

**PENGARUH BERBAGAI VARIASI PENGENCERAN JUS TERHADAP
MUTU JUS PROBIOTIK CAMPURAN (DAUN KATUK, WORTEL DAN
NENAS MADU) SELAMA PENYIMPANAN SUHU RENDAH**

(Skripsi)

Oleh

TRISNA AULIA



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRACT

THE EFFECT OF JUICE DILUTION VARIATIONS ON MIXED PROBIOTIC JUICE (KATUK LEAF, CARROT AND PINEAPPLE) QUALITY DURING COLD STORAGE

By

TRISNA AULIA

Healthy vegetables and fruits are potential to become non-diary probiotic products with abundant vitamins, minerals and antioxidants. This study aimed to evaluate the effect of cold storage on the change of sensory, microbiology and some of chemical characteristics of probiotic vegetable mix juice derived from Asian sweet leaf known as katuk leaf (*Sauvagesia androgynus* L.), carrot (*Daucus carota*) and pineapple (*Ananas comosus* L.). Different juice dilution proportions (juice:water) of vegetable mix juice were inoculated with 24 hour old culture starter of *Lactobacillus casei* FNCC 0090 NRRL B 1992. Furthermore, vegetable mix juice were incubated at 37°C up to 2 hours. Probiotic vegetable mix juice were stored at ±4°C for 0, 7, 14 and 21 days and changes in lactic acid bacteria (LAB) population and viability, pH, titrable acidity, total soluble solid (TSS) and sensory evaluation were observed during cold storage. The results showed that control treatment (without added water) has fewer viable cell count of LAB and significant decrease in % viability on 21 days cold storage.

Overall, the observation showed that LAB decreased from 10^{11} CFU/ml to 10^8 CFU/ml, % viability of LAB decreased from 100 to 69,7%, pH decreased from 4,81 to 3,41, TPT decreased from 13,8 to 7,77 °Bx then titrable acidity increased from 0,19 to 1,36% with overall acceptance of hedonic sensory test increased from 3,05 (moderate like) to 3,9 (like) during cold storage.

Keywords : *vegetables probiotic juice, dilution, cold storage*

ABSTRAK

PENGARUH BERBAGAI VARIASI PENGENCERAN JUS TERHADAP MUTU JUS PROBIOTIK CAMPURAN (DAUN KATUK, WORTEL DAN NENAS MADU) SELAMA PENYIMPANAN SUHU RENDAH

Oleh
TRISNA AULIA

Sayuran dan buah memiliki potensi besar untuk menjadi produk probiotik non-susu dengan vitamin, mineral, dan antioksidan yang melimpah. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penyimpanan dingin terhadap perubahan sensori, mikrobiologi dan beberapa karakteristik kimia jus sayur probiotik campuran yang berasal dari *Asian sweet leaf* yang dikenal sebagai daun katuk (*Sauvages androgynus L.*), wortel (*Daucus carota*) dan nanas (*Ananas comosus L.*). Proporsi pengenceran (jus: air) yang berbeda-beda dari jus campuran sayuran diinokulasi dengan starter kultur kerja *Lactobacillus casei* FNCC 0090 NRRL B 1992 yang berumur 24 jam. Selanjutnya, jus sayur campuran diinkubasi pada suhu 37°C hingga 2 jam. Jus sayur probiotik campuran disimpan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 0, 7, 14 dan 21 hari dan perubahan jumlah populasi dan viabilitas bakteri asam laktat (BAL), pH, total asam laktat, total padatan terlarut (TSS) dan sensori diamati selama penyimpanan dingin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kontrol (tanpa penambahan air) memiliki total BAL yang lebih sedikit dan penurunan % viabilitas yang besar pada penyimpanan dingin 21 hari.

Secara keseluruhan, hasil pengamatan menunjukkan bahwa total BAL menurun dari 10^{11} CFU/mL menjadi 10^8 CFU/mL, % viabilitas BAL menurun dari 100 menjadi 69,7%, pH menurun dari 4,81 menjadi 3,41, TPT menurun dari 13,8 menjadi 7,77 °Bx kemudian total asam laktat meningkat dari 0,19 menjadi 1,36% dengan penerimaan keseluruhan uji sensori meningkat dari 3,05 (suka sedang) menjadi 3,98 (suka) selama penyimpanan dingin.

Kata Kunci : *jus sayur probiotik, pengenceran, penyimpanan dingin*

**PENGARUH BERBAGAI VARIASI PENGENCERAN JUS TERHADAP
MUTU JUS PROBIOTIK CAMPURAN (DAUN KATUK, WORTEL DAN
NENAS MADU) SELAMA PENYIMPANAN SUHU RENDAH**

Oleh

TRISNA AULIA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

Judul Skripsi

: PENGARUH BERBAGAI VARIASI
PENGENCERAN JUS TERHADAP MUTU JUS
PROBIOTIK CAMPURAN (DAUN KATUK,
WORTEL DAN NEHAS MADU) SELAMA
 PENYIMPANAN SUHU RENDAH

Nama Mahasiswa

: Trisna Aufia

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1514051015

Program Study

: Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas

: Pertanian



Prof. Dr. Tirza Hanum, M.S.
NIP. 19470203 197502 2 001

Prof. Ir. Netti Yuliana, M.Si., Ph.D.
NIP. 19650725 199203 2 002

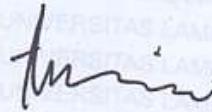
2. Ketua Jurusan Teknologi Pertanian

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

MENGESAHKAN

1. Tim Pengaji

: Prof. Dr. Tirza Hanum, M.S.



Ketua

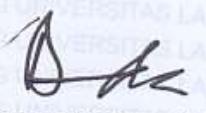
: Prof. Ir. Neti Yullana, M.Si., Ph.D.



Sekretaris

Pengaji

Bukan Pembimbing : Drs. Azhari Rangga, M.App. Sc.



2. Dekan Fakultas Pertanian



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

NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **10 September 2019**

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya adalah Trisna Aulia NPM 1514051015,

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri 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.

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

Bandar Lampung, Agustus 2019
Yang membuat pernyataan



Trisna Aulia
NPM 1514051015

RIWAYAT HIDUP

Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara buah hati pasangan Bapak Waluyo dan Ibu Siti Fatimah yang dilahirkan pada 28 Oktober 1997 di Pulosari, Lampung Timur. Penulis menyelesaikan pendidikan di SDN1 Harapan Rejo pada tahun 2009. Selanjutnya, pada tahun tersebut penulis melanjutkan pendidikan di SMP Swadiri 1 Seputih Agung, lulus tahun 2012. Kemudian, penulis menempuh pendidikan di SMAN 1 Seputih Agung, lulus tahun 2015. Pada tahun yang sama, penulis diterima sebagai mahasiswa jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di desa Tegineneng, Kabupaten Tanggamus pada bulan Januari-Februari 2018. Pada bulan Juli-Agustus 2018, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di Balai Standardisasi Industri (Baristand) Bandar Lampung dan menyelesaikan laporan PU berjudul “Verifikasi Metode Pengujian Kadar NO₂ pada Air Minum Dalam Kemasan (AMDK).” Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten dosen mata kuliah Kimia Dasar II tahun 2017 dan Kimia Dasar I tahun 2018.

Penulis juga aktif di kegiatan Unit Kegiatan Mahasiswa Penelitian pada tahun 2016 dan 2017 serta mengikuti beberapa lomba karya tulis nasional (LKTIN) dan memperoleh juara 3 LKTIN *Reaction, Chemweek* Institut Teknologi Surabaya tahun 2017, Finalis LKTIN Semarak Mahasiswa Bidikmisi Prestatif Universitas Diponegoro tahun 2017 dan Finalis PPIM Fair Universitas Negeri Padang tahun 2017. Selain itu, penulis juga aktif di komunitas sosial yang bergerak untuk pemberdayaan masyarakat di bidang pendidikan dengan menjadi *vice president of Languages Learning Club (LLC)* tahun 2016/2017, tutor Bahasa Inggris dan staff monev LLC tahun 2018/2019. Penulis juga memperoleh kesempatan sebagai *fully funded participant of International Scholarship Workshop Malaysia 2019.*

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan ke hadirat Allah SWT atas rahmat dan ridho-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis banyak mendapatkan bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
2. Ibu Ir. Susilawati, M.Si., selaku ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian;
3. Ibu Prof. Dr. Tirza Hanum, M.S, selaku pembimbing utama sekaligus pembimbing akademik atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, kritik, dan saran dalam proses penyelesaian skripsi ini serta motivasi selama berkuliah;
4. Ibu Prof. Ir. Neti Yuliana, M.Si., Ph.D., selaku pembimbing kedua atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, kritik, saran dan motivasi dalam proses penyelesaian skripsi ini;
5. Bapak Drs. Azhari Rangga, M.App. Sc., selaku penguji pada ujian skripsi.

Terimakasih atas masukan dan saran dalam penyelesaian skripsi ini;

6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staff administrasi dan laboratorium di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, seluruh pihak Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Lampung serta Laboratorium jurusan THP Politeknik Negeri Lampung;
7. Kedua orang tua dan adik-adik tercinta, atas doa, semangat, nasehat, kepercayaan dan dukungan di semua aspek yang selalu membersamai penulis;
8. Sahabat- sahabatku yang telah menjadi pundak terbaik selama berkuliah, Aisyah, Dinda, Ayu, Aziz, Dian F, Edith, Ruth, Meilinda dan Pasukan 18;
9. Tim penelitian terbaik, Aisyah dan Shifa serta seluruh teman- teman THP angkatan 2015 atas kebersamaan selama ini.

Penulis berharap Allah akan menyertai setiap orang yang telah berperan dalam mendukung penyelesaian skripsi ini. Penulis juga menyadari bahwa skripsi ini tidak sempurna, tetapi semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis atau pembaca.

Bandar Lampung, Agustus 2019

Trisna Aulia

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
I. PENDAHULUAN	2
1.1 Latar Belakang dan Masalah	2
1.2 Tujuan Penelitian	4
1.3 Kerangka Teoritis	5
1.4 Hipotesis	9
II. TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Minuman Probiotik.....	10
2.2 Bakteri Asam Laktat.....	12
2.3 <i>Lactobacillus casei</i>	13
2.4 Bahan Baku Minuman Probiotik	14
2.5 Katuk	15
2.6 Wortel	17
2.7 Nenas Madu.....	19
III. METODE PENELITIAN.....	21
3.1 Tempat dan Waktu.....	21
3.2 Bahan dan Alat	21
3.3 Metode Penelitian	22
3.4 Pelaksanaan Penelitian	23
3.4.1 Persiapan starter <i>Lactobacillus casei</i>	
FNCC 0090 NRRL B 1992	23
3.4.2 Pembuatan kurva standar pertumbuhan <i>Lactobacillus casei</i>	
FNCC 0090 NRRL B 1992	23
3.4.3 Proses pembuatan jus probiotik campuran	24
3.5 Pengamatan.....	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1 Total Bakteri Asam Laktat (BAL).....	30
4.2 Viabilitas BAL.....	33
4.3 Total Asam Laktat	35

4.4 Derajat Keasaman (pH)	37
4.5 Total Padatan Terlarut (TPT)	38
4.6 Karakteristik Sensori	40
4.6.1 Warna.....	40
4.6.2 Rasa	42
4.6.3 Aroma	44
4.6.4 Penerimaan Keseluruhan	47
4.7 Perlakuan Terbaik.....	49
 V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	 53
5.1 Kesimpulan.....	53
5.2 Saran	54
 DAFTAR PUSTAKA	 55
 LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi kimia daun katuk per 100 g berat basah	17
2. Komposisi zat gizi wortel per 100 g berat basah	18
3. Kandungan gizi nenas per 100 g berat basah.....	20
4. Rasio penggunaan bahan (daun katuk, wortel, nenas madu dan air)	24
5. Kuisioner uji sensori terhadap uji hedonik jus probiotik campuran	29
6. Rekapitulasi hasil pengamatan pada seluruh perlakuan jus probiotik campuran	52
7. Total BAL (CFU/mL) jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	64
8. Transformasi total BAL (CFU/mL) jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	64
9. Uji kehomogenan ragam (<i>Bartlett's test</i>) total BAL (log CFU/mL) jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	65
10. Analisis ragam total BAL (log CFU/mL) jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	66
11. Uji lanjut OP-OC total BAL (log CFU/mL) jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	67
12. Viabilitas BAL (%) jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	70
13. Uji kehomogenan ragam (<i>Bartlett's test</i>) viabilitas BAL (%) jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	71
14. Analisis ragam viabilitas BAL (%) jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	72

15. Uji lanjut OP-OC viabilitas BAL jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	73
16. Transformasi total asam laktat jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	76
17. Total asam laktat jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	77
18. Uji kehomogenan ragam (<i>Bartlett's test</i>) total asam laktat jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	78
19. Analisis ragam total asam laktat jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	79
20. Uji lanjut OP-OC total asam laktat jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	80
21. Nilai pH jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	83
22. Uji kehomogenan ragam (<i>Bartlett's test</i>) nilai ph jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	84
23. Analisis ragam nilai pH jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	85
24. Uji lanjut OP-OC nilai pH jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	86
25. Jumlah TPT jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	89
26. Uji kehomogenan ragam (<i>Bartlett's test</i>) TPT jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	90
27. Analisis ragam TPT jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	91
28. Uji lanjut OP-OC TPT jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	92
29. Skor warna jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	95
30. Uji kehomogenan ragam (<i>Bartlett's test</i>) skor warna jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	96
31. Analisis ragam skor warna jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	97

32. Uji OP-OC skor warna jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	98
33. Skor rasa jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	101
34. Uji kehomogenan ragam (<i>Bartlett's test</i>) skor rasa jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	102
35. Analisis ragam skor rasa jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	103
36. Uji OP-OC skor rasa jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	104
37. Skor aroma jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	107
38. Uji kehomogenan ragam (<i>Bartlett's test</i>) skor aroma jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	108
39. Analisis ragam skor aroma jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	109
40. Uji OP-OC skor aroma jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	110
41. Skor penerimaan keseluruhan jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	113
42. Uji kehomogenan ragam (<i>Bartlett's test</i>) skor penerimaan keseluruhan jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	114
43. Analisis ragam skor penerimaan keseluruhan jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	115
44. Uji OP-OC skor penerimaan keseluruhan jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	116

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Diagram alir pembuatan jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	25
2. Pengaruh proses pengenceran dan penyimpanan dingin terhadap total BAL jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	31
3. Pengaruh proses pengenceran dan penyimpanan dingin terhadap viabilitas BAL jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	33
4. Pengaruh proses pengenceran dan penyimpanan dingin terhadap total asam laktat jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	36
5. Pengaruh proses pengenceran dan penyimpanan dingin terhadap pH jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	37
6. Pengaruh proses pengenceran dan penyimpanan dingin terhadap TPT jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	39
7. Pengaruh proses pengenceran dan penyimpanan dingin terhadap skor rasa jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	43
8. Pengaruh proses pengenceran dan penyimpanan dingin terhadap skor aroma jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu	45
9. Pengaruh proses pengenceran dan penyimpanan dingin terhadap skor penerimaan keseluruhan jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.....	47
10. Kultur <i>L.casei</i> 0090<-NRRL B-1922 (a), inokulasi kultur <i>L.casei</i> pada media MRS A baru (b), kultur <i>L.casei</i> pada media MRS A baru (c), inokulasi kultur <i>L.casei</i> pada media MRS B (d), Kultur <i>L.casei</i> pada media MRS B (e), inkubasi Kultur <i>L.casei</i> (f) dan kultur <i>L.casei</i> pada media MRS B setelah inkubasi (kultur stok) (g)	119
11. Susu skim 5% (b/v) (a), Susu skim setelah sterilisasi (b), inokulasi 4% kultur stok ke dalam susu skim 5% (b/v) (c), inkubasi selama 48 jam (d), kultur antara (e), inokulasi 4% kultur antara ke dalam susu skim 5% (b/v) + glukosa 3% (f), kultur kerja <i>L.casei</i> (g)	119

12. Penimbangan bahan (daun katuk, nenas nadu dan wortel) (a), blansir daun katuk (b), bahan jus probiotik campuran (c), penghancuran bahan dengan <i>juicer</i> (d), pengenceran jus campuran (e), pasteurisasi jus campuran yang telah dimasukkan ke dalam botol kaca steril (f), pennddinginan setelah pasteurisasi (g), inokulasi dengan 4% kultur kerja <i>L.casei</i> (h), inkubasi jus campuran (i), jus probiotik campuran (j) dan penyimpanan pada suhu rendah (k)	120
13. Pemipetan sampel jus probiotik campuran ke dalam cawan petri steril (a), sampel pada cawan petri yang telah ditambahkan MRS A (b), pembuatan suasana anaerob pada uji viabilitas BAL (c), inkubasi cawan petri untuk pengujian total BAL dan viabilitas BAL (d), koloni BAL yang tumbuh pada media MRS A (e), penggunaan refraktometer untuk uji TPT (f), pengujian pH (g), pengujian total asam laktat dengan metode titrasi (h) dan pengujian sensori (i).....	121

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah

Seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan beberapa tahun terakhir, konsumen mulai menyadari akan pentingnya kesehatan dan kebaikan gizi dalam suatu pangan. Hal tersebut menyebabkan peningkatan permintaan konsumen terhadap pangan fungsional, misalnya pangan probiotik (Chonan, 2011). Menurut FAO/WHO (2002), pangan probiotik memiliki pengaruh baik pada kesehatan pencernaan karena mengandung mikroba probiotik seperti Bakteri Asam Laktat (BAL), kelompok *Bifidobacterium* dan ragi *Saccharomyces boulardii* (Yuniastuti, 2014). Ding dan Shah (2008), menyatakan bahwa konsentrasi minimal probiotik yang hidup dalam pangan probiotik siap dikonsumsi adalah sekitar 10^7 CFU/mL.

Selama ini, masyarakat telah mengenal jus probiotik berbasis susu. Namun, konsumsinya terbatas karena penderita *Lactose intolerant* atau pelaku diet kolesterol tidak dapat mengkonsumsinya. Selain itu, peningkatan jumlah kelompok vegertarian juga menyebabkan perlunya inovasi jus probiotik berbasis non-susu (Martin *et al.*, 2013). Jus probiotik yang berasal dari buah dan sayur dapat menjadi pilihan produk fermentasi non-susu yang baik karena kaya akan nutrisi seperti vitamin, mineral, antioksidan dan karbohidratnya yang dapat menjadi substrat pertumbuhan probiotik.

Kelebihan lainnya, jus probiotik yang berasal dari buah dan sayur juga cocok untuk dikonsumsi semua umur karena lebih mudah dicerna oleh tubuh dari pada jus probiotik berbasis susu, sehingga mikroba probiotik akan lebih singkat berada pada kondisi asam di lambung manusia, hal ini meningkatkan potensi mikroba probiotik untuk sampai ke bagian usus (Ding dan Shah, 2008).

Selain kelebihan tersebut di atas, pemilihan kombinasi buah dan sayur untuk memperoleh jus probiotik dengan sifat sensori yang dapat diterima konsumen sangat perlu dilakukan. Jus probiotik dibuat dari bahan sayur (daun katuk dan wortel) dan buah nanas juga penambahan kultur *Lactobacillus casei* yang didasarkan pada kemampuan *Lactobacillus casei* untuk bertahan pada kisaran pH 4,3-3,7 (Tripathi dan Giri, 2014). Daun katuk dan wortel digunakan karena merupakan sayur yang banyak ditemukan di Indonesia. Kandungan serat pada 100 g wortel 2,8 g dan total gula 4,74 g (USDA, 2007). Selain itu, dalam 100 g daun katuk juga mengandung serat sebanyak 1,5 g dan karbohidrat 11 g (Santoso, 2009). Serat dan gula ini dapat digunakan oleh BAL sebagai substrat (Zubaidah, 2006; dan Retnowati dan Kusnadi, 2014). Daun katuk memiliki banyak fungsi kesehatan untuk tubuh, beberapa diantaranya dapat menstimulasi ASI , mengandung antioksidan dan klorofil (Rukmana, 2003). Wortel juga diketahui sebagai salah satu sayuran dengan zat gizi yang bermanfaat untuk tubuh karena mengandung beta karoten yang dapat berfungsi sebagai antioksidan dan pro vitamin A (Winarsi, 2007). Nenas madu mengandung banyak vitamin C dan beta karoten sebagai antioksidan (Septiatin, 2009). Selain itu, nenas madu juga berguna untuk menciptakan rasa asam dan aroma harum pada jus probiotik.

Pengenceran jus perlu dilakukan untuk memperoleh jus probiotik dengan sifat sensori yang dapat diterima konsumen. Namun, Rakhmawati dan Yunianta *et al.*, (2015) menyatakan bahwa selain mempengaruhi sifat sensori, proporsi penambahan air pada pembuatan sari buah dapat mempengaruhi kadar total padatan terlarut (TPT). Semakin banyak penambahan air pada saat pengenceran, maka jumlah TPT nya akan menurun. Retnowati dan Kusnadi (2014), melaporkan bahwa semakin banyak air yang ditambahkan pada saat pengenceran, maka jumlah nutrisi yang terkandung dalam bahan juga semakin menurun. Hal tersebut dapat mempengaruhi ketersediaan nutrisi bagi mikroba probiotik. Oleh sebab itu, pengenceran yang optimum diperlukan untuk memperoleh sifat sensori yang diterima dengan jumlah nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan BAL. Hussein *et al.*, (2017) menyatakan bahwa beberapa formulasi jus campuran apel, kiwi, lemon, nenas, beet, jeruk, seledri, wortel, kunyit, pisang, *cantaloupe* dan *wheat germ* mengandung TPT sekitar 13,7-17,1%. Yuliana *et al.*, (2016) melaporkan bahwa pada pembuatan jus probiotik dari buah durian Lay digunakan sari buah durian dengan TPT sekitar 10°Brix.

Viabilitas dan sifat fungsional mikroba probiotik sangat penting untuk dijaga karena akan berpengaruh pada mutu produk probiotik (Cruz *et al.*, 2010). Selama penyimpanan dingin akan terjadi perubahan sifat mikrobiologis, kimia dan sensori produk. Nematollahi *et al.*, (2016) menyatakan bahwa selama 28 hari penyimpanan dingin jus probiotik buah Cherry mengalami penurunan pH akibat *L.casei* tumbuh dengan viabilitas yang baik.

Penelitian lain oleh Yuliana *et al.*, (2016) juga menunjukan bahwa terjadi perubahan sifat kimia dan mikrobiologis jus probiotik durian Lay. Jus probiotik sari durian Lay yang disimpan pada suhu rendah selama 4 minggu mengalami penurunan gula reduksi dan pH, kenaikan TPT, total asam dan BAL secara kuadratik serta perubahan sifat sensori dan viabilitas BAL yang menurun. Hashemiravan *et al.*, (2016) juga melaporkan bahwa terjadi perubahan sifat jus probiotik campuran apel, beet dan nanas selama 28 hari penyimpanan pada suhu 4 °C yang mengalami penurunan jumlah BAL (berkisar antara 10^6 - 10^7 CfU/ml), gula reduksi dan TPT. Berdasarkan hal diatas, sangat penting untuk mempelajari perubahan-perubahan yang terjadi selama penyimpanan jus probiotik untuk memperoleh mutu produk yang tetap memenuhi syarat sebagai jus probiotik dan disukai sifat sensorinya. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pengenceran dan masa simpan terhadap sifat sensori dan mikrobiologis jus probiotik campuran.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh pengenceran terhadap mutu jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu;
2. Mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap mutu jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu;
3. Mengetahui pengenceran jus dan lama penyimpanan terbaik terhadap mutu jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.

1.3. Kerangka Teoritis

Pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain nutrisi, temperatur, kelembapan, Oksigen, pH dan substansi penghambat (Rahman, 1989).

Ketersediaan sumber karbon memiliki pengaruh yang besar dalam pembuatan jus probiotik karena dapat memenuhi kebutuhan nutrisi BAL selama fermentasi.

Kandungan gula pada bahan pangan menjadi sumber karbon bagi probiotik untuk bermetabolisme (Bergmann *et al.*, 2010). Sumber nutrisi yang diamati yaitu total padatan terlarut (TPT) yang terdiri dari total gula, pigmen, protein dan asam organik (Retnowati dan Kusnadi, 2014). Selain itu, menurut Zubaidah (2006), pada penelitian pengembangan probiotik berbasis bekatul, dilaporkan bahwa BAL juga menggunakan serat yang terkandung dalam bekatul untuk bermetabolisme yang ditandai dengan penurunan jumlah serat selama proses fermentasi.

Penelitian tentang jus probiotik ini berbasis sayuran khas tropis (daun katuk) dan wortel dengan penambahan nenas madu untuk meurunkan pH dan memperbaiki sifat sensori jus probiotik. Berdasarkan penelitian pendahuluan terhadap beberapa formula daun katuk, wortel dan nenas madu yang telah didapatkan hasil berupa perbandingan (daun katuk : wortel : nenas madu) sebesar 30:90:80 (b/b/b) dengan pH sekitar 4,53 dan TPT 15°Brix. Formulasi tersebut menghasilkan jus campuran dengan rasa agak masam dan *after taste* agak pahit, aroma sangat khas katuk dan nanas, serta warna hijau-oranye gelap, sehingga pengenceran jus diperlukan untuk memperoleh konsentrasi jus tertentu yang menghasilkan sifat sensori yang dikehendaki konsumen dan juga berpengaruh terhadap total gula dan serat pada jus yang dapat dimetabolisme oleh BAL.

Rakhmawati dan Yunianta (2015), melaporkan bahwa proporsi penambahan air pada pembuatan sari buah mempengaruhi sifat sensori dan kadar total padatan terlarut (TPT). Semakin banyak jumlah air yang ditambahkan maka jumlah TPT semakin menurun. Penelitian terdahulu, Retnowati dan Kusnadi (2014), menyatakan bahwa pada jus probiotik dari sari kurma dengan isolat *L.casei* dan *L.plantarum* diperoleh hasil bahwa pertumbuhan mikroba paling banyak pada penambahan air dengan jumlah paling sedikit. Penelitian pembuatan kefir nira siwalan oleh Mubin dan Zubaidah (2016) juga menghasilkan rerata total BAL lebih tinggi pada level pengenceran yang lebih kecil.

Jumlah air yang ditambahkan pada jus buah tergantung pada jenis buah yang digunakan dan kepekatan sari buah yang diinginkan (Afrianti *et al.*, 2014). Hal tersebut disebabkan karena setiap bahan baku memiliki karakteristik yang berbeda, namun diharapkan akan diperoleh sifat jus yang homogen dengan sifat fisik dan kimia yang baik dengan pengenceran. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dilakukan variasi pengenceran (jus:air) dengan perbandingan 1:1/4, 1:2/4 dan 1:3/4 serta terdapat perlakuan kontrol (tanpa pengenceran). Berdasarkan hal tersebut, diduga bahwa perlakuan variasi perbandingan pengenceran akan menghasilkan kualitas karakteristik sensori dan mikrobiologis yang berbeda pada jus probiotik campuran yang difermentasi dengan bakteri *Lactobacillus casei*.

Umumnya minuman yang mengandung probiotik disimpan pada suhu dingin. Rizal *et al.*, (2006) menyatakan bahwa jus probiotik yang disimpan pada suhu ruang akan lebih mudah rusak, sehingga digunakan metode penyimpanan jus probiotik pada suhu dingin untuk membantu memperlambat aktivitas probiotik. Selama proses penyimpanan dingin akan terjadi proses perubahan sifat mikrobiologis dan sensori dari jus probiotik. Perubahan sifat sensori dan mikrobiologis jus probiotik campuran (daun katuk, wortel dan nenas madu) perlu dipelajari selama penyimpanan untuk menjamin bahwa mutu produk tetap memenuhi persyaratan sebagai jus probiotik dan sifat sensori yang masih dapat diterima oleh konsumen.

Mutu jus probiotik buah dan sayur meliputi sifat mikrobiologis, kimia dan penilaian konsumen terhadap sesori produk. FAO (2007) menyatakan bahwa minuman probiotik harus mengandung mikroba hidup yang bersifat probiotik $>10^7$ CFU/mL. Kriteria mutu yang harus dipenuhi untuk memperoleh jus probiotik campuran yang baik selain menjaga viabilitas mikroorganisme adalah karakteristik sensorinya harus diterima oleh konsumen (Cruz *et al.*, 2010). Tingkat keasaman pada jus probiotik akibat metabolisme BAL akan mempengaruhi penerimaan konsumen terhadap sifat sensori produk, terutama karakteristik aroma dan rasa yang khas minuman probiotik. Yuliana *et al.*, (2016); Shisheh *et al.*, (2014) dan Sharma dan Mishra (2012) melaporkan bahwa total asam laktat pada jus probiotik buah dan sayur berkisar dari 0,17-1,23% dan batas total asam laktat pada FAO (2001) maksimal sebesar 2%.

Jus probiotik buah dan sayur memiliki pH sekitar 3,34-5,2 (Nicoleescu dan Buruleanu (2010); Sharma dan Mishra (2012)). Selain itu, Lisai (2005) juga menyatakan bahwa jus probiotik harus stabil selama *storage and use* sehingga mutu jus probiotik tetap terjaga hingga dikonsumsi dan memberikan keuntungan bagi kesehatan pencernaan manusia.

Seiring dengan berjalannya penyimpanan maka akan terjadi pertumbuhan jumlah BAL dalam jus probiotik campuran yang menghasilkan metabolit berupa asam organik, salah satunya asam laktat. Akibat akumulasi asam laktat selama penyimpanan dingin menyebabkan penurunan pH dan kenaikan penilaian skor sensori karena tercipta rasa dan aroma asam khas jus probiotik yang disebabkan oleh aktivitas BAL (Shisheh *et al.*, 2014). Ketersediaan nutrisi yang terdapat pada jus probiotik juga dapat mempengaruhi pertumbuhan BAL selama penyimpanan dingin. TPT akan menurun seiring dengan lama penyimpanan dingin yang diduga karena gula pada bahan digunakan oleh BAL untuk bermetabolisme (Hashemiravan *et al.*, 2016). Beberapa penelitian oleh Nematollahi *et al.*, (2016) , Yuliana *et al.*, (2016) dan Hashemiravan *et al.*, (2016) melaporkan bahwa jus probiotik bertahan selama 28 hari penyimpanan pada suhu 4 °C. Oleh karena itu, diduga bahwa jus probiotik ini dapat memiliki masa simpan yang baik pada penyimpanan dingin selama 21 hari dengan pengenceran yang tepat untuk menghasilkan sifat sesori yang diterima dan jumlah nutrisinya mencukupi pertumbuhan BAL selama penyimpanan dingin.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah :

1. Pengenceran berpengaruh terhadap mutu jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu;
2. Lama penyimpanan berpengaruh terhadap mutu jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu;
3. Terdapat pengenceran dan lama penyimpanan terbaik terhadap mutu terbaik jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minuman probiotik

Minuman probiotik adalah jenis minuman fungsional yang memiliki efek kesehatan serta mengandung mikroba hidup atau biasa disebut probiotik. Probiotik sendiri merupakan bakteri hidup yang dapat mempengaruhi kesehatan dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam usus dan mencegah serta menyeleksi mikroba yang tidak berfungsi (Primurdia dan Kusnadi, 2014). Minuman probiotik diolah dengan cara memanfaatkan probiotik tertentu untuk membantu proses fermentasi bahan. Jenis probiotik yang biasa digunakan berasal dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Lee dan Salminen, 2009). Bakteri probiotik ini dapat bertahan hidup dalam saluran pencernaan setelah dikonsumsi serta mampu bertahan pada kondisi lambung yang cenderung asam (Retnowati dan Kusnadi, 2014). Suatu produk dapat dikatakan sebagai produk probiotik apabila produk tersebut mengandung bakteri probiotik yang masih hidup sampai di saluran pencernaan sebanyak 10^7 CFU/mL (Umam *et al.*, 2012).

Menurut Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO, 2002), pada dasarnya strain probiotik seharusnya tidak hanya mampu bertahan melewati saluran pencernaan tetapi juga memiliki kemampuan berkembang biak dalam saluran pencernaan, tahan terhadap cairan lambung dan cairan empedu dalam jalur makanan yang memungkinkan untuk bertahan hidup melintasi saluran pencernaan dan terkena paparan empedu. Selain itu probiotik juga harus mampu menempel pada sel epitel usus manusia, mampu membentuk kolonisasi pada saluran pencernaan dan memiliki kestabilan jumlah mikroba dalam makanan pembawa serta penyimpanan sehingga viabilitasnya baik dan berfungsi untuk kesehatan (Yogeswara *et al.*, 2011).

Menurut Lisai (2005), salah satu karakteristik probiotik yang diinginkan dari satu strain spesifik yaitu mempunyai karakteristik teknologi yang baik, yaitu mampu bertahan hidup dan stabil selama penyimpanan dan penggunaan (*storage and use*) dalam bentuk secara optimal preparat makanan yang didinginkan dan dikeringkan, agar dapat disediakan secara massal dalam industri. Probiotik juga menekan pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan dan merangsang mikroorganisme sejenis (Soeharsono, 1997). Probiotik menawarkan alternatif lebih baik untuk memperbaiki keseimbangan mikroflora usus dari pada antibiotik (Hull and Evans, 1992).

2.2 Bakteri Asam Laktat

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, tidak memiliki kemampuan untuk mereduksi nitrat, memanfaatkan laktat, kemampuan memfermentasi glukosa menjadi asam laktat 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). BAL sebagian besar dapat tumbuh sama baiknya di lingkungan yang memiliki dan tidak memiliki O_2 (tidak sensitif terhadap O_2), 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 (Fuller, 1992). BAL juga memiliki sifat probiotik, probiotik merupakan suatu kumpulan mikroba hidup yang sangat menguntungkan bagi sel inangnya dengan cara memperbaiki komposisi mikrobiota usus.

BAL yang memiliki sifat probiotik ini memiliki banyak efek positif seperti antimikroba, aktivitas antikolesterol, efek stimulasi sistem imun, meningkatkan penyerapan laktosa oleh tubuh, mencegah diare, dan aktivitas antimutagenik sehingga dapat mencegah penyakit kanker usus (Fuller, 1992; Surono, 2004; and Hill, 1995). Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah Bakteri *Lactobacillus casei* yang memiliki kemampuan 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). Berdasarkan hasil fermentasinya, BAL dibagi menjadi dua yaitu:

1. Bakteri homofermentatif adalah bakteri asam laktat yang memfermentasi karbohidrat dan hanya menghasilkan asam laktat sebagai produk satu-satunya. Contoh: *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan beberapa *Lactobacillus*;
2. Bakteri heterofermentatif adalah bakteri asam laktat yang memfermentasi karbohidrat dan selain menghasilkan asam laktat juga memproduksi senyawa-senyawa lainnya seperti etanol, asam asetat dan CO². Contoh: *Leuconostoc*, dan beberapa spesies *Lactobacillus*.

2.2.1 *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei merupakan bakteri Gram positif, anaerob fakultatif, non-motil, tidak membentuk spora, dan berbentuk batang. Bakteri ini sama seperti bakteri asam laktat lainnya, *L. casei* bersifat toleran terhadap asam, tidak dapat mensistesis porfirin, dan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir metabolisme.

Bakteri ini termasuk ke dalam genus *Lactobacillus* yang bersifat fakultatif hetero fermentatif (Axelsson, 1998). *Lactobacillus casei* dapat tumbuh antara suhu 15 – 45 °C dan membutuhkan riboflavin, asam folat, kalsium pantotenat, dan niasin. Bakteri ini termasuk spesies yang adaptif dan dapat diisolasi dari susu yang mentah dan yang telah dipermentasi, usus manusia dan hewan lainnya (Kandler dan Weiss, 1986).

Pada industri makanan, *L. casei* digunakan sebagai kultur awal untuk fermentasi susu, mempercepat dan memperbesar pembentukan rasa pada varietas keju tertentu, dan saat ini juga digunakan sebagai probiotik (Fonden *et al.*, 2000). Hutkins (2006) melaporkan bahwa *L. casei* sering digunakan sebagai kultur pembuatan keju dan produk-produk fermentasi susu lainnya. *Lactobacillus casei* menghasilkan peptidase dan enzim hidrolase protein lainnya yang diperlukan untuk membentuk rasa dan tekstur produk yang tepat. Selain itu, *L. casei* juga menghasilkan asam sitrat, komponen diasetil rasa, dan gas karbon dioksida (Kang dan Lee, 1985).

2.3 Bahan Baku Minuman probiotik

Minuman probiotik diolah dengan cara memanfaatkan probiotik tertentu untuk membantu proses fermentasi bahan. Jenis probiotik yang biasa digunakan berasal dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* (Lee dan Salminen, 2009). Bahan yang biasa digunakan adalah susu karena kadar laktosanya yang tinggi dan kaya akan nutrisi sehingga cocok sebagai tempat tumbuh probiotik. Tetapi saat ini, tidak hanya susu yang dapat menjadi bahan baku pembuatan minuman probiotik.

Sayuran, buah, serealia, dan kacang-kacangan dapat diolah menjadi suatu produk yang mengandung probiotik, khususnya buah dan sayur yang telah terbukti dapat menjadi media yang baik bagi pertumbuhan probiotik karena kelengkapan kandungan nutrisinya (Perricone *et al.*, 2015). Selain itu, buah dan sayur juga tidak memiliki komponen alergan hewani, sehingga dapat dikonsumsi semua kalangan (Coman *et al.*, 2010).

Nutrisi yang terkandung pada bahan baku minuman probiotik akan digunakan sebagai sumber nutrisi untuk mikroba probiotik. Gula akan dirombak menjadi asam laktat dan protein akan dirombak menjadi asam amino dan pepton (Fennema, 1976). Selain itu, pertumbuhan mikroba probiotik juga membutuhkan kondisi pH, enzim/prekusor yang dapat meningkatkan aktivitas probiotik serta senyawa lain untuk memacu pertumbuhan mikroba. *Lactobacillus casei* sebagai salah satu probiotik yang sering digunakan pada pembuatan jus probiotik membutuhkan riboflavin, asam folat, kalsium pantotenat, dan niasin sebagai faktor tumbuhnya (Zubaiddah *et al.*, 2005). Pertumbuhan *Lactobacillus casei* juga membutuhkan enzim, misalnya koenzim-A panthein phosphate (Brankovic and Baras, 2004).

2.4 Katuk

Katuk (*Sauvagesia androgynus*) merupakan tumbuhan sayuran yang banyak terdapat di Asia Tenggara. Ciri-ciri tanaman katuk adalah cabang-cabang agak lunak, daun tersusun selang-seling pada satu tangkai, berbentuk lonjong sampai bundar dengan panjang 2,5 cm, dan lebar 1,25-3 cm.

Katuk merupakan tanaman obat-obatan tradisionil yang mempunyai senyawa fitokimia yang terkandung di dalamnya berupa : *saponin*, *flavonoid*, dan *tanin*. *Isoflavonoid* pada daun katuk mampu memperlambat berkurangnya massa tulang (*osteomalasia*), sedangkan *saponin* terbukti berkhasiat sebagai antikanker dan meningkatkan sistem imun dalam tubuh (Santoso, 2014). Katuk juga mengandung banyak zat warna klorofil (Rahayu dan Lenawati, 2005).

Daun katuk merupakan salah satu jenis sayuran yang mudah diperoleh di setiap pasar, baik pasar tradisional maupun swalayan. Ditinjau dari kandungan gizinya, daun katuk merupakan jenis sayuran hijau yang banyak manfaat bagi kesehatan. Daun katuk mengandung cukup banyak kalori, protein, kalsium, zat besi, fosfor dan vitamin yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Daun katuk dapat memperlancar pengeluaran ASI, antioksidan dan sebagai pewarna makanan (Rukmana, 2003). Platel and Krishnapura (2017) melaporkan bahwa daun katuk mengandung *dietary fiber* sekitar 34-36%. Justin *et al.*, (2018) menyatakan bahwa *dietary fiber* memiliki efek kesehatan sebagai prebiotik yang dapat menjadi sumber Karbon utama atau cadangan dalam proses fermentasi oleh BAL.

Kandungan gizi dari daun katuk dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia daun katuk

Komposisi Zat Gizi	Jumlah ^a	Jumlah ^a
Protein	7.4g	5.25g
Lemak	1.1g	0.58g
Serat	1.8g	1.75g
Kadar Air	69.9g	85.4g
Karotenoid	5600 μ g	—
Riboflavin	0.21mg	—
Thiamin	0.50mg	—
Kalsium	711mg	84.4mg
Vitamin C	244mg	314.3mg

Sumber : ^aPadmavathi and Rao (1990) dan ^bSingh *et al.*, (2011)

2.5 Wortel

Wortel (*Daucus carota* L) adalah jenis sayuran yang berwarna kuning kemerahan atau jingga kekuningan dengan tekstur yang mirip seperti kayu (Malasari, 2005).

Bagian yang dapat dimakan dari wortel adalah bagian umbi atau akarnya. Wortel memiliki batang yang pendek, akar tunggang yang bentuk dan fungsinya berubah menjadi umbi bulat dan memanjang. Kulit umbi wortel tipis dan jika dimakan mentah terasa renyah dan agak manis (Makmun, 2007). Menurut Rubatzky dan Yamaguchi (1997) kantong minyak dalam ruang antarsel perisikel pada umbi wortel mengandung minyak esensial yang menyebabkan aroma yang khas dari wortel dan akar tunggangnya menyimpan gula dalam jumlah yang cukup banyak.

Gula-gula yang terdapat pada wortel umumnya terdiri dari Sukrosa, Glukosa, Fruktosa dan Maltosa. Menurut Alabran dan Mabrouk (1973), kandungan gula dan asam amino pada wortel tergantung dari jenis varietas wortel, lingkungan, pertanian, dan penyimpanannya.

Wortel merupakan sayuran yang memiliki banyak kandungan gizi yang bermanfaat untuk semua umur, terutama untuk kalangan anak-anak. Karotenoid, polifenol dan vitamin yang terdapat pada wortel dapat bertindak sebagai antioksidan, antikarsinogen, dan stimulasi imun. Karotenoid yang banyak ditemukan pada wortel adalah antioksidan yang dapat menetralkan efek radikal bebas dan memiliki aktivitas penghambatan mutagenesis yang berkontribusi untuk mengurangi risiko kanker (Dias, 2012). Zhang dan Hamauzuet (2004) juga melaporkan bahwa flavonoid dan turunan fenolik yang terdapat pada akar wortel juga memainkan peran penting sebagai antioksidan dengan aktivitas antikarsinogenik, mengurangi penghinaan inflamasi, dan memodulasi respon imun. Komposisi zat gizi wortel selengkapnya dapat disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Zat Gizi Wortel per 100 gram

<u>Komposisi Zat Gizi</u>	<u>Jumlah</u>
Energi	42 Kcal
Protein	0,93 g
Lemak	0,24 g
Karbohidrat	9,58 g
Serat	2,8 g
Abu	0,97 g
Gula Total	4,74 g
Pati	1,43 g
Air	88,29 g
Kalsium	33 mg
Vitamin C	6,00 mg
Vitamin A	16.706 IU
Vitamin B	0,06 mg
Vitamin E	0,66 mg
Vitamin K	13,2 Mcg
Karoten Beta	8285Mcg
Karoten Alpha	3477Mcg

Sumber : USDA National Nutrient Database for Standard Reference (2007)

2.6 Nenas Madu

Nanas madu tanpa duri (*Ananas comosus L*) adalah tanaman buah berbentuk semak dan hidupnya bersifat tahunan (*perennial*). Buah nanas madu memiliki kadar air yang tidak terlalu banyak dengan tingkat kemanisan yang jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan nanas lainnya, akan tetapi kondisi tersebut mempengaruhi ukuran nanas ini. Jika dibandingkan dengan nanas lain, nanas madu ini jauh lebih kecil. Batang tanaman nanas berukuran cukup panjang 20-25 cm atau lebih, tebal dengan diameter 2,0-3,5 cm, beruas-ruas (buku-buku) pendek. Batang sebagai tempat melekat akar, daun bunga, tunas dan buah, sehingga secara visual batang tersebut tidak nampak karena di sekelilingnya tertutup oleh daun. Tangkai bunga atau buah merupakan perpanjangan batang. Daun nanas panjang, tidak berduri dan rasanya manis asam. Diameter buah 11-16 cm dengan bobot 500-600 gram. Bahkan ada yang mencapai 2,5 kg (Triyanto, 2015).

Buah nanas mengandung zat gizi seperti vitamin A, C dan betakaroten, kalsium, fosfor, magnesium, besi, natrium, kalium dan enzim bromelin. Menurut Wijana, et al., (1991), nanas mengadung serat kasar sebesar 20,87% yang berfungsi untuk mempermudah buang air besar pada penderita sembelit. Cordenunsi (2010), melaporkan bahwa buah nanas mengandung karbohidrat berupa 36,7% galaktosa, 24,3% arabinosa, 21,6% xilase, 6,9% glukosa, 6,3% manosa, 3,1% fukosa dan 1% ramnosa. Nanas termasuk buah potensial untuk dikonsumsi sebagai sumber antioksidan.

Kemampuan nenas sebagai antioksidan dikatakan cukup baik dikarenakan buah ini mengandung banyak vitamin C dan β - karoten yang dikenal sebagai antioksidan penumpas radikal bebas (Septiatin, 2009). Kandungan gizi dalam 100 gram buah nenas dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Gizi Nenas dalam 100 g

<u>Komposisi Zat Gizi</u>	<u>Jumlah</u>
Energi	50 Kal
Protein	0,4 g
Lemak	0,2 g
Karbohidrat	13 g
Serat	0,4 g
Kalsium	19 mg
Fosfor	9 mg
Besi	0,2 g
Niacin	0,2 g
Vitamin A	20 IU
Vitamin B1	0,08 mg
Vitamin B2	0,04 mg
Vitamin C	20 mg

Sumber :Wirakusumah (2000)

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian Universitas Lampung, Laboratorium Mikrobiologi Balai Veteriner Lampung dan Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung pada bulan Desember 2018 – April 2019.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun katuk (*Sauropolis androgynus*), wortel (*Daucus carota L.*), dan nenas madu (*Ananas comosus L.*) yang diperoleh dari pedagang di daerah Raja Basa, Bandar Lampung. Sayur dan buah yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daun katuk muda dan tua, wortel segar dan sehat dan nenas madu varietas *Queen* yang cukup matang, berwarna kuning oranye, serta layak dikonsumsi. Bahan lain yang digunakan ialah kultur *Lactobacillus casei* FNCC 0090 NRRL B 1992 yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada (UGM), Glukosa merk *Mount Fuji* yang digunakan sebagai substrat pertumbuhan dan pemberi rasa manis, susu skim, MRS (*DeMann Ragosa Sharp*) Broth dan MRS Agar untuk pembuatan kultur, indikator PP, NaOH 0,1 N, larutan NaCl, alkohol 70%, dan bahan analisis kimia lainnya.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari peralatan *glass ware*, inkubator 37°C merk Heraeus, *autoclave* 121°C (15 menit) merk Daihan, Spektrofotometrer UV-Vis DR/4000U, neraca digital merk Shimadzu AY-220, pH meter digital merk adwa AD-12, mikropipet merk Erba, *juicer* merk Philips, botol kaca, pisau *stainless steel*, baskom, *hot plate stirrer*, vortex mixer VM-300, lemari pendingin merk Modena *Showcase Chiller* 1200 L, refraktometer merk ATC dan peralatan gelas lainnya.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak kelompok Lengkap (RAKL) dengan rancangan perlakuan yang disusun secara faktorial (dua faktor dan tiga kali pengulangan). Faktor pertama adalah pengenceran (P) (jus:air) yang terdiri dari 4 taraf, yaitu P0 sebagai kontrol (1:0), P1 (1:1/4), P2 (1:2/4) dan P3 (1:3/4) (v/v). Faktor kedua yaitu lama penyimpanan (S) yang terdiri dari 4 taraf, yaitu S0 (0), S1 (7), S2 (14) dan S3 (21) (hari). Berdasarkan penelitian pendahuluan diperoleh hasil formulasi *mix juice* (daun katuk:wortel:nanas) terbaik adalah 30:90:80 (g/g/g) dengan rasa agak masam dan *aftertaste* agak pahit, aroma sangat khas katuk dan nanas, serta warna sangat hijau pekat. Secara keseluruhan penelitian ini memiliki 48 unit perlakuan. Data yang diperoleh diuji kesamaan ragamnya dengan uji *Bartlett* dan kenambahan data dengan uji *Tuckey*. Data tersebut dianalisis lebih lanjut dengan *polinomial orthogonal* dan *contrast orthogonal* pada taraf nyata 1% dan 5%. Pengamatan dilakukan meliputi total BAL, total asam laktat, total padatan terlarut, pH, sifat sensori dan viabilitas BAL.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan starter *Lactobacillus casei* FNCC 0090 NRRL B 1992

Pembuatan starter dilakukan dengan metode Yuliana, *et al.*, (2016) yang telah dimodifikasi. Kultur bakteri yang akan digunakan dipindah ke tabung reaksi berisi MRS Broth steril. 1 mL MRS Broth tersebut diinokulasikan ke dalam susu skim 5% (b/v) steril 10 ml kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Kultur ini disebut kultur induk, selanjutnya 4% (v/v) dari kultur induk diinokulasikan ke dalam media susu skim (5% b/v) dan diinkubasi selama 24 jam sehingga didapat kultur antara. Tahap selanjutnya, diinokulasikan kultur antara sebanyak 4% (v/v) ke dalam media susu skim 5% (b/v) dengan penambahan 3% (b/v) glukosa steril. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu 37°C, sehingga didapatkan kultur kerja.

3.4.2 Pembuatan kurva standar pertumbuhan *Lactobacillus casei* FNCC 0090 NRRL B 1992

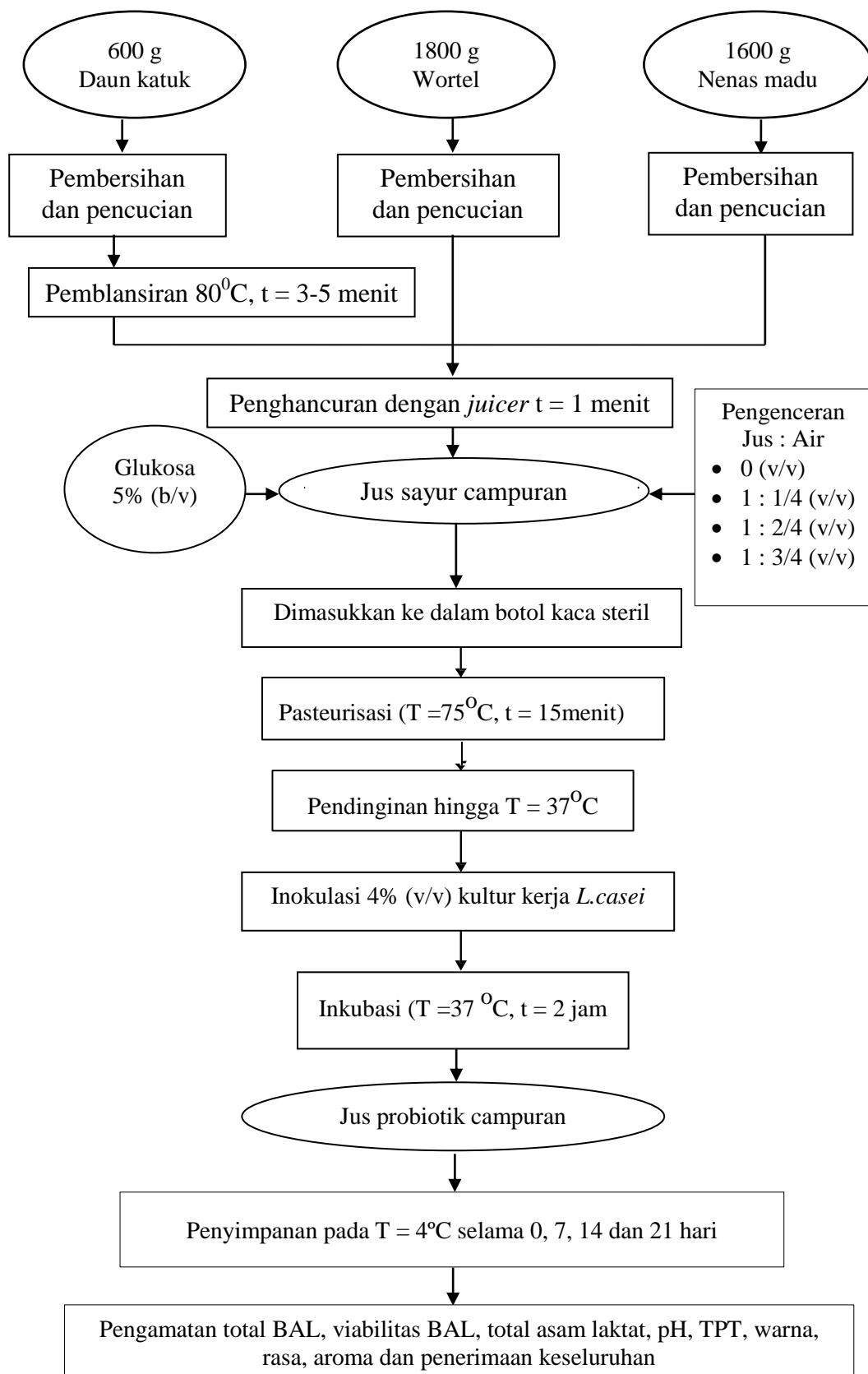
Pembuatan kurva standar dilakukan dengan metode Yuliana, *et al.*, (2008) yang telah dimodifikasi. Pengukuran *Optical Density* kultur kerja *L.casei* dilakukan dengan metode langsung berdasarkan turbiditas dengan cara sebanyak 1 mL sampel diencerkan hingga mendapatkan 10 titik (Pengenceran dilakukan dengan menambahkan 0,1;0,3;0,5;0,7;1;1,2;1,4;1,6;1,8 dan 2 mL kultur kerja dalam MRS B) kemudian diamati nilai OD nya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 620 nm (Sharah *et al.*, 2015). Kemudian, dilakukan pengujian total BAL untuk 10 titik sampel dan dilanjutkan dengan pengolahan data.

3.4.3 Proses pembuatan jus probiotik campuran

Sayur dan buah dibersihkan dari kotoran fisik , dicuci bersih dan ditimbang sesuai formulasi yaitu daun katuk : wortel : nenas madu sebesar 30:90:80 (g/g/g). Tahap selanjutnya dilakukan blansir daun katuk dengan merendam pada air panas dengan suhu 80°C selama 3-5 menit. Kemudian, seluruh bahan dihancurkan menggunakan *Juicer* sehingga diperoleh jus campuran. Jus campuran diencerkan dengan variasi penambahan air sesuai perlakuan yaitu jus: air sebesar 1:0; 1:1/4;1:2/4 dan 1:3/4 (v/v) yang dikemas dalam botol kaca steril sebanyak 100 mL untuk setiap sampel dan ditambahkan glukosa sebanyak 5% (b/v) dari 100 ml sampel. Jus campuran dipasteurisasi pada suhu 75°C selama 15 menit dan didinginkan hingga suhunya berkisar 37°C. Selanjutnya, dilakukan inokulasi 4% (v/v) dengan kultur kerja *L.casei* FNCC 0090 NRRL B 1992 dengan kepadatan sel sekitar Log 10,88; 11,08 dan 10,88 CFU/mL secara aseptis. Tahap selanjutnya adalah pelapisan tutup botol kaca dengan alumunium foil dan inkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam. Setelah inkubasi selesai, produk disimpan dalam pendingin dengan suhu ±4-6°C. Rasio penggunaan bahan (daun katuk, wortel, nenas madu dan air) dan diagram alir pembuatan jus probiotik campuran dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 1.

Tabel 4. Rasio penggunaan bahan (daun katuk, wortel, nenas madu dan air)

P	Jumlah Bahan/Ulangan					° Brix	Rasio Jus : air
	Daun katuk (g)	Wortel (g)	Nenas madu (g)	Jumlah jus (mL)	Air (mL)		
P0	210	630	560	400	0	± 13,2	1:0
P1	150	450	400	400	100	± 11,8	4:1
P2	120	360	320	300	150	± 10,2	2:1
P3	120	360	320	320	240	± 9,3	4:3
Total	600	1800	1600	1420	490		



Gambar 1. Diagram alir pembuatan jus probiotik (daun katuk, wortel dan nenas madu) (Yuliana *et al.*, 2016).

3.5 Pengamatan

1. Total Bakteri Asam Laktat

Pengamatan total bakteri asam laktat dilakukan setelah bakteri diinkubasi selama 48 jam. Analisis ini dilakukan dengan perhitungan cawan petri (Fardiaz, 1989). Sebanyak 1 ml sampel diencerkan dengan 9 ml larutan garam fisiologis steril. Campuran kemudian dihomogenkan dan diambil 1 ml larutan dari tabung pertama lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kedua yang berisi 9 ml larutan garam fisiologis steril sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} dan seterusnya hingga diperoleh pengenceran 10^{-8} atau sampai pada pengenceran yang diinginkan. Tiga pengenceran terakhir atau dari pengenceran yang dikehendaki diambil dengan pipet 1 ml, lalu sampel dimasukkan ke dalam cawan petri steril kemudian ditambahkan kira-kira 10-15 ml media MRS Agar steril.

Cawan yang telah berisi media dan sampel ini diratakan dengan cara menggerakkan secara vertikal membentuk angka 8 dan biarkan sampai membeku, kemudian cawan diinkubasi dengan posisi terbalik untuk mencegah mikroba terkena uap air yang dihasilkan saat inkubasi, sehingga kualitas mikroba tidak rusak atau mengalami gangguan. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 48 jam lalu dihitung koloni yang tumbuh dengan menggunakan alat penghitung koloni (*colony counter*). Total koloni yang terhitung harus sesuai standar *International Comission Microbiology Food* (ICMF) yaitu yang memiliki jumlah 30-300 koloni percawan petri (Fardiaz, 1989).

$$\text{Total BAL (Koloni/mL)} = \text{Jumlah Koloni Terhitung} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

2. Viabilitas BAL

Metode pengukuran viabilitas BAL mengacu pada Shin *et al.*, (2000). Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan pengencer pepton steril 0,1% sebanyak 9 mL, lalu dihomogenkan. Pengenceran terus dilakukan hingga mendapat pengenceran 10^{-4} . Sebanyak 1 mL dari masing-masing pengenceran dituang ke cawan petri dan ditambahkan MRS Agar steril yang telah didinginkan pada suhu $40^{\circ} - 50^{\circ}\text{C}$, kemudian digoyang secara mendatar. Setelah membeku, cawan diposisikan terbalik dan dimasukkan kedalam jar yang terdapat lilin, kemudian ditutup untuk memperoleh kondisi anaerob. Cawan diinkubasi selama 72 jam pada suhu 37°C . Cawan petri yang telah diinkubasi tersebut dihitung total koloni dengan *colony counter* dari setiap pengenceran yang dilakukan. Perhitungan persen viabilitas dihitung menggunakan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Viabilitas (\%)} = \frac{\text{CFU selama penyimpanan (hari)}}{\text{CFU awal}} \times 100\%$$

3. Total Asam Laktat

Pengujian total asam laktat dilakukan berdasarkan metode Kuswanto dan Sudarmadji, (1988). Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam Erlenmeyer selanjutnya diencerkan dengan 10 ml air suling, campuran tersebut kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N. Penentuan titik akhir titrasi digunakan indikator fenolftalin. Akhir titrasi tercapai setelah terbentuk warna merah muda yang konstan. Perhitungan total asam laktat dilakukan dengan rumus:

$$\% \text{ Asam Laktat} = \frac{N \text{ NaOH} \times \text{mL NaOH} \times \text{FP} \times \text{BM Asam Laktat}}{\text{mL Sampel} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan :

N = Normalitas larutan NaOH

FP = faktor pengenceran = 0,1

BM asam laktat (CH3CHOHCOOH) = 90

mL sampel = 1 mL

4. Total Padatan Terlarut

Pengukuran Total Padatan Terlarut (TPT) menggunakan refractometer sesuai SNI 01-2546-2004 pada suhu ruang dan dikalibrasi menggunakan air suling, sebanyak 1-2 tetes sampel dimasukan pada prisma refractometer. Jumlah TPT pada refractometer dilihat dengan cara mengarahkan prisma pada daerah dengan sinar yang terang, angka pada batas perpotongan antara daerah yang berwarna biru dan bening merupakan °Brix yang menyatakan jumlah TPT. Laju penurunan TPT selama penyimpanan dihitung dengan rumus :

$$\text{Laju penurunan TPT } (\text{°Brix/hari}) = \frac{\text{TPT hari ke } 21 - \text{TPT hari ke } 0}{21}$$

5. Derajat Keasaman (pH)

Nilai pH ditentukan dengan menggunakan pH meter (AOAC, 1990).

Pengamatan derajat keasaman dilakukan pada saat jus probiotik campuran selesai di fermentasi sesuai dengan perlakuan masa simpan produk. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan pH meter. Pengukuran terhadap larutan sampel dilakukan dengan mencelupkan elektrodanya ke dalam 20 mL larutan sampel dan dibiarkan beberapa saat hingga diperoleh pembacaan yang stabil.

6. Uji Sensori

Penilaian sensori jus probiotik campuran dilakukan dengan uji hedonik untuk penilaian penerimaan aroma, warna, rasa dan penerimaan keseluruhan produk (Nurainy dan Nawansih, 2006).

Sebelum sampel disajikan kepada panelis, 80 mL jus probiotik campuran ditambahkan dengan 40 mL larutan 65% sukrosa. Kemudian, 12 *cup* yang berisi 20 mL sampel jus probiotik campuran diberi kode 3 angka dan disajikan secara acak kepada 25 panelis dengan kriteria panelis semi terlatih yang berada di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

Penyajian sampel dilakukan pada 4 *booth* pengujian dengan 2 kali penyajian (masing-masing 6 sampel). Setiap *cup* sampel memiliki sendok utama dan setiap panelis diberikan 12 sendok lainnya untuk mencoba masing-masing sampel secara bergantian. Sebelum berpindah ke sampel lain, panelis menetralkan alat indra dengan meminum air mineral yang telah disediakan. Lembar kuisioner uji sensori dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kuisioner uji sensori terhadap uji hedonik jus probiotik campuran (daun katuk, wortel dan nenas madu)

Nama Panelis :.....		Tanggal :.....									
Sampel : Jus probiotik campuran (daun katuk, wortel dan nenas madu)											
UJI HEDONIK											
Dihadapan saudara disajikan sampel jus probiotik campuran yang diberi kode acak. Anda diminta untuk menilai secara uji hedonik/kesukaan dengan skor 1 sampai 5 sesuai keterangan yang terlampir.											
Parameter	Kode Sampel										
	456	567	675	771	588	987	908	564	342	632	712
Warna											
Rasa											
Aroma											
PK											
Keterangan :	Komentar :										
1: Sangat Tidak Suka											
2: Tidak Suka											
3: Agak Suka											
4: Suka											
5: Sangat Suka											

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Pengenceran berpengaruh sangat nyata terhadap peningkatan viabilitas BAL, skor warna, rasa, aroma dan penerimaan keseluruhan jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu, namum menurunkan total BAL, total asam laktat, pH dan TPT.
2. Lama penyimpanan berpengaruh sangat nyata terhadap peningkatan total BAL dan viabilitas BAL secara kuadratik, meningkatkan asam laktat, skor rasa, aroma dan penerimaan keseluruhan jus probiotik secara kuadratik, namum menurunkan pH secara kuadratik dan TPT secara linier serta tidak berpengaruh pada skor warna jus probiotik campuran daun katuk, wortel dan nenas madu.
3. Interaksi antara pengenceran dan lama penyimpanan terdapat pada total BAL, viabilitas BAL, TPT, aroma dan penerimaan keseluruhan yang menghasilkan karakteristik jus probiotik campuran terbaik yaitu pada perlakuan P2S2 dengan total BAL sebesar Log 10,98 CFU/mL, viabilitas 109,4%, pH 3,66, total asam laktat 0,98%, TPT 9,1°Bx, skor warna sebesar 4 (suka), skor rasa sebesar 4,05 (suka), skor aroma sebesar 3,98 (agak suka) dan skor penerimaan keseluruhan sebesar 3,92 (agak suka).

5.2. Saran

Saran dari penelitian ini adalah menggunakan perlakuan pengenceran P2 yang berpotensi untuk memperoleh jus probiotik campuran dengan sifat mikrobiologis dan sensori yang optimal dan perlu dilakukan penelitian uji in vivo jus probiotik campuran bagi kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrianti, L.H., Taufik, Y., dan Gustianova, H. 2014. Karakteristik Fisiko-Kimia dan Sensorik Jus Ekstrak Buah Salak Varietas Bongkok. Chimica at Natura Acta. 2(2):126-130.
- Alabran, D.M. and Mabrouk, A.F. 1973. Carrot Flavour, Sugars and Free Nitrogenous Compounds in Fresh Carrots. Journal of Agricultural and Food Chemistry 21: 205–208.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.
- Axelsson L. 1998. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: Salminen S, Wright A. V, Ouwehand A. (eds). Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspect. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, Inc., pp 1 – 66.
- Badan Standarisasi Nasional. 2009. SNI-7552:2009. Minuman Susu Fermentasi Berperisa. Jakarta.
- Brankovic and Baras, J. 2001. The Examination of Parameters for Lactic Acid Fermentation and Nutritive Value of Fermented Juice of Beetroot, Carrot and Brewer's Yeast Autolysate. J. Serb. Chem. Soc. 69 (8-9) 625-634.
- Carlson, J.L., Jennifer M. E., Lloyd, B. B. and Slavin, J.L. 2018. Health Effects and Sources of Prebiotic Dietary Fiber. Current Development in Nutrition. 2(3).
- Chonan, O., 2011. FOSHU Japanese Regulations for Probiotic Foods. Science Publishers, Enfield, CT, pp. 33_40.
- Coman MM, Silvi M, Verdenelli MC, Cecchin IC, Orpianesi C, and Cresci A. 2010. Fruit and Vegetable Juices Tested as Possible Probiotic Beverage. Supplement to AGROFOOD Industry. 21(2). P 28-31.

- Cordenunsi, B. Calixto, F. S., Rubio, M. E. D., Zuleta, A., Tine, M. A., Buckeridge, M. S., Silva, G. B., Carpio, C., Quintini, E. B., Menezes, E.W and Lajolo, F. 2010. Carbohydrate Composition of Ripe Pineapple (CV. Perola) and The Glycemic Response in Humans. Food Science and Technology. ISSN 0101-2061.
- Cruz, A.G., Cadena, R.S., Walter, E.H.M, and Faria, J.A.F. 2010. Sensory Analysis : Relevance for Prebiotic, Probiotic and Synbiotic Product Development. Reviews in Food Science and Food Safety. 9 (4). P 358-373.
- Dayu, Pradewi. 2013. Perbedaan Kualitas Inderawi Egg Roll dari Tepung Suweg dengan Penambahan Daun Katuk yang Berbeda. Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Dias, J.S. 2012. Nutritional Quality and Health Benefits of Vegetables: A Review. Food and Nutrition Sciences. 3. P 1354-1374.
- Ding, W.K. and Shah, N.P. 2008. Survival of Free and Microencapsulated Probiotic Bacteria in Orange and Apple Juices. International Food Research Journal 15: 219–232.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan R. I. 1996. Daftar Komposisi Bahan Makanan. Bhratara. Jakarta.
- Do, T.V.T. and Fan, L.P. 2019. Probiotic Viability, Qualitative Characteristics, and Sensory Acceptability of Vegetable Juice Mixture Fermented with Lactobacillus Strains. Food and Nutrition Sciences , 10, 412-427.
- FAO/WHO. 2002. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Available from: <http://www.fao.org/es/ESN/Probio/probio.htm>, pp. 1_11.
- Fardiaz, S. 1992. *Fisiologi Fermentasi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Fardiaz, S. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisis Mikrobiologi Pangan*. Institut Pertanian Bogor. 238 hlm.
- Fardiaz, S., R. Cahyono., dan H. D. Kusumaningrum. 1996. Produksi dan Aktivitas Antibakteri Minuman Sehat Kaya Vitamin B12 Hasil Fermentasi Laktat dan Sari Wortel. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. 1(2) : 25-30.
- Fennema, O.R., 1976. *Principle of Food Science*. Marcel Dekker Inc, New York.
- Fonden R, Mogensen G, Tanaka R, dan Salminen S. 2000. Effect of Culture Containing Diary Products on Intestinal Microflora, Human Nutrition and Health – Current Knowledge and Future Perspectives. International Dairy Federation Bulletin number 352.

- Fuller, R. 1992. *History and Development of Probiotics*. In Probiotics the Scientific Basis. Edited by Fuller.
- Hashemiravan, M., Zandi, M.M. and Barenjy, S. 2016. Production of Probiotic Fermented Mixture of Carrot, Beet and Apple Juices. Journal of Paramedical Sciences (JPS). 7(3) : 17-23. ISSN 2008-4978.
- Hill, M. J. 1995. *Role of Gut Bacteria in Human Toxicology and Pharmacology*. Taylor and Francis. New York.
- Hull, R. and A.J. Evans. 1992. Probiotic Foods- a New Opportunity. Food Australia. 1(9) : 418-420.
- Hussein, A.M.S., Hegazy, N.A., Kamil M.M. and Ola, S.S.M. 2017. Formulation and Evaluation of Some Healthy Natural Juice Blends. Asian J. Sci. Res., 10: 160-168.
- Hutkins Robert W. 2006. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Oxford: Blackwell Publishing.
- Islam, M.A., I. Ahmad, S. Ahmed, and A. Sarker. 2014. Biochemical Composition and Shelf Life Study of Mixed Fruit Juice from Orange and Pineapple. J. Environ. Sci. & Natural Resources, 7(1): 227– 232.
- Jenie, B. S. L. 2006. Peranan Bakteri Asam Laktat sebagai Food Biopreservative. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. 1(2):60-73.
- Kandler, O., and Weiss, N. 1986. Regular, Nonsporing Gram-Positive Rods. In Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E., dan Holt, J. G., editors. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 2 : 1209-1233.
- Kang, K.H and Lee, C.N. 1985. Preservation and Production of Starter Cultures. Dairy Science Abstracts. 47: 686.
- Kuswanto, K.R., dan S. Sudarmadji. 1988. *Proses-proses Mikrobiologi Pangan*. PAU Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 160 hlm.
- Lee, Y.K. & Salminen, S. 2009. *Handbook of Probiotics and Prebiotics 2nd Ed.* New Jersey: John Wiley & Sons Publisher.
- Lisai, J. S. 2005. Konsep Probiotik dan Prebiotik untuk Modulasi Mikrobiota Usus Besar. Jurnal Media Nussantara. 26(4) : 1-6.
- Makmun C. 2007. Wortel Komoditas Ekspor yang Gampang Dibudidayakan. Hortikultura: 32.

- Malganji, S., Sohrabvandi,S., Jahadi, M., Nematollahi, A. and Sarmadi, B. 2016. Effect of Refrigerated Storage on Sensory Properties and Viability of Probiotic in Grape Drink. *Applied Food Biotechnology*. 3(1) : 59-62.
- Martins, E.M.F. 2013. Products of Vegetable Origin: A New Alternative for the Consumption of Probiotic Bacteria. *Food Res. Int.* 51 (2): 764-770.
- Mubin, M.F. dan Zubaidah, E. 2016. Studi Pembuatan Kefir Nira Siwalan (*Borassus Flabellifer L.*) (Pengaruh Pengenceran Nira Siwalan dan Metode Inkubasi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1):291-301.
- Murdianto, W. dan Syahrumsyah, H. 2012. Pengaruh Natrium Bikarbonat terhadap Kadar Vitamin C, TPT dan Nilai Sensoris Sari Buah Nanas Berkarbonasi. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 8(1) : 1-5.
- Nematollahi, A., S. Sohrabvandi, A. M. Mortazavin, and S. Jazaeri. 2016. Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*. 23:49-53.
- Nicolesco, C. L., & Buruleanu, L. C. (2010). Correlation of Some Substrate Parameters in Growing *Lactobacillus Acidophilus* on Vegetable and Fruit Cocktail Juices. *Bulletin UASVM Agriculture*. 67 (2). P 352–359.
- Nurainy, F. dan Nawansih, O. 2006. *Uji Sensori*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Lampung. 123 hlm.
- Padmavathi, P. and Rao, M. P. 1990. Nutritive Value of *Sauropus androgynus* Leaves. *Plant Foods for Human Nutrition*. 40(2). P 107–113.
- Pakbin, B., Razavi, S.H., Mahmoudi, R., and Gajarbeygi. 2014. Producing Probiotic Peach Juice. *Biotech Health Sci*. 1(3): 1-6.
- Patel, A. R. 2017. Probiotic Fruit and Vegetable Juices- Recent Advances and Future Perspective. Mini Review. *International Food Research Journal* 24(5): 1850-1857.
- Pereira, A.L.F., Almeida, F.D.L., de Jesus, A.L.T., de Costa, J.M.C., and Rodrigues, S., 2013. Storage Stability and Acceptance of Probiotic Beverage from Cashew Apple Juice. *Food Bioprocess. Technol.*
- Perricone, M., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M., Corbo,M.R. 2015. Challenges for the production of probiotic fruit juices. *Beverages* 1:95-103.
- Platel, K and Krishnapura S. 2017. Nutritional Profile of Chekurmanis (*Sauropus androgynus*), A Less Explored Green Leafy Vegetable. *Informatic Journal*. 54(3).

- Primurdia, E.G., dan J. Kusnadi. (2014). Aktivitas Antioksidan Jus probiotik Sari Kurma (*Phoenix Dactylifera L.*) dengan Isolat *L. Plantarum* dan *L. Casei*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(3) : 98-109.
- Rahman, A. 1989. *Pengantar Teknologi Fermentasi*. IPB Press. Bogor.
- Rakhmawati, R. dan Yunianta. 2015. Pengaruh Proporsi Buah : Air dan Lama Pemanasan Terhadap Aktivitas Antioksidan Sari Buah Kedondong (*Spondias Dulcis*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(4) : 1682-1693.
- Retnowati, P.A dan Kusnadi, J. 2014. Pembuatan Jus probiotik Sari Buah Kurma (*Phoenix Dactylifera*) dengan Isolat *Lactobacillus Casei* dan *Lactobacillus Plantarum*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2(2).
- 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., Erna, M., Nurainy, F., dan Tambunan, A.R. 2016. Karakteristik Probiotik Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas dengan Variasi Jenis Bakteri Asam Laktat. *J.Kim.Terap.Indonesia*. 18(1) : 63-71.
- Rubatzky, V.E. dan M. Yamaguchi. 1997. *Sayuran Dunia*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Rukmana, H.R. dan Harahap, L.M. 2003. *Katuk, Potensi dan Manfaatnya*. P 19-20. Kanisius. Yogyakarta.
- Santoso, U. 2014. *Katuk, Tumbuhan Multi Khasiat*. Badan Penerbit Fakultas Pertanian (BPFP) Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Santoso. 2009. *Mengenal Daun Katuk sebagai Food Additive pada Broiler*. Poultry Indonesia. Jakarta.
- Septiatin, E. 2009. *Apotek Hidup dari Tanaman Buah*. CV. Yrama Widya. Bandung. hlm 81-88.
- Sharah, A., Karlina, R. dan Desmelati. 2015. Pembuatan Kurva Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Ikan Peda Kembung. Universitas Riau. P 1-8.
- Sharma, V., dan Mishra, H.N. 2012. Fermentation of Vegetable Juice Mixture by Probiotic Lactic Acid Bacteria. *Nutrafood*. 12 (17). P 17-22.

- Sheehan, V.M., Ross, P., and Fitzgerald, G.F., 2007. Assessing the Acid Tolerance and the Technological Robustness of Probiotic Cultures for Fortification in Fruit Juices. *Innovat. Food Sci. Emerg. Technol.* 8:279-284.
- Shin, H., Lee, J., Pestka, J.J. dan Ustunol, Z. (2000). Viability of Bifidobacteria in Commercial Dairy Products during Refrigerated Storage. *Journal of Food Protection..* 63. P 327-331.
- Singh, S., Singh, D. R., Salim, K. M., Srivastava, A., Singh, L. B. and Srivastava, R. C. 2011. Estimation of Proximate Composition, Micronutrients and Phytochemical Compounds in Traditional Vegetables from Andaman and Nicobar Islands. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.* 62(7). P 765– 773.
- Shisheh, S., Hashemiravan, M., and Jaktaji, R.P. 2014. Production of Probiotic Mixture of Barberry and Black Cherry Juice by Lactic Acid Bacteria. 3(3): 53-61.
- Sivudu, S.N., Umamahesh, K. and Reddy, O.V.S. 2014. A Comparative Study on Probiotication of Mixed Watermelon and Tomato Juice by Using Probiotic Strains of Lactobacilli. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.* 3(11) : 977-984.
- Soeharsono. 1997. Probiotik: Alternatif Pengganti Antibiotik. *Buletin PDSKI.* 10(9):1-5.
- Stalder, R. 1984. *Diet and Cancer.* Epidemiological Studies. Nestle Research News. Hlm 7.
- Surono, I. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. PT. Zitri Cipta Karya. Jakarta. Teknologi dan Industri Pangan. 7(2) : 46-51.
- Syahrurahman, A. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi.* Bina Rupa Aksara. Jakarta.
- Thakur, A and Joshi, V.K. 2017. Preparation of Probiotic Apple Juice by Lactic Acid Fermentation. *Intl. J. Food. Ferment. Technol.* 7(1): 67-85.
- Tripathi, M.K. and Giri, S.K. 2014. Probiotic Functional Foods: Survival of Probiotics During Processing and Storage. *Journal of Functional Foods* 9: 225–241.
- Triyanto. 2015. Tanaman Nanas Madu. <http://www.blogspot.cbn.net.id>. Diakses pada 12 Oktober 2018.

- Umam, M. F., R. Utami dan E. Widowati. 2012. Kajian Karakteristik Minuman Sinbiotik Pisang Kepok (*Musa paradisiaca formatypical*) dengan Menggunakan Starter *Lactobacillus acidophilus* IFO 13951 dan *Bifidobacterium longum* ATCC 15707. J. Teknosains Pangan 1 (1) : 3-11.
- United States of Agriculture (USDA). 2007. Nutrient Database for Standard Reference of Carrot. USDA. United States.
- Utami, W.W. dan Anjani, G. 2016. Yoghurt Katuk sebagai Salah Satu Alternatif Pangan Berbasis Laktogenik. Journal of Nutrition College.5(4) : 513-519. ISSN : 2337-6236.
- Varnam, H.A. and Sutherland, J. P. 1994. *Beverages (Technology, Chemistry and Microbiology)*. Chapman and Hall, London.
- Wijana, S., A. Kumalaningsih., U. Setyowati., Effendi dan N. Hidayat. 1991. Optimalisasi Penambahan Tepung Kulit Nanas dan Proses Fermentasi pada Pakan Ternak terhadap Peningkatan Kualitas Nutrisi. Laporan Hasil Penelitian Balittan Malang tahun Anggaran (ARMP) (Deptan). Universits Brawijaya. Malang. hlm 208.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas, Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Kanisius. Yogyakarta. P 9-108.
- Winarno, F.G., Fardiaz, D., dan Fardiaz,G. 1984. *Pengantar Teknologi Pangan*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Wirakusumah, E. 2000. *Buah dan Sayur untuk Terapi*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Wright, A.V. dan Axelsson, L. (2011). Lactic Acid Bacteria: An Introduction. dalam: Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Salminen, S. dan Wright, A.V. (ed.). *Lactic Acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects*, Fouth Edition: CRC Press, New York.
- Yanez, R., Marques, S., Girio, F.M. and Roseiro, J.C. 2008. The Effect of Acid Stress on Lactate Production and Growth Kinetics in *Lactobacillus rhamnosus* Cultures. Process Biochem. 43: 356–361.
- Yogeswara, I.B.A., I.G.A. Wita., dan N.W. Nursini. 2011. Viabilitas dan Stabilitas Bakteri Probiotik *L. acidophilus* FNCC 0051 pada Susu Kedelai Fermentasi Selama di Saluran Cerna in Vitro dan Penyimpanan. Fakultas Ilmu Kesehatan, Sains dan Teknologi Universitas Dhyana Pura, Tegal Jaya, Dalung. Hlm 21.
- Yoon, K.Y., Woodams, E.E. dan Hang, Y.D. (2005). Production of Probiotic Cabbage Juice by Lactic Acid Bacteria. Biores Technology 97(12): 1427-1430.

- Yuliana, N., Noviyeziana, T dan Sutikno, S. 2016. Karakteristik Minuman Laktat Sari Buah Durian Lay (*Durio kutejensis*) yang Disuplementasi dengan Kultur Lactobacillus selama Penyimpanan pada Suhu Rendah. Jurnal Agritech. 36 (4) : 424-432.
- Yuniastuti, A. 2014. *Probiotik (Dalam Perspektif Kesehatan)*. Unnes Press. Semarang.
- Zhang, D. and Hamauzu, Y. 2004. Phenolic Compounds and Their Antioxidant Properties in Different Tissues of Carrots (*Daucus carota L.*). Journal of Food, Agriculture and Environment (JFAE). 2. P 95-100.
- Zubaidah, E. 2006. Pengembangan Pangan Probiotik Berbasis Bekatul. Jurnal Teknologi Pertanian. 7(2):89-95.
- Zubaidah, E., E. Saparianti dan M. Mawardhani. 2005. Peranan Substitusi dengan Sari Wortel dan Kondisi Fermentasi terhadap Karakteristik Minuman Susu Terfermentasi Bakteri Asam Laktat. Jurnal Teknologi Pertanian. 6(2). P 93-100.