

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Buah Sirsak Gunung (*Annona montana macf*)

Sirsak (*Annona montana macf.*) merupakan salah satu jenis tanaman buah yang berasal dari dataran Amerika Selatan yang beriklim tropis, yang kemudian menyebar luas ke daratan Asia Selatan dan Asia Tenggara, termasuk Indonesia. Pada awalnya, sirsak merupakan tanaman pekarangan (Sukarmin., 2012).

Sirsak gunung (*Annona montana macf.*) termasuk dalam satu famili dengan tanaman sirsak, yaitu Annonaceae. Sirsak gunung mempunyai bentuk buah hampir bulat atau lonjong. Kulit buah berwarna hijau tua waktu muda dan berubah menjadi kuning setelah tua dengan duri pendek yang lunak. Daging buah berwarna kuning dan mempunyai banyak biji bernas yang berwarna coklat muda (Sukarmin., 2012).

2.1.1 Klasifikasi *Annona montana Macf*

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Clasis : *Dicotyledonae*
Ordo : *Polycarpiceae*
Familia : *Annonaceae*
Genus : *Annona*
Spesies : *Annona montana Macf*



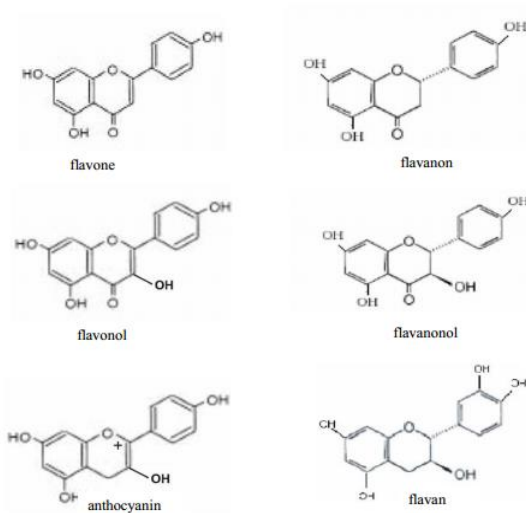
Gambar 2.1 Sirsak gunung (*Annona montana macf*) (a), dan (b) sirsak lokal (*Annona muricana*) (Irfina.,2017).

2.1.2 Tinjauan Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran dan buah, telah banyak dipublikasikan. Flavonoid berperan sebagai antioksi dan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2000). Flavon ditemukan pada famili jeruk. Biasanya mengandung gula yang berkontribusi pada karakteristik flavor. Flavone umumnya ditemukan pada daun, sedangkan isoflavon seringkali ditemukan pada kacang – kacang terutama kacang kedelai.

Isoflavon berbeda dengan flavon hanya pada penempatan cincin benzene. Isoflavon umumnya dikenal karena aktivitas estrogeniknya. Seperti halnya flavanon, flavonol umumnya juga mengandung gula. Flavonoid yang paling mudah ditemukan (*Ubiquitous*) dalam makanan adalah quercetin yang termasuk dalam kelas flavonol. Flavan adalah flavonoid yang mempunyai struktur kimia

paling kompleks. Beberapa flavonoid yang termasuk dalam kelas flavan adalah catechin, procyanidin, theaflavin dan flavonoid polimerik lainnya seperti thearubigin. Flavonoid yang dapat terbentuk secara alami kecuali catechin, terglukosilasi pada posisi C3, C7, dan C4. Pada awalnya flavonoid dikenal sebagai pigmen yang bertanggung jawab terhadap warna (*autumnal burst*) serta warna kuning, orange dan merah pada bunga dan makanan.



Gambar 1. Struktur kimia dari 6 kelas flavonoid (Peterson dan Dwyer, 2000)

Gambar 2.2 Struktur Flavonoid (Peterson dan Dwyer, 2000)

Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deret senyawa C₆-C₃-C₆ artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Flavonoid mempunyai sifat yang khas yaitu bau yang sangat tajam, sebagian besar flavanonol, flavone, flavanon, flavonolanthocyanin flavan merupakan pigmen warna kuning, dapat larut dalam air dan pelarut organik, mudah terurai pada temperatur tinggi.

Flavonoid punya sejumlah kegunaan. Pertama, terhadap tumbuhan yaitu sebagai pengatur tumbuhan, pengatur fotosintesis, kerja antimiroba dan antivirus. Kedua, terhadap manusia yaitu sebagai antibiotik terhadap penyakit kanker dan ginjal, menghambat perdarahan. Ketiga, terhadap serangga yaitu sebagai daya tarik serangga untuk melakukan penyerbukan. Keempat, kegunaan lainnya adalah sebagai bahan aktif dalam pembuatan insektisida nabati dari kulit jeruk manis (Anonim, 2008).

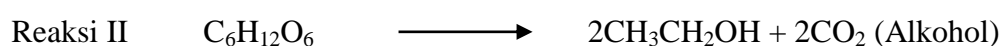
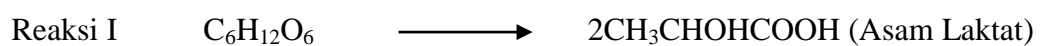
2.1.3 Pigmen Karotenoid

Karotenoid adalah senyawa poliena isoprenoid berwarna kuning orange. Karotenoid mempunyai aktivitas antioksidan dan yang dapat menurunkan resiko beberapa penyakit kronis, seperti kanker, penyakit jantung, penuaan dan mencegah kerusakan oksidatif. Salah satu sumber karotenoid tertinggi adalah *Spirulina platensis*, dalam *S. platensis* karotenoid tertinggi adalah β -karoten yang dapat dikonversi menjadi vitamin A (Christwardana, 2013).

2.2 Fermentasi

Fermentasi adalah suatu proses terjadinya perubahan struktur kimia dari bahan – bahan organik dengan memanfaatkan aktivitas agen – agen biologis terutama enzim sebagai biokatalis. Karena bahan ini hasil proses mikrobial maka disebut produk fermentasi. Teknologi fermentasi merupakan salah satu cara pengolahan dan pengawetan makanan, baik secara konvensional maupun modern dengan memanfaatkan mikroba baik langsung maupun tidak langsung.

Proses reaksi fermentasi :



Perubahan laktosa menjadi asam laktat karena adanya enzim yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat serta senyawa yang terkandung dalam susu seperti albumin, kasein sitrat, dan fosfat. Bakteri yang berperan dalam perubahan laktosa menjadi asam laktat yaitu bakteri asam laktat (Prangdigmurti, 2011). Selama proses fermentasi berlangsung kultur dengan memanfaatkan laktosa sebagai sumber energi yang mula – mula laktosa dihidrolisis oleh enzim D- galaktosidase dalam sel bakteri menjadi glukosa dan galaktosa. Kemudian glukosa akan dimetabolisme oleh bakteri menjadi asam piruvat lalu dirubah dalam bentuk asam laktat.

Lama fermentasi dipengaruhi oleh Faktor – faktor yang secara langsung maupun tidak langsung berpengaruh terhadap proses fermentasi. Menurut (N. Azizah dkk., 2012) :

1. Substrat

Substrat merupakan bahan baku fermentasi yang mengandung nutrient yang dibutuhkan oleh mikroba fermentasi. Nutrient yang paling dibutuhkan oleh mikroba baik untuk tumbuh maupun untuk menghasilkan produk fermentasi adalah karbohidrat.

2. Suhu

Suhu fermentasi mempengaruhi lama fermentasi karena pertumbuhan mikroba dipengaruhi suhu lingkungan fermentasi. Mikroba memiliki kriteria pertumbuhan yang berbeda – beda. Masing – masing mikroba mempunyai suhu optimum, minimum, dan maksimumnya untuk pertumbuhan. Suhu akan berpengaruh terhadap ukuran sel, produk metabolik yang dihasilkan, kebutuhan gizi dan reaksi enzimatik.

3. Derajat keasaman (pH)

Merupakan salah satu faktor penting yang perlu untuk diperhatikan pada saat proses fermentasi. Oleh karena itu, pada awal pelaksanaan penelitian, substrat yang akan dipakai terlebih dahulu diuji pH nya. Proses fermentasi, pH juga sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroba dan hubungan erat dengan suhu, jika suhu naik maka pH optimum juga akan naik.

4. Air

Mikroba tidak akan tumbuh tanpa adanya air. Air bertindak sebagai pelarut dan sebagian besar aktivitas metabolik dalam sel dilakukan dalam lingkungan air. Air merupakan faktor yang paling berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba kelangsungan proses fermentasi.

2.3 Karbohidrat

2.3.1 Karbohidrat Pada Ubi Jalar

Ubi jalar selain merupakan pangan sumber karbohidrat, juga kaya vitamin A (terutama pada kultivar berdaging umbi oranye) dan vitamin C serta mineral terutama zat besi (Fe), fosfor (P) dan kalsium (Ca). Ubi jalar juga mengandung protein dan lemak dalam konsentrasi rendah pada ubi, sedangkan daunnya kaya akan protein, vitamin dan mineral (Pattikawa *et al.*,2012)

2.3.2 Karbohidrat Pada Kulit Nanas

Pada penelitian terdahulu menggunakan kulit nanas. Kulit nanas merupakan sumber bahan pakan yang potensial dan ketersediaanya ada sepanjang tahun. Kulit nanas juga mengandung energi bruto yang cukup tinggi yaitu 4481 kkal/kg. karena kulit nanas mengandung gula reduksi yang mudah terurai. Kulit nanas

mengandung karbohidrat terlarut dan mudah terdegradasi sebagai sumber energy serta mengandung enzim bromelin yang berguna untuk metabolisme protein. Kulit nanas juga mengandung sukrosa, fruktosa, glukosa dan zat makanan lainnya, disamping potensinya, pengguna kulit nanas sebagai bahan pakan ternak terutama untuk ternak unggas terkendala dengan kualitasnya yang rendah dan cepat rusak atau mengalami pembusukan akibat kandungan air yang cukup tinggi. Kulit nanas juga mengandung 19,8% selulosa dan 11,7% hemiselulosa (Nurhayati dkk., 2014).

2.4 Tinjauan Probiotik

Istilah probiotik berasal dari bahasa Yunani yang berarti untuk hidup. Istilah ini diartikan sebagai substansi yang dihasilkan oleh satu mikrobia yang dapat menstimulasi pertumbuhan mikroba lain. Saat ini probiotik merupakan tambahan berupa sel – sel mikroba hidup yang memiliki pengaruh menguntungkan bagi hewan dan manusia yang mengkonsumsinya melalui penyeimbangan flora mikroba intestinalnya (Feliatra,2004). Probiotik membantu mengeliminasi antigen yang masuk bersma makanan, probiotik harus efektif memenuhi kriteria yaitu dengan efek yang menguntungkan bagi host yaitu megandung sejumlah sel besar hidup yang mamp bertahan melakukan metabolisme dalam usus halus yang memberikan efek positif bagi mikroflora di usus halus. Probiotik juga harus mampu membentuk koloni pada salura pencernaan dan mampu menghasilkan zat antimikroba serta tidak bersifat patogen dan aman untuk di konsumsi.

Syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah tidak bersifat patogen atau mengganggu inang, tidak bersifat patogen bagi konsumen manusia dan hewan lainnya, tidak mengganggu ekosistem setempat,

mikroba tersebut hendaklah dapat dan mudah dipelihara dan diperbanyak, dapat hidup dan bertahan serta berkembang biak didalam usus, memiliki resistensi terhadap asam dan empedu sehingga dapat mencapai intestin dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa intestin. Syarat lain mikrobia probiotik adalah tumbuh baik secara *in vitro*, memiliki stabilitas dan viabilitas yang tinggi dan aman bagi manusia. Dari berbagai persyaratan yang diperlukan *Lactobacillus* dan bifidobakteria yang merupakan penghuni alami jalur intestin merupakan bakteri yang banyak digunakan sebagai agensia probiotik. Bakteri ini ditemukan pada membran mukosa. Dari uji secara *in vitro* diketahui bahwa *Lactobacillus* mampu menghambat berbagai jenis bakteri patogen seperti *Salmonella*, *Vibrio*, *Listeria*, *Shigella* dan *Staphylococcus*. Kecuali asam laktat yang memiliki sifat antagonis, sejumlah *Lactobacillus* mampu menghasilkan komponen antimikroba yang disebut bakteriosin misalnya asidolin, asidofilin maupun laktosidin yang diperkirakan memiliki spektrum luas baik terhadap bakteri gram positif maupun negatif (Ahmed *et al.*, 2010).

2.4.1 Probiotik

Probiotik merupakan bakteri hidup yang baik untuk kesehatan, terutama sistem pencernaan. Tubuh manusia sebenarnya penuh dengan bakteri, baik itu bakteri baik non patogen maupun bakteri jahat patogen. Probiotik merupakan bakteri baik dan bermanfaat yang ada secara alami didalam tubuh. Tetapi saat ini probiotik juga bisa ditemukan dalam beberapa suplemen (Ayu soraya.,2015). Mekanisme kerjanya dari probiotik itu sendiri didalam saluran pencernaan adalah sebagai berikut :

1. Meningkatkan sistem kekebalan saluran cerna dan barrier dinding saluran pencernaan sehingga dapat memberikan proteksi terhadap infeksi saluran cerna
2. Menghambat pertumbuhan bakteri patogen dengan cara berkompetisi menempel di dinding saluran cerna
3. Menciptakan lingkungan asam sehingga bakteri patogen tidak dapat tumbuh
4. Menstimulasi sistem imun tubuh baik seluler maupun humoral
5. Melancarkan pencernaan dengan memproduksi berbagai enzim pencernaan dan beberapa vitamin

2.4.2 Prebiotik

Layaknya makhluk hidup, tentu bakteri probiotik juga memerlukan makanan. Nutrisi untuk bakteri probiotik ini dinamakan prebiotik, dengan adanya probiotik ini maka bakteri probiotik akan tumbuh lebih baik dan manfaatnya menjadi lebih optimal bagi kesehatan.

Prebiotik pada umumnya adalah karbohidrat yang tidak dicerna dan diserap. Contoh prebiotik ini adalah laktulosa, inulin, fruktooligo sakarida (FOS), dan galaktosa oligo sakarida (GOS). Prebiotik alami dapat ditemukan di biji-bijian, sayuran, bawang merah, bawang putih, buah-buahan seperti pisang, apel, nanas. Selain itu prebiotik juga banyak ditemukan di ASI. Hal ini merupakan salah satu keunggulan ASI sehingga bayi atau anak yang mendapatkan ASI secara eksklusif menjadi lebih tahan terhadap penyakit-penyakit yang berhubungan dengan saluran cerna seperti diare (Ayu Soraya, 2015).

2.5 Tinjauan tentang Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri Asam Laktat, istilah bakteri asam laktat (BAL) mulanya ditujukan hanya untuk sekelompok bakteri yang menyebabkan keasaman pada susu (*milk-souring organisms*). Secara umum BAL didefinisikan sebagai suatu kelompok bakteri gram positif, tidak menghasilkan spora, berbentuk bulat atau batang yang memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat. BAL dikelompokkan beberapa genus antara lain *streptococcus* (termasuk *Lactococcus*), *Leuconostoc*, *pediococcus lactobacillus*. Diantara genus dan spesies BAL yang mempunyai potensi untuk digunakan sebagai probiotik (Usman pato., 2003).

Bakteri asam laktat (BAL) adalah kelompok bakteri gram positif yang berbentuk kokus atau batang, tidak membentuk spora, suhu optimum $\pm 40^{\circ}\text{C}$, pada umumnya tidak motil, bersifat anaerob, 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 dan mampu memfermentasi monosakarida dan disakarida (Supratin, 2010).

Dari kelompok bakteri yang menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir dari metabolisme gula (karbohidrat). Asam laktat yang dihasilkan dengan cara tersebut akan menurunkan pH dari lingkungan pertumbuhannya dan akan menimbulkan rasa asam. Ini juga dapat menghambat pertumbuhan dari beberapa jenis mikroorganisme lain. Dua kelompok mikroorganisme dari kelompok ini yaitu organisme yang bersifat homofermentatif dan heterofermentatif, yaitu :

1. Homofermentatif

Glukosa difermentasi menghasilkan asam laktat sebagai satu – satunya produk. Contohnya : *Streptococcus*, *Pediococcus* dan *Lactobacillus*

2. Heterofermentatif

Glukosa difermentasikan selain menghasilkan asam laktat juga menghasilkan senyawa – senyawa lain seperti etanol, asam asetat dan CO₂

Contohnya : *Leuconostoc*, dan beberapa jenis *Lactobacillus*

Bahan tambahan yang digunakan dalam pembuatan minuman probiotik adalah pemanis dan sari buah sebagai sumber cita rasa. Sebagai pemanis biasanya digunakan sukrosa atau gula pasir, madu atau sirup. Gula yang ditambahkan dapat berupa kristal bubuk atau berupa sirup. Buah – buahan yang digunakan sebagai penambah cita rasa tergantung kesukaan dari konsumen. Jumlah penambahan buah dapat sebanyak 20 – 25% dari total produk. Buah – buahan yang digunakan adalah buah yang diawetkan dapat berupa buah yang telah beku dan sari buah. Syarat mutu minuman susu fermentasi berperisa menurut Standar Nasional Indonesia pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Syarat Mutu Minuman Susu Fermentasi Berperisa menurut Standar Nasional Indonesia (SNI).

Sumber : Standar Nasional Indonesia

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan			
			Tanpa pemanasan		Dengan Pemanasan	
			Normal	Tanpa Lemak	Normal	Tanpa Lemak
1	Keadaan					
1.1	Penampakan	-	Cair		Cair	
1.2	Bau	-	Normal/khas		Normal/khas	
1.3	Rasa	-	Homogen		Homogen	
1.4	Homogenitas	-	Homogen		Homogen	
2	Lemak (b/b)	%	Min 0,6 ; maks 0,5		Min 0,6 ; maks 0,5	
3	Total padatan susu tanpa	%	Min 3,0		Min 3,0	

lemak				
4	Protein (b/b)	%	Min 1,0	Min 1,0
5	Abu (b/b)	%	Maks 1,0	Min 1,0
6	Keasaman titrasi (dihitung sebagai asam laktat)	%	0,2 s.d 0,9	0,2 s.d 0,9
7	Cemaran logam :			
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks 0,02	Maks 0,02
7.2	Merkuri (Hg)	mg/kg	Maks 0,03	Maks 0,03
8	Cemaran Arsen (As)	mg/kg	Maks 0,1	Maks 0,1
9	Cemaran miktoba			
9.1	Bakteri <i>coliform</i>	APM/ml	Maks 10	Maks 0,03
9.2	<i>Salmonella sp</i>	-	Negatif	Negatif
9.3	<i>Listeria monocytogene s</i>	-	Negatif	Negatif
10	Kultur starter	Koloni/ml	Min 1×10^7	-

Genus *Lactobacillus* mempunyai beberapa kelebihan yang berpotensi untuk digunakan sebagai agen probiotik, diantaranya adalah mampu bertahan pada pH rendah, tahan terhadap garam empedu, memproduksi antimikrobia dan daya antagonistik terhadap patogen enterik, mampu mengasimilasi serum kolesterol dan mendekongjugasi garam empedu serta dapat tumbuh baik pada medium sederhana (Rahayu, 2001). Beberapa penelitian telah berhasil mendapatkan beberapa strain *Lactobacillus* dari berbagai bahan minuman fermentasi misalnya yoghurt, makanan fermentasi tradisional seperti tape, growol dan gatot (Ngatirah *et al.* 2000). Berdasarkan produk fermentasinya *Lactobacillus* dibagi menjadi dua yaitu homofermentatif jika memfermentasikan gula menjadi asam laktat sebagai produk utama dan sebagian kecil asam asetat serta karbondioksida, dan heterofermentatif jika produk fermentasinya berupa alkohol dan asam laktat

(Frazier 1981). Bakteri asam laktat homofermentatif meliputi beberapa spesies yang dapat tumbuh pada suhu optimal 37⁰C atau di atasnya yaitu *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *L. acidophilus*, *Lactobacillus thermophilus* dan *Lactobacillus delbrueckii*. Sedangkan *Lactobacillus* heterofermentatif yang bersifat termofilik yaitu *Lactobacillus fermentum*. *Lactobacillus* homofermentatif yang tumbuh pada suhu bawah suhu optimal adalah *L. casei*, *L. plantarum* dan *L. leichmanii*. Sedangkan *Lactobacillus* heterofermentatif meliputi *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. pastorianus* (Frazier, 1981).

Karakteristik *Lactobacillus* yang sangat penting untuk makanan yaitu kemampuannya dalam mengkonversi gula menjadi beberapa produk termasuk asam laktat yang berguna pada pembuatan industri makanan (Sofjan *et al.* 2003). *Lactobacillus* ditemukan pada substrat yang kaya akan karbohidrat dengan berbagai habitat, seperti membran mukosa manusia dan binatang (rongga mulut, intestin, vagina) atau makanan hasil fermentasi dan makanan yang membusuk. Dari berbagai hasil penelitian diketahui bahwa fermentasi makanan yang terdapat di Indonesia, Laos dan Thailand didominasi oleh *L. plantarum* (Sofjan *et al.* 2003).

Lactobacillus termasuk salah satu bakteri asam laktat. Penampakan koloni yang dibentuk oleh bakteri asam laktat berupa koloni bundar berwarna putih kekuningan dengan bentuk elips dan bersifat anaerob fakultatif dengan zona bening yang terbentuk di sekeliling koloni. Salah satu syarat strain bakteri probiotik adalah strain yang mempunyai kemampuan yang sesuai dengan kondisi saluran pencernaan yaitu strain harus tahan terhadap garam empedu dan kondisi pH lambung (pH 2,0) apabila dikonsumsi (Walker dan Gillian 1993) dalam

Ngatirah *et al.* 2000). Hasil uji ketahanan terhadap pH rendah dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Uji Ketahanan pH Rendah *Lactobacillus casei*

Ph	7	3	2,5	2
<i>L. casei</i>	$2,0 \times 10^{10}$	$2,4 \times 10^8$	$9,0 \times 10^2$	6

(CFU mL-1)

Sumber : Rofiq Sunaryanto (2014).

Tabel 2.2 dapat diketahui bahwa *Lactobacillus casei* mempunyai ketahanan terhadap pH rendah yang cukup besar meskipun penurunan jumlah koloni sangat tajam. Penurunan yang tajam terjadi setelah pH larutan dibawah pH 3. Pada rentang pH 3 sampai dengan pH 2,5 terjadi penurunan jumlah sel mencapai 10^6 sel. Namun demikian pada pH 2 masih terdapat enam koloni yang mampu bertahan dan tumbuh pada pH 2. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Kashket (1998) dalam Meutia (2000) yang mengatakan bahwa bahwa bakteri asam laktat terutama *Lactobacillus* termasuk bakteri yang paling tahan pada kondisi asam (Kashket 1987 dan Meutia 2003). Ngatirah *et al.*,2000 juga mendapatkan 3 isolat *Lactobacillus* yang tahan asam hingga pH 2,0 yang diisolasi dari berbagai makanan tradisional yang diduga berpotensi sebagai agensia probiotik.

Sebagian besar mikroorganismenya hanya mampu bertahan hidup sampai dengan pH 4. Rata – rata bakter asam laktat hanya mampu bertahan pada 2,5 – 3. Hanya ada beberapa bakteri asam laktat yang mampu bertahan pada pH 2. Hal ini merupakan sifat keunggulan dari mikroba asam laktat, sehingga beberapa teknik pengawetan makanan memnfaatkan mikroba asam laktat. Selain dapat bertahan pada suhu rendah dengan kisaran 2,5 – 4 atau pada pH lambung, mikroba juga harus mampu bertahan pada keadaan garam empedu. Garam empedu bersifat

sebagai senyawa aktif mempertemukan sehingga dapat menembus dan bereaksi dengan sisi membran sitoplasma yang bersifat lipofilik.

Menurut Purwandhani *et al.*, 2000 Kemampuan isolat *L. casei* hasil isolasi dari susu kerbau yang telah terfermentasi untuk tumbuh pada garam empedu dengan konsentrasi yang dikondisikan seperti pada saluran pencernaan manusia membuktikan bahwa isolat ini juga mempunyai kemampuan yang sama dengan *Lactobacillus* yang diisolasi dari pencernaan manusia. Kemampuan ini memenuhi salah satu syarat untuk menjadi strain probiotik yaitu mampu bertahan dalam saluran pencernaan manusia.

Tabel 2.3 Uji Ketahanan pH Rendah *Lactobacillus bulgaricus*

Konsentrasi	0 %	0,5 %	1 %	5 %	10 %	15 %
garam empedu						
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	7,7 x 10 ⁸	7,5 x 10 ⁵	9,4 x 10 ³	5,3 x 10 ³	1,5 x 10 ³	1,0 x 10 ³
(CFU mL ⁻¹)						

Sumber : Rofiq Sunaryanto (2014)

2.5.1 Tinjauan Pertumbuhan Bakteri

Bakteri yang diinokulasi ke dalam substrat baru mengalami beberapa pertumbuhan tahap fase pertumbuhan. Penggabungan fase akan membentuk kurva pertumbuhan. Fase pertumbuhan dibagi menjadi empat fase yaitu fase lag, fase log, fase stasioner dan fase kematian (Novia,2012).

Fase lag merupakan fase dimana bakteri akan beradaptasi dengan mengeluarkan enzim – enzim untuk memecah substrat kompleks menjadi lebih sederhana agar dapat digunakan sebagai bahan makanan dan menghasilkan energi untuk membelah diri. Fase ini dapat berlangsung singkat tetapi dapat membutuhkn

waktu yang lama tergantung pada medium yang digunakan. Semakin kompleks suatu substrat maka semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk menguraikan dan pada fase ini tidak terjadi penambahan jumlah bakteri.

Fase log merupakan fase dimana bakteri mulai membelah dan tumbuh. Pada fase ini terjadi pembelahan sel secara cepat dalam beberapa jam atau bahkan beberapa hari dengan kondisi yang optimum. Laju pertumbuhan ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu inkubasi, pH dan aktivitas air (Rofi'i, 2009).

Fase stasioner merupakan fase ketika jumlah sel yang dibentuk seimbang dengan jumlah sel yang mati. Fase ini dapat terjadi karena keterbatasan sumber nutrisi atau substrat atau karena meningkatnya jumlah produk sampingan yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan terjadi pertumbuhan menjadi horizontal (Novia, 2012).

Fase kematian merupakan fase terjadi penurunan jumlah populasi bakteri hingga mencapai tingkat yang stabil. Setelah sebagian besar bakteri mati, sebagian bakteri dapat bertahan hidup sampai berbulan-bulan tergantung pada jenis. Kematian bakteri pada fase ini umumnya disertai dengan terjadinya lisis (Rofi'i, 2009).

2.5.2 *Lactobacillus Bulgaricus*

Lactobacillus delbrueckii Subsp. *Bulgaricus* atau biasa disebut *Lactobacillus bulgaricus* adalah salah satu BAL yang digunakan sebagai starter kultur untuk susu fermentasi. Bakteri ini dapat ditemukan di dalam vagina dan sistem pencernaan, dimana mereka bersimbiosis dan merupakan sebagian kecil dari flora usus. Menurut Feliatra *et al.*, 2004, *Lactobacillus* tersebar luas di lingkungan, terutama pada hewan dan produk makanan sayur-sayuran. Mereka biasanya

mendiami saluran usus burung dan mamalia, dan vagina mamalia, dan tidak bersifat patogen. Dalam susu, *Lactobacillus bulgaricus* akan mengubah laktosa menjadi asam laktat. Bakteri ini bersifat termodurik (dapat hidup pada suhu pasteurisasi 63 – 75°C) (Helferich dan Westhoff 1980, diacu dalam Wahyudi 2006).

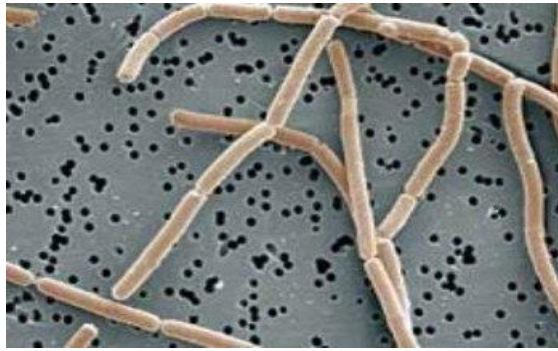
L. bulgaricus merupakan isolat yang diperoleh dari yoghurt komersial bersifat membentuk lendir. *L. bulgaricus* berbentuk batang dengan sel berukuran 0,5-0,8 µm x 2,0-9,0 µm. Merupakan bakteri gram positif, bersifat anaerob fakultatif, tidak membentuk spora, dan non motil (Helferich dan Westhoff 1980, diacu dalam Wahyudi 2006). Pada susu, bakteri ini membentuk rantai pendek yang terdiri dari 3-4 sel. Memiliki suhu optimum pertumbuhannya yaitu sekitar 37-45°C. Bersifat homofermentatif dengan menghasilkan asam laktat sebesar 1,7-2,1% pada susu. Kondisi optimum untuk pertumbuhannya adalah sedikit asam atau sekitar pH 5,5 (Robinson 1999, diacu dalam Dwiari *et al.* 2008). Pertumbuhan *L. bulgaricus* sangat cepat yaitu telah mencapai fase pertumbuhan eksponensial pada waktu inkubasi 4 jam, sedangkan pada suhu inkubasi 25°C dan 30°C sampai inkubasi 6 jam masih menunjukkan fase pertumbuhan adaptasi. Hasil ini sesuai dengan penelitian Malaka (1997), diacu dalam Malaka (2007) bahwa *L. bulgaricus* tumbuh optimal pada 37°C dengan fase adaptasi (lag phase) pada 0 – 2 jam, fase eksponensial 2 – 14 jam dan mulai mencapai fase stasioner pada 14 jam inkubasi dengan jumlah total *L. bulgaricus* mencapai $4,9 \times 10^9$ pada 16 jam inkubasi. Bakteri *L. bulgaricus* adalah bakteri probiotik karena telah lolos dari uji klinis, enzimnya mampu mengatasi intoleransi terhadap laktosa, menormalkan komposisi bakteri saluran pencernaan serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Waspo

2001, diacu dalam Feliatra *et al.* 2004). Pada proses pembuatan yoghurt *Lactobacillus bulgaricus* menghasilkan asam asetat, diasetil dan asetaldehida yang akan memberikan cita rasa khas yogurt (Chotimah, 2009). Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* memiliki fungsi yang sangat berperan dalam pembentukan aroma minuman sari buah sirsak gunung probiotik (R. Haryo Bimo Setiarto *et al.*, 2018).

Berdasarkan produk yang dihasilkan selama fermentasi, BAL terbagi atas dua golongan, yakni homofermentatif dan heterofermentatif. Homofermentatif adalah fermentasi yang produk akhirnya mayoritas berupa asam laktat seperti fermentasi yang terjadi dalam pembuatan yoghurt. Heterofermentatif adalah fermentasi yang produk akhirnya berupa asam laktat dan etanol sama banyak serta gas CO₂ seperti pada proses fermentasi yang terjadi dalam pembuatan tape (Belitz *et al.*, 2009 dalam Sibarani, 2010) dalam Kurniawati (2015).

Adapun Klasifikasi dari bakteri *L. bulgaricus* menurut Weiss *et al.* (1984) diacu dalam Malaka (2007), dapat digolongkan sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
Division : Firmicutes
Class : Bacilli
Ordo : Lactobacillales
Famili : Lactobacillaceae
Genus : Lactobacillus
Species : *Lactobacillus delbrueckii*
Subspecies : *Lactobacillus delbrueckii* Subsp. *bulgaricus*

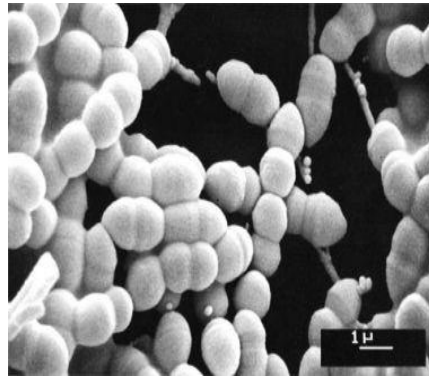


Gambar 2.3 Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* (waspodo., 2001)

Media selektif yang dapat digunakan untuk pertumbuhan kedua bakteri asam laktat tersebut adalah media *De Man Rogosa Sharpe Agar* (MRSa) dan *De Man Rogosa Sharpe Broth* (MRSb). Perbedaan dari kedua media tersebut adalah MRSa berbentuk padat sedangkan MRSb berbentuk cair. Adapun komposisi dari kedua media tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.2 dan 2.3 (Anonim, 2016).

2.5.3 *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus merupakan bakteri termofilik yang dapat tumbuh pada suhu 45⁰C. Perbedaan suhu tersebut membedakan bakteri ini dari spesies *Streptococci* lainnya. Karakteristik *S. thermophilus* berbentuk bulat yang membentuk rantai, gram positif, katalase negatif, dapat mereduksi *litmus milk*, tidak toleran terhadap konsentrasi garam yang lebih besar dari 6,5%, tidak berspora, bersifat termodurik, tidak dapat tumbuh pada suhu 10⁰ dan menyukai suasana mendekati netral dengan pH optimum untuk pertumbuhan adalah 6,5 (Helferich dan Wesrhoff, 1980). Selain itu suhu pertumbuhannya berkisar antara 40 – 45⁰C. Bentuk penampakan bakteri *Streptococcus thermophilus* dapat dilihat pada gambar 2.4



Gambar 2.4 *Streptococcus thermophilus* (Chaitow dan trener., 1990)

S. thermophilus merupakan BAL homofermentatif yang menghasilkan asam laktat sebagai produk utama. *S. Thermophilus* merupakan satu – satunya spesies bakteri dalam genus Streptococci yang menghasilkan enzim laktase (Chaitow dan trener., 1990). Efek menguntungkan dari *S. Thermophilus* selain menghasilkan asam laktat, yaitu menghasilkan enzim laktase yang berfungsi mencerna laktosa dalam susu. Fungsi dari bakteri *Stapilococcus thermophilus* memiliki fungsi yang lebih berperan pada citarasa dari minuman probiotik (R. Haryo Bimo Setiarto *et al.*, 2018).

2.6 Tinjauan Uji Evaluasi

Dalam pembuatan minuman probiotik dari sari buah sirsak gunung (*Annona montana macf.*) terdapat beberapa uji evaluasi yang dapat dilakukan sebagai berikut :

2.5.1 Uji Organoleptis

Uji organoleptik dilakukan untuk menunjukkan hasil pengukuran objektif panelis terhadap atribut sensori suatu produk. Atribut sensori yang dianalisa pada uji organoleptik menggunakan sistem indera manusia, antara lain yaitu aroma (penciuman), rasa (pengecap), warna (penglihatan), dan tekstur (peraba).

2.5.2 Uji pH

Sebelum dilakukan pengukuran, pH meter harus dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan peyangga (*buffer*) 7,0. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap larutan sampel dengan mencelupkan elektroda pada pH meter ke dalam larutan sampel dan biarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil. Standar nilai pH pada minuman probiotik berkisar 3,5 – 5 (Hendrawati, 2006).

2.5.3 Uji Total Bakteri Asam Laktat

Uji perhitungan jumlah total bakteri dilakukan untuk jumlah bakteri yang terdapat dalam minuman probiotik.

2.5.4 Uji Viskositas

Viskositas merupakan sifat ketahanan terhadap aliran suatu bahan yang berwujud cair, pasta, gel dan bubur (Retnowati dan Kusnadi, 2014). Nilai viskositas menurut Winarno dan Fernandez, (2007) bahwa produk fermentasi yang mengacu pada yoghurt mempunyai viskositas antara 8,28-13,00 cP.

2.7 Kerangka Teori

Annona montana macf atau sirsak gunung merupakan tanaman dari genus *Annonae* yang memiliki bentuk buah bulat, kulit buah waktu muda berwarna hijau tua dan saat masak atau tua kuning, dan buah berduri pendek lunak. Daging buah berwarna kuning dan tidak enak dimakan, tetapi aromanya harum yang khas dan mempunyai biji berkhas berwarna coklat muda. Potensi yang dimiliki buah sirsak gunung memiliki aroma yang wangi dapat dimanfaatkan sebagai minuman fermentasi diantaranya minuman probiotik yang sekarang mulai digemari dan menjadi salah satu pilihan minuman kesehatan masyarakat modern.

Fermentasi merupakan proses penguraian bahan – bahan karbohidrat yang terjadi karena adanya aktifitas mikroba pada substansi yang sesuai. Dengan terdapatnya proses fermentasi pada bahan pangan sehingga terjadi perubahan sifat bahan pangan dari segi rasa, tekstur serta mampu meningkatkan kebutuhan gizi bahan pangan. Selama proses fermentasi faktor yang mempengaruhi keberhasilan fermentasi yaitu suhu, starter yang digunakan, derajat keasaman (pH), nutrisi, dan oksigen. Penggunaan gula, sukrosa serta madu selain sebagai penambah cita rasa, sebagai pengawet dalam produk pangan dan dapat juga untuk membuat tekstur yang ideal. Proses inkubasi dengan lama waktu 24 jam dan dengan suhu 37° sudah mampu menghasilkan jumlah bakteri yang ideal dan sesuai yaitu 10^7 . Serta lamanya proses fermentasi atau inkubasi dapat mempengaruhi penurunan pH dan kenaikan konsentrasi total bakteri dan asam pada proses fermentasi. Variasi starter yang digunakan dalam minuman probiotik dengan perbandingan 2 %, 4 %, dan 6 %.

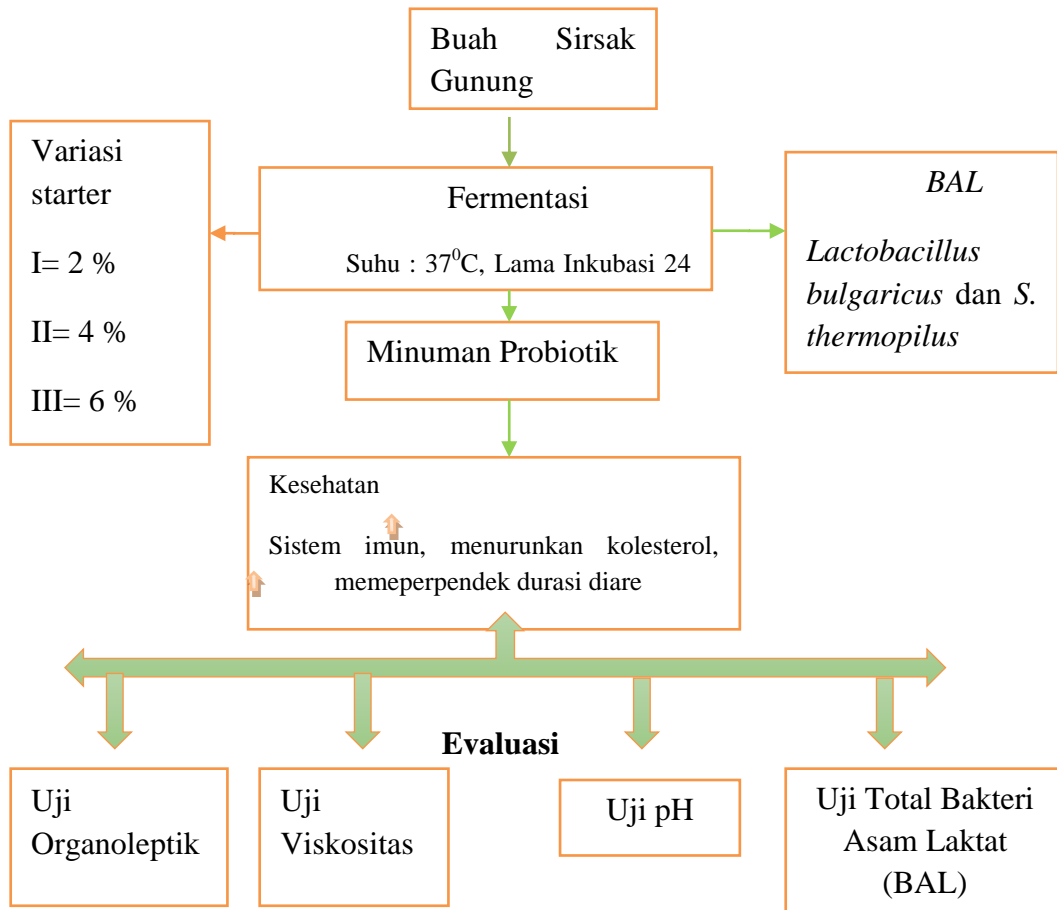
Salah satu bentuk produk bahan pangan dapat berupa minuman probiotik yaitu mikroba hidup yang dapat mempengaruhi kesehatan dengan cara menyeimbangkan kebutuhan mikroba pada usus dan menghambat mikroba patogen dengan asam laktat sebagai metabolit. Karena banyaknya manfaat yang dimiliki oleh minuman probiotik, sekarang minuman probiotik sudah menjadi salah satu minuman yang banyak dikonsumsi karena dapat meningkatkan sistem kekebalan, membantu absorpsi nutrisi, memperpendek durasi sakit diare dan membantu pencernaan laktosa bagi penderita laktosa intoleransi bagi kesehatan. Efek dari mengonsumsi sel hidup yang terdapat dalam minuman probiotik adalah kemampuan sel hidup untuk memberikan perlindungan patogen, dapat

menurunkan kadar kolesterol, serta modulasi sistem imun. Pada penelitian ini *L. Bulgaricus* dan *S. Thermopilus* pada minuman probiotik dengan menentukan beberapa parameter yaitu organoleptis, pH, viskositas dan uji total bakteri asam laktat. *L. Bulgaricus* dan *S. Thermopilus* pada umumnya tidak dapat bertahan hidup pada saluran pencernaan. Oleh karena itu, kedua bakteri ini dianggap sebagai agen probiotik yang kurang baik, dan hanya dianggap sebagai kultur starter (Saadah dkk., 2015).

2.8 Hipotesis

H0 : Rasio starter tidak memiliki pengaruh terhadap kualitas fermentasi minuman probiotik sari buah sirsak gunung (*Annona montana* macf.) dengan penambahan *Lactobacillus bulgaricus* dan *streptococcus thermophilus*.

H1 : Rasio starter memiliki pengaruh terhadap kualitas fermentasi minuman probiotik sari buah sirsak gunung (*Annona montana* macf.) dengan penambahan *Lactobacillus bulgaricus* dan *streptococcus thermophilus*.



Gambar 2.5 Kerangka Konsep Pembuatan Fermentasi Probiotik Sari Buah Sirsak gunung