

PENGARUH JENIS STARTER PADA MINUMAN PROBIOTIK SIRSAK GUNUNG (*ANNONA MONTANA MACF.*) TERHADAP KADAR ANTIOKSIDAN

Fitri Eka Lestari¹, Ambar Fidyasari^{2*}, Yasmine Septia Hanafi³, Edwin Permana⁴

^{1,2*}Akademi Analis Farmasi Dan Makanan Putra Indonesia Malang,

³Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang

⁴Program Studi Kimia Industri, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi

E-mail : *fidyafloss@gmail.com*

ABSTRACT

Antioxidants are compounds that can inhibit free radical reactions in the body. Mountain soursop (Annona Montana Macf.) is a source of natural antioxidants and has been developed into a probiotic drink. This drink is made by a fermentation process with the help of lactic acid bacteria (LAB). The purpose of this research was to determine the effect of the starter type which is added to mountain soursop juice on the content of antioxidants produced. The used LAB in this research are Lactobacillus casei which is contained in commercial product X and a mixture of Streptococcus thermophilus and Lactobacillus bulgaricus whicontained in product Y. This study used an experimental method that began with the calculation of LAB, making probiotic drinks and testing antioxidants using DPPH method. Based on research that has been done, the average IC50 value of mountain soursop probiotic drinks with Lactobacillus casei starter is 5,327,315 ppm, while the average IC50 value of mountain soursop probiotic drinks with a mixed starter between Lactobacillus bulgaricus and Streptococcus thermophilus is 1,715,356 ppm. The significance value of the 1 independent sample t-test ($\alpha < 0.05$) shows that the type of starter used in mountain soursop probiotic drinks has a significant effect on the antioxidants content.

Keywords: *IC50, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus casei, Mountain soursop, Streptococcus thermophilus*

INTISARI

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi radikal bebas dalam tubuh. Sirsak gunung (*Annona Montana Macf.*) merupakan salah satu sumber antioksidan alami dan telah dikembangkan menjadi minuman probiotik. Minuman ini dibuat melalui proses fermentasi dengan bantuan bakteri asam laktat (BAL). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis starter yang ditambahkan kedalam sari sirsak gunung terhadap kadar antioksidan yang dihasilkan. BAL yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Lactobacillus casei* yang terkandung dalam produk komersil X dan, campuran antara *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* yang terkandung dalam produk Y. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang dimulai dengan perhitungan BAL, pembuatan minuman probiotik dan pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, nilai IC₅₀ rata-rata minuman probiotik sirsak gunung dengan starter *Lactobacillus casei* sebesar 5.327,315 ppm, sedangkan nilai IC₅₀ rata-rata minuman probiotik sirsak gunung dengan starter campuran antara *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* adalah 1.715,356 ppm. Nilai signifikansi uji-t 1 sampel independen ($\alpha < 0,05$) menunjukkan bahwa jenis starter yang digunakan pada minuman probiotik sirsak gunung berpengaruh nyata terhadap kadar antioksidan.

Kata Kunci: *IC₅₀, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus casei, Sirsak Gunung, Streptococcus thermophilus*

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menghambat oksigen reaktif dan radikal bebas dalam tubuh. Senyawa antioksidan ini akan menyerahkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas sehingga menjadi molekul yang normal kembali dan menghentikan kerusakan yang ditimbulkan (Setiawan dan Amalia, 2017). Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibedakan

menjadi dua yakni antioksidan alami yang umumnya mengandung senyawa fenolik atau polifenolik dan antioksidan sintetik seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA) dan Butil Hidroksi Toluena (BHT). Namun dilaporkan bahwa penggunaan antioksidan sintetik memberi dampak negatif pada kesehatan manusia yaitu berupa gangguan fungsi hati, paru, mukosa usus dan keracunan (Panagan, 2011). Hal inilah yang membuat banyaknya

penelitian tentang potensi antioksidan alami dari suatu bahan alam.

Salah satu bahan alam yang memiliki potensi sebagai antioksidan adalah buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) atau sirsak kuning dari genus *Annonae*. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak buah sirsak gunung memiliki senyawa metabolit sekunder berupa terpenoid dari golongan senyawa fenol yang menjadi penentu utama potensi antioksidan. Hal itu juga diperkuat dengan hasil nilai rata-rata nilai IC₅₀ sebesar 61,93 ppm yang dapat digolongkan sebagai antioksidan kuat (Fidyasari *et al.*, 2017).

Sirsak gunung telah dikembangkan menjadi minuman probiotik yakni produk yang mengandung mikroorganisme hidup yang dikonsumsi oleh manusia untuk menghasilkan efek menyehatkan dan berada dalam nutrisi yang umum (Sopandi dan Wardah, 2014). Fermentasi minuman probiotik dapat menggunakan bakteri asam laktat (BAL) dari genus *Lactobacillus* yang mampu bertahan pada suhu rendah, tahan terhadap garam empedu dan mampu tumbuh pada media yang sederhana (Sunaryanto dkk., 2014). Bakteri ini juga memproduksi senyawa-senyawa inhibitor (asam laktat dan asam asetat), H₂O₂, serta bakteriosin yang dapat menekan pertumbuhan dan membunuh bakteri patogen dalam usus.

Streptococcus thermophilus dan *Lactobacillus bulgaricus* juga merupakan BAL yang biasa digunakan dalam minuman probiotik (yogurt). Kedua bakteri ini bersimbiosis mutualisme. Pertumbuhan *Streptococcus thermophilus* meningkat distimulir karena adanya asam amino dan peptida sederhana, terutama valin, lisin dan histidin dari hasil degradasi protein oleh *Lactobacillus bulgaricus*, sedangkan *Lactobacillus bulgaricus* tumbuh dengan cepat karena distimulir adanya asam format dan CO₂ yang dihasilkan oleh *Streptococcus thermophilus*. Kombinasi bakteri ini akan menghasilkan asam laktat lebih cepat dibandingkan kultur tunggal (Walstra *et al.*, 1999).

Beberapa penelitian membuktikan bahwa penggunaan BAL dapat meningkatkan antioksidan. Peningkatan penghambatan radikal bebas berbanding lurus dengan kadar asam laktat yang terbentuk dari hasil fermentasi oleh BAL. Semakin tinggi kadar asam laktat, maka kemampuan penghambatan radikal bebas juga akan semakin tinggi (Oktaviani dkk., 2014). Asam laktat (CH₃CHOHCOOH) yang dihasilkan oleh

BAL berperan sebagai pendonor proton bagi molekul radikal bebas DPPH.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan pengujian antioksidan terhadap minuman probiotik sirsak gunung menggunakan dua jenis bakteri yang berbeda yaitu *Lactobacillus casei* dan campuran bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Hal ini perlu dilakukan karena penelitian pada minuman probiotik menggunakan variasi bakteri yang berbeda dapat menghasilkan kadar antioksidan yang berbeda.

METODE PENELITIAN

Uji kadar antioksidan minuman probiotik buah sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) dengan variasi starter yang berbeda menggunakan metode penelitian eksperimental kemudian hasil penelitian diolah dengan uji-*t* 1 sampel independen.

Alat dan Bahan

Timbangan (*Ohaus*), blender (*Panasonic*), panci, pengaduk, termometer, kompor (*Rinnai*), inkubator (*Memmert*), beaker glass, erlemeyer, wadah plastik, oven, tabung reaksi, corong gelas, labu ukur, saring, pipet tetes, autoclave (*American Tipe 75X*), cawan petri, mikropipet, bunsen, pH-meter, spektrofotometri UV-Vis (*Genesys 10S UV-VIS*).

Bahan yang digunakan yaitu sirsak gunung (*Annona montana* Macf.), produk X yang mengandung bakteri *Lactobacillus casei* (*Yakult expired date* : 3 Maret 2020), produk Y yang mengandung campuran kedua bakteri antara *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* (*Cimory Original expired date* : 20 Agustus 2020), aquadest, etanol p.a, media *MRSA (Merck)*, serbuk DPPH.

Tahap Penelitian

Adapun tahap penelitian sebagai berikut :

1. Pembuatan sari sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) (Juwita, 2018) dengan perbandingan 1 L air dan 500 g buah, kemudian diblender dan disaring.
2. Sterilisasi alat dan bahan untuk pembiakan BAL
3. Perhitungan total BAL dari produk komersil X dan Y (Tambunan (2016)) dilakukan dengan metode *total plate count*. Sebanyak 1 mL minuman dimasukkan ke dalam 9 ml aquadest steril kemudian dilakukan pengenceran dari 10⁻¹ – 10⁻⁷. Diambil 1 ml dari setiap pengenceran dimasukkan dalam cawan petri dengan metode *pour plate* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian dihitung

BAL. Pemiakan dilakukan duplo dari pengenceran $10^{-6} - 10^{-7}$.

$$\text{Total BAL} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

4. Fermentasi Sari Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.) dengan *Lactobacillus casei* (Boro, 2017). Sebanyak 400 mL sari sirsak gunung yang telah dipasteurisasi, ditambahkan 10 g gula dan starter BAL sebanyak 90 mL. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator selama 24 jam. Pengecekan pH dilakukan sebelum dan sesudah inkubasi.
5. Fermentasi Sari Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.) dengan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* (Tutik, 2018). Sebanyak 390 mL sari sirsak gunung yang telah dipasteurisasi, ditambahkan 10 g gula dan starter BAL sebanyak 100 mL. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator selama 24 jam. Pengecekan pH dilakukan sebelum dan sesudah inkubasi.
6. Pengujian kadar antioksidan pada tiap perlakuan menggunakan metode DPPH.

Rumus % inhibisi :

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum pengujian IC 50 maka dilakukan pengujian Viabilitas produk, adapun hasil pada tabel 1:

Tabel 1. Hasil Perhitungan BAL Pada Produk Komersil

Sampel	Jumlah Koloni (CFU/mL)
Produk X (mengandung bakteri <i>Lactobacillus casei</i>)	$1,8 \times 10^8$
Produk Y (mengandung campuran bakteri <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dan <i>Streptococcus thermophilus</i>)	$2,6 \times 10^8$

Perhitungan BAL bertujuan untuk menentukan apakah starter yang berasal dari produk X dan produk Y masih memenuhi standar untuk digunakan. MRSA digunakan sebagai media tumbuh bagi BAL. Kondisi ini menunjukkan bahwa jumlah koloni yang terbentuk pada media masih memenuhi syarat sebagai minuman probiotik. Kondisi ini dapat dipengaruhi karena rendahnya pengenceran yang mengakibatkan jumlah total BAL semakin meningkat atau tidak bisa

untuk dihitung. Semakin rendah tingkat pengencerannya, maka nutrisi yang ada semakin besar sehingga perombakan gula yang dilakukan oleh bakteri asam laktat semakin banyak yang mengakibatkan pertumbuhannya semakin banyak pula (Primurdia and Kusnadi, 2014). Sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri asam laktat yang terkandung dalam produk X dan Y masih memenuhi standar untuk digunakan sebagai starter. Standar jumlah BAL minimal dalam minuman probiotik berdasarkan SNI 7552 tahun 2009 adalah sebanyak $\geq 10^6$ CFU/mL. Pada perhitungan jumlah BAL menunjukkan bahwa produk X dan Y telah memenuhi standar untuk ditambahkan ke sari sirsak gunung. Standar jumlah BAL minimal dalam minuman probiotik berdasarkan SNI 7552 tahun 2009 adalah sebanyak $\geq 10^6$ CFU/mL. Alasan penggunaan media MRSA karena media tersebut selektif untuk mengisolasi BAL sehingga memudahkan pertumbuhan suatu mikroba tertentu dan menghalangi tumbuhnya mikroba lainnya (Joni dkk., 2018).

Kemudian dilakukan pasteurisasi yang bertujuan untuk membunuh mikroorganisme seperti bakteri, kapang dan jamur.

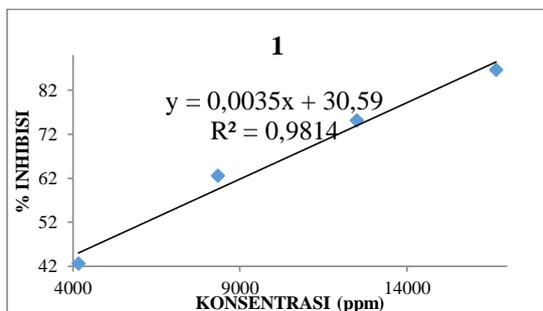
Tabel 2. Karakteristik Minuman Probiotik Sirsak Gunung (*Annona Montana* Macf.)

Uji	Starter <i>Lactobacillus casei</i>	Starter <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dan <i>Streptococcus thermophilus</i>
Fisik	Cair	Cair
Warna	Kuning pucat	Kuning pucat
Aroma	Khas sirsak gunung	Khas sirsak gunung
Rasa	Sedikit asam	Asam
pH setelah inkubasi	4,503	4,421

Hasil uji organoleptis yang didapat menunjukkan bahwa produk dalam keadaan cair, hal ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia 7552-2009 yang menyatakan minuman fermentasi memiliki ciri fisik yang cair. Kedua perlakuan pada minuman menghasilkan warna dan aroma yang sama. Sedangkan rasa yang dihasilkan minuman probiotik sirsak gunung menggunakan starter campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* lebih asam dibandingkan menggunakan starter *Lactobacillus casei*. Rasa yang lebih asam sejalan dengan nilai pH yang dihasilkan setelah diinkubasi.

Hasil yang didapat menunjukkan produk yang dihasilkan dalam keadaan cair, hal ini sesuai dengan Standar Nasional Indonesia 7552-2009 yang menyatakan minuman fermentasi memiliki ciri fisik yang cair. Kedua perlakuan pada minuman menghasilkan warna dan aroma yang sama. Sedangkan rasa yang dihasilkan minuman probiotik sirsak gunung menggunakan starter campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* lebih asam dibandingkan menggunakan starter *Lactobacillus casei*.

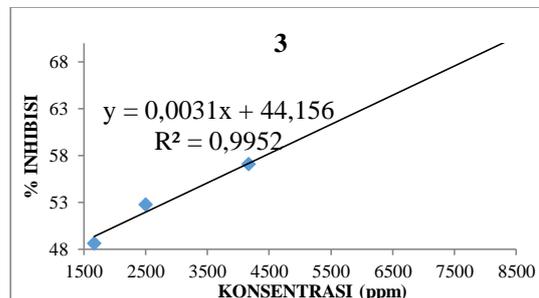
Sampel dengan berbagai variasi konsentrasi diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal yang telah diperoleh, yakni 516 nm. Setelah mendapat absorbansi pada tiap konsentrasi, maka dihitung persen inhibisi sehingga didapatkan persamaan linear menggunakan *software microsoft excel*. Hubungan Antara Konsentrasi Sampel Dengan % Inhibisi Pada Uji Aktivitas Minuman Probiotik Sirsak Gunung (*Annona montana Macf.*) Menggunakan Starter *L.casei* terdapat pada gambar 1:



Gambar 1: %Inhibisi Pada Uji Aktivitas Minuman Probiotik Sirsak Gunung (*Annona montana Macf.*) Menggunakan Starter *L.casei*

Uji aktivitas antioksidan sampel dilakukan berdasarkan peredaman radikal bebas DPPH oleh komponen antioksidan yang terkandung dalam minuman probiotik sirsak gunung. Sampel dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi meningkat yang dapat memberikan serapan linear. Kedua jenis sampel mengalami perubahan warna setelah diinkubasi walaupun tidak signifikan. Perubahan terjadi dari warna ungu tua menjadi ungu pudar. Perubahan warna ini menandakan bahwa kedua jenis sampel memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen dari senyawa antioksidan (Latifah, 2015).

Hubungan Antara Konsentrasi Sampel Dengan %Inhibisi Pada Uji Aktivitas Minuman Probiotik Sirsak Gunung (*Annona montana Macf.*) Menggunakan Starter *L.bulgaricus* dan *S.thermophilus* terdapat pada gambar 2:



Gambar 2 %Inhibisi Pada Uji Aktivitas Minuman Probiotik Sirsak Gunung Menggunakan Starter *L.bulgaricus* dan *S.thermophilus*

Parameter yang digunakan untuk mengetahui besarnya kemampuan suatu senyawa sebagai antioksidan adalah nilai IC50 yang merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mengurangi radikal DPPH sebesar 50%. Nilai IC50 diperoleh dari persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel pada sumbu x dengan persen inhibisi pada sumbu y. Persamaan yang diperoleh kemudian dilakukan perhitungan untuk mendapatkan nilai IC50 dengan mengganti nilai y dengan 50. Semakin kecil nilai IC50 maka semakin aktif sampel tersebut sebagai senyawa antioksidan. Fermentasi yang melibatkan BAL ditandai dengan peningkatan jumlah asam-asam organik yang diiringi dengan penurunan pH (Yang, 2000). Hal ini menyebabkan peningkatan rasa asam pada minuman. Standar pH yang baik untuk minuman fermentasi menurut Kuswinarto (2017) memiliki nilai hingga 4,5.

Uji antioksidan dimulai dengan pengukuran panjang gelombang maksimal. Pengukuran yang didapat adalah λ maksimal sebesar 516 nm dengan besar absorbansi 0,818. Menurut Tristantini dkk., (2016) panjang gelombang tersebut telah memenuhi standar, dimana panjang gelombang maksimal DPPH berkisar antara 515-520 nm.

Uji aktivitas antioksidan sampel dilakukan berdasarkan peredaman radikal bebas DPPH oleh komponen antioksidan yang terkandung dalam minuman probiotik sirsak gunung. Kedua jenis sampel mengalami perubahan warna setelah diinkubasi walaupun tidak signifikan. Perubahan terjadi dari warna ungu

tua menjadi ungu muda. Perubahan warna ini menandakan bahwa kedua jenis sampel memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Latifah, 2015).

Tabel 3. Hasil Uji Antioksidan Minuman Probiotik Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.)

Sampel	Nilai rata-rata IC ₅₀ (ppm)
Starter <i>L.casei</i>	5.327,31
Starter <i>L.bulgaricus</i> dan <i>S.thermophilus</i>	1.715,35

Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mengurangi radikal DPPH sebesar 50%. Nilai ini adalah parameter yang digunakan untuk mengetahui besarnya kemampuan suatu senyawa sebagai antioksidan yang diperoleh dari persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel pada sumbu x dengan persen inhibisi pada sumbu y. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin aktif sampel tersebut sebagai senyawa antioksidan (Tristantini dkk., 2016).

Hasil pengukuran pada kedua sampel menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ rata-rata minuman probiotik sirsak gunung sangat lemah.

Penelitian oleh Fidyasari *et al.*, (2017) menyatakan bahwa ekstrak sirsak gunung memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 61,93 ppm. Namun, setelah dilakukan proses fermentasi dengan menggunakan jenis BAL yang berbeda mengalami penurunan aktivitas antioksidan. Penelitian yang dilakukan oleh Wijayanti *et al.* (2017), menunjukkan perbedaan nilai IC₅₀ antara sebelum dan sesudah dilakukan fermentasi dengan beberapa jenis BAL yang digunakan. Jus buah tin memiliki nilai IC₅₀ sebesar 76,7 ppm, sedangkan setelah difermentasi nilai IC₅₀ cenderung naik yang berarti aktivitas antioksidan menurun. Fermentasi jus buah tin menggunakan *Lactobacillus bulgaricus* memiliki nilai IC₅₀ sebesar 76,55 ppm, fermentasi menggunakan *Lactobacillus casei* 77,41 ppm, fermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum* 95,94 ppm, dan fermentasi menggunakan *Lactobacillus acidophilus* 105,42 ppm. Aktivitas antioksidan dapat berubah setelah

dilakukan proses fermentasi. Sehingga disimpulkan bahwa fermentasi dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan dengan tingkat pengaruh tergantung pada spesies mikroorganisme yang digunakan.

Faktor lain yang menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan adalah kandungan karotenoid dalam sirsak. Karotenoid merupakan pigmen yang memberikan warna kuning, jingga hingga merah. Karotenoid berfungsi sebagai antioksidan, antikanker, dan membantu memelihara kesehatan mata. (Maleta *et al.*, 2018). Karotenoid memiliki sifat yang tidak stabil, Penelitian Wahyuni dan Widjanarko (2015) menjelaskan bahwa pada pH 3 dan 5 absorbansi karotenoid cenderung turun yang menandakan bahwa warna pada karotenoid memudar. Sedangkan absorbansi karotenoid labu kuning yang diatur pada pH 7, 10 dan 13 tampak tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap degradasi pigmen karotenoid labu kuning yang menunjukkan bahwa pigmen karotenoid labu kuning cukup stabil terhadap larutan pH yang bersifat netral dan basa. Karotenoid dapat mengalami isomerisasi bila terkena panas, cahaya dan asam yang dapat mengakibatkan perubahan struktur karotenoid dari trans menjadi bentuk cis. Karotenoid dalam bentuk trans memiliki aktivitas dan intensitas warna yang lebih tinggi dibandingkan karotenoid dalam bentuk cis. Isomerisasi ini mengakibatkan senyawa karotenoid lebih tidak stabil dan lebih mudah mengalami oksidasi yang dapat mengakibatkan degradasi. Oksidasi tersebut menyebabkan perubahan senyawa epoksi hingga terbentuknya senyawa karotenoid baru yang memiliki aktivitas yang lebih rendah (Latifah, 2015). Hal inilah dapat menyebabkan nilai IC₅₀ pada fermentasi sirsak gunung turun dibandingkan dengan ekstrak buahnya.

Berdasarkan uji *t* 1 sampel independen, nilai signifikansi ($\alpha < 0,05$) menunjukkan bahwa jenis starter yang digunakan pada minuman probiotik sirsak gunung berpengaruh nyata terhadap kadar antioksidan.

KESIMPULAN

Nilai IC₅₀ rata-rata minuman probiotik sirsak gunung dengan starter *Lactobacillus casei* sebesar 5.327,315 ppm, sedangkan nilai IC₅₀ rata-rata minuman probiotik sirsak gunung dengan starter campuran antara *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* adalah 1.715,356 ppm. perbedaan jenis starter yang digunakan pada minuman probiotik sirsak gunung (*Annona*

montana Macf.) dapat mempengaruhi kadar antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Boro, I.L., 2017. Mutu Fisik Dan Mikrobiologi Minuman Probiotik Sari Buah Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.) Dengan Penambahan *Lactobacillus casei*. *KTI. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang*, Malang.
- Fidyasari, A., Wulandari, S., Sari, M.I., 2017. Secondary Metabolite And Antioxidant Activity Of Soursop (*Annona Montana*) Fruit Extract. *Int. J. Technol. Sci. IJTS*, 2 1.
- Joni, L.S., Erina, E., Abrar, M., 2018. Total Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Feses Rusa Sambar (*Cervus unicolor*) Di Taman Rusa Aceh Besar. *JIMFET*, 1 2, 81.
- Juwita, N.F.R., 2018. Total Asam dan Antioksidan Minuman Probiotik Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.) Selama Fermentasi. *KTI. Akad. Farm. Putra Indones. Malang*.
- Kuswinarto, R.R., 2017. Pengaruh Konsentrasi Starter Dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Fruitghurt Sari Kulit Buah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* L.). *Skripsi. Universtas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang*.
- Latifah, L., 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang*.
- Maleta, H.S., Indrawati, R., Limantara, L., Brotosudarmo, T.H.P., 2018. Ragam Metode Ekstraksi Karotenoid dari Sumber Tumbuhan dalam Dekade Terakhir. *J. Rekayasa Kim. Dan Lingkungan*, 1 13, 40–47.
- Oktaviani, E.P., L.E., P., F.S., P., 2014. Kualitas dan Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik dengan Variasi Ekstrak Buah Naga Merah (*Hyloroceus polyrhizus*). *Skripsi. Program Studi Biol. Fak. Teknobiologi Univ. Atma Jaya Yogyakarta*.
- Panagan, A.T., 2011. Pengaruh Penambahan Tepung Wortel (*Daucus carota* L.) Terhadap Bilangan Peroksida dan Asam Lemak Bebas pada Minyak Goreng Curah. *J. Penelit. Sains* 14, 14204.
- Primurdia, E.G., Kusnadi, J., 2014. Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik Sari Kurma (*Phoenix dactylifera* L.) dengan Isolat *L. plantarum* dan *L. casei*. *J. Pangan Dan Agroindustri*, 3 2, 106–107.
- Setiawan, N.C.E., Amalia, H., 2017. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah *Areca vestiaria* Giseke dan Fraksinya dengan Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). *J. Cis-Trans JC-T*, 2 1, 10.
- Sopandi, T., Wardah, W., 2014. *Mikrobiologi Pangan – Teori dan Praktik*. C.V. Andi Offset, Yogyakarta.
- Sunaryanto, R., Martius, E., Marwoto, B., 2014. Uji Kemampuan *Lactobacillus casei* Sebagai Agensia Probiotik. *Bioteknologi. Dan Biosains Indones.*, 1 1, 10–11.
- Tambunan, A.R., 2016. Karakteristik Probiotik Berbagai Jenis Bakteri Asam Laktat (BAL) Pada Minuman Fermentasi Laktat Sari Buah Nanas. *Skripsi. Universitas Lampung, Bandar Lampung*.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B.T., Jonathan, J.G., 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L.), in: Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH Pada Daun Tanjung (*Mimusops Elengi* L). *Presented at the Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*, Yogyakarta.
- Tutik, A., 2018. Kualitas Minuman Probiotik (*Annona Montana* Macf) Dengan Variasi Starter. *KTI. Akad. Farm. Putra Indones. Malang*.
- Wahyuni, D.T., Widjanarko, S.B., 2015. Pengaruh Jenis Pelarut Dan Lama Ekstraksi Terhadap Ekstrak Karotenoid Labu Kuning Dengan Metode Gelombang Ultrasonik. *J. Pangan Dan Agroindustri*, 2 3, 397–399.
- Walstra, P., Noomen, A., Geurts, T.J., A., J., M.A.J.S., B., 1999. *Dairy Technology, Principles of Milk Properties and Processes*. Marcel Dekker, New York.
- Wijayanti, E.D., Setiawan, N.C.E., Cristi, J.P., 2017. Effect of Lactic Acid Fermentation on Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Fig Fruit Juice (*Ficus carica*). *Adv. Health Sci. Res.* 2, 284–287.
- Yang, Z., 2000. Antimicrobial Compounds and Extracellular Polysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria. *Disertasi. University of Helsinki, Finland*.