

**KARAKTERISTIK PROBIOTIK BERBAGAI JENIS
BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) PADA MINUMAN
FERMENTASI LAKTAT SARI BUAH NANAS**

(Skripsi)

Oleh

ARTHA REGINA TAMBUNAN



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

ABSTRACT

PROBIOTIC CHARACTERISTIC OF LACTIC ACID BACTERIA (LAB) TYPES IN LACTIC FERMENTATION BEVERAGE OF PINEAPPLE JUICE

By

ARTHA REGINA TAMBUNAN

Functional foods, is food that consumed as usual diet, has physiological effect, and can reduce the effect of chronic disease. One of them is probiotic beverages. Probiotic beverages that have been widely known over the time were produced by dairy house. This product could have been expensive due to the cost of raw materials. The alternative raw material such as the use of extracted pineapple juice may reduce the price of the final product. The aim of this research was to study the effects of Lactic Acid Bacteria (LAB) types toward characteristics of the probiotic beverage from pineapple juice, and get the best LAB types that produce the best probiotic characteristics of lactic beverage fermentation from pineapple juice. This research applied explorative method in a single treatment which LAB types *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, and *Streptococcus thermophilus* as an inoculum evaluated. The data obtained were analyzed using Least Significance Difference (LSD) on 1% and 5% degree. The observed reseach were pH value, total lactic acid, total LAB, resistancy

towards acidic pH (2,5) test, and antagonistic activities test against pathogenic bacteria. The result showed that the best strain qualified as probiotics criteria was *Lactobacillus casei*. It was having pH value 3,54; total lactic acid 3,45; and total *Lactobacillus casei* $1,1 \times 10^{10}$ cfu/mL. The log colony difference for the low acid-tolerant pH was 5,67 cfu/mL; and the antagonistic activity towards pathogen bacteria *Bacillus cereus*, *Escherecia coli*, *Staphylococcus aureus* were 13,97; 12,57; and 25,55 mm² respectively.

Keywords : probiotic, antagonistic activity, low acid-tolerant, lactic acid bacteria, pineapple juice beverages

ABSTRAK

KARAKTERISTIK PROBIOTIK BERBAGAI JENIS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) PADA MINUMAN FERMENTASI LAKTAT SARI BUAH NANAS

Oleh

ARTHA REGINA TAMBUNAN

Pangan fungsional, adalah pangan yang dikonsumsi sebagai makanan biasa dan memiliki manfaat fisiologis dan dapat mengurangi penyakit kronis. Salah satu produk pangan fungsional yang banyak dikonsumsi adalah minuman probiotik. Minuman probiotik yang sudah dikenal luas oleh masyarakat selama ini diproduksi dari hasil fermentasi susu sehingga harganya yang mahal. Untuk itu perlu digunakan bahan alternatif misalnya berbahan nabati sebagai bahan baku pembuatan minuman probiotik untuk memperoleh harga yang terjangkau bagi masyarakat, salah satunya adalah nanas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui karakteristik probiotik berbagai jenis BAL yang digunakan pada minuman fermentasi laktat sari buah nanas, serta mendapatkan jenis BAL yang menghasilkan minuman fermentasi laktat sari nanas dengan kriteria probiotik terbaik. Metode penelitian dilakukan dengan perlakuan tunggal yaitu variasi BAL meliputi *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, dan *Streptococcus thermophilus*, dan data dianalisis dengan uji lanjut BNT pada

taraf 1% dan 5%. Pengamatan yang dilakukan meliputi nilai pH, total asam, total BAL, pengujian ketahanan terhadap asam (pH 2,5), dan pengujian aktivitas antibakteri. Kesimpulan dari penelitian ini adalah jenis BAL terbaik yang memenuhi kriteria probiotik yaitu *Lactobacillus casei* dengan nilai pH 3,54; total asam sebesar 3,45; total BAL sebesar $1,1 \times 10^{10}$ log koloni/mL; selisih log ketahanan terhadap asam sebesar 5,67 log koloni/mL; serta nilai aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *Bacillus cereus*, *Escherecia coli*, *Staphylococcus aureus* secara berturut-turut sebesar 13,97; 12,57; 25,55 mm².

Kata kunci : probiotik, aktivitas antibakteri, ketahanan terhadap asam, bakteri asam laktat, sari nanas

**KARAKTERISTIK PROBIOTIK BERBAGAI JENIS BAKTERI ASAM
LAKTAT (BAL) PADA MINUMAN FERMENTASI LAKTAT
SARI BUAH NANAS**

Oleh

Artha Regina Tambunan

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN

Pada

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

Judul Skripsi : **KARAKTERISTIK PROBIOTIK BERBAGAI
JENIS BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL)
PADA MINUMAN FERMENTASI LAKTAT
SARI BUAH NANAS**

Nama Mahasiswa : **Artha Regina Tambunan**

Nomor Pokok Mahasiswa : **1114051010**

Jurusan : **Teknologi Hasil Pertanian**

Fakultas : **Pertanian**

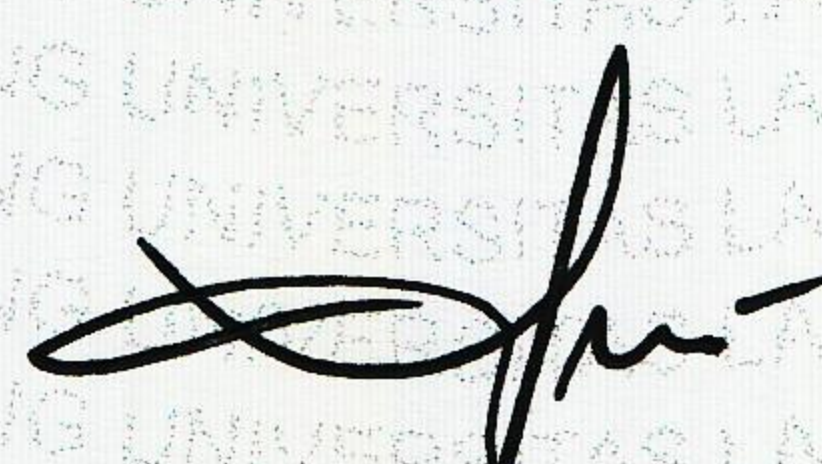
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


Ir. Samsul Rizal, M.Si.
NIP 19690225/199403 1 002


Dr. Dra. Maria Erna K., M.Sc.
NIP 19611129 198703 2 002

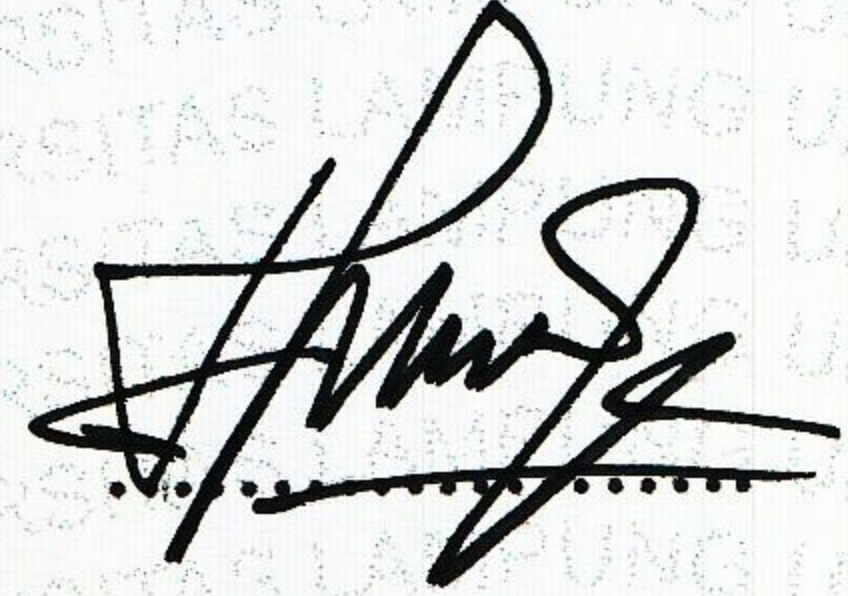
2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian


Ir. Susilawati, M.S.
NIP 19610806 198702 2 001

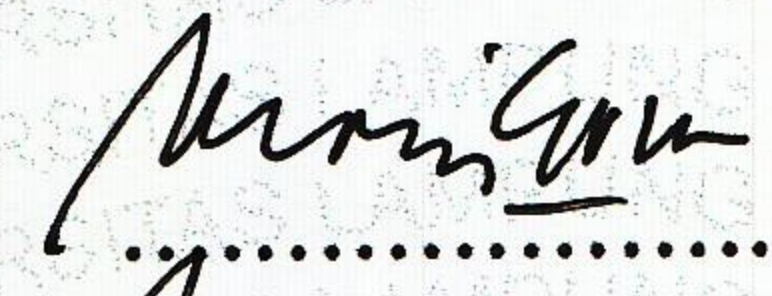
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

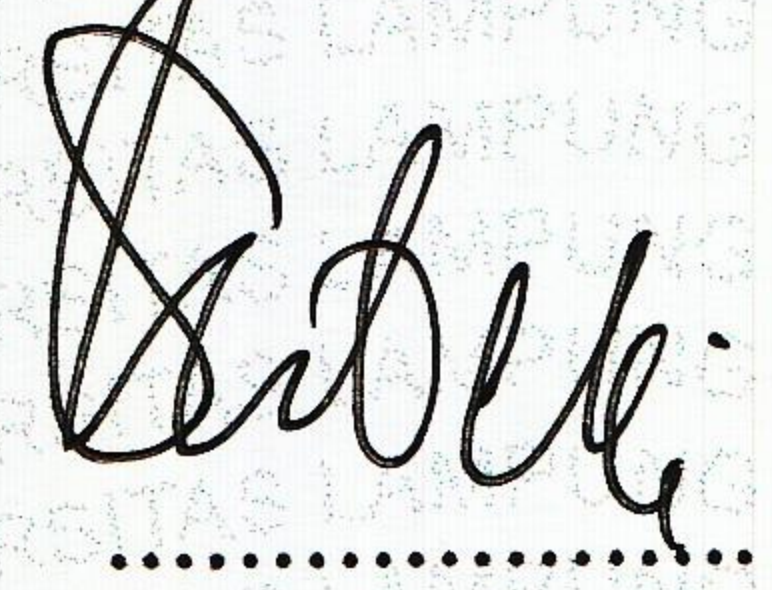
Ketua : **Ir. Samsul Rizal, M.Si.**



Sekretaris : **Dr. Dra. Maria Erna K., M.Sc.**



Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc.**

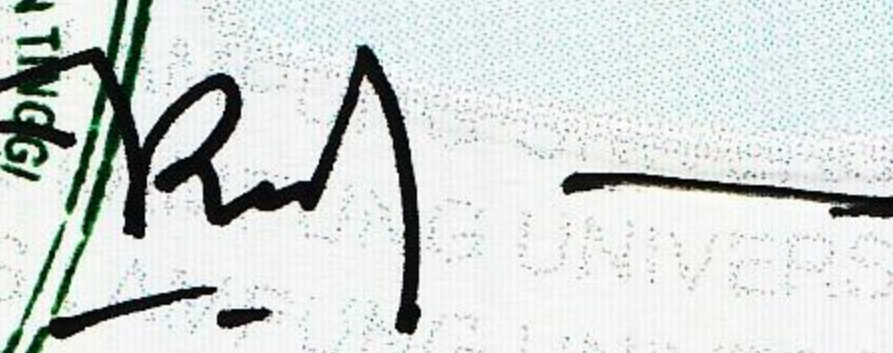


2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP 19611020 198603 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **26 Januari 2016**

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Artha Regina Tambunan NPM 1114051010

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukanlah hasil dari plagiat karya orang lain.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandarlampung, 26 Januari 2016

Yang membuat pernyataan



Artha Regina Tambunan
NPM. 1114051010

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandarlampung, pada tanggal 18 Juni 1993, sebagai anak pertama dari empat bersaudara pasangan Bapak T. Tambunan dan Ibu R. Purba. Penulis menyelesaikan pendidikan di TK Xaverius 2 Rawa Laut 2 pada tahun 1999, SD Xaverius Way Halim pada tahun 2005, SMP Fransiskus Tanjung Karang pada tahun 2008, SMA Immanuel Bandar Lampung pada tahun 2011. Pada tahun 2011 penulis terdaftar sebagai mahasiswa jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Mahasiswa Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama kuliah penulis merupakan anggota penuh himpunan kemahasiswaan HMJ THP FP Unila, dan penulis juga pernah menjadi anggota Bidang 4 (Dana dan Usaha) HMJ THP pada periode 2013-2014. Selama masa perkuliahan, penulis juga melaksanakan kegiatan Praktik Umum di PT. Indofood Sukses Makmur Bogasari Flour Mills dengan judul “Mempelajari Produksi Berbagai Jenis Produk Pasta Di PT. Indofood Sukses Makmur Tbk. Bogasari Flour Mills Divisi Pasta Jakarta Utara” pada tahun 2014. Lalu pada tahun 2015, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Kota Dewa, Kecamatan Bahuga, Kabupaten Way Kanan dengan tema “Pemberdayaan Masyarakat dan Peningkatan Kapasitas Pemerintahan Kampung”.

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini yang berjudul **“Karakteristik Probiotik Berbagai Jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) pada Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas”**.

Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Bapak Ir. Samsul Rizal, M.Si. selaku pembimbing utama skripsi ini sekaligus sebagai pembimbing akademik penulis. Terima kasih atas bimbingan, kesabaran, saran, pengarahan, serta motivasi yang telah diberikan hingga skripsi ini selesai.
2. Ibu Dra. Maria Erna K., M.Sc., P.hd. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan, masukan, saran, serta motivasi kepada penulis.
3. Bapak Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc., selaku penguji yang telah memberikan saran-saran untuk kemajuan penulisan skripsi.
4. Ibu Ir. Susilawati, M.Si., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian yang telah memberikan bantuan untuk kelancaran dalam proses penyusunan skripsi.

5. Segenap Bapak/Ibu Dosen THP FP Unila yang telah memberikan ilmu dan wawasan kepada penulis, juga kepada seluruh staf karyawan atas bantuan dan kerjasamanya.
6. Keluarga penulis (Bapak, Mama, serta adik-adikku Pia, Desi) terkasih yang telah memberikan saran, motivasi, dan kasih sayangnya.
7. Sahabat penulis (Anu, Pidong, Pawe, Neri, Pia), teman-teman mikro (Inun, Oci, Marle, Bundo, Nabil, Yoan), serta teman-teman THP 2011, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya selama ini.

Penulis berharap semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas segala kebaikan kalian. Semoga laporan ini bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, Januari 2016

Penulis,

Artha Regina Tambunan

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Kerangka Pemikiran	4
1.4 Hipotesis.....	7
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Nanas (<i>Ananas sativus</i>)	8
2.2 Probiotik	11
2.3 Bakteri Asam Laktat (BAL)	12
2.3.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	14
2.3.2 <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	16
2.3.3 <i>Lactobacillus casei</i>	17
2.3.4 <i>Streptococcus thermophilus</i>	18

2.4	Bakteri Patogen	19
2.4.1	<i>Bacillus cereus</i>	19
2.4.2	<i>Eschereceia coli</i>	20
2.4.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	22
III. BAHAN DAN METODE		24
3.1	Tempat dan Waktu Penelitian	24
3.2	Bahan dan Alat	24
3.3	Metode Penelitian	25
3.4	Pelaksanaan Penelitian	25
3.4.1	Persiapan Starter	25
3.4.2	Pembuatan Sari Buah Nanas	27
3.4.3	Pembuatan Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas	27
3.5	Pengamatan	28
3.5.1	Nilai pH	28
3.5.2	Total Asam	29
3.5.3	Total BAL	29
3.5.4	Pengujian Ketahanan Terhadap Asam (pH 2,5)	30
3.5.5	Pengujian Aktivitas Antibakteri	31
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		32
4.1	Nilai Derajat Keasaman (pH)	32
4.2	Total Asam Laktat	34

4.3	Total Bakteri Asam Laktat	35
4.4	Ketahanan Terhadap Asam	36
4.5	Aktivitas Antibakteri	39
4.6	Penentuan Perlakuan Terbaik	44
V.	KESIMPULAN DAN SARAN	46
	DAFTAR PUSTAKA	47
	LAMPIRAN.....	55

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan zat gizi dalam 100 g buah nanas	10
2. Nilai tengah pH minuman fermentasi laktat sari buah nanas	32
3. Nilai tengah total asam minuman fermentasi laktat sari buah nanas	34
4. Nilai tengah total BAL minuman fermentasi laktat sari buah nanas	35
5. Nilai tengah hasil ketahanan terhadap asam minuman fermentasi laktat sari buah nanas	37
6. Nilai tengah aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari buah nanas terhadap <i>Bacillus cereus</i>	39
7. Nilai tengah aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari buah nanas terhadap <i>Eschereceia coli</i>	40
8. Nilai tengah aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari buah nanas terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	41
9. Diagram perbandingan karakteristik dinding sel bakteri Gram positif dan negatif	43
10. Penentuan Perlakuan Terbaik	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Nanas (<i>Ananas comosus</i> (L) Merr)	9
2. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	14
3. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	16
4. <i>Lactobacillus casei</i>	17
5. <i>Streptococcus thermophilus</i>	18
6. <i>Bacillus cereus</i>	20
7. <i>Eschereceia coli</i>	21
8. <i>Staphylococcus aureus</i>	22
9. Diagram alir pembuatan starter yang telah dimodifikasi	26
10. Diagram alir pembuatan sari buah nanas yang telah dimodifikasi	27
11. Diagram alir pembuatan minuman fermentasi laktat sari buah nanas yang telah dimodifikasi	28
12. Sari buah nanas	62
13. Kultur stok BAL	62
14. Kultur induk	62
15. Kultur antara	63
16. Kultur kerja	63
17. Produk minuman	63

18. Analisis pH	63
19. Analisis total BAL	64
20. Analisis ketahanan terhadap asam	64
21. Analisis aktivitas antibakteri	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data pH minuman fermentasi laktat sari buah nanas.....	55
2. Analisis ragam pH minuman fermentasi laktat sari buah nanas	55
3. Uji BNT pH minuman fermentasi laktat sari buah nanas	55
4. Data total asam laktat minuman fermentasi laktat sari buah nanas (%)	56
5. Analisis ragam total asam laktat minuman fermentasi laktat sari buah nanas	56
6. Uji BNT total asam laktat minuman fermentasi laktat sari buah nanas.....	56
7. Data total Bakteri Asam Laktat (BAL) minuman fermentasi laktat sari buah nanas (log x)	57
8. Analisis ragam total BAL minuman fermentasi laktat sari buah nanas	57
9. Uji BNT total BAL minuman fermentasi laktat sari buah nanas.....	57
10. Data ketahanan terhadap asam minuman fermentasi laktat sari buah nanas (log x)	58
11. Analisis ragam ketahanan terhadap asam minuman fermentasi laktat sari buah nanas	58
12. Uji BNT ketahanan terhadap asam minuman fermentasi laktat sari buah nanas	58
13. Data aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari nanas terhadap bakteri uji <i>Bacillus cereus</i> (mm ²)	59

14. Analisis ragam aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari nanas terhadap bakteri uji <i>Bacillus cereus</i>	59
15. Uji BNT aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari nanas terhadap bakteri uji <i>Bacillus cereus</i>	59
16. Data aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari nanas terhadap bakteri uji <i>Eschericia coli</i> (mm ²)	60
17. Analisis ragam aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari nanas terhadap bakteri uji <i>Eschericia coli</i>	60
18. Uji BNT aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari nanas terhadap bakteri uji <i>Eschericia coli</i>	60
19. Data aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari nanas terhadap bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> (mm ²)	61
20. Analisis ragam aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari nanas terhadap bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>	61
21. Uji BNT aktivitas antibakteri minuman fermentasi laktat sari nanas terhadap bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>	61
22. Foto-foto Penelitian	62

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Saat ini, kebutuhan masyarakat akan pangan semakin lama semakin berkembang seiring dengan perkembangan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi (IPTEK). Pangan tidak hanya sekedar untuk memenuhi rasa kepuasan, meningkatkan status, tapi pangan juga harus memberikan efek kesehatan bagi tubuh. Akibatnya tren produk pangan yang menyehatkan ini semakin berkembang, yang biasa disebut sebagai pangan fungsional. Menurut Health Canada (2004) pangan fungsional adalah pangan yang dikonsumsi sebagai makanan biasa dan memiliki manfaat fisiologi dan dapat mengurangi risiko penyakit kronis.

Salah satu produk pangan fungsional yang banyak dikonsumsi adalah minuman probiotik. Istilah lain dari minuman probiotik adalah minuman fermentasi laktat. Minuman probiotik adalah minuman yang mengandung bakteri seperti bakteri asam laktat (BAL) yang menguntungkan bagi saluran pencernaan karena dapat meningkatkan keseimbangan mikroflora usus dan mampu bertahan hidup dalam keasaman lambung sehingga dapat menempati usus dalam kuantitas yang cukup besar (Wasposito, 1997). Produk probiotik dapat menghambat bakteri patogen dan melakukan metabolisme terhadap laktosa sehingga bermanfaat bagi penderita

intoleransi laktosa (Rusilanti, 2006). BAL yang dapat mencapai saluran pencernaan manusia dalam keadaan hidup adalah *Bifidobacteria* (*B. bifidum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. adolescentis*, dan *B. longum*), beberapa spesies *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. brevis*, dan *L. buchneri*), dan beberapa *Enterococci* (Yuguchi *et al.*, 1992).

Keberadaan bakteri-bakteri tersebut dalam saluran pencernaan penting untuk menjaga keseimbangan ekosistem mikroflora dalam usus. Bakteri-bakteri tersebut menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella sp* (Chin *et al.*, 2000). Pertumbuhan bakteri patogen dapat ditekan oleh bakteri menguntungkan yang terdapat dalam minuman probiotik sehingga dapat menjaga keseimbangan mikroflora dalam usus. Gangguan saluran pencernaan seperti tipes, diare, dan disentri yang merupakan salah satu masalah penyakit yang sering dialami masyarakat Indonesia dapat dicegah dengan mengkonsumsi minuman probiotik ini (Rizal dan Nurainy, 2010).

Minuman probiotik yang sudah dikenal luas oleh masyarakat selama ini diproduksi dari hasil fermentasi susu antara lain *yogurt*, susu asidofilus, *bulgarian milk*, *kefir*, *kumiss*, *piima*, *skyr*, *taetee*, *leben* dari Mesir, *dahi* dari India, *hamao* dari Asia Tengah, *yakult*, dan lain-lain (Vedamuthu, 1982) sehingga harganya yang lebih mahal. Untuk itu perlu digunakan bahan alternatif misalnya berbahan nabati sebagai bahan baku pembuatan minuman probiotik untuk memperoleh harga yang terjangkau bagi masyarakat. Minuman probiotik berbahan dasar nabati yang sudah diteliti di antaranya minuman fermentasi laktat dari susu turi

(Marniza *et al.*, 2007), yoghurt dari sari kulit nanas (Suharyono dan Rizal, 2007; Rizal *et al.*, 2007), dan yoghurt sinbiotik dari ekstrak cincau hijau (Suharyono *et al.*, 2010). Namun penerimaan secara sensori produk yang dihasilkan masih belum memenuhi kriteria dan juga sifatnya sebagai probiotik belum diteliti lebih lanjut.

Minuman fermentasi laktat yang akan dibuat pada penelitian ini adalah minuman fermentasi laktat sari buah nanas. Pengembangan minuman fermentasi laktat sari buah nanas diharapkan berpotensi sebagai produk probiotik yang baik bagi kesehatan tubuh. Buah nanas memiliki aroma khas yang disukai oleh masyarakat, juga memiliki banyak manfaat bagi kesehatan yaitu dapat mencegah degenerasi manula karena kandungan vitamin yang dimilikinya. Selain itu, nanas juga mengandung zat flavonoid, polyfenol dan saponin yang bersifat sebagai zat antioksidan dan zat antibakteri yang baik bagi tubuh (Daniswara, 2008). Penggunaan buah nanas juga diharapkan dapat meningkatkan kualitas organoleptik minuman probiotik.

Agar dapat dihasilkan minuman fermentasi laktat dengan sifat probiotik maka pada penelitian ini akan diteliti mengenai kajian probiotik berbagai jenis BAL yang digunakan pada minuman fermentasi laktat sari buah nanas, serta mendapatkan jenis bakteri asam laktat (BAL) yang menghasilkan karakteristik minuman fermentasi laktat (probiotik) terbaik. Bakteri asam laktat yang akan digunakan meliputi *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, dan *Streptococcus thermophilus*.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan jenis bakteri asam laktat (BAL) terbaik terhadap karakteristik minuman probiotik yang dihasilkan.
2. Mengetahui karakteristik minuman fermentasi laktat sebagai minuman probiotik.

1.3 Kerangka Pemikiran

Minuman fermentasi laktat pada mulanya kurang diminati oleh masyarakat karena rasanya yang asam dan aroma yang menyengat (Shofi, 2012). Untuk itu pada penelitian ini perlu dilakukan usaha agar minuman fermentasi laktat dapat disukai oleh masyarakat seperti penambahan buah dalam minuman fermentasi atau buah dijadikan sebagai bahan dasar pembuatan minuman fermentasi laktat, misalnya dari buah nanas. Berbagai penelitian minuman fermentasi laktat berbahan baku nabati sudah banyak dilakukan diantaranya minuman fermentasi laktat berbahan baku sari kulit nanas (Rizal dan Marniza, 2004; Rizal *et al.*, 2006; Rizal *et al.*, 2007; Rizal dan Suharyono, 2009), minuman fermentasi laktat berbahan baku kacang turi (Yuliana dan Rizal, 2005 dan Rizal *et al.*, 2010), minuman fermentasi laktat berbahan baku buah sirsak (Rizal, 2007), dan minuman sinbiotik dari cincau hijau (Suharyono *et al.*, 2010).

Pemilihan bahan baku buah nanas dalam penelitian ini sebagai pengganti susu untuk memproduksi minuman fermentasi laktat memiliki keutamaan sehingga perlu dikembangkan, karena: 1) menggantikan peranan susu sebagai bahan baku

minuman fermentasi laktat yang dinilai lebih mahal; 2) sebagai alternatif upaya difersifikasi pangan dan peningkatan nilai tambah produk; 3) minuman fermentasi laktat berbahan baku kulit nanas masih memiliki kelemahan antara lain sulit mendapatkan kulit nanas dalam jumlah besar dan seragam, rasa pahit yang ditimbulkan dari kandungan tanin dalam kulit nanas, serta warna produk yang kurang menarik yang berpengaruh pada penerimaan konsumen; 4) produk minuman fermentasi laktat berpotensi sebagai minuman probiotik yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan tubuh khususnya dalam saluran pencernaan (Rizal dan Nurainy, 2010).

Untuk menghasilkan minuman fermentasi laktat yang berkualitas terdapat beberapa faktor yang perlu diperhatikan diantaranya jenis bakteri asam laktat (BAL) yang digunakan, konsentrasi nutrisi untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL), kondisi fermentasi (suhu dan lama fermentasi), dan kemampuan produk menjaga keseimbangan mikroflora usus (Wahida, 2006). Selain itu, sifat organoleptik (rasa, warna, aroma, kenampakan) juga mempengaruhi mutu minuman fermentasi laktat yang dihasilkan. Manfaat produk probiotik (Marteau *et al.*, 2004; Suskovic *et al.*, 2001; Rastal, 2003; Leu *et al.*, 2005; Solga *et al.*, 2004) telah banyak diungkapkan. Salah satunya adalah kemampuannya untuk mengatasi diare yang disebabkan bakteri patogen dan menjaga keseimbangan mikroflora usus.

Jenis bakteri asam laktat (BAL) berpengaruh terhadap karakteristik sensori produk, khususnya minuman probiotik. Jenis BAL yang biasa digunakan sebagai kultur fungsional minuman probiotik antara lain beberapa spesies dari

Lactobacillus sp., *Streptococcus* sp., *Leuconostoc* sp., dan *Pediococcus* sp. *Lactobacillus acidophilus* termasuk BAL homofermentatif yang dapat tumbuh dengan baik pada media selain susu (Jay, 1992) dan dapat memperbaiki keseimbangan mikroflora dalam usus (Nizori *et al.*, 2012). *Lactobacillus casei* juga mampu memproduksi senyawa-senyawa inhibitor (asam laktat, asam asetat), H₂O₂, serta bakteriosin yang dapat menekan pertumbuhan dan membunuh bakteri patogen dalam usus (Evanikastri, 1997). *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* juga merupakan BAL yang bersifat termodurik, selektif dan homofermentatif (Wibowotomo, 1990). Menurut Fardiaz *et al.* (1996) wortel yang difermentasi baik oleh kultur campuran *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* dan *L. casei* dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella*, *Shigella*, *V. cholerae*, dan *V. parahaemolyticus*.

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora, suhu optimum $\pm 40^{\circ}\text{C}$, pada umumnya tidak motil, bersifat anaerob, katalase negatif dan oksidase positif, dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat adalah mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida (Syahrurahman, 1994). Menurut Salminen *et al.* (2004), syarat yang harus dipenuhi oleh bakteri asam laktat yang berfungsi sebagai probiotik antara lain: (1) suatu probiotik harus nonpatogenik yang mewakili mikroorganisme normal usus dari inang tertentu dan masih aktif pada kondisi asam lambung dan konsentrasi garam empedu yang tinggi di dalam usus halus, (2) suatu probiotik yang baik harus mampu tumbuh dan bermetabolisme dengan cepat dan terdapat dalam jumlah yang tinggi pada

usus, (3) probiotik yang ideal dapat mengkolonisasi beberapa bagian saluran usus untuk sementara, (4) probiotik dapat memproduksi asam-asam organik secara efisien dan memiliki sifat antimikroba terhadap bakteri yang merugikan, (5) mudah diproduksi, mampu tumbuh dalam sistem produksi skala besar, dan dapat hidup selama kondisi penyimpanan.

Konsumsi probiotik diharapkan dapat meningkatkan jumlah bakteri menguntungkan dalam usus, dan menekan pertumbuhan bakteri patogen. Untuk itu dalam penelitian ini akan dikaji potensi probiotik berbagai jenis BAL yang digunakan pada minuman fermentasi laktat sari buah nanas meliputi pengamatan nilai total pH, total asam laktat, total BAL, ketahanan terhadap asam (pH 2,5), dan aktifitas antibakteri BAL terhadap bakteri patogen penguji.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah terdapat jenis bakteri asam laktat (BAL) yang memiliki sifat probiotik terbaik yang dapat menghasilkan karakteristik minuman fermentasi laktat sari buah nanas yang terbaik.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nanas (*Ananas sativus*)

Nanas merupakan jenis buah tropis yang tersedia banyak di Indonesia, khususnya pulau Sumatra dan Jawa. Kata *Ananas* berasal dari bahasa Tupi yang tinggal di daerah Rio de Janeiro, Brasil, kependekan dari kata *pine ananas*. Sedangkan kata *comosus* berarti “berumbai” yang berdasarkan pada bentuk batang buah yang mempunyai daun berumbai-umbai. Pada genus nanas lainnya sering juga disebut *pine* saja (Fianti, 2010).

Klasifikasi tumbuhan nanas (*Ananas sativus*)

Divisi : *Spermatophyta*
Subdivisi : *Angiospermae*
Kelas : *Angiospermae*
Bangsa : *Farinosae (Bromeliales)*
Famili : *Bromeliaceae*
Marga : *Ananas*
Varietas : *Ananas sativus*

Sumber: Muslihah (2000).

Nanas yang akan dipakai pada penelitian ini adalah nanas varietas *Queen*. Rismunandar (1983), menyatakan ciri dari nanas varietas *Queen* adalah memiliki

daun yang pendek, berduri tajam, dan membengkok ke belakang. Buahnya berbentuk kerucut dan mata buahnya menonjol. Daging buahnya berwarna kuning dan memiliki aroma serta rasa yang manis. Jenis Queen yang terkenal adalah *Natal Queen* dan *Repley Queen* Nanas Palembang dan Bogor termasuk jenis ini.



Gambar 1. Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) (Muslihah, 2000)

Buah nanas memiliki kandungan air sebanyak 90%. Selain air, nanas memiliki kandungan karbohidrat dalam bentuk gula ketika dipanen. Karbohidrat pati dalam buah nanas akan diubah langsung menjadi gula ketika nanas mengalami proses pemasakan (Herliani, 2010). Kandungan zat gizi yang terkandung dalam buah nanas disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan zat gizi dalam 100 g buah nanas

Keterangan	Jumlah
Energi (kkal)	50
Karbohidrat (g)	12,63
Serat (g)	9,26
Lemak (g)	1,40
Protein (g)	0,12
Gula (g)	0,54
Thiamin (Vit. B1) (mg)	0,079
Riboflavin (Vit. B2) (mg)	0,031
Niacin (Vit. B3) (mg)	0,489
Pantothenic acid (Vit. B5) (mg)	0,205
Vitamin B6 (mg)	0,110
Folate (Vit. B9) (mg)	15
Vitamin C (mg)	36,2
Kalsium (mg)	13
Besi (mg)	0,28
Magnesium (mg)	12
Fosfor (mg)	8
Potassium (mg)	115
Zinc (mg)	0,10

Sumber: Herliani, 2010

Nanas merupakan salah satu buah yang banyak mengandung mineral seperti kalsium, potasium, mangan magnesium, dan fosfor. Mineral-mineral ini sangat diperlukan tubuh untuk memproduksi enzim *Superoxide Dismutase* (SOD) yang berperan sebagai antioksidan endogen (Lingga, 2012). Selain itu juga nanas mengandung vitamin B6, thianin, dan folat, serta senyawa fitokimia yang baik untuk kesehatan (Herliani, 2010). Nanas juga memiliki khasiat yang baik bagi kesehatan antara lain mempunyai efek antiinflamasi, antioksidan, antibakteri, dan antifungi yang terkandung dari saponin, flavonoid, fan polifenol (Daniswara, 2008).

2.2 Probiotik

Probiotik adalah mikroba hidup yang sangat menguntungkan bagi sel inang karena dapat meningkatkan keseimbangan mikroflora usus. Seleksi mikroba khususnya bakteri asam laktat (BAL) sangat diperlukan untuk mendapatkan *strain-strain* probiotik yang unggul. Hal tersebut dikarenakan tidak semua BAL berpotensi sebagai probiotik (Fuller, 1989). Definisi lain probiotik menurut Winarno (1997) adalah suatu preparat yang terdiri dari mikroba hidup yang dimasukkan ke dalam tubuh manusia atau ternak secara oral. Probiotik diharapkan mampu memberikan pengaruh positif terhadap kesehatan manusia atau ternak, dengan cara memperbaiki sifat-sifat yang dimiliki oleh mikroba alami yang tinggal di dalam saluran pencernaan makhluk hidup.

Salminen *et al.* (2004) menyatakan bahwa terdapat beberapa kriteria yang harus dipenuhi oleh suatu probiotik, diantaranya adalah: (1) bersifat nonpatogenik dan mewakili mikrobiota normal pada usus inangnya, serta masih aktif pada kondisi asam lambung dan konsentrasi garam empedu yang tinggi dalam usus halus, (2) dapat tumbuh dan bermetabolisme dengan cepat serta terdapat dalam jumlah yang tinggi dalam usus halus, (3) mampu mengkolonisasi beberapa bagian dari saluran usus inangnya, (4) dapat memproduksi asam-asam organik secara efisien dan memiliki sifat antimikroba terhadap bakteri patogen, (5) mudah diproduksi, mampu tumbuh dalam sistem produksi skala besar, dan hidup selama kondisi penyimpanan.

Banyak sekali manfaat kesehatan dari produk probiotik, antara lain meningkatkan ketahanan terhadap penyakit infeksi saluran pencernaan dan menurunkan risiko

terjadinya tumor dan kanker kolon (Roos dan Katan, 2000; Rolfe, 2000), menurunkan konsentrasi kolesterol serum darah (Rodas *et al.*, 1996; Alkalin *et al.*, 1997), mengurangi reaksi *lactose intolerance* (Mustapha *et al.*, 1997), menurunkan tekanan darah/ antihipertensi (Yamamoto *et al.*, 1999), mempengaruhi respon imun (Erickson dan Hubbard, 2000), bersifat antimutagenik (Usman dan Hosono, 1999), serta bersifat antikarsinogenik (Fernandes dan Shahani, 1990).

Bakteri *Lactobacillus casei* terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen penyebab infeksi saluran pencernaan seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *V. cholerae*, dan *V. parahaemolyticus* (Fardiaz *et al.*, 1996). Hasil penelitian sebelumnya juga membuktikan bahwa minuman fermentasi laktat dari kulit nanas dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *P. aeruginosa* (Rizal dan Marniza, 2004). Substansi antimikroba bakteri *Lactobacillus sp.* yang diisolasi dari growol mampu menghambat bakteri patogen yaitu *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, dan *S. thypimurium* (Djaafar, 1997). Menurut Fardiaz *et al.* (1996) wortel yang difermentasi baik oleh kultur campuran *S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, dan *L. casei* dapat menghambat pertumbuhan *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *V. cholerae*, dan *V. parahaemolyticus*.

2.3 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri Gram positif berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora, suhu optimum $\pm 40^{\circ}\text{C}$, pada umumnya tidak motil, bersifat anaerob, katalase negatif dan oksidase positif, dengan asam laktat

sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Sifat-sifat khusus bakteri asam laktat adalah mampu tumbuh pada kadar gula, alkohol, dan garam yang tinggi, mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida (Syahrurahman, 1994). Sebagian besar BAL dapat tumbuh sama baiknya di lingkungan yang memiliki dan tidak memiliki O₂ (tidak sensitif terhadap O₂), sehingga termasuk anaerob aerotoleran. Bakteri yang tergolong dalam BAL memiliki beberapa karakteristik tertentu yang meliputi: tidak memiliki porfirin dan sitokrom, katalase negatif, tidak melakukan fosforilasi transpor elektron, dan hanya mendapatkan energi dari fosforilasi substrat. Hampir semua BAL hanya memperoleh energi dari metabolisme gula sehingga habitat pertumbuhannya hanya terbatas pada lingkungan yang menyediakan cukup gula atau bisa disebut dengan lingkungan yang kaya nutrisi. Kemampuan mereka untuk mengasihkan senyawa (biosintesis) juga terbatas dan kebutuhan nutrisi kompleks BAL meliputi asam amino, vitamin, purin, dan pirimidin (Anonim, 2010).

Selain itu, BAL juga memiliki sifat probiotik, probiotik merupakan suatu kumpulan mikroba hidup yang menguntungkan kesehatan inangnya dengan cara memperbaiki komposisi mikrobiota usus. BAL yang memiliki sifat probiotik ini memiliki banyak efek positif seperti antimikroba, aktivitas antikolestrol, efek stimulasi sistem imun, meningkatkan penyerapan laktosa oleh tubuh, mencegah diare, dan aktivitas antimutagenik sehingga dapat mencegah penyakit kanker usus (Fuller, 1992; Surono, 2004; dan Hill, 1995). Ada beberapa syarat yang harus diperhatikan apakah suatu BAL memiliki sifat probiotik, antara lain: ketahanan terhadap asam dan garam empedu, dan aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen (Gilliland *et al.*, 1984 dan Salminen, 1993).

Pada produk fermentasi laktat, perlu ditambahkan susu skim dan glukosa sebagai sumber energi bagi BAL yang diinokulasikan untuk pertumbuhannya. Susu skim mengandung protein dan laktosa, serta glukosa yang akan difermentasi oleh kultur BAL menjadi asam laktat yang akan menurunkan pH produk dan memberi rasa yang khas pada produk (Cahyono, 1996). Penambahan susu skim juga bertujuan untuk memperbaiki flavor dan tekstur produk yang dihasilkan (Paul dan Southgate, 1998). Sedangkan penambahan glukosa bertujuan untuk merangsang BAL dan meningkatkan kekentalan (McGregor dan White, 1987).

2.3.1 *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus adalah salah satu dari delapan genera umum bakteri asam laktat (BAL). *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh baik dengan oksigen ataupun tanpa oksigen, bakteri ini dapat hidup pada lingkungan yang sangat asam sekalipun, seperti pada pH 4-5 atau dibawahnya dan bakteri ini merupakan bakteri homofermentatif yaitu bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir (Triana, 2007). Bentuk penampakan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. *Lactobacillus acidophilus* (Sandine, 1979)

Karakteristik bakteri *L. acidophilus* diantaranya: (1) tidak tumbuh pada suhu 15°C dan tidak dapat memfermentasi ribosa; (2) suhu optimum untuk

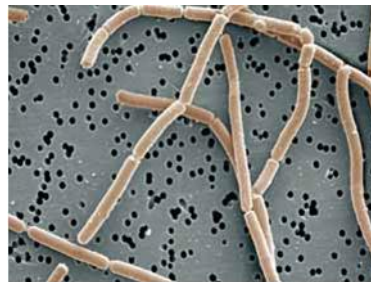
pertumbuhannya berkisar antara 35 - 38°C dan pH optimum 5,5 - 6,0; (3) di dalam susu sapi, bakteri ini memproduksi 0,3 - 1,9% asam laktat; asam yang dihasilkan mempunyai kemampuan yang berbeda antar galur; (4) umumnya membutuhkan nutrisi berupa asetat, riboflavin, asam pantotenat, kalsium, niasin dan asam folat; (5) resisten terhadap asam empedu; dan (6) memproduksi threonine aldolase dan alcohol dehydrogenase yang mempengaruhi aroma (Kanbe, 1992)

Lactobacillus acidophilus merupakan probiotik yang selama bertahun-tahun banyak digunakan, karena aman dan tidak menimbulkan risiko infeksi berupa bakteremia (Snydman, 2008). *Lactobacillus acidophilus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Salmonella thypimurium* yaitu bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi saluran cerna yang dikenal dengan nama salmonellosis (Xiaodong et al., 2009). Menurut Taufik (2004), *L. acidophilus* mempunyai populasi $6,9 \times 10^8$ cfu/mL dalam susu fermentasi selama 24 jam. Afriani dan Haris (2011) menambahkan bahwa *L. acidophilus* mempunyai populasi $8,1 \times 10^9$ cfu/mL dalam susu fermentasi dengan waktu inkubasi 48 jam.

Lactobacillus acidophilus mampu memproduksi laktase, vitamin K, dan zat anti-mikroba sehingga keberadaan bakteri *L. acidophilus* dalam tubuh membantu menjaga kondisi asam, sehingga mencegah infeksi mikroba. Produk susu yang paling sering menggunakan *L. acidophilus* adalah susu acidophilus manis dan yoghurt. Susu yang dibuat dengan inokulasi *L. acidophilus* kemudian difermentasi selama satu hari. Setelah fermentasi, susu berubah menjadi dadih yang mengandung laktosa dalam jumlah minimum. *Lactobacillus acidophilus* juga digunakan untuk mengobati berbagai penyakit seperti infeksi saluran kemih (ISK), *bacterial vaginosis* (BV), dan diare (Hidayat, 2011).

2.3.2 *Lactobacillus bulgaricus*

Lactobacillus bulgaricus adalah salah satu BAL yang digunakan sebagai starter kultur untuk susu fermentasi. Bakteri ini dapat ditemukan di dalam vagina dan sistem pencernaan, dimana mereka bersimbiosis dan merupakan sebagian kecil dari flora usus. Menurut Feliatra *et al.* (2004) *Lactobacillus* tersebar luas di lingkungan, terutama pada hewan dan produk makanan sayur-sayuran. Mereka biasanya mendiami saluran usus burung dan mamalia, dan vagina mamalia, dan tidak bersifat patogen. Dalam susu, *Lactobacillus bulgaricus* akan mengubah laktosa menjadi asam laktat. Bakteri ini bersifat termodurik (dapat hidup pada suhu pasteurisasi 63 – 75°C) (Helferich dan Westhoff, 1980). Bentuk penampakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dapat dilihat pada Gambar 3.

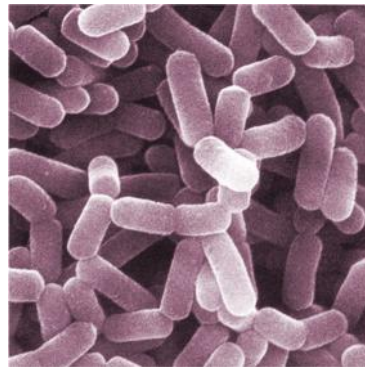


Gambar 3. *Lactobacillus bulgaricus*

Penelitian Malaka (1997) *L. bulgaricus* tumbuh optimal pada 37°C dengan fase adaptasi (lag phase) pada 0 - 2 jam, fase eksponensial 2 - 14 jam dan mulai mencapai fase stasioner pada 14 jam inkubasi dengan jumlah total *L. bulgaricus* mencapai $4,9 \times 10^9$ pada 16 jam inkubasi. Bakteri *L. bulgaricus* adalah bakteri probiotik karena telah lolos dari uji klinis, enzimnya mampu mengatasi intoleransi terhadap laktosa, menormalkan komposisi bakteri saluran pencernaan serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Waspodo, 2001).

2.3.3 *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei starter pada produk minuman fermentasi laktat termasuk jenis bakteri asam laktat homofermentatif, yaitu bakteri yang memfermentasi glukosa menjadi asam laktat dalam jumlah yang besar (90%). Selain asam laktat yang dihasilkan, ia juga menghasilkan asam sitrat, malat, suksinat, asetaldehid, diasetil dan asetoin dalam jumlah yang kecil, yang mempengaruhi cita rasa minuman fermentasi laktat (Speck, 1978). Bentuk penampakan bakteri *Lactobacillus casei* dapat dilihat pada Gambar 4.

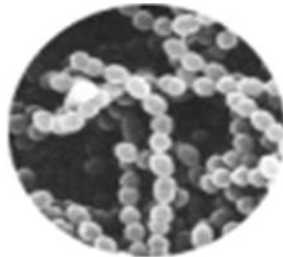


Gambar 4. *Lactobacillus casei* (Speck, 1978)

Berdasarkan morfologinya, *L. casei* berbentuk batang pendek dalam koloni tunggal maupun berantai dengan ukuran panjang 1,5 - 5,0 μm dan lebar 0,6 - 0,7 μm . Bakteri ini bersifat Gram positif, katalase negatif, tidak membentuk endospora maupun kapsul, tidak mempunyai flagela dan tumbuh dengan baik pada kondisi anaerob fakultatif. Berdasarkan suhu pertumbuhannya, bakteri ini termasuk bakteri mesofil yang dapat hidup pada suhu 15 - 41°C dan pada pH 3,5 atau lebih, sedangkan kondisi optimum pertumbuhannya adalah pada suhu 37°C dan pH 6,8 (Mutai, 1981). *L. casei* biasanya diisolasi dari produk susu dan lumen usus manusia (Robinson, 1981).

2.3.4 *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus merupakan bakteri termofilik yang dapat tumbuh pada suhu 45°C. Perbedaan suhu tersebut membedakan bakteri ini dari spesies *Streptococci* lainnya. Karakteristik *S. thermophilus* antara lain: berbentuk bulat yang membentuk rantai, Gram positif, katalase negatif, dapat mereduksi *litmus milk*, tidak toleran terhadap konsentrasi garam yang lebih besar dari 6.5 %, tidak berspora, bersifat termodurik, tidak dapat tumbuh pada suhu 10°C, dan menyukai suasana mendekati netral dengan pH optimum untuk pertumbuhan adalah 6,5 (Helferich dan Westhoff, 1980). Selain itu suhu pertumbuhannya berkisar antara 40 - 45°C (Chaitow dan Trener, 1990). Bentuk penampakan bakteri *Streptococcus thermophilus* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. *Streptococcus thermophilus*

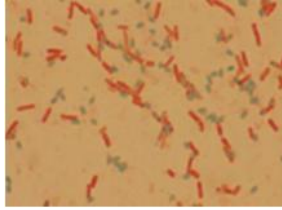
S. thermophilus merupakan BAL homofermentatif yang menghasilkan asam laktat sebagai produk utama. *S. thermophilus* merupakan satu-satunya spesies bakteri dalam genus *Streptococci* yang menghasilkan enzim laktase (Chaitow dan Trener, 1990). Efek menguntungkan dari *S. thermophilus* selain menghasilkan asam laktat, yaitu menghasilkan enzim laktase yang berfungsi mencerna laktosa dalam susu.

2.4 Bakteri Patogen

Mikroba patogen yang terdapat di dalam makanan, biasanya masuk ke dalam tubuh melalui saluran pencernaan. Infeksi oleh mikroba tersebut dapat dimulai dari membran mukosa pada dinding saluran pencernaan, terutama usus halus (Fardiaz, 1983). Menurut Fardiaz (1983), berdasarkan cara penyebaran dan daya penetrasi bakteri patogen di dalam tubuh yang dapat menyebabkan infeksi saluran pencernaan, maka dapat dibedakan atas tiga golongan, yaitu: (1) bakteri yang berkembang biak pada permukaan dinding saluran pencernaan dan tidak menembus ke dalam sel-sel mukosa, misalnya bakteri penyebab kolera; (2) bakteri yang menembus sel-sel mukosa dan berkembang biak di dalam sel-sel tersebut tetapi tidak menyebar ke jaringan-jaringan yang lebih dalam, misalnya bakteri penyebab disentri; (3) bakteri yang menyebar ke jaringan-jaringan yang lebih dalam, baik dalam cara menembus sel mukosa atau di antara sel-sel mukosa, misalnya bakteri penyebab salmonellosis dan disentri amuba.

2.4.1 *Bacillus cereus*

Bacillus cereus merupakan bakteri Gram-negatif, aerob fakultatif, dan dapat membentuk spora. Selnya berbentuk batang besar dan sporanya tidak membengkakkan sporangiumnya. Genus *Bacillus* biasa terdapat dalam tanah, air, udara, dan tumbuh-tumbuhan. Basil saprofit ini menggunakan sumber nitrogen dan karbon sederhana untuk pertumbuhannya. *B. cereus* dapat tumbuh dalam makanan dan menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan keracunan makanan. Bentuk penampakan bakteri *Bacillus cereus* dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. *Bacillus cereus*

Keberadaan *B. cereus* dalam jumlah besar (lebih dari 10^6 organisme/g) dalam makanan merupakan indikasi adanya pertumbuhan dan pembelahan sel bakteri secara aktif, dan berpotensi membahayakan kesehatan. Keracunan makanan karena *B. cereus* mempunyai dua bentuk yang berbeda, jenis muntah yang berkaitan dengan nasi yang tercemar dan jenis diare yang berkaitan dengan daging dan saus. Bakteri ini juga merupakan penyebab infeksi mata, keratitis berat, endoftalmitis dan panoftalmitis. Sporangya resisten terhadap perubahan lingkungan, tahan terhadap panas kering dan desinfektan kimia tertentu dalam waktu yang cukup lama dan dapat bertahan selama bertahun-tahun pada tanah yang kering (Jawetz *et al.*, 2005).

2.4.2 *Eschereceia coli*

E. coli adalah bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai, dapat memfermentasi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas. *E. coli* dapat tumbuh baik pada media McConkey dan dapat memecah laktosa dengan cepat, juga dapat tumbuh pada media agar. Dapat merombak karbohidrat dan asam lemak menjadi asam dan gas serta dapat menghasilkan gas karbondioksida dan hidrogen (Pelczar dan Chan, 1998). *E. coli* berbentuk batang

pendek (*cocobasil*), Gram negatif dengan ukuran 0,4 - 0,7 μm x 1,4 μm . Sebagian besar bersifat motil (bergerak) dan beberapa strain memiliki kapsul (Supardi, 1999). Bentuk penampakan bakteri *Eschereceia coli* dapat dilihat pada Gambar 7.

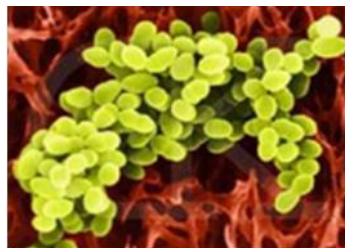


Gambar 7. *Eschereceia coli*

E. coli banyak ditemukan di dalam usus halus manusia sebagai flora normal, tetapi bila kesehatan menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *E. coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru-paru, saluran empedu dan saluran otak (Jawetz *et al.*, 2005). Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Karsinah *et al.*, 1994). *E. coli* juga dapat menyebabkan berbagai penyakit tergantung dari tempat infeksi, seperti infeksi saluran kemih (ISK) dan diare. Beberapa strain *E. coli* menyebabkan diare yaitu Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) merupakan penyebab umum diare pada musafir. Enterohemagic *E. coli* (EHEC) dihubungkan dengan *hemoragic colitis*, Enteroinvasif *E. coli* (EIEC) menyebabkan penyakit mirip shigellosis sedangkan Enteroagregatif *E. coli* (EAEC) menyebabkan diare yang akut dan kronis (Juliantina, 2009).

2.4.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus termasuk bakteri Gram positif, berbentuk bulat, berdiameter 0,1 - 0.5 μm , satu-satu atau berpasangan, tidak bergerak, dinding sel mengandung dua komponen utama, peptidoglikan dan asam-asam teikoat. Metabolisme aerob dan anaerob biasanya peka terhadap panas terutama di permukaan kulit, kelenjar kulit dan selaput lendir. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh pada berbagai pembenihan atau metabolisme yang aktif, meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas dan meragikan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua. *Staphylococcus* patogen sering menghemolisis darah dan mengkoagulasi plasma, beberapa diantaranya tergolong flora normal kulit dan selaput lendir manusia (Jawetz *et al.*, 1986). Bentuk penampakan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus hidup sebagai saprofit didalam membran mukosa dari tubuh manusia dan hewan seperti hidung, mulut dan tenggorokan dan dapat mengeluarkan batuk dan bersin. Bakteri ini juga sering terdapat pada pori-pori permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus. Selain dapat menyebabkan intoksikasi, *S. aureus* juga dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis pada

manusia (Supardi, 1999). *S. aureus* juga dapat menyebabkan penyakit berkat kemampuannya melakukan pembelahan, dan menyebar luas ke dalam jaringan serta mampu memproduksi bahan ekstra seluler seperti katalase, koagulase, eksotoksin, lekosidin, toksin eksfoliatif, Toksin Sindroma Syok Toksik (Toxic Shock Syndrome Toxin), enterotoksin dan enzim lain (Juliantina, 2009).

III. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian, Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, dan Laboratorium Pati dan Gula. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2015 – Oktober 2015.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah nanas varietas *queen* yang diperoleh dari daerah Way Halim. Bahan lain yang digunakan adalah starter *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus casei*, dan *Streptococcus thermophilus* yang didapat dalam bentuk murni, glukosa dan susu skim yang diperoleh di supermarket. Bahan-bahan untuk analisa antara lain air destilat, media MRS (De Mann Ragosa Sharp) Broth dan MRS Agar untuk pertumbuhan kultur, media Nutrient Agar dan Broth untuk pertumbuhan bakteri patogen, larutan NaOH 0,1 N, larutan NaCl, alkohol 70%, dan bahan analisis kimia lainnya.

Alat yang digunakan antara lain timbangan, blender, baskom, plastik, kain saring, wadah botol, inkubator, pH meter, autoklaf, spatula, pisau, aluminium foil, kapas,

colony counter, vortex, centrifuge, jarum ose, bunsen, tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, mikropipet, pipet tip, gelas ukur dan alat analisis lainnya.

3.3 Metode Penelitian

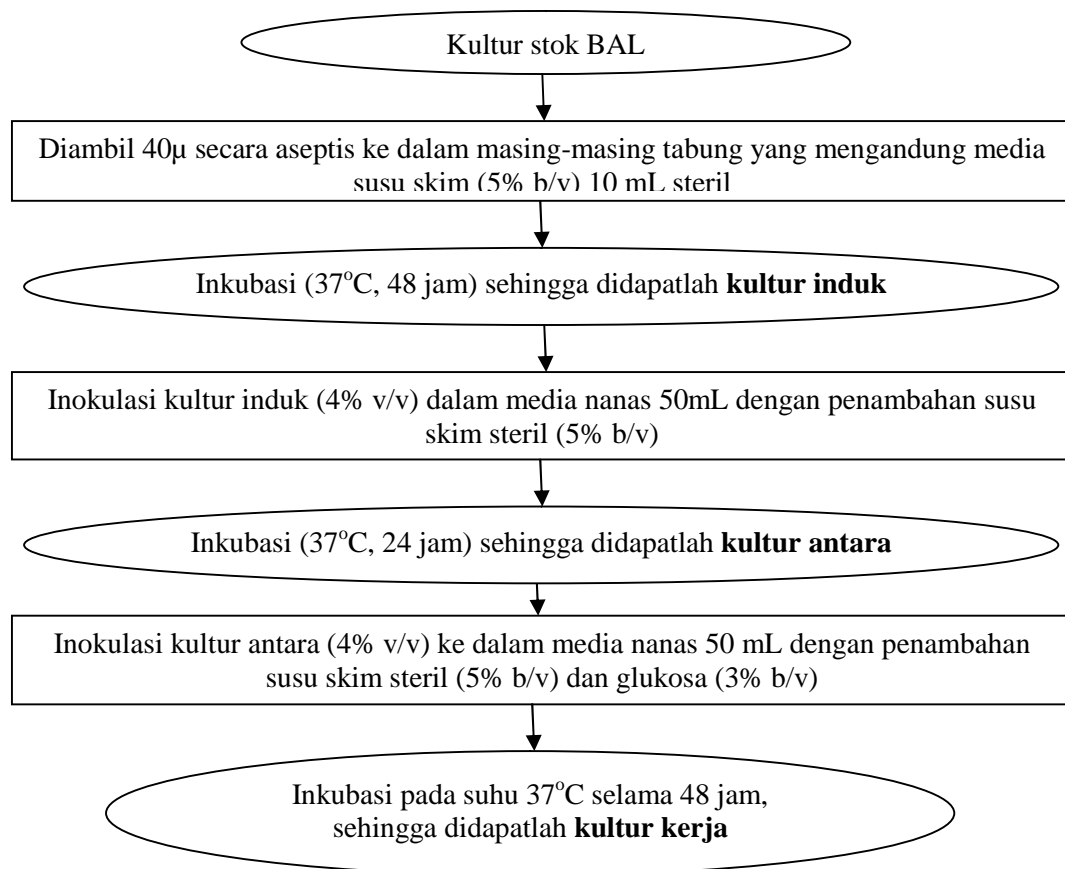
Perlakuan dalam penelitian ini disusun secara non faktorial dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) perlakuan tunggal yaitu jenis bakteri asam laktat (BAL) *Lactobacillus acidophilus* (La), *Lactobacillus bulgaricus* (Lb), *Lactobacillus casei* (Lc), dan *Streptococcus thermophilus* (St) dengan tiga kali ulangan. Data yang diperoleh diuji kesamaan ragamnya dengan uji Bartlett. Kemudian dianalisis dengan sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antar perlakuan. Data dianalisis lebih lanjut dengan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 1% dan 5%. Pengamatan yang dilakukan adalah uji potensi probiotik meliputi nilai pH (Fardiaz, 1989), total asam (Fardiaz, 1989), total BAL (Fardiaz, 1989), ketahanan terhadap asam (Chou dan Weimer, 1999), dan aktivitas antibakteri (Murhadi *et al.*, 2008).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Persiapan Starter

Persiapan starter dilakukan dengan memodifikasi metode Rizal *et al.* (2006), yaitu kultur bakteri yang akan digunakan (*Lactobacillus acidophilus* (La), *Lactobacillus bulgaricus* (Lb), *Lactobacillus casei* (Lc), dan *Streptococcus thermophilus* (St) dipindahkan dari kultur stok ke dalam tabung reaksi berisi media MRS Broth steril, selanjutnya diinkubasi menggunakan inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian sebanyak 40 μ ditumbuhkan ke dalam susu skim 5% (b/v) steril

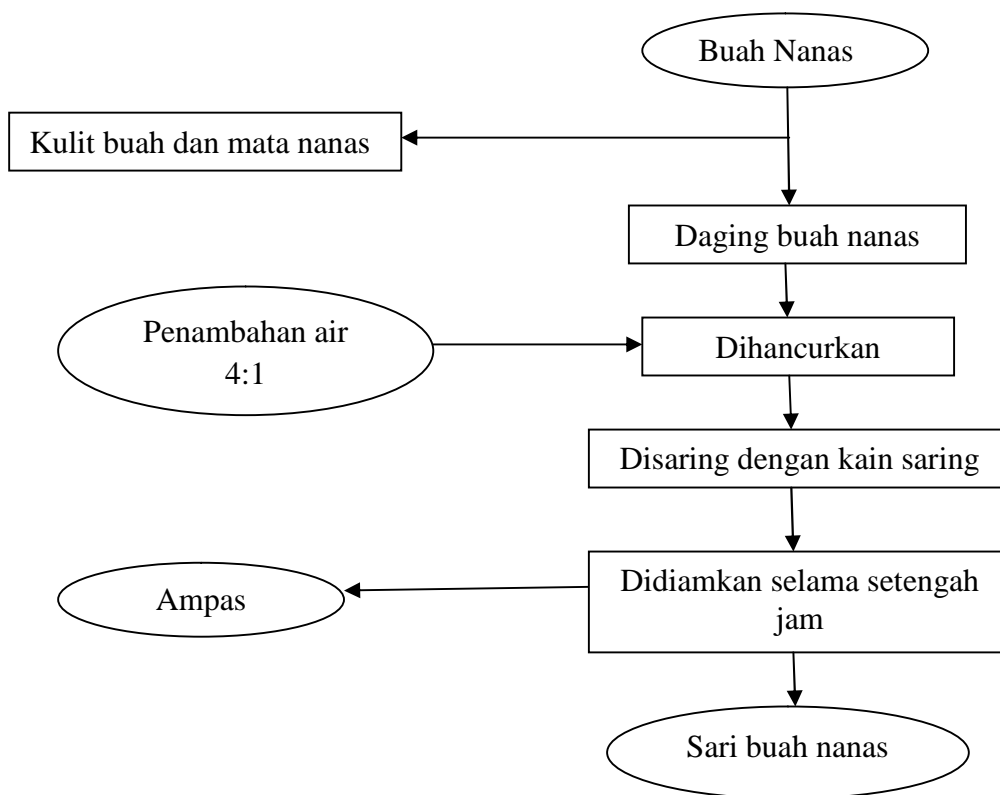
10 mL. Kultur ini disebut kultur induk. Selanjutnya dari kultur induk diinokulasikan ke dalam media susu skim (5% b/v) dan glukosa (3% b/v) dalam media nanas 50 mL, dan diinkubasi selama 48 jam sehingga didapat kultur antara. Kemudian kultur antara diinokulasikan sebanyak 4% (v/v) ke dalam media susu skim 5% (b/v) dengan penambahan 3% (b/v) glukosa steril dalam media nanas 50 ml. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu 37°C, sehingga didapatkan kultur kerja. Diagram alir persiapan starter dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Diagram alir pembuatan starter (Rizal *et al.*, 2006) yang telah dimodifikasi.

3.4.2. Pembuatan Sari Buah Nanas

Buah nanas yang dipilih buah nanas madu varietas *queen* yang cukup matang, berwarna kuning oranye, dan layak dikonsumsi. Buah nanas mula-mula dikupas kulitnya dan dibersihkan mata nanasnya lalu dicuci. Tahap selanjutnya dilakukan penghancuran buah menggunakan blender, kemudian dilakukan penyaringan sehingga diperoleh sari buah nanas. Diagram alir pembuatan sari buah nanas dapat dilihat pada Gambar 10.

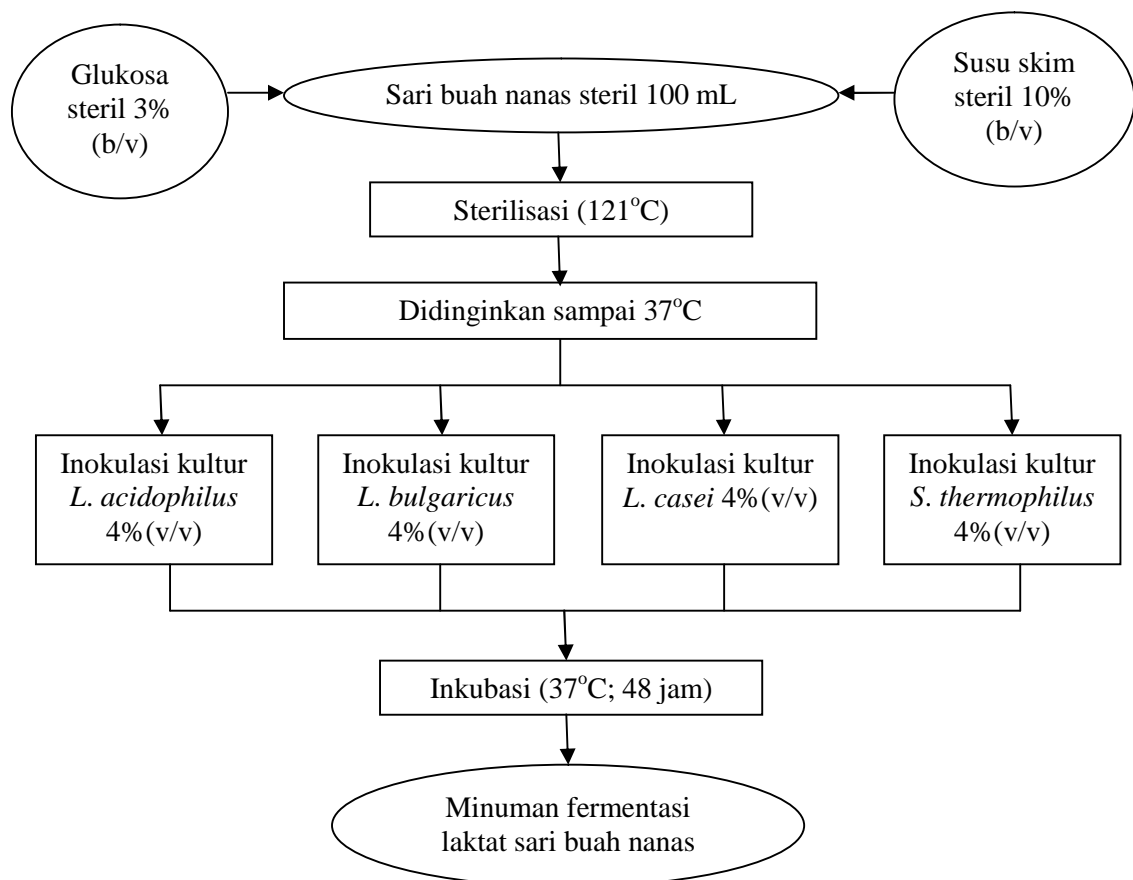


Gambar 10. Diagram alir pembuatan sari buah nanas (Rizal *et al.*, 2006) yang telah dimodifikasi

3.4.3. Pembuatan Minuman Fermentasi Laktat dari Sari Buah Nanas

Minuman fermentasi laktat sari buah nanas dibuat dengan menggunakan kultur *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Streptococcus thermophilus* dengan memodifikasi metode yang dilakukan oleh

Hernawati (2002). Sari buah nanas ditambahkan dengan susu skim steril sebanyak 10% (b/v) dan penambahan glukosa steril sebanyak 3% (b/v). selanjutnya diinokulasi dengan kultur *L. acidophilus* 4% (v/v), *L. bulgaricus* 4% (v/v), *L. casei* 4% (v/v), dan *S. thermophilus* 4% (v/v), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Diagram alir pembuatan minuman fermentasi laktat sari buah nanas disajikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Diagram alir pembuatan minuman fermentasi laktat sari buah nanas (Kurniawati, 2010) yang telah dimodifikasi

3.5 Pengamatan

3.5.1. Nilai pH

Pengukuran nilai pH dilakukan menggunakan pH meter (Fardiaz, 1989). Sebelum dilakukan pengukuran, pH meter harus dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan

larutan penyangga (*buffer*) 7,0. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap larutan sampel dengan mencelupkan elektroda pada pH meter ke dalam larutan sampel dan biarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil.

3.5.2. Total Asam

Pengujian total asam laktat dilakukan berdasarkan metode Fardiaz (1989). Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer selanjutnya diencerkan dengan 10 mL air destilat, campuran tersebut kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N. Untuk menentukan titik akhir titrasi digunakan indikator fenolftalin. Akhir titrasi tercapai setelah terbentuk warna merah muda yang konstan. Perhitungan total asam laktat dilakukan dengan rumus:

$\% \text{ asam laktat} = \frac{\text{mL NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{FP} \times \text{BM asam laktat}}{\text{mL sampel}}$

Keterangan : N = Normalitas larutan NaOH
 FP = faktor pengenceran = 0,1
 BM asam laktat (CH₃CHOHCOOH) = 90
 mL sampel = 1 mL

3.5.3. Total BAL

Total BAL diukur dengan metode cawan tuang (Fardiaz, 1989), yaitu sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam 9 mL larutan garam fisiologis steril. Dari campuran tersebut diperoleh pengenceran 10⁻¹. Campuran kemudian dihomogenkan dan diambil 1 mL larutan dari tabung pertama dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berikutnya yang berisi 9 mL larutan garam fisiologis sehingga diperoleh pengenceran 10⁻² dan seterusnya sampai diperoleh pengenceran yang sesuai (10⁻⁸ sampai dengan 10⁻¹⁰). Dari pengenceran yang dikehendaki diambil 1 mL sampel dengan pipet lalu dimasukkan ke dalam cawan

petri steril, kemudian ditambahkan kira-kira 15 mL media MRS Agar steril. Kemudian cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dan dihitung koloni yang tumbuh menggunakan *Colony Counter*. Total koloni yang terhitung harus memenuhi standar *International Commission Microbiology Food* (ICMF) yaitu antara 30 sampai 300 koloni per cawan petri.

$\text{Total BAL (koloni/mL)} = \frac{\text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}}{\text{faktor pengenceran}}$
--

3.5.4. Pengujian Ketahanan Terhadap Asam (pH 2,5)

Pengujian ketahanan terhadap asam (pH 2,5) dilakukan dengan metode hitungan cawan (Chou dan Weimer, 1999) yang sudah dimodifikasi pada kondisi pH media untuk uji keasaman. Masing-masing minuman fermentasi laktat sari nanas diambil 1 mL kemudian dimasukkan dalam 9 mL MRS Broth diatur pada kondisi asam yaitu pH 2,5 dengan menambahkan HCl pekat, kemudian sebagai kontrol, yaitu tanpa penambahan HCl. Kemudian minuman fermentasi laktat sari nanas (asam dan kontrol) diinkubasi selama 24 jam. Masukkan 1 mL minuman fermentasi laktat sari nanas ke dalam media pengenceran, dan lakukan pengenceran hingga 10^6 . Pada pengenceran 10^4 , 10^5 10^6 ambil 1 mL dan pindahkan ke dalam cawan steril lalu tuang media MRSB hingga rata, kemudian cawan diinkubasi selama 24 jam. Ketahanan terhadap asam dihitung berdasarkan selisih unit log jumlah koloni yang tumbuh pada kondisi kontrol dengan perlakuan pengaturan pH 2,5. Semakin kecil selisih semakin tahan galur yang diuji terhadap pH rendah.

3.5.5. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri akan dilakukan dengan metode difusi agar atau sumur. Metode difusi agar didasarkan pada kemampuan senyawa-senyawa antibakteri yang diuji untuk menghasilkan jari-jari zona penghambatan di sekeliling sumur uji terhadap bakteri penguji (Murhadi *et al.*, 2008). Pengujian diawali dengan penimbangan media bubuk dan penambahan akuades seperti petunjuk pada kemasan. Media lalu diaduk sambil dipanaskan menggunakan *hot magnetic stirrer* hingga larutan media homogen yang ditandai oleh warna larutan yang jernih, selanjutnya erlenmeyer ditutup dengan kapas dan disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit (Destiyani, 2014).

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan menurut prosedur yang dilakukan oleh Gariga *et al.* (1983) dan Murhadi (2009). Kultur bakteri penguji yang murni dari media NA Broth dipindahkan ke dalam tabung yang berisi medium cair steril NB, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan dihomogenkan dengan vortex. Kultur tersebut diinokulasikan sebanyak 40µL ke dalam erlenmeyer yang telah berisi 60mL media Nutrient Agar (NA) steril dengan suhu 44-45°C, dihomogenisasi lalu dituang ke dalam empat cawan petri steril secara merata dan dibiarkan hingga membeku. Selanjutnya dibuat empat lubang (sumur) dalam setiap cawan secara aseptis dengan diameter yang seragam 6mm dan dimasukkan 60µL produk minuman fermentasi laktat sari buah nanas yang ditambahkan berbagai jenis BAL. Sumur uji diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C untuk diukur zona penghambatannya.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Terdapat starter terbaik yang memenuhi kriteria sifat probiotik yaitu starter *Lactobacillus casei*.
2. Terdapat perlakuan terbaik yaitu minuman fermentasi laktat sari buah nanas dengan penggunaan starter *Lactobacillus casei* yang berpotensi sebagai minuman probiotik dengan ciri-ciri nilai pH 3,54; total asam sebesar 3,45; total BAL sebesar $1,1 \times 10^{10}$ log koloni/mL; selisih log ketahanan terhadap asam sebesar 5,67 log koloni/mL; serta nilai aktivitas antibakteri minuman fermentasi sari laktat dengan jenis *Lactobacillus casei* terhadap *Bacillus cereus*, *Escherecia coli*, *Staphylococcus aureus* sebesar 13,97; 12,57; 25,55 mm².

5.2 Saran

Untuk penelitian lebih lanjut mengenai pembuatan minuman fermentasi laktat sari buah nanas, sebaiknya menggunakan starter bakteri *Lactobacillus casei*.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, S. dan L. Haris. 2011. Karakteristik Dadih Susu Sapi Hasil Fermentasi Beberapa Starter Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Dadih Asal Kabupaten Kerinci. *Agrinak*. Vol 01 No. 1 September 2011:36-42.
- Asiedu, M. S., W. Wardy, F. K. Saalia, A. S. Budu and S. S. Dedeh. 2009. A comparison of some physical, chemical and sensory attributes of three pineapple (*Ananas cosmosus*) varieties grown in Ghana. *African Journal of Science* 3(1):022-025.
- Anonim. 2010. Bakteri Asam Laktat.
<http://www.wikipedia.bakteriasamlaktat/wikipediabahasaIndonesia,ensiklopediabebas.html>. Diakses pada 24 Maret 2015.
- Badan Standarisasi Nasional. SNI 7552:2009 2009. Minuman susu fermentasi berperisa. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Bender G. R. and Marquis R. E. 1987. Membrane ATPases and acid tolerance of *Actinomyces viscosus* and *Lactobacillus casei*. *Appl Environ Microbiol.* 53:2124-2128.
- Cahyono, R. 1996. Pemanfaatan Wortel untuk Produksi Minuman Sehat Pencegah Diare Bervitamin B12 melalui Proses Fermentasi Laktat. Skripsi. Fateta IPB Bogor. 30 hlm.
- Chaitow, L. dan Trener, N. 1990. Probiotics. Thorsons. London.
- Chin, J., Turner, B., Barchia, I., Mullbacher, A. 2000. Immune Response to Orally Consumed Antigens and Probiotic Bacteria. *Immunol Cell Biol.* 2000;78(1):55-66
- Chou, L. Z., dan Weimer, B. 1999. Isolation and Characterization of Acid- and Bile-tolerant Isolates from Strains of *L. acidophilus*. *J Dairy Sci* 82:23-31.
- Daniswara, N. 2008. Perbandingan Efektivitas Air Perasan Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) 100%, Zinc Pyrithione 1% dan Ketokonazol 1% secara *in vitro* terhadap Pertumbuhan *Pityrosporum ovale*. Artikel Karya Tulis Ilmiah. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

- Davis and Stout. 1971. Disc Plate Method Of Microbiological Antibiotic Essay. Journal Of Microbiology. Vol 22 No 4.
- Destiyani, N. 2014. Pengaruh Penambahan Sari Buah Terhadap Aktivitas Antibakteri Minuman Sinbiotik Cincau Hijau Selama Penyimpanan. Skripsi. Universitas Lampung.
- Djaafar, T. F. 1997. Bakteri Asam Laktat dan Manfaatnya sebagai Pengawet Makanan. Jurnal Litbang Pertanian. Vol 14 (1).
- Erickson, K. L. dan Hubbard, H. E. 2000. Probiotic Immunomodulation in Health and Disease. J. Nutr (Suppl) 130:403S-409S.
- Fardiaz, S. 1983. Keamanan Pangan, Jilid I. Fakultas Teknologi Pertanian, Jurusan Pangan dan Gizi, IPB. Bogor.
- Fardiaz, S. 1989. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fardiaz, S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Fardiaz, S., Cahyono, R. dan Kusumaningrum, H. D. 1996. Produksi dan Aktivitas Antibakteri Minuman Sehat Kaya Vitamin B12 Hasil Fermentasi Laktat dan Sari Wortel. J. Ilmu dan Tek. Pangan 1(2):25-30.
- Fatma. 2012. Potensi dan Perkembangan Whey Dangka Menjadi Minuman Fungsional. Desertasi. Program Pascasarjana Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Feliatra, I Efendi, E Suryadi. 2004. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Probiotik dari Ikan Kerapu Macan (*Ephinephelus fuscogatus*) dalam Upaya Efisiensi Pakan Ikan. Jurnal Natur Indonesia 6(2): 75-80.
- Fernandes, C. F. and Shahani, K. M. 1990. Anticarcinogenic and Immunological Properties of Dietary *Lactobacilli*. J. Food Prot. 53:704.
- Fianti, Atiko. 2010. Khasiat Buah Nanas. <http://atikofianti.wordpress.com/2010/03/23/khasiat-buah-nanas>. Diakses pada 24 Maret 2015.
- Fuller, R. 1989. Probiotic in Man and Animals. Journal Appl Bacteriol. 66:365-378.
- Fuller, R. 1992. Probiotics: The Scientific Basic. Chapman and Hall. London.
- Gilliland, S. E., Stanley, T. E., and Bush, L. J. 1984. Importance of Bile Tolerance of *L. acidophilus* Used as a Dietary Adjunct. Journal of Dairy Sci 67:3045-3051.

- Health Canada 2004. A Regulatory Framework for Natural Health Products. <http://www.hcsc.gc.ca/dhp-mps/prodnatur/about-apropos/glance-apercu-eng.php>. Diakses pada 25 Maret 2015.
- Helferich, W. dan Westhoff, D. 1980. All About Yogurt. Prentice Hall, Inc, Englewood Cliff. New Jersey.
- Herliani, R. 2010. Produksi dan Aktivitas Antibakteri Minuman Sehat Kaya Vitamin B12 Hasil Fermentasi Laktat dari Sari Wortel. Skripsi. Fateta. IPB. Bogor.
- Hidayat. 2011. Mikrobiologi. <http://id.scribd.com/doc/100738643/mikrobiologi.html>. Diakses pada 26 Maret 2015.
- Hill, M. J. 1995. Role of Gut Bacteria in Human Toxicology and Pharmacology. Taylor and Francis. New York.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg E.A. 2005. Mikrobiologi Kedokteran. Salemba Medika. Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., dan Adelberg, E. A. 1986. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. EGC. Jakarta.
- Jay, J. M. 1992. Modern Food Microbiology. 4th Ed. Chapman and Hall. New York.
- Juliantina R. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia Vol.1.
- Kanbe, M. 1992. Traditional Fermented Milks of The World. In: Nazakawa, Y., and A. Hosono (ed.). Function of Fermented Milks : Challenge for the Health Science. Elsevier Science Publisher.
- Karsinah, Lucky, H. M., Soehanto, Mardiasuti, H. W., 1994, Kokus Positif Gram dan Batang Negatif Gram dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran, Edisi Revisi, 103-111, 163-165, Penerbit Bina Aksara. Jakarta.
- Kashket, E. R. 1987. Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic, pH and osmotolerance. FEMS Microbiot Rev 46:233-244.
- Kimoto H, Kurisaki J., Tsuji M., Ohmono S., Okamoto T. 1999. Lactococci as probiotic strain: adhesion to human enterocyte-like caco-2 cells and tolerance to low pH and bite. Lett Appl Microbiol. 29:313-316.

- Klaenhammer, T. R., and Kleeman, E. G. 1981. Growth Characteristics, Bile Sensitivity, and Freeze Damage in Colonial Variants of *L. acidophilus*. *Appl and Environmental Microbiology* 41:1461-1467
- Kurniawati, Yessy. 2010. Kajian Penambahan Sari Ubi Jalar Sebagai Sumber Prebiotik pada Susu Kelapa yang Difermentasi oleh *Lactobacillus casei* FNCC 0090. Masters Thesis. Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Lee, B. H. 1996. *Fundamental of Food Biotechnology*. VCH Publishers. Inc. 337 7th Avenue New Cork.
- Lee, Y. K. and S. F. 1993. Wong. Stability of lactic acid bacteria in fermented milk.
- Leu, R. K. L., Brown, I. L., Hu, Y., Bird, A. R., Jackson, M., Esterman, A. and Young, G. P. 2005. Synbiotic Combination of Resistant Starch and *Bifidobacterium lactis* Facilitates Apoptotic Deletion of Carcinogen-Damaged Cells in Rat Colon. *J. Nutr.* 135:996-1001.
- Lingga, L. 2012. *The Healing Power of Antioxidant*. PT. Gramedia. Jakarta. 400 hlm.
- Malaka, 1997. Effect of Curdian, a Bacterial Polysaccharide on the Physical Properties and Microstructure of Acid Milk Curd by Lactic Acid Fermentation. Master Thesis. Faculty of Agriculture, Miyazaki University. Japan.
- Misrianti, B. 2013. Pengaruh Penambahan Sukrosa pada Pembuatan Whey Kerbau Fermentasi Terhadap Penghambatan Bakteri Patogen. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanudin. Makasar.
- Murhadi. 2009. Ekstraksi, Fraksinasi, dan Identifikasi Komponen Antibakteri Biji Atug (*Parinariium glaberrimum* Hask). Buku Monograf (ISBN 978-979-8510-08-3, Tanggal 23 Desember 2009). Penerbit Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandarlampung.
- Muslihah, H. 2000. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasi dalam Kesehatan*. Kanisius. Yogyakarta. 281 hlm.
- Mustapha, A., Tianan-Jiang, and Savaiano, D. A. 1997. Improvement of Lactose Digestion by Human Following Ingestion of Unfermented Acidophilus Milk: Influence of Bile Sensitivity, Lactose Transport and Acid Tolerance of *L. acidophilus*. *J. Dairy Sci.* 80:1537-1545.
- Mutai, M., 1981. *The Properties of Lactobacillus Product "Yakult 80" (Japanese)*. New Food Industries.

- Oberman, H. dan Libudzisz. 1998. Fermented Milks. In Wood, B. JB. Microbiology of Fermented Foods, Second Edition Vol. 1. Blackie Academic and Professional.
- Pelczar, M. J., Chan. E. C. S, Pelczar, M. F., Penerjemah: Hadioetomo, R, S.Dkk. 1986. Dasar-dasar Mikrobiologi, Jilid I. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Rastal, R. A. 2003. Enhancing the Functionality of Prebiotics and Probiotics. In Functional Dairy Products. CRC Press. England.
- Rismunandar. 1983. Membudidayakan Tanaman Buah-Buahan. Sinar Baru. Bandung.
- Rizal, S. dan Nurainy, F. 2010. Perbaikan Kualitas Minuman Fermentasi Laktat dari Buah Nanas (*Ananas muricata*) sebagai Minuman Probiotik yang Bersifat Antimikroba dan Antioksidan. Laporan Penelitian Hibah Bersaing. Universitas Lampung.
- Rizal, S., dan Marniza. 2004. Aktivitas Antibakteri Minuman Fermentasi Laktat Sari Kulit Nanas terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. Universitas Lampung
- Rizal, S., Marniza, dan Nurdin, S. U. 2006. Optimasi Proses Pengolahan Minuman Probiotik dari Kulit Nanas dan Pengaruhnya terhadap Mikroflora Usus Besar Tikus Percobaan. Laporan Akhir Penelitian. TPSDP Unila. Bandarlampung.
- Rizal, S., Udayana, S., dan Marniza. 2007. Pengaruh Penambahan Glukosa dan Skim pada Pembuatan Minuman Laktat Sari Kulit Nanas yang Difermentasi oleh *Lactobacillus acidophilus*. Jurnal AGRITEK. Terakreditasi. Vol. 15 No. 1: Februari 2007. ISSN 0852-5426.
- Rizal, S., Udayana, S., dan Marniza. 2007. Pengaruh Penambahan Glukosa dan Skim pada Pembuatan Minuman Laktat Sari Kulit Nanas yang Difermentasi oleh *Lactobacillus casei*. Laporan Penelitian Dosen Muda.
- Robinson, R. K., 1981. Dairy Microbiology: The Microbiology of Milk Products. Volume 11. Applied Science Publishing. London.
- Rodas, B. Z. de, Gilliland, S. E., and Maxwell, C. V. 1996. Hypocholesterolemic Action of *L. acidophilus* ATCC 43121 and Calcium in Swine with Hypercholesterolemia Induced by Diet. J. Dairy Sci 79:2121-2128.
- Rolfe, R.D. 2000. The Role of Probiotic Cultures In The Control Of Gastrointestinal Health. J. of Nutr 2000; 130: S396-4024

- Roos, N. M. de, and Katan, M. B. 2000. Effect of Probiotic Bacteria on Diarrhea, Lipid Metabolism, and Carcinogenesis: A Review of Papers Published between 1988 and 1998. *Am J Clin Nutr.* 71:405-411.
- Rusilanti. 2006. Aspek Psikososial, Aktivitas Fisik, Konsumsi Makanan, Status Gizi dan Pengaruh Susu Plus Probiotik *Enterococcus faecium* IS-27526 (MEDP) terhadap Respons Imun IgA Lansia. Desertasi, GMK, Sekolah Pascasarjana, IPB. Bogor.
- Russel, J. B. and Diaz-Gonzales. 1998. *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker. New York.
- Salminen, S. and Wright, A. 1993. *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker.
- Salminen, S., Wright, AV., Ouwehand, A. 2004. *Lactic Acid Bacteria*. Marckel Dekker. New York.
- Sandine, W.E. 1979. Roles of *Lactobacillus* in the Intestinal Tract. *J Food Protection* 42(3):259-62.
- Santoso B, Maunatin A, Hariadi BT, Abubakar H. 2013. Isolation and identification of lactid acid bacteria originated from king grass (*Pennisetum purpureophoides*) as candidate of probiotic for livestock. *JITV* 18(2): 131-137.
- Shida, K., Kiyoshima-Shibata, J., Nagaoka, M., Watanabe, K., and Nanno, M. 2006. Induction of interleukin-12 by *Lactobacillus* strains having a rigid cell wall resistant to intracellular digestion. *J Dairy Sci.* 89(9):3306-17.
- Solga, S. F. and Diehl, A. M. 2004. Gut Flora-Based Therapy in Liver Disease? The Liver Cares About the Gut. *Hepatology.* 39:5-10.
- Speck, M. L. 1978. *Development in Industrial Microbiology. Economic Microbiology Fermented Food Vol. VII.* Academic Press. London.
- Suharyono, A. S., Rizal, S., dan Nurainy, F. 2010. Karakteristik Minuman Sinniotik dari Ekstrak Daun Cincau Hijau (*Premna oblongifolia* Merr.) dengan Konsentrasi Sukrosa dan Susu Skim yang Berbeda. Prosiding Seminar Nasional Sains MIPA dan Aplikasinya. ISSN 2086-2342. Volume 1, 16-17 November 2009.
- Supardi, 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Penerbit Alumni Bandung. Bandung.
- Surono, I. S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). TRICK. Jakarta

- Suskovic, J., Kos, B., Goreta, J., and Matosic, S. 2001. Role of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in Synbiotic Effect. *Food Technol. Biotechnol.* 39(3):227-235.
- Tamime, A. Y. and R. K. Robinson. 1985. *Yogurt Science and Technology*. Pergamon Press Ltd. New York.
- Taufik, E. 2004. Dadih Susu Sapi Hasil Fermentasi Berbagai Starter Bakteri Probiotik yang Disimpan pada Suhu Rendah: Karakteristik Kimiawi. *Med. Petern.* 27: 88-100.
- Triana, E., dan N. Nurhidayat. 2007. Seleksi dan Identifikasi *Lactobacillus* Kandidat Probiotik Penurun Kolesterol Berdasarkan Analisis Sekuen 16s RNA. *Biota*, 12 (55-60).
- Usman dan Hasono, A. 1999. Bile Tolerance, Taurocholate Deconjugation and Binding of Cholesterol by *Lactobacillus gasseri* Strains. *J. Dairy Sci.* 82:243-248.
- Vedamuthu. 1982. *Fermented Foods*. Academic Press, Inc. London.
- Waspodo I, S. 2001. Efek Probiotik, Prebiotik dan Sinbiotik bagi Kesehatan. <http://www.kompas.com/kompas-cetak/0109/30/iptek/efek22.htm>. Diakses pada 26 Maret 2015.
- Waspodo. 1997. *Probiotik Bakteri Pencegah Kanker*. Intisari.
- Widowati, S. dan Misgiyarta. 2003. Efektifitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein/ Susu Nabati. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika Pertanian.
- Winarno, F. G . 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka. Jakarta.
- Xiaodong, P. F., Tianxing, C., Honggang, W., and Zhanyu, Z. T. 2009. The Acid, Bile Tolerance and Antimicrobial Property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Food Control*, 20, pp 598–602.
- Yamamoto, N., Maino, M. and Takano, T. 1999. Purification and Characterization of Antihypertensive Peptide from a Yoghurt-like Product Fermented by *L. helveticus* CPN4. *J. Dairy Sci.* 77:917-922.
- Yuguchi, H., Goto, T., and Okonogi, S. 1992. *Fermented Milk, Lactic Drinks, and Intestinal Mikroflora. Function of Fermented Milk: Challenge for The Health Science*. Elsevier Applied Science, New York.
- Yuliana, N., and Rizal, S. 2005. Lactic Fermented Beverage Made from Turi Cereal has Antimicrobial Potency Against Selected Patogen and Spoilage Bacteria. *Proceeding: International Conference on Food Science and Technology VI, The Annual Meeting*. November 2005.