

## Viabilitas probiotik *Lacticaseibacillus rhamnosus SKG34* pada sari buah terung belanda (*Solanum betaceum Cav.*) terfermentasi selama penyimpanan pada suhu dingin

Komang Ayu Nocianitri<sup>1\*</sup>, I Desak Putu Kartika Pratiwi<sup>1</sup>, Kristina Wulandari<sup>2</sup>, Yan Ramona<sup>3</sup>, I Nengah Sujaya<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Teknologi Pangan, Universitas Udayana, Badung, Indonesia

<sup>2</sup>Laboratorium Biosain dan Bioteknologi, Universitas Udayana, Badung, Indonesia

<sup>3</sup>Biologi, Universitas Udayana, Badung, Indonesia

<sup>4</sup>Ilmu Kesehatan Masyarakat, Universitas Udayana, Badung, Indonesia

### Article history

Diterima:

15 Juli 2024

Diperbaiki:

8 Desember 2024

Disetujui:

9 Desember 2024

### Keyword

*Lacticaseibacillus rhamnosus SKG34;*

Probiotic;

Tamarillo juice.

### ABSTRACT

Tamarillo (*Solanum betaceum Cav.*) is a tropical fruit that has the potential to be developed into functional food in the form of fruit juice containing probiotics. In order to develop the probiotic-containing product, the suitability of fruit juice to support the growth of probiotics and the viability of probiotics during the fermentation and storage processes are the prime concerns. Therefore, this study aims to determine the viability of the local probiotic *Lacticaseibacillus rhamnosus SKG34* and the characteristics of fermented Tamarillo juice during storage at 4°C. Fermented tamarillo juice containing *L. rhamnosus SKG34* is produced by fermenting Tamarillo juice with *L. rhamnosus SKG34* and then stored at a temperature of ±4°C for 30 days. Population of *L. rhamnosus SKG34*, total sugar, total acid, pH, vitamin C, antioxidant capacity, and sensory characteristics were determined at 0, 5, 10, 15, 20, 25, and 30 days. The results showed that the probiotic *L. rhamnosus SKG34* in fermented tamarillo juice was able to survive for 30 days with a population of  $2.58 \times 10^{10}$  CFU/ml from the initial population of  $9.54 \times 10^{10}$  CFU/ml. However, considering that chemical characteristics and other functional properties also influence the acceptability of fermented tamarillo juice, the optimal storage time is 20 days at 4°C. Under this condition, the fermented tamarillo juice containing  $3.6 \times 10^{10}$  CFU/ml of *L. rhamnosus SKG34*; 11.23% sugars; total acid 0.98% acids; pH 3.44; 31.76 mg/100 ml vitamin C; and 4,725 GAEC/100 ml of antioxidant capacity, with favorable sensory levels.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

\* Penulis korespondensi

Email : nocianitri@unud.ac.id

DOI 10.21107/agrointek.v19i3.26535

## PENDAHULUAN

Dewasa ini pangan fungsional berkembang dengan pesat, dimana pangan yang dikonsumsi diharapkan tidak hanya dapat memenuhi kebutuhan zat nutrisi, tetapi juga dapat menstimulasi salah satu fungsi khusus dalam kesehatan individu. Bakteri asam laktat (BAL) telah banyak dimanfaatkan oleh industri pangan dalam menciptakan produk pangan fungsional untuk memelihara kesehatan saluran pencernaan manusia, yang dikenal dengan istilah probiotik. Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang apabila diberikan pada jumlah yang tepat dapat bermanfaat bagi kesehatan saluran pencernaan (Hill et al. 2014). Probiotik *Lactobacillus rhamnosus* SKG34 atau *Lacticaseibacillus rhamnosus* SKG34 (LbSKG34), telah diteliti secara intensif dari uji *in vitro* hingga uji keamanan pada manusia. Potensi LbSKG34 sebagai probiotik telah dilakukan (Sujaya et al. 2022) dan terbukti bahwa LbSKG34 dapat dipergunakan sebagai starter susu fermentasi (Nocianitri et al. 2018), Patent ID No. IDP000053190), serta dapat meningkatkan profil lipid dan menurunkan kolesterol (Nocianitri et al. 2017). Upaya agar probiotik ini dapat dikonsumsi oleh masyarakat luas belum banyak dilakukan.

Pengembangan pangan fungsional mengandung probiotik adalah salah satu strategi untuk menyertakan strain probiotik dalam produk pangan normal sehingga dapat dikonsumsi dengan mudah dan murah oleh masyarakat. Susu merupakan bahan yang umum digunakan sebagai agen pembawa probiotik, tetapi dewasa ini banyak dikembangkan agen pembawa probiotik dari sari buah. Hal ini karena sari buah kaya nutrisi, memiliki profil rasa yang menyenangkan, tidak mengandung biakan starter yang bersaing untuk mendapatkan nutrisi dengan probiotik, mengandung sejumlah besar gula yang dapat dimetabolisme oleh kultur probiotik, dan memiliki waktu transit yang relatif cepat ketika melalui saluran pencernaan (Pimentel et al. 2019). Di samping itu, Indonesia merupakan negara yang sangat kaya akan jenis buah-buahan, sehingga mempunyai potensi besar dalam aplikasi pangan mengandung probiotik. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sari buah terung belanda terfermentasi berpotensi sebagai pembawa probiotik LbSKG34 (Tampinongkol et al. 2020).

Tantangan dalam pengembangan sari buah probiotik adalah mempertahankan kelayakan

jumlah populasi mikroba probiotik pada sari buah (setidaknya  $10^6$ - $10^7$  sel/ml) dan aktivitas probiotik dalam produk makanan pada akhir masa simpan. Manfaat kesehatan probiotik terutama bergantung pada jumlah populasinya dalam makanan dan pada kemampuan probiotik untuk bertahan dalam kondisi yang tidak menguntungkan. Viabilitas yang stabil menunjukkan ketahanan yang baik terhadap pengaruh lingkungan. Hal ini diperlukan untuk memastikan bahwa probiotik tetap hidup dalam produk selama penyimpanan dan memberikan efek kesehatan jika dikonsumsi. Selama masa penyimpanan, produk fermentasi akan mengalami beberapa perubahan kondisi meliputi berkurangnya nutrisi untuk bakteri, penurunan pH serta terakumulasinya metabolit-metabolit hasil metabolisme bakteri yang dapat mempengaruhi viabilitas bakteri. Viabilitas kultur probiotik dalam sari buah terutama tergantung pada jenis buah yang digunakan dalam formulasi, nutrisi, pH, kandungan oksigen yang dilarutkan dalam medium, komponen antimikroba, strain dan jumlah inokulum probiotik yang digunakan, lama fermentasi, suhu dan lama penyimpanan serta metabolit-metabolit yang dihasilkan dari metabolisme bakteri yang digunakan (Dinkçi et al. 2019; Rengadu et al. 2021; de Oliveira et al. 2021; Terpou et al. 2019; Erkmen and Bozoglu 2016).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa viabilitas LbSKG34 pada sari buah terung belanda terfermentasi sebesar  $1,30 \times 10^9$  cfu/ml (Tampinongkol et al. 2020). Jumlah ini sudah sesuai dengan persyaratan minuman probiotik yaitu mengandung mikroba probiotik minimal  $10^7$  -  $10^9$  cfu/ml (Rahayu and Utami 2019). Mengingat populasi probiotik pada produk adalah hal penting yang akan berpengaruh pada jumlah sari buah terung belanda yang dikonsumsi untuk mendapatkan jumlah sel probiotik yang memadai pada saluran pencernaan ( $10^8$ - $10^9$  CFU), maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui perubahan populasi LbSKG34 pada sari buah terung belanda terfermentasi selama penyimpanan serta karakteristik produk yang dapat menjadi informasi penting dalam menyediakan produk minuman sari buah terung belanda mengandung probiotik LbSKG34 ini di pasaran.

## METODE

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan lama penyimpanan yaitu 0, 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 hari

dengan 3 kali pengulangan sehingga diperoleh 21 unit percobaan.

### Persiapan Strain Probiotik

Strain probiotik *Lacticaseibacillus rhamnosus* SKG34 (nama sebelumnya adalah *Lactobacillus rhamnosus* LbSKG34 yang selanjutnya disingkat LbSKG34 diperoleh dari Lab. Biosain dan Bioteknologi, Universitas Udayana, Bali). Stok beku LbSKG34 disegarkan dengan cara mengambil 100 µl stok LbSKG34 dalam gliserol lalu dimasukkan ke dalam 5 ml media *de Man Rogose Sharpe Broth* (MRSB, OXOID, kemudian diinkubasi (24 jam; 37°C). Sebelum dipergunakan untuk penelitian lebih lanjut, dilakukan pengamatan morfologi sel secara mikroskopis menggunakan mikroskop (Olympus BMX51, Japan) untuk memastikan kemurnian strain yang digunakan.

### Pembuatan Sari Buah Terung Belanda

Buah terung belanda dengan kondisi masak maksimal (seluruh permukaan buah berwarna merah-keunguan) diperoleh dari petani terung belanda di Desa Bedugul, Tabanan, Bali. Buah dibelah membujur menjadi 2 bagian dan dipisahkan antara kulit dengan daging buahnya, kemudian ditambahkan air dengan perbandingan berat buah dan volume air 1:3 lalu dihancurkan dengan blender. Bubur buah yang diperoleh selanjutnya disaring dengan menggunakan 2 lapis kain saring untuk memisahkan bagian sari buah dan ampas. Sari buah ditambahkan sukrosa sebanyak 9% (b/v) kemudian dipasteurisasi (80°C; 4,5 menit).

### Pembuatan Sari Buah Terung Belanda Terfermentasi

Pembuatan sari buah terung belanda terfermentasi diawali dengan pembuatan starter yang secara singkat menggunakan langkah sebagai berikut. Strain probiotik LbSKG34 ditumbuhkan dalam 5 ml MRSB selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian, diambil 1 ml kultur yang sudah tumbuh lalu dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf* dan disentrifugasi (8.000 rpm; 3 menit; 4°C) dengan *centrifuge* (Hitachi, Japan). Supernatan yang terbentuk dibuang dan sel yang tertinggal dicuci dengan larutan salin (NaCl 0,85% (b/v)). Pencucian sel dilakukan dengan cara menambahkan larutan salin ke dalam tabung *Eppendorf* berisi *massa* sel LbSKG34 lalu divorteks dan disentrifugasi (8.000 rpm; 3 menit; 4°C). Supernatan yang terbentuk dibuang.

Pencucian ini diulang sebanyak 3 kali. Sel yang sudah dicuci selanjutnya ditambahkan 1 ml sari buah terung belanda dalam *Eppendorf*, divorteks, dan dimasukkan ke dalam 100 ml sari buah terung belanda yang sudah dipasteurisasi, lalu dicampur dengan cara digoyang perlahan dan difermentasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Starter yang sudah jadi dipergunakan untuk menginokulasi sari buah terung belanda yang sudah dipasteurisasi dengan konsentrasi starter sebanyak 4% (v/v) (dengan populasi LbSKG34 pada starter sebesar 8,73 x 10<sup>10</sup> CFU/ml sehingga populasi awal LbSKG34 dalam sari buah sebelum difermentasi sebesar 3,49 x 10<sup>7</sup> CFU/ml), kemudian difermentasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

### Analisis terhadap sari buah terung belanda terfermentasi

#### Populasi LbSKG34

Pengamatan total populasi LbSKG34 mengacu pada metode *Total Plate Count* (TPC) (Association of official analytical chemists 2006). Sari buah sebanyak 5 ml diencerkan ke dalam 45 ml larutan salin 0,85% (pengenceran 10<sup>-1</sup>), lalu dihomogenkan dengan cara divorteks. Dari pengenceran 10<sup>-1</sup> diambil 1 ml dan diencerkan ke dalam 9 ml larutan salin 0,85% sehingga diperoleh pengenceran 10<sup>-2</sup> dan pengenceran diteruskan kembali hingga mencapai pengenceran 10<sup>-8</sup>. Sebanyak 100 µl dari 3 pengenceran terakhir disebar di permukaan MRS agar dan diratakan menggunakan batang bengkok steril, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung menggunakan Persamaan (1).

$$\text{Total BAL} = \left( \frac{\text{jumlah koloni terhitung}}{\text{faktor pengenceran}} \right) \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \quad (1)$$

#### Total Gula

Pengujian total gula mengacu pada metode anthrone-sulfate (Andarwulan et al. 2011). Pengujian total gula melalui beberapa tahapan meliputi hidrolisis sampel dengan larutan HCL 4N pada suhu 90°C – 100°C selama 1 jam, pembuatan larutan baku standar glukosa 1.000 ppm, pembuatan larutan anthrone 0,1% dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, membuat kurva standar yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi glukosa dan nilai *Optical Density* (OD) yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS (Evolution 201, USA) pada panjang gelombang 630 nm. Nilai absorbansi

dari kadar glukosa standar dibuat grafik linier, sehingga diperoleh persamaan yang digunakan dalam penentuan kadar gula sampel.

### **Total Asam**

Pengujian total asam (terhitung sebagai asam laktat) dilakukan menggunakan metode titrasi netralisasi (AOAC 2006). Sari buah sebanyak 10 ml diencerkan dengan aquades sampai volume 100 ml kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat sebanyak 25 ml ditambahkan dengan 2-3 tetes indikator fenolptalein 1%, kemudian dititrasi dengan NaOH 0,1N sampai timbul warna merah muda. Total asam dihitung sebagai total asam laktat.

### **Derajat Keasaman (pH)**

Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan alat pH-meter (AOAC 2006). Sebelum digunakan, pH-meter dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan buffer pH 4 dan pH 7. Langkah selanjutnya, elektroda pH-meter dimasukkan ke dalam sari buah terung belanda.

### **Vitamin C**

Pengujian Vitamin C dilakukan menggunakan metode spektrofotometri (Vuong et al. 2014). Pengujian Vitamin C dilakukan melalui beberapa tahapan meliputi pembuatan larutan baku standar asam askorbat 100 ppm. Standar diencerkan dengan memipet 0; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; dan 0,30 ml larutan baku standar kemudian ditambahkan aquades hingga volume 0,3 ml. Sampel sari buah diencerkan 100 kali dan diambil sebanyak 0,3 ml. Larutan standar dan sampel sari buah kemudian ditambahkan 3 ml reagen Na-Fosfat amonium molibdat dalam asam sulfat. Campuran divorteks dan diinkubasikan selama 90 menit pada *waterbath* dengan suhu 95°C. Nilai absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-VIS (Evolution 201, USA) pada panjang gelombang 695 nm. Kurva standar dibuat dengan menghubungkan antara konsentrasi asam askorbat dengan nilai absorbansi, sehingga diperoleh persamaan untuk menghitung kadar vitamin C pada sari buah.

### **Kapasitas Antioksidan**

Pengujian kapasitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH (Almey et al. 2010) yang dimodifikasi. Pengujian kapasitas antioksidan meliputi pembuatan larutan DPPH 0,1mM dalam methanol dan pembuatan larutan asam galat 2 ppm dalam aquades. Sampel sari

buah diencerkan dengan methanol 99,9% kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit. Sebanyak 1 ml supernatan ditambahkan dengan 1 ml DPPH 0,1mM, divorteks, dan didiamkan selama 30 menit pada suhu 25°C. Nilai absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-VIS (Evolution 201, USA) pada panjang gelombang 517 nm. Kurva standar dibuat dengan mengganti sampel dengan larutan standar asam galat dengan konsentrasi 0; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6; dan 2 ppm. Nilai absorbansi dari konsentrasi asam galat standar dibuat grafik linier, sehingga diperoleh persamaan yang digunakan dalam penentuan kapasitas antioksidan sampel.

### **Karakteristik Sensoris**

Pengujian karakteristik sensoris meliputi uji hedonik terhadap warna, aroma, konsistensi, rasa, dan penerimaan keseluruhan serta uji skoring terhadap tingkat rasa asam dan tingkat rasa manis (Lawless and Heymann 2003). Uji hedonik dan skoring dilakukan oleh 20 orang panelis. Setiap panelis diminta menyatakan kesan terhadap warna, rasa, aroma, dan penerimaan keseluruhan serta memberikan penilaian terhadap tingkat rasa manis dan asam dari minuman sari buah. Skala uji hedonik dari 1 sampai dengan 7 dengan kriteria: sangat tidak suka, tidak suka, agak tidak suka, biasa, agak suka, suka, dan sangat suka. Skala skor tingkat rasa manis dan asam dari 1 sampai dengan 4. Kriteria tingkat rasa manis: tidak manis, agak manis, manis dan sangat manis, sedangkan tingkat rasa asam: tidak asam, agak asam, asam, dan sangat asam.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Populasi LbSKG34**

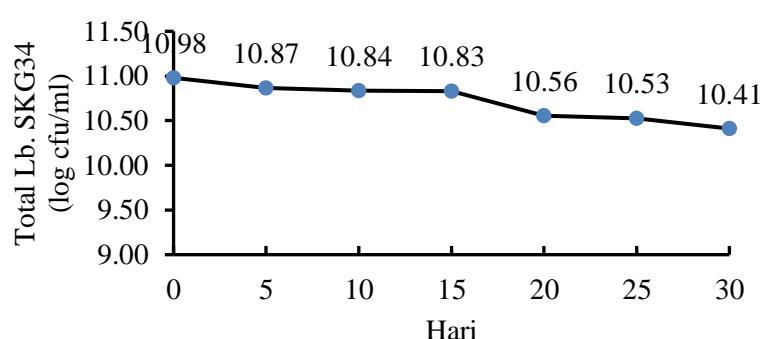
Hasil penelitian menunjukkan bahwa populasi LbSKG34 mengalami sedikit penurunan selama 30 hari penyimpanan, dari  $9,54 \times 10^{10}$  CFU/ml pada hari ke-0 menjadi  $2,58 \times 10^{10}$  CFU/ml pada hari ke-30 (Gambar 1). Penurunan ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor seperti berkurangnya komposisi nutrisi untuk bakteri, pH rendah, adanya keberadaan oksigen, dan terakumulasinya asam-asam organik hasil metabolisme bakteri selama penyimpanan.

LbSKG34 merupakan bakteri homofermentatif yang menghasilkan asam laktat sebagai hasil utama metabolisme gula. Peningkatan total asam akan menyebabkan penurunan pH yang mempengaruhi pertumbuhan BAL. Paparan pH rendah akan menyebabkan

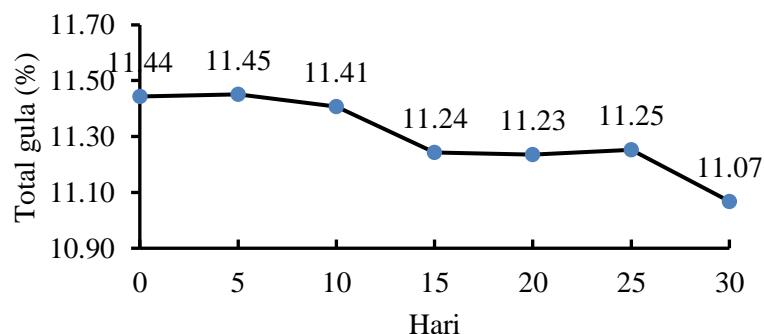
bakteri membutuhkan energi yang lebih banyak untuk menjaga pH intraseluler, dimana hal ini menyebabkan berkurangnya jumlah ATP yang berakibat pada kerusakan dinding sel dan kematian bakteri (Nualkaekul and Charalampopoulos 2011). Di samping itu, menurunnya viabilitas bakteri dapat juga disebabkan oleh kerusakan oksidatif akibat keberadaan oksigen dalam produk. Adanya oksigen akan menyebabkan terakumulasinya metabolit racun seperti hidrogen peroksida mengingat bakteri probiotik tidak memiliki katalase dan rantai transpor elektron (Pimentel et al. 2015) sehingga akumulasi  $H_2O_2$  yang terbentuk akan bersifat toksik bagi LbSKG34. Menjaga viabilitas probiotik pada produk sari buah merupakan tantangan karena sari buah memiliki konsentrasi oksigen terlarut yang tinggi, sedangkan probiotik yang banyak digunakan memiliki karakteristik anaerobik dan mikroaerofilik (Olivares et al. 2019), khususnya pada kelompok bakteri asam laktat seperti *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria*.

LbSKG34 merupakan bakteri homofermentatif yang menghasilkan asam laktat sebagai hasil utama metabolisme gula.

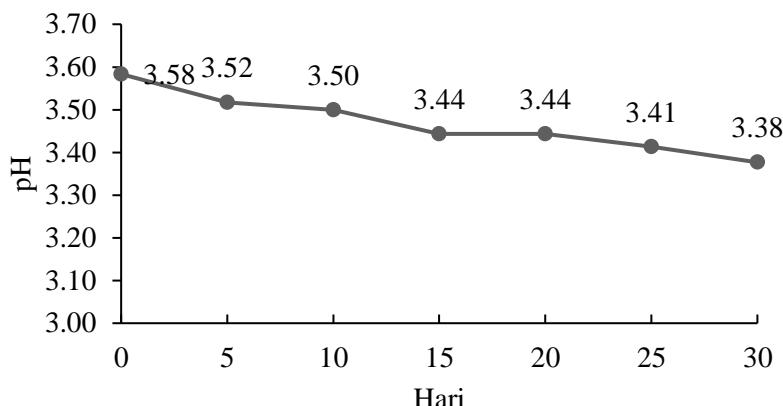
Peningkatan total asam akan menyebabkan penurunan pH yang mempengaruhi pertumbuhan BAL. Paparan pH rendah akan menyebabkan bakteri membutuhkan energi yang lebih banyak untuk menjaga pH intraseluler, dimana hal ini menyebabkan berkurangnya jumlah ATP yang berakibat pada kerusakan dinding sel dan kematian bakteri (Nualkaekul and Charalampopoulos 2011). Di samping itu, menurunnya viabilitas bakteri dapat juga disebabkan oleh kerusakan oksidatif akibat keberadaan oksigen dalam produk. Adanya oksigen akan menyebabkan terakumulasinya metabolit racun seperti hidrogen peroksida mengingat bakteri probiotik tidak memiliki katalase dan rantai transpor elektron (Pimentel et al. 2015) sehingga akumulasi  $H_2O_2$  yang terbentuk akan bersifat toksik bagi LbSKG34. Menjaga viabilitas probiotik pada produk sari buah merupakan tantangan karena sari buah memiliki konsentrasi oksigen terlarut yang tinggi, sedangkan probiotik yang banyak digunakan memiliki karakteristik anaerobik dan mikroaerofilik (Olivares et al. 2019), khususnya pada kelompok bakteri asam laktat seperti *Lactobacilli* dan *Bifidobacteria*.



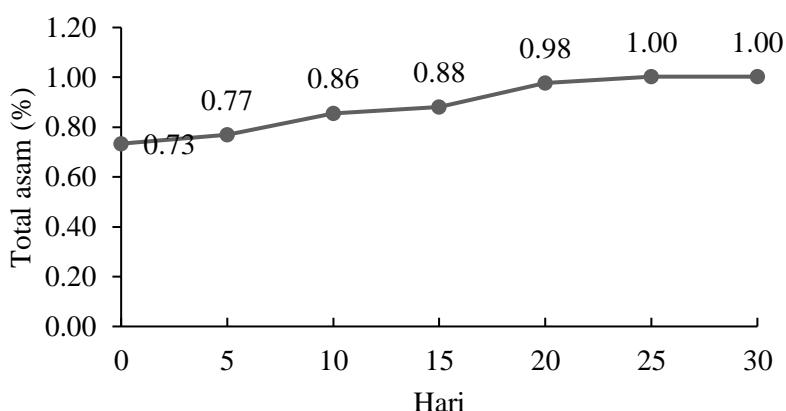
Gambar 1 Perubahan total Lb.SKG34 selama penyimpanan



Gambar 2 Perubahan total gula selama penyimpanan



Gambar 3 Perubahan pH selama penyimpanan



Gambar 4 Perubahan Total asam selama penyimpanan

Dari hasil penelitian, terlihat bahwa populasi LbSKG34 tidak banyak mengalami penurunan. Hal ini kemungkinan besar juga dipengaruhi oleh melambatnya pertumbuhan LbSKG34 pada suhu dingin ( $4^{\circ}\text{C}$ ) sehingga laju produksi metabolit yang bersifat toksik bagi sel LbSKG34 pun juga diminimalisir. Suhu optimum untuk pertumbuhan BAL adalah  $10^{\circ}\text{C} - 45^{\circ}\text{C}$ . Selain suhu, penurunan BAL yang sedikit diduga juga dapat dipengaruhi oleh kandungan vitamin C yang diperoleh dari buah terung belanda. Adanya vitamin C dapat berperan sebagai *oxygen scavenger* yang dapat melindungi bakteri probiotik selama masa penyimpanan dengan mempertahankan lingkungan anaerobik yang lebih menguntungkan. Akan tetapi, perlu diperhatikan bahwa vitamin C merupakan senyawa yang sangat tidak stabil dan jumlahnya dapat berkurang pada penyimpanan jangka panjang (Olivares et al. 2019). Populasi LbSKG34 pada sari buah terung belanda hingga hari ke-30 masih memenuhi kriteria sebagai produk probiotik karena sesuai dengan standar FAO/WHO (2002) mengenai syarat mutu

minuman probiotik yaitu sebesar  $10^6 - 10^8$  log CFU/ml.

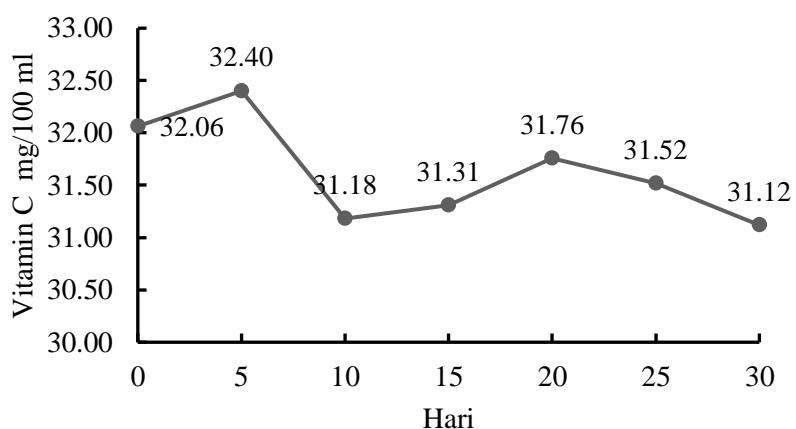
#### Total Gula

Total gula sari buah terung belanda fermentasi mengalami sedikit penurunan, dari 11,44% pada hari ke-0 menjadi 11,07% pada hari ke-30 (Gambar 2). Hal ini disebabkan karena aktivitas LbSKG34 dalam memanfaatkan gula sebagai sumber energi berjalan lambat pada suhu rendah. Selama penyimpanan, gula dimetabolisme oleh LbSKG34 untuk mempertahankan hidupnya. Akan tetapi, LbSKG34 dan BAL pada umumnya memiliki batasan optimum untuk menggunakan gula sebagai sumber karbon sehingga tidak semua gula yang ditambahkan ke dalam produk dirombak oleh BAL. Penurunan total gula pada produk berbanding lurus dengan penurunan pH dan berbanding terbalik dengan nilai total asam yang diperoleh. Semakin banyak gula yang dirombak oleh bakteri, semakin banyak pula asam laktat yang dihasilkan yang mengakibatkan pH produk semakin rendah.

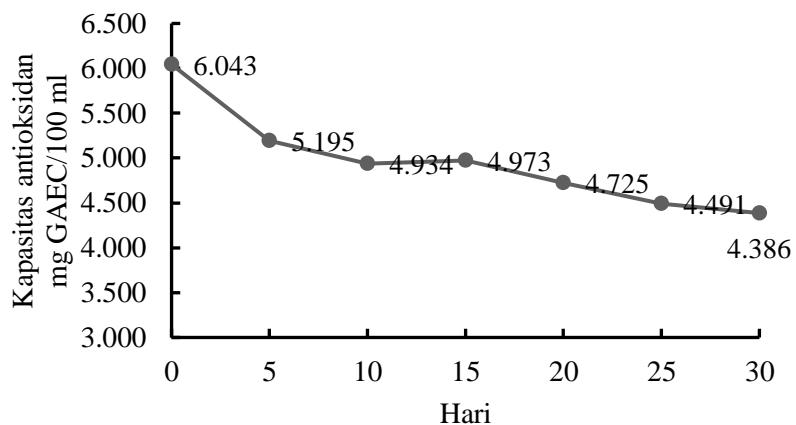
### pH dan Total Asam

Selama penyimpanan dingin, terjadi penurunan pH dan peningkatan total asam minuman sari buah terung belanda terfermentasi yang disebabkan oleh terakumulasinya asam laktat hasil metabolisme LbSKG34 (Gambar 3 dan 4). Penurunan pH dan peningkatan total asam dapat juga disebabkan oleh hidrolisis gula pada buah yang diinduksi oleh enzim yang dikeluarkan oleh sel bakteri probiotik yang sudah mati, sehingga pH dan total asam tidak hanya dipengaruhi oleh asam organik yang dihasilkan dari metabolisme bakteri probiotik yang masih hidup (Zhu et al. 2020). Total asam pada sari buah terung belanda selama masa penyimpanan mengalami peningkatan dari 0,73% pada hari ke-0 menjadi 1,00 % pada hari ke-30. pH produk juga mengalami penurunan dari 3,58 pada hari ke-0 menjadi 3,38 pada hari ke-30. LbSKG34

mempunyai ketahanan yang baik pada pH rendah yaitu pH 3 hingga 4, sehingga dengan penurunan pH sampai dengan 3,38 pada hari ke-30 masih menunjukkan populasi LbSKG34 yang tinggi pada sari buah terung belanda, yaitu sebesar  $2,58 \times 10^{10}$  CFU/ml. Pada penelitian ini, total asam sari buah terung belanda hingga penyimpanan 20 hari masih memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI 2009) untuk minuman probiotik, yaitu berkisar antara 0,2% - 0,9%. Penurunan pH dan peningkatan total asam pada produk dapat meningkatkan masa simpan produk dengan mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Akan tetapi, jumlah total asam yang terlalu tinggi dapat menurunkan nilai organoleptik dan penerimaan produk untuk dikonsumsi (Garcia et al. 2018; Güney and Gündörümüşler 2021; Tahmasebian et al. 2020; Zhu et al. 2020; Rengadu et al. 2021)



Gambar 5 Perubahan Vitamin C selama penyimpanan



Gambar 6 Perubahan nilai kapasitas antioksidan selama penyimpanan

Tabel 1 Nilai rata –rata kesukaan terhadap warna, aroma, rasa, dan penerimaan keseluruhan sari buah terung belanda terfermentasi dengan isolat LbSKG34 selama penyimpanan suhu dingin

Hari Penyimpanan	Warna	Aroma	Rasa	Penerimaan Keseluruhan
0	5,1 ± 1,16 a	5,5 ± 0,74 a	5,8 ± 1,12 a	5,8 ± 0,94 ab
5	5,2 ± 1,01 a	5,3 ± 0,90 a	6,1 ± 0,88 a	6,0 ± 1,00 a
10	5,1 ± 0,99 a	5,3 ± 1,28 a	5,9 ± 0,70 a	5,6 ± 0,74 ab
15	5,3 ± 1,23 a	5,5 ± 0,83 a	5,4 ± 1,06 ab	5,5 ± 0,64 ab
20	5,3 ± 1,03 a	5,5 ± 0,92 a	5,8 ± 0,86 a	5,7 ± 0,88 ab
25	5,2 ± 1,08 a	5,4 ± 0,83 a	5,5 ± 1,13 ab	5,3 ± 0,82 bc
30	5,2 ± 1,08 a	5,5 ± 0,83 a	5,1 ± 1,28 b	4,9 ± 1,10 c

Keterangan: Nilai yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ( $P>0,05$ ). Skala hedonik: 1. sangat tidak suka; 2. tidak suka; 3. agak tidak suka; 4. biasa; 5. agak suka; 6. suka; 7. sangat suka

Tabel 2 Nilai rata –rata uji skor terhadap tingkat rasa manis dan rasa asam sari buah terung belanda terfermentasi dengan isolat LbSKG34 selama penyimpanan suhu dingin

Hari Penyimpanan	Rasa Manis	Rasa Asam
0	3,0 ± 0,53 a	2,1 ± 0,64 c
5	2,5 ± 0,64 b	2,5 ± 0,64 bc
10	2,3 ± 0,70 bc	2,8 ± 0,77 ab
15	2,1 ± 0,64 c	2,8 ± 0,68 ab
20	2,1 ± 0,80 c	3,1 ± 0,59 a
25	2,0 ± 0,65 c	2,9 ± 0,70 ab
30	1,9 ± 0,80 c	3,1 ± 0,80 a

Keterangan: Nilai yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ( $P>0,05$ ). Kriteria tingkat rasa manis: 1. tidak manis; 2. agak manis; 3. manis; 4. sangat manis; Kriteria tingkat rasa asam: 1. tidak asam; 2. agak asam; 3. asam 4. sangat asam

### Vitamin C dan Kapasitas Antioksidan

Data pada Gambar 5 menunjukkan bahwa kandungan vitamin C sari buah terung belanda mengalami sedikit penurunan selama penyimpanan 30 hari. Kandungan vitamin C pada hari ke-0 sebesar 32,1% menurun menjadi 31,1% pada hari ke-30. Vitamin C atau sering disebut dengan asam askorbat merupakan vitamin yang paling sederhana, bersifat tidak stabil, dan mudah berubah karena oksidasi serta mudah rusak dan terdegradasi selama penyimpanan (Kashudhan et al. 2017). Beberapa faktor yang mempengaruhi perubahan vitamin C adalah suhu, cahaya, dan oksigen. Asam askorbat akan lebih mudah mengalami oksidasi pada suhu kamar atau suhu yang lebih tinggi (Hapsari et al. 2023). Pada penelitian ini, sari buah disimpan pada suhu dingin (4°C) sehingga oksidasi asam askorbat dapat dicegah. Hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan vitamin C yang tidak terlalu banyak. Kapasitas antioksidan pada sari buah terung belanda terfermentasi mengalami penurunan selama 30 hari penyimpanan, dari 6,043 mg GAEC/100 ml pada hari ke-0 menjadi 4,386 mg GAEC/100 ml pada hari ke-30 (Gambar 6).

Penurunan antioksidan dapat disebabkan oleh aktivitas bakteri probiotik yang menurun pada penyimpanan dingin serta adanya oksigen terlarut pada produk yang menyebabkan terjadinya oksidasi senyawa fenolik (Nematollahi et al. 2016). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa fermentasi asam laktat oleh BAL dapat menstimulasi terjadinya konversi senyawa fenolik sederhana dan depolimerasi senyawa fenolik dengan berat molekul tinggi yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan pada produk, dimana hal ini ditunjukkan pada penelitian minuman fermentasi dengan menggunakan buah ara (Coda et al. 2012; Nazarni et al. 2016), delima (Mantzourani et al. 2018b), dan cornelian ceri (Mantzourani et al. 2018a).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif adalah radikal bebas. Terung belanda mengandung vitamin C dan flavonoid yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang sensitif terhadap suhu. Hal ini menyebabkan senyawa flavonoid

mengalami degradasi kimia pada suhu yang lebih tinggi selama penyimpanan (Mrmosanin et al. 2015). Pada penelitian ini, penurunan kapasitas antioksidan tidak terlalu banyak karena degradasi flavonoid dan oksidasi vitamin C dapat dikurangi pada penyimpanan suhu dingin (4°C). Di samping itu, dilaporkan juga bahwa penurunan jumlah senyawa fenolik pada penyimpanan dingin tidak banyak berubah dengan ketiadaan cahaya dan oksigen (Patthamakanokporn et al. 2008).

### Karakteristik Sensoris

Berdasarkan hasil evaluasi sensoris, nilai rata-rata kesukaan terhadap warna, aroma, rasa, dan penerimaan keseluruhan sari buah terung belanda dapat dilihat pada Tabel 1, sedangkan nilai uji skor terhadap tingkat rasa manis dan rasa asam sari buah terung belanda dapat dilihat pada Tabel 2.

Nilai kesukaan terhadap warna sari buah terung belanda selama penyimpanan 30 hari berkisar antara 5,1 sampai dengan 5,3 dengan kriteria agak suka, untuk aroma berkisar antara 5,3 sampai dengan 5,5 dengan kriteria agak suka sampai suka, dan untuk rasa berkisar antara 5,1 sampai dengan 6,1 dengan kriteria agak suka sampai suka. Rasa sari buah terung belanda masih disukai sampai dengan hari ke-25 dengan kriteria rasa asam dan agak manis. Penerimaan keseluruhan dari sari buah terung belanda berkisar antara 4,9 sampai dengan 6,0 dengan kriteria agak suka sampai suka. Sari buah terung belanda masih disukai sampai dengan penyimpanan 20 hari dengan kriteria rasa asam dan agak manis. Perubahan aroma, citarasa, dan penerimaan produk sari buah terung belanda terfermentasi disebabkan oleh berkurangnya tingkat kemanisan produk selama proses fermentasi dan penyimpanan karena adanya perombakan gula oleh bakteri untuk pertumbuhannya, dimana proses tersebut menghasilkan metabolit berupa asam laktat yang terakumulasi pada produk.

### KESIMPULAN

*Lacticaseibacillus rhamnosus* SKG34 pada sari buah terung belanda terfermentasi mampu bertahan selama 30 hari dengan jumlah populasi  $2,58 \times 10^{10}$  CFU/ml. Tetapi, produk sari buah terung belanda terfermentasi dengan *L. rhamnosus* SKG34 secara keseluruhan masih disukai sampai penyimpanan hari ke-20 dengan karakteristik total BAL  $3,6 \times 10^{10}$  CFU/ml; total gula 11,23%; total asam 0,98%; pH 3,44; vitamin C 31,76 mg/100

ml; dan kapasitas antioksidan 4,725 GAEC/100 ml dengan karakteristik organoleptik warna agak disukai, aroma disukai serta rasa asam dan agak manis yang disukai. Secara keseluruhan, dari hasil penelitian ini, sari buah terung belanda terfermentasi dapat disimpan pada suhu 4°C tidak lebih dari 20 hari untuk mendapatkan produk yang optimal dengan karakteristik kimia yang disukai dan kandungan probiotik LbSKG34 yang tinggi.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Udayana (Nomor : B/20-220/UN14.4.A/PT.01.05/2020) yang telah mendanai penelitian ini dan seluruh tim yang telah bekerja untuk menyelesaikan penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Almey, A., Khan, A. J., Zahir, S., Suleiman, M., Aisyah, M., and Rahim, K., 2010. Total phenolic content and primary antioxidant activity of methanolic and ethanolic extracts of aromatic plants' leaves. *International Food Research Journal*, 17, 1077–1084.
- Andarwulan, M. N., Kusnandar, F., Herawati, D., 2011. *Analisis Pangan* (1st ed.). Dian Rakyat.
- AOAC., 2006. *Official methods of analysis of AOAC international*. AOAC International.
- de Oliveira, P. M., Leite Júnior, B. R. de C., Martins, E. M. F., Martins, M. L., Vieira, É. N. R., de Barros, F. A. R., Cristianini, M., de Almeida Costa, N., and Ramos, A. M., 2021. Mango and carrot mixed juice: a new matrix for the vehicle of probiotic lactobacilli. *Journal of Food Science and Technology*, 58, 98–109.
- Dinkçi, N., Akdeniz, V., and Akalin, A. S., 2019. Survival of probiotics in functional foods during shelf life. *Food Quality and Shelf Life*, 201–233.
- Erkmen, O., and Bozoglu, T. F., 2016. Microbial Sources and Factors Affecting Microorganisms. *Food Microbiology: Principles into Practice*; Wiley: Hoboken, NJ, USA, 81–82.
- Garcia, E. F., de Oliveira Araújo, A., Luciano, W. A., de Albuquerque, T. M. R., de Oliveira Arcanjo, N. M., Madruga, M. S., dos Santos Lima, M., Magnani, M., Saarela, M., and de

- Souza, E. L., 2018. The performance of five fruit-derived and freeze-dried potentially probiotic *Lactobacillus* strains in apple, orange, and grape juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(13), 5000–5010.
- Güney, D., and Güngörümüşler, M., 2021. Development and comparative evaluation of a novel fermented juice mixture with probiotic strains of lactic acid bacteria and *Bifidobacteria*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13, 495–505. <https://doi.org/10.1007/s12602-020-09710-2>
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., and Sanders, M. E., 2014. Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- Hapsari, Y.I., Lestari, Y.N.A., and Prameswari, G. N., 2023. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Vitamin C pada Jus Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.). *Jurnal Gizi*, 12(1), 37–45.
- Kashudhan, H., Dixit, A., and Upadhyay, A., 2017. Optimization of ingredients for the development of wheatgrass based therapeutical juice using response surface methodology (RSM). ~ 338 ~ *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(2), 338–345.
- Lawless, H. T., and Heymann, H., 2003. *Sensory Evaluation of Food: Vol. Second Edition* (D. R. Heldman, Ed.; Second). Springer New York. <http://www.springer.com/series/5999>
- Mantzourani, I., Nouska, C., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Panayiotidis, M. I., Galanis, A., and Plessas, S., 2018. Production of a novel functional fruit beverage consisting of cornelian cherry juice and probiotic bacteria. *Antioxidants*, 7(11), 1–10. <https://doi.org/10.3390/antiox7110163>
- Mrmosanin, J., Pavlovic, A., Veljkovic, J., Mitic, S., Tasic, S., and Mitic, M., 2015. The effect of storage temperature and thermal processing on catechins, procyanidins and total flavonoid stability in commercially available cocoa powders. *Facta Universitatis - Series: Physics, Chemistry and Technology*, 13(1), 39–49. <https://doi.org/10.2298/fupct1501039m>
- Nazarni, R., Purnama, D., Umar, S., and Eni, H., 2016. The effect of fermentation on total phenolic, flavonoid and tannin content and its relation to antibacterial activity in jaruk tigarun (*Crataeva nurvala*, Buch HAM). *International Food Research Journal*, 23(1), 309–315.
- Nocianitri, K. A., Antara N.S., Sugihita, I M., Sukrama, I D.M., Ramona. Y., and Sujaya, I. N., 2017. The effect of two *Lactobacillus rhamnosus* strains on the blood lipid profile of rats fed with high fat containing diet. *International Food Research Journal*, 24(2), 795–802. <http://www.ifrj.upm.edu.my>
- Nocianitri, K. A., Sujaya, I. N., and Puspawati, N. N., 2018. *Susu Fermentasi Dengan Mono Kultur Lacobacillus rhamnosus*.
- Nualkaekul, S., and Charalampopoulos, D., 2011. Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*, 146(2), 111–117.
- Olivares, A., Soto, C., Caballero, E., and Altamirano, C., 2019. Survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* (prepared by vibration technology) in fruit juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*, 42, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2019.01.002>
- Patthamakanokporn, O., Puwastien, P., Nitithamyong, A., and Sirichakwal, P. P., 2008. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(3), 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.10.002>
- Pimentel, T. C., Klososki, S. J., Rosset, M., Barão, C. E., and Marcolino, V. A., 2019. Fruit juices as probiotic foods. In *Sports and energy drinks* (pp. 483–513). Elsevier.
- Pimentel, T. C., Madrona, G. S., Garcia, S., and Prudencio, S. H., 2015. Probiotic viability, physicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with

- Lactobacillus paracasei ssp. paracasei and oligofructose in different package type. *LWT-Food Science and Technology*, 63(1), 415–422.
- Rahayu, E. S., and Utami, T., 2019. *Probiotik dan Gut Microbiota: Serta Manfaatnya pada Kesehatan*. PT Kanisius.
- Rengadu, D., Gerrano, A. S., and Mellem, J. J., 2021. Microencapsulation of Lactobacillus casei and Bifidobacterium animalis enriched with resistant starch from vigna unguiculata. *Starch-Stärke*, 73(7–8), 1–9.
- Sujaya, I. N., Suwardana, G. N. R., Gotoh, K., Sumardika, I. W., Nocianitri, K. A., Sriwidjaya, N. P., Putra, I. W. G. A. E., Sakaguchi, M., and Fatmawati, N. N. D., 2022. Potential Probiotic Characteristics and Safety Assessment of Lactobacillus rhamnosus SKG34 Isolated from Sumbawa Mare's Milk. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 50(1), 51–62. <https://doi.org/10.48022/mbl.2111.11007>
- Tahmasebian, M., Mahmoudi, R., and Shakouri, M. J., 2020. Probiotic viability, physicochemical characterization and sensory properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) juice supplemented with lactobacillus acidophilus and lactobacillus delbrueckii. *Journal of Chemical Health Risks*, 10(4), 253–260. <https://doi.org/10.22034/jchr.2020.1884553.1072>
- Tampinongkol, N. C., Nocianitri, K. A., and Ekawati, I. G. A., 2020. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Buah Terung Belanda Terfermentasi Dengan Lactobacillus rhamnosus SKG 34. *Jurnal Itepa*, 9(3), 251–261.
- Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., and Kopsahelis, N., 2019. Probiotics in food systems: significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. In *Nutrients* (Vol. 11, Issue 7, pp. 1–32). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu11071591>
- Vuong, Q. V., Hirun, S., Chuen, T. L. K., Goldsmith, C. D., Bowyer, M. C., Chalmers, A. C., Phillips, P. A., and Scarlett, C. J., 2014. Physicochemical composition, antioxidant and anti-proliferative capacity of a lilly pilly (*Syzygium paniculatum*) extract. *Journal of Herbal Medicine*, 4(3), 134–140.
- Zhu, W., Lyu, F., Naumovski, N., Ajlouni, S., and Ranadheera, C. S., 2020. Functional efficacy of probiotic lactobacillus sanfranciscensis in apple, orange and tomato juices with special reference to storage stability and in vitro gastrointestinal survival. *Beverages*, 6(1), 1–9. <https://doi.org/10.3390/beverages6010013>.