

Karakteristik susu probiotik fortifikasi belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dengan perbedaan konsentrasi bakteri (*Lactobacillus casei* strain Shirota)

The characteristics of bilimbi fruit (Averrhoa bilimbi) fortified probiotic milk with differences in bacteria (Lactobacillus casei strain Shirota) concentration

Rizka Maulida^{1)*}, Khoirin Maghfiroh¹⁾

¹ Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Universitas Yudharta Pasuruan, Indonesia.

*Email korespondensi: rizka.maulida1919@gmail.com

Informasi artikel:

Dikirim: 22/11/2022; disetujui: 23/02/2023; diterbitkan: 31/03/2023

ABSTRACT

Bilimbi fruit (Averrhoa bilimbi) is one of the local fruits whose existence is abundant. Bilimbi fruit contains pectin, amino acids, and cyanidin-3-O-β-D-glucoside utilized by lactic acid bacteria (LAB) during the fermentation process. The use of bilimbi fruit as a probiotic milk fortification can increase the productivity value. The production of probiotic milk involves Lactobacillus casei strain Shirota as a good probiotic agent. This study aims to determine the effect of the addition of bilimbi fruit juice and bacterial concentration on the characteristics of probiotic milk and determine the best treatment combined. The method used in this study was a randomized block design (RAK) with two treatment factors. The treatment applied was the addition of 25% and 50% (v/v) bilimbi fruit juice with bacterial concentrations of 4%, 6%, and 8% (v/v). The results of fermentation tested for viscosity, soluble protein, pH, sugar content, and organoleptic. All data were analyzed using a two-way ANOVA followed by Tukey's test. Determination of the best treatment using the De Garmo method. The results showed that the addition of bilimbi fruit juice and the concentration of bacteria affected the characteristics of bilimbi fruit fortified probiotic milk. The combination of treatment with the addition of 50% (v/v) bilimbi fruit extract with a bacterial concentration of 6% (v/v) was the best result with the characteristics: viscosity 0.036 Pa.s; soluble protein 0.37%; pH 4.4; sugar content 7.9; and the organoleptic values for color, taste, aroma, and texture were 3,4 (somewhat like); 3.8 (likes); 3.6 (likes); and 3,4 (somewhat like).

Keywords: *Averrhoa bilimbi, probiotic milk, Lactobacillus casei strain Shirota*

ABSTRAK

Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) merupakan salah satu buah lokal yang keberadaannya melimpah. Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) mengandung pektin, asam amino, dan sianidin-3-O-β-D-glukosida yang dapat dimanfaatkan oleh bakteri asam laktat (BAL) selama proses fermentasi. Pemanfaatan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai fortifikasi susu probiotik dapat meningkatkan nilai produktivitas. Pembuatan susu probiotik melibatkan bakteri *Lactobacillus casei* strain Shirota sebagai agen probiotik yang baik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan sari Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dan konsentrasi bakteri terhadap karakteristik susu probiotik serta mengetahui kombinasi perlakuan terbaik. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak kelompok (RAK) dengan 2 faktor perlakuan. Perlakuan yang diterapkan adalah penambahan sari Belimbing Wuluh 25% dan 50% (v/v) dengan konsentrasi bakteri 4%, 6%, dan 8% (v/v). Hasil fermentasi

diuji viskositas, protein terlarut, pH, kadar gula, dan organoleptik. Seluruh data dianalisis menggunakan ANOVA dua arah yang dilanjutkan dengan uji Tukey. Penentuan perlakuan terbaik menggunakan metode De Garmo. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan sari Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dan konsentrasi bakteri berpengaruh terhadap karakteristik susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Kombinasi perlakuan proporsi penambahan sari Belimbing Wuluh 50% (v/v) dengan konsentrasi bakteri 6% (v/v) merupakan hasil terbaik dengan karakteristik: viskositas 0,036 Pa.s; protein terlarut 0,37%; pH 4,4; kadar gula 7,9; dan nilai organoleptik terhadap warna, rasa, aroma, dan tekstur berturut-turut sebesar 3,4 (agak suka); 3,8 (suka); 3,6 (suka); dan 3,4 (agak suka).

Kata Kunci: *Averrhoa bilimbi*, susu probiotik, *Lactobacillus casei* strain *Shirota*

PENDAHULUAN

Belimbing Wuluh atau *Averrhoa bilimbi* merupakan buah yang sering ditemukan di Indonesia dan berbagai negara tropis lainnya. Tanaman belimbing wuluh memiliki banyak manfaat tetapi belum ada yang membudidayakannya secara khusus. Tanaman ini memiliki nilai fiskal yang sangat besar karena hampir seluruh bagian seperti daun, kulit batang, bunga, buah, biji, dan akarnya dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif.

Nutrisi yang terkandung dalam buah Belimbing Wuluh baik untuk kesehatan serta meningkatkan imunitas tubuh. Belimbing Wuluh digunakan sebagai obat tradisional untuk berbagai jenis penyakit (Patel *et al.*, 2009). Kumar *et al.* (2011) menyatakan bahwa, tanaman ini digunakan untuk pengobatan demam, jerawat, gondok, radang rektum dan kencing manis, gatal-gatal, bisul, rematik, sifilis, hipertensi, sakit perut, dan lain-lain. Norlia *et al.* (2014) menyebutkan bahwa ekstrak Belimbing Wuluh mengandung senyawa bioaktif yang bermanfaat, seperti asam amino, asam sitrat, sianidin-3-O- β -D-glukosida, phenolic, ion potassium, gula, antioksidan dan vitamin A.

Pada masa pandemi, menjaga imunitas tubuh merupakan hal yang penting agar resiko tertularnya virus covid-19 bisa diminimalkan. Peningkatan sistem imun dapat dilakukan dengan mengkonsumsi produk pangan fungsional, salah satunya adalah minuman probiotik. Minuman probiotik merupakan minuman fungsional yang mengandung mikroba hidup serta

memiliki efek kesehatan. Menurut Tsai *et al.* (2012), probiotik dapat membantu pengaturan mikroflora usus dan memiliki sifat imunomodulator. Probiotik juga memiliki efek kesehatan yang menguntungkan pada manusia, seperti mengurangi gejala intoleransi laktosa dan meningkatkan ketersediaan nutrisi.

Susu yang difermentasi dengan bakteri probiotik merupakan salah satu minuman probiotik dan dianggap sebagai makanan fungsional yang banyak dikonsumsi di seluruh dunia selama berabad-abad. Susu fermentasi telah terbukti memiliki sejumlah manfaat kesehatan pleiotropik. Pada penelitian Dong (2013) menyebutkan bahwa secara meta-analisis, susu fermentasi probiotik memiliki efek penurunan tekanan darah pada subjek prehipertensi dan hipertensi. Namun sementara itu, peran bioaktif susu fermentasi dalam penurunan tekanan darah telah dipelajari dengan baik, kontribusi potensial terhadap penurunan tekanan darah oleh mikroorganisme hidup.

Susu probiotik yang terfortifikasi Belimbing Wuluh juga berpotensi untuk dikembangkan. Hal ini dikarenakan Belimbing Wuluh mengandung senyawa pektin. Buah Belimbing Wuluh yang matang mengandung 5% (berat kering) pektin (Patil *et al.*, 2010). Pektin pada minuman fermentasi merupakan serat larut yang dapat dimanfaatkan sebagai substrat untuk pertumbuhan bakteri asam laktat sehingga dapat memacu aktivitas pembentukan senyawa antimikroba dan menekan bakteri patogen (Rizal *et al.*, 2020). Penelitian ini melibatkan dua faktor perlakuan yaitu

perbedaan proporsi penambahan sari Belimbing Wuluh (25% dan 50% v/v) dan konsentrasi bakteri starter (4%, 6%, dan 8% v/v) dengan harapan dapat mengetahui pengaruh perlakuan dan mendapatkan perlakuan terbaik dilihat dari aspek karakteristik fisik, kimia, dan organoleptik pada produk susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh.

METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses pembuatan susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh antara lain: Belimbing Wuluh varietas lokal yang didapat dari pekarangan rumah, bakteri *Lactobacillus Casei Shirota* (yakult), susu *Ultra High Temperature* (UHT), gula, dan air. Sedangkan bahan yang digunakan untuk proses analisa antara lain: aquades, natrium hidroksida, natrium oksalat, indikator pp 1%, formaldehida 37%, *buffer* pH 4.0, dan *buffer* pH 7.0.

Alat

Alat yang digunakan dalam proses pembuatan susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh antara lain: timbangan digital, blender, pisau, panci, kompor, baskom, sendok, botol plastik 300 ml, alat saring, gelas plastik, botol kaca 450 ml, dan gelas ukur. Sedangkan alat yang digunakan untuk proses analisa antara lain: timbangan analitik, botol kaca kapasitas 450 ml, gelas kimia 50 ml, gelas kimia 250 ml, gelas kimia 800 ml, labu ukur 100 ml, gelas ukur 25 ml, gelas ukur 250 ml, gelas ukur 500 ml, corong kaca, batang pengaduk, spatula, *hand refraktometer*, pH meter, termometer air, pipet tetes, pipet ukur 1 ml, pipet ukur 2 ml, pipet ukur 5 ml, pipet ukur 10 ml, mikropipet 1000 μ L, erlenmeyer 50 ml, mortal alu, buret, viskometer, klem buret, dan statif.

Pembuatan sari belimbing wuluh

Buah Belimbing Wuluh segar yang sudah disortasi dicuci bersih menggunakan air mengalir. Buah yang sudah dicuci bersih

dipotong kecil-kecil ditambahkan air dengan perbandingan air dan Belimbing Wuluh 2:1. Ditambahkan gula 10% (b/v) dan dihaluskan menggunakan blender sampai menjadi jus. Jus Belimbing Wuluh kemudian disaring menggunakan kain saring untuk memisahkan sari buah (ekstrak) dengan ampasnya. Dilakukan perebusan sari buah dengan suhu 75-80°C dan didinginkan.

Fermentasi susu probiotik

Sari Belimbing Wuluh dituang ke dalam botol kaca dan ditambahkan susu UHT sesuai perlakuan (25% dan 50% v/v). Kemudian ditambahkan yakult yang mengandung bakteri *Lactobacillus casei* strain *Shirota* sebagai starter sesuai perlakuan (4%, 6%, dan 8% v/v). Campuran semua bahan kemudian difermentasi secara anaerob dan tidak terkena sinar matahari selama 24 jam dalam suhu ruang.

Karakterisasi susu probiotik

Karakterisasi sampel susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh dilakukan dengan tujuan mengetahui sifat fisik dan kimia yang terbaik dengan uji viskositas, protein terlarut, nilai pH, dan kadar gula. Pengukuran nilai viskositas dilakukan dengan viskometer (Daubert and Farkan, 2013). Kadar protein terlarut diukur menggunakan metode titrasi iodimetri (Listyani, 2019). Pengukuran nilai pH dilakukan dengan pH meter untuk menentukan derajat keasaman (AOAC, 2012). Pengukuran kadar gula dilakukan dengan *hand refraktometer*. Uji organoleptik yang meliputi warna, rasa, aroma, dan tekstur dilakukan oleh 30 orang panelis tidak terlatih. Pengujian nilai organoleptik dilakukan dengan uji hedonik yang terdiri dari 5 skala hedonik.

Analisa data dan statistik

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah proporsi penambahan sari Belimbing Wuluh yang terdiri dari B1=25% (v/v) dan B2=50% (v/v). Faktor kedua adalah konsentrasi bakteri starter yang terdiri dari C1=4% (v/v),

C2=6%, dan C3=8% (v/v). Masing-masing percobaan diulang sebanyak tiga kali sehingga didapatkan 18 kali percobaan. Analisis data fisik dan kimia pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan aplikasi MiniTab untuk uji *two way* Anova (*Analysis of Variance*) dan untuk menentukan notasi menggunakan uji lanjutan Tukey dengan taraf kepercayaan 5%. Sedangkan untuk analisis data uji organoleptik menggunakan uji friedman dan untuk mencari perlakuan terbaik pada analisa fisika kimia dan organoleptik menggunakan uji Indeks Efektifitas De Garmo *et al.* (1984) yang dimodifikasi oleh Susrini (2003).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Viskositas

Viskositas adalah tingkat kekentalan suatu produk pangan. Nilai viskositas dapat menunjukkan sifat cairan yang memiliki resistensi terhadap suatu aliran yang memberikan peningkatan kekuatan untuk menahan pergerakan relatif. Purbasari *et al.* (2014) menyebutkan bahwa viskositas minuman probiotik dipengaruhi oleh pH, jenis kultur strain, kadar protein, waktu inkubasi, dan total padatan susu.

Hasil analisa viskositas menunjukkan bahwa rata-rata viskositas pada susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh berkisar 0,003 Pa.s sampai 0,036 Pa.s. Secara statistik, perbedaan penambahan sari Belimbing Wuluh dan konsentrasi bakteri starter berpengaruh nyata terhadap viskositas susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Rerata viskositas dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata viskositas

Kombinasi Perlakuan	Rerata Viskositas (Pa.s)
B2C2(Belimbing 50%, Starter 6%)	0,036 ± 0,0006 a
B2C3(Belimbing 50%, Starter 8%)	0,033 ± 0,0006 b
B2C1(Belimbing 50%, Starter 4%)	0,028 ± 0,0006 c
B1C3(Belimbing 25%, Starter 8%)	0,005 ± 0,0006 d
B1C2(Belimbing 25%, Starter 6%)	0,004 ± 0,0000 d
B1C1(Belimbing 25%, Starter 4%)	0,003 ± 0,0006 d

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan pengaruh tidak beda nyata pada uji Tukey

Tabel 1 menjelaskan bahwa penambahan sari Belimbing Wuluh dan konsentrasi starter mempengaruhi nilai viskositas susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Perubahan nilai viskositas pada susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh selama fermentasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain total padatan pada bahan, kandungan protein bahan dan kemampuan bakteri starter untuk memproduksi asam. Asam yang dihasilkan dapat mempengaruhi kandungan protein yang kemudian dapat mengubah viskositas dari bahan. Yoo *et al.* (2013) menyatakan bahwa viskositas minuman fermentasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti total padatan, kandungan protein dalam bahan utama pembuatan produk, serta kemampuan grain untuk memproduksi asam selama fermentasi.

Viskositas yang tinggi bisa terjadi karena buah memiliki kandungan pektin yang membentuk gel dan menyebabkan minuman probiotik menjadi kental (Utami, 2018). Rismawati (2015) juga menyebutkan dalam penelitiannya bahwa pektin memiliki sifat yang larut air tetapi bisa membentuk gel apabila dicampur gula dan asam karena pektin adalah koloid yang *reversible*. Selain penambahan sari Belimbing Wuluh, nilai viskositas susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh juga dipengaruhi oleh adanya penambahan bakteri starter. Kekentalan pada produk disebabkan oleh aktivitas mikroba dalam starter yang mengkoagulasi susu. Pada kondisi asam, protein akan mengalami denaturasi (Nihayah, 2015). Lestari *et al.* (2018) menyebutkan bahwa perubahan viskositas disebabkan karena *lactobacilli* pada grain yang digunakan.

Protein terlarut

Analisa kadar protein terlarut dalam penelitian ini menggunakan metode titrasi formol. Estiasih (2012) menyatakan bahwa metode titrasi formol tepat digunakan untuk menunjukkan proses hidrolisis protein. Menurut Andarwulan (2016), apabila formaldehida ditambahkan ke dalam susu

yang telah dinetralkan, formaldehida tersebut akan bereaksi dengan gugus amin dari residu asam amino, seperti lisin.

Hasil analisa kadar protein menunjukkan bahwa rata-rata kadar protein pada susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh berkisar 0,23% sampai 0,37%. Rerata kadar protein pada berbagai kombinasi perlakuan ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata protein terlarut

Kombinasi Perlakuan	Rerata Protein Terlarut (%)
B2C2(Belimbing 50%, Starter 6%)	0,37 ± 0,08 a
B2C3(Belimbing 50%, Starter 8%)	0,33 ± 0,21 a
B2C1(Belimbing 50%, Starter 4%)	0,33 ± 0,33 a
B1C3(Belimbing 25%, Starter 8%)	0,33 ± 0,33 a
B1C2(Belimbing 25%, Starter 6%)	0,28 ± 0,14 a
B1C1(Belimbing 25%, Starter 4%)	0,23 ± 0,08 a

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan pengaruh tidak beda nyata pada uji Tukey.

Tabel 2 menunjukkan bahwa dengan adanya peningkatan penambahan sari buah Belimbing Wuluh maka kadar protein pada kombinasi perlakuan juga mengalami peningkatan. Hal ini dikarenakan adanya kandungan senyawa bioaktif berupa asam amino pada Belimbing Wuluh (Norlia *et al.*, 2014) dan senyawa tersebut terhidrolisis sehingga dapat meningkatkan kadar protein terlarut pada susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh.

Perbedaan konsentrasi starter yang ditambahkan juga menyebabkan kandungan protein pada hampir semua perlakuan meningkat seiring dengan semakin tingginya konsentrasi starter yang ditambahkan. Hal ini dikarenakan kandungan protein dipengaruhi oleh total bakteri asam laktat yang membantu proses fermentasi. Nehemya *et al.* (2017) menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi starter berpengaruh pada peningkatan jumlah bakteri asam laktat yang memecah ikatan protein sehingga menyebabkan terbentuknya protein terlarut yang semakin banyak. Hal tersebut juga didukung oleh pernyataan Zainuddin (2014) bahwa peningkatan kadar protein terlarut

dalam suatu produk dipengaruhi oleh terjadinya aktivitas fermentasi bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat mengubah glukosa menjadi asam laktat sehingga dapat meningkatkan kadar protein.

Nilai pH

Nilai keasaman (pH) merupakan faktor yang menunjukkan tingkat atau derajat keasaman suatu produk. Semakin rendah nilai pH, semakin tinggi pula tingkat keasamannya. Ada banyak sekali faktor yang mempengaruhi nilai pH. Jenis bahan baku serta proses produksi Pada produk fermentasi, derajat keasaman akan menurun selama proses fermentasi. Hal ini disebabkan oleh aktivitas bakteri asam laktat. Allgeyer *et al.* (2010) menyebutkan bahwa selama proses fermentasi, bakteri asam laktat akan memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat. Adanya asam laktat inilah yang menyebabkan terjadinya peningkatan keasaman dan penurunan nilai pH. Analisis pH dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh kombinasi perlakuan terhadap nilai pH susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Rerata nilai pH dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil analisa menunjukkan bahwa nilai pH susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh berkisar antara 4,35 hingga 5,1. Nilai rerata pH pada semua perlakuan masih dapat dikategorikan sebagai pH yang baik untuk pertumbuhan BAL.

Tabel 3. Rerata Nilai pH

Kombinasi Perlakuan	Nilai pH
B1C1(Belimbing 25%, Starter 4%)	5,1 ± 0,30 a
B1C2(Belimbing 25%, Starter 6%)	5,0 ± 0,20 a
B1C3(Belimbing 25%, Starter 8%)	4,95 ± 0,15 a
B2C1(Belimbing 50%, Starter 4%)	4,7 ± 0,20 ab
B2C2(Belimbing 50%, Starter 6%)	4,4 ± 0,00 b
B2C3(Belimbing 50%, Starter 8%)	4,35 ± 0,05 b

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan pengaruh tidak beda nyata pada uji Tukey.

Tabel 3 menunjukkan bahwa semakin meningkatnya pemberian sari Belimbing Wuluh dan starter, maka nilai pH juga akan semakin menurun. Hal ini dapat terjadi kemungkinan karena adanya penambahan

nutrisi untuk bakteri asam laktat (BAL) yang berasal dari Belimbing Wuluh dan sukrosa yang ditambahkan saat proses pembuatan sari Belimbing Wuluh. Pektin pada minuman fermentasi merupakan serat larut yang dapat dimanfaatkan sebagai substrat untuk pertumbuhan bakteri asam laktat sehingga dapat memacu aktivitas pembentukan senyawa antimikroba dan menekan bakteri patogen (Rizal et al., 2020). Apabila nutrisi untuk BAL terpenuhi, maka BAL akan semakin banyak merombak nutrisi tersebut menjadi asam laktat yang akan menurunkan derajat keasaman (Sintasari *et al.*, 2014). pH produk fermentasi juga dapat dipengaruhi oleh pH awal produk sebelum fermentasi. Seperti yang diketahui bahwa Belimbing Wuluh merupakan salah satu buah yang memiliki rasa asam sehingga penambahan sari Belimbing Wuluh 50% (v/v) menyebabkan pH awal yang lebih rendah jika dibandingkan dengan penambahan sari Belimbing Wuluh 25% (v/v). Selain itu, adanya penambahan sukrosa pada proses pembuatan sari Belimbing Wuluh juga dapat mempengaruhi nilai pH produk fermentasi. Hal ini dikarenakan selama proses fermentasi, sukrosa yang merupakan nutrisi bagi BAL akan dirombak menjadi asam laktat yang bersifat asam, sehingga pH produk mengalami penurunan.

Adanya perbedaan konsentrasi penambahan bakteri starter juga dapat mempengaruhi nilai pH. Semakin tinggi konsentrasi penambahan bakteri starter, maka aktivitas bakteri dalam mengubah glukosa menjadi asam laktat juga semakin tinggi. Wardhani, Diana, dan Eko (2015) menyatakan bahwa asam laktat ($C_3H_6O_3$) merupakan komponen asam terbesar yang terbentuk dari hasil fermentasi oleh bakteri starter. Hal inilah yang menyebabkan nilai pH produk mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya konsentrasi bakteri starter yang ditambahkan.

Kadar gula

Hasil analisa kadar gula menunjukkan bahwa rata-rata kadar gula pada susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh

berkisar 7% sampai 8,2%. Secara statistik, perbedaan penambahan sari Belimbing Wuluh dan konsentrasi bakteri starter tidak berpengaruh nyata terhadap kadar gula susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Rerata viskositas pada berbagai kombinasi perlakuan ditunjukkan pada Tabel 4.

Kadar gula tertinggi diperoleh pada kombinasi perlakuan penambahan sari Belimbing 25% dan konsentrasi starter 8% (B1C3) yaitu 8,2% dan kadar gula terendah diperoleh pada kombinasi perlakuan penambahan sari Belimbing Wuluh 50% dan konsentrasi starter 4% (B2C1) yaitu 7%. Rerata kadar gula dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata kadar gula

Kombinasi Perlakuan	Rerata Kadar Gula (%)
B1C3(Belimbing 25%, Starter 4%)	8,2 ± 0,15 a
B1C1(Belimbing 25%, Starter 6%)	8,0 ± 0,30 a
B2C2(Belimbing 25%, Starter 8%)	7,9 ± 0,00 ab
B2C3(Belimbing 50%, Starter 4%)	7,8 ± 0,05 ab
B1C2(Belimbing 50%, Starter 6%)	7,4 ± 0,20 ab
B2C1(Belimbing 50%, Starter 8%)	7,0 ± 0,20 b

Keterangan: Notasi yang sama menunjukkan pengaruh tidak beda nyata pada uji Tukey.

Berdasarkan analisa sidik ragam, adanya perlakuan penambahan sari Belimbing Wuluh memberikan perbedaan nyata. Hal ini dikarenakan kandungan gula pada sari Belimbing Wuluh. Gula merupakan salah satu sumber nutrisi untuk bakteri asam laktat (BAL). Primurdia *et al.* (2014) menyatakan bahwa selama proses fermentasi, terjadi perombakan gula oleh bakteri asam laktat untuk metabolisme. Perbandingan air dan buah ketika proses pembuatan sari Belimbing Wuluh dapat menentukan nilai nutrisi pada substrat. Tingkat pengenceran yang rendah mengakibatkan nutrisi yang ada pada substrat semakin besar sehingga perombakan gula yang dilakukan oleh bakteri asam laktat semakin banyak (A'yuni, Nur, dan Viera, 2020).

Perlakuan perbedaan konsentrasi bakteri secara statistik juga memberikan pengaruh yang nyata. Bakteri asam laktat

memecah glukosa maupun gula-gula lainnya seperti laktosa, galaktosa, fruktosa, sukrosa, dan maltosa menjadi asam laktat selama proses fermentasi. Al-Fahrozi *et al.* (2017) menyatakan bahwa BAL memanfaatkan fruktosa dan glukosa pada sari buah yang ada pada minuman probiotik sebagai sumber karbon dan nitrogen untuk melakukan pertumbuhannya setelah dilakukan proses fermentasi.

Kadar gula dalam produk akan menurun selama proses fermentasi. Hal tersebut didukung oleh Purba, Bambang, dan Heni, (2018) yang menyatakan bahwa gula digunakan dalam proses fermentasi dan mengubah gula dalam bentuk glukosa menjadi alkohol. Interaksi kedua perlakuan secara statistik memberikan pengaruh yang nyata meskipun hasilnya tidak menunjukkan selisih yang nyata pada setiap nilai reratanya. Nilai rerata kadar gula dalam penelitian yang naik turun bisa jadi dikarenakan proses fermentasi yang kurang maksimal karena beberapa faktor.

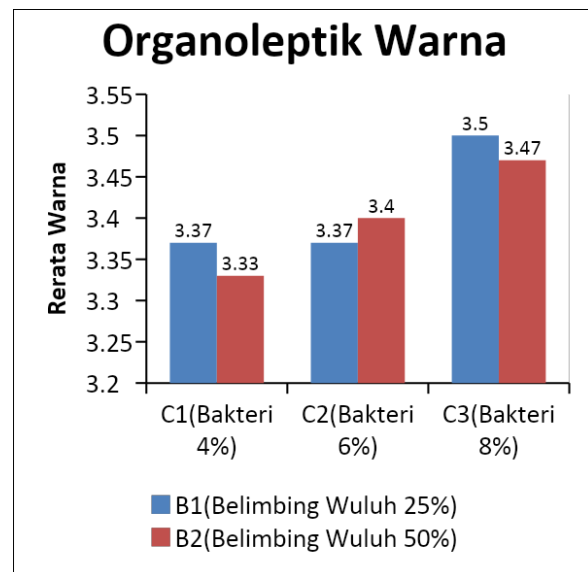
Organoleptik susu probiotik fortifikasi belimbing wuluh

Uji organoleptik merupakan teknik pengujian yang didasarkan pada proses penginderaan. Uji penerimaan tentang daya terima konsumen dengan menggunakan indera manusia bertujuan untuk mengukur warna, aroma, rasa, dan tekstur suatu produk.

Warna

Uji organoleptik warna dilakukan untuk mengetahui tingkat respon panelis tentang kesukaan terhadap warna susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Hasil uji friedman menunjukkan bahwa F tabel (11,07) lebih besar dari F hitung (0,95). Dari hasil pengujian tersebut dapat disimpulkan bahwa perbedaan penambahan sari Belimbing Wuluh dan konsentrasi starter tidak berpengaruh nyata terhadap warna susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Hal ini dapat terjadi karena tidak ada perlakuan penambahan bahan yang dapat mempengaruhi warna susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Warna keseluruhan susu probiotik fortifikasi

Belimbing Wuluh adalah putih. Hasil uji organoleptik warna pada susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Histogram warna

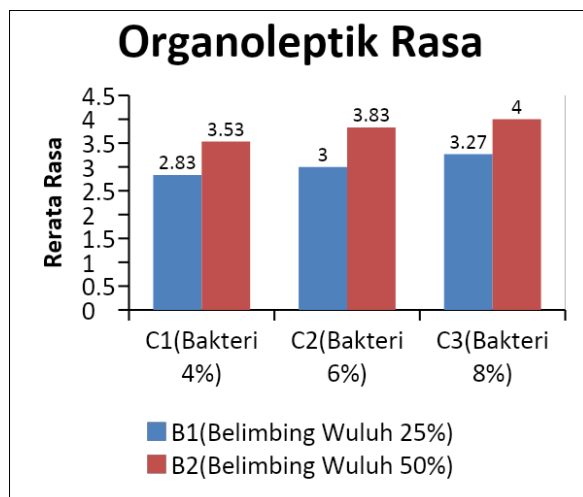
Tingkat kesukaan panelis terhadap warna susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh berkisar antara 3,33 (agak suka) hingga 3,5 (suka). Tingkat kesukaan terendah terhadap warna susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh terletak pada perlakuan B2C1 yaitu penambahan sari Belimbing Wuluh 50% dan penambahan starter 4%. Sedangkan tingkat kesukaan tertinggi terhadap warna susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh terletak pada perlakuan B1C3 yaitu penambahan sari Belimbing Wuluh 25% dan penambahan starter 8%.

Berdasarkan catatan panelis, produk susu fermentasi dengan penambahan sari Belimbing Wuluh 25% memiliki warna yang putih pekat, sedangkan pada penambahan sari Belimbing Wuluh 50% akan nampak warna putih sedikit kekuningan jika diperhatikan dengan seksama. Hal tersebut diduga karena konsentrasi penambahan sari Belimbing yang meningkat menghasilkan warna produk yang sedikit cerah kekuningan. Roikah *et al.* (2016) menyebutkan bahwa warna kekuningan pada produk diduga disebabkan oleh adanya

kandungan asam sitrat yang terkandung pada Belimbing Wuluh.

Rasa

Uji organoleptik rasa dilakukan untuk mengetahui tingkat respon panelis tentang kesukaan terhadap rasa yang dihasilkan oleh susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Hasil uji friedman menunjukkan bahwa F tabel (11,07) lebih kecil dari F hitung (31,20). Dari hasil pengujian tersebut dapat disimpulkan bahwa perbedaan penambahan sari Belimbing Wuluh dan konsentrasi starter berpengaruh nyata terhadap rasa susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Hasil uji organoleptik rasa pada susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Histogram rasa

Gambar 2 menunjukkan bahwa tingkat kesukaan panelis terhadap rasa susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh berkisar antara 2,83 (agak suka) hingga 4 (suka). Tingkat kesukaan terendah terhadap rasa susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh terletak pada perlakuan B1C1 yaitu penambahan sari Belimbing Wuluh 25% dan penambahan starter 4%. Sedangkan tingkat kesukaan tertinggi terhadap rasa susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh terletak pada perlakuan B2C3 yaitu penambahan sari Belimbing Wuluh 50% dan penambahan starter 8%.

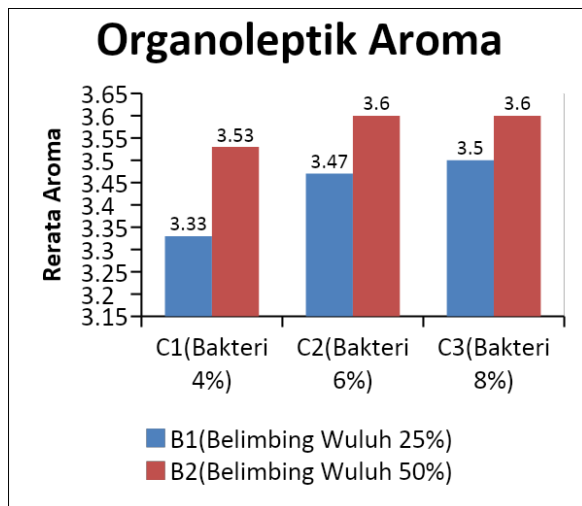
Menurut catatan panelis, panelis lebih menyukai perlakuan penambahan sari

Belimbing Wuluh 50% (B2) dengan rasa asam yang diimbangi dengan rasa manis karena proses penambahan sukrosa dilakukan saat proses pembuatan sari Belimbing Wuluh sehingga semakin banyak sari Belimbing Wuluh yang ditambahkan maka rasanya akan semakin manis. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hoppert *et al.* (2013) bahwa penambahan gula atau buah dapat meningkatkan rasa manis sehingga produk lebih disukai konsumen.

Hasil penilaian organoleptik rasa berkaitan dengan nilai pH. Selama proses fermentasi, ada beberapa senyawa penyebab flavor yang terbentuk antara lain asam laktat, asetaldehid, aseton, aseton, dan diasetil. Rumeen *et al.* (2018) menyatakan bahwa rasa pada minuman fermentasi disebabkan karena bakteri akan menghasilkan komponen flavor. Agustina *et al.* (2013) menunjukkan bahwa tingkat kesukaan panelis terhadap rasa sangat dipengaruhi oleh tingkat keasaman produk. Hal ini juga didukung oleh Lunggani, (2008) yang menyatakan bahwa rasa yang dihasilkan dari proses fermentasi produk diduga karena adanya penurunan pH Selama proses fermentasi dan kandungan laktosa yang diubah oleh BAL menjadi asam organik.

Aroma

Pengujian organoleptik aroma bertujuan untuk mengetahui tingkat respon panelis tentang kesukaan terhadap aroma yang dihasilkan oleh susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Hasil uji friedman menunjukkan bahwa F tabel (11,07) lebih besar dari F hitung (7,46). Dari hasil pengujian tersebut dapat disimpulkan bahwa perbedaan penambahan sari Belimbing Wuluh dan konsentrasi starter tidak berpengaruh nyata terhadap aroma susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Hasil uji organoleptik aroma pada susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh dapat dilihat pada Gambar 3.



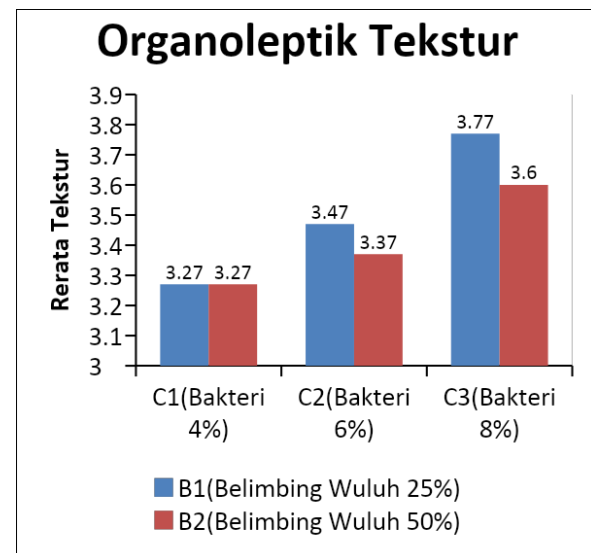
Gambar 3. Histogram aroma

Gambar 3 menunjukkan bahwa tingkat kesukaan panelis terhadap aroma susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh berkisar antara 3,33 (agak suka) hingga 3,6 (suka). Tingkat kesukaan terendah terhadap aroma susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh terletak pada perlakuan B1C1 yaitu penambahan sari Belimbing Wuluh 25% dan penambahan starter 4%. Sedangkan tingkat kesukaan tertinggi terhadap aroma susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh terletak pada perlakuan B2C2 yaitu penambahan sari Belimbing Wuluh 50% dan penambahan starter 6% dan B2C3 yaitu penambahan sari Belimbing Wuluh 50% dan penambahan starter 8%.

Pada penelitian ini, tidak ada pengaruh secara signifikan dari segi aroma. Berdasarkan catatan panelis, aroma yang tercium dari produk susu fermentasi adalah perpaduan aroma susu dan aroma Belimbing Wuluh yang gurih. Aroma pada suatu produk dapat terdeteksi ketika senyawa volatil yang masuk dan melewati saluran hidung dan diterima oleh sistem olfaktori dan diteruskan ke otak (Meutia *et al.*, 2015). Setiawati, V. R. dan Sari, P. (2020) menyebutkan bahwa komponen volatil yang berupa senyawa alpha-pinenadanetil (2E)-3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-2-propenoat memiliki peran dalam pembentukan aroma Belimbing Wuluh.

Tekstur

Uji organoleptik tekstur pada susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh bertujuan untuk mengetahui tingkat respon panelis tentang kesukaan terhadap tekstur yang dihasilkan dari beberapa kombinasi perlakuan. Hasil uji friedman menunjukkan bahwa F tabel (11,07) lebih kecil dari F hitung (21,19). Dari hasil pengujian tersebut dapat disimpulkan bahwa perbedaan penambahan sari Belimbing Wuluh dan konsentrasi starter berpengaruh nyata terhadap tekstur susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh. Hasil uji organoleptik tekstur pada susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh dapat dilihat pada Gambar 4.



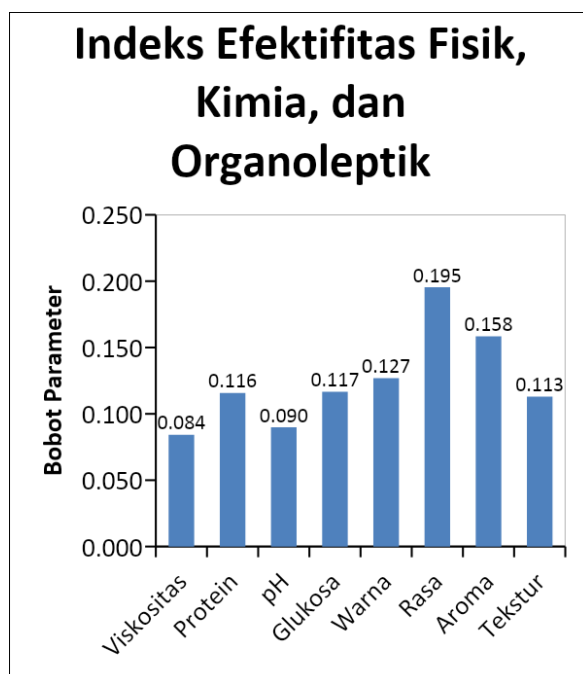
Gambar 4. Histogram tekstur

Gambar 4 menunjukkan bahwa tingkat kesukaan panelis terhadap tekstur susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh berkisar antara 3,27 (agak suka) hingga 3,77 (suka). Organoleptik tekstur yang diukur berdasarkan tingkat kekentalan produk berkaitan dengan nilai pH dan viskositas produk. Hal ini diduga berhubungan dengan adanya penambahan sari Belimbing Wuluh. Wibawanti dan Rinawidiastuti (2018) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi penambahan ekstrak buah menyebabkan kekentalan yang semakin tinggi. Selain itu, adanya perlakuan

konsentrasi bakteri juga memiliki pengaruh terhadap nilai organoleptik tekstur. Randazzo *et al.* (2015) menyatakan bahwa *Lactobacilli* dapat meningkatkan viskositas pada kefir. Semakin tinggi jumlah bakteri asam laktat yang ditambahkan, maka nilai pH semakin rendah dan diikuti dengan kenaikan nilai viskositas (Damunupola, 2014).

Perlakuan terbaik

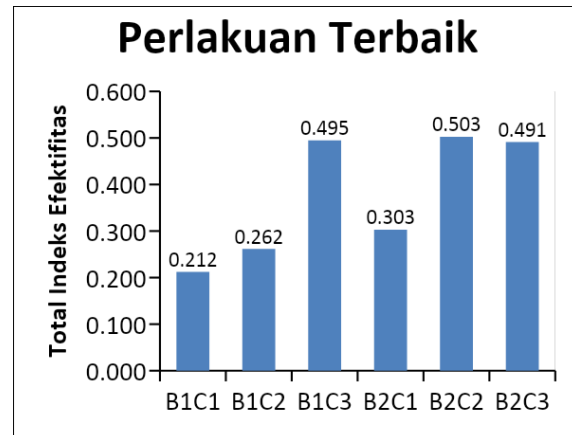
Penentuan perlakuan terbaik susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh dilakukan dengan menggunakan metode indeks efektifitas De Garmo. Metode ini digunakan pada parameter uji fisik meliputi viskositas, uji kimia meliputi kadar protein, nilai pH, dan kadar gula, serta uji organoleptik meliputi warna, rasa, aroma, dan tekstur. Bobot parameter tertinggi adalah parameter rasa (organoleptik) sebesar 0,195 diikuti oleh aroma (organoleptik) 0,158, warna (organoleptik) 0,127, kadar gula/glukosa 0,117, protein 0,116, tekstur (organoleptik) 0,113, nilai pH 0,090, dan terakhir viskositas sebesar 0,084. Bobot parameter dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Histogram bobot parameter

Gambar 5 menunjukkan parameter organoleptik rasa memiliki bobot parameter tertinggi yang diikuti dengan parameter

organoleptik aroma, warna, kadar gula, protein, tekstur, dan nilai pH. Bobot parameter terendah diperoleh oleh parameter fisik yaitu viskositas. Adapun penilaian untuk perlakuan terbaik susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Histogram perlakuan terbaik

Hasil perhitungan indeks efektifitas menunjukkan kombinasi perlakuan terbaik terletak pada penambahan sari Belimbing 50% dan starter 6% (B2C2) dengan nilai viskositas sebesar 0,036 Pa.s, kadar protein sebesar 0,37%, nilai pH sebesar 4,4, kadar gula sebesar 7,9%, warna (organoleptik) sebesar 3,4 (agak suka), rasa (organoleptik) sebesar 3,83 (suka), aroma (organoleptik) sebesar 3,6 (suka), dan tekstur (organoleptik) sebesar 3,37 (agak suka).

Preferensi panelis yang menitik-beratkan penilaian kesukaan susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh pada parameter organoleptik yang meliputi warna, rasa, aroma, dan tekstur menyebabkan perlakuan penambahan sari Belimbing 50% dan starter 6% (B2C2) menjadi lebih disukai jika dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Menurut catatan panelis, susu probiotik fortifikasi Belimbing Wuluh dengan proporsi penambahan sari Belimbing Wuluh 50% (v/v) dan konsentrasi bakteri starter 6% (v/v) memiliki rasa asam yang diimbangi dengan rasa manis, tekstur yang tidak terlalu kental, aroma yang gurih, serta warna putih yang cukup menarik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Adanya kombinasi perlakuan penambahan sari Belimbing Wuluh dan konsentrasi starter secara statistik berpengaruh nyata terhadap viskositas, nilai pH, kadar gula, organoleptik rasa, dan organoleptik warna, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap kadar protein terlarut, organoleptik warna, dan organoleptik tekstur. Proporsi sari Belimbing Wuluh dan konsentrasi bakteri starter terbaik terletak kombinasi perlakuan penambahan sari Belimbing 50% dan starter 6% (B2C2) dengan nilai viskositas sebesar 0,036 Pa.s, kadar protein sebesar 0,37%, nilai pH sebesar 4,4, kadar gula sebesar 7,9%, warna (organoleptik) sebesar 3,4 (agak suka), rasa (organoleptik) sebesar 3,83 (suka), aroma (organoleptik) sebesar 3,6 (suka), dan tekstur (organoleptik) sebesar 3,37 (agak suka).

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. (2012). *Official methods of analysis chemist.*, 19th edition. Inc., Washington.
- Agustina, L., Setyawardani, T., & Astuti, T. Y. (2013). Penggunaan starter biji kefir dengan konsentrasi yang berbeda pada susu sapi terhadap pH dan kadar asam laktat. *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 1(1), 254-259.
- Al Fahrozi, T., Pato, U., & Yusmarini, Y. (2017). Studi pembuatan minuman probiotik dari buah jambu air manis (*Syzygium samarangense*) menggunakan *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68 yang diisolasi dari dadih. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Pertanian*, 4(2), 1-14.
- Allgeyer, L. C., Miller, M. J., & Lee, S. Y. (2010). Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. *Journal of dairy science*, 93(10), 4471-4479.
- Andarwulan, N, Kusnandar, F, & Herawati, D. (2016). *Analisis pangan* (Edisi 1). Universitas Terbuka Tangerang Selatan.
- A'yuni, N. M., Hidaayah, N., & Pratiwi, V. N. R. (2020). Analisis perbedaan waktu fermentasi terhadap kadar probiotik dan aktivitas antioksidan pada minuman probiotik sari buah stroberi (*Fragaria ananassa*). *Sport and Nutrition Journal*, 2(2), 49-55.
- Damunupola, D. A. P. R., Weerathilake, W. A. D. V., & Sumanasekara, G. S. (2014). Evaluation of quality characteristics of goat milk yogurt incorporated with beetroot juice. *International journal of scientific and research publications*, 4(10), 1-5.
- Daubert, C. R., & Farkas, B. E. (2013). *Food analysis laboratory: viscosity measurement using a brookfield viscometer*. 139-142. Springer USA.
- Dong, J. Y., Szeto, I. M., Makinen, K., Gao, Q., Wang, J., Qin, L. Q., & Zhao, Y. (2013). Effect of probiotic fermented milk on blood pressure: a meta-analysis of randomised controlled trials. *British Journal of Nutrition*, 110(7), 1188-1194.
- Estiasih, T., Novita. Wijayanti. I. P., Wenny. B. S., Mochammad. N., Feronika. H. S., Jaya. M. Maligan. J. M., & Irma. S. R. (2012). *Modul praktikum biokimia & analisis pangan*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Kumar, A. S., Kavimani, S., & Jayaveera, K. N. (2011). A review on medicinal plants with potential antidiabetic activity. *International Journal of Phytopharmacology*, 2(2), 53-60.
- Lestari, M. W., V. Priyo Bintoro, & Heni Rizqiati. (2018). Pengaruh lama fermentasi terhadap tingkat keasaman, viskositas, kadar alkohol, dan mutu hedonik kefir air kelapa. *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(1), 8-13.
- Listiyani, A. K. (2019). *Analisis kadar nitrogen terlarut hasil hidrolisis udang menggunakan enzim protease usus*

- ayam [Tugas Akhir]. Jember. Universitas Jember.
- Lunggani, A. T. (2008). Penggunaan kultur campuran bakteri asam laktat untuk produksi minuman fermentasi dari sari belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Sains dan Matematika*, 16(03), 144-148.
- Nehemya, D., Lubis, L. M., & Nainggolan, R. J. (2017). Pengaruh konsentrasi gula merah dan konsentrasi starter terhadap mutu minuman sinbiotik sari buah sukun. *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*, 5(2), 275-283.
- Nihayah, I. (2015). *Pengaruh konsentrasi starter terhadap kualitas kefir susu sapi dan pemanfaatannya sebagai penurun kadar kolesterol darah mencit* [Tugas Akhir]. Malang (Indonesia): Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Norlia, M., Siti, A. M., Mashitah, M. Y. & Jolius, G. (2014). Influence of solvent polarity and conditions on extraction of antioxidants, flavonoids and phenolic content from *Averrhoa bilimbi*. *Journal Food Science Engineering*, 4, 255-260.
- Patel, S. S., Shah, R. S., & Goyal, R. K. (2009). Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of Dihar, a polyherbal ayurvedic formulation in streptozotocin induced diabetic rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 47, 564-570.
- Patil, A. G., Patil, D. A., Phatak, A. V., & Chandra, N. (2010). Physical and chemical characteristics of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit at three stages of maturity. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 1(2), 624-629.
- Primurdia, Elke Galuh & Joni Kusnadi. (2014). Aktivitas antioksidan minuman probiotik sari kurma (*Phoenix dactylifera* L.) dengan isolat *L. plantarum* dan *L. casei*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(3), 98-109.
- Purba, A. P., Dwiloka, B., & Rizqiati, H. (2018). Pengaruh lama fermentasi terhadap total bakteri asam laktat (BAL), viskositas, aktivitas antioksidan, dan organoleptik water kefir anggur merah (*Vitis vinifera* L.). *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(1), 1-10.
- Purbasari, A., & Abduh, S. B. M. (2013). Nilai pH, kekentalan, citarasa, dan kesukaan pada susu fermentasi dengan perisa alami jambu air (*Syzygium* Sp.). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 3(4), 174-177.
- Randazzo, W., O. Corona, R. Guarcello, N. Francesca, M. A. Germana, H. Erten, G. Moschetti, & L. Settani. (2015). Development of new non-dairy beverages from mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiology*, 54(2), 40-51.
- Rismawati, F. (2015). *Pengaruh perbandingan air dengan buah salak dan konsentrasi penstabil terhadap karakteristik minuman sari buah salak bongkok (Salacca Edulis, Reinw)* [Tesis]. Universitas Pasundan Bandung.
- Rizal, S., Erna, M., Nurainy, F., & Tambunan, A. R. (2016). Karakteristik probiotik minuman fermentasi laktat sari buah nanas dengan variasi jenis bakteri asam laktat. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia (Indonesian Journal of Applied Chemistry)*, 18(01), 63-71.
- Rizal, S., Udayana, S., & Suharyono, S. (2020). Kajian potensi sari kulit buah nanas yang difermentasi dengan *Lactobacillus casei* sebagai minuman probiotik secara in vivo. *Jurnal Agroindustri*, 10(1), 12-20.
- Roikah, S., Rengga, W. D. P., Latifah, L., & Kusumastuti, E. (2016). Ekstraksi dan karakterisasi pektin dari belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi*, L). *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 5(1), 29-36.
- Rumeen, S. F., Yelnetty, A., Tamasoleng, M., & Lontaan, N. (2017). Penggunaan

- level sukrosa terhadap sifat sensoris kefir susu sapi. *Zootec*, 38(1), 123-130.
- Setiawati, V. R., & Sari, P. (2020). Pengaruh penambahan ekstrak belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap karakteristik fisik, masa simpan, dan organoleptik permen jelly daun kersen. *Jurnal Agrotek Ummat*, 7(2), 81-88.
- Sintasari, R. A., Kusnadi, J., & Ningtyas, D. W. (2013). Pengaruh penambahan konsentrasi susu skim dan sukrosa terhadap karakteristik minuman probiotik sari beras merah. *Jurnal pangan dan Agroindustri*, 2(3), 65-75.
- Tsai, Y. T., Cheng, P. C., & Pan, T. M. (2012). The immunomodulatory effects of lactic acid bacteria for improving immune functions and benefits. *Applied microbiology and biotechnology*, 96(4), 853-862.
- Utami, C. R. (2018). Karakteristik minuman probiotik fermentasi *Lactobacillus casei* dari sari buah salak. *Jurnal Teknologi Pangan*, 9(1), 1-9.
- Wardhani, D. H., Diana, C. M., & Eko, A. P. (2015). Kajian pengaruh cara pembuatan susu jagung, rasio dan waktu fermentasi terhadap karakteristik yoghurt jagung manis. *Momentum*, 11(1), 7-12.
- Wibawanti, J. M. W., & Rinawidiastuti, R. (2018). Sifat fisik dan organoleptik yogurt drink susu kambing dengan penambahan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak (JITEK)*, 13(1), 27-37.
- Yoo, S. H., Seong, K. S., & Yoon, S. S. (2013). Physicochemical properties of kefir manufactured by a two-step fermentation. *Food Science of Animal Resources*, 33(6), 744-751.
- Zainuddin. (2014). Pengaruh konsentrasi starter dan lama fermentasi terhadap mutu yoghurt sari kedelai. *Jurnal Agrina*, 1(1), 14-22.