

KEMAMPUAN BUBUK EKSTRAK DAUN CINCAU HIJAU (*Premna oblongifolia* Merr.) DALAM MENSTIMULASI PERTUMBUHAN *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*

Dwi Putri Nurmalasari¹, Nyoman Semadi Antara^{2*}, Lutfi Suhendra²

¹Mahasiswa Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, UNUD

²Dosen Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, UNUD

**e-mail*: semadi.antara@unud.ac.id

ABSTRACT

Dietary fiber with excellent fermentability can be categorized as prebiotics, one of which was green grass jelly. The objective of this research was to know the concentration of green grass leaf extract powder to stimulate the growth of Lactic Acid Bacteria (*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*). In vitro experiments were performed in laboratory with a concentration treatment of green grass leaf powder and glucose as a control. The medium used was yeast-peptone medium added with 1% glucose, 0% green grass leaf extract powder, 0.1% green grass leaf extract powder, 0.2% green grass leaf extract powder, 0.3% green grass leaf extract powder, 0.4% green grass leaf extract powder, and 0.5% green grass leaf extract powder. Fermentation was carried out at 37°C with a fermentation time of 9 hours. The experimental results showed that the concentration of green grass leaf powder extract of 0.2% was the best, in performance to stimulating growth of LAB. This concentration of the extract was the critical concentration, since the process of medium solidification was occurred at the extract concentration of more than 0.2%.

Keywords: *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*, green grass jelly, prebiotic.

PENDAHULUAN

Kemajuan pengetahuan tentang pangan dan kesadaran masyarakat terhadap kesehatan telah meningkatkan minat masyarakat terhadap pangan fungsional. Pangan fungsional adalah makanan atau bahan pangan yang dapat memberikan manfaat tambahan di samping fungsi gizi dasar makanan tersebut. Pangan fungsional salah satunya yang berkembang pesat adalah pangan probiotik (Zubaidah. *et al.*, 2014). Probiotik dapat dikatakan suplemen makanan berupa mikroba hidup yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh inang (Fuler and Gibson, 1998), untuk viabilitas mikroba ini, diperlukan prebiotik.

Prebiotik adalah bahan makanan yang tidak dapat dicerna dan tidak diserap pada saluran pencernaan bagian atas. Prebiotik memberikan pengaruh menguntungkan bagi kesehatan karena dapat menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas bakteri menguntungkan di kolon, sehingga dapat meningkatkan kesehatan tubuh (Zainuddin. *et al.*, 2008). Prebiotik umumnya merupakan *undigestible*, biasanya dalam bentuk oligosakarida dan *dietary fiber*. Serat makanan (*dietary fiber*) merupakan bahan tanaman yang tidak dapat dicerna oleh enzim dalam pencernaan manusia.

Serat pangan dengan fermentabilitas yang sangat baik dapat dikategorikan sebagai prebiotik, salah satunya adalah cincau hijau. Ekstrak cincau hijau dapat dianggap sebagai sumber serat pangan yang baik, karena kandungan utamanya adalah pektin. Komponen pembentuk gel utama pada cincau hijau adalah senyawa polisakarida jenis pektin yang bermetoksi rendah dengan kandungan pektin maksimal 7% (Artha, 2001). Pektin merupakan serat larut air dan serat pektin

bersifat viskus (*viscousfiber*) (Wu. *et al*, 2003), yang dapat difermentasi oleh mikroflora usus (Gallaher, 2000).

Kadar pektin yang tinggi dalam gel cincau hijau berpengaruh pada proses fermentasi oleh mikroflora dalam usus besar. *Lactobacillus casei* merupakan salah satu bakteri probiotik yang biasa terdapat pada produk susu fermentasi. *Lactobacillus casei* merupakan salah satu jenis bakteri menguntungkan di dalam mikroflora usus dan banyak digunakan sebagai probiotik.

Penelitian tentang pengaruh ekstrak daun cincau hijau terhadap pertumbuhan dan aktivitas *Lactobacillus casei* masih sedikit dilakukan, sementara serat pangan yang tinggi pada cincau hijau diharapkan berfungsi sebagai prebiotik yang akan mendukung pertumbuhan bagi BAL khususnya pada *Lactobacillus casei*. Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh cincau hijau dengan konsentrasi tertentu yang dapat menstimulasi pertumbuhan dan aktivitas *Lactobacillus casei*, yang hasilnya diharapkan menjadi bahan acuan dan sebagai studi awal untuk pemanfaatan cincau hijau sebagai bahan prebiotik. Percobaan pendahuluan menjelaskan bahwa penggunaan ekstrak daun cincau hijau pada konsentrasi $\geq 0,6\%$ memperlihatkan proses pembentukan gel, sehingga konsentrasi ekstrak daun cincau hijau (Edc) yang digunakan dalam penelitian ini $\leq 0,6\%$.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, Laboratorium Analisis Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana dan Laboratorium Bioindustri dan Lingkungan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana dari November 2016 hingga Maret 2017.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah gunting, nampan, ember, blender, oven, ayakan 80 mesh, thermometer, pengaduk, kain saring, kertas saring, ayakan 100 mesh, kompor listrik, timbangan analitik 500 gam (ACIS), *handgloves*, oven cabinet (*Drying Cabinet ELT*), keranjang, loyang, tisu, pipet volum, pH meter (SCHOTT Instruments), *laminar air flow (ESCO)*, *refrigerator*, cawan petri (*iwaki-pyrex*), autoclave, inkubator (*Memmert*), tabung reaksi (*iwaki-pyrex*), rak tabung reaksi, erlenmeyer (*iwaki-pyrex*), gelas ukur (*iwaki-pyrex*), gelas beker (*iwaki-pyrex*), batang kaca bengkok, *magnetic stirrer*, *stirrer bar (iwaki BS-38)*, *cover glass*, vortex (Barnstead), *Chamber anaerobic (Oxoid)*, viskometer.

Bahan yang digunakan adalah cincau hijau jenis *Premna oblongifolia* Merr. yang diperoleh dari daerah Sidomulyo dengan karakteristik daun tebal dan berwarna hijau, etanol 96%, aquades, H₂SO₄ pekat, HCL 0,02 N, asam borat 4%, aquades, kultur bakteri asam laktat (BAL) yang digunakan adalah *Lactobacillus casei* yang didapatkan dari UPT Laboratorium Biosains, Universitas Udayana, media MRSB, MRSA, MRSB modifikasi (MRSB-m), glukosa (Merck TM), twen 80, pepton protease, ammonium citrate, beef ekstrak, yeast ekstrak, sodium asetat, MgSO₄.7H₂O, MnSO₄.H₂O, K₂HPO₄, NaOH 0,1 N, NaCl 0,85% (Merck), phenolptalin (PP), alkohol 70% (Brataco chemika), buffer pH 4 dan buffer pH 7 (Merck).

Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan dengan menambahkan konsentrasi bubuk ekstrak daun cincau hijau, yang terdiri dari: A0 = Media GYp ditambah glukosa 1% (kontrol positif), A1 = Media Yp (kontrol negatif), A2 = Media Edc-Yp ditambah ekstrak cincau hijau 0,1%, A3 = Media Edc-Yp ditambah ekstrak cincau hijau 0,2%, A4 = Media Edc-Yp ditambah ekstrak cincau hijau 0,3%, A5 = Media Edc-Yp ditambah ekstrak cincau hijau 0,4%, A6 = Media Edc-Yp ditambah ekstrak cincau hijau 0,5%. Sehingga diperoleh 7 perlakuan, setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali, sehingga keseluruhan ada 14 unit percobaan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dan dipaparkan secara deskriptif.

Pembuatan Bubuk Ekstrak Daun Cincau Hijau

Tahapan-tahapan yang dilakukan untuk pembuatan bubuk ekstrak daun cincau hijau diawali dengan melakukan pencucian. Daun yang sudah bersih dipotong dengan ukuran 3 cm x 1,5 cm dan tangkainya dibuang. Daun yang sudah siap dioven pada suhu 50±5°C selama 24 jam. Daun yang sudah kering dilakukan penghancuran menggunakan blender, selanjutnya dilakukan pengayakan dengan ayakan 80 mesh (Krisnawati, 2004). Bubuk daun cincau hijau sebanyak 25 gram ditambah 500 ml aquades dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian dilakukan penyaringan dengan kain saring, filtrat yang dihasilkan ditambah etanol 96% dengan perbandingan 1:1(v/v). Diperoleh dua fraksi yaitu gel yang diantara cairan supernatan. Gel yang diperoleh dilakukan penyaringan dengan kertas saring, gel yang dihasilkan kemudian dikeringkan pada suhu 50±5°C selama 5 jam. Gel yang sudah kering dihancurkan menggunakan blender, kemudian dilakukan pengayakan dengan ayakan 100 mesh (Murdianto. *et al.*, 2005).

Penentuan Waktu Pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*

Penentuan waktu pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* dilakukan dengan melakukan pengamatan setiap 0 jam, 3 jam, 6 jam, 9 jam, 12 jam, 15 jam, 18 jam, 21 jam, dan 24 jam dengan pengukuran Optical Density (OD) (Yuliana, 2008). Pengukuran OD dilakukan dengan metode langsung dengan cara mengambil kultur *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* yang telah di inokulasi

pada media Edc-Yp dengan kandungan bubuk ekstrak daun cincau sebanyak 0,25 g. Kultur *Lactobacillus casei* subsp. *rhannosus* di inkubasi pada suhu 37°C selama 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, dan 24 jam. Pada tiap 3 jam dilakukan analisis nilai OD nya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 660 nm.

Fermentasi Bubuk Ekstrak Daun Cincau Hijau

Kultur *Lactobacillus casei* subsp. *rhannosus* diambil 0,2 ml dari isolat murni dan disegarkan dalam 5 ml MRSB dalam tabung reaksi. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Hasil positif ditunjukkan oleh timbulnya kekeruhan pada tabung.

Media Edc-YP dibuat dengan formulasi (g/100ml): pepton protease 1 g, *Meat extract* 0,8 g, *Yeast extract* 0,5 g, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0,2 g, Tween 80 0,1g, *Sodium acetate* 0,5 g, *Ammonium citrate* 0,2 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,02 g, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0,005 g, *gukosa* 2 gram, dan konsentrasi bubuk ekstrak daun cincau hijau sebanyak (0,1), (0,2), (0,3), (0,4), (0,5) gram. pH media Edc-YP diatur sebesar $\pm 6,0$ kemudian disterilkan dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Tahap fermentasi dilakukan secara *in vitro* dengan media Edc-YP, dimana komponen di dalam media Edc-YP ditambah dengan 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5% bubuk ekstrak daun cincau hijau sebagai media tumbuh. Kontrol yang digunakan adalah media YP yang tanpa komponen bubuk ekstrak daun cincau hijau sebagai control negatif, dan media G-YP yaitu media yang ditambah glukosa sebanyak 1 gram sebagai kontrol positif. Selanjutnya ditambahkan starter bakteri asam laktat ke dalam media fermentasi yang telah dibuat. Lama fermentasi sesuai dengan hasil percobaan pertumbuhan BAL pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan pengamatan total BAL, derajat keasaman (pH), dan total asam.

Penentuan Total Bakteri Asam Laktat

Total bakteri asam laktat ditentukan dengan metode permukaan. Pengenceran yang digunakan adalah 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} . Media untuk perhitungan yang digunakan adalah MRS agar padat untuk perhitungan bakteri asam laktat. Kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Fardiaz, 1992).

Penentuan Derajat Keasaman (pH)

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Alat pH meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan buffer untuk pH 4 dan pH 7. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan elektroda pH meter kedalam 10 ml sampel (AOAC, 1995).

Penentuan Total Asam Laktat

Pengukuran keasaman dilakukan dengan menghitung kadar asam setara asam laktat sebagai persen asam laktat (Astuti, 2015). Sampel yang akan diukur keasamannya ditimbang sebanyak 2g dimasukkan ke dalam labu ukur kemudian diencerkan dengan aquades sampai 100 ml. Sampel yang sudah larut diambil sebanyak 20 ml dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Sampel ditetesi phenolptalin

(PP) 1% sebanyak 2 tetes, setelah itu sampel dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai terlihat warna merah muda konstan. Perhitungan kadar asam dilakukan dengan rumus :

$$\text{Total Asam (\%)} = \frac{(\text{ml})\text{Titran} \times \text{N NaOH} \times \text{B} \times \text{Faktor pengenceran}}{\text{Berat sampel (g)} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan :

N = Normalitas NaOH (0,1 N)

B = Berat Molekul asam laktat (90)

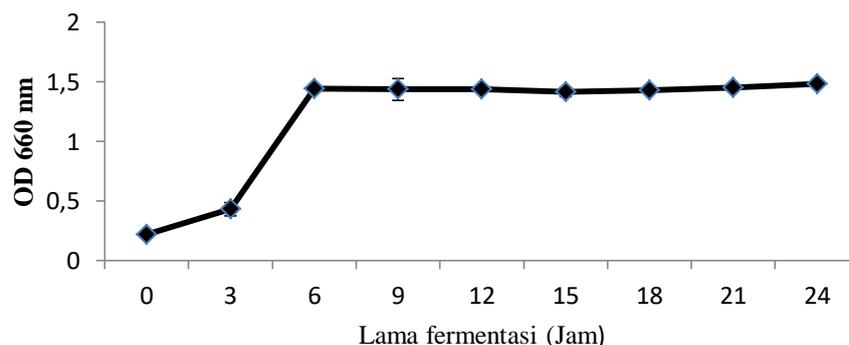
Pengujian Viskositas

Pengujian nilai viskositas pada media Edc-YP dilakukan menggunakan viscometer (Wildan, 2009). Sampel disiapkan sebanyak 250 ml dalam gelas beker. Dipilih spindel 02 kemudian pasang spindel pada viskositer. Sampel Edc-YP dimasukkan ke dalam gelas beker, arahkan spindel ke dalam sampel secara tegak lurus sampai tanda batas. Kemudian hidupkan viskotester, atur sped dan timer selama 1 menit. Setelah 1 menit tekan knop power dan knop jarum secara bersamaan. Catat hasil yang diperoleh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus*

Hasil penelitian tentang waktu pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus* ditentukan fermentasi selama 9 jam. Pada waktu 3, 6, dan 9 jam pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus* stabil, sehingga dipilih waktu 9 jam. Penentuan waktu 9 jam diambil karena nutrisi yang tersedia cukup dan kondisi sel yang masih baik. Pada waktu fermentasi lebih dari 9 jam kondisi sel dikhawatirkan kurang baik sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Dari penelitian pendahuluan tersebut, dapat ditentukan bahwa untuk fermentasi media Edc-Yp oleh *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus* terbaik menggunakan fermentasi selama 9 jam sesuai dengan kurva pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus* yang disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *ramnosus* pada konsentrasi 0,25% bubuk ekstrak daun cincau hijau.

Total Bakteri Asam Laktat, Nilai pH dan Total asam Laktat

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada media yang ditambahkan glukosa memiliki nilai total BAL tertinggi, total asam tertinggi dan nilai pH terendah. Pada media yang ditambahkan bubuk ekstrak daun cincau hijau (Edc-Yp) menunjukkan bahwa Edc-YP dapat menstimulasi pertumbuhan bakteri asam laktat lebih baik dari media yang tidak ditambahkan bubuk ekstrak cincau hijau (YP). Nilai total Bal pada media Edc-YP tertinggi pada konsentrasi penambahan 0,2. Pada nilai pH diperoleh beberapa nilai yang sama. Pada nilai total asam diperoleh nilai yang berbeda. Nilai rata-rata derajat keasaman dan total asam laktat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Total BAL pada media yang ditambahkan bubuk ekstrak daun cincau hijau dan keasaman media setelah di inkubasi selama 9 jam

Media ^{a)}	Total BAL (x10 ⁸ cfu/ml) ± SD	Total Asam (%) ± SD	pH ± SD
Yp	8,24 ± 7,86	2,02 ± 0,56	5,20 ± 0,00
G-Yp	61,70 ± 32,00	4,64 ± 0,29	3,70 ± 0,10
Edc-Yp 0,1	5,25 ± 4,03	2,43 ± 0,01	5,10 ± 0,10
Edc-Yp 0,2	30,20 ± 12,40	2,22 ± 0,29	5,10 ± 0,10
Edc-Yp 0,3	21,10 ± 3,50	2,65 ± 0,28	5,00 ± 0,10
Edc-Yp 0,4	20,20 ± 6,93	2,43 ± 0,01	5,00 ± 0,10
Edc-Yp 0,5	12,60 ± 5,70	2,83 ± 0,01	5,00 ± 0,10

^{a)}Yp : Yeast Pepton ; G-Yp : Glukosa Yeast Pepton ; Edc-Yp 0,1; Edc-Yp 0,2 ; Edc-Yp 0,3; Edc-Yp 0,4 ; Edc-Yp 0,5 : Yeast Pepton ditambah 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5% ekstrak daun cincau hijau.

Tabel 1. menunjukkan bahwa pada media penambahan bubuk ekstrak daun cincau hijau diperoleh beberapa nilai pH yang sama. Pada Edc-Yp 0,1% nilai pH diperoleh sebesar 5,1 pada Edc-Yp 0,2% nilai pH diperoleh sebesar 5,1 pada Edc-Yp 0,3% nilai pH diperoleh sebesar 5, Edc-Yp 0,4% nilai pH diperoleh sebesar 5, pada Edc-Yp 0,5% nilai pH diperoleh sebesar 5. Nilai pH yang diperoleh pada media Edc-YP disebabkan oleh pembentukan asam laktat dan asam lemak rantai pendek sebagai metabolit yang dihasilkan selama proses fermentasi. Akumulasi asam laktat dan asam lemak rantai pendek yang dihasilkan dari proses fermentasi menyebabkan nilai pH menjadi rendah (Murhadi *et al.*, 2009). Hal ini disebabkan pektin merupakan komponen penyusun utama dari cincau, dan pektin pada cincau merupakan senyawa pektin yang memiliki derajat metilasi yang rendah (Artha, 2001).

Pektin yang memiliki derajat metilasi yang tinggi akan sulit mengalami proses depolimerisasi menjadi senyawa yang lebih sederhana (Dongowski *et al.*, 2002). Selama proses fermentasi terjadi, proses depolimerisasi senyawa pektin akan menghasilkan molekul-molekul hidrogen. Molekul-molekul hidrogen bebas ini kemudian akan berikatan satu sama

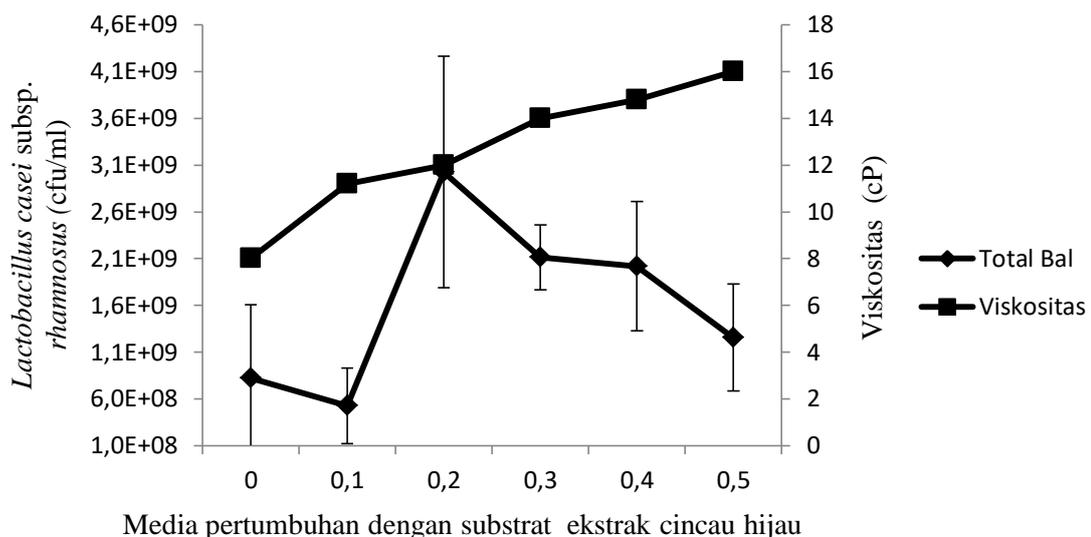
lain. Akumulasi dari molekul hidrogen ini akan memberikan kontribusi langsung pada nilai pH substrat yang berupa senyawa pektin setelah proses fermentasi berlangsung. Semakin baik proses fermentasi substrat berlangsung, maka molekul hidrogen yang dihasilkan akan semakin besar dan pH substrat hasil fermentasi akan semakin rendah (Gulfi *et al.*, 2004).

Asam-asam organik yang dihasilkan karena metabolisme BAL akan menyebabkan pH menjadi rendah. Derajat keasaman (pH) mempunyai korelasi dengan total asam, pH yang rendah menunjukkan jumlah asam yang meningkat begitu juga sebaliknya (Supriyono, 2008).

Media dengan penambahan glukosa, diperoleh nilai pH terendah hal ini dikarenakan kandungan glukosa yang ditambahkan. Glukosa merupakan substrat yang dapat digunakan oleh seluruh bakteri asam laktat dalam proses fermentasi (Daulay, 1991). Hal ini yang menyebabkan fermentabilitas glukosa tergolong tinggi. Semakin banyak sumber gula yang dapat dimetabolisir maka semakin banyak pula asam-asam organik yang dihasilkan sehingga secara otomatis pH juga akan semakin rendah (Jannah *et al.*, 2014).

Stimulasi Pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* tertinggi diperoleh pada penambahan bubuk ekstrak daun cincau hijau sebanyak 0,2 g. Nilai pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Total *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* setelah ditumbuhkan selama 9 jam pada media yang disubstitusi cincau hijau dan viskositas awal media.

Pada perlakuan penambahan bubuk ekstrak daun cincau hijau, konsentrasi 0,1% diperoleh pertumbuhan bakteri asam laktat terendah, hal ini mungkin dikarenakan kurangnya penambahan konsentrasi bubuk ekstrak daun cincau hijau sehingga pertumbuhan bakteri asam laktat kurang maksimal. Pada konsentrasi 0,2% diperoleh pertumbuhan bakteri asam laktat yang tertinggi, hal ini mungkin dikarenakan kandungan nutrisi yang ada cukup baik dan konsentrasi penambahan bubuk ekstrak daun cincau hijau yang tepat. Pada konsentrasi penambahan 0,3%, 0,4%, 0,5% pertumbuhan bakteri asam laktat menurun, hal ini dipengaruhi oleh kandungan bubuk ekstrak daun cincau hijau yang terlalu banyak sehingga media yang terbentuk mulai mengental, proses pengentalan media yang terjadi diduga mengisolasi keberadaan bakteri asam laktat, sehingga bakteri yang tumbuh terperangkap di dalam gel. Pengentalan yang terjadi dijelaskan dengan nilai viskositas media Edc-YP yang semakin naik sesuai dengan kurva pada Gambar 2. Pengentalan yang terjadi memicu pertumbuhan bakteri yang berbeda, hal ini mungkin dikarenakan banyak bakteri yang tumbuh pada bagian yang mengental karena kandungan pektin yang lebih banyak.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Dongowski *et al.* (2000) menyimpulkan bahwa, pektin yang bermetoksi rendah mudah mengalami degradasi menjadi senyawa oligogalakturonat oleh aktifitas enzim pektat liase pada sistem pencernaan. Bakteri asam laktat memiliki kemampuan untuk mendegradasi senyawa poligalakturonat dengan baik karena memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim pektat liase dalam jumlah besar. Struktur pektin ini akan mengalami proses depolimerisasi oleh enzim menjadi bentuk monomer yang lebih sederhana. Proses depolimerisasi ini akan menghasilkan senyawa-senyawa asam galakturonat yang akan difermentasi lebih lanjut oleh mikroflora usus (bakteri asam laktat) dan akan mengalami transformasi menjadi asam lemak rantai pendek yang berupa asam butirat dan propionat yang akan menjadi substrat bagi sel inang mikroflora usus, sehingga bakteri asam laktat dapat tumbuh dengan baik (Murhadi. *et al.*, 2009).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa bubuk ekstrak daun cincau hijau (*Premna oblongifolia*, Merr.) dapat menstimulasi pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*. Konsentrasi bubuk ekstrak daun cincau hijau (*Premna oblongifolia*, Merr.) terbaik yaitu pada konsentrasi 0,2%.

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, perlu dilakukan analisis asam lemak rantai pendek pada media fermentasi dan dilakukan penelitian tentang pertumbuhan *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* secara *invivo* sehingga dapat dibandingkan hasilnya dengan secara *invitro*.

DAFTAR FUSTAKA

- AOAC. 1995. Official Methods of Analisis Chemist. Vol. 1A. AOAC Inc., Washington.
- Artha, N. 2001. Isolasi dan Karakterisasi Sifat Fungsional Komponen Pembentuk Gel Daun Cincau (*Cyclea barbata* L. Miers). Disertasi. Tidak dipublikasikan. IPB. Bogor.
- Astuti, N.K.W. 2015. Pengaruh Suhu dan Lama Distilasi terhadap Rendemen dan Karakteristik Cuka Fermentasi dari Cairan Pulpa Hasil Samping Fermentasi Biji Kakao. Skripsi. Tidak Dipublikasikan. Universitas Udayana.
- Daulay, D. 1991. Fermentasi Asam Laktat Dalam Pengolahan Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Dongowski, G., A. Lorenz, H. Anger. 2000. Degradation of Pectin with Different Degrees of Esterification by Bacteroides thetaiotaomicron Isolated from Human Gut Flora. Applied and Environmental Microbiology. 66:1321-1327
- Dongowski, G.A., Lorenz., and Proll. 2002. The degree of methylation influence the degradation of pectin in the intestinal tract of rats and *in vitro*. Journal of Nutrient Metabolism. 1935-1944.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Fuller, R. and Gibson, G.R., 1998. Probiotics and prebiotics: microflora management for improved gut health. Clinical Microbiology and Infection. 4: 477- 480.
- Gallaher, D. 2000. Dietary Fiber and Its Physiological Effect In Essential Of Functional Food. Schmidl, M.K, T.P. (Eds). An Aspen Publication. Maryland. 273-292
- Gulfi, M., Arrigoni and Armando, R.E. 2004. Influence of structure on *in vitro* fermentability of commercial pectin and partially hydrolysed pectin preparation. Journal Carbohydrate Polimers. 56: 247-255.
- Jannah, A.M., Legowo, A.M., Pramono, Y.B., Al- Baarri, A.N., Abduh, S.B.M. 2014. Total bakteri asam laktat, pH, citarasa dan kesukaan yogurt drink dengan penambahan ekstrak buah belimbing. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 3(2):7-11.
- Krisnawati, R. 2004. Pengaruh konsentrasi asam sitrat terhadap rendemen sifat serat pangan dari daun cincau pohon (*Premna oblongifolia* Merr) Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Murdianto, W., Marseno, D.W., Haryadi. 2005. Sifat Fisik dan Mekanik Edible film Eksrak Daun Janggolan. Jurnal Agrosains, 18(3).

- Murhadi., Nurdin, S.U., Aprizal, D., and Maryanti. 2009. Pengaruh penambahan ekstrak cincau pohon (*Premna oblongifolia* Merr.) pada pakan terhadap kandungan bakteri asam laktat *digesta* dan efek laksatifnya pada tikus percobaan. Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian. 14(2):129-141.
- Supriyono, T. 2008. Pengaruh jumlah starter (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Candida kefir*) dan konsentrasi glukosa terhadap aktivitas merentas radikal bebas, kadar beta karoten dan total polifenol kefir susu kacang hijau (*Vigna Radiata*). Tesis. Magister Gizi Masyarakat Universitas Diponegoro.
- Wildan, A. 2009. Prosedur analisis viscosity menggunakan viscometer. <http://www.sampling-analisis.com/2016/04/prosedur-analisis-viscosity-denganviscometer.html#.WbbSEzVLfMw>. (Diakses 11 September 2017).
- Wu, H., Dwiyer, K.M., Fan, Z., Shircore, A., Fan, J., and Dwiyer, J.H. 2003. Dietary fibre and progression of atherosclerosis study. American Journal of Clinical Nutrition. 78:1085 – 1091.
- Yuliana. 2008. Kinetika pertumbuhan bakteri asam laktat isolat T5 yang berasal dari tempoyak. Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian. 73:2.
- Zainuddin, A., Wasito, E.B., Puspaningsih, N.N.T. 2008. Pengujian in vitro xilooligosakarida sebagai kandidat prebiotik. Berk.Penel.Hayati. 14:101-111.
- Zubaidah, E., Martati, E. and Resmanto, A.M. 2014. Pertumbuhan isolat bal asal bekatul dan probiotik komersial (*Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus casei*) pada media bekatul dan susu skim. Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia. 1(1):36-46.