

## **AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINUMAN PROBIOTIK SARI KURMA (*Phoenix dactylifera* L.) dengan ISOLAT *L. Plantarum* dan *L. casei***

### ***Antioxidant Activity of Probiotic Drink From Dates Extract (Phoenix dactylifera L.) With the Isolates of L. plantarum and L. casei***

Elke Galuh Primurdia<sup>1\*</sup>, Joni Kusnadi<sup>1</sup>

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang  
Jl. Veteran, Malang 65145

\*Penulis Korespondensi, Email: el\_geminians@yahoo.com

#### **ABSTRAK**

Buah kurma memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi terutama sebagai sumber gula dan mengandung senyawa yang berperan sebagai antioksidan. Guna meningkatkan nilai gizi dan menciptakan inovasi produk baru diperlukan proses fermentasi dengan melibatkan BAL *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh proporsi buah : air dan lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan minuman probiotik sari buah kurma. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor. Faktor I adalah proporsi buah : air (1:4, 1:5, 1:6) dan faktor II adalah lama fermentasi (16 jam, 18 jam, 20 jam). Hasil perlakuan terbaik yaitu minuman probiotik sari buah kurma pada proporsi buah : air 1 : 4 dan lama fermentasi 20 jam dengan nilai pH 3.85, total gula 10.89%, total asam 1.03%, total fenol 636.37 µg GAE/ml, total flavonoid 445.63 µg CEQ/ml aktivitas antioksidan 56.32%, dan total BAL  $4.90 \times 10^{15}$  cfu/ml.

Kata kunci : Antioksidan, Fermentasi, Kurma, Minuman Probiotik

#### **ABSTRACT**

*Palm fruit has high nutrient content, primarily as a source of sugars and contains of compounds as antioxidant. For increasing nutrition value and release a new inovation product need fermentation process with LAB *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei*. The purpose of this study was to determine the effect of fruits : water's proportion and the fermentation time toward the antioxidant activity of the probiotic drink's. The research design was Randomized Block Design (RBD) with 2 factors. The first factor was the proportion of fruits : water ( 1:4 , 1:5 , 1:6 ) and the second factor was fermentation's time ( 16 hours , 18 hours , 20 hours ). The best treatment was probiotic drink which has proportion fruit:water 1:4 and fermentation time 20 hour. Sample of the best treatment had 3.85 pH, total sugar 10.89%, total acid 1.03%, 636.37µg GAE/ml total phenol, 445.63 µg CEQ/ml total flavonoid, 56.32% activity antioxidant, and  $4.90 \times 10^{15}$  cfu/ml total BAL.*

*Keywords: Antioxidant, Dates, Fermentation, Probiotic Drink*

#### **PENDAHULUAN**

Seiring dengan perkembangan zaman yang semakin mengerti bahwa nilai kesehatan itu penting, masyarakat pada umumnya telah mengubah pola konsumsinya menjadi lebih baik. Banyak masyarakat yang telah mengenal makanan fungsional dan mengerti fungsinya bagi kesehatan. Salah satu makanan fungsional yang banyak digemari saat ini adalah minuman probiotik. Minuman probiotik juga sudah banyak dikembangkan, seperti yang berbasis buah – buahan.

Buah Kurma (*Phoenix dactylifera L.*) merupakan salah satu komoditi pertanian yang penting di Afrika Utara, Timur Tengah, dan negara – negara Asia. Kurma dikenal sebagai makanan yang kaya nutrisi dan pokok dari beberapa tahun yang lalu [1]. Kurma tergolong sebagai sumber karbohidrat terbesar dimana tersusun atas gula – gula sederhana seperti glukosa, fruktosa [2] dan sukrosa [3]. Kurma merupakan sumber terbaik serat dan beberapa mineral penting seperti besi, potasium, selenium, kalsium, dan vitamin seperti vitamin C, B1, B2, A, riboflavin dan niasin, tetapi rendah dalam lemak dan protein [2]. Buah kurma mengandung senyawa antioksidan, yaitu senyawa fenolik seperti flavonoid [4].

Pada umumnya, buah kurma sebagian besar dikonsumsi secara langsung. Di Indonesia buah kurma umumnya banyak dikonsumsi hanya ketika memasuki bulan puasa (Ramadhan). Meskipun demikian ada beberapa orang yang kurang menyukai buah kaya antioksidan ini sehingga dapat dijadikan inovasi produk baru di pasaran. Kandungan karbohidrat (gula) yang tinggi memunculkan pemanfaatan buah kurma diolah dengan proses fermentasi seperti minuman probiotik. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa minuman jus dan sari buah dapat menjadi media yang baik untuk pertumbuhan bakteri probiotik. Probiotik merupakan mikrobia hidup yang dapat mempengaruhi kesehatan dengan cara menyeimbangkan mikroflora dalam usus dan mencegah serta menyeleksi mikrobia yang tidak berfungsi [5].

Minuman sari buah kurma probiotik dibuat dari sari buah kurma dengan penambahan bakteri probiotik (bakteri asam laktat) seperti *Lactobacillus plantarum* FNCC 027 dan *Lactobacillus casei* FNCC 0090. Kedua bakteri tersebut merupakan bakteri asam laktat yang dapat mencapai saluran pencernaan manusia dalam keadaan hidup dan menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen [6]. Oleh karena itu, kedua bakteri tersebut dipilih sebagai isolat dalam pembuatan minuman probiotik. Selain itu, kedua bakteri tersebut diharapkan dapat menghasilkan suatu produk yang baik. Kultur campuran mampu menghasilkan asam yang lebih cepat pada yoghurt dibandingkan dengan kultur tunggal [7]. Dosis yang direkomendasikan untuk probiotik dalam diet berkisar antara  $10^6$ - $10^7$  CFU/g untuk dapat memberikan efek yang diinginkan [8].

Produk minuman probiotik berantioksidan sudah banyak yang beredar dan dikenal masyarakat. Beberapa tahun belakangan ini, banyak penelitian tentang fermentasi berbagai macam sari buah oleh bakteri asam laktat [9]. Hal ini didukung oleh salah satu penelitian yang menggunakan sari buah pir yang difermentasi dengan bakteri asam laktat [10]. Pada penelitian ini digunakan proporsi buah : air dan lama fermentasi yang berbeda-beda dikarenakan belum diketahui proporsi buah : air dan lama fermentasi yang tepat untuk minuman probiotik sari buah kurma berantioksidan. Oleh sebab itu, perlu penelitian tentang pengaruh proporsi buah : air dan lama fermentasi terhadap aktivitas antioksidan. Hal ini disebabkan karena keduanya mempengaruhi mutu dan kualitas produk ditinjau dari sifat kimia, dan mikrobiologi.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Bahan**

Buah kurma Lulu' kering, kultur *Lactobacillus plantarum* FNCC 027 dan *Lactobacillus casei* FNCC 0090 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Studi dan Pangan Universitas Gajahmada, serta susu skim. Sedangkan bahan yang digunakan untuk analisis kimia adalah analisis pH: larutan buffer pH 4 & 7; analisis total gula: anthrone,  $\text{CaCO}_3$ , Pb-asetat, Na-oksalat; analisis total asam: NaOH, Indikator PP, asam oksalat; analisis antioksidan: DPPH dan alkohol 96%; analisis total fenol: reagen Follin-Ciocalteau dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ; analisis total flavonoid:  $\text{AlCl}_3$ , NaOH,  $\text{NaCO}_2$ . Sedangkan bahan yang digunakan untuk analisis mikrobiologis adalah analisis total BAL: MRS Agar merk Merck, MRS Broth merk Merck, dan aquades steril.

### **Alat**

Alat yang digunakan pada proses pembuatan minuman fermentasi sari buah kurma adalah blender (National), kompor gas (Rinai), kain saring, sendok, wadah plastik,

timbangan digital (Denver Instrumen M-310), botol, ember, *glass ware* (Iwaki Pyrex), autoklaf (HL-36 Hiramaya), *laminar air flow*, vortex mixer, bunsen, ose, karet hisap, refrigerator (Ruey Shing), inkubator (WTB Binder), spektrofotometer (Unico, uv-2100 *Spechtrphotometer*), timbangan analitik, mikropipet (*Finnpipette, Labsystem*) dan tip, *sentrifuse*, pH meter (model pHS-3C), *thermometer*, *stopwatch*, *colony counter*, kapas, spirtus, karet dan kertas sampul.

### **Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor. Faktor I adalah proporsi buah:air (1:4, 1:5, 1:6) dan faktor II lama fermentasi (16 jam, 18 jam, 20 jam). Masing – masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

### **Tahapan Penelitian**

Penelitian ini terdiri atas beberapa tahapan yang harus dilakukan, yaitu tahapan pertama meremajakan kultur bakteri *Lactobacillus plantarum* FNCC 027 dan *Lactobacillus Casei* FNCC 0090 dan membuat stok kultur agar miringnya, pembuatan medium sari buah kurma, pembuatan kultur starter cair *Lactobacillus plantarum* FNCC 027 dan *Lactobacillus Casei* FNCC 0090, dan dilanjutkan proses akhir yaitu tahap fermentasi produk.

### **Metode**

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan metode analisis keragaman ANOVA dan pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode Zeleny.

### **Prosedur Analisis**

#### **1. Analisis Total Gula**

Untuk penetapan total gula sampel, pertama timbang sampel dan tambahkan aquades 100 ml, saring dengan kain saring kemudian ambil 1 ml sampel tersebut dan encerkan dalam 9 ml aquades hingga pengenceran 100 kali. Tambahkan dengan cepat 5 ml pereaksi Anthrone ke dalam masing – masing tabung reaksi. Tutup tabung reaksi dan dikocok. Panaskan dengan air mendidih selama 12 menit. Dinginkan dengan cepat menggunakan air mengalir. Pindahkan ke dalam kuvet dan baca absorbansinya pada  $\lambda = 630$  nm. Total gula diperoleh dari persamaan  $y = ax + b$ , kemudian dimasukkan dalam rumus Total Gula (%) =  $((X \times \text{pengenceran}) / \text{berat sampel (mg)}) \times 100\%$ .

#### **2. Analisis Total Asam**

10 gram sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas, selanjutnya dihomogenkan dan disaring. Filtrat diambil 10 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Ditambahkan 2-3 tetes indikator pp. Dititrasi dengan larutan 0.1 N NaOH sampai warna larutan berubah menjadi merah muda dan warna tersebut tidak berubah kembali selama 30 detik. Pada akhir titrasi dihitung jumlah NaOH yang digunakan. Kemudian untuk mengetahui nilai total asam produk menggunakan perhitungan sebagai berikut : Total asam (%) =  $((V \times N \times P \times \text{BE asam}) / (\text{berat sampel} \times 1000)) \times 100\%$ .

#### **3. Analisis Total Fenol**

Diukur sampel yang akan diuji dengan volume 1 ml. Ditambahkan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  75 g/L 4 ml dan reagen Follin-Ciocalteau (diencerkan 1:10) 5 ml kemudian divortex. Selanjutnya diinkubasi selama 1 jam di suhu ruang pada kondisi gelap. Setelah itu diambil 2 ml ekstrak dan diisikan ke dalam kuvet. Diukura absorbansi pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 765 nm. Lalu dikalibrasikan dengan kurva standar asam galat untuk didapatkan total fenol dalam  $\mu\text{g GAE/ml}$ .

#### **4. Analisis pH**

Sampel yang telah dihomogenkan (medium fermentasi) diambil sekitar 30 ml dan ditempatkan dalam beaker glass ukuran 50 ml. Sebelum digunakan, pH meter dikalibrasi

menggunakan buffer pH 7 dan 4 lalu dibersihkan dengan aquades selanjutnya dilakukan pengukuran pH sampel. Setiap kali akan mengukur pH sampel yang lain, sebelumnya pH meter dibersihkan dengan aquades.

### 5. Analisis Total Flavonoid

Sampel diambil 1 ml ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan aquades 4 ml. Kemudian ditambahkan larutan 5% sodium nitrit 0.30 ml dan larutan 10%  $AlCl_3$  0.30 ml. Diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit. Ditambahkan 2 ml 1 M NaOH dalam campuran. Lalu ditambahkan aquades hingga volume larutan mencapai 10 ml dan divortex. Kemudian diukur absorbansinya pada  $\lambda = 510$  nm. Dikalibrasikan dengan kurva standar kuersetin untuk didapatkan total flavonoid dalam mg per gram EK (ekivalen kuersetin).

### 6. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan DPPH

Sampel dipipet menggunakan mikropipet sebanyak 100  $\mu$ L. Dimasukkan tabung reaksi yang telah berisi 3 ml etanol 96% dan divortex. Ditambahkan 1 ml DPPH dalam etanol dan divortex. Dibiarkan selama 30 menit dalam ruang gelap suhu ruang. Diukur absorbansinya pada  $\lambda$  517 nm. Blanko dibuat berdasarkan prosedur di atas, sampel diganti dengan aqua demineralisasi – deionisasi (*deionized distilled water*). Aktivitas penghambatan dihitung menurut persamaan : Aktivitas penghambatan (%) =  $[1-(A\text{-sampel}/A\text{-kontrol})] \times 100\%$ .

### 7. Analisis Total BAL

Sampel diambil 1 ml, dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan pepton steril (pengenceran  $10^{-1}$ ). Diambil 1 ml larutan dari pengenceran  $10^{-1}$ , dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan pepton steril (pengenceran  $10^{-2}$ ), begitu seterusnya sampai pengenceran  $10^{-10}$ . Diambil 1 ml dari masing – masing pengenceran terakhir yaitu pengenceran  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  dan  $10^{-10}$  dituang dalam cawan petri steril, lalu dituangi media MRSA steril (hangat) sampai dasar cawan tertutup media. Tiap media pengenceran dibuat duplo. Setelah media memadat, diinkubasi suhu  $37^{\circ}C$  selama 48 jam. Catat pertumbuhan koloni pada setiap cawan yang mengandung koloni. Hitung angka TPC dalam 1 ml dengan mengalikan jumlah koloni rata – rata dengan faktor pengenceran yang digunakan dengan satuan *colony forming unit/ml*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis Minuman Probiotik Sari Buah Kurma Sebelum Fermentasi

Tabel 1. Rerata Hasil Analisis Sifat Kimia Awal Sebelum Fermentasi

Lama Fermentasi (jam)	Proporsi	pH	Total BAL (cfu/ml)	Total Gula (%)	Total Asam (%)	Total Fenol ( $\mu$ g GAE/ml)	Total Flavonoid ( $\mu$ g CEQ/ml)	Akt. Antio ksida n (%)
16	1:4	5.34	$3.4 \times 10^8$	14.98	0.12	603.71	413.22	47.37
	1:5	5.46	$2.6 \times 10^8$	12.89	0.15	577.86	370.44	45.89
	1:6	5.42	$1.6 \times 10^8$	11.21	0.12	500.65	355.44	43.64
18	1:4	5.39	$3.0 \times 10^8$	14.38	0.15	600.99	411.56	48.14
	1:5	5.42	$2.5 \times 10^8$	12.57	0.12	579.22	373.04	45.07
	1:6	5.56	$1.3 \times 10^8$	11.15	0.09	497.59	362.11	43.37
20	1:4	5.32	$2.6 \times 10^8$	14.68	0.15	589.77	415.44	48.02
	1:5	5.53	$2.1 \times 10^8$	12.72	0.12	574.46	369.33	44.30
	1:6	5.38	$2.3 \times 10^8$	11.10	0.15	498.61	360.44	42.70

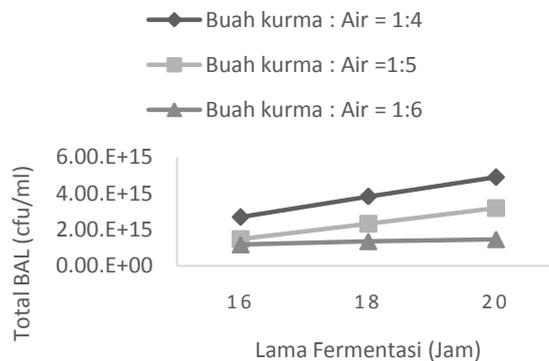
Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa pH awal produk minuman probiotik sari buah kurma setelah diinokulasi kultur starter dan susu skim berkisar antara 5.32 – 5.56.

Total gula berkisar antara 11.10% – 14.98%. Total asam berkisar antara 0.09% – 0.15%. Total fenol dan total flavonoid berkisar antara 497.59 – 603.71  $\mu\text{g}$  GAE/ml dan 355.44 – 415.44  $\mu\text{g}$  CEQ/ml. Dan aktivitas antioksidan berkisar antara 42.70% - 48.14%. Sedangkan total BAL awal minuman probiotik sari buah kurma berkisar antara  $1.3 \times 10^8$  –  $3.4 \times 10^8$ .

## Analisis Minuman Probiotik Sari Buah Kurma Setelah Fermentasi

### 1. Analisis Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin rendah pengenceran dan semakin lama waktu fermentasi mengakibatkan jumlah total BAL semakin meningkat. Hal ini ditunjukkan dengan jumlah total BAL tertinggi dimiliki oleh produk dengan proporsi 1:4 dengan lama fermentasi 20 jam, sedangkan jumlah total BAL terendah dengan proporsi 1:6 dengan lama fermentasi 16 jam dengan kisaran jumlah  $1.17 \times 10^{15}$  –  $4.90 \times 10^{15}$ . Pengaruh proporsi buah:air dan lama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 1.



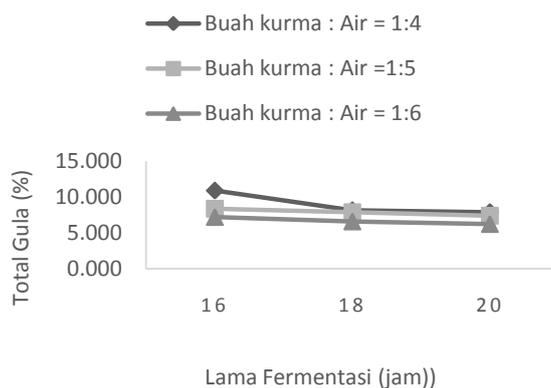
Gambar 1. Grafik Pengaruh Proporsi Buah : Air dan Lama Fermentasi Terhadap Rerata Jumlah Total BAL

Dari Gambar 1 terlihat adanya peningkatan jumlah total bakteri asam laktat (*Lactobacillus casei* FNCC 0090 dan *Lactobacillus plantarum* FNCC 027) akibat perlakuan proporsi buah:air dan lama fermentasi. Semakin rendah pengenceran dan semakin lama waktu fermentasi, terlihat bahwa adanya kecenderungan peningkatan jumlah bakteri asam laktat. Hal ini dapat terjadi diduga karena selama proses fermentasi terjadi perombakan gula oleh bakteri asam laktat untuk metabolisme. Semakin rendah tingkat pengencerannya, maka nutrisi yang ada semakin besar sehingga perombakan gula yang dilakukan oleh bakteri asam laktat semakin banyak yang mengakibatkan pertumbuhannya semakin banyak pula. Dan semakin lama waktu fermentasi, maka semakin banyak gula yang dirombak oleh bakteri asam laktat untuk pertumbuhannya. Selama proses fermentasi bakteri asam laktat mampu memecah glukosa menjadi asam laktat maupun gula – gula lainnya seperti laktosa, galaktosa, fruktosa, sukrosa, maltosa [11].

Hasil pengamatan analisis total bakteri asam laktat pada minuman probiotik sari buah kurma telah memenuhi standar terhadap kandungan bakteri asam laktat didalam minuman fermentasi ini. Produk yang dikatakan sebagai probiotik harus mengandung bakteri probiotik dengan jumlah minimal  $10^7$  cfu/ml [8].

### 2. Analisis Total Gula

Dari hasil penelitian diketahui bahwa proporsi buah:air dan lama fermentasi memberikan kecenderungan perubahan terhadap nilai total gula pada pembuatan minuman probiotik sari buah kurma. Nilai total gula minuman probiotik sari buah kurma berkisar antara 6.26% - 10.89%. Pengaruh perlakuan proporsi buah:air dan lama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik Pengaruh Proporsi Buah : Air dan Lama Fermentasi terhadap Rerata Total Gula Minuman Probiotik Sari Buah Kurma

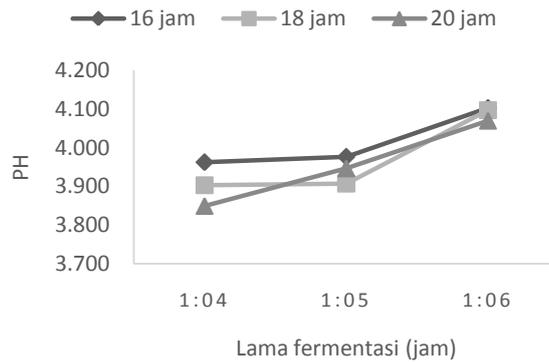
Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa total gula minuman probiotik sari buah kurma cenderung menurun dengan semakin tingginya pengenceran dan semakin lamanya waktu fermentasi. Dari hasil uji lanjut DMRT dapat diketahui bahwa kedua perlakuan saling berinteraksi satu sama lain, artinya perlakuan proporsi buah:air dan lama fermentasi saling mempengaruhi terhadap nilai total gula minuman probiotik sari buah kurma. Hal tersebut dapat terjadi diduga karena semakin tingginya pengenceran glukosa dalam produk semakin sedikit akibat banyaknya air yang menyebabkan glukosa larut dalam air sehingga glukosa yang dimanfaatkan sedikit. Dan dengan adanya proses fermentasi yang semakin lama, maka perombakan glukosa oleh bakteri asam laktat semakin banyak untuk metabolisme sehingga pada produk dengan pengenceran tinggi dan waktu fermentasi yang lama total gula semakin menurun. Perlakuan lama fermentasi berpengaruh terhadap presentase total gula yang dihasilkan selama fermentasi [12]. Lama fermentasi akan mempengaruhi seberapa banyak gula diubah menjadi asam laktat sebagai hasil metabolit dari bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat memanfaatkan gula sebagai sumber energi, pertumbuhan dan menghasilkan metabolit berupa asam laktat selama proses fermentasi. Semakin banyak sel bakteri asam laktat yang terbentuk, maka glukosa akan semakin banyak digunakan untuk metabolisme sel. Sukrosa yang merupakan disakarida akan diurai terlebih dahulu menjadi monosakarida – monosakarida penyusunnya yaitu fruktosa dan glukosa, selanjutnya glukosa akan dimanfaatkan oleh *Lactobacillus casei* FNCC 0090 dan *Lactobacillus plantarum* FNCC 027 sebagai sumber energi dan sebagian lagi akan dimetabolisir lebih lanjut menjadi asam-asam organik terutama asam laktat [13].

Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan proporsi buah:air dan lama fermentasi serta interaksi diantara kedua perlakuan tersebut berpengaruh nyata ( $\alpha=0.05$ ).

### 3. Analisis pH

Penelitian ini memberikan hasil rerata pH minuman probiotik sari buah kurma dengan kisaran nilai pH antara 3.85 – 4.10, dimana nilai rerata pH terendah ada pada produk minuman probiotik sari buah kurma dengan proporsi buah:air 1:4 dan lama fermentasi 20 jam sedangkan nilai rerata pH tertinggi ada pada produk minuman probiotik sari buah kurma dengan proporsi buah:air 1:6 dan lama fermentasi 16 jam. Pengaruh perlakuan proporsi buah:air dan lama fermentasi terhadap nilai pH dapat dilihat pada Gambar 3.

Berdasarkan Gambar 3 dapat dilihat bahwa semakin rendah pengenceran dan semakin lama waktu fermentasi pH minuman probiotik sari buah kurma cenderung menurun. Hasil analisis ragam menunjukkan proporsi buah:air berpengaruh nyata ( $\alpha=0.05$ ) dan lama fermentasi tidak memberikan pengaruh nyata ( $\alpha=0.05$ ). Sedangkan interaksi antara proporsi buah:air dan lama fermentasi tidak berpengaruh nyata ( $\alpha=0.05$ ) pada minuman probiotik sari buah kurma.

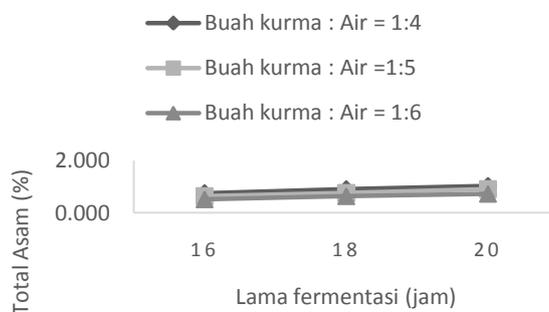


Gambar 3. Grafik Pengaruh Proporsi Buah : Air dan Lama Fermentasi terhadap Rerata pH Minuman Probiotik Sari Buah Kurma

Penurunan nilai pH disebabkan oleh peningkatan jumlah asam – asam organik yang merupakan hasil metabolisme dari bakteri asam laktat yang ada pada minuman probiotik sari buah kurma. Asam laktat yang dihasilkan sebagai produk utama akan terdisosiasi menghasilkan  $H^+$  dan  $CH_3CHOHCOO^-$ , sehingga semakin tingginya asam laktat memungkinkan tingginya ion  $H^+$  yang terbebaskan dalam medium sehingga menurunkan nilai pH minuman probiotik sari buah kurma. Fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat ditandai dengan peningkatan jumlah asam-asam organik yang diiringi dengan penurunan pH [14]. Semakin rendah pengenceran, nutrisi yang ada semakin banyak karena air yang digunakan sebagai pengenceran lebih sedikit sehingga memungkinkan nutrisi bakteri asam laktat untuk tumbuh tercukupi. Bakteri asam laktat akan memanfaatkan nutrisi tersebut dan menghasilkan asam – asam organik selama fermentasi berlangsung, akibatnya asam – asam organik tersebut terakumulasi dan pH media mengalami penurunan. Dan semakin lama waktu fermentasi, semakin banyak asam – asam organik yang terakumulasi dalam media sehingga akan meningkatkan derajat keasaman.

#### 4. Analisis Total Asam

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total asam minuman probiotik sari buah kurma sesuai dengan persyaratan mutu minuman probiotik yang telah ditetapkan BSN (2009) yaitu berkisar antara 0.5% - 2.0%. Nilai total asam tertinggi dimiliki minuman probiotik sari buah kurma dengan proporsi buah:air 1:4 dan lama fermentasi 20 jam, sedangkan nilai total asam terendah dimiliki minuman probiotik sari buah kurma dengan proporsi buah:air 1:6 dan lama fermentasi 16 jam. Pengaruh perlakuan proporsi buah:air dan lama fermentasi terhadap total asam minuman probiotik sari buah kurma dapat dilihat pada Gambar 4.



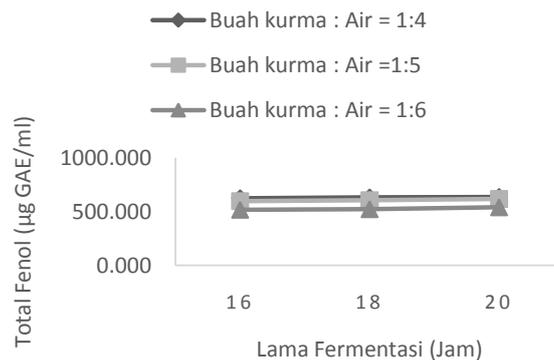
Gambar 4. Grafik Pengaruh Proporsi Buah:Air dan Lama Fermentasi terhadap Rerata Total Asam Minuman Probiotik Sari Buah Kurma

Berdasarkan Gambar 4 dapat dilihat bahwa nilai total asam cenderung meningkat dengan semakin rendahnya proporsi buah:air dan lama fermentasi yang lama. Total asam

yang dihitung diasumsikan sebagai jumlah asam laktat yang merupakan metabolit dari bakteri asam laktat yang digunakan. Semakin banyak nutrisi yang terkandung dalam produk maka akan meningkatkan pertumbuhan BAL, dimana BAL mampu merombak gula menjadi asam laktat yang dapat menyebabkan terjadinya akumulasi asam laktat sehingga total asam meningkat. Dengan bertambah banyak jumlah bakteri asam laktat pada medium minuman probiotik sari buah kurma akan mempengaruhi derajat keasaman pada produk yang dihasilkan, sebab selama fermentasi nutrisi yang ada pada produk akan dirombak menjadi asam laktat [15]. Semakin rendah pengenceran, maka nilai total asam yang diperoleh semakin tinggi. Hal ini terjadi diduga karena jumlah nutrisi yang dapat digunakan BAL untuk metabolisme semakin besar sehingga pertumbuhannya meningkat dan menyebabkan asam laktat yang dihasilkan semakin besar pula. Kondisi seperti ini berhubungan dengan aktivitas BAL yang mampu merombak gula menjadi asam laktat. Dan semakin lamanya 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.

### 5. Analisis Total Fenol

Penelitian ini memberikan hasil total fenol minuman probiotik sari buah kurma berkisar antara 518.00 – 636.37  $\mu\text{g GAE/ml}$ . dimana nilai total fenol tertinggi ada pada produk minuman probiotik sari buah kurma dengan proporsi buah:air 1:4 dan lama fermentasi 20 jam sedangkan nilai total fenol terendah ada pada produk minuman probiotik sari buah kurma dengan proporsi buah:air 1:6 dan lama fermentasi 16 jam. Hal ini terjadi diduga karena semakin rendah pengenceran, senyawa – senyawa fenol yang ada semakin sedikit karena proporsi air lebih banyak daripada proporsi buah kurma. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa proporsi buah:air dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ( $\alpha=0.05$ ) terhadap total fenol minuman probiotik sari buah kurma. Namun untuk interaksi keduanya tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap total fenol minuman probiotik sari buah kurma. Pengaruh perlakuan proporsi buah:air dan lama fermentasi terhadap nilai total fenol dapat dilihat pada Gambar 5.



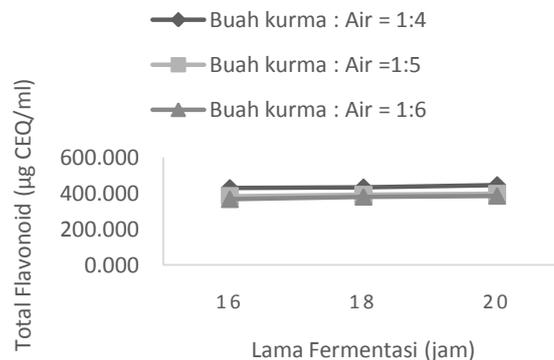
Gambar 5. Grafik Pengaruh Proporsi Buah:Air dan Lama Fermentasi terhadap Rerata Total Fenol Minuman Probiotik Sari Buah Kurma

Berdasarkan Gambar 5 dapat dilihat bahwa semakin rendah pengenceran dan semakin lama waktu fermentasi, nilai total fenol cenderung meningkat. Hal ini diduga karena selama fermentasi berlangsung terjadi sintesa karbohidrat (gula) oleh bakteri asam laktat yang mengakibatkan terbentuknya asam – asam organik seperti asam laktat sehingga menimbulkan kondisi asam. Kondisi asam yang memiliki nilai pH 3.9 – 5 mengakibatkan pembentukan senyawa fenol melalui asam hidroksi sinamat dan asam ferulat [16]. Dan

dalam buah kurma sudah diketahui bahwa terdapat senyawa fenolik yang bersifat asam yaitu asam ferulat dan sebagian yang merupakan turunan dari asam sinamat. Semakin tinggi pengenceran, semakin banyak air yang ada sehingga total gulanya semakin rendah dan sebaliknya. Tingginya kandungan total gula memicu pertumbuhan bakteri asam laktat yang semakin banyak karena bakteri asam laktat akan semakin banyak merombak gula menjadi metabolit primer (asam laktat) dan metabolit sekunder (polifenol) [17]. Dan semakin lama waktu fermentasi, semakin banyak bakteri asam laktat yang berkembang biak, sehingga kemampuan bakteri dalam memecah glukosa menjadi metabolit primer (asam laktat) dan metabolit sekunder (polifenol) semakin banyak [17]. Selain itu, diduga dikarenakan semakin lama waktu fermentasi, semakin banyak degradasi asam ferulat dan asam sinamat yang terdapat dalam buah kurma oleh enzim yang dihasilkan bakteri asam laktat [18].

## 6. Analisis Total Flavonoid

Penelitian ini menunjukkan bahwa nilai total flavonoid minuman probiotik sari buah kurma berkisar antara 367.11 – 445.63  $\mu\text{g CEQ/ml}$ . nilai total flavonoid tertinggi ada pada produk minuman probiotik sari buah kurma dengan proporsi buah:air 1:4 dan lama fermentasi 20 jam sedangkan nilai total flavonoid terendah ada pada produk minuman probiotik sari buah kurma dengan proporsi buah:air 1:6 dan lama fermentasi 16 jam. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan proporsi buah:air memberikan pengaruh yang nyata ( $\alpha=0.05$ ) terhadap total flavonoid. Namun untuk perlakuan lama fermentasi dan interaksi kedua perlakuan tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $\alpha=0.05$ ) terhadap total flavonoid. Pengaruh perlakuan proporsi buah:air dan lama fermentasi terhadap nilai total flavonoid minuman probiotik sari buah kurma dapat dilihat pada Gambar 6.



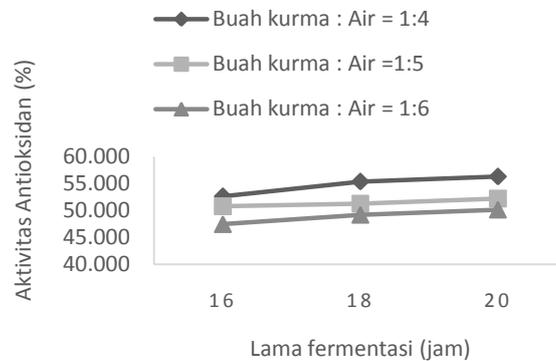
Gambar 6. Grafik Pengaruh Proporsi Buah:Air dan Lama Fermentasi terhadap Rerata Total Flavonoid Minuman Probiotik Sari Buah Kurma

Berdasarkan Gambar 6 dapat dilihat bahwa semakin rendah pengenceran dan semakin lama waktu fermentasi, nilai total flavonoid cenderung meningkat. Hal ini seiring dengan peningkatan nilai total fenolnya. 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 kurma sehingga dapat menambah gugus fenol pada senyawa flavonoid [19]. Peristiwa ini sesuai dengan penelitian [20] terhadap fermentasi biji kedelai bahwa fermentasi dapat meningkatkan kadar total fenol, total flavonoid dan aktivitas antioksidan medium yang digunakan.

## 7. Analisis Aktivitas Antioksidan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan sejalan dengan nilai total fenol dan total flavonoid, semakin rendah pengenceran dan semakin lama waktu fermentasi mengakibatkan aktivitas antioksidan semakin tinggi. Peningkatan aktivitas antioksidan dapat

terjadi diduga karena adanya aktivitas bakteri asam laktat dalam medium. Selama fermentasi dihasilkan senyawa – senyawa yang dapat menaikkan dan menstabilkan aktivitas antioksidan seperti asam laktat, asam asetat, asam sitrat, asam suksinat, asam malat, asetaldehid, diasetil dan asetoin [21]. Aktivitas antioksidan minuman probiotik sari buah kurma berkisar antara 47.48% - 56.32%. Pengaruh perlakuan proporsi buah:air dan lama fermentasi dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Pengaruh Proporsi Buah:Air dan Lama Fermentasi terhadap Rerata Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik Sari Buah Kurma

Berdasarkan Gambar 7 dapat dilihat bahwa semakin rendah pengenceran dengan lama waktu fermentasi yang semakin lama mengakibatkan aktivitas antioksidannya semakin meningkat. Dari Gambar 7 dapat diketahui bahwa nilai aktivitas antioksidan terendah ada pada minuman probiotik sari buah kurma dengan proporsi buah:air 1:6 dan lama fermentasi 16 jam (47.48%), sedangkan nilai aktivitas antioksidan tertinggi ada pada minuman probiotik sari buah kurma dengan proporsi buah:air 1:4 dan lama fermentasi 20 jam (56.32%). Semakin tinggi pengenceran aktivitas antioksidannya semakin menurun. Hal ini diduga karena rendahnya kandungan senyawa fenol dan flavonoid yang ada pada minuman probiotik sari buah kurma. Hal tersebut berkaitan dengan kandungan gula yang ada, dengan adanya sintesa gula yang banyak oleh bakteri asam laktat mengakibatkan senyawa fenol yang terbebaskan semakin banyak sehingga aktivitas antioksidannya meningkat. Perombakan gula menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat yang bersifat sinergis dengan memberikan ion  $H^+$  pada radikal bebas sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan primer [10]. Dan peningkatan aktivitas antioksidan dengan waktu fermentasi yang semakin lama diduga terjadi karena semakin lama waktu fermentasi semakin banyak senyawa fenol dan flavonoid yang terbebaskan akibat hidrolisis gula oleh enzim bakteri asam laktat [22]. Fenomena ini sesuai dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa banyaknya total fenol atau total flavonoid yang dikandung berhubungan dengan efektivitas aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan proporsi buah : air dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang nyata ( $\alpha=0.05$ ) terhadap aktivitas antioksidan. Namun untuk interaksi kedua perlakuan tidak memberikan pengaruh yang nyata ( $\alpha=0.05$ ) terhadap aktivitas antioksidan.

## 8. Pemilihan Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik untuk hasil penelitian ini ditentukan dengan menggunakan metode Zeleny yang dilakukan pada produk akhir minuman probiotik sari buah kurma, dimana parameternya meliputi parameter kimia dan mikrobiologi. Minuman probiotik sari buah kurma terbaik dengan proporsi buah:air 1:4 dan lama fermentasi 20 jam. Pada perlakuan ini minuman probiotik sari buah kurma memiliki total BAL sebesar  $4.90 \times 10^{15}$ ; pH 3.85; total gula 10.89%; total asam 1.03%; total fenol 636.37  $\mu g$  GAE/ml; total flavonoid 445.63  $\mu g$  CEQ/ml dan aktivitas antioksidan 56.32%.

## SIMPULAN

Minuman probiotik sari buah kurma pada penelitian ini sudah mendapatkan proporsi yang tepat. Hal ini diketahui dengan proses fermentasi dengan perlakuan proporsi buah:air dan lama fermentasi yang memberikan pengaruh nyata ( $\alpha=0.05$ ) terhadap sifat kimia yaitu pH, total gula, total asam, total fenol, total flavonoid dan aktivitas antioksidan. Namun, untuk sifat mikrobiologi yaitu total BAL tidak memberikan pengaruh yang nyata.

Perlakuan terbaik yang diperoleh yaitu minuman probiotik sari buah kurma dengan proporsi buah:air 1:4 dan lama fermentasi 20 jam yang memiliki total BAL sebesar  $4.90 \times 10^{15}$ ; total gula 10.89%; total asam 1.03%; pH 3.85; total fenol 636.37  $\mu\text{g GAE/ml}$ ; total flavonoid 445.63  $\mu\text{g CEQ/ml}$  dan aktivitas antioksidan 56.32%.

## DAFTAR PUSTAKA

- 1) Khan, M.N., Sarwar, A., Wahab, F. And Haleem, R. 2008. Physico-chemical characterization of date varieties using multivariate analysis. *Journal of Science and Food Agriculture* 88: 1051-1059.
- 2) Myahara, R.M., Karkalas, J. and Taylor, M.S. 1999. The composition of maturing Omani dates. *Journal of Science and Food Agriculture* 79: 1345-1350.
- 3) Guizani, N., Al-Saidi, G.S., Rahman, M.S., Bornaz, S. And Al-Alawi, A.A. 2010. State diagram of dates: glass transition, freezing curve and maximal-freeze-concentration condition. *Journal of Food Engineering* 99: 92-97.
- 4) Biglari, F., Al Karkhi, A.F.M. and Easa, A.M. 2008. Antioxidant activity and phenolic content of various date pala (*Phoenix dactylifera*) fruits from Iran. *Food Chemistry* 107: 1636-1641.
- 5) Fuller, R. 1992. Probiotic Scientific Basis. Chapman and Hall, London.
- 6) Jenie, B.S.L. 2003. Application of Lactic Acid Bacteria To Improve The Safety and Shelf Life of Minimally Processed Melon (*Cucumis melo L.*) Proceeding of 8 th Asean Food Conference. Hanoi, Vietnam.
- 7) Tamime, A. Y. dan R. K. Robinson. 1989. Yoghurt Science and Technology. Pergamon Press Ltd, dalam Eti. 2008. Kajian Formulasi Sari Mentimun (*Cucumis sativus L.*) Sebagai Minuman Probiotik Menggunakan Campuran Kultur *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophiles subsp. salivarius*, dan *Lactobacillus casei subsp. Rhamnosus*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- 8) Nousiainen, J., Ahvenjarvi, S., Rinne, M., Hellamaki, M., Huhtanen, P. 2004. Prediction of indigestible cell wall fraction of grass silage by near infrared reflectance spectroscopy. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 115, 295-311.
- 9) Jay, J. M. 1992. Modern Food Microbiology. Cahoman and Hall Book. New York.
- 10) Anita. 2012. Studi Pembuatan Minuman Probiotik Sari Buah Pir (*Pyrus L.*) Varietas Ya-Lie dengan Isolat *Lactobacillus plantarum B2* (Kajian Konsentrasi Susu skim dan Sukrosa). Skripsi. Jurusan THP. FTP. Universitas Brawijaya. Malang.
- 11) Setyaningsih, I. 1992. Pengaruh Jenis Kultur *L. casei*, Penambahan Susu Skim dan Glukosa Terhadap Mutu Yakult Kedelai. Skripsi Fateta. IPB. Bogor.
- 12) Salminen, S., S. Gorbach, Y. Lee dan Y. Benno. 2004. Human Studies On Probiotics: What is beneficially proven today? Di dalam Salminen, S., A. Von Wright dan A. Ouwehand (eds). Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker, New York. Hal 515-530.
- 13) Axelsson, L., 1998. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Salminen, S. & von Wright, A. (eds). Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects 2nd Edition. New York: Marcel Dekker Inc., 1-72.
- 14) Yang, Z. 2000. Antimicrobial Compounds and Extracellular Polysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria. Academia Dissertation Department of Food Technology University of Helsinki. Helsinki.
- 15) Andayani, R., Lisawati, Y., Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen Pada Buah Tomat (*Solanum lycoperscium L.*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 13(1): 1-9.

- 16) Shahidi, F., Naczk, M. 1995. Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications. Lancaster PA: Technomic Publishing Co.
- 17) Astawan, M. 2008. Brem. <http://cybermed.cbn.net>. Tanggal akses 30 Oktober 2013.
- 18) Gawel, R. 2004. Brettanomyces Character in Wine. The Australian Society of Wine Education National Convention. Hunter Valley, Australia. 4th-6th of June 2004. <http://www.aswe.org.au>. Tanggal akses 30 Oktober 2013.
- 19) Hernandez, T., Estrella, I., Perez-Gordo, M., Alegria, E. G., Tenorio, C., Ruiz-Larrea, F., et al. 2007. Contribution of malolactic fermentation by *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus plantarum* to the changes in the nonanthocyanin polyphenolic composition of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 5260–5266.
- 20) Ademiluyi. 2010. Antioxidant properties of Soy-daddawa a condiment produced from fermented soybean (*Glicine max (L.) Merrill*). Servizi Editoriali Association Srl, Via Adamo Del Pero, 6, Como, 22100. Italy.
- 21) Tisnawati, E. 2008. Pembuatan Kefir Anggur Bali (*Vitis vinifera* L) Kajian Penambahan Susu Skim serta Perbandingan Sari Buah Anggur dengan Air terhadap Sifat Fisik, Kimia, Organoleptik serta Total Mikroba. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- 22) Bubliss AJ. 2000. Potential of Wheat-Based breakfast Cereals as Source of Dietary Antioxidants. The American College of Nutrition, Massachusetts.