



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**PERKEMBANGAN BAKTERI PROBIOTIK DAN NILAI  
ORGANOLEPTIK MINUMAN FERMENTASI DARI MEDIA NIRA  
AREN (*Arengapinnata* Merr), NIRA TEBU (*Saccharum  
officinarum* L.) DAN AIR KELAPA (*Cocos  
nucifera* L.)**

**SKRIPSI**

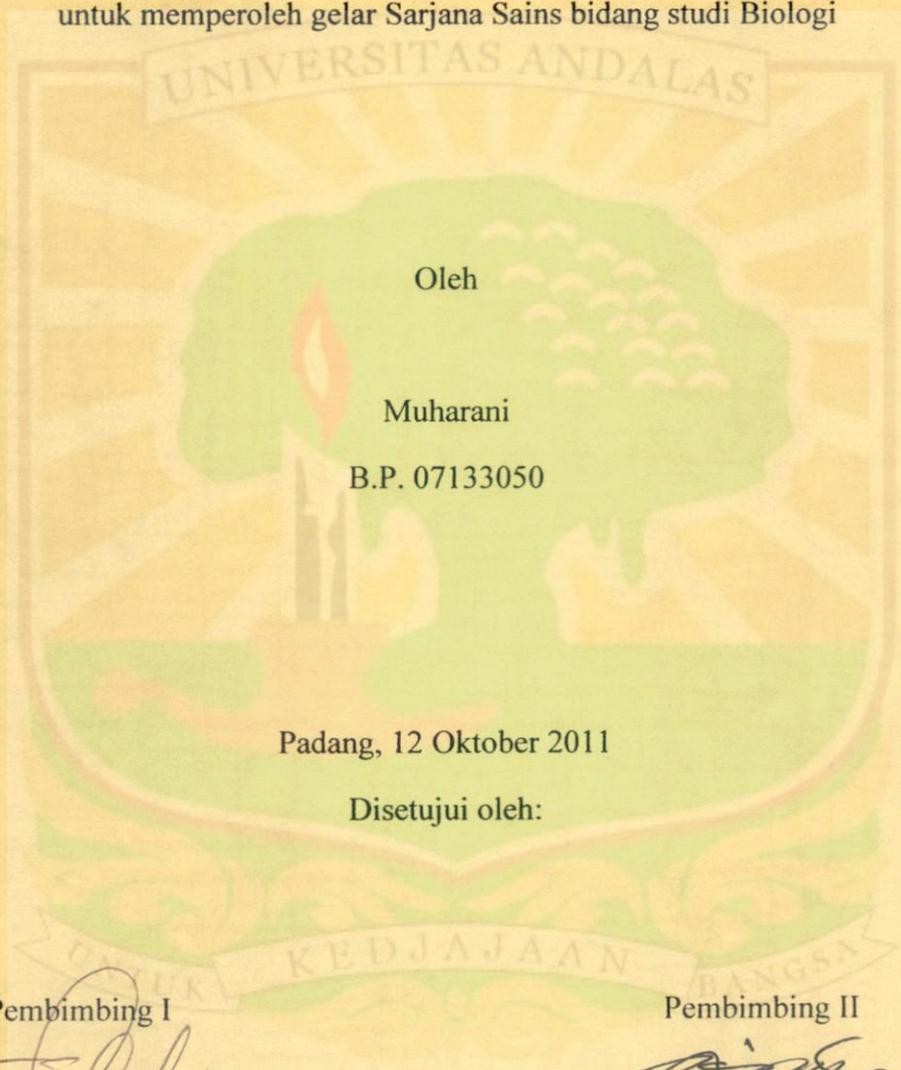


**MUHARANI  
07133050**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU  
PENGETAHUAN ALAM yNIVERSITAS  
ANDALAS PADANG,  
2011**

PERKEMBANGAN BAKTERI PROBIOTIK DAN NILAI ORGANOLEPTIK  
MINUMAN FERMENTASI DARI MEDIA NIRA AREN (*Arenga pinnata* Merr.),  
NIRA TEBU (*Saccharum officinarum* L.) DAN AIR KELAPA (*Cocos nucifera* L.)

Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang studi Biologi



Oleh

Muharani

B.P. 07133050

Padang, 12 Oktober 2011

Disetujui oleh:

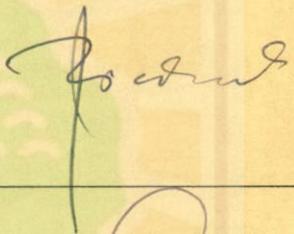
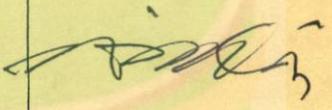
Pembimbing I

(Dr. Phil. Nat. Nurmiati)  
NIP.196211261990012001

Pembimbing II

(Dr. Nasril Nasir)  
NIP. 195408061989031001

**Skripsi ini telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Biologi,  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Andalas, Padang  
pada hari Rabu tanggal 12 Oktober 2011**

No.	N a m a	Jabatan	Tanda Tangan
1.	<b>Dr. Phil. Nat Periadnadi</b>	<b>Ketua</b>	
2.	<b>Dr. Phil. Nat Nurmiati</b>	<b>Sekretaris</b>	
3.	<b>Dr. Nasril Nasir</b>	<b>Anggota</b>	
4.	<b>Dr. Syaifullah</b>	<b>Anggota</b>	
5.	<b>Dr. Anthoni Agustien</b>	<b>Anggota</b>	

## KATA PENGANTAR

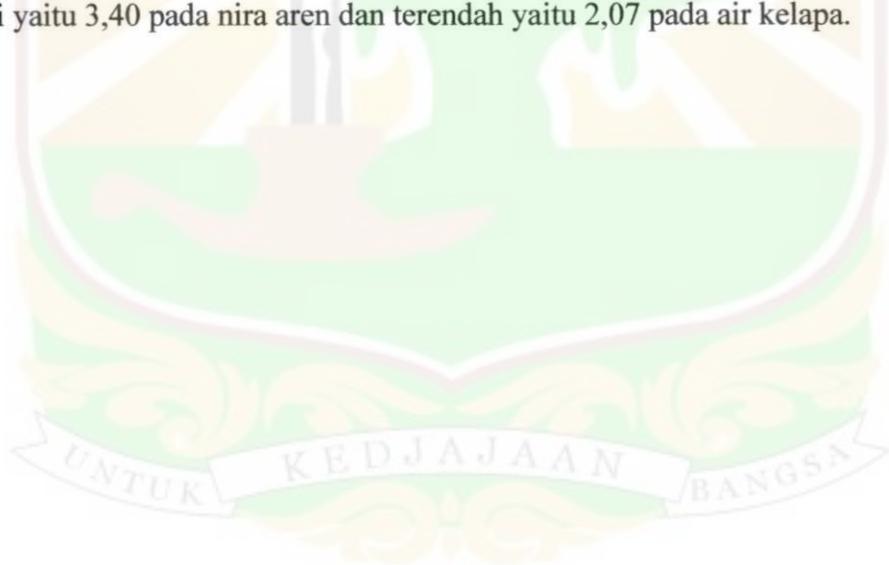
Puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Perkembangan Bakteri Probiotik dan Nilai Organoleptik Minuman Fermentasi dari Media Nira Aren (*Arenga pinnata* Merr.), Nira Tebu (*Saccharum officinarum* L.) dan Air Kelapa (*Cocos nucifera* L.)"

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Dr.phil.nat. Nurmiati dan Bapak Dr. Nasril Nasir selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah meluangkan waktu dan membimbing penulis dalam pelaksanaan penelitian sampai selesainya penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga penulis tujukan kepada:

1. Bapak Dr. Anthoni Agustien selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.
2. Bapak M. Nazri Janra M.Si dan Ibu Henny Herwina, M.Sc, selaku Dosen Penasehat Akademik.
3. Bapak Kepala Laboratorium Mikrobiologi/Mikologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Andalas Padang beserta analis.
4. Kedua orang tua dan seluruh keluarga atas do'a, kasih sayang serta perhatian yang telah diberikan.
5. Bapak dan Ibu dosen staf pengajar Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.
6. Semua pihak yang telah membantu sampai selesainya penulisan skripsi ini.

## ABSTRAK

Penelitian tentang Perkembangan Bakteri Probiotik dan Nilai Organoleptik Minuman Fermentasi dari Media Nira Aren (*Arenga pinnata* Merr.), Nira Tebu (*Saccharum officinarum* L.) dan Air Kelapa (*Cocos nucifera* L.)” telah dilakukan pada bulan Mei sampai Juli 2011 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen yang dianalisa deksriptif dan nilai organoleptik dianalisa dengan menggunakan Uji Jenjang Bertanda Wilcoxon, dengan menggunakan tiga (3) jenis media fermentasi, yaitu nira aren, nira tebu dan air kelapa yang difermentasi oleh bakteri probiotik selama 48 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah total bakteri probiotik pada jam ke-48 adalah  $1,60 \times 10^9$  cfu/ml pada air kelapa,  $42,5 \times 10^9$  cfu/ml pada air tebu, dan  $26,5 \times 10^9$  cfu/ml pada nira aren. Sedangkan total bakteri probiotik optimum terdapat pada jam ke-24 dengan jumlah  $45,35 \times 10^{13}$  cfu/ml dengan pH 5,58 dan kadar gula sisa 12,05 % Brix pada nira aren,  $34,50 \times 10^{13}$  cfu/ml dengan pH 4,43 dan kadar gula sisa 13 % Brix pada air tebu,  $4,290 \times 10^{13}$  cfu/ml pada pH 5,05 dan kadar gula sisa 4,3 % Brix pada air kelapa. Nilai organoleptik terhadap rasa minuman probiotik nira aren, air tebu dan air kelapa cenderung diterima dan disukai oleh panelis dengan nilai organoleptik tertinggi yaitu 3,40 pada nira aren dan terendah yaitu 2,07 pada air kelapa.



## ABSTRACT

A research about "Development of Probiotic Bacterias and Organoleptic Values of Fermentated Drink derived from Sugar Palm Fluid (*Arenga pinnata* Merr.), Sugar Cane Fluid (*Saccharum officinarum* L.) and Coconut Milk (*Cocos nucifera* L.) has been done from May until July 2011 at Laboratory of Microbiology, Biology Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Andalas University, Padang. The research used experimental method and was analyzed descriptively. Organoleptic values were analyzed by using Wilcoxon's Signed Range Test, used three kinds of fermentation media: sugar palm fluid, sugar cane fluid and coconut milk which were fermented by probiotic bacterias for 48 hours. Result of the research showed that amount of probiotics at 48<sup>th</sup> hour in coconut milk were  $1,60 \times 10^9$  cfu/ml,  $42,5 \times 10^9$  cfu/ml in sugar cane fluid, and  $26,5 \times 10^9$  cfu/ml in sugar palm fluid. The highest probiotics were found at 24<sup>th</sup> hour: amount of probiotic  $45,35 \times 10^{13}$  cfu/ml, acidity value 5,58, and amount of remaining sugar 12,05 % Brix (sugar palm fluid); amount of probiotic  $34,50 \times 10^{13}$  cfu/ml, acidity value 4,43, amount of remaining sugar 13 % Brix (sugar cane fluid); amount of probiotic  $4,290 \times 10^{13}$  cfu/ml, acidity value 5,05 and amount of remaining sugar 4,3 % Brix (coconut milk). Organoleptic values of probiotic drink's taste (from sugar palm fluid, sugar cane fluid and coconut milk) was relatively accepted and liked by panelists with the highest value was 3,40 on sugar palm fluid and the lowest value was 2,07 on coconut milk.



3.4.2 Sterilisasi Alat dan Medium.....	23
3.4.3 Medium GTA.....	23
3.4.4 Pembuatan Starter .....	23
3.4.5 Pembuatan Minuman Probiotik .....	23
3.4.6 Penghitungan Total Bakteri Probiotik.....	24
3.4.7 Pengukuran pH.....	24
3.4.8 Pengukuran Kadar Gula.....	24
3.4.9 Uji Organoleptik.....	25
3.4.10 Pengamatan .....	25
3.4.10.1 Nilai pH .....	25
3.4.10.2 Total Bakteri Probiotik .....	25
3.4.10.3 Kadar Gula .....	25
3.4.10.4 Penilaian Organoleptik .....	26
3.5 Analisa Data.....	26
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Kondisi Awal Sebelum Fermentasi .....	27
4.2 Selama Fermentasi.....	30
4.2.1 Total Bakteri Probiotik pada media fermentasi nira aren, nira tebu dan air kelapa.....	30
4.2.2 Nilai Ph .....	34
4.2.3 Kadar Gula Sisa .....	36
4.3 Produk Minuman Probiotik .....	38
4.3.1 Nilai Organoleptik .....	38
4.3.2 Resume Produk Minuman Probiotik Nira Aren, Nira Tebu dan Air Kelapa Setelah Fermentasi Selama 48 Jam .....	41

4.3.3 Regresi Total Probiotik dengan Nilai pH dan Kadar Gula	
Sisa .....	43
V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	46
5.1 Kesimpulan .....	46
5.2 Saran .....	46
DAFTAR KEPUSTAKAAN.....	47
LAMPIRAN .....	51



**DAFTAR TABEL**

Tabel 1. Komposisi kimia nira aren .....	7
Tabel 2. Komposisi kimia air kelapa.....	13
Tabel 3. Bakteri probiotik dan efek perlindungannya terhadap kanker kolon .....	19
Tabel 4. Kondisi awal media sebelum fermentasi.....	27
Tabel 5. Total bakteri probiotik, nilai pH dan kadar gula <i>Starter 2</i> setelah inkubasi .....	29
Tabel 6. Rata-rata nilai organoleptik minuman probiotik setelah 48 jam fermentasi .....	39
Tabel 7. Hasil Analisis Statistik terhadap Rasa Minuman Probiotik dengan Uji Jenjang Bertanda Wilcoxon .....	40
Tabel 8. Resume Produk Minuman Probiotik Nira Aren, Nira tebu dan Air Kelapa setelah 48 jam Fermentasi.....	42

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja.....	51
Lampiran 2. Rata-Rata Total Bakteri Probiotik pada Masing-Masing Media selama 48 Jam Fermentasi.....	53
Lampiran 3. Nilai Log Rata-Rata Total Probiotik pada Masing-Masing Media selama 48 Jam Fermentasi .....	53
Lampiran 4. Nilai pH dari Masing-Masing Media Selama 48 Jam Fermentasi....	53
Lampiran 5. Nilai Kadar Gula Sisa dari Masing-Masing Media Selama 48 Jam .....	54
Lampiran 6. Blanko organoleptik.....	55
Lampiran 7. Nilai Organoleptik Rasa Nira Aren, Nira Tebu dan Air Kelapa setelah 48 jam fermentasi dari 15 panelis .....	56
Lampiran 8. Daftar Uji Wilcoxon Rasa Nira Aren dan Nira Tebu Setelah 48 jam fermentasi.....	57
Lampiran 9. Daftar Uji Wilcoxon Rasa Nira Aren dan Air Kelapa Setelah 48 jam fermentasi .....	58
Lampiran 10. Daftar Uji Wilcoxon Rasa Nira Tebu dan Air Kelapa Setelah 48 jam fermentasi.....	59
Lampiran 11. Hasil Analisa Statistik Rasa Masing-Masing Media Fermentasi setelah 48 jam fermentasi dengan Uji Jenjang Bertanda Wilcoxon .....	60
Lampiran 12. Tabel Nilai J untuk Wilcoxon's Signed Rank Test .	60

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Saat ini, minuman probiotik sedang populer di kalangan masyarakat. Berbagai macam minuman berbasis kesehatan telah banyak beredar di pasaran untuk memenuhi kebutuhan masyarakat yang sadar akan pentingnya probiotik. Sebagai contoh yaitu *yoghurt*, yang mengandung bakteri probiotik. Bakteri probiotik ini mampu bertahan hidup di saluran pencernaan manusia dan dapat menekan pertumbuhan bakteri “jahat”.

Minuman probiotik merupakan minuman dengan kandungan bakteri probiotik di dalamnya. Jenis-jenis minuman probiotik antara lain seperti susu fermentasi, yogurt, dan lain-lain. Probiotik memiliki fungsi yang sangat penting dalam tubuh manusia. Probiotik dapat membantu kelancaran fungsional metabolisme tubuh. Umumnya produk probiotik mengandung 4 bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* sp. dan *Streptococcus thermophilus*. Keempat bakteri ini tidak bisa dipisahkan dari dunia probiotik karena peranannya dalam melakukan fermentasi asam laktat pada produk-produk probiotik. Bahan dasar dari minuman probiotik terbagi atas dua, yaitu susu dan non susu. Minuman probiotik yang terbuat dari susu seperti susu fermentasi. Sedangkan yang terbuat dari non susu contohnya kedelai yang terkenal dengan nama *soygart*.

Bahan dasar minuman probiotik non susu sebenarnya sangat banyak. Karena probiotik menyukai gula sederhana dengan mengandung sedikit unsur nitrogen, sehingga probiotik dapat tumbuh dan berkembang pada media yang mengandung gula sederhana dan protein. Oleh karena itu, untuk media probiotik bisa digunakan cairan tumbuhan yang mengandung gula dan kandungan nutrisi lainnya, seperti nira

aren (*Arenga pinnata* Merr), nira tebu (*Saccharum officinarum* L.), dan air kelapa (*Cocos nucifera* L.).

Minuman probiotik yang beredar di masyarakat saat ini, kebanyakan merupakan minuman yang terbuat dari bahan susu. Tapi sayangnya, ada beberapa dari masyarakat yang tidak menyukai susu dan terkadang memiliki kelainan pencernaan di mana mereka tidak dapat mencerna susu (*Lactose Intolerance*). Sehingga apabila mereka tetap meminum susu, maka akan berakibat muntah dan reaksi alergi lainnya.

Nira aren merupakan cairan yang berasal dari penyadapan pada bunga jantan maupun betina pohon aren (*Arenga pinnata* Merr.) dan menjadi minuman yang cukup dikenal oleh masyarakat. Nira aren dapat dibuat menjadi minuman maupun diproduksi menjadi gula (gula merah). Nira memiliki rasa yang manis karena mengandung gula. Bakteri probiotik akan dapat tumbuh dan berkembang pada substrat yang mengandung gula dan merombak senyawa gula tersebut menjadi asam laktat. Oleh karena itu, bakteri probiotik dapat tumbuh dan berkembang pada media nira aren. Sehingga nira aren juga dapat dijadikan minuman probiotik dengan penambahan bakteri probiotik ke dalamnya.

Nira tebu merupakan cairan dari tanaman tebu yang tumbuh biasanya di daerah tropis. Menurut Yukamgo (2007), nira tebu merupakan bahan baku utama dalam produksi gula. Air gula pada batang tebu mencapai 20 % mulai dari pangkal sampai ujungnya, dan kadar air gula di bagian pangkal lebih tinggi dari pada bagian ujung. Dengan kadar gula tersebut, bakteri asam laktat diharapkan dapat tumbuh dengan baik sehingga dapat dihasilkan organoleptik yang baik.

Demikian juga halnya dengan cairan tumbuhan yang lain seperti air kelapa yang juga mengandung banyak khasiat untuk kesehatan tubuh kita. Air kelapa

mengandung protein, lemak, mineral, karbohidrat, dan berbagai vitamin (C dan B kompleks) yang amat baik untuk kesehatan dan kecantikan (Nadira, 2006).

Minuman probiotik merupakan minuman sehat karena mengandung probiotik. Sementara itu nira aren, nira tebu dan air kelapa juga sehat, mengandung gula, bernilai gizi dan tidak mengandung alkohol sehingga dapat dijadikan minuman penyegar. Dengan sifat-sifat dari cairan tumbuhan tersebut, maka alangkah baiknya jika nira aren, nira tebu dan air kelapa dijadikan minuman probiotik.

Dengan demikian, masyarakat juga dapat menikmati alternatif lain dari minuman probiotik yang kebanyakan berasal dari susu, yaitu nira aren, air kelapa maupun nira tebu. Dalam arti kata, ketiga cairan tumbuhan tersebut merupakan alternatif lain dari susu sebagai bahan minuman probiotik. Untuk itu, perlu diketahui perkembangan fermentatif bakteri probiotik di dalam masing-masing media tersebut, sehingga dapat ditentukan waktu yang efektif (optimum) dalam lama fermentasi untuk menghasilkan total populasi probiotik tertinggi saat pemanenan. Oleh karena itu, dilakukanlah penelitian ini.

## **1.2 Perumusan masalah**

Berdasarkan dari uraian latar belakang yang telah dipaparkan, maka masalah yang dapat dirumuskan dalam penelitian ini adalah:

- 1) Bagaimanakah perkembangan total probiotik di dalam nira aren, nira tebu dan air kelapa?
- 2) Bagaimanakah perkembangan nilai pH dan kadar gula dalam minuman fermentasi nira aren, nira tebu dan air kelapa?
- 3) Saat manakah dihasilkan total probiotik tertinggi pada masing-masing media fermentasi?

- 4) Bagaimanakah nilai organoleptik (rasa) pada masing-masing media setelah 48 jam fermentasi?

### 1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

- 1) Mengetahui perkembangan total probiotik di dalam nira aren, nira tebu dan air kelapa
- 2) Mengetahui perkembangan nilai pH dan kadar gula dalam minuman fermentasi nira aren, nira tebu dan air kelapa
- 3) Mengetahui waktu yang efektif untuk menghasilkan total populasi probiotik tertinggi dalam pembuatan minuman fermentasi dari media nira aren, nira tebu dan air kelapa
- 4) Mengetahui nilai organoleptik (rasa) pada masing-masing media setelah 48 jam fermentasi

Sedangkan manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang probiotik serta memberikan informasi bahwa minuman probiotik dapat dibuat dari nira aren, nira tebu dan air kelapa.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Nira Aren (*Arenga pinnata* Merr.)

Tanaman Aren (*Arenga pinnata*, Merr.) adalah tanaman perkebunan berpotensi besar untuk dikembangkan. Produk utama tanaman aren sebagai hasil dari penyadapan nira bunga jantan dapat dijadikan gula, minuman, cuka dan alkohol. Selain itu bagian tanaman yang lain dapat dibuat bahan makanan. Data tahun 2004 luas areal tanaman aren telah mencapai 60.482 ha yang tersebar di 14 provinsi (Effendi, 2010).

Tanaman Aren (*Arenga pinnata*) termasuk ke dalam ordo Arecales, suku Arecaceae/palmae yang merupakan tumbuhan berbiji tertutup (Angiospermae) yaitu yang bijinya terbungkus daging buah. Suku ini membawahi sekitar 200 marga yang keseluruhannya 4000-an jenis, yang sebagian besar tersebar di daerah tropika. Tanaman Aren banyak terdapat di hutan Indonesia, terdapat 3 jenis aren yang dapat ditemui yaitu : aren (*Arenga pinnata* Merr.), aren gelora (*A. undatifolta*) dan aren sagu (*A. microcarpa*) (Mega, 2008). Klasifikasi dari aren adalah sebagai berikut:



Kingdom : *Plantae*  
 Division : *Magnoliophyta*  
 Class : *Liliopsida*  
 Subclass : *Arecoideae*  
 Order : *Arecales*  
 Family : : *Arecaceae*  
 Genus : : *Arenga*  
 Species : *Arenga pinnata* Merr.  
 (Woodland, 2009).

Gambar 1. Pohon nira aren (Anonymous, 2010a).

Tanaman Aren (*Arenga pinnata*) termasuk famili *palmae* dengan ciri tidak bercabang, berakar serabut, dan berbentuk sirip dengan panjang 6-12 m dan lebar 1,5 m, tangkai daun berpelepah yang mudah lepas bila sudah tua dan kering dan bunga berbentuk mayang. Tanaman aren tumbuh secara tunggal dengan batang yang cukup besar berdiameter rata-rata 60 cm. Batang aren ini diselimuti ijuk yang tampak kotor dengan posisi yang tidak beraturan (Mega, 2008).

Pohon aren mempunyai bunga jantan dan bunga betina. Kedua bunga dapat disadap niranya. Yang selalu disadap adalah bunga jantan karena jumlah dan mutu hasil lebih memuaskan dibanding bunga betina. Bunga jantan lebih pendek dari bunga betina. Panjangnya sekitar 50 cm. Sedangkan bunga betina mencapai 175 cm. Bunga jantan dapat disadap pada saat sudah mengeluarkan benang sari (Anonymous, 2010a).

Tanaman aren bisa tumbuh di dataran rendah, tetapi hasil yang memuaskan diperoleh dari perkebunan yang berada antara 500-1200 meter di atas permukaan laut. Kebanyakan tanaman aren tumbuh subur di tempat-tempat yang landai seperti di lereng gunung atau tepian lembah sungai yang tidak terkena genangan air. Tanaman ini memerlukan iklim dengan suhu udara rata-rata 24 °C, sedangkan pada suhu yang lebih rendah tanaman aren lebih menyukai daerah yang curah hujannya merata sepanjang tahun, atau yang hujannya jatuh selama 7-10 bulan dalam setahun. Pohon aren adalah salah satu pohon produktif yang mampu menghasilkan aneka jenis bahan makanan dan bangunan. Bahkan dapat menghasilkan nira yang cukup potensial dibanding tebu, kelapa dan nipah. Nira aren dimasak dalam tungku sampai menjadi gula. Gula aren bisa dijadikan gula semut atau gula palm yang tak kalah mutunya dengan gula tebu dari pabrik (Mega, 2008).

Tabel 1. Komposisi kimia nira aren (Sukajaya, 2008 *cit.* Kusumanto, 2011)

Jenis Mineral	Kandungan
Total Padatan (%)	-
Sukrosa (%)	13.9 – 14.9
Karbohidrat (%)	11.28
Protein (%)	0.2
Lemak (%)	0.02
Abu (%)	0.04
Asam Askorbat (g/100 ml)	-

Nira adalah cairan yang disadap dari bunga jantan pohon aren. Cairan ini mengandung gula antara 10-15%. Nira dapat diolah menjadi minuman ringan, maupun beralkohol, sirup aren, gula aren dan *nata de arenga* (Anonymous, 2010a).

Umumnya nira terdiri dari air, sukrosa, gula reduksi, bahan organik dan inorganik. Gula reduksi terdiri atas heksosa, glukosa dan fruktosa serta mannosida dalam jumlah yang rendah sekali. Rasa manis pada nira disebabkan oleh adanya sukrosa, glukosa, fruktosa serta gula lainnya (Dachlan (1984) *cit.* Darajat (2011)).

Nira aren mudah mengalami kerusakan karena dipengaruhi oleh kondisi lingkungan selama penyadapan dan pengangkutan ke tempat pengolahan dan kerusakan akibat proses fermentasi. Fermentasi ini disebabkan oleh aktivitas enzim invertase yang dihasilkan oleh mikroba yang mengkontaminasi nira (Marsigit, 2005).

Penyadapan nira aren biasanya dilakukan pada bungan jantan yang berwarna merah kecoklatan yang menghasilkan nira yang lebih manis. Nira aren diperoleh dengan menyadap tandan bungan jantan. Tandan tersebut timbul setelah tanaman berumur 5-12 tahun. Tandan bunga yang masih muda dibungkus dengan beberapa helai kelopak bunga, sampai saat pembungkus itu pecah dan bunga mekar. Warna bunga berubah dari kuning kehijauan menjadi coklat ungu. Persiapan penyadapan nira merupakan kegiatan yang sangat penting agar diperoleh nira yang banyak dan masa penyadapan lebih lama. Kegiatan ini diawali dengan pembersihan tandan bunga

dan memukul tandan bunga berulang-ulang. Setelah itu ujung bunga jantan dipotong dan dibalut dengan ijuk, cairan nira ditampung dengan bumbung. Bumbung yang digunakan bagian dalamnya harus bersih dan steril agar nira tidak cepat asam. Hal ini dilakukan dengan air panas atau cairan nira mendidih (Mega, 2008).

Tiap tanaman disadap selama 3 tahun dan tiap tahun dapat disadap 3-4 tangkai bunga. Hasil niranya adalah 300-400 liter/musim tangkai bunga (3-4 bulan). Dalam sehari nira dapat disadap 2 kali dan menghasilkan 3-10 liter nira. Penyadapan dapat dilakukan pagi dan sore hari. Bumbung yang dipasang sore diambil pagi sedangkan yang dipasang pagi hari diambil pada sore harinya (Mega, 2008).

Tanaman aren akan mati 5 tahun setelah berbunga. Seluruh bunga betina akan masak dalam 1-3 tahun. Bunga betina yang masih muda dapat diolah menjadi kolangkaling. Dalam satu tandan, buah masak tidak serempak. Bunga betina masak mengandung 2-3 biji dengan kulit yang keras. Jumlah bunga betina berkisar antara 5-8 ribu biji per tandan. Batang aren dibungkus oleh pelepah daun dan ijuk yang melekat pada pangkal pelepah. Ijuk dapat dipanen setelah tanaman berumur 4 tahun dan terus dipanen hingga 8-10 tahun, bergantung jenis dan pertumbuhan tanaman. Batang berkulit keras yang membungkus jaringan gabus yang mengandung pati. Kandungan pati mencapai maksimum sebelum tanaman berbunga dan menurun drastis ketika tanaman disadap. Panen pati dapat dilakukan jika tanaman tidak disadap (Pribadi, 2009).

## **2.2 Tanaman Tebu (*Sachharum officinarum* L.)**

Tebu merupakan tanaman Graminae atau rumput-rumputan yang ditanam untuk bahan baku pembuatan gula. Tanaman tebu termasuk golongan tanaman yang tumbuh di daerah beriklim sedang sampai panas, yaitu terletak di antara 40° LU dan 38° LS. Selama masih dalam fase pertumbuhan, tanaman tebu membutuhkan banyak

fotorespirasinya rendah dimana sangat efisien dalam menggunakan air serta toleran terhadap lingkungan yang mengandung garam. Sebagai tanaman berbiji tunggal tanaman tebu memiliki batang yang dalam pertumbuhannya hampir tidak bertambah besar, hanya bertambah tinggi. Tanaman yang pertumbuhannya baik mencapai tinggi rata-rata 2,5-4 m, bahkan ada yang lebih dari 5 m, akan tetapi yang pertumbuhannya buruk, tingginya kurang dari 2 m. Bagian luar batang tebu berkulit keras sedangkan bagian dalamnya lunak, bagian inilah yang mengandung air gula (Yukamgo, 2007).

Ada lima spesies dari tebu yang dikenal, yaitu *Saccharum officinarum* L., *Sachharum spontaneum* L., *Saccharum barberi* Jeswiet, *Saccharum sinense* Roxb.emend. Jeswiet. dan *Sachharum robustum* Brandes et Jeswiet ex Grassl. Spesies yang paling sering dibudidayakan yaitu *Saccharum officinarum*, yang memiliki sifat batang berwarna terang, lunak, tebal, kandungan sukrosa yang tinggi, kandungan serat rendah dan daun yang lebar. Tebu jenis ini sangat peka terhadap penyakit-penyakit utama, kecuali penyakit *gummosis* (*Xantomonas vasculorum*) dan jelaga/smut (*Ustilagos citaminae*) (Lahay, 2009).

Kualitas tebu dipengaruhi oleh iklim. Walaupun tanaman yang sama namun iklim yang berbeda, maka kualitasnyapun berbeda. Secara umum persyaratan pertumbuhan tanaman tebu adalah sebagai berikut: curah hujan rata-rata 2000 mm/tahun, Untuk tanaman dataran rendah, curah hujan rata-rata 2.000 mm/tahun, sedangkan untuk dataran tinggi, curah hujan rata-rata 1.500-3.500 mm/tahun. Suhu udara yang cocok antara 21-32 °C, pH antara 5-6. Ketinggian tempat yang paling cocok adalah 0 – 900 mdpl (Listyanto, 2010).

Air gula pada batang tebu mencapai 20 % mulai dari pangkal sampai ujungnya. Kadar air gula di bagian pangkal lebih tinggi dari pada bagian ujung. Oleh karena itu pada saat pemanenan, batang tebu digali dari tanah sehingga hampir tidak ada yang tersisa. Lain halnya jika akan mengambil hasil beberapa kali maka tanaman

Tanaman kelapa membutuhkan lingkungan hidup yang sesuai untuk pertumbuhan dan produksinya. Tanaman ini tumbuh optimum pada 10° LS – 10° LU dan masih tumbuh baik pada 15° LS – 15° LU. Oleh karena itulah kelapa banyak dijumpai di daerah tropis. Kelapa tumbuh baik pada daerah dengan curah hujan 1300-2300 mm/tahun, sinar matahari minimum 120 jam/bulan atau 2000 jam/tahun, suhu 20-27 °C, ketinggian 0-450 m di atas permukaan laut, udara lembab dan tanah dengan pH 6,5 – 7,5 (Anonimous, 2011).

Banyaknya air kelapa dalam buah kelapa yang masih segar adalah berkisar antara 150 – 180 ml. Buah yang berumur kira-kira 4 – 5 bulan mengandung air yang maksimum yaitu air kelapa yang memenuhi seluruh rongga buah kelapa. Semakin tua umur buah kelapa, semakin berkurang volume air kelapanya. Hal ini disebabkan oleh kebutuhan buah kelapa untuk transpirasi dan respirasi. Tingkat kematangan buah kelapa yang paling baik diambil air kelapanya adalah umur sekitar 7 bulan dengan kandungan total padatan maksimum 6 gram / 100 ml, selanjutnya akan menurun (Kiswanto, 2004).

Air kelapa memiliki khasiat dan nilai gizi yang luar biasa. Bukan hanya unsur makro berupa nitrogen dan karbon, tetapi juga unsur mikro yang sangat dibutuhkan tubuh ada di air kelapa. Unsur nitrogen di dalamnya berupa protein yang tersusun dari asam amino, seperti alanin, sistin, arginin, alin, dan serin. Dibandingkan asam amino yang terdapat di susu sapi, asam amino yang terkandung dalam air kelapa ternyata lebih tinggi. Sementara unsur karbon dapat dijumpai dalam bentuk karbohidrat sederhana seperti glukosa, sukrosa, fruktosa, sorbitol, inositol, dan lainnya. Begitu pula dengan unsur mikro dalam air kelapa berupa mineral yang dibutuhkan sebagai pengganti ion tubuh (Ardana, 2010).

Menurut Warisno (2004) *cit.* Tampubolon (2008), Air kelapa mengandung berbagai nutrisi seperti sukrosa, dekstrosa, fruktosa serta Vitamin B kompleks. Air

kelapa mengandung vitamin C, asam nikotinat, asam folat, asam pantotenat, biotin, serta riboflavin. Tak heran jika air kelapa juga dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan tradisional sekaligus kecantikan. Di samping itu, secara khusus, air kelapa kaya akan potasium (kalium). Selain mineral, air kelapa juga mengandung gula (bervariasi antara 1,7 sampai 2,6 %) dan protein (0,07- 0,55 %). Karena komposisi gizi yang demikian ini, maka air kelapa berpotensi dijadikan bahan baku produk pangan. Air kelapa memiliki komposisi kimia yang berkhasiat untuk tubuh manusia. Komposisi kimia tersebut yaitu sebagai berikut:

Tabel 2. Komposisi Kimia Air Kelapa (Kiswanto, 2004)

Sumber	Air kelapa muda (/100g)	Air kelapa tua (/100g)
Kalori	17,0 kal	-
Protein	0,2 g	0,14 g
Lemak	1,0 g	1,50 g
Karbohidrat	3,8 g	4,60 g
Kalsium	15,0 g	-
Fosfor	8,0 g	0,5 g
Besi	0,2 g	-
Aktivitas vitamin A	0,0 IU	-
Asam askorbat	1,0 mg	-

Menurut Susanto (2010), air kelapa memiliki beberapa kelebihan dan khasiat, yaitu :

- Tidak mengandung kolesterol dan rendah lemak
- Dapat memperbaiki sirkulasi darah dan dikenal mampu membersihkan saluran pencernaan
- Tidak hanya akan membuat sistem kekebalan tubuh lebih baik, tapi juga membantu tubuh melawan beberapa jenis virus patogen
- Membantu memecah batu ginjal dan memudahkan mereka keluar dari tubuh
- Dapat menyembuhkan gangguan saluran kemih (uretra)
- Meredakan pusing karena mabuk

- Kaya akan elektrolit dan Kalium yang dapat membantu tubuh mengatur tekanan darah dan fungsi organ jantung.

Selain itu, terdapat banyak lagi manfaat dari air kelapa. Menurut Ardana (2010), air kelapa juga memiliki manfaat seperti mencegah penggumpalan susu di dalam perut bayi/anak, muntah, sembelit; melenyapkan jerawat, noda-noda hitam, kerutan pada wajah; mencegah timbulnya uban; dan masih banyak khasiat lainnya sebagai obat dan menjaga kecantikan serta kebugaran tubuh.

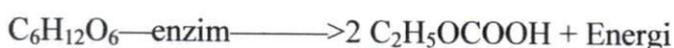
#### **2.4 Bakteri dan Fermentasi Asam Laktat**

Bakteri telah dipelajari selama kurang dari 300 tahun, dan 2 abad setelah penemuan bakteri telah diketahui segala seluk beluk tentang bakteri. Kemajuan ilmu tentang mikroorganisme terjadi pada abad ke-19. Fermentasi oleh mikroba dan mikroba patogen telah ditemukan dan pengetahuan tentang mereka dipelajari selama periode tersebut (Lyles, 1969).

Fermentasi asam laktat sudah lama ditemukan. Berbagai kebudayaan yang berbeda di tiap-tiap belahan dunia telah menggunakan fermentasi asam laktat untuk meningkatkan kualitas penyimpanan, cita rasa, dan kandungan nutrisi pada makanan yang mudah basi seperti susu, sayur, daging, ikan, kacang, dan sereal (Salminen, 1993). Proses fermentasi asam laktat sangat simpel dan hanya membutuhkan sedikit peralatan. Fermentasi merupakan sebuah proses anaerob yang melepaskan senyawa karbondioksida (Erickson, 2004).

Menurut Praweda (2010), fermentasi asam laktat yaitu fermentasi dimana hasil akhirnya adalah asam laktat. Peristiwa ini dapat terjadi di otot dalam kondisi anaerob.

Reaksinya:

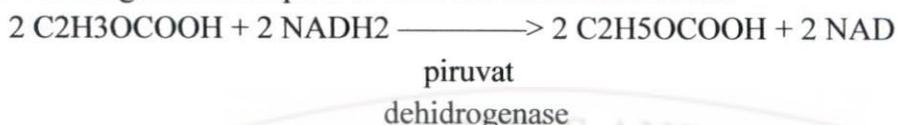


Prosesnya :

1. Glukosa  $\xrightarrow{\text{enzim}}$  asam piruvat (proses Glikolisis).



2. Dehidrogenasi asam piruvat akan terbentuk asam laktat.



Energi yang terbentuk dari glikolisis hingga terbentuk asam laktat :

$$8 \text{ ATP} - 2 \text{ NADH}_2 = 8 - 2(3 \text{ ATP}) = 2 \text{ ATP}.$$

Bakteri asam laktat merupakan organisme yang mengubah gula menjadi asam laktat. Beberapa dari bakteri asam laktat berasosiasi dengan susu fermentasi. Terdapat beberapa fakta yang mendukung bahwa beberapa bakteri asam laktat, seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup akan menunjukkan sifat mencegah penyakit (prophylactic) dan bernilai obat (therapeutic) pada manusia dan hewan (Yuan-Kun Lee, 1993).

*Lactobacillus acidophilus*, “lacto” berarti susu dan “bacillus” berarti seperti batang. *Acidophilus* berarti menyukai kondisi asam. *L. acidophilus* merupakan anggota dari Kingdom Eubacteria. Bentuknya terdiri dari batang dengan tepi membulat. Menurut Bergeys, ukurannya sekitar 6 – 9 x 1.5  $\mu$ . *L. acidophilus* termasuk ke dalam Gram positif. Bakteri ini hidup pada kondisi asam dan tumbuh paling baik pada suhu 45° Celsius (Kwantes, 1998).

*L. acidophilus* ditemukan pada lingkungan yang berbeda di seluruh dunia. Khususnya ditemukan di dalam bahan makanan seperti produk susu, padi-padian, daging dan ikan. Selain itu, juga ditemukan dalam saluran usus dan sepanjang saluran pencernaan dari mulut untuk membantu pencernaan. Selama fermentasi, bakteri ini akan menghasilkan asam laktat dan asetat (Kwantes, 1998).

*Bifidobacterium* termasuk ke dalam bakteri Gram positif, tidak bergerak dan tumbuh secara anaerob. Bakteri ini merupakan mikroba alami yang hidup pada usus manusia dan hewan berdarah panas. Mereka memainkan peranan yang sangat penting dalam mengontrol pH di usus besar melalui pelepasan laktat dan asam asetat, yang menekan pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri pembusuk. *Bifidobacterium* juga dipercaya memiliki sifat antikarsinogenik. Dengan efek *therapeutic* itu, *Bifidobacterium* semakin banyak digunakan dalam biakan susu, minuman, produk-produk keju, biskuit, makanan kesehatan, dan susu bubuk. *Bifidobacterium* merombak karbohidrat melalui jalur *fructose-6-phosphate phosphoketolase* (F6PPK), yang memecah *fructose-6-phosphate* menjadi *acetylphosphate* dan *erythrose-4-phosphate*. Sampai kemudian dihasilkan produk akhir berupa laktat dan asetat dengan perbandingan 2:3. Laktat dan asetat merupakan senyawa inhibitor yang menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat dalam proses fermentasi (Her, 2004). *Bifidobacterium* akan tumbuh paling lambat pada pH 4.5 dan akan tumbuh paling cepat pada pH 5.5-6.0 (Garro, 2005).

## 2.5 Probiotik

Konsep probiotik dikembangkan dari sebuah teori autointoksikasi yang dikemukakan oleh seorang ilmuwan Rusia penerima Nobel Biologi tahun 1908 yaitu Elie Metchnikoff. Menurutnya secara perlahan pembusukan (putrefeksi) oleh bakteri dalam usus besar menghasilkan senyawa-senyawa beracun yang memasuki peredaran darah, yang disebut sebagai proses "autointoksikasi". Proses inilah yang menyebabkan penuaan dan beberapa penyakit-penyakit degeneratif. Dia meyakini bahwa tingginya usia hidup warga suku-suku pegunungan di Bulgaria merupakan hasil dari konsumsi produk susu fermentasi. Bakteri yang ikut dikonsumsi bersama produk tersebut dan kemudian mampu tinggal di usus berpengaruh positif terhadap

Bakteri probiotik yang beredar di pasaran umumnya dari golongan bakteri asam laktat (BAL), khususnya dari genus *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Adanya klaim menyehatkan telah memicu perburuan strain BAL dari berbagai sumber alami, seperti saluran pencernaan manusia dan hewan serta makanan terfermentasi secara tradisional (Sujaya, 2008).

Agar suatu mikroorganisme menjadi probiotik yang efektif dalam memberi efek kesehatan maka disyaratkan: berasal dari manusia (human origin), stabil terhadap asam maupun cairan empedu, dapat menempel pada intestin manusia, dapat berkolonisasi di saluran pencernaan manusia, memproduksi senyawa antimikroba, dapat melawan bakteri patogenik dan kariogenik, telah teruji secara klinis dan aman dikonsumsi, serta tetap hidup selama pengolahan dan penyimpanan. Selain itu konsumsi harus dilakukan secara teratur sebanyak 100-150 ml produk (berisi  $10^6$ /ml bakteri hidup) setiap 2 atau 3 kali seminggu. Beberapa probiotik yang berkaitan dalam menekan kanker kolon disajikan pada tabel berikut ini.

Tabel 3. Bakteri Probiotik dan Efek Perlindungannya terhadap Kanker Kolon (Prangdimurti, 2001).

Galur	Efek klinis yang telah dilaporkan
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA1 ( <i>Lactobacillus johnsoni</i> )	Dapat menempel pada sel intestinal manusia, menyeimbangkan mikroflora, memperkuat imunitas
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFB 1748	Menurunkan aktivitas enzim fekal, menurunkan mutagenisitas di fekal, melindungi diare karena radioterapi, memperbaiki konstipasi
<i>Lactobacillus</i> GC (ATC 53013)	Melindungi diare karena antibiotik, rotavirus diare akut, melawan bakteri kariogenik, memperkuat barier saluran pencernaan.
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM	Menurunkan aktivitas enzim fekal, aktivitas laktase tinggi, pengobatan intoleransi laktosa, produksi bakteriosin.
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Melindungi gangguan intestinal,

### III. PELAKSANAAN PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juli 2011 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

#### 3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen yang dianalisa secara deskriptif terhadap perkembangan bakteri probiotik dengan 2 faktor perlakuan yaitu faktor A (media fermentasi) dan faktor B (lama fermentasi, yaitu selang waktu 6 jam dalam 48 jam) dan 2 ulangan. Berikut ini penjabaran masing-masing faktor:

Faktor A: Media fermentasi

- A1 : Nira Aren
- A2 : Nira Tebu
- A3 : Air Kelapa

Faktor B : Lama fermentasi

- B0 : 0 jam
- B1 : 6 jam
- B2 : 12 jam
- B3 : 18 jam
- B4 : 24 jam
- B5 : 30 jam
- B6 : 36 jam
- B7 : 42 jam
- B8 : 48 jam

Kombinasi perlakuannya yaitu :

$A_1B_1$   $A_1B_2$   $A_1B_3$   $A_1B_4$   $A_1B_5$   $A_1B_6$   $A_1B_7$   $A_1B_8$   $A_1B_9$   
 $A_2B_1$   $A_2B_2$   $A_2B_3$   $A_2B_4$   $A_2B_5$   $A_2B_6$   $A_2B_7$   $A_2B_8$   $A_2B_9$   
 $A_3B_1$   $A_3B_2$   $A_3B_3$   $A_3B_4$   $A_3B_5$   $A_3B_6$   $A_3B_7$   $A_3B_8$   $A_3B_9$

### 3.3 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: gelas, wadah plastik, gelas ukur, *testube*, *petridish*, pipet, erlenmeyer, *hot plate*, *autoclave*, timbangan, botol film, botol air mineral isi 250 ml, *colony counter*, pH meter, pipet 10 ml, gelas, kain belacu, lampu spiritus, kertas label, spidol permanen, batang pengaduk, *freezer*, dan *vortex*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : glukosa, *trypton*, agar,  $CaCO_3$ , *Natural Yoghurt Plain*, tisu steril, aquadest, air steril, nira aren, nira tebu dan air kelapa.



Gambar 4. Natural Yoghurt Plain yang digunakan untuk pembuatan starter

### 3.4 Cara Kerja

#### 3.4.1 Skema Kerja

Skema kerja dapat dilihat pada lampiran 1.

#### 3.4.2 Sterilisasi alat dan bahan

Disiapkan erlenmeyer, kapas, *tissue*, *petridish*, *testube*, aquadest, nira aren, air kelapa dan nira tebu. Setelah itu dimasukkan ke dalam autoclave untuk disterilkan dengan suhu 121° C dan tekanan 15 lbs. Sementara untuk gelas, disterilkan dengan uap panas ± 30 menit dalam keadaan terbalik. Kemudian langsung ditutup dengan kain belacu dan koran (Maisyah, 2009).

#### 3.4.3 Medium GTA

Medium yang digunakan yaitu Glucose Tryptose Agar (GTA). Ditimbang Glukosa sebanyak 20 g, Tripton 1 g, agar 20 g dan CaCO<sub>3</sub> 15 g. Kemudian dicukupkan dengan aquadest sampai 1 liter (1000 mL). Setelah homogen kemudian disterilkan dengan menggunakan autoclave (suhu 121° C, tekanan 15 lbs) (Lichstein, 1944).

#### 3.4.4 Pembuatan Starter

Pembuatan starter bertujuan untuk pengaktifan mikroba, adaptasi dan perbanyak populasi. *Natural Yoghurt Plain* dimasukkan ke dalam nira tebu steril yang sudah dicampur dengan aquadest (konsentrasi 1:1) dengan konsentrasi 50%. Larutan ini kemudian ditutup dengan menggunakan kain belacu dan diikat dengan karet. Kemudian didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar dan disebut starter 1. Setelah itu, starter 1 dimasukkan ke dalam nira tebu murni steril dengan konsentrasi 20 %. Kemudian didiamkan selama 24 jam dan disebut dengan starter 2. Setelah itu diukur pH, jumlah populasi, dan kadar gula pada starter 2.

#### 3.4.5 Pembuatan Minuman Probiotik

Sementara menunggu starter, disiapkan nira aren, nira tebu dan air kelapa. Kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 lbs. Starter tersebut dimasukkan masing-masing 5% ke dalam nira aren, nira tebu dan air

kelapa. Kemudian diamati setiap 6 jam selama 48 jam. Setiap 6 jam tersebut, dilakukan pencuplikan masing-masing perlakuan untuk mengamati jumlah populasi (dengan pengenceran), kadar gula dan pH. Sedangkan untuk organoleptik dilakukan secara serentak untuk semua perlakuan pada jam ke 48 (setelah selesai pengamatan).

#### 3.4.6 Penghitungan Total Bakteri Probiotik

Pada setiap pencuplikan selama 48 jam, dilakukan pengenceran pada masing-masing sampel hingga tingkat pengenceran  $10^{-13}$  yang telah dioptimasi sebelumnya. Kemudian diambil 1 ml dari tiap-tiap pengenceran dan dimasukkan ke dalam *petridish* steril, lalu dituangkan medium GTA steril, digoyang sampai dirasa rata dan homogen dengan sampel pengenceran dan dibiarkan beku. Selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar dandiamati sampai terbentuk koloni probiotik. Koloni probiotik dihitung dengan *Colony Counter* dan didapatkan total probiotik dengan mengalikan dengan tingkat pengenceran. Seterusnya, penghitungan total probiotik dilakukan setiap 6 jam selama 48 jam, kemudian dituangkan dalam bentuk kurva pertumbuhan probiotik (Steinberg *et al.*, 2006).

#### 3.4.7 Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan pada akhir pengamatan dengan menggunakan pH meter. Perubahan keasaman selama fermentasi distandarkan dengan larutan *buffer*, kemudian elektroda pH meter dicuci dengan aquadest steril dan dicelupkan ke sampel. Selanjutnya angka tingkat keasaman sampel akan tertera pada pH meter (Anonimous, 2006).

#### 3.4.8 Pengukuran Kadar Gula

Kadar gula diukur dengan menggunakan refraktometer pada akhir pengamatan. Diambil satu tetes sampel kemudian diletakkan di permukaan kaca refraktometer.

Selanjutnya diterawang mengarah ke sumber cahaya dan diamati skala refraktometer. Kadar gula dinyatakan dengan persen, didapat dengan melihat pada skala berapa terlihat perbatasan antara daerah yang putih dan daerah yang berwarna (Schmidt dan Haensch, 2006).

#### 3.4.9 Uji Organoleptik

Untuk uji organoleptik dilakukan pada akhir pengamatan dengan 15 orang panelis yang mengerti dengan rasa ketiga cairan fisiologis. Penilaian dilakukan terhadap rasa. Taraf organoleptik diukur dalam empat skala hedonik antara 1-4. Tiap panelis diberikan blanko penilaian (terlampir) dan diminta mengisi sesuai dengan penilaian untuk masing-masing sampel. Selanjutnya data uji organoleptik akan diolah secara statistik dengan Uji Jenjang Bertanda Wilcoxon (Wilcoxon Signed Rank Tested), (Djarwanto, 1983).

#### 3.4.10 Pengamatan

##### 3.4.10.1 Nilai pH

Pengukuran pH dilakukan pada akhir pengamatan dengan menggunakan pH meter.

##### 3.4.10.2 Total Bakteri Probiotik

Penghitungan total bakteri probiotik dilakukan dengan menggunakan *Colony Counter* dan dilakukan setelah terlihat koloni probiotik yang dapat dihitung.

##### 3.4.10.3 Kadar Gula

Pengukuran kadar gula dilakukan pada akhir pengamatan dengan menggunakan refraktometer.

#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai perkembangan bakteri probiotik dan nilai organoleptik minuman probiotik dari media nira aren, nira tebu dan air kelapa, maka didapatkan hasil sebagai berikut:

##### 4.1 Kondisi awal sebelum fermentasi

Nira aren, nira tebu dan air kelapa merupakan cairan tumbuhan yang memiliki sifat fisik manis, segar dan enak. Dalam keadaan segar (tanpa diolah terlebih dahulu), nira aren memiliki aroma yang khas bila dicium. Nira tebu memiliki rasa manis yang khas, sedangkan air kelapa terkenal dengan kesegarannya. Spesifikasi masing-masing cairan tersebut yang manis, segar dan enak tersebut menjadikannya dapat diminum langsung tanpa adanya pengolahan terlebih dahulu. Namun alangkah lebih baik jika cairan tersebut diolah lagi, misalnya dengan fermentasi. Oleh karena sifatnya yang manis, nira aren, nira tebu dan air kelapa cocok dijadikan sebagai media pertumbuhan probiotik alternatif. Kandungan gula yang terdapat pada masing-masing cairan tersebut dapat dijadikan media penggandaan populasi probiotik. Selain itu, dengan adanya fermentasi probiotik pada media nira aren, nira tebu dan air kelapa ini, akan menghasilkan jenis minuman yang baru.

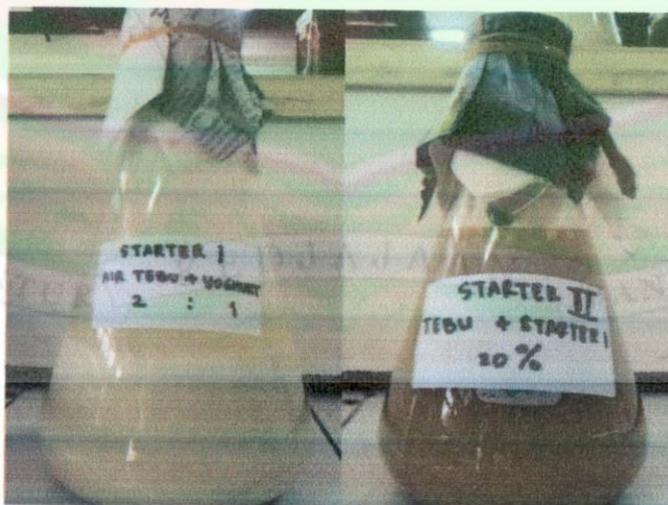
Kondisi awal masing-masing media fermentasi dapat dilihat pada tabel 4 berikut ini:

Tabel 4. Kondisi awal media sebelum fermentasi

No.	Media	Nilai pH	Kadar Gula (%Brix)
1	Nira Aren	6,38	14,00
2	Nira tebu	5,35	15,10
3	Air Kelapa	5,43	5,60

Berdasarkan Tabel 4, dapat dilihat bahwa nilai pH media sebelum fermentasi berkisar antara 5,43 – 6,38 dengan nilai pH tertinggi 6,38 pada nira aren dan terendah 5,43 pada air kelapa, serta jumlah kadar gula berkisar antara 5,60 - 15,00 dengan kadar gula tertinggi 15,00 pada nira tebu dan terendah 5,60 pada air kelapa. Dari kisaran tersebut, bakteri probiotik dapat hidup dan memfermentasi media menjadi minuman probiotik. Hal ini sesuai dengan pernyataan Rahayu (1995, *cit.* Nur, 2009) bahwa derajat keasaman optimum untuk pertumbuhan bakteri asam laktat berkisar antara 3,8 – 8,0.

Starter yang digunakan untuk ditambahkan pada media fermentasi adalah nira tebu yang telah disterilkan dan yoghurt rasa plain. Pembuatan starter bertujuan untuk pengaktifan bakteri probiotik, adaptasi dan perbanyak populasi. Starter 1 yang diinkubasi selama 24 jam dipindahkan ke nira tebu steril yang baru (starter 2). Pemandahan starter bertujuan untuk penggandaan populasi dan memperbaharui bakteri probiotik sehingga nantinya didapatkan bakteri probiotik yang adaptif.



(a)

(b)

Gambar 5. Starter yang dipersiapkan untuk fermentasi minuman probiotik; a (Starter 1), b (Starter 2)

Dari Gambar 5 terlihat bahwa pada starter 1 yoghurt terlihat masih kental dan dikhawatirkan nantinya bakteri probiotik akan sulit beradaptasi pada media nira tebu, nira aren dan air kelapa yang diketahui memiliki keasaman yang lebih rendah dari media sebelumnya. Oleh karena itu, starter 1 dipindahkan sebanyak 20% ke dalam nira tebu steril sehingga bakteri probiotik pada starter dapat lebih mudah beradaptasi saat dimasukkan ke dalam media fermentasi. Total probiotik, nilai pH dan kadar gula pada starter 2 dapat dilihat pada Tabel 5.

Dari Tabel 5 terlihat bahwa di dalam starter didapatkan total probiotik sebanyak  $330 \times 10^8$  cfu/ml dengan pH 4,62 dan kadar gula 10,2 % Brix. Hal ini berarti telah terjadi aktivitas fermentasi oleh bakteri probiotik yang ditandai dengan penurunan pH dan kadar gula nira tebu oleh probiotik selama fermentasi starter. Penurunan pH yang terjadi pada starter serta jumlah probiotik yang banyak akibat penggandaan populasi akan mengurangi terjadinya kontaminasi oleh bakteri lain. Menurut Burows *et al.* (1963, *cit.* Nurhidayati, 2003), aktivitas metabolisme starter akan mengubah gula menjadi asam laktat. Penurunan pH dan kadar gula disebabkan oleh asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Seperti yang dikatakan oleh Gaudy and Gaudy (1981, *cit.* Nurhidayati, 2003) bahwa perubahan dari gula menjadi asam laktat menyebabkan penurunan kadar gula dan pH pada media fermentasi.

Tabel 5. Total bakteri probiotik, nilai pH dan kadar gula *Starter* 2 setelah inkubasi.

No.	Starter	
1.	Total bakteri probiotik	$330 \times 10^8$ cfu/ml
2.	Nilai pH	4,62
3.	Kadar gula	10,2 % Brix

medium cair untuk pertumbuhan bakteri-bakteri asam laktat dalam penyimpanan bakteri-bakteri asam laktat pada suatu bank mikroba.

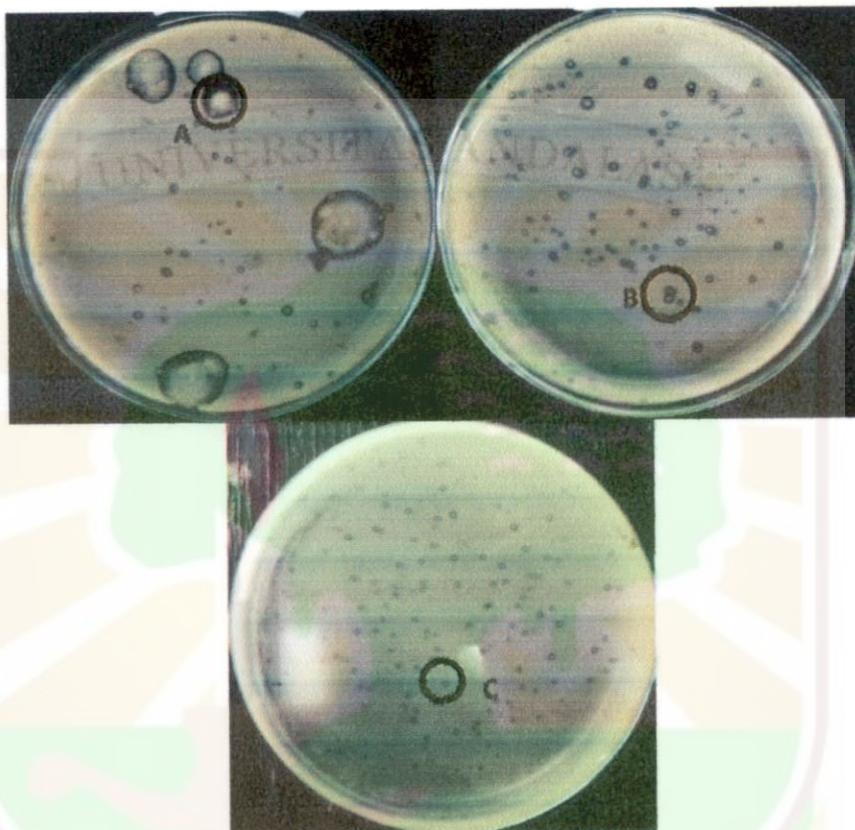
Penghitungan bakteri probiotik dilakukan dengan pencuplikan setiap 6 jam sekali selama 48 jam fermentasi. Perkembangan total jumlah probiotik selama fermentasi dapat dilihat pada Lampiran 2. Sementara grafik profil pertumbuhan bakteri probiotik pada masing-masing media fermentasi dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Profil kurva pertumbuhan probiotik dalam beberapa media fermentasi selama 48 jam

Dari grafik pertumbuhan tersebut terlihat bahwa fase log total bakteri probiotik pada masing-masing media fermentasi memperlihatkan jumlah yang berbeda. Jumlah rata-rata probiotik tertinggi terdapat pada nira aren ( $45,35 \times 10^{13}$  cfu/ml, nilai log = 14,66), diikuti oleh nira tebu ( $34,50 \times 10^{12}$  cfu/ml, nilai log = 14,54), dan yang terakhir yaitu air kelapa ( $4,29 \times 10^{13}$  cfu/ml, nilai log = 13,63). Dari total jumlah bakteri probiotik yang terdapat pada masing-masing media selama waktu fermentasi yang optimum tersebut, maka dapat dilihat bahwa ketiga media dapat dijadikan minuman probiotik. Efek probiotik pada suatu makanan dapat dipertahankan apabila dalam makanan tersebut minimal mengandung jumlah

aren, nira tebu dan air kelapa, maka bakteri asam laktat lebih menyukai gula pada nira aren.



Gambar 8. Makroskopis bakteri probiotik pada masing-masing media fermentasi pada jam ke-24; A (nira aren), B (nira tebu), C (air kelapa)

Dari grafik juga diketahui bahwa aktivitas pertumbuhan bakteri probiotik berbeda pada masing-masing media fermentasi. Pada air kelapa, kurva pertumbuhan bakteri probiotik mencapai fase log lebih cepat daripada nira aren dan nira tebu. Berarti, pada air kelapa bakteri probiotik membutuhkan fase adaptasi yang lebih cepat daripada kedua media lainnya. Hal ini disebabkan oleh tingkat keasaman (pH) pada air kelapa lebih tinggi daripada nira aren dan nira tebu, sehingga bakteri asam laktat tidak memerlukan waktu lama untuk beradaptasi dengan media air kelapa. Bakteri asam laktat mempunyai kemampuan untuk bereaksi lebih cepat untuk

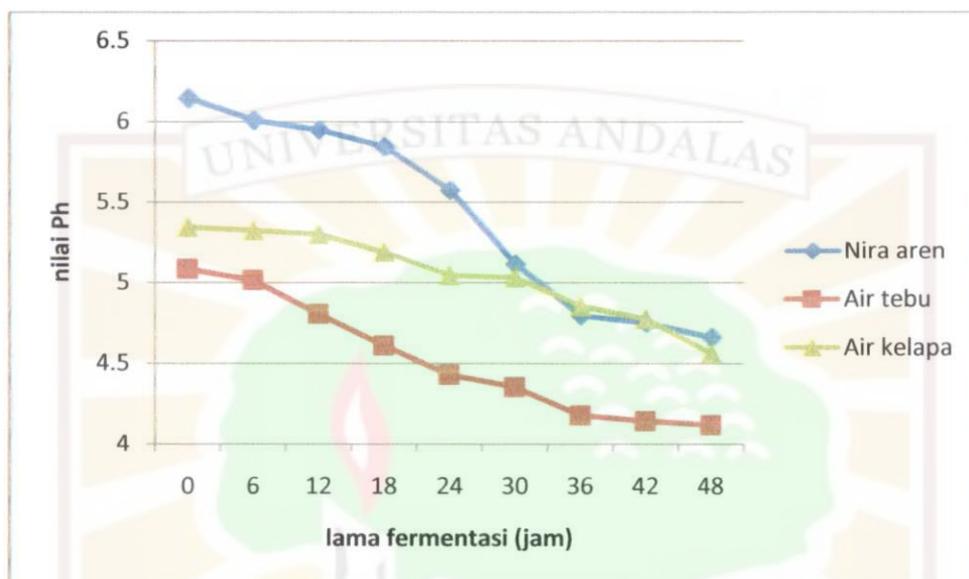
menghadapi stress asam (Lunggani, 2007). Namun secara keseluruhan, bakteri probiotik dapat hidup dengan baik pada ketiga media tersebut. Hal ini dibuktikan dengan tingginya total bakteri probiotik pada ketiga media setelah mencapai fase stasioner. Seperti yang dijelaskan oleh Schlegel and Schmidt (1994), bakteri yang ditumbuhkan pada suatu media yang memiliki nutrisi cukup dan kondisi lingkungan yang relevan akan terus tumbuh sampai salah satu faktor mencapai minimum dan pertumbuhannya menjadi terbatas.

#### 4.2.2 Nilai pH

Penurunan tingkat keasaman (pH) terjadi selama fermentasi oleh bakteri probiotik berlangsung. Grafik perkembangan nilai pH dapat dilihat pada Gambar 9. Perkembangan nilai pH selama fermentasi disajikan dalam bentuk tabel (lampiran 3). Kisaran pH pada ketiga media selama fermentasi berkisar antara 4,12-6,15. Penurunan asam yang paling kentara terdapat pada nira aren yaitu sebanyak 1,49. Selanjutnya pada nira tebu 0,96 dan penurunan pH terendah terdapat pada air kelapa sebanyak 0,79. Dapat dilihat bahwa semakin lama, maka nilai pH juga akan semakin turun pada ketiga media fermentasi. Penurunan pH ini disebabkan oleh asam laktat yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang berasal dari penambahan starter pada masing-masing media fermentasi.

Bakteri-bakteri probiotik mengubah gula menjadi asam laktat yang derajat keasamannya lebih rendah. Proses fermentasi oleh bakteri asam laktat di samping meningkatkan kadar asam laktat, juga meningkatkan keasaman substrat. Dengan meningkatnya jumlah asam yang diekskresikan oleh bakteri asam laktat karena proses akumulasi asam dalam substrat, maka akan meningkatkan keasaman substrat. Peningkatan akumulasi asam dalam substrat ini dapat diketahui dengan penurunan pH substrat (Widowati, 2002). Bakteri asam laktat merupakan mikroba yang

mempunyai kemampuan dalam menciptakan respon terhadap keasaman medium. Perubahan pH merupakan suatu fungsi dari ketersediaan nutrisi dan metabolit yang dihasilkan selama pertumbuhan yang terdapat dalam medium (Lunggani, 2007).



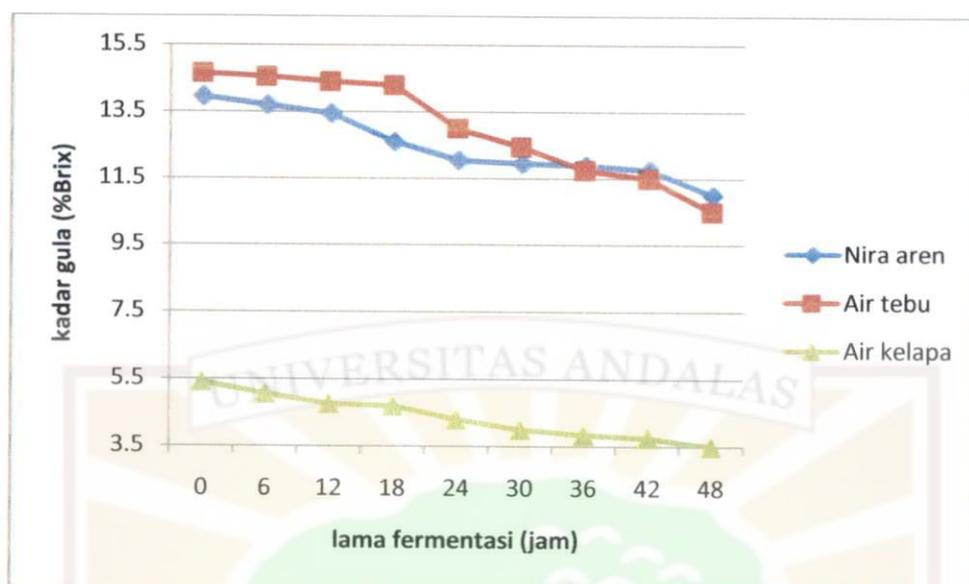
Gambar 9. Profil perkembangan nilai pH minuman probiotik selama fermentasi pada media nira aren, nira tebu dan air kelapa

Penurunan pH yang terus menerus selama fermentasi berlangsung oleh bakteri asam laktat yang meningkatkan keasaman media, tentu saja akan mengakibatkan rasa yang asam pada media. Seperti yang diungkapkan oleh Hosono *et al.* (1985, *cit.* Pato, 2003) bahwa penurunan pH yang terjadi menyebabkan rasa yang agak asam karena terbentuknya asam laktat sebagai produk utama hasil metabolisme asam laktat.

Penurunan pH erat kaitannya dengan jumlah populasi. Hal ini dapat terlihat dari menurunnya jumlah bakteri probiotik pada akhir fermentasi secara drastis. pH akhir yang lebih asam akan mengakibatkan berkurangnya jumlah probiotik karena banyaknya jumlah asam pada media sehingga berakibat kematian bagi generasi selanjutnya. Asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat itu sendiri akan

Dari kurva pada Gambar 10 tersebut, terlihat adanya penurunan kadar gula pada masing-masing media selama proses fermentasi. Penurunan kadar gula terbesar terjadi pada media nira tebu sebanyak 4,15 % Brix. Selanjutnya terjadi pada nira aren yaitu 2,95 % Brix dan penurunan kadar gula terendah yaitu pada air kelapa sebanyak 1,9 % Brix. Pengurangan kadar gula ini terjadi akibat perombakan oleh bakteri probiotik yang ditambahkan pada starter. Bakteri asam laktat mengubah gula pada masing-masing media fermentasi menjadi asam laktat sehingga semakin lama fermentasi, maka kadar gula akan semakin menurun. Bakteri asam laktat memanfaatkan gula yang ada dalam media fermentasi untuk pertumbuhannya. Hal ini dapat dibandingkan kadar gula reduksi yang terkandung dalam substrat fermentasi mengalami perubahan. Perubahan kadar gula reduksi karena gula reduksi digunakan oleh bakteri asam laktat untuk pertumbuhannya. Kadar gula reduksi dalam substrat akan semakin berkurang atau menurun konsentrasinya. Penggunaan gula yang ada dalam substrat untuk pertumbuhan bakteri asam laktat ini dapat terlihat dengan meningkatnya kerapatan sel bakteri asam laktat pada substrat. Pemecahan gula dalam sel bakteri asam laktat menghasilkan energi untuk aktivitas bakteri tersebut akan menghasilkan senyawa lain termasuk asam laktat (Widowati, 2002).

Dari Gambar terlihat bahwa penurunan kadar gula terbanyak terdapat pada nira tebu sebanyak 4,15 %, selanjutnya pada nira aren sebanyak 2,95 %, dan penurunan kadar gula terendah terdapat pada air kelapa sebanyak 1,9 %. Penurunan kadar gula yang terjadi pada nira aren dan nira tebu tidak selaras dengan penurunan pH. Hal ini dapat terjadi karena penggunaan gula oleh bakteri bukan semata hanya untuk penurunan pH (menghasilkan asam), tapi juga digunakan untuk pertumbuhannya.



Gambar 10. Profil perkembangan kadar gula sisa pada masing-masing media selama fermentasi

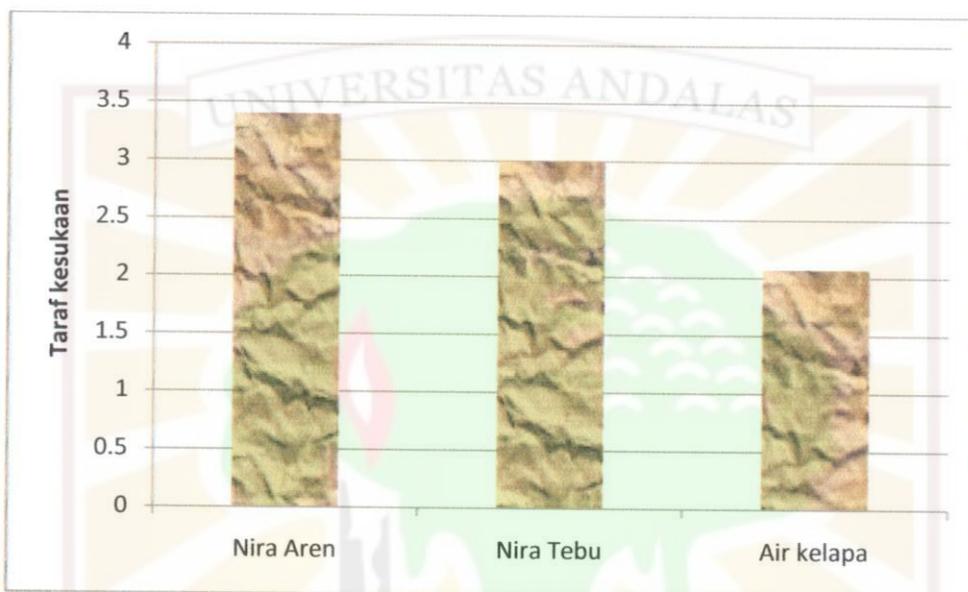
Selain itu besar kemungkinan pada nira tebu terdapat senyawa-senyawa yang menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga menyebabkan jumlah total probiotik pada nira tebu lebih sedikit daripada nira aren. Di samping itu, juga dapat dilihat kadar gula sisa tertinggi pada akhir fermentasi terdapat pada media nira aren sebanyak 11 % Brix, diikuti oleh nira tebu 10,5 % Brix dan kadar gula sisa terendah terdapat pada air kelapa, yaitu 3,5 % Brix. Hal ini berarti telah terjadi penurunan kadar gula karena gula tersebut telah dirombak menjadi senyawa lain oleh bakteri asam laktat. Sesuai dengan pernyataan Nur (2009), bahwa penurunan kadar gula reduksi di akhir fermentasi mengindikasikan terbentuknya metabolit sekunder yang ditunjukkan oleh perbedaan pH selama fermentasi.

#### 4.3 Produk Minuman probiotik

##### 4.3.1 Nilai Organoleptik

Nilai organoleptik telah diuji dengan menggunakan skala hedonik / kesukaan pada 15 panelis yang mengetahui rasa nira aren, nira tebu dan air kelapa agar panelis dapat memberikan penilaian yang akurat. Skala yang digunakan adalah 1 sampai dengan 4

Setelah dilakukan pengujian terhadap rasa dari masing-masing minuman probiotik, dianalisis secara statistik dengan menggunakan Uji Jenjang Bertanda Wilcoxon (Wilcoxon's Signed Range Test) terhadap rasa produk yang dihasilkan.



Gambar 12. Histogram rata-rata nilai organoleptik minuman probiotik setelah 48 jam fermentasi

Rata-rata nilai organoleptik dan hasil analisa tersebut disajikan pada tabel 6 dan tabel 7, serta histogram rata-rata nilai organoleptik. Pada histogram, terlihat bahwa nilai organoleptik terhadap rasa berkisar antara 2,07 – 3,40 yakni antara agak suka hingga suka. Hal ini berarti tingkat kesukaan terhadap ketiga produk minuman probiotik relatif tinggi terhadap rasa dari minuman probiotik tersebut.

Tabel 7. Hasil Analisis Statistik terhadap Rasa Minuman Probiotik dengan Uji Jenjang Bertanda Wilcoxon

Perlakuan	J Hitung	Jumlah Jenjang	J Tabel (0,05)	Keterangan
A dengan B	16,5	11	11	J Hit > J(0,05) Berbeda nyata
A dengan C	5	13	17	J Hit < J(0,05) Tidak berbeda nyata
B dengan C	8	11	11	J Hit < J(0,05) Tidak berbeda nyata

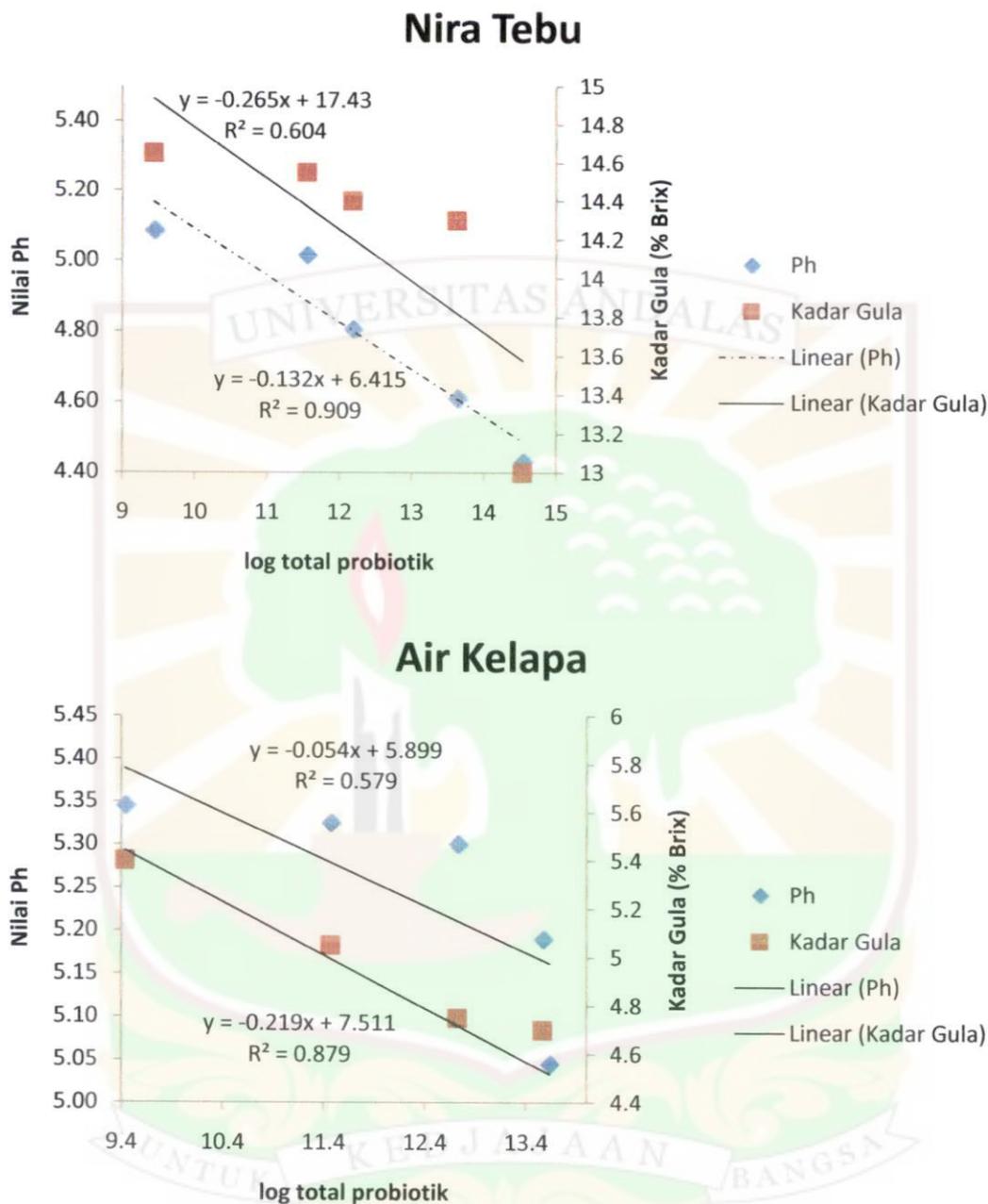
Keterangan : A: Nira Aren; B: Nira tebu; C: Air Kelapa

Dari tabel analisis Uji Jenjang Bertanda Wilcoxon terlihat bahwa penilaian organoleptik terhadap rasa antara nira aren dengan nira tebu perlakuannya berbeda nyata. Namun penilaian organoleptik antara nira aren dengan air kelapa dan antara nira tebu dengan air kelapa tidak berbeda nyata.

Variasi penilaian dari masing-masing panelis, setelah digabungkan akan menjadi suatu data terhadap rasa produk minuman probiotik. Dari data penilaian organoleptik yang telah diakumulaskan, maka secara keseluruhan dapat dikatakan panelis menyukai minuman probiotik dari nira aren, nira tebu dan air kelapa. Rasa yang dihasilkan merupakan perpaduan dari rasa media asli dengan asam laktat serta senyawa-senyawa lain yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat selama proses fermentasi. Kolaborasi dari senyawa-senyawa tersebut dalam jumlah komposisi yang tepat akan menghasilkan rasa yang disukai oleh panelis maupun masyarakat umum lainnya. Hal ini selaras dengan Widowati (2002) yang menyatakan bahwa meningkatnya asam dalam substrat akan memberikan flavor pada substrat, dan Suryono (2003) bahwa bakteri asam laktat berperan dalam pembentukan tekstur dan citarasa.

#### 4.3.2 Resume Produk Minuman Probiotik Nira Aren, Nira tebu dan Air Kelapa setelah Fermentasi Selama 48 Jam

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa keberhasilan proses fermentasi pada pembuatan minuman probiotik dari nira aren, nira tebu dan air kelapa sangat tergantung pada bakteri probiotik (starter), keasaman, kadar gula dan organoleptik dari produk tersebut. Dari data-data yang didapatkan, maka dapat dilihat bahwa lama fermentasi berkaitan dengan jumlah total bakteri probiotik, nilai pH serta kadar gula sisa dari produk yang berimbang pada nilai organoleptik masing-masing produk itu sendiri. Resume akhir dari produk minuman probiotik nira aren, nira tebu dan air kelapa dapat dilihat pada Tabel 8 berikut ini:



Gambar 13. Regresi antara total probiotik dengan nilai pH dan kadar gula pada masing-masing media fermentasi

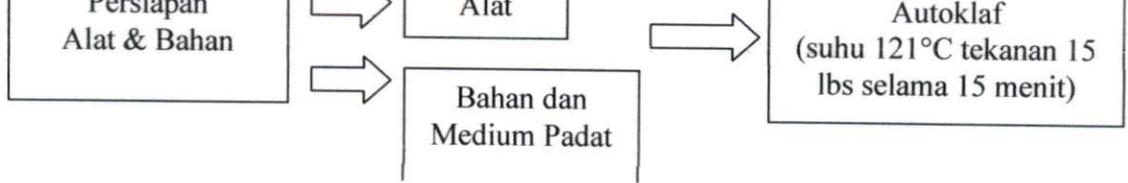
Pada Gambar 13 terlihat bahwa terdapat hubungan korelasi antara total probiotik dengan kadar gula dan nilai pH pada masing-masing media fermentasi. Hal ini terlihat dengan persamaan regresi ( $y = ax + b$ ) yang dibentuk pada masing-masing

## DAFTAR KEPUSTAKAAN

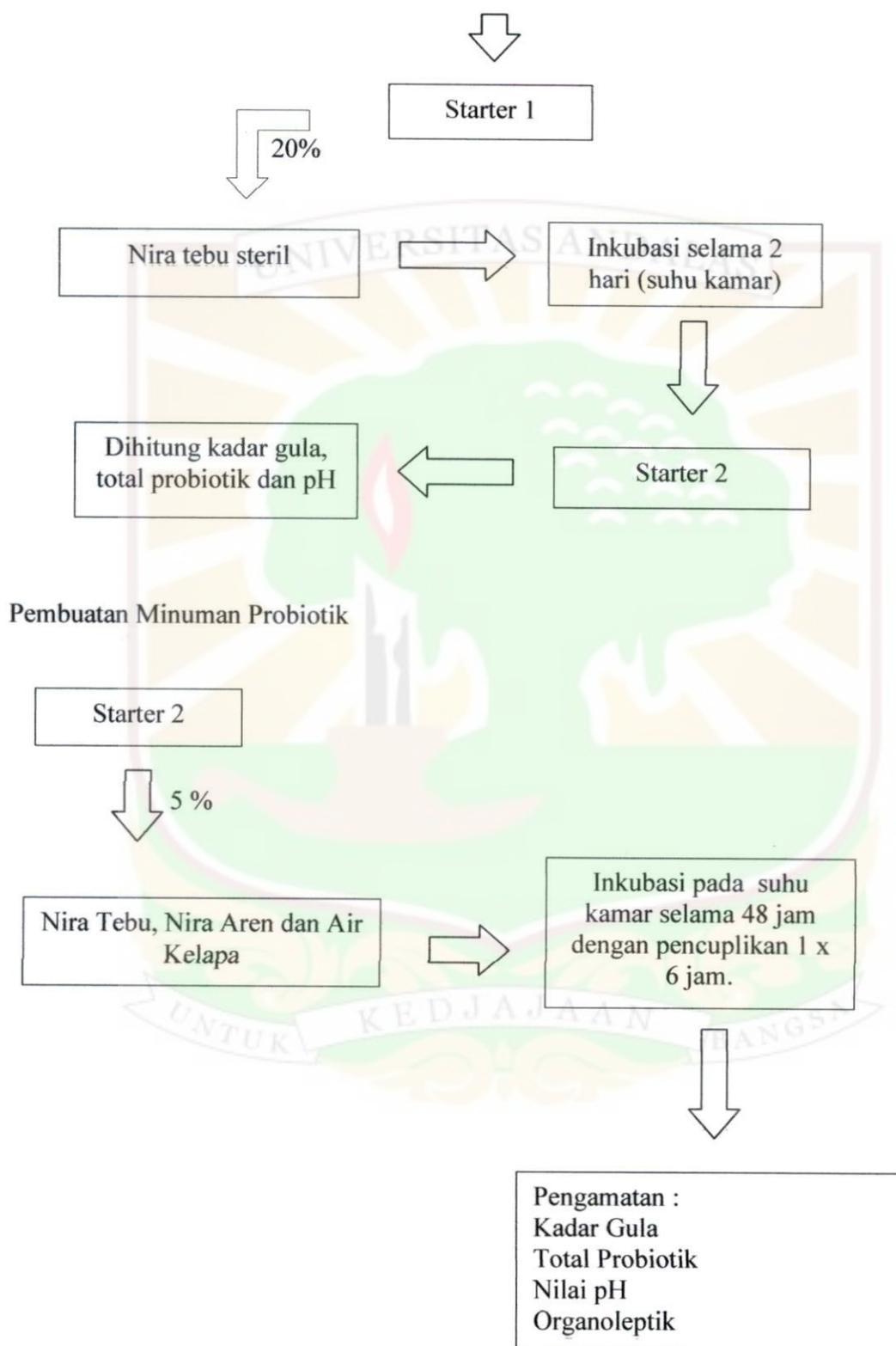
- Anonimous. 2006. *Kimia*. <http://books.google.co.id>. 22 Maret 2011.
- \_\_\_\_\_. 2007. *Probiotik dari Tapai Ketan*. <http://www.republika.co.id>. 30 Januari 2007.
- \_\_\_\_\_. 2009. *Pengolahan Gula Tebu*. <http://lordbroken.wordpress.com>. 15 Januari 2011.
- \_\_\_\_\_. 2010a. *Menyadap Pohon Aren*. <http://arenindonesia.wordpress.com>. 9 November 2010.
- \_\_\_\_\_. 2010b. *Kelapa (Cocos nucifera Linn)*. <http://forum.um.ac.id>. 13 Januari 2011.
- \_\_\_\_\_. 2011a. *Budidaya Kelapa*. <http://www.dekindo.com>. 2 Januari 2011.
- \_\_\_\_\_. 2011b. *Tryptone Glucose Extrac Agar*. <http://www.arb-ls.com>. 24 Maret 2011.
- Ardana, A. 2010. *Manfaat Air Kelapa Muda bagi Penyembuhan Racun dan Jerawat*. <http://www.agusta27.info>. 2 Januari 2011.
- Chaniago, A. 2010. *Mikroflora Alami pada Fermentasi Asam Durian Secara Spontan*. Skripsi Sarjana Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Andalas. Padang.
- Djarwanto, P. S. 1983. *Statistik Non Parametrik*. BPFE. Yogyakarta.
- Darojat, D. 2011. *Penggunaan Briket Batubara dalam Pengolahan Gula Merah Cetak dan Pengolahan Gula Merah Pasta dari Nira Aren (Arenga pinnata Merr.)*. 2 Oktober 2011.
- Effendi, D. S. 2010. *Prospek Pengembangan Tanaman Nira Aren (Arenga pinnata Merr) Mendukung Kebutuhan Bioetanol di Indonesia*. **Indonesian Center for Estate Crops Research and Development** 9 (1): 36-46.
- Erickson, L. E. 2004. *Lactic Acid Fermentation*. National Agricultural Biosecurity Center. Kansas State University.
- Garro, M. S. 2005. *Biological activity of Bifidobacterium longum in response to environmental pH*. **Applied Microbial And Cell Physiology** (2006) 70: 612-617.

- Guarner F. and Malagelada. 2003. *Gut flora in health and disease*. **The Lancet**. Volume 361: 512-519. 8 Februari 2003.
- Gunsalus, I. C. and Charles F. Niven. 1942. *The Effect of pH on the Lactic Acid Fermentation*. [www.jbc.org](http://www.jbc.org). 13 Desember 2010.
- Hardiningsih, R., R. Nonta, R. Napitupulu, T. Yulinery. 2006. *Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat Lactobacillus pada pH Rendah*. **Biodiversitas**. 7 (1). 15-17. ISSN 1412-033X
- Haryanto, R. 2004. *Antara Antibiotik, Probiotik dan Prebiotik*. <http://www.pikiranrakyat.com>. 9 November 2010.
- Her, S. L. 2004. *A repeated batch process for cultivation of Bifidobacterium longum*. **J Ind Microbiol Biotechnol** (2004) 31: 427-432.
- Kiswanto, Y. dan S. Saryanto. 2004. *Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Air Kelapa terhadap Produksi Nata de Coco*. <http://images.institutuyogyakarta.multiply.multiplycontent.com>. 2 Januari 2011.
- Kusumanto, Dian. 2011. *Kebun Aren*. <http://kebunaren.blogspot.com>. 22 Maret 2011.
- Kwantes, J. 1998. *Lactobacillus acidophillus*. <http://web.umn.edu>. 21 Desember 2006.
- Lahay, R.R. 2009. *Pemuliaan Tanaman Tebu*. <http://repository.usu.ac.id>. 2 Januari 2011.
- Lee, Y. and Siew-Fai Wong. 1993. *Stability of Lactic Acid Bacteria in Fermented Milk*. In: *Salminen, S. and Atte von Wright*. 1993. *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker Inc. New York. 97-107.
- Lichstein, H. C and P. P. Cohen. 1944. *Transamination in Bacteria*. <http://www.jbc.org>. 24 Maret 2011.
- Listyanto. 2010. *Budidaya Tanaman Tebu*. <http://www.internetjakarta.com>. 2 Januari 2011.
- Lungani, A. T. 2007. *Kemampuan Bakteri Asam Laktat dalam Menghambat Pertumbuhan dan Produksi Aflatoksin B<sub>2</sub> Aspergillus flavus*. **Bioma**. 9 (2) : 45-51. ISSN 1410-8801.
- Lyles, Sanders. 1969. *Biology of Microorganisms*. Toppan Company, Ltd. Tokyo.
- Maisyah, R. 2009. *Metode sterilisasi*. <http://rgmaisayah.wordpress.com>. 22 Maret 2011.

- Marsigit, W. 2005. *Penggunaan Bahan Tambahan pada Nira dan Mutu Gula Aren yang Dihasilkan di Beberapa Sentra Produksi di Bengkulu*. **Jurnal penelitian UNIB** 11 (1): 42-48.
- Mega, M. 2008. *Isolasi Khamir Nira Aren dan Potensinya dalam produksi Etanol*. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Andalas. Padang.
- Nadira. 2006. *Multikhasiat Air Kelapa*. <http://www.dekindo.com>. 2 Januari 2011.
- Nur, H. S. 2009. *Sukses Mikroba dan Aspek Biokimiawi Fermentasi Mandai dengan Kadar Garam Rendah*. **Makara Sains**. 13 (1) : 13-16.
- Nurhidayati, T. 2003. *Pengaruh konsentrasi enzim papain dan suhu fermentasi terhadap kualitas keju Cottage*. **KAPPA**. 4 (1) : 13-17. ISSN 1411-4046.
- Nurmiati, I. Agus dan Periadnadi. 2006. *Kajian Potensi dan Selektifitas Probiotik Alami dalam Upaya Perbaikan Mutu Makanan Tradisional*. Laporan Hasil Penelitian Dasar Dirjen DIKTI-2006. 1 Februari 2006.
- Pato, U. 2003. *Potensi Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Dadih untuk Menurunkan Resiko Penyakit Kanker*. **Jurnal Natur Indonesia** 5 (2). 162-166. ISSN 1410-9379.
- Prangdimurti, E. 2001. *Probiotik dan Efek Perlindungannya terhadap Kanker Kolon*. *Makalah Falsafah Sains*. 31 Desember 2001.
- Praweda. 2010. *Biologi*. <http://kambing.ui.ac.id>. 13 Desember 2010.
- Prevost, H. C. Divies and E. Rousseau. 1985. *Continuous Yoghurt Production with Lactobacillus bulgaricus and Streptococcus thermophilus Entrapped in Ca-Alginate*. **Biotechnology Letters** 7 (4): 247-252.
- Pribadi, N. 2009. *Aren, Sumber Energi Alternatif*. **Warta Pengembangan dan Penelitian Pertanian** 31 (2): 1-3.
- Ratnakomala, S., R. Ridwan, G. Kartina dan Y. Widyastuti. 2006. *Pengaruh Inokulum Lactobacillus plantarum 1A-2 dan 1BL-2 terhadap Kualitas Silase Rumpun Gajah (Pennisetum purpureum)*. **Biodiversitas**. 7 (2). 131-134. ISSN 1412-033X.
- Rindiastuti, Y. 2008. *Aspek Immunologi Probiotik*. <http://www.google.co.id>. 14 Desember 2010.
- Salminen, Seppo and Atte Von Wright. 1993. *Lactic Acid Bacteria*. Marcel Dekker Inc. New York.



- Schlegel, H. G. dan K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum Ed. Ke-6*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Schmidt and Hansens. 2006. *Refractometer*. <http://www.Schmidt-Haensch>. 22 Maret 2011.
- Steinberg, M. L and Cosloy, S. D. 2006. *The Facts on File Dictionary of Biotechnology and Genetic Engineering*. <http://books.google.co.id>. 22 Maret 2011.
- Suin, N. M. 2005. *Rancangan Percobaan dan Statistika Non Parametrik*. Universitas Andalas. Padang.
- Sujaya, N. 2008. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat dari Susu Kuda Sumbawa*. **Jurnal Veteriner** 9 (2): 52-59.
- Surahman, D. N. 2005. *Pengaruh Jenis Penstabil (Gelatin dan Agar Batang) dan Konsentrasi Penstabil terhadap Produk Soyghurt*. **Widyariset**. 8 (1). 144-156
- Susanto, R. 2010. *8 Keajaiban Minum Air Kelapa*. <http://acil.menlh.go.id>. 2 Januari 2011.
- Suryono, 2003. *Produk Olahan Susu Fermentasi Tradisional yang Berpotensi sebagai Pangan Probiotik*. IPB. Bogor.
- Tampubolon, L. 2008. *Pembuatan Material Selulosa-Kitosan Bakteri dalam Medium Air Kelapa dengan Penambahan Pati dan Kitosan Menggunakan Acetobacter xylinum*. Tesis. Sekolah Pascasarjana Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Woodland, D. W. 1997. *Contemporary Plant Systematic Second Edition*. Andrews University Press. Michigan.
- Widowati, S. dan Misgyarta. 2002. *Efektifitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein/Susu Nabati*. **Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman**. 360-373.
- Yukamgo, E. dan Nasih. 2007. *Peran Silikon sebagai unsur bermanfaat pada tanaman Tebu*. **Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan**. 7 (2): 103-116.



Lampiran 2. Rata-Rata Total Bakteri Probiotik pada Masing-Masing Media Selama 48 Jam Fermentasi

Jam ke	Nira Aren	Nira Tebu	Air Kelapa
0	$27,38 \times 10^8$	$27,38 \times 10^8$	$27,38 \times 10^8$
6	$43,5 \times 10^{10}$	$36,00 \times 10^{10}$	$29,5 \times 10^{10}$
12	$49,00 \times 10^{11}$	$15,50 \times 10^{11}$	$52,85 \times 10^{11}$
18	$72,87 \times 10^{12}$	$42,80 \times 10^{12}$	$36,82 \times 10^{12}$
24	$45,35 \times 10^{13}$	$34,50 \times 10^{13}$	$4,29 \times 10^{13}$
30	$39,23 \times 10^{13}$	$33,00 \times 10^{13}$	$0,39 \times 10^{13}$
36	$39,37 \times 10^{12}$	$15,97 \times 10^{12}$	$2,67 \times 10^{12}$
42	$36,77 \times 10^{10}$	$18,60 \times 10^{10}$	$3,36 \times 10^{10}$
48	$26,50 \times 10^9$	$42,50 \times 10^9$	$1,6 \times 10^9$

Lampiran 3. Nilai Log Rata-Rata Total Probiotik pada Masing-Masing Media Selama 48 Jam Fermentasi

Jam ke	Nira Aren	Nira Tebu	Air kelapa
0	9,44	9,44	9,44
6	11,64	11,56	11,47
12	12,69	12,19	12,72
18	13,86	13,63	13,57
24	14,66	14,54	13,63
30	14,59	14,52	12,60
36	13,59	13,20	12,43
42	11,56	11,27	10,53
48	10,42	10,63	9,20

Lampiran 4. Nilai pH dari Masing-Masing Media Selama 48 Jam Fermentasi

Jam ke	Nira Aren	Nira Tebu	Air Kelapa
0	6,15	5,1	5,35
	6,14	5,07	5,34
6	6,01	5,01	5,33
	6,01	5,02	5,32
12	5,97	4,82	5,3
	5,93	4,79	5,3

18	5,84	4,61	5,19
	5,85	4,61	5,19
24	5,55	4,43	5,06
	5,6	4,43	5,03
30	5,13	4,35	5,03
	5,1	4,36	5,03
36	4,78	4,2	4,87
	4,81	4,16	4,87
42	4,76	4,14	4,78
	4,74	4,15	4,77
48	4,66	4,15	4,59
	4,66	4,09	4,53

Lampiran 5. Nilai Kadar Gula Sisa dari Masing-Masing Media Selama 48 Jam Fermentasi

Jam ke	Nira Aren	Nira Tebu	Air Kelapa
0	14	14,6	5,4
	13,9	14,7	5,4
6	13,7	14,6	5,1
	13,7	14,5	5
12	13,4	14,4	4,8
	13,5	14,4	4,7
18	12,6	14,3	4,7
	12,6	14,3	4,7
24	12,1	13	4,3
	12	13	4,3
30	12	12,4	4
	11,9	12,5	4
36	11,9	11,7	3,8
	11,9	11,8	3,9
42	11,7	11,5	3,8
	11,8	11,5	3,7
48	11	10,5	3,5
	11	10,5	3,5

Lampiran 7. Nilai Organoleptik Rasa Nira Aren, Nira Tebu dan Air Kelapa Setelah 48 Jam Fermentasi dari 15 Panelis

Panelis	Nilai organoleptik 48 Jam fermentasi		
	Nira Aren	Nira Tebu	Air Kelapa
1	3	2	4
2	3	4	2
3	4	4	1
4	4	3	1
5	4	3	3
6	4	3	1
7	4	2	2
8	3	2	2
9	4	4	3
10	3	2	1
11	3	3	2
12	3	2	2
13	3	4	3
14	3	3	2
15	3	4	2
$\Sigma$	51	45	31
rata-rata	3,40	3,00	2,07

Ket :

1. Tidak Suka
2. Agak Suka
3. Suka
4. Suka Sekali

Lampiran 8. Daftar Uji Wilcoxon Rasa Nira Aren dan Nira Tebu Setelah 48 Jam Fermentasi

PANELIS	MEDIA FERMENTASI		BEDA	JENJANG	TANDA JENJANG	
	Nira Aren	Nira Tebu			(+)	(-)
1	3	2	1	5,5	5,5	
2	3	4	-1	5,5		5,5
3	4	4	0			
4	4	3	1	5,5	5,5	
5	4	3	1	5,5	5,5	
6	4	3	1	5,5	5,5	
7	4	2	2	11	11	
8	3	2	1	5,5	5,5	
9	4	4	0			
10	3	2	1	5,5	5,5	
11	3	3	0			
12	3	2	1	5,5	5,5	
13	3	4	-1	5,5		5,5
14	3	3	0			
15	3	4	-1	5,5		5,5
		$\Sigma$			49,5	16,5

Harga Jenjang (J hitung) = 16,5

Jumlah Jenjang = 11, maka J tabel (0,05) = 11

Karena J hitung > J tabel (0,05), maka kedua perlakuan tersebut berbeda nyata,

Lampiran 9. Daftar Uji Wilcoxon Rasa Nira Aren dan Air Kelapa Setelah 48 Jam Fermentasi

PANELIS	MEDIA FERMENTASI		BEDA	JENJANG	TANDA JENJANG	
	Nira Aren	Air Kelapa			(+)	(-)
1	3	4	-1	5		5
2	3	2	1	5	5	
3	4	1	3	13	13	
4	4	1	3	13	13	
5	4	3	1	5	5	
6	4	1	3	13	13	
7	4	2	2	10,5	10,5	
8	3	2	1	5	5	
9	4	3	1	5	5	
10	3	1	2	10,5	10,5	
11	3	2	1	5	5	
12	3	2	1	5	5	
13	3	3	0			
14	3	2	1	5	5	
15	3	2	1	5	5	
		Σ			100	5

Harga Jenjang (J hitung) = 5

Jumlah Jenjang = 13, maka J tabel (0,05) = 17

Karena J hitung < J tabel (0,05), maka kedua perlakuan tersebut tidak berbeda nyata,

Lampiran 10. Daftar Uji Wilcoxon Rasa Nira Tebu dan Air Kelapa Setelah 48 Jam Fermentasi

PANELIS	MEDIA FERMENTASI		BEDA	JENJANG	TANDA JENJANG	
	Nira Tebu	Air Kelapa			(+)	(-)
1	2	4	-2	8		8
2	4	2	2	8	8	
3	4	1	3	11	11	
4	3	1	2	8	8	
5	3	3	0			
6	3	1	2	8	8	
7	2	2	0			
8	2	2	0			
9	4	3	1	3	3	
10	2	1	1	3	3	
11	3	2	1	3	3	
12	2	2	0			
13	4	3	1	3	3	
14	3	2	1	3	3	
15	4	2	2	8	8	
		$\Sigma$			58	8

Harga Jenjang (J hitung) = 8

Jumlah Jenjang = 11, maka J tabel (0,05) = 11

Karena J hitung < J tabel (0,05), maka kedua perlakuan tersebut tidak berbeda nyata,

Lampiran 11. Hasil Analisa Statistik Rasa Masing-Masing Media Fermentasi Setelah 48 Fermentasi dengan Uji Jenjang Bertanda Wilcoxon

Perlakuan	J hitung	J (0,05)	Keterangan
A dengan B	16,5	11	J Hit, > J (0,05) Berbeda nyata
A dengan C	5	17	J Hit, < J (0,05) Tidak berbeda nyata
B dengan C	8	11	J Hit, < J (0,05) Tidak berbeda nyata

Ket:

A : Nira Aren

B : Nira Tebu

C : Air Kelapa

Lampiran 12. Tabel Nilai J untuk Wilcoxon's Signed Rank Test

Pairs	Significance Level			
	One-tailed test :	0,005	0,01	0,025
	Two-tailed test :	0,01	0,02	0,05
6		..	..	0
7		..	0	2
8		0	2	4
9		2	3	6
10		3	5	8
11		5	7	11
12		7	10	14
13		10	13	17
14		13	16	21
15		16	20	25
16		20	24	30
17		23	28	35
18		28	33	40
19		32	38	46
20		38	43	52
21		43	49	59
22		49	56	66
23		55	62	73
24		61	69	81
25		68	77	89

Sumber : Suin (2005)