnowati, P. A., J. Kusnadi. 2014. Pembuatan Minuman Probiotik Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) dengan Isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 2(2): 70-81.
- Sarwini. 2018. Studi pembuatan Jus Probiotik Kombinasi Mangga Pepaya Dan Nenas Menggunakan Kultur *Lactobacillus plantarum*. Skripsi. Universitas Hasanudin, Makasar.
- Secor. 2005. Bromelin Exerts Anti-Inflammatory Effects in An Ovalbumin-induced Murine Model of Allergic Airway Disease. *Cell Immunol*.
- Shah, N.P. 2007. Functional cultures and health benefits. *Int. Dairy J.* (17): 1262-1277.
- Soekarto, S.T. 1985. Penelitian Organoleptik Untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian. Bharata Karya Aksara, Jakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, Suhardi. 2007. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian, Liberty: Yogyakarta.
- Sujaya, I.N., N.M.U. Dwipayanti, N.L.P. Suariani, N.P. Widarini, K.A. Nocianitri, dan N.W. Nursini. 2008a. Potensi *Lactobacillus* spp. Isolat Susu Kuda Sumbawa sebagai Probiotik. *Jurnal Veteriner* 9(1):33-40.
- Sujaya, I.N., Y. Ramona, N.P. Widarini, N.P. Suariani, N.M.U. Dwipayanti, K.A. Nocianitri, dan N.W. Nursini. 2008b. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa. *Jurnal Veteriner* 9(2):52-59.
- Sumarmo. 1989. Skripsi S1. Jurusan Kimia FMIPA UI. Depok
- 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.
- Thantsha M. S., C. I. Mamvura, J. Booyes. 2012. Probiotics – What They Are, Their Benefits and Challenges : New Advance In The Basic and Clinical Gastroenterology. University Of Pretoria : South Africa
- Trivalianza, O. 2004. Pengaruh Penambahan Gum Xanthan terhadap Karakteristik Minuman Laktat Sari Kulit Nanas yang Difermentasi oleh *L. Casei* Selama Penyimpanan. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Winarno F. G. 2008. Kimia Pangan dan Gizi. PT. Gamedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Yunus, Y., 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.