

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengembangan produk pangan dengan konsep pangan sehat telah banyak dilakukan. Salah satu bentuk inovasi dalam pengembangan pangan sehat yaitu pembuatan pangan fungsional. Terdapat beragam jenis pangan fungsional, satu di antaranya yaitu minuman probiotik yang dihasilkan melalui proses fermentasi (Rizal et al., 2020). Fermentasi dapat membantu mengurangi komponen yang bersifat toksik dan anti-nutrien dalam bahan yang difermentasi (Dimidi et al., 2019). Selain itu, Zheng et al. (2014) menyimpulkan bahwa bakteri probiotik sebagai starter dalam fermentasi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan total fenol dalam jus buah. Minuman fermentasi umumnya dibuat dengan bahan baku susu atau dikenal sebagai *dairy-based product* (Savaiano & Hutkins, 2021). Namun, seiring banyaknya temuan baru terkait nutrisi pendukung pertumbuhan starter fermentasi, penggunaan bahan baku nabati khususnya buah sebagai matriks dianggap menawarkan ketersediaan nutrisi yang lebih variatif.

Beberapa penelitian terkait pengembangan minuman probiotik berbasis bahan bukan susu, di antaranya oleh Lascano et al. (2020) yang menggunakan buah markisa; Vivek et al. (2020) menggunakan buah sohiong; dan Zhang et al. (2020) yang memanfaatkan mengkudu. Pertimbangan penggunaan bahan *non-dairy* khususnya buah dan sayuran sebagai bahan baku adalah keberadaan senyawa bioaktif seperti polifenol serta komponen nutrisi lainnya yang terbilang cukup tinggi sehingga dapat dimanfaatkan sebagai substrat untuk pertumbuhan probiotik (Aspri et al., 2020; Ghafari & Ansari, 2018). Berkaitan dengan hal ini, beberapa penelitian telah menemukan bahwa senyawa-senyawa bioaktif yang tergolong ke dalam metabolit sekunder justru banyak diperoleh dari kulit buah (Zahid et al., 2021; Hussain et al., 2022; Manoj et al., 2023). Hal ini menunjukkan bahwa kulit buah memiliki potensi besar untuk diolah menjadi minuman fungsional.

Kulit buah naga merupakan produk samping dari buah naga yang diketahui sebagai salah satu buah tropis yang mengandung senyawa betasianin, kelompok senyawa dari pigmen betalain (Rahayuningsih et al., 2021). Betalain dapat berperan sebagai senyawa antioksidan alami serta anti-inflamasi yang aktivitasnya disebut sebanding dengan kuersetin. Bahkan, kadar total fenolik dalam kulit buah naga disebut lebih tinggi dari beberapa spesies buah eksotis lainnya Le (2022). Mengingat kandungan betalain dan senyawa fenolik yang tinggi, kulit buah naga sangat mungkin untuk diolah menjadi minuman fungsional (Herawati et al., 2012). Hanya saja, penelitian yang dilakukan oleh Rodriguez et al. (2015) menemukan bahwa daging buah naga mengandung lebih banyak senyawa betasianin dibandingkan kulitnya. Meskipun demikian, kulit buah naga juga mengandung serat pangan dan pektin yang dapat dijadikan prebiotik untuk menunjang pertumbuhan mikroba selama pembuatan minuman probiotik (Le, 2022).

Buah naga secara keseluruhan mengandung sejumlah nutrisi penting yang dianggap cocok dengan kriteria pertumbuhan bakteri probiotik, seperti oligosakarida dan beberapa gula sederhana yang secara khusus ditemukan pada bagian daging buah (Dasaesamoh et al., 2016). Selain itu, buah naga dalam bentuk olahan jus memiliki daya tarik tersendiri dari segi visual. Baik daging buah maupun kulit buah naga memiliki persamaan juga perbedaan dalam kandungan gizinya. Walaupun demikian, kedua bahan tersebut disebut cukup potensial dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan minuman fungsional dalam bentuk minuman probiotik. Melalui pertimbangan tersebut, maka dilakukan penelitian untuk membandingkan pengaruh fermentasi terhadap karakteristik minuman yang dihasilkan dari sari daging buah dan sari kulit buah naga termasuk antioksidan, deksripsi sensori, dan total bakteri asam laktat.

1.2 Rumusan Masalah

Buah naga merupakan produk hortikultura yang banyak mengandung komponen nutrisi khususnya vitamin dan antioksidan. Umumnya, daging buah naga menjadi bagian yang paling banyak diolah, sementara bagian kulit buah dikesampingkan sebagai limbah. Walaupun demikian, kulit buah naga mengandung senyawa fenolik dan pigmen betasianin yang memberikan sifat fungsional jika dikonsumsi. Hal ini mengindikasikan bahwa selain daging buah, kulit buah naga juga berpotensi digunakan sebagai bahan baku pembuatan minuman fungsional, khususnya sebagai minuman probiotik melalui fermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum* sebagai starter. Baik daging buah naga maupun kulit buah naga pada dasarnya mengandung beberapa komponen yang sama meskipun dengan kadar yang berbeda, sehingga produk yang dihasilkan pun dapat saja berbeda karakteristik dan sifat fungsionalnya. Oleh karena itu, dilakukan penelitian mengenai pembuatan minuman fermentasi berbasis daging buah dan kulit buah naga untuk menganalisis perbedaan karakteristik minuman yang dihasilkan, termasuk fisikokimia, total bakteri asam laktat dan antioksidan produk.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini, yaitu:

1. Untuk menganalisis pengaruh bagian buah terhadap karakteristik fisikokimia, antioksidan, dan pertumbuhan bakteri asam laktat pada minuman yang dihasilkan.
2. Untuk menganalisis pengaruh fermentasi terhadap karakteristik fisikokimia, antioksidan, dan pertumbuhan bakteri asam laktat pada minuman yang dihasilkan.

3. Untuk menganalisis pengaruh interaksi antara perbedaan bagian buah dan fermentasi terhadap karakteristik fisikokimia dan antioksidan minuman yang dihasilkan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini yaitu dihasilkan minuman fungsional yang selanjutnya dapat dikembangkan menjadi alternatif produk minuman fungsional yang baru.

BAB II METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Desember 2024 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Pangan serta Laboratorium Kimia Analisa dan Pengawasan Mutu Pangan, Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu autoklaf, batang pengaduk, *blender*, botol kaca, *bulb*, bunsen, cawan petri, Erlenmeyer, gelas kimia, gegep, handrefraktometer, *hotplate*, inkubator, labu ukur dan 100 mL, *laminar air flow*, *magnetic stirrer*, mikropipet, ose bulat, pH meter, pipet skala, pipet tetes, pisau, refrigerator, saringan, spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi dan rak tabung reaksi, timbangan analitik, vorteks, dan *waterbath*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu air, akuades, *aluminum foil*, buah naga merah, *buffer* pH 4,01 dan 7,01, *blue & yellow tip*, glukosa, kalsium karbonat (CaCO_3), kapas, larutan fisiologis 0,85%, media MRS *Agar* dan MRS *Broth*, serbuk DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), spirtus, starter *Lactobacillus plantarum*, susu skim bubuk, dan tisu.

2.3 Prosedur Penelitian

2.3.1 Pembuatan Starter (Sultan et al., 2022, dimodifikasi)

Pembuatan starter dimulai dengan mengambil kultur murni *Lactobacillus plantarum* hasil peremajaan sebanyak 3 ose, lalu menginokulasikan kultur ke dalam media MRS *Broth* steril dalam tabung reaksi, dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Kemudian, tabung berisi isolat dan MRSB tersebut dihomogenkan dengan vorteks, lalu dipipet sebanyak 40 µL ke dalam 10 mL larutan susu skim steril 5%, lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu. Larutan ini ditetapkan sebagai kultur induk. Selanjutnya, sebanyak 1% dari kultur induk dipipet ke dalam 50 mL sari buah naga yang telah ditambahkan larutan susu skim 5% dan glukosa 3%, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Kultur ini kemudian disebut sebagai kultur antara. Selanjutnya, sebanyak 4% dari kultur antara dipipet ke dalam sari buah naga yang telah ditambahkan larutan susu skim 5% dan glukosa 3%, lalu dihomogenkan dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

2.3.2 Pembuatan Sari Buah Naga dan Fermentasi (Tang et al., 2023)

Penyiapan bahan dimulai dengan sortasi buah naga, lalu memisahkan daging dan kulit buah. Daging buah disisihkan, sementara kulit buah dipisahkan dengan kulit arinya, kemudian dicuci hingga bersih dengan air mengalir. Setelah itu, daging buah dan kulit buah dipotong, ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam *blender*. Kemudian, ditambahkan air dengan perbandingan 1:8 (kulit buah/daging buah naga:air) dan dilakukan pencampuran hingga kulit buah naga halus. Setelah itu, dilakukan penyaringan menggunakan kain saring hingga diperoleh sari. Sari tersebut selanjutnya ditambahkan sukrosa sebanyak 5% dari total 100 mL sari buah, dicampurkan dan dipasteurisasi pada suhu 65°C selama 15 menit, kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 37°C. Selanjutnya, ke dalam tiap botol ditambahkan starter *Lactobacillus plantarum* 4% dari volume total/botol, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C untuk minuman dengan perlakuan fermentasi.

2.3.3 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktorial sebanyak 3 kali ulangan dengan faktor bagian buah yang terdiri atas dua taraf yakni daging buah naga dan kulit buah naga serta faktor kondisi fermentasi yang terdiri atas dua taraf yaitu tanpa fermentasi dan fermentasi dengan *Lactobacillus plantarum*.

2.3.4 Parameter Pengujian

2.3.4.1 Total Padatan Terlarut (Li et al., 2021)

Pengukuran total padatan terlarut dilakukan menggunakan handrefraktometer dan hasil pengukuran dinyatakan dalam °Brix. Refraktometer lebih dulu dikalibrasi dengan akuades hingga diperoleh 0°Brix. Sampel kemudian dipipet ke atas permukaan prisma, lalu ditutup dan diamati °Brix sampel. Pengujian dilakukan sebelum sari buah ditambahkan sukrosa, setelah penambahan sukrosa, dan setelah proses fermentasi.

2.3.4.2 pH (Li et al., 2021)

Nilai pH sampel diuji menggunakan pH meter pada suhu ruang. Sebelum dilakukan pengukuran pH sampel, pH meter lebih dulu dikalibrasi dengan larutan *buffer* pH 4 dan pH 7 dengan memasukkan elektroda ke dalam larutan *buffer* sambil menekan tombol kalibrasi. Setelah proses kalibrasi, elektroda dicelupkan dan nilai pH yang tertera pada *display* dicatat sebagai nilai pH sampel. Pengujian pH dilakukan sebanyak dua kali yaitu sebelum dilakukan fermentasi dan setelah fermentasi.

2.3.4.3 Warna (Kardas et al., 2024, dimodifikasi)

Uji warna sampel dilakukan menggunakan metode kolorimetri. Sampel dimasukkan ke dalam plastik cetik $\pm 3/4$ bagian plastik, kemudian dirapatkan kembali. Selanjutnya, diuji warna sampel dengan kolorimeter hingga diperoleh nilai L^* , a^* , dan b^* yang menunjukkan tingkat kecerahan sampel. Data hasil pengukuran selanjutnya diolah menggunakan *colorizer.org* untuk analisis lebih lanjut.

2.3.4.4 Total Bakteri Asam Laktat (Rahayu & Nurwitri, 2021)

Sampel sebanyak 1 mL diencerkan secara bertingkat hingga pengenceran 10^{-10} , kemudian tiga pengenceran terakhir yakni 10^{-8} , 10^{-9} , dan 10^{-10} dipipet sebanyak 1 mL ke dalam cawan petri steril masing-masing. Setelah itu, ke dalam cawan dituang media MRSA steril sebanyak 10-15 mL. Cawan kemudian digoyangkan membentuk angka 8 untuk menghomogenkan sampel dan media. Selanjutnya, media didiamkan hingga memadat, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Pengujian total BAL dilakukan secara duplo untuk tiap tingkatan pengenceran yang digunakan. Setelah inkubasi, dilakukan perhitungan total koloni BAL yang tumbuh menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Total koloni} = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times \text{FP}} \quad (1)$$

dengan ΣC adalah jumlah seluruh koloni yang dihitung pada cawan (25-250), n_1 adalah jumlah cawan pada pengenceran pertama, n_2 adalah jumlah cawan pada pengenceran kedua, dan FP adalah tingkat pengenceran yang diperoleh dari cawan pertama yang dihitung. Total bakteri asam laktat dinyatakan dalam satuan Log CFU/mL.

2.3.4.5 Aktivitas Antioksidan

Pembuatan Larutan DPPH. Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 0,002 g dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang telah dilapisi dengan *aluminium foil*, lalu ditambahkan metanol p.a hingga batas tera. Larutan kemudian dihomogenkan.

Uji Aktivitas Antioksidan (Li et al., 2021). Sampel dari tiap perlakuan dipipet sebanyak 100µL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,9 mL. Setelah itu, dilakukan homogenisasi menggunakan vorteks. Larutan kemudian didiamkan selama 30 menit pada kondisi gelap cahaya, lalu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Absorbansi yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menghitung persentase penghambatan radikal bebas sampel menggunakan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

dengan A0 adalah absorbansi kontrol dan A1 adalah absorbansi sampel.

2.3.4.6 Deskripsi Organoleptik

Karakteristik organoleptik minuman yang diamati meliputi parameter warna, aroma, dan tekstur. Sampel diamati sebelum fermentasi dan segera setelah fermentasi. Hasil pengamatan kemudian dicatat.

2.3.5 Analisis Data

Data hasil pengujian dengan Rancangan Acak Lengkap 2 faktorial meliputi faktor bagian buah yang terdiri atas daging buah dan kulit buah serta faktor kondisi fermentasi yang terdiri atas tanpa fermentasi dan fermentasi dengan *Lactobacillus plantarum* sebagai desain penelitian selanjutnya akan diolah menggunakan analisis sidik ragam ANOVA menggunakan software SPSS 22.0 untuk melihat perbedaan nyata pada setiap sampel uji.