

**ARTIKEL ILMIAH**

**TOTAL ASAM DAN ANTIOKSIDAN MINUMAN PROBIOTIK SIRSAK  
GUNUNG (*Annona montana* Macf) SELAMA FERMENTASI**




**NIDA FITRIA ROSYANA JUWITA**

**NIM 15.099**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diujikan

Pembimbing,

  
Ambar Fidyasari, S. TP., MP.

# TOTAL ASAM DAN ANTIOKSIDAN MINUMAN PROBIOTIK SIRSAK GUNUNG (*Annona montana* Macf) SELAMA FERMENTASI

## TOTAL ACID AND ANTIOXIDANT PROBIOTIC DRINK MOUNTAIN SOURSUP (*Annona montana* Macf) DURING FERMENTATION

---

**Nida Fitria Rosyana Juwita dan Ambar Fidyasari, S.TP., MP.**

Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

---

### ABSTRAK

**Kata kunci :** antioksidan, *Lactobacillus casei*, minuman probiotik, sirsak gunung, total asam

Buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf) merupakan buah yang mengandung vitamin C dan polifenol. Melihat kandungan tersebut buah ini dikembangkan menjadi minuman probiotik. *Lactobacillus casei* mampu membuat total asam dan antioksidan dari minuman ini mengalami perubahan selama fermentasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui total asam dan antioksidan minuman probiotik sari buah sirsak gunung selama fermentasi. Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimen yang dilakukan di laboratorium Farmakognosi dan Mikrobiologi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Tahapan penelitian ini meliputi pengumpulan buah sirsak gunung, pembuatan sari buah sirsak gunung, pembuatan minuman probiotik yang difermentasi selama 12 jam dan 24 jam, serta pengujian total asam dan antioksidan. Analisa data menggunakan "Independent Sample T Test". Berdasarkan hasil penelitian, nilai total asam minuman probiotik sari buah sirsak gunung pada 12 jam pertama adalah 0,321% dan pada 24 jam didapatkan total asam sebesar 0,636%. Sedangkan nilai antioksidan minuman probiotik dan sari buah sirsak gunung pada 12 jam pertama adalah 636,669 ppm dan pada 24 jam adalah 132,495 ppm. Hasil analisa total asam dengan menggunakan uji T test diperoleh nilai sig < 0,05, dan pada uji antioksidan diperoleh nilai sig > 0,05. Kesimpulan penelitian ini adalah semakin lama waktu fermentasi maka total asam dan antioksidan minuman probiotik dan sari buah sirsak gunung juga semakin meningkat.

### ABSTRACT

**Key words :** antioxidants, *Lactobacillus casei*, probiotic drinks, mountain soursop, total acid

Mountain soursop fruit (*Annona montana* Macf) is a fruit which contains vitamin C and polyphenols. See the content of this fruit probiotic drink developed into. *Lactobacillus casei* is able to make a total of acid and antioxidants than these drinks changes during the fermentation. The purpose of this research is to know the total acid and antioxidant drinks mountain soursop juice probiotics during fermentation. This research included in alphabets experiment research conducted in the laboratory of Microbiology and Pharmaceutical Academies Farmakognosi Putra Indonesia Malang. The stages of this research include the collection of mountain soursop fruit, soursop juice manufacture mountain, the manufacture of fermented probiotic beverage for 12 hours and 24 hours, as well as testing of total acid and antioxidants. Data analysis using *Independent Samples T Test* ". Based on the results of the study, the value of total acid probiotic drinks mountain soursop juice at 12 hours first is 0.321% and at 24 hours obtained total acid of 0.636%. While the value of antioxidants and probiotic drinks juice soursop mountain in the first 12 hours was 636.669 ppm and at 24 hours was 132.495 ppm. The results of the analysis of total acid by using the T test test earned value sig < 0.05, and antioxidant test values obtained on the sig > 0.05. Conclusion of this research is the longer fermentation time then the total acids and antioxidants and probiotic drinks juice mountain soursop is also increasing.

## PENDAHULUAN

Buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf) memiliki rasa yang kurang dapat diterima oleh masyarakat dan hanya dijadikan sebagai limbah. Oleh karena itu dimanfaatkan lebih inovatif menjadi minuman probiotik. Buah sirsak gunung merupakan tumbuhan dari genus *Annonae*, yang memiliki ciri-ciri berbentuk bulat, biji berwarna coklat, aroma harum, daging buah berwarna kuning, namun rasa yang kurang enak bila dimakan (Boro, 2017).

Menurut (Prasetyorini, *et al.*, 2014) Buah sirsak memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki kandungan vitamin C dan polifenol yang cukup tinggi, yang diuji dalam tiga bentuk sediaan sirsak yaitu sari buah, ekstrak etanol 96%, dan ekstrak etil asetat. Hasil penelitian menunjukkan kandungan polifenol yang dihitung dalam gram Setara Asam Galat (SAG)/100 g sari buah, ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat berturut-turut adalah 0,473; 0,324 dan 0,194 dan kandungan vitamin C (mg/100 g) berturut-turut adalah 36,24; 30,56, dan 35,66. Tingginya kandungan vitamin C dan polifenol yang terdapat pada sari buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf) membuat sirsak gunung dipilih sebagai bahan dasar pembuatan minuman probiotik.

Minuman probiotik ialah minuman yang mengandung agen probiotik dan dibuat melalui proses fermentasi. Salah satu agen probiotik

yang digunakan serta mampu menghasilkan asam laktat berasal dari genus *Lactobacillus*. Salah satu contoh genus *Lactobacillus* adalah *Lactobacillus casei*. *Lactobacillus casei* memiliki kemampuan bertahan dari kondisi asam lambung maupun rendahnya tegangan permukaan cairan empedu sehingga mampu hidup sampai diusus besar (Widodo, 2003; dalam Mulyani *et al.*, 2008)

Minuman fermentasi juga dapat meningkatkan senyawa flavonoid sebagai sumber antioksidan. Peningkatan total flavonoid selama fermentasi diduga dikarenakan akibat adanya aktivitas bakteri asam laktat, dimana selama fermentasi berlangsung bakteri asam laktat memproduksi enzim yang dapat mensintesa gula dan membebaskan senyawa fenolik yang ada dalam buah sehingga dapat menambah gugus fenol pada senyawa flavonoid, senyawa flavonoid inilah yang bersifat sebagai antioksidan dalam tubuh. (Primurdia dkk, 2014).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Simanjuntak *et al.*, (2016) komponen-komponen yang dihasilkan selama fermentasi pada minuman probiotik asam asetat, etanol, dan asam glukoronat. Sedangkan komponen minor yang dihasilkan adalah asam laktat, asam fenolat, vitamin B, dan Enzim. Hasil analisis keragaman yang dilakukan oleh (Simanjuntak *et al.*, 2016) dengan menggunakan *Acetobacter xylinum* ini, juga berpengaruh pada kadar gula dan total asam minuman

fermentasi. Pada setiap bertambahnya lama waktu fermentasi, total asam yang dihasilkan semakin meningkat, sedangkan kadar gula yang dihasilkan mengalami penurunan.

Berdasarkan hasil analisis keragaman yang dilakukan oleh (Simanjuntak, *et al.*, 2016) menunjukkan bahwa perlakuan lama fermentasi berpengaruh nyata pada taraf uji 5% terhadap uji antioksidan kombucha apu-apu dengan menggunakan starter *Acetobacter xylinum*. Pada pengujian antioksidan, rata-rata nilai  $IC_{50}$  mengalami kenaikan sampai hari ke-4 dan mengalami penurunan sampai hari ke-8, kemudian mengalami kenaikan lagi sampai hari ke-12. Hal ini menunjukkan bahwa selama fermentasi, kadar antioksidan mengalami kenaikan, kemudian mengalami penurunan kembali dengan bertambahnya waktu fermentasi.

Melihat potensi minuman fermentasi kombucha apu-apu yang difermentasi dengan menggunakan *Acetobacter xylinum* mampu membuat total asam dan kadar antioksidan mengalami perubahan selama fermentasi, maka pada minuman probiotik sari buah sirsak gunung yang difermentasi dengan menggunakan *Lactobacillus casei* perlu dilakukan uji kualitasnya selama fermentasi. Melihat pada penelitian sebelumnya belum dilakukan pengujian terhadap total asam dan kadar antioksidan, maka dilakukanlah uji total asam dan kadar

antioksidan pada minuman probiotik sari buah sirsak gunung yang difermentasi dengan menggunakan starter *Lactobacillus casei* selama fermentasi.

## **METODOLOGI**

### **Bahan**

Sirsak gunung, starter *Lactobacillus casei*, glukosa, aquadest, NaOH 0,1 N,  $H_2C_2O_4 \cdot H_2O$  0,1 N, indikator *phenolphthalein* (pp), larutan 2,2-*diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), dan etanol p.a.

### **Alat**

Timbangan analitik, kain saring, blender, pengaduk, panci, termometer, Inkubator, kompor, klem dan statif, pipet tetes, pipet volume, gelas ukur, beaker gelas, erlenmeyer, spektrofotometri, tabung reaksi, rak tabung, aluminium foil, inkubator, vortex, dan pH meter.

### **Subyek Penelitian**

Sirsak gunung yang memiliki tampilan fisik ybaik dan sudah matang kemudian digunakan sebagai bahan baku pembuatan minuman probiotik. Minuman probiotik sirsak gunung yang telah difermentasi selama 12 jam dan 24 jam kemudian dilakukan uji total asam dan antioksidan.

### **Prosedur Pembuatan Sari Buah**

Pembuatan sari buah sirsak gunung dilakukan dengan cara menimbang buah sirsak gunung yang memiliki tampilan fisik baik dan sudah matang sebanyak 250 g dan ditambahkan air

sebanyak 500 mL dengan perbandingan antara buah dan air yaitu 1:2. Kemudian diblender dan disaring menggunakan kain saring yang bertujuan untuk memisahkan sari dengan ampas sirsak gunung.

### **Prosedur Pembuatan Minuman Probiotik**

Sari buah sirsak gunung yang telah disaring kemudian dimasukkan kedalam panci untuk dilakukan proses pasteurisasi dengan suhu 72°C selama 15 menit. Setelah proses pasteurisasi dimasukkan satarter *L.Casei* sebanyak 60 mL, kemudian dimasukkan kedalam wadah bersih dan dilakukan proses fermentasi pada suhu 37°C dalam inkubator selama 12 jam dan 24 jam. Untuk pengujian total asam dan antioksidan minuman probiotik dilakukan setelah dilakukan proses fermentasi 12 jam dan 24 jam.

### **Pengujian Total Asam Minuman Probiotik**

Pengujian total asam dilakukan dengan menggunakan metode Alkalimetri. Uji total asam diawali dengan penimbangan semua bahan yang diperlukan dalam pengujian seperti Sampel sebanyak 10 mL, NaOH 0,1 N dan H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 0,1N kemudian dilarutkan dengan menggunakan aquadest. Dilakukan pembakuan antara NaOH 0,1 N dengan H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 0,1N. Kemudian dilanjutkan dengan uji kadar sampel. Uji kadar sampel dilakukan dengan melakukan titrasi pada sampel dengan NaOH 0,1 N dan ditambahkan dengan indikator PP

sebanyak 2 tetes sampai terbentuk warna merah muda sampai warna tersebut tidak hilang, lalu direplikasi sebanyak 3x. Kemudian dihitung volume NaOH pada saat TAT dan dimasukkan kedalam rumus = %Total Asam = ((V x N x BM)/(Berat sampel x 1000)) x 100%.

### **Pengujian Antioksidan Minuman Probiotik Sirsak Gunung**

Uji aktivitas antioksidan minuman probiotik sirsak gunung dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Yang dimulai dari menimbang DPPH sebanyak 10 mg, penentuan panjang gelombang maksimum, dan uji aktivitas minuman probiotik sirsak gunung.

Pengujian antioksidan dimulai dengan melarutkan kristal DPPH 10 mg dengan etanol p.a sebanyak 100 mL. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengukur absorbansi DPPH pada alat spektrofotometri, yang dilakukan dengan mengambil DPPH 3 mL kemudian ditambahkan dengan etanol p.a sebanyak 2 mL dan diukur absorbansinya dengan menggunakan panjang gelombang 515-520 nm.

Pengujian aktivitas antioksidan dengan cara ditimbang minuman probiotik sebanyak 10 mL dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 100 mL. Kemudian sampel yang sudah dilarutkan dibuat menjadi 5 konsentrasi yang berbeda yaitu 1 mL sampel sampai 5 mL diadakan sampai 5 mL hingga diperoleh ppm yang berbeda. Dilanjutkan dengan membuat baku kerja dari tiap-tiap

konsentrasi yaitu dengan mengambil 3 mL DPPH pada masing-masing konsentrasi dengan menggunakan tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL etanol p.a dan 1 mL sampel, kemudian divortex dan didiamkan selama 30 menit pada tempat yang gelap. Selanjutnya diuji pada spektrofotometri dengan menggunakan panjang gelombang 515 nm.

### **Pengujian pH pada minuman probiotik sirsak gunung**

Pengujian pH diawali dengan cara membilas elektroda pH meter dengan aquadest, kemudian dikalibrasi elektroda pH meter pada larutan buffer asam, basa, dan aquadest. Selanjutnya dicelupkan elektroda pH meter pada sampel minuman probiotik. Dan diamati angka yang terbaca pada pH meter sampai stabil kemudian dicatat. Direplikasi sebanyak 3x.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Hasil Uji Organoleptis**

Hasil Uji Organoleptik pada minuman probiotik fermentasi 12 jam dan 24 jam yang meliputi warna, tekstur, aroma, serta rasa. Mengalami perbedaan pada rasa minuman yaitu pada minuman probiotik fermentasi 24 jam memiliki rasa yang lebih asam dibandingkan dengan minuman probiotik fermentasi 12 jam. Hal ini didukung dengan terjadinya penurunan pH selama bertambahnya waktu fermentasi.

Hal ini didukung dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Khotimah, dkk. (2014) yang

menyatakan bahwa asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi dapat meningkatkan cita rasa dan meningkatkan keasaman atau menurunkan pHnya.

### **Hasil Uji pH pada minuman probiotik**

**Tabel.1 Hasil Uji pH**

Uji	Fermentasi 12 jam	Fermentasi 24 jam
1	4,632	4,311
2	4,522	4,315
3	4,624	4,324
Rata-rata	4,6	4,3

pH minuman probiotik fermentasi 12 jam dan 24 jam mengalami penurunan seiring bertambahnya lama waktu fermentasi yaitu pada fermentasi 12 jam pH nya adalah 4,6 sedangkan pada fermentasi 24 jam pH nya adalah 4,29. Hal ini juga dijelaskan pada penelitian yang dilakukan oleh Khotimah, dkk (2014) yang menyatakan bahwa semakin rendah pengenceran dan semakin tinggi konsentrasi susu skim, maka nilai pH akan mengalami penurunan, karena semakin banyak nutrisi dalam media, maka BAL akan tumbuh semakin banyak dan menyebabkan nilai pH semakin menurun. Penurunan derajat keasaman (pH) disebabkan oleh ion  $H^+$  yang berasal dari perombakan senyawa asam hasil metabolisme bakteri asam laktat. Asam laktat akan terdisosiasi menghasilkan  $H^+$  dan  $CH_3CHOHCOO^-$  sehingga semakin tinggi asam laktat yang dihasilkan, memungkinkan tingginya ion  $H^+$  yang terbebaskan dalam medium.

Asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi dapat meningkatkan cita rasa dan meningkatkan keasaman atau menurunkan pHnya.

### Hasil Uji Total asam

Tabel.2 Hasil uji total asam

Uji	Fermentasi 12 jam	Fermentasi 24 jam
1	0,315%	0,603%
2	0,288%	0,675%
3	0,342%	0,585%
Rata-rata	0,315%	0,621%

Pengujian keasaman dilakukan dengan menghitung kadar asam setara asam laktat dengan metode titrasi. Bertambahnya waktu fermentasi maka bakteri asam laktat (BAL) semakin meningkat, dan juga menyebabkan terjadinya penurunan pH karena disebabkan oleh terjadinya kenaikan total asam. Total asam pada minuman probiotik sari buah sirsak gunung dengan lama waktu fermentasi 12 jam dan 24 jam juga mengalami kenaikan.

Hasil penelitian tentang fermentasi minuman probiotik sari buah sirsak gunung selama 12 jam dan 24 jam menunjukkan bahwa total asam minuman probiotik sari buah sirsak gunung yang difermentasi selama 24 jam sesuai dengan persyaratan mutu minuman probiotik yang telah ditetapkan oleh BSN (2009) berkisar antara 0,5%-2,0%. Nilai total asam tertinggi dimiliki minuman probiotik sari buah sirsak gunung yang difermentasi selama 24 jam yaitu 0,6% sedangkan nilai total

asam terendah minuman probiotik sari buah sirsak gunung difermentasi selama 12 jam yaitu 0,3%. Hal ini berarti nilai total asam minuman probiotik sari buah sirsak gunung meningkat seiring bertambahnya waktu fermentasi.

Penelitian ini didukung oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Primurdia, dkk (2014) yang menyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi, maka nilai total asam yang diperoleh semakin tinggi. Hal ini diduga karena semakin lama waktu fermentasi, jumlah pertumbuhan bakteri asam laktat akan semakin banyak seiring dengan banyaknya jumlah gula yang dirombak menjadi asam laktat. Pertumbuhan bakteri asam laktat yang semakin meningkat mampu merombak komponen-komponen gula yang berada pada medium tersebut secara maksimal, sehingga hasil metabolit bakteri asam laktat yang dihitung sebagai total asam laktat akan meningkat, sehingga derajat keasaman pada karakteristik produk akhir juga akan menurun. Prastyaharasti, dkk (2014) juga menyebutkan bahwa kultur yang baik menghasilkan 0,5% - 1,0% asam laktat setelah 12-20 jam inkubasi.

Pada uji data normal menunjukkan analisis distribusi data pada total asam minuman fermentasi dengan lama waktu 12 jam dan 24 jam adalah normal ditandai dengan adanya nilai sig 0,525. Hasil analisis "independent sample t test" pada minuman probiotik sari buah sirsak gunung adalah terdapat perbedaan

nilai total asam antar sampel, ditandai dengan nilai sig 0,017. Nilai sig < 0,05 maka H<sub>0</sub> ditolak, artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara total asam minuman yang difermentasi selama 12 jam dengan 24 jam.

### Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Tabel.3 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan (IC<sub>50</sub>)

Uji	Fermentasi 12 jam	Fermentasi 24 jam
1	636,907 ppm	131,091 ppm
2	643,766 ppm	133,568 ppm
3	629,335 ppm	132,826 ppm
Rata-rata	636,669 ppm	132,495 ppm

Dari hasil penelitian tentang uji aktivitas antioksidan pada fermentasi 12 jam dan 24 jam mengalami kenaikan yaitu nilai IC<sub>50</sub> nya yaitu pada 12 jam adalah 636,669 dan pada 24 jam 132,499 ppm. Nilai aktivitas antioksidan atau IC<sub>50</sub> pada minuman yang difermentasi 12 jam tergolong dalam aktivitas yang lemah karena kurang dari 200 ppm. Sedangkan pada fermentasi 24 jam aktivitas antioksidannya tergolong aktivitas yang kuat karena kurang dari 200 ppm.

Terjadinya kenaikan aktivitas antioksidan pada minuman probiotik seiring bertambahnya waktu fermentasi disebabkan karena semakin banyak waktu fermentasi maka semakin banyak BAL yang tumbuh dan berperan dalam merombak senyawa fenol pada

minuman probiotik sari buah sirsak gunung.

Hasil analisis distribusi normal pada uji aktivitas antioksidan minuman fermentasi 12 jam dan 24 jam, distribusi datanya adalah normal ditandai dengan nilai sig 0,578 atau > 0,05. Hasil analisis “*Independent Sample T Test*” pada minuman probiotik sari buah sirsak gunung dengan pengujian aktivitas antioksidan adalah terdapat perbedaan nilai IC<sub>50</sub> asam antar sampel, ditandai dengan nilai sig 0,168. Nilai sig > 0,05 maka H<sub>0</sub> diterima, artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan total asam antar sampel 12 jam dengan 24 jam.

### KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa lama waktu fermentasi menyebabkan terjadinya peningkatan pada total asam dan antioksidan . Pada fermentasi 12 jam pertama total asam total asamnya adalah 0,315% dan pada 24 jam adalah 0,621%. Sedangkan aktivitas antioksidan pada 12 jam adalah 636,669 ppm dan pada 24 jam 132,495 ppm..

### SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka diajukan saran bahwa perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait dengan perlunya dilakukan penambahan waktu fermentasi yaitu selama 3 jam,6 jam, 9 jam, 12 jam, 15 jam,18 jam,21 jam dan 24 jam, serta



perlu dilakukan uji total BAL pada minuman probiotik dan perlu dilakukan uji antioksidan, total asam dan pH sebelum dilakukan fermentasi.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Rasa terima kasih kepada UPT Laboratorium Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang yang telah menyediakan sarana dan prasarana untuk peneliti dalam melakukan penelitian.

#### DAFTAR PUSTAKA

Boro, Irfina. 2017. Mutu Fisik dan Mikrobiologi Minuman Sari Buah Sirsak Gunung . Karya Tulis Ilmiah. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

Mulyani *et al*, 2014. Viabilitas Bakteri Asam Laktat Keasaman dan Waktu Pelelehan Es Krim Probiotik dengan Menggunakan Starter *Lactobacillus casei* dan *Bifidobacterium bifidum*. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang

Prasetyorini, *dkk*. 2014. Potensi Antioksidan Berbagai Sediaan Buah Sirsak (*Annona Muricata* LINN). Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pakuan : Bogor. Vol 37 (2) :137-144.

Prastyaharasti, *dkk*. 2014. Evaluasi Pertumbuhan *Lactobacillus Casei* Dalam Medium Susu Skim yang Disubstitusi Tepung Beras Merah. Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Brawijaya Malang : Malang. Vol. 2 No. 4.p. 285-296.

Primurdia, *dkk*. 2014. Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik Sari Buah Kurma (*Phoenix dactilyfera L.*) dengan Isolat *L.Plantarum* dan *L.Casei*. Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol.3 No. 2.p. 98-109. Teknologi Hasil Pertanian. Malang : Universitas Brawijaya Malang.

Simanjuntak *et al*. 2014. Karakteristik Kimia dan Aktivitas Antioksidan Kombucha dari tumbuhan Apu-apu (*Pistia Stratiotes*) Selama Fermentasi. Jurnal Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Pertanian. Sumatera Selatan : Sumatera Selatan