

**PEMBUATAN MINUMAN FERMENTASI SARI BUAH PALA (*Myristica fragrans*
Houtt) DENGAN ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus casei***

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai
derajat Sarjana S-1 pada Program Studi Biologi



**Disusun oleh :
Ma'ad Zulkifli
16640004**

**STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA**

**PROGAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
YOGAKARTA
2022**



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

Jl. Marsda Adisucipto Telp. (0274) 540971 Fax. (0274) 519739 Yogyakarta 55281

PENGESAHAN TUGAS AKHIR

Nomor : B-1847/Un.02//PP.00.9/08/2022

Tugas Akhir dengan judul : PEMBUATAN MINUMAN FERMENTASI SARI BUAH PALA (*Myristica fragrans* Houtt) DENGAN ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus casei*

yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Nama : MA'AD ZULKIFLI
Nomor Induk Mahasiswa : 16640004
Telah diujikan pada : Jumat, 22 Juli 2022
Nilai ujian Tugas Akhir : A-

dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

TIM UJIAN TUGAS AKHIR



Valid ID: 6304445c74462

Ketua Sidang

Dr. Arifah Khusnuryani, S.Si., M.Si.
SIGNED



Valid ID: 62f4632d2bea9

Penguji I
Agessty Ika Nurlita, M.Si.
SIGNED



Valid ID: 630331640ff07

Penguji II
Jumailatus Solihah, S.Si., M.Si.
SIGNED



Valid ID: 63047dd913381

Yogyakarta, 22 Juli 2022
UIN Sunan Kalijaga
Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si.
SIGNED

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Ma'ad Zulkifli

NIM : 16640028

Program Studi : Biologi

Menyatakan dengan sesungguhnya skripsi saya ini adalah asli hasil karya atau penelitian penulis sendiri dan bukan plagiasi dari hasil karya orang lain kecuali pada bagian yang dirujuki sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya agar dapat diketahui oleh anggota dewan penguji.

Yogyakarta, 05 Juli 2022

Yang menandatangani



Ma'ad Zulkifli

NIM. 16640004

SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir
Lamp : -

Kepada
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Ma'ad Zulkifli
NIM : 16640004
Judul Skripsi : Pembuatan minuman fermentasi sari buah pala (*Myristica fragans Houtt*) dengan isolat bakteri asam laktat *Lactobacillus casei*

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Biologi.

Dengan ini kami berharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 05 Juli 2022

Pembimbing,



Dr. Arifah Khusnuryani, S.Si., M.Si.

NIP. 19750515 200003 2 001

PEMBUATAN MINUMAN FERMENTASI SARI BUAH PALA (*Myristica fragrans* Houtt) DENGAN ISOLAT BAKTERI ASAM LAKTAT *Lactobacillus casei*

**Ma'ad Zulkifli
16640004**

ABSTRAK

Meningkatnya produksi pala menyebabkan limbah daging buah pala menjadi meningkat. Daging buah pala memiliki nilai ekonomi yang lebih rendah dibandingkan dengan biji dan salut fulinya, oleh karena itu perlu adanya alternatif pemanfaatan limbah daging buah pala. Penelitian bertujuan untuk mengetahui konsentrasi dan masa inkubasi ideal dalam pembuatan minuman fermentasi sari buah pala. Konsentrasi bakteri *Lactobacillus casei* diinokulasikan sebanyak 2%, 4% dan 6% ke dalam sari buah pala kemudian diinkubasi selama 16 jam, 18 jam dan 20 jam. Selanjutnya dilakukan analisis pH, konsentrasi asam laktat, konsentrasi bakteri asam laktat dan uji organoleptik dengan 25 panelis. Hasil dari penelitian menunjukkan semua perlakuan memiliki nilai pH awal dan akhir yang sama, yaitu pH 3 dan 4. Konsentrasi asam tertinggi pada perlakuan K2 I3 (konsentrasi starter 2% masa inkubasi 20 jam) sebesar 1,851% dan konsentrasi total asam terendah pada perlakuan K1 (konsentrasi starter 0% 20 jam) sebesar 1,442%. Bakteri asam laktat tertinggi pada perlakuan K4 I2 (konsentrasi starter 6% masa inkubasi 18 jam) sebanyak $83,3 \times 10^8$ CFU/mL. Para panelis cenderung menyukai perlakuan K3 I2 (konsentrasi starter 4% masa inkubasi 18 jam) baik dari segi rasa, aroma, warna dan tekstur. Kesimpulannya, masa inkubasi yang ideal untuk membuat minuman fermentasi saribuah pala adalah K3 I2 dan K4 I2.

Kata kunci: buah pala, fermentasi, *Lactobacillus casei*.

STATE ISLAMIC UNIVERSITY
SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA

HALAMAN MOTO

Segala sesuatu pasti berlalu

Semua hanya soal waktu

Teruslah hidup, sekecil apapun manfaatmu

Sampai tiba waktunya engkau dipanggil



HALAMAN PERSEMBAHAN

Tugas akhir ini Penulis persembahkan untuk keluarga yang telah memberikan semangat dan motivasi sampai Penulis mampu menyelesaikan skripsi.

Program Studi Biologi yang membantu dalam ilmu dan pengetahuan serta Almamater Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta yang memberi kesempatan kepada Penulis untuk menempuh pendidikan.



KATA PENGANTAR

Shalawat dan salam kepada Baginda Nabi Muhammad SAW sebagai sang pencerah penyempurna ahlak. Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan nikmat kesehatan, kesempatan dan ilmu sehingga skripsi dengan judul Pembuatan Minuman “**Fermentasi Sari Buah Pala (*Mystics fragrans* Houtt) dengan Isolat Bakteri Asam laktat *Lactobacillus casei***” dapat diselesaikan. Skripsi ini untuk memenuhi gelar Sarjana Sains Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.

Penelitian dan penulisan naskah tidak lepas dari dukungan, dorongan dan bantuan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih Penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Dr. Dra. Hj. Khurul Wardati, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
2. Ibu Najda Rifqiyati, S.Si., M.Si selaku Ketua Program Studi Biologi
3. Ibu Dr. Hj. Arifah Khusnuryani, M.Si sebagai pembimbing sekaligus penasehat akademik yang dengan sabar dan tulus membimbing, menasehati serta memberikan arahan.
4. Dosen penguji yang telah memberikan saran-saran perbaikan naskah hasil penelitian.
5. Seluruh Dosen Program Studi Biologi dan Staf Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) Biologi atas bantuan dan dukungannya.
6. Kedua orang tua terkasih, Ayah Zulkifli Husen dan Mamah Zulaiha Kodja atas ketulusan, kegigihan, kesabaran dan doa kepada Penulis.
7. Rekan-rekan mahasiswa Biologi angkatan 2016
8. Seluruh pihak yang berkontribusi yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Untuk itu saran untuk perbaikan sangat Penulis harapkan. Teriring harapan semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat untuk pembaca.

Yogyakarta,..... 2022

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI.....	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN	iii
ABSTRAK.....	iv
HALAMAN MOTTO.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
ABSTRAK.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan	4
D. Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5

A. Tanaman Pala.....	5
B. Bakteri Asam Laktat (BAL).....	7
C. <i>Lactobacillus casei</i>	9
D. Minuman Probiotik	10
E. Fermentasi.....	11
BAB III METODE	12
A. Waktu dan Tempat.....	12
B. Alat dan Bahan.....	12
C. Rancangan Penelitian.....	12
D. Pembuatan stok kultur.....	13
E. Pembuatan starter.....	13
F. Pembuatan sari buah pala.....	13
G. Pembuatan minuman fermentasi laktat sari buah pala.....	13
H. Analisis hasil minuman fermentasi sari buah pala.....	14
1. Pengukuran pH.....	14
2. Pengujian total asam	14
3. Analisis total BAL	14
4. Uji Organoleptik	15
I. Analisis data.....	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	16
A. Nilai pH Hasil Minuman Fermentasi Sari Buah Pala	16
B. Total asam hasil minuman fermentasi sari buah pala	20
C. Total bakteri asam laktat	22
D. Uji Organoleptik	25

1. Aroma	26
2. Warna.....	26
3. Tekstur	26
4. Rasa	27
BAB V PENUTUP	28
A. Kesimpulan	28
B. Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kombinasi perlakuan minuman fermentasi sari buah pala.....	13
Tabel 2. Nilai pH hasil minuman fermentasi sari buah pala dengan perlakuan variasi masa inkubasi dan konsentrasi starter.....	18
Tabel 3. Nilai pH minuman fermentasi sari buah pala.	22



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. a) buah pala, b) daging buah pala	6
Gambar 2. a) fuli/salut biji pala, b) biji pala	6
Gambar 3. Morfologi sel <i>Lactobacillus casei</i> (Burrows, 1995)	9
Gambar 4. Total asam pada minuman fermentasi sari buah pala dengan perlakuan variasi masa inkubasi dan konsentrasi starter	20
Gambar 5. Hasil uji organoleptik terhadap produk minuman fermentasi sari buah pala	23
Gambar 6. Minuman sari buah pala sebelum difermentasi	26
Gambar 7. Hasil minuman fermentasi sari buah pala	27

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt) merupakan tanaman asli Indonesia yang berasal dari Maluku. Tanaman ini tumbuh dengan sangat baik pada iklim tropis seperti di Indonesia dan memiliki umur yang panjang hingga lebih dari 100 tahun. Indonesia termasuk produsen utama pemasok pala terbesar di dunia, yaitu berkisar antara 70-75% dengan daerah penghasil utama pala ialah Kepulauan Maluku, Sulawesi Utara, Sumatra Barat, Nanggroe Aceh Darusalam, Jawa Barat dan Papua (Kakomole, 2012).

Pala merupakan tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan memiliki banyak manfaat. Biji, fuli (salut biji), dan daging buah merupakan bagian yang sering dimanfaatkan. Biji dan fuli juga merupakan komoditas ekspor besar yang sering dimanfaatkan dalam berbagai industri makanan dan minuman. Minyak pala yang dihasilkan dari biji dan fuli juga dimanfaatkan untuk kosmetik. Daging buah pala dimanfaatkan untuk industri makanan seperti manisan, sirup dan jeli.

Berdasarkan data Direktorat Jendral Pertanian, peningkatan ekspor pala pada tahun 1980 sebesar 7,84 ribu ton dan terus mengalami peningkatan sampai pada tahun 2015 yaitu sebesar 17,02 ribu ton. Tingginya pemanfaatan dan ekspor biji serta fuli pala menyebabkan produksi limbah daging buah pala menjadi meningkat. Daging buah pala kurang dapat perhatian karena belum mempunyai arti ekonomi dibandingkan dengan biji dan fulinya (Astuti, 2003), padahal daging buah pala merupakan komponen terbesar (77,9%), dibandingkan dengan fuli (5,1%) dan biji pala (17%) (Alegantina dan Mutiatikum, 2009). Produk yang dihasilkan dari daging buah pala belum maksimal karena minimnya penelitian

yang memaksimalkan kegunaan dan manfaat daging buah pala baik dari segi diversifikasi produk maupun nilai gizinya.

Dalam perkembangan teknologi di era yang modern ini banyak penelitian yang memanfaatkan mikroorganisme untuk kebutuhan industri, kesehatan, maupun lingkungan. Mikroorganisme dimanfaatkan dalam bidang industri untuk membuat makanan dan minuman fermentasi serta untuk membuat minuman probiotik. Produk-produk yang dihasilkan dengan memanfaatkan mikroorganisme banyak diminati dan memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Contoh minuman fermentasi yang banyak diminati ialah susu fermentasi. Menurut data *Top Brand Index* tahun 2012-2016, susu fermentasi dalam kemasan menempati peringkat satu. Hal ini menunjukkan bahwa minuman fermentasi bernilai ekonomi tinggi dan banyak diminati. Selain itu, produk minuman dari sari buah-buahan yang difermentasikan dengan mencampurkan bakteri asam laktat semakin banyak diminati masyarakat. Biasanya produk ini dikenal sebagai minuman asam laktat. Produk minuman tersebut dikembangkan menjadi minuman probiotik yang bermanfaat untuk kesehatan. Banyak penelitian pembuatan minuman probiotik dengan menggunakan buah-buahan sebagai bahan alternatif. Salah satunya penelitian yang dilakukan oleh Setiarto (2018) yaitu membuat minuman probiotik dari sari pepaya sebagai terapi antihiperkolesterolemia. Selain itu, Retnowati (2014) juga membuat minuman probiotik sari buah kurma yang mengandung antioksidan yang tinggi.

Minuman laktat merupakan minuman fermentasi yang dibuat dengan menambahkan starter bakteri asam laktat. Penambahan starter bakteri asam laktat bertujuan agar dapat meningkatkan kualitas minuman fermentasi dan dapat bertahan lama. Beberapa jenis susu fermentasi berasal dari buah-buahan seperti pisang, strawberry, blueberry, dan jeruk, namun hingga saat ini belum terdapat susu fermentasi yang berasal dari daging buah pala.

Buah pala memiliki khasiat sebagai obat diare, kembung serta meningkatkan daya cerna dan selera makan (Astawan, 2008). Ekstrak daging buah pala juga memiliki potensi

anti bakteri terhadap *Escherichia coli* pada konsentrasi minimum sebesar 60% dan maksimum 100% (Arizqiyani 2018). Setiap 100 g daging buah pala mengandung air 20%, protein 7 g, lemak 33 g, serta minyak atsiri dengan komponen utama monoterpen hidrokarbon (61%-88% seperti *pinene*, *beta pinene*, *sabinene*), asam monoterpens (5%-50%), dan aromatik eter (2%-18%) seperti *myristiscin*, *elmicin*, *safrole*) (Nurdjanah, 2007). Kandungan aktif yang terkandung di dalam buah pala adalah mineral, vitamin A, vitamin B, vitamin C, asam folat, ribloflavin, dan niasin (Drazat, 2007). Memperhatikan paparan di atas, maka daging buah pala memiliki peluang untuk dikembangkan menjadi minuman fermentasi yang bermanfaat untuk kesehatan. Pemanfaatan daging buah pala ini juga dapat meningkatkan nilai ekonomi limbah daging buah pala.

Bakteri Asam Laktat yang potensial digunakan dalam pembuatan minuman fermentasi salah satunya yaitu *Lactobacillus casei*. Bakteri *L. casei* merupakan bakteri yang mampu menghasilkan substansi antimikrobia sehingga dapat menekan pertumbuhan bakteri patogen secara *in vitro*, memiliki stabilitas tinggi, aman bagi manusia serta memenuhi syarat agen probiotik yaitu resisten terhadap asam dan empedu (Allen *et al.*, 2011). Lama fermentasi menyebabkan bakteri semakin aktif dan berkembangbiak sehingga kemampuan memecah substrat semakin banyak dan menghasilkan asam laktat yang semakin meningkat (Astawan, 2007). Menurut Ning (1982), lama fermentasi berpengaruh terhadap konsentrasi asam laktat yang dihasilkan, yaitu semakin lama waktu fermentasi maka proses pemanfaatan nutrien oleh bakteri semakin optimal. Dalam penelitian Suharyono (2010), semakin banyak jumlah starter yang diberikan pada produk maka jumlah bakteri yang dapat menghidrolisis karbohidrat menjadi asam laktat semakin banyak. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi starter (konsentrasi bakteri) dan lama fermentasi yang optimal guna mendapatkan minuman asam laktat dari daging buah pala yang sesuai dengan standar produk minuman laktat dengan

karakteristik yang baik sesuai dengan standar mutu total Bakteri Asam Laktat/BAL BSN, 2009) dan standar mutu total asam (BSN, 1992).

B. Rumusan masalah

1. Berapa konsentrasi starter *L. casei* yang terbaik untuk membuat minuman asam laktat dari daging buah pala yang sesuai dengan standar produk?
2. Berapa lama fermentasi yang terbaik untuk mendapatkan minuman asam laktat dari daging buah pala yang sesuai dengan standar produk?

C. Tujuan

Penelitian ini bertujuan :

1. Untuk mengetahui konsentrasi starter *L. casei* yang terbaik untuk membuat minuman asam laktat yang sesuai dengan standar produk
2. Untuk mengetahui lama fermentasi yang terbaik untuk mendapatkan minuman asam laktat dari daging buah pala yang sesuai dengan standar produk.

D. Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan untuk pengembangan lebih lanjut mengenai pemanfaatan daging buah pala baik untuk minuman ataupun makanan. Penelitian ini dilakukan agar dapat menjadikan daging buah pala memiliki nilai ekonomi yang tinggi serta dapat mengurangi limbah daging buah pala.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

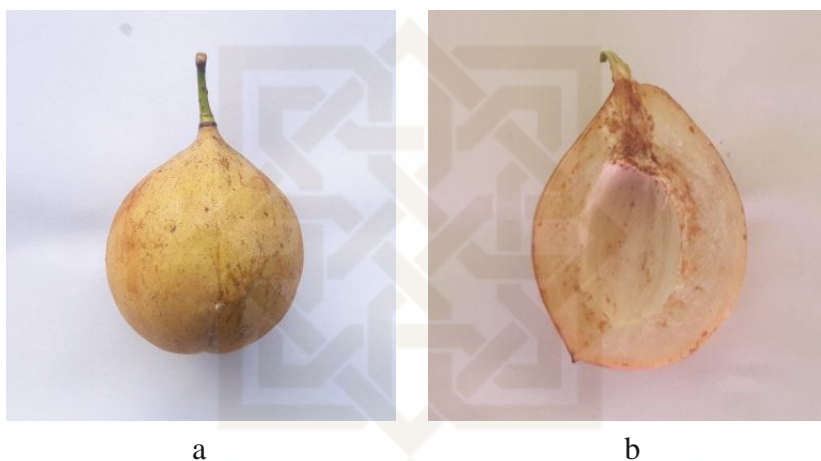
A. Tanaman Pala

Tanaman pala mampu hidup sampai pada umur lebih dari 100 tahun. Tanaman pala dapat tumbuh pada daerah tropis pada ketinggian di bawah 700 meter di atas permukaan laut (mdpl) dengan iklim lembab dan panas serta curah hujan antara 200-3.500 mm dengan tidak mengalami periode kering secara nyata (Nurdjanah, 2007). Tanaman pala dapat mencapai tinggi 18 m, mempunyai bentuk daun bulat telur lonjong. Tanaman ini berumah dua yang artinya dalam satu pohon hanya terdapat satu bunga jantan saja atau betina saja. Rata-rata tanaman pala berbuah pada umur 5-6 tahun dan umumnya produksi buahnya sampai pada umur 60-70 tahun. Tanaman pala sendiri berasal dari Pulau Banda Maluku (Reeve, 2006) namun terdapat juga di beberapa pulau Maluku lainnya.

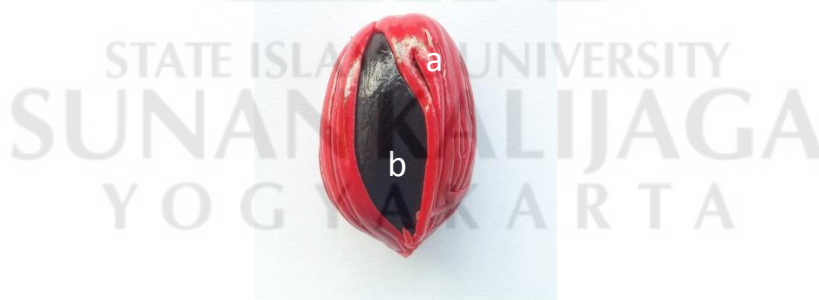
Bunga betina memiliki bentuk malai aksiler dengan satu tangkai bunga terletak pada ketiak daun. Bunga betina biasanya memiliki mahkota yang menyatu ke bagian pangkal dengan braktea terbuka pada bagian atas. Bunga betina berukuran kecil, dengan diameter 2-4 mm, berbentuk lonceng dengan bakal buah berbentuk lonceng juga (Arrijani, 2005). Bunga jantan berdiameter 1-2 mm, memiliki 6-10 kepala sari serta menyatu dengan pangkal berbentuk kolom dan mengerucut pada bagian atas di bagian sisi kepala sari yang berjejer satu sama lain. Mahkota bunga menyatu membentuk kolom (Utami dan Brink, 1999)

Fuli dan biji pala merupakan bagian buah pala yang paling banyak dimanfaatkan di dalam dunia perdagangan sehingga memiliki nilai ekonomi yang tinggi. Biji pada umumnya digunakan pada makanan manis dan sebagai bahan rempah, contohnya bumbu masakan dan produk roti. Fuli digunakan sebagai penambah rasa serta bumbu untuk makanan laut dan minuman (Agoes, 2010)

Tanaman pala merupakan tanaman perkebunan yang memiliki 18 genus dan ± 300 spesies. Indonesia merupakan pusat asal usul beberapa spesies dari Genus *Myristica* (De Guzman dan Siemonsma, 1999) yang memiliki 73 spesies. Spesies utama tanaman pala yang telah dibudidayakan serta diusahakan yaitu *Myristica fragrans* Houtt, karena spesies ini memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Spesies ini tersebar di Maluku dan Maluku Utara (Nurdjanah, 2007).



Gambar 1. a) buah pala, b) daging buah pala
(foto koleksi pribadi)



Gambar 2. a) fuli/salut biji pala, b) biji pala
(foto koleksi pribadi)

Tanaman pala termasuk ke dalam kelas Angiospermae, memiliki dua famili yaitu Myristiceae dan Myristica, yang selanjutnya terbagi menjadi 15 genus dan 250 spesies.

Empat genus di antaranya terdapat di Indonesia (Agoes, 2010). Berikut adalah klasifikasi pala (*Myristica fragrans* Houtt):

Kingdom : Plantae
 Sub Kingdom : Tracheobionta
 Super Divisi : Spermatophyta
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Sub kelas : Magnoliidae
 Ordo : Magnoliales
 Famili : Myristicaceae
 Genus : *Myristica*
 Spesies : *Myristica fragrans* Houtt
 Sumber : Muslihah (2000)

Tanaman ini asli dari Pulau Banda. Memiliki 44 kromosom somatik (2n) yang bersifat holokinetik (Puseglove *et al., 1981*). Seluruh tanaman beraroma khas. Beberapa sifat buah dari spesies ini ialah pada setiap 100 g mengandung 10 g air, 7 g protein, 35 g mentega, 5 g minyak atsiri, 30 g karbohidrat, dan 11 g serat (De Guzman dan Siemonsma, 1999).

B. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan bakteri yang hasil metabolisme utamanya berupa asam laktat. Bakteri ini termasuk ke dalam bakteri Gram positif, utamanya tidak berspora, berbentuk bulat maupun batang, bersifat heterotropik dan anaerob, tidak motil serta produk akhirnya berupa asam laktat dari fermentasi karbohidrat. Bakteri ini umumnya tumbuh pada suhu optimum $\pm 40^{\circ}\text{C}$ dan toleran terhadap kondisi asam serta mampu tumbuh pada pH optimum 5,5 – 6,5, beberapa strain mampu tumbuh pada pH 4,4 (Axelsson, 2004).

Bakteri asam laktat erat kaitannya dengan proses fermentasi pada pangan dan berkembang sampai pada industri pangan fermentasi. Peran BAL diantaranya sebagai starter pada proses fermentasi dengan tujuan memperoleh rasa yang spesifik dan mengawetkan

produk yang diinginkan (Smid dan Gorris, 2007). BAL juga mampu mengontrol pertumbuhan bakteri patogen pada pangan karena mampu menurunkan pH. Sifat khusus BAL mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi serta mampu memfermentasi monosakarida dan disakarida. Beberapa faktor yang mempengaruhi produksi senyawa biosintesis BAL sangat bergantung pada ketersediaan akan vitamin, asam amino, purin dan pirimidin. BAL tidak dapat menggunakan oksigen dalam produksi energinya. BAL aman ditambahkan pada makanan karena jenis bakteri ini termasuk ke dalam golongan *Generally Recognized as Safe (GRAS)* yang tidak bersifat toksin atau patogen atau lebih akrab dengan sebutan "*food grade microorganism*" yang tidak beresiko terhadap makanan (Alkomi, *et al.*, 2010).

BAL terbagi ke dalam 8 genus yaitu *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* dan *Corinebacterium*. Berdasarkan tipe fermentasi, BAL dibedakan menjadi dua yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri homofermentatif menghasilkan asam laktat sebagai produk utama dari fermentasi gula sedangkan bakteri heterofermentatif menghasilkan asam laktat dan senyawa lain yaitu CO₂, etil, asetaldehida dan diasetil serta senyawa lainnya (Fardiaz, 1992).

Lactobacillus merupakan genus terbesar dalam kelompok bakteri asam laktat yang terdiri dari hampir 80 spesies. *Lactobacillus* merupakan Gram positif, tidak menghasilkan spora, umumnya non-motil, anaerob fakultatif, tumbuh pada suhu optimum 25-40 °C, koloni dalam media berukuran 2-3 mm, sedikit transparan, tidak berpigmen, dan metabolisme utamanya berupa asam laktat.

C. *Lactobacillus casei*

Bakteri *Lactobacillus casei* merupakan bakteri asam laktat yang memecah glukosa menjadi asam laktat dan juga menghasilkan produk lain yaitu asam sitrat, malat, suksinat, asetaldehid, diasetil, aseton namun dalam jumlah yang kecil tetapi juga mempengaruhi cita rasa dari minuman fermentasi (Speck, 1978). *L. casei* memiliki sel berbentuk batang pendek dalam koloni tunggal maupun berantai dengan panjang 1,5 - 5,0 μm dan 0,6 - 0,7 μm . Bakteri ini termasuk ke dalam bakteri Gram positif, tidak berflagela, termasuk ke dalam bakteri mesofil yang dapat hidup pada suhu 15 – 41⁰C dan pH 3,5. Kondisi optimum pertumbuhannya yaitu pada suhu 37⁰C dan pH 6,8 (Mutal, 1981). *L. casei* tidak membentuk endospora maupun kapsul dan tumbuh pada kondisi anaerob fakultatif.

Taksonomi *Lactobacillus casei* adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Lactobacillaceae
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Spesies	: <i>Lactobacillus casei</i>

(Hensen and Lessel, 1971)



Gambar 3. Morfologi sel *Lactobacillus casei* (Burrows, 1995)

D. Minuman Probiotik

Minuman probiotik merupakan minuman yang di dalamnya terkandung mikroba hidup dan termasuk dalam minuman fungsional karena mempunyai efek kesehatan. Probiotik dapat mempengaruhi kesehatan dengan menyeimbangkan mikroflora dalam usus serta dapat mencegah dan menyeleksi mikroba yang tidak berfungsi (Primurdia dan Kusnandi, 2014).

Probiotik memiliki manfaat dari segi nutrisi, yaitu dapat membantu meningkatkan produksi vitamin B₆, B₁₂, asam folat, jumlah ketersediaan kalsium, besi, mangan, tembaga, fosfor serta dapat meningkatkan daya cerna protein serta lemak (Thanstha *et al.*, 2012). Manfaat lain dari probiotik yaitu dapat meningkatkan daya tahan terhadap penyakit infeksi saluran pencernaan serta dapat menurunkan resiko terjadinya tumor dan kanker kolon (Roos dan Katan, 2000), menurunkan konsentrasi kolesterol serum darah (Rodas *et al.*, 1996), serta meningkatkan respon imun (Erickson dan Hubbard, 2000).

Jenis bakteri probiotik yang umum digunakan adalah dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Bakteri probiotik mampu hidup dan bertahan di dalam saluran pencernaan serta mampu bertahan pada kondisi asam lambung (Retnowati dan Kusnandi, 2014). Terdapat beberapa kriteria yang harus dipenuhi oleh suatu probiotik. Menurut Salminen *et al.*, (2004) diantaranya yaitu: (1) bersifat nonpatogenik dan mewakili mikrobiota normal pada usus inangnya, serta tahan terhadap asam lambung dan konsentrasi garam empedu, (2) mampu untuk tumbuh dan metabolisme dengan cepat serta dalam jumlah yang tinggi di dalam usus halus, (3) mampu mengkolonisasi beberapa bagian saluran usus inangnya, (4) mampu memproduksi asam-asam organik dengan efisien dan bersifat anti mikroba terhadap bakteri patogen, serta (5) mudah diproduksi, tumbuh dalam sistem skala besar, dan mampu hidup selama kondisi penyimpanan.

E. Fermentasi

Fermentasi merupakan suatu proses bioteknologi dengan memanfaatkan mikroba dalam mengawetkan pangan dengan tidak mengurangi nutrisi pada pangan dan meningkatkan kualitas serta daya tahan dari suatu pangan. Prinsip dasar fermentasi ialah mengaktifkan kegiatan mikroba untuk mengubah sifat bahan agar dapat menghasilkan sesuatu yang bermanfaat. Pada umumnya mikroba yang terlibat dalam fermentasi ialah khamir, bakteri dan kapang. Menurut Bachruddin (2014), dalam melakukan proses fermentasi harus memperhatikan beberapa hal yaitu (1) seleksi mikroba sesuai dengan tujuan, (2) media harus sesuai dengan tujuan, serta (3) sterilisasi semua komponen dan bagian yang penting untuk mencegah kontaminasi.

Hasil dari fermentasi bergantung pada jenis substrat, jenis mikroba, kondisi lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut (Winarno *et al.*, 1980). Lama fermentasi berkaitan dengan pertumbuhan mikroba dari waktu ke waktu selama proses fermentasi (Kunaepah, 2008). Inkubasi yang singkat menyebabkan pertumbuhan mikroba terbatas sehingga komponen substrat yang dapat diubah menjadi massa sel menjadi sedikit. Substrat mengandung nutrisi yang dibutuhkan mikroba untuk tumbuh dan menghasilkan produk fermentasi. Karbohidrat merupakan sumber energi bagi mikroba untuk menghasilkan produk metabolisme. Suhu dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba (Asaminew *et al.* 2011). Hal ini disebabkan karena suhu mempengaruhi kerja enzim laktase (Irigoyen *et al.*, 2015). Nilai dari pH minimum dan maksimum terhadap pertumbuhan bakteri berkaitan dengan aktivitas enzim, apabila pH optimal maka dapat mengganggu kerja enzim (Pelczar *et al.*, 1986). Kemampuan mikroba mengubah bahan organik menjadi molekul-molekul sederhana dan mudah dicerna menghasilkan produk yang memiliki gizi tinggi, mensintesis beberapa vitamin, perubahan aroma dan rasa yang tidak disukai menjadi disukai, serta meningkatkan nilai ekonomi (Aisjah, 1995).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai Mei 2021. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.

B. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, tabung reaksi, erlenmeyer, timbangan digital, pipet ukur, bunsen, ose, pH meter, mikro pipet, *colony counter*, termometer, vorteks.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pala yang didapatkan dari kebun petani di desa Gurabunga Tidore Kepulauan, kultur *L. casei* yang diperoleh dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada, larutan buffer pH 4 dan 7, NaOH, indikator pp, asam oksalat, media *Mann Rogose and Sharpe* (MRS), media *Mann Rogose and Sharpe Broth* (MRS Broth), aquades steril, alkohol 70%.

C. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan ialah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan dua faktor dan tiga kali pengulangan. Faktor yang pertama yaitu konsentrasi starter bakteri dan faktor yang kedua yaitu lama fermentasi. Konsentrasi starter yang digunakan yaitu 2%, 4%, dan 6% (v/v), dengan lama fermentasi 16, 18, dan 20 jam

Tabel 1. Kombinasi perlakuan minuman fermentasi sari buah pala

No	Lama fermentasi (L)	Konsentrasi starter (K)			
		K0 (0%)	K1 (2%)	K2 (4%)	K3 (6%)
	L1 (16 jam)	K0 L1	K1 L1	K2 L1	K3 L1
	L2 (18 jam)	K0 L2	K1 L2	K2 L2	K3 L2
	L3 (20 jam)	K0 L3	K1 L3	K2 L3	K3 L3

D. Pembuatan stok kultur

Bakteri *L.casei* ditumbuhkan pada MRS agar miring steril dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Media MRS merupakan media standar untuk kultivasi bakteri asam laktat dan sesuai juga untuk pertumbuhan dan produksi.

E. Pembuatan starter

Satu ose isolat *L. casei* diinokulasi ke dalam 10 mL media *MRS Broth* steril dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Kemudian diambil masing-masing sebanyak 2% atau 0,2 mL dari *MRS Broth cair* yang berisi kultur lalu dipindahkan ke dalam 8 mL *MRS Broth* steril dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam.

F. Pembuatan sari buah pala

Buah pala dihancurkan menggunakan blender dengan proporsi buah pala:air 1:4 (w/v). Sari buah pala disaring dan dipisahkan dari ampasnya. Selanjutnya dilakukan *blancing* atau pemanasan terhadap sari buah pala selama 5 menit pada suhu 80⁰C, yang bertujuan untuk inaktivasi enzim dan mengurangi mikrobia awal.

G. Pembuatan minuman fermentasi laktat sari buah pala

Sari buah pala yang akan difermentasi adalah 300 mL untuk masing-masing perlakuan. Kombinasi perlakuan yang diberikan pada fermentasi sari pala mengacu pada Primurdia dan Kusnadi (2014). Sari buah pala difermentasi dengan bakteri *L. casei* sebanyak 6 mL (2%), 12 mL (4%), dan 18 mL (6%) lalu masing-masing diinkubasi selama 16 jam, 18 jam, dan 20 jam secara bersamaan pada suhu 37⁰C. Masing-masing perlakuan sama dengan pada tabel 1.

H. Analisis hasil minuman fermentasi sari buah pala

1. Pengukuran pH

Pengukuran pH larutan sampel dengan cara mencelupkan elektroda pH meter ke dalam sampel dan dibiarkan hingga diperoleh pembacaan yang stabil. Pengukuran pH dilakukan dua kali di awal dan akhir masa inkubasi agar mengetahui perubahan yang terjadi sebelum dan setelah diinkubasi.

2. Pengujian total asam

Sampel diambil sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan diencerkan dengan 10 mL air destilasi. Campuran tersebut kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1 N. Untuk meneentukan titik akhir dengan menggunakan indikator fenolftalin. Akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna merah muda yang konstan. Pengujian total asam dilakukan sebanyak dua kali sebelum dan sesudah inkubasi. Total asam yang terbentuk dihitung menggunakan persamaan menurut Hadiwiyoto (1994).

$$\text{Kadar asam} = \frac{V_1 \times N \times B}{V_2 \times 1000} \times 100\%$$

Ket :

V_1 : volume NaOH (mL)

V_2 : volume larutan (mL)

N : normalitas NaOH (0,1)

B : berat molekul asam laktat

3. Analisis total BAL

Sebanyak 1 mL sampel dicampurkan dengan 9 mL larutan pepton steril (pengenceran 10^{-1}). Diambil 1 mL larutan pengenceran 10^{-1} kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisikan 9 mL larutan pepton steril (pengenceran 10^{-2}), begitu seterusnya hingga pengenceran 10^{-10} . Sampel diambil masing-masing 1 mL dari tiga pengenceran terakhir yaitu 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} dan diinokulasi dengan metode *pour plate* menggunakan media MRSA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setiap koloni yang tumbuh dicatat lalu dihitung

Total Plate Count (TPC) dalam 1 mL dengan mengalikan jumlah koloni rata-rata dengan faktor pengenceran yang digunakan dengan satuan *colony forming unit*/mL (Fardias, 1993).

4. Uji Organoleptik

Uji ini dilakukan dengan metode *Hedonik scale* (Skala Hedonik), mengacu pada Suryono *et al.*, (2005). Uji ini meliputi uji warna, aroma, tekstur dan rasa. Skala hedonik ditransformasi ke dalam skala numerik menurut tingkat kesukaan panelis mulai dari angka terkecil hingga angka terbesar. Kriteria penilaian meliputi amat sangat suka, sangat suka, suka, biasa, tidak suka, sangat tidak suka, amat sangat tidak suka dengan skala numerik 1-7. Uji dilakukan pada 25 orang panelis mahasiswa, laki-laki atau perempuan berumur 18-22 tahun dengan kategori mengetahui sifat-sifat sensori dari sampel yang dinilai karena diberi penjelasan (Soekarto, 1985).

I. Analisis data

Analisis data yang digunakan yaitu analisis keragaman ANOVA untuk melihat perbedaan faktor utama perlakuan variasi konsentrasi starter dan masa inkubasi terhadap pembuatan minuman fermentasi sari buah pala.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri asam laktat (BAL) telah banyak digunakan dalam pembuatan minuman fermentasi. Penggunaan BAL dalam pembuatan minuman fermentasi mampu meningkatkan rasa, kandungan gizi serta daya tahan. Dalam meningkatkan kualitas minuman fermentasi juga harus memperhatikan faktor-faktor yang mempengaruhinya. Masa inkubasi dan konsentrasi starter bakteri merupakan faktor penting dalam mendapatkan minuman fermentasi yang baik. Menurut Buckle (1985), selain suhu, air, pH dan oksigen, waktu merupakan variabel yang berkaitan dengan proses pertumbuhan mikroba selama proses fermentasi berlangsung sehingga berpengaruh terhadap hasil. Waktu fermentasi yang terlalu singkat menyebabkan pertumbuhan mikroba menjadi kurang maksimal, sedangkan jika terlalu lama akan menghasilkan cita rasa yang terlalu asam dan menurunnya populasi bakteri asam laktat akibat habisnya nutrisi (Yunus *et al.*, 2015). Pada penelitian ini digunakan sari buah pala sebagai substrat pertumbuhan kultur *L. casei*. Perlakuan yang diberikan adalah variasi konsentrasi starter yaitu 2%, 4%, 6% serta masa inkubasi 16, 18, 20 jam. Menurut Afrianti (2013), kualitas minuman fermentasi yang dihasilkan dapat diteentukan berdasarkan pH, suhu, oksigen, dan aktivitas air.

A. Nilai pH Hasil minuman Fermentasi Sari Buah Pala

Berdasarkan data pada Tabel 2, diketahui bahwa pH awal sari buah pala sebelum fermentasi yaitu 3 dan mengalami peningkatan menjadi 4 setelah di fermentasi. Pada kontrol tidak terjadi peningkatan pH.

Tabel 2. Nilai pH minuman fermentasi sari buah pala dengan perlakuan variasi konsentrasi starter dan masa inkubasi

Konsentrasi starter	Masa inkubasi	pH awal	pH akhir
0%	16 jam	3	3
	18 jam	3	3
	20 jam	3	3
2%	16 jam	3	4
	18 jam	3	4
	20 jam	3	4
4%	16 jam	3	4
	18 jam	3	4
	20 jam	3	4
6%	16 jam	3	4
	18 jam	3	4
	20 jam	3	4

Nilai pH minuman fermentasi sari buah pala berdasarkan hasil uji normalitas berdasarkan tabel 2 memiliki nilai *sig.* 0,000. Syarat uji normalitas adalah $P > 0,005$, sehingga tidak bisa dilakukan uji lebih lanjut karena nilai *sig.* pH lebih rendah dari 0,005. Nilai *sig.* hal ini menandakan bahwa data tersebut tidak terdistribusi secara normal disebabkan oleh adanya data outlier.

Berdasarkan Tabel 2 di atas, pH awal sebelum fermentasi rendah. Hal ini dikarenakan buah pala mengandung vitamin C. Kandungan vitamin C dalam 100 g daging buah pala yaitu 22 mg (Sipahelut *et al.*, 2019). Vitamin C atau asam askorbat ($C_6H_8O_6$) tergolong ke dalam asam lemah yang memiliki ion H^+ . Asam adalah zat yang dapat mendonorkan ion bermuatan positif (H^+) (Fessenden dan Fessenden, 1992). Asam lemah hanya mengalami ionisasi sebagian di dalam air sehingga ion H^+ yang terkandung dalam senyawa asam semakin kuat sehingga pH semakin rendah.

Penurunan pH merupakan salah satu akibat dari proses fermentasi yang dilakukan oleh bakteri homofermentatif (Fanworth, 2005). Selama proses fermentasi, BAL merombak

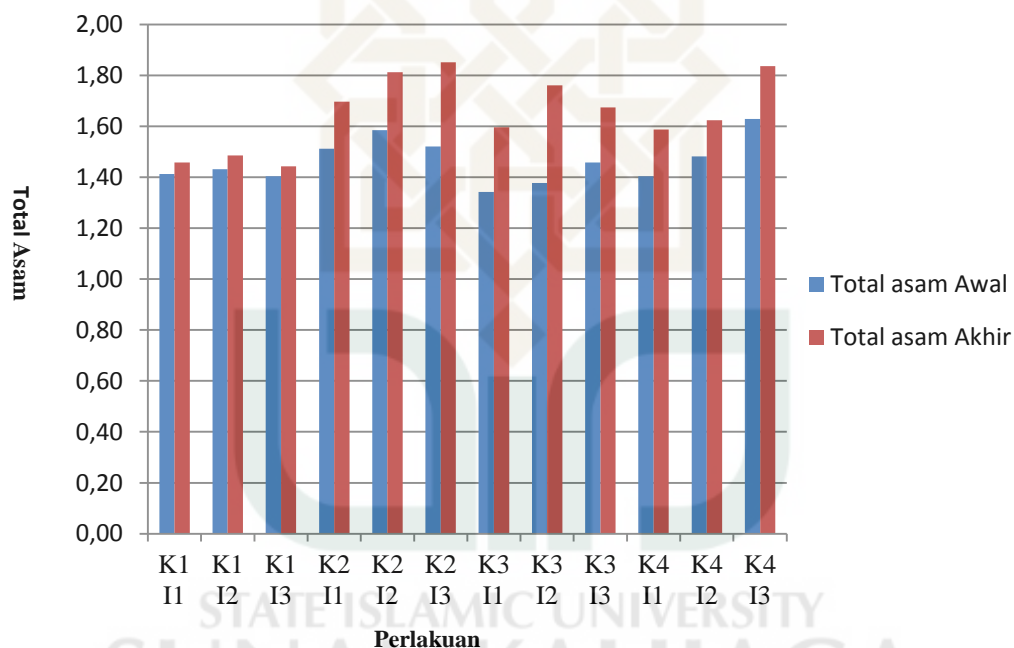
karbohidrat menjadi asam laktat yang menyebabkan terjadinya peningkatan keasaman dan menyebabkan penurunan pH (Hidayat, *et al*, 2013). Menurut Dareda (2020), karbohidrat yang terkandung pada daging buah pala sebesar 81,28% dan serat pangan sebesar 50,28%. Semakin banyak karbohidrat yang tersedia maka hasil akhir asam laktat akan meningkat dan menyebabkan pH menurun.

Suharyono, *et al*, (2012) menyebutkan bahwa ketika pertumbuhan bakteri memasuki fase stasioner menyebabkan penumpukan asam laktat yang dapat mengaktifkan enzim yang menghidrolisis asam laktat menjadi asam lemah seperti asam asetat, propionat dan butirat. Salah satu sifat dari *L. casei* ialah heterofermentatif yang memfermentasi monosakarida menjadi senyawa yang lebih sederhana. Menurut Kusuma, *et al*, (2020) nilai pKa dari asam asetat, propionat dan butirat masing-masing adalah 4,76; 4,82; dan 4,87 sedangkan nilai pKa asam laktat sedikit lebih kuat yaitu 3,85 sehingga terjadi hidrolisis asam laktat menjadi asam lemah, sehingga hal ini menyebabkan pH akhir meningkat dari 3 ke 4. Sementara pada perlakuan kontrol tidak terjadi perubahan pH karena tidak ada aktivitas pertumbuhan bakteri yang mengubah karbohidrat menjadi asam laktat.

Ketika terjadi penumpukan asam laktat maka tingkat keasaman akan meningkat dan menyebabkan terjadinya penurunan pH. Namun ketika ketersediaan nutrisi sudah mulai habis bakteri akan menggunakan asam lemah sebagai nutrisi. Setiarto (2017) menyatakan bahwa pembentukan asam lemah oleh BAL berfungsi sebagai sumber energi ketika nutrisi media sudah berkurang. Pada saat bakteri memasuki fase stasioner dimana nutrisi yang tersedia mulai habis maka asam laktat akan dihidrolisis menjadi asam lemah yang kemudian menyebabkan terjadinya peningkatan pH.

B. Total asam hasil minuman fermentasi sari buah pala

Berdasarkan Gambar 1, dapat dilihat bahwa pada perlakuan variasi konsentrasi starter dan masa inkubasi pada minuman fermentasi sari buah pala menghasilkan total asam di akhir lebih tinggi dibandingkan dengan total asam awal. Sementara itu, total asam di awal dan akhir perlakuan kontrol adalah sama. Total asam pada kesembilan perlakuan variasi konsentrasi starter dan masa inkubasi sudah sesuai standar persyaratan mutu minuman probiotik yang telah ditetapkan BSN (2009) yaitu berkisar antara 0,5% - 2,0%.



Gambar 4. Total asam pada minuman fermentasi sari buah pala dengan perlakuan variasi masa inkubasi dan konsentrasi starter

Keterangan:

K1: Konsentrasi starter 0%

K2: Konsentrasi starter 2%

K3: Konsentrasi starter 4%

K4: Konsentrasi starter 6%

I1: Inkubasi 16 jam

I2: Inkubasi 18 jam

I3: Inkubasi 20 jam

Berdasarkan uji normalitas konsentrasi asam memiliki nilai *sig.* lebih dari 0,005 sehingga dapat dilakukan uji lebih lanjut yang berarti data tersebut terdistribusi secara

normal. Nilai *sig.* normalitas konsentrasi asam berdasarkan gambar 4 sebesar 0,376. Uji anova menunjukkan nilai *sig.*>0,005 yang artinya tidak ada perbedaan asam yang dihasilkan berdasarkan konsentrasi starter dan lama fermentasi serta tidak ada interaksi antara konsentrasi starter dengan lama fermentasi.

Peningkatan total asam menunjukkan bahwa terjadi aktivitas BAL dalam mengubah nutrisi yang terkandung dalam sari buah pala menjadi asam laktat sehingga terjadi peningkatan asam laktat. Primurdia dan Kusnadi (2014) menyatakan bahwa perombakan gula oleh BAL secara maksimal dapat meningkatkan asam laktat dan menyebabkan total asam pada minuman fermentasi meningkat. Yunus *et al*, (2015) juga menyebutkan bahwa semakin lama fermentasi, maka total asam yang dihasilkan semakin tinggi.

Ketersediaan nutrisi yang sedikit pada sari buah pala mengakibatkan perombakan yang dilakukan oleh BAL menjadi tidak maksimal. Selain itu dengan ketersediaan nutrisi yang sedikit dan semakin lama fermentasi akan membentuk asam lemah yang dapat meningkatkan pH. Menurut Suharyono *et al*, (2012) semakin lama fermentasi BAL maka memicu terbentuknya asam lemah seperti asam asetat, asam propionat dan asam butirat. Hal ini dibuktikan dengan terjadinya peningkatan pH di akhir fermentasi. Penelitian yang dilakukan oleh Kusuma (2020) menunjukkan adanya peningkatan asam laktat dari 1,23 % menjadi 1,71 % pada masa inkubasi 18-20 jam, kemudian terjadi penurunan total asam dari 1,71 % menjadi 1,51% pada masa inkubasi 22-26 jam.

C. Total bakteri asam laktat

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui bahwa total BAL minuman fermentasi sari buah pala berbeda pada setiap perlakuan. Total BAL tertinggi terdapat pada perlakuan konsentrasi starter 6% dengan masa inkubasi 18 jam yaitu $83,3 \times 10^8$ CFU/mL, sedangkan total BAL terendah terdapat pada perlakuan konsentrasi starter 2% dengan masa inkubasi 20 jam yaitu $19,3 \times 10^8$ CFU/mL. Sementara pada perlakuan konsentrasi starter 2% dengan masa inkubasi 18 jam menunjukkan bahwa tidak terjadi pertumbuhan bakteri. Hal ini bisa disebabkan oleh media pertumbuhan yang dipanaskan menggunakan *hot plate* terlalu panas. Bakteri *L. casei* hidup pada suhu optimum 37°C .

Tabel 3. Total bakteri asam laktat hasil minuman fermentasi sari buah pala pada berbagai perlakuan konsentrasi starter dan masa inkubasi

Konsentrasi Starter	Waktu Inkubasi	Jumlah sel pada produk fermentasi (CFU/mL)
0%	16 jam	0
	18 jam	0
	20 jam	0
2%	16 jam	$64,3 \times 10^8$
	18 jam	0
	20 jam	$19,3 \times 10^8$
4%	16 jam	82×10^8
	18 jam	$72,3 \times 10^8$
	20 jam	$32,3 \times 10^8$
6%	16 jam	$75,3 \times 10^8$
	18 jam	$83,3 \times 10^8$
	20 jam	26×10^8

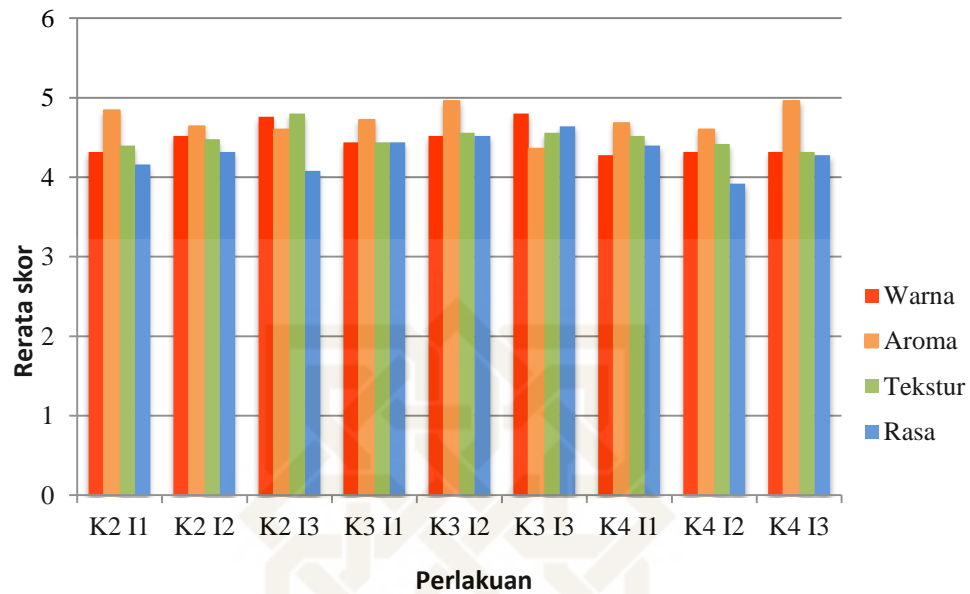
Berdasarkan tabel total bakteri asam laktat nilai *sig.* uji normalitas dan homogenitas berturut-turut yaitu 0,521 dan 0,029. Nilai uji normalitas menunjukkan $P > 0,005$ sementara nilai homogenitas menunjukkan $P < 0,005$ sehingga tidak dapat dilakukan analisis lebih lanjut karena salah satu syarat tidak terpenuhi yaitu nilai homogenitas *sig.* $P < 0,005$.

Berdasarkan tabel 3 di atas, total BAL cenderung mengalami penurunan pada setiap konsentrasi starter namun pada konsentrasi starter 6% terjadi peningkatan pada masa inkubasi

18 jam. Kecenderungan penurunan total BAL diduga karena berkurangnya nutrisi dan kompetisi antar bakteri dalam memperoleh nutrisi. Menurut Miwada *et al*, (2006) dalam pertumbuhan bakteri setelah fase log kemudian fase statis dan fase kematian akibat dari menurunnya sumber-sumber nutrisi. Harun *et al*, (2013) juga menyatakan bahwa BAL akan tumbuh lebih banyak pada kondisi optimum dan sumber energi yang berlebihan, namun jika nutrisi tidak mencukupi akan menyebabkan penurunan jumlah bakteri. Faktor lain yang kemungkinan mempengaruhi jumlah BAL adalah suhu inkubasi (37⁰C) (Haryadi *et al*, 2013). Suhu optimum bakteri *L. casei* berkisar antara 37⁰C (Todar, 2006), sementara inkubasi minuman fermentasi sari buah pala pada penelitian ini dilakukan pada suhu ruang berkisar antar 20⁰-25⁰C. Hal ini dapat mempengaruhi aktivitas mikrobiologis.

D. Uji Organoleptik

Uji organoleptik pada minuman fermentasi sari buah pala dilakukan untuk mengetahui tingkat kesukaan dan penerimaan panelis terhadap produk. Terdapat 12 sampel produk minuman fermentasi sari buah pala dengan konsentrasi starter 2%, 4% dan 6% serta lama fermentasi 16, 18 dan 20 jam. Uji organoleptik meliputi rasa, warna, aroma dan tekstur. Uji ini menggunakan metode *Hedonic Scale* berdasar Suryono, *et al*, (2005). Skala hedonik ditransformasikan ke dalam skala numerik menurut tingkat kesukaan panelis mulai dari angka terkecil sampai angka terbesar (1-7= amat sangat tidak suka-amat sangat suka)



Gambar 5. Hasil uji organoleptik terhadap produk minuman fermentasi sari buah pala

Keterangan:

Amat sangat tidak suka	: 1
Sangat tidak suka	: 2
Tidak suka	: 3
Biasa saja	: 4
Suka	: 5
Sangat suka	: 6
Amat sangat suka	: 7



Gambar 6. Minuman sari buah pala sebelum difermentasi.



Gambar 7. Hasil minuman fermentasi sari buah pala.

Hasil uji normalitas organoleptik menunjukkan nilai *sig.* 0,820 (data terdistribusi secara normal). Berdasarkan uji anova tidak ada perbedaan hasil berdasarkan konsentrasi starter dan lama fermentasi serta tidak ada interaksi antara keduanya. Hal ini dikarenakan nilai *sig.*>0,005.

Berdasarkan gambar 5 dapat dilihat bahwa tingkat kecenderungan panelis berbeda beda baik dari segi warna, aroma, tekstur dan rasa. Gambar tersebut juga menunjukkan secara umum rata-rata skor untuk warna, aroma, tekstur dan rasa berada di skor 4 yang artinya biasa saja.

Skor rata-rata tertinggi penilaian terhadap warna yaitu pada perlakuan K3 I3 sebesar 4,8 yang berarti tergolong dalam kriteria biasa saja. Warna dari sari buah pala sebelum difermentasi dengan starter bakteri *L. casei* berwarna kuning. Setelah difermentasi dengan starter bakteri *L. casei* warnanya berubah menjadi kuning pucat seperti sari buah pala yang ditambahkan susu. Warna dari minuman fermentasi sari buah buah pala ini mirip dengan

minuman fermentasi buah yang ditambahkan susu. Hal ini mempengaruhi tingkat kesukaan panelis terhadap warna minuman fermentasi sari buah. Warna putih yang dihasilkan disebabkan oleh bakteri *L. casei* yang tumbuh pada sari buah pala sehingga tampak seperti ditambahkan susu.

Rata-rata skor penilaian terhadap aroma minuman fermentasi sari buah pala lebih tinggi dibanding skor terhadap warna, tekstur, dan rasa. Skor rata-rata yang paling tinggi pada penilaian aroma yaitu pada perlakuan K3 I2 dan K4 I3, masing-masing dengan skor 4,96. Hal ini berkaitan dengan buah pala adalah rempah yang sering digunakan sebagai penyedap rasa. Selain itu ciri khas aroma buah pala yang harum dan manis serta memberikan efek hangat yang sangat disukai oleh panelis. Fermentasi sari buah memiliki aroma khas asam yang disebabkan oleh aktivitas bakteri asam laktat dalam keadaan anaerob. Dalam keadaan anaerob glukosa dari sari buah pala diuraikan menjadi asam piruvat yang kemudian diuraikan menjadi asam laktat, asam asetat dan sejumlah bahan organik yang mudah menguap seperti alkohol, asetaldehid, ester dll. Menurut Haryono *et al*, (2018), ester inilah yang menyebabkan perubahan aroma pada sari buah pala.

Minuman fermentasi sari buah pala yang dihasilkan memiliki tekstur cair. Perlakuan K2 I3 mendapat penilaian tertinggi dibanding perlakuan lain, yaitu dengan skor 4,8. Tekstur dari minuman fermentasi sari buah pala lebih cair dibandingkan dengan minuman fermentasi seperti yoghurt. Faktor yang mungkin mempengaruhi tekstur minuman fermentasi sari buah pala ialah kandungan nutrisi yang terbatas pada sari buah pala sehingga jumlah pertumbuhan bakteri asam laktat juga terbatas. Penambahan nutrisi seperti susu dapat meningkatkan kekentalan suatu produk minuman fermentasi karena jumlah pertumbuhan bakteri dan hasil-hasil metabolisme yang dihasilkan menjadi lebih banyak. Salah satu nutrisi yang terkandung di dalam susu adalah laktosa. BAL membutuhkan sumber nutrisi berupa karbohidrat untuk hasil metabolisme dan pertumbuhan yang optimum. Menurut Sunaryanto (2014) kekentalan

produk terbentuk dari metabolisme hasil fermentasi bakteri asam laktat. Metabolit yang dihasilkan dari proses fermentasi oleh BAL *L. casei* berupa asam laktat dan asam-asam rantai pendek seperti asetat, propionat dan butirat. Semakin banyak hasil metabolisme yang dihasilkan maka produk yang dihasilkan semakin kental.

Rata-rata tingkat kesukaan panelis terhadap rasa lebih rendah dibandingkan dengan aroma, warna dan tekstur. Skor tertinggi pada rasa yaitu pada perlakuan K3 I3 sebesar 4,64. Faktor yang mempengaruhi hal tersebut yaitu rasa fermentasi sari buah pala yang asam. Hal ini mungkin disebabkan oleh sari buah pala yang memiliki rasa asam dan juga setelah kemudian difermentasi oleh *L.casei* lebih banyak menghasilkan asam organik seperti asam asetat, propionat dan butirat sehingga menyebabkan rasanya lebih asam. Faktor lainnya adalah tidak ada penambahan susu atau bahan lainnya yang dapat menambah cita rasa minuman hasil minuman fermentasi sari buah pala.

Berdasarkan analisis yang dilakukan diperoleh data pH awal 3 dan akhir 4, total asam tertinggi pada perlakuan K2 I3, total BAL tertinggi pada perlakuan K4 I2 sementara uji hedonik rata-rata aroma memiliki nilai yang tinggi. Dari data tersebut perlakuan yang paling baik adalah perlakuan K3 I3 dan K4 I2.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Konsentrasi starter *L.casei* yang terbaik untuk minuman fermentasi sari buah pala yaitu 4% (perlakuan K3) dan 6% (perlakuan K4) karena pada semua uji yang dilakukan kedua perlakuan tersebut menunjukkan nilai yang tinggi. Masa inkubasi minuman fermentasi sari buah pala yang terbaik yaitu pada masa inkubasi 20 jam (perlakuan I3). Pada masa inkubasi 20 jam terjadi pertumbuhan bakteri yang optimal.

B. Saran

Perlu dilakukan kontrol suhu selama masa inkubasi agar tetap stabil dan sesuai dengan kondisi ideal pertumbuhan bakteri *L. casei*. Diperlukan tambahan nutrisi agar pertumbuhan bakteri optimal, menambah cita rasa dan mengurangi rasa asam pada minuman fermentasi sari buah pala. Hasil uji statistik menunjukkan tidak ada beda nyata antar perlakuan, namun buah pala menunjukkan berpotensi untuk memperoleh perlakuan yang optimal untuk menghasilkan minuman fermentasi buah pala sesuai standar.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, J. (2003). Pemanfaatan Daging Buah Pala (*Mysristica*, sp) Tua melalui Pembuatan Bubuk *Spice Blen*. [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Peertanian Bogor.
- Alegantina, S & D, Mutiatikum. (2009). Pengembangan dan Potensi Pala (*Mysristica fragrans*). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 1(2), 64-70.
- Astawan, M. (2007). *Sehat dengan Buah*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Arrizqiyani, T., Sri, S., & Mila, M. (2018). Aktivitas Antibakteri Daging Buah dan Daun Pala (*Myristica fragrans*) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 4(2), 81-84.
- Allen. (2011). *Probiotics for Treating Acute Infection Diarrhoea*. UK: Jhon Wiley and Sons Ltd
- Aisjah, T. (1995). Biokonversi Limbah Umbi Singkong Menjadi Bahan Pakan Sumber Protein oleh Jamur *Rhizopus* sp serta Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Ayam Pedaging. [Disertasi]. Program Pasca Sarjana UNPAD, Bandung.
- Arrizqiyani T., Sri S., & Mila M. (2018). Aktivitas antibakteri daging buah dan daun pala (*Myristica fragrans*) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Vokasi Kesehatan*. 4(2):81-84
- Arrijani. (2005). Biologi dan Konservasi Marga *Mysristica* di Indonesia. *Biodiversitas*, 6(2), 147-151.
- Agoes, A. (2010). *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Salemba Medika.
- Axelsson, L. (2004). *Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology in Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspect*. Eds by Salminen, S, A von Wright and A Ouwehand. 3rd edition, revised and expanded. Marcel Dekker, Inc. New York
- Alakomi, H. L., Skytta, E., & Saarela, M. (2000). Lactic acid permeabilizes gramnegative bacteria by disrupting the outer membrane. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(5), 2001-2005.
- Bachruddin, Z. (2014). *Teknologi Fermentasi*. Gadjah Muda University Press: Yogyakarta.
- De Guzman, C. C & Siemonsman, B. S. (1999). *Spices Vol 13. Plant Resources of South-East Asia*. Bogor: Prosea Foundation.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. (1981). *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bharata Karya Aksara.
- Drazat. (2007). *Meraup Laba dari Pala*. Jakarta Selatan: Agromedia Pustaka.
- Erickson, K. L. & H. E. Hubbard. (2000). Probiotic Immunomodulation in Health and Disease. *J. Nutr (Suppl)*, 130:403S-409S.
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi Pangan I*. PT. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

- Kakomole, J. B. (2012). *Karakteristik Pengeringan Biji Pala (Myristica fragrans Hout) Menggunakan Alat Pengering Energi Surya Tipe Rak*. Sulawesi: Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Samratulangi.
- Kunaepah, U. (2008). Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. [Tesis]. Universitas Diponegoro Semarang.
- Muslihah, H. (2000). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasi dalam Kesehatan*. . Yogyakarta: Kanisius.
- Mutal, M. (1981). The Properties of Lactobacillus Product "Yakult 80" (Japanes). New Food Industries
- Nurdjannah, N. (2007). *Teknologi Pengolahan Pala*. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian.
- Primurdia, E.G, & J. Kusnadi. (2014). Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik Sari Kurma (*Phoenix dactylifera L*) dengan Isolat *L. plantarum* dan *L. casei*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(3), 98-109.
- Purseglove, J. W., Brown, E. G., Green, S. L., & Robbins, S. R. J. (1981). *Spices*. New York: Longman.
- Ratna, W. A., A. B, Firdaus., & Asnawi, R. (2015). Potensi Pengolahan Daging Buah Pala Menjadi Aneka Produk Olahan Bernilai Ekonomi Tinggi. *Bul. Littro*, 26(2).
- Setiarto, R. H. B. (2018). Produksi Sari Pepaya (*Carica papaya*) Fermentasi Sebagai Minuman Probiotik *Antihypercolesterolemia*. *Jurnal Litbang Industri Volume*, 8(2).
- Roos, N. M & M. B. Katan. (2000). Effect of Probiotic Bacteria on Diarrhea, Lipid Metabolism and Carcinogenesis: A Review of Papers Published between 1998 and 1998. *Am J Clin Nutr.* 71, 405-411
- Retnowati, P. A. & Joni, K. (2014). Pembuatan Minuman Probiotik Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) dengan Isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2), 70-81.
- Reeve, D. (2006). Material Profiles, the Spice Trail: Nutmeg, Origin, Cultivation and Processing. *Naturals*, 31, 48-50.
- Rodas, B. Z., Gilliland, S. E., & Maxwell, C. V. (1996). Hypocholesterolemic Action of *L. acidophilus* ATTC 43121 and Calcium in Swine with Hypercholesterolemia Induced by Diet. *J. Dairy Sci*, 79, 2121-2128.
- Salminen, S., Wright, AV., & Ouwehand A. (2004). *Lactic Acid Bacteria*. New York : Marckel Dekker.
- Smid, E. J. & L. G. M Goris. 2007. *Natural Antimicrobials for Food Preservation*. New York.
- Suryono., Sudono, A., Sudarwanto, M., & Apriyanto, A. (2005). Studi Pengaruh Penggunaan Bifidobacteria terhadap Flavor Yoghurt. *Jurnal Teknologi dan Indutri Pangan*, 16(1).

- Speck, M. L., (1978). *Development in Industrial Microbiology dalalam Rose, A.H., 1982. Economic Micobiologi Fermented Foods. Vol. VII.* London: Academic Press
- Thanstha, M.S., C.I Mamvura., & J. Booyes. (2012). *Probiotic- What They Are, Their Benefits and Challenges.* New Advencesin in the basic and Clinical Gastroenterologu, University of Pretoria 22-36.
- Todar, Kenneth. 2006. *Todar's online textbook of bacteriologi.* University of Winconsin-Madison Departemen of Bacteriology.
- Utami, N.W & Brink, M. (1999). *Myristica Gronoy. Plant Resources of South-East Asia 13,* 139- 143.
- Vavilov, N.I. (1926). *Studies on Origin of Cultivated Plants.* Bull. Appl. Bot. 16(20): 248
Cited by D. Singh. 1993. NBPGR. New Delhi, India: Indian Cancel of Agricultural Research.
- Winarno, F.G., S. Fardiaz., & D, Fardiaz. (1980). *Pengantar Teknologi Pangan.* Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

