

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Klasifikasi Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.)

Kingdom : Plantae
Phylum : Tracheophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : Magnoliales
Family : Annonaceae
Genus : *Annona*
Spesies : *Annona montana* Macfad.



Gambar 2.1 Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.) (Dokumentasi Pribadi, 2020)

2.2 Tinjauan Tentang Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.)

Buah 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 memiliki rasa kurang enak, tetapi memiliki aroma yang harum dan mempunyai banyak biji yang berwarna coklat muda (Sukarmin, 2012). Sukarmin, (2010) menyatakan persentase daya tumbuh sirsak gunung mencapai 97,6%, kecepatan tumbuh 2-3 minggu setelah semai dan daya pertumbuhan yang vigor, tinggi tanaman pada umur 6 bulan mencapai 42,44 cm, dan mempunyai akar yang kuat sehingga cocok sebagai batang bawah.

Sirsak gunung mengandung karotenoid yaitu pigmen yang memberikan warna kuning, jingga hingga merah. Karotenoid berfungsi sebagai antioksidan, antikanker, dan membantu memelihara kesehatan mata. (Maleta *et al.*, 2018). Karotenoid stabil pada pH netral, alkali namun tidak stabil pada kondisi asam, adanya udara atau oksigen, cahaya dan panas. Karotenoid tidak stabil karena mudah teroksidasi oleh adanya oksigen dan peroksida. Selain itu, dapat mengalami isomerisasi bila terkena panas, cahaya dan asam. Kebanyakan karotenoid stabil terhadap basa namun beberapa karotenoid seperti astaksantin dan fukosantin peka terhadap alkali (Wahyuni dan Widjanarko 2015).

2.3 Tinjauan Minuman Probiotik

Minuman probiotik adalah jenis minuman fungsional yang memiliki efek kesehatan serta mengandung mikroba hidup atau biasa disebut probiotik. Probiotik

diartikan sebagai suplemen berupa mikrobia hidup yang memiliki efek menguntungkan bagi inang yang mengkonsumsi melalui keseimbangan mikroflora dalam usus dan mencegah serta menyeleksi mikroba yang tidak berfungsi (Primurdia *and* Kusnadi, 2014; Sopandi *and* Wardah, 2014). Produk yang dikatakan sebagai probiotik harus mengandung bakteri probiotik dengan jumlah $\geq 10^6$ CFU/mL (Boro, 2017).

Pada pembuatan minuman probiotik, proses fermentasi dibantu dengan bantuan bakteri probiotik, yang merupakan bakteri asam laktat (BAL). BAL adalah bakteri yang melakukan penguraian glukosa atau karbohidrat menghasilkan asam laktat yang akan menurunkan pH serta menimbulkan rasa asam. Syarat utama strain yang dapat digunakan sebagai agensia probiotik adalah memiliki resistensi terhadap asam dan empedu sehingga dapat mencapai intestin dan memiliki kemampuan menempel pada mukosa intestin (Allen *et al.*, 2010). Syarat lain yang perlu dimiliki oleh bakteri probiotik adalah kemampuannya menghasilkan substansi antimikrobia sehingga mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen enterik. Berbagai jenis substansi antimikrobia yang dihasilkan oleh bakteri probiotik adalah asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan diperkirakan juga bakteriosin yaitu protein atau polipeptida yang memiliki sifat anti bakteri. Selain itu, mikrobia probiotik adalah tumbuh baik secara *in vitro*, memiliki stabilitas dan viabilitas yang tinggi dan aman bagi manusia (Sunaryanto *et al.*, 2014).

Probiotik yang terkandung di dalam minuman probiotik memiliki beberapa keuntungan yaitu dari segi nutrisi maupun terapeutik. Dari segi nutrisi probiotik dapat meningkatkan jumlah produksi riboflavin, niasin, thiamin, vitamin B6, vitamin B12, asam folat, meningkatkan jumlah ketersediaan kalsium, besi, mangan,

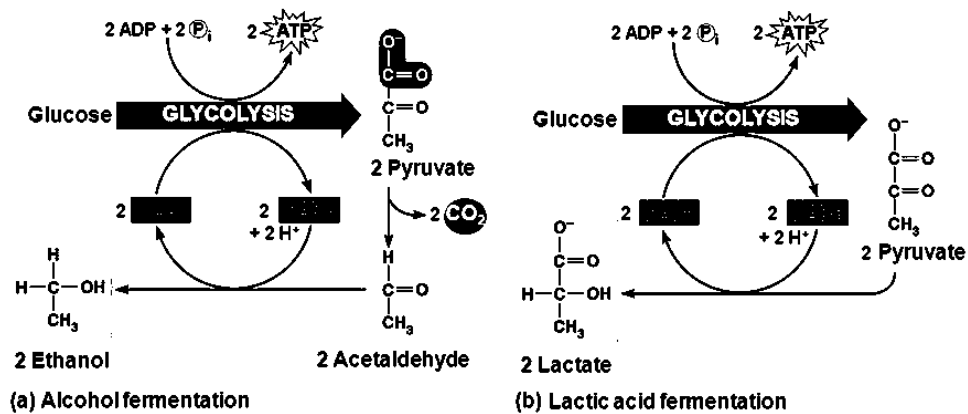
tembaga, dan fosfor bagi tubuh; serta meningkatkan daya cerna dari protein serta lemak (Thantsha *et al.*, 2012). Dari segi terapeutik, bakteri probiotik diklaim dapat mencegah terjadinya beberapa kondisi seperti *lactose intolerance*, alergi, diare, menurunkan kadar kolesterol, mencegah kanker usus besar, serta menghambat keberadaan bakteri patogen yang terdapat di dalam sistem pencernaan (Halim and Zubaidah, 2013).

Minuman probiotik termasuk kedalam makanan fungsional yang mempunyai kandungan komponen aktif dan dapat memberikan efek terhadap kesehatan. Ada tiga fungsi dasar yang harus dipenuhi oleh makanan fungsional, yaitu *sensory* (warna dan penampilan menarik, citarasa enak), *nutritional* (bernilai gizi tinggi), dan *physiological* (memberikan pengaruh fisiologis yang menguntungkan bagi tubuh). Beberapa fungsi fisiologis yang diharapkan adalah pencegahan timbulnya bahaya penyakit, meningkatkan daya tahan tubuh, regulasi kondisi ritme fisik tubuh, memperlambat proses penuaan dan penyehatan kembali dari sakit (*recovery*) (Kurniawan, 2020).

2.4 Tinjauan Tentang Fermentasi

Fermentasi merupakan proses penguraian bahan-bahan yang mengandung karbohidrat dengan melibatkan bantuan BAL. Fermentasi dapat terjadi karena adanya sifat mikrobial penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Terjadinya fermentasi dapat menyebabkan perubahan sifat pangan, sebagai akibat pemecahan kandungan-kandungan bahan pangan tersebut (Winarno, 1980). Fermentasi secara teknik dapat didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi anaerobik atau partial anaerobik karbohidrat yang menghasilkan alkohol serta

beberapa asam, namun banyak proses fermentasi yang menggunakan substrat protein dan lemak (Muchtadi and Ayustaningwarno, 2010).



Gambar 2.2 Reaksi Fermentasi (B. Reece *et al.*, 2010).

Menurut Azizah *et al.* (2012) lama fermentasi dipengaruhi oleh faktor – faktor yang secara langsung maupun tidak langsung berpengaruh terhadap proses fermentasi, yakni :

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. Pada proses fermentasi, pH juga sangat berpengaruh terhadap laju pertumbuhan mikroba dan hubungan erat dengan suhu, jika suhu naik maka pH optimum juga akan naik.

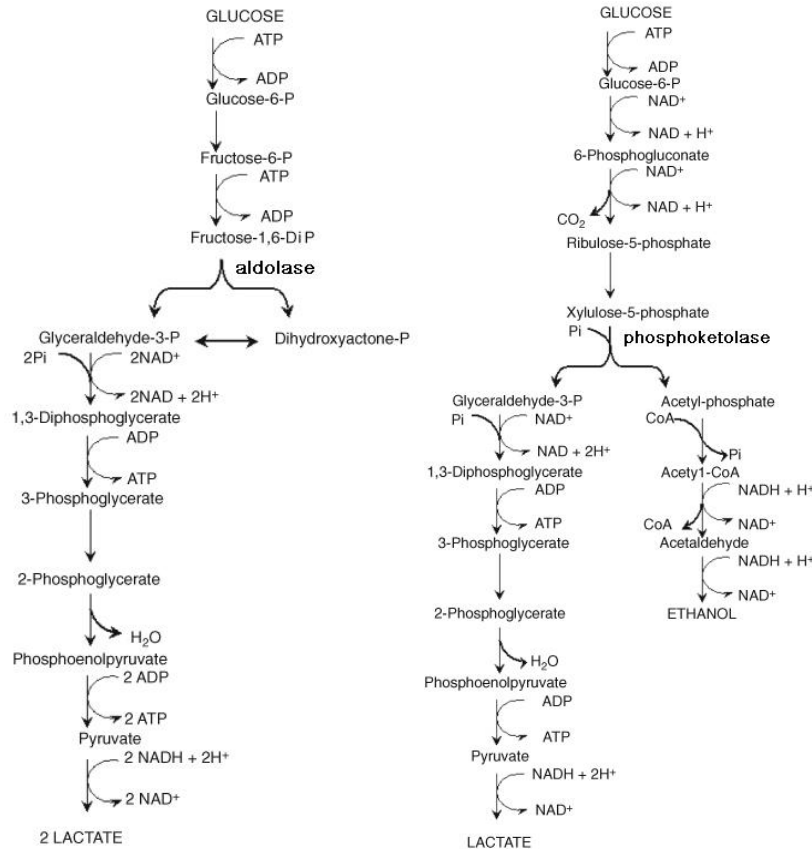
4. Air

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.

2.5 Tinjauan Tentang Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) dicirikan sebagai bakteri gram positif, tidak membentuk spora, katalase negatif tetapi kadang-kadang terdeteksi katalase semu pada kultur yang ditumbuhkan pada konsentrasi gula rendah, anaerob aerotoleran, tahan asam, fermentatif, berbentuk batang dan bulat, habitatnya harus kaya nutrisi (Kuswinarto, 2017). Pada BAL dikenal dua golongan, yaitu mikroba homofermentatif dan mikroba heterofermentatif. Golongan homofermentatif dalam proses fermentasi hanya menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir, sedangkan heterofermentatif selain menghasilkan asam laktat juga menghasilkan CO₂, sedikit

asam-asam organik lainnya, alkohol dan ester (Muchtadi *and* Ayustaningwarno, 2010).



Gambar 2.3 Skema Fermentasi Asam Laktat (Todar, 2012)

BAL sebagai bakteri probiotik merupakan mikroorganisme yang aman ditambahkan dalam pangan karena sifatnya tidak toksik dan tidak menghasilkan toksin (*food grade microorganism*) atau *Generally Recognized as Safe (GRAS)* yaitu mikroorganisme yang tidak beresiko terhadap kesehatan (Setianingsih, 2010). BAL mampu bertahan hidup dalam keasaman lambung sehingga dapat menempati usus dalam kuantitas yang cukup besar. Produk probiotik dapat menghambat bakteri patogen dan melakukan metabolisme terhadap laktosa sehingga bermanfaat bagi penderita intoleransi laktosa (Rizal *et al.*, 2016). Genus BAL yang telah lama digunakan sebagai kandidat probiotik adalah *Lactobacillus*, *Lactococcus*,

Leuconostoc, *Pediococcus*, dan *Streptococcus* serta genus *Bifidobacterium* (Nurhasanah, 2019).

1.5.1 *Lactobacillus casei*

Lactobacillus casei berbentuk batang pendek dalam koloni tunggal maupun berantai dengan ukuran panjang 1,5 - 5,0 mm dan lebar 0,6 - 0,7 mm. Bakteri ini bersifat gram positif, katalase negatif, tidak membentuk endospora maupun kapsul, tidak mempunyai flagela dan tumbuh dengan baik pada kondisi anaerob fakultatif. Berdasarkan suhu pertumbuhannya, bakteri ini termasuk bakteri mesofil yang dapat hidup pada suhu 15 - 41°C dan pada pH 3,5 atau lebih, sedangkan kondisi optimum pertumbuhannya adalah pada suhu 37°C dan pH 6,8 (Mutai, 1981). Menurut Holt *et al.* dalam Candraningtyas (2018), taksonomi *Lactobacillus casei* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Division	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Lactobacillaceae
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Species	: <i>Lactobacillus casei</i>



Gambar 2.4 *Lactobacillus casei* (Anonim, 2020)

Lactobacillus casei pada produk minuman fermentasi laktat termasuk jenis bakteri asam laktat homofermentatif, yaitu bakteri yang memfermentasi glukosa menjadi asam laktat dalam jumlah yang besar (90%). Selain asam laktat yang dihasilkan *Lactobacillus casei* juga mampu memproduksi senyawa-senyawa inhibitor (asam laktat, asam asetat), H₂O₂, serta bakteriosin yang dapat menekan pertumbuhan dan membunuh bakteri patogen dalam usus. *Lactobacillus casei* memiliki peran dalam probiotik manusia, kultur starter asam dalam fermentasi dan kultur khas dalam perkembangan rasa dalam varietas keju (Boro, 2017).

Beberapa penelitian membuktikan bahwa penggunaan bakteri *Lactobacillus casei* dalam minuman probiotik dapat meningkatkan antioksidan. Penelitian minuman probiotik air kelapa yang dilakukan oleh Ziska *et al.* (2017), nilai IC₅₀ dari hasil pengujian menggunakan metode DPPH sebesar 73,76 ppm yang termasuk kedalam kategori kuat. Jika dibandingkan dengan air kelapa non-fermentasi yang menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 76,43 ppm, kemampuan antioksidan fermentasi air kelapa lebih besar daripada air kelapa non-fermentasi. Hal ini disimpulkan bahwa proses fermentasi menggunakan bakteri asam laktat dapat meningkatkan aktivitas antioksidan minuman probiotik. Peningkatan penghambatan radikal bebas berbanding lurus dengan kadar asam laktat yang terbentuk dari hasil fermentasi oleh BAL. Semakin tinggi kadar asam laktat, maka kemampuan penghambatan radikal bebas juga akan semakin tinggi (Oktaviani *et al.*, 2014). Asam laktat (CH₃CHOHCOOH) yang dihasilkan oleh BAL berperan sebagai pendonor proton bagi molekul radikal bebas DPPH. Peluruhan warna larutan DPPH pada pengujian disebabkan oleh proses transfer atom pada elektron yang tidak berpasangan dari

atom N dalam struktur DPPH. Semakin kuat aktivitas antioksidan, maka peluruhan warna ungu yang terjadi akan semakin besar (Putri K., 2011).

1.5.2 *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*

Lactobacillus bulgaricus merupakan bakteri gram positif, anaerob fakultatif, homofermentatif, berbentuk batang, tidak berspora, dan bersifat katalase negatif (Gilliand, 1986) . *Lactobacillus bulgaricus* mampu tumbuh optimal pada suhu 45°C, bakteri ini bersifat *acidophylic* atau memiliki kondisi yang agak asam yakni pH 5,5 (Pederson, 1971). Klasifikasi dari bakteri *Lactobacillus bulgaricus* adalah sebagai berikut (Malaka, 2007) :

Kingdom	: Bacteria
Division	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Lactobacillaceae
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Species	: <i>Lactobacillus delbrueckii</i>
Subspecies	: <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>

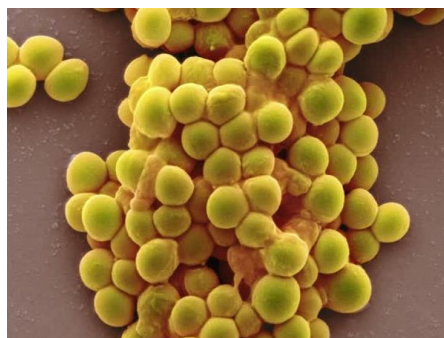


Gambar 2.5 *Lactobacillus bulgaricus* (Jaiswal, 2017)

Bakteri *Lactobacillus 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 (Tambunan, 2016).

Lactobacillus bulgaricus digunakan bersama *Streptococcus thermophilus* yang merupakan bakteri gram positif dengan bentuk bulat hingga oval, diameter 0,7 – 0,9 mikrometer, serta berada dalam bentuk berpasangan sampai rantai panjang (Ray, 2004). *Streptococcus thermophilus* optimal pada suhu 37°C dengan kondisi pH 6,5 (Pederson, 1971). Menurut Jensen (1919), taksonomi *Streptococcus thermophilus* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Division	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Streptococcaceae
Genus	: <i>Streptococcus</i>
Species	: <i>Streptococcus thermophilus</i>



Gambar 2.6 *Streptococcus thermophilus* (Kalpana, 2018)

Streptococcus thermophilus memiliki beberapa manfaat diantaranya efisien dalam mencerna laktosa, dapat menghancurkan bakteri patogen dan juga merangsang produksi *cytokine* yang terlibat dalam sistem kekebalan, meningkatkan nilai makanan dengan pembuatan mikronutrien, serta mampu melawan virus (penyebab utama penyakit diare akut non bakteri pada anak dan bayi) (Wahyudi and Samsundari, 2008).

Kedua bakteri ini akan menguraikan laktosa menjadi asam laktat dan menghasilkan komponen aroma dan citarasa. *Lactobacillus bulgaricus* lebih berperan pada pembentukan aroma sedangkan *Streptococcus thermophilus* berperan pada pembentukan citarasa. Pada pembuatan yoghurt, bakteri *Lactobacillus bulgaricus* bersimbiosis mutualisme dengan *Streptococcus thermophilus*. Pertumbuhan *Streptococcus thermophilus* meningkat distimulir karena adanya asam amino dan peptida sederhana, terutama valin, lisin dan histidin, hasil degradasi protein oleh *Lactobacillus bulgaricus*, sedangkan *Lactobacillus bulgaricus* tumbuh dengan cepat karena distimulir adanya asam format dan CO₂ yang dihasilkan oleh *Streptococcus thermophilus*. Kombinasi bakteri yoghurt akan menghasilkan asam laktat lebih cepat dibandingkan kultur tunggal (Walstra *et al.*, 1999).

Penelitian yang dilakukan oleh Nurhasanah (2019) tentang aktivitas antioksidan minuman probiotik sari bengkoang *soy-yamghurt* dengan penambahan bakteri *Lactobacillus delbruekii* subsp. *bulgaricus* dan *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* memiliki nilai IC₅₀ terbaik sebesar 11,9925 ppm. Nilai ini termasuk dalam antioksidan sangat kuat. Kedua bakteri tersebut dapat tumbuh bersama-sama secara simbiosis dan akan menghasilkan asam lebih banyak dari pada digunakan

hanya salah satu saja (Rahman *et al.*, 2019). Adanya bakteri asam laktat yang merombak laktosa menjadi asam laktat yang bersifat sinergis yaitu dengan memberikan ion H^+ pada radikal bebas yang memiliki elektron tidak berpasangan sehingga meningkatkan antioksidan (Primurdia *and* Kusnadi, 2014).

2.6 Tinjauan Tentang Antioksidan

Antioksidan adalah molekul yang dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan atau menerima satu elektron untuk menghilangkan kondisi elektron tidak berpasangan (Muchtadi *and* Ayustaningwarno, 2010). Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007).

2.6.1 Antioksidan berdasarkan mekanisme kerjanya (Syarifuddin, 2015)

1. Antioksidan Primer (Antioksidan Endogenus)

Antioksidan primer atau antioksidan enzimatis yaitu suatu senyawa yang bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif. Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, glutathion peroksidase (GSH-PX), dan glutathion reduktase (GSH-R). Enzim tersebut bekerja dengan cara melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan

antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Bebas oksigen seperti anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH), dan hidrogen peroksida (H_2O_2).

2. Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogenus)

Antioksidan sekunder atau antioksidan non-enzimatis banyak ditemukan dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang bersifat antioksidan dalam sayuran dan buah-buahan meliputi vitamin C, vitamin E, β -karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, dan isokatekin. Kerja sistem antioksidan non-enzimatis yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Akibatnya, radikal bebas tidak akan bereaksi dengan komponen seluler.

3. Antioksidan Tersier

Antioksidan ini meliputi sistem enzim DNA-*Repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan DNA yang terinduksi senyawa radikal bebas dicirikan oleh rusaknya *single* dan *double strand* baik gugus non-basa maupun basa.

2.6.2 Antioksidan berdasarkan sumbernya

1. Antioksidan sintetik

Antioksidan yang diizinkan untuk ditambahkan kedalam makanan. Terdapat lima antioksidan yang penggunaannya meluas dan menyebar di seluruh dunia, yaitu butil hidroksi anisol (BHA), butil hidroksi toluen (BHT), propil galat, tert-butil hidroksi quinon (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersil (Pokorny *et al.*, 2001).

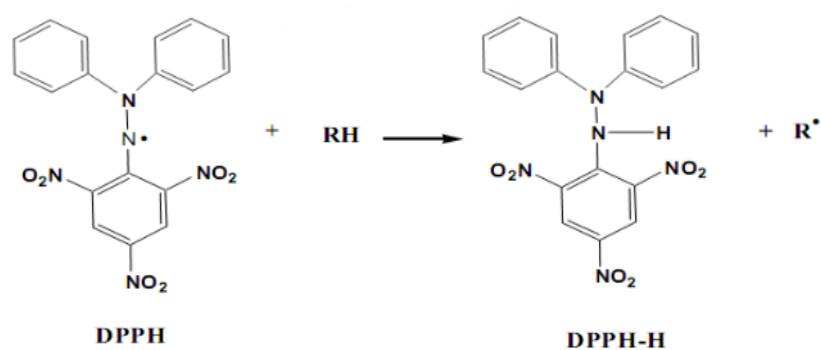
2. Antioksidan alami

Antioksidan alami dalam makanan yang dapat berasal dari senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan dan senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Antioksidan alami terbesar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, biji, dan serbuk sari (Pokorni *et al.*, 2001).

2.7 Tinjauan Tentang DPPH

Tujuan metode ini adalah mengetahui parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan (IC_{50}). DPPH merupakan radikal bebas yang dapat bereaksi dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen.



Gambar 2.7 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas (Rahim, 2012).

Adanya elektron yang tidak berpasangan, DPPH memberikan serapan kuat pada 517 nm. Ketika elektronnya menjadi berpasangan oleh keberadaan penangkap radikal bebas, maka absorbansinya menurun secara stokiometri sesuai jumlah

elektron yang diambil. Keberadaan senyawa antioksidan dapat mengubah warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning (Ciptaningsih, 2012). Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus (Prasetiorini *et al.*, 2014):

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan persen penghambatan (%inhibisi) sebagai sumbu y. Dari persamaan $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti $y = 50$ (Ciptaningsih, 2012).

Tabel 2.1 Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH

Intensitas	Nilai IC ₅₀
Sangat Kuat	<50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	101-150 ppm
Lemah	151-200 ppm
Sangat Lemah	>200 ppm

Sumber : (Latifah, 2015)

2.8 Tinjauan Tentang Spektrofotometri UV-VIS

Spektrofotometri serapan merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia (Depkes, 2008).

Sedangkan alat ukurnya disebut spektrofotometer. Sebuah spektrofotometer adalah suatu instrumen untuk mengukur transmitan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang (Anonim, 2019). Pengukuran absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu obyek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet. Sebagian dari cahaya tersebut akan diserap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang dilewatkan akan sebanding dengan konsentrasi larutan dalam kuvet (Cairns, 2009).

Spektrofotometer UV-Vis adalah salah satu instrumen yang biasa digunakan dalam menganalisa suatu senyawa kimia. Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (visible) mempunyai panjang gelombang 400-750 nm (Rohman, 2007). Menurut Harmita (2014), penggunaan Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk analisis kuantitatif maupun analisis kualitatif. Spektrum serapan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain :

1. Jenis pelarut
2. pH larutan
3. Konsentrasi larutan
4. Tebal larutan atau table kuvet
5. Lebar celah

Pelarut yang digunakan dalam Spektrofotometri UV-Vis tidak boleh mengabsorpsi cahaya pada daerah panjang gelombang pengukuran sampel. Pelarut yang umum digunakan antarlain air, etanol, metanol, dan n-heksana. Tahapan yang dilakukan dalam analisis kuantitatif antara lain :

1. Pembuatan spektrum serapan zat murni atau standar

2. Pembuatan kurva kalibrasi zat murni atau standar
3. Pembuatan larutan standar dan diukur pada λ_{maks}
4. Pengenceran sampel dan diukur pada λ_{maks}

Spektrofotometer UV-Vis terdiri dari suatu sistem optik dengan kemampuan menghasilkan sinar monokromatis dalam jangkauan panjang gelombang 200-800 nm. Instrumentasi Spektrofotometer UV-Vis terdiri dari (Gandjar *and* A., 2007):

1. Sumber-sumber lampu, lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visible (pada panjang gelombang antara 350-900 nm).
2. Monokrometer digunakan untuk mendispersikan sinar ke dalam komponen-komponen panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih oleh celah. Monokrometer berputar sehingga kisaran panjang gelombang dilewatkan pada sampel sebagai *scan* instrumen melewati spektrum.
3. Optik-optik untuk memecah sumber sinar sehingga sumber sinar melewati 2 kompartemen. Suatu larutan blanko dapat digunakan dalam satu kompartemen untuk mengoreksi pembacaan atau spektrum sampel.

2.9 Kerangka Teori dan Kerangka Konsep

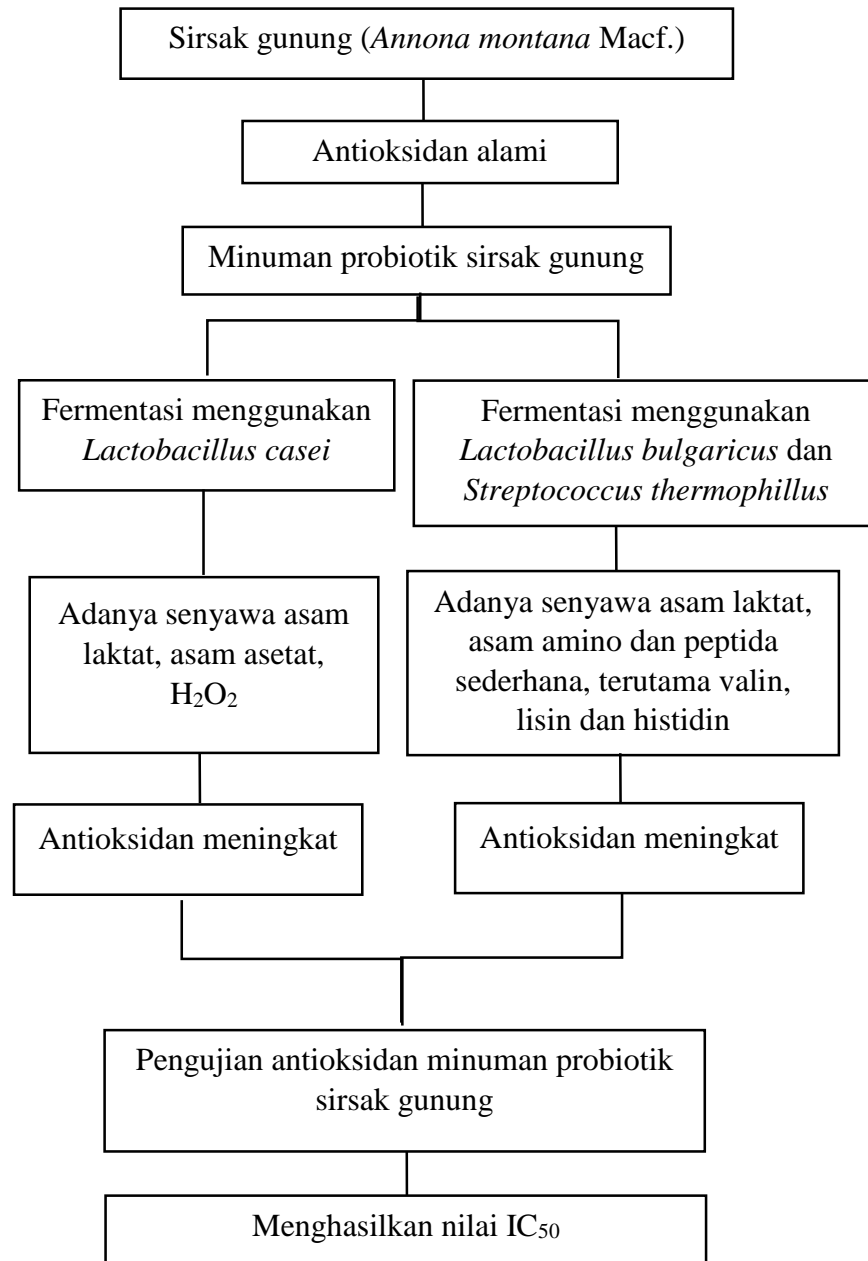
Tanaman sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) termasuk dalam satu famili dengan tanaman sirsak putih, yaitu *Annonaceae*. Sirsak gunung mempunyai bentuk buah hampir bulat atau lonjong. Kulit buah berwarna hijau tua waktu muda dan berubah menjadi kuning setelah tua dengan duri pendek yang lunak. Daging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

berwarna kuning dan memiliki rasa kurang enak. Berdasarkan penelitian, ekstrak sirsak gunung memiliki potensi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif.

Buah sirsak gunung ini telah dibuat menjadi sebuah minuman fungsional atau minuman probiotik. Pada penelitian sebelumnya telah dibuat produk minuman probiotik menggunakan starter yang berbeda yaitu *Lactobacillus casei* dan menggunakan campuran bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Selain menghasilkan asam laktat, *Lactobacillus casei* juga menghasilkan asam asetat dan H_2O_2 yang dapat meningkatkan antioksidan. Sedangkan senyawa asam laktat, asam amino dan peptida sederhana, terutama valin, lisin dan histidin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* juga dapat meningkatkan antioksidan.

Berbagai penelitian membuktikan bahwa perbedaan jenis BAL menghasilkan nilai antioksidan yang berbeda. Adanya BAL yang merombak laktosa menjadi asam laktat yang bersifat sinergis yaitu dengan memberikan ion H^+ pada radikal bebas yang memiliki elektron tidak berpasangan sehingga meningkatkan antioksidan. Maka perlu dilakukan pengujian antioksidan minuman probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) dengan variasi bakteri yang berbeda. Hal ini dikarenakan minuman probiotik menggunakan variasi bakteri yang berbeda dapat menghasilkan kadar antioksidan yang berbeda.

Kerangka konsep minuman probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) dengan jenis bakteri yang berbeda yaitu *Lactobacillus casei* dan kedua campuran antara *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*.



Gambar 2.8 Bagan Kerangka Konsep

2.10 Hipotesis

Jenis starter yang digunakan pada minuman probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) berpengaruh pada kadar antioksidan yang dihasilkan.