

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT, SIFAT FISIK DAN TINGKAT PENERIMAAN YOGHURT ALMOND (*Prunus dulcis*) SEBAGAI PRODUK PROBIOTIK ALTERNATIF BAGI PENDERITA AUTIS

Syahrani Aulia Lubis, Gemala Anjani^{*)}

Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
Jln. Prof. H. Soedarto, SH., Semarang, Telp (024) 8453708, Email : gizifk@undip.ac.id

ABSTRACT

Background : Autism spectrum disorders (ASD) are a set of complex neurodevelopmental disorders which is followed by digesting disorders and restricted some nutrients intake such as gluten and casein. The gluten-free and casein-free (GFCF) diet is widely used by families of children with autism spectrum disorder (ASD). Diarrhea and constipation are indigestion which is often experienced by people with ASD so that it will really impactful to create a safe and alternative probiotic products for them. This study aims to analyze antioxidant activity, total lactic acid bacteria, pH, viscosity and acceptance rate of almond yogurt.

Methods : Experimental research with a completely randomized design of two factors, yoghurt almond (concentration of the filtrate 10% and 20%) with the treatment addition 0% and 8% orange juice. Statistical analysis of antioxidant activity, total lactic acid bacteria, pH and viscosity used Two-Way ANOVA 95% while acceptance rate using Friedman test and the Wilcoxon test for further analysis.

Results : Almond yogurt 20% with the addition of 8% orange juice had the highest level of antioxidant activity (49%) while the highest total lactic acid bacteria and viscosity found in almond yogurt 20% without addition of orange juice; 1.68×10^8 CFU/ml and 6.88 cP, respectively. For almond yogurt acceptance rate showed that almond yogurt 10% with addition of orange juice 8% had the highest mean value with the value of each following categories as follow 3.36 (flavor), 3.84 (colour), 3.54 (taste), and 3.48 (viscosity).

Conclusion : There was no significant effects between almond filtrate formulations and the addition of orange juice towards antioxidant activity, total lactic acid bacteria, pH and viscosity of the almond yogurt. In addition, there was significant effects of addition orange juice towards increased acceptance rate of almond yogurt in the categories of colour, taste and viscosity.

Keywords: antioxidant activity, total lactic acid bacteria, pH, viscosity, casein-free diet.

ABSTRAK

Latar Belakang : Autism spectrum disorders (ASD) merupakan gangguan neurodevelopment berat yang diikuti dengan adanya keterbatasan dalam mencerna beberapa zat gizi diantaranya yaitu gluten dan kasein. Diet bebas gluten dan kasein seringkali diterapkan oleh keluarga yang memiliki anak dengan kondisi ASD. Gangguan pencernaan yang sering dialami oleh penderita ASD yaitu diare dan konstipasi sehingga diperlukan adanya produk probiotik alternatif yang aman bagi penderita ASD. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan, total bakteri asam laktat, pH, viskositas dan tingkat penerimaan yoghurt almond.

Metode : Penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap dua faktor yaitu yoghurt almond (filtrat almond 10% dan 20%) serta perlakuan penambahan sari buah jeruk (0% dan 8%). Analisis statistik aktivitas antioksidan, total bakteri asam laktat, pH dan viskositas menggunakan uji two way ANOVA 95%, sedangkan tingkat penerimaan menggunakan uji friedman dengan uji lanjut wilcoxon.

Hasil : Yoghurt almond 20% dengan penambahan sari buah jeruk 8% memiliki aktivitas antioksidan tertinggi sebesar 49%, sedangkan total bakteri asam laktat dan viskositas tertinggi terdapat pada yoghurt almond 20% tanpa penambahan sari buah jeruk dengan nilai berturut-turut yaitu $1,68 \times 10^8$ CFU/ml dan 6,88 cP. Yoghurt almond 10% dengan penambahan sari buah jeruk 8% memiliki nilai rerata tertinggi untuk aroma (3.36), warna (3.84), rasa (3.54) dan viskositas (3.48).

Simpulan : Tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara formulasi filtrat almond dan penambahan sari buah jeruk terhadap aktivitas antioksidan, total bakteri asam laktat, pH dan viskositas pada yoghurt almond. Selain itu, terdapat pengaruh formulasi filtrat almond dan penambahan sari buah jeruk terhadap mutu organoleptik yoghurt pada kategori warna, rasa dan juga viskositas.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, total bakteri asam laktat, pH, viskositas, casein-free diet..

PENDAHULUAN

Autism Spectrum Disorder (ASD) merupakan gangguan neurodevelopment berat dengan onset usia kurang dari 3 tahun. Gangguan perkembangan ini ditandai dengan adanya

keterbatasan dari segi komunikasi baik verbal maupun non verbal, gangguan interaksi sosial, keterbatasan dan pengulangan perilaku tertentu serta berbagai gejala lainnya.¹ Kondisi seperti ini terjadi sejak masa kanak-kanak hingga dewasa dan

^{*)} Penulis Penanggungjawab

dapat berpengaruh terhadap proses pembelajaran dan integrasi sosial. Berdasarkan laporan dari *Central for Disease Control and Prevention* (CDC) di Amerika, telah terjadi peningkatan prevalensi autis menjadi 20% dalam kurun waktu satu tahun terakhir ini. Hal tersebut tidak hanya terjadi di negara-negara maju seperti Inggris, Amerika dan negara maju lainnya namun juga terjadi peningkatan di negara berkembang salah satunya yaitu Indonesia. Pada tahun 2010, penderita *Autism Spectrum Disorder* (ASD) mencapai 2,4 juta jiwa.² Dengan laju pertumbuhan 1,14% dan jumlah penduduk Indonesia pada tahun tersebut berjumlah 237,5 juta jiwa maka diperkirakan tiap tahunnya prevalensi penderita autis bertambah sekitar 9.000 dari total 6.000.000 kelahiran.³

Penderita *Autism Spectrum Disorder* (ASD) memiliki keterbatasan dalam mencerna zat gizi tertentu seperti gluten dan kasein. Keterbatasan dalam mencerna kedua zat gizi tersebut erat kaitannya dengan ketidak-mampuan tubuh dalam metabolisme peptida sehingga terjadi peningkatan peptida opioid pada kadar urin yang dimungkinkan sebagai salah satu *biomarker* dari gangguan tersebut.⁴ Selain sensitif terhadap beberapa jenis protein, penderita *Autism Spectrum Disorder* (ASD) cenderung memiliki kadar plasma glutathion 20-40% lebih rendah dibanding individu pada umumnya. Glutathion merupakan antioksidan yang disintesis secara intraseluler, meski begitu glutathion juga terdapat pada bahan makanan seperti sayur dan buah-buahan. Sehingga, salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menangani gangguan ASD ini yaitu melalui penanganan diet khusus berupa pembatasan asupan gluten dan juga kasein. Pembatasan asupan gluten dan kasein ini diketahui memiliki korelasi positif terhadap penurunan gangguan *gastrointestinal* dan perbaikan perilaku pada penderita ASD.⁵

Almond dikenal sebagai salah satu bahan baku alternatif dalam pembuatan produk nabati karena memiliki resiko yang kecil terhadap terjadinya alergi pada individu dengan kondisi khusus. Kandungan senyawa antioksidan berupa flavonol dan flavon-3-ols yang terdapat pada kacang almond memiliki banyak manfaat pada saluran pencernaan serta dapat menjadi antivirus, anti-inflamasi, anti-alergi, anti-mutagenik, anti-kanker dan juga anti-kolesterol.^{6,7} Senyawa antioksidan ini dapat menekan terjadinya peningkatan stres oksidatif pada individu dengan kondisi ASD. Selain itu, kandungan serat yang terdapat pada almond ini juga memiliki potensi prebiotik sehingga cocok digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan yoghurt nabati.⁸ Sedangkan

jeruk manis (*Citrus sinensis* Linn Osbeck) merupakan salah satu buah yang sering dikonsumsi oleh masyarakat terutama di wilayah Asia Tenggara. Buah dengan rasa manis ini dikenal sebagai salah satu buah yang mengandung antioksidan jenis glutathion, antioksidan alami yang mampu meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan mencegah kerusakan sel akibat aktifitas molekul radikal bebas. Sebanyak 14,3% orang dengan usia antara 2-19 tahun juga memiliki kecenderungan untuk mengkonsumsi jus jeruk dibandingkan dengan jus buah lainnya.⁹

Pada penelitian ini dilakukan penambahan sari buah jeruk manis pada yoghurt almond yang diharapkan dapat menambah nilai sensoris dan juga nilai gizi pada produk yoghurt bebas kasein tersebut. Sedangkan pemilihan jenis produk berupa yoghurt didasarkan pada kebutuhan penderita *Autism Spectrum Disorder* (ASD) terhadap produk minuman fungsional yang tidak hanya dapat diterima secara sensoris namun juga memiliki manfaat kesehatan yaitu untuk menekan gangguan pencernaan dan juga memberikan minuman yang memiliki kandungan antioksidan yang dibutuhkan oleh individu *Autism Spectrum Disorder* (ASD). Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian mengenai pengaruh substitusi kacang almond dan penambahan sari buah jeruk manis terhadap aktivitas antioksidan, total bakteri asam laktat, sifat fisik (pH dan viskositas) serta tingkat penerimaan yoghurt almond dengan penambahan sari buah jeruk sebagai produk minuman alternatif bagi penderita *Autism Spectrum Disorder* (ASD).

METODE

Penelitian yang dilakukan termasuk dalam bidang *food production*. Penelitian dilaksanakan pada bulan April hingga Juni 2016 di UPT Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap dua faktor, yaitu yoghurt almond (konsentrasi filtrat almond 10% dan 20%) dengan perlakuan penambahan sari buah jeruk (0% dan 8%). Penetapan konsentrasi filtrat almond dan penambahan sari buah jeruk didasarkan pada penelitian sebelumnya yakni 20% untuk konsentrasi filtrat almond dan 8% sari buah jeruk.^{10,11} Diperoleh 4 kelompok perlakuan yang disimbolkan dengan T₀ (yoghurt almond 20% dan sari buah jeruk 0%), T₁ (yoghurt almond 10% dan sari buah jeruk 0%), T₂ (yoghurt almond 20% dan sari buah jeruk 8%) dan T₃ (yoghurt almond 10% dan sari buah jeruk 8%). Tiap kelompok perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali meliputi analisis aktivitas antioksidan (% inhibisi), total bakteri asam laktat, kadar keasaman (pH), dan

tingkat kekentalan (viskositas). Sedangkan pengujian tingkat penerimaan produk dilakukan pada 25 panelis agak terlatih dan telah dilaksanakan di Kampus Program Studi Ilmu Gizi Universitas Diponegoro.

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data variabel *dependent* berupa aktivitas antioksidan, total bakteri asam laktat, sifat fisik yang meliputi pH dan viskositas serta tingkat penerimaan yoghurt almond. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan melalui metode *Diphenilpicryhidrazil* (DPPH), pengujian total bakteri asam laktat digunakan metode hitungan cawan, uji pH menggunakan metode elektrometri dan metode Ostwald untuk pengujian viskositas. Sedangkan tingkat penerimaan produk menggunakan uji hedonik dengan 5 skala, yaitu 1 = sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = netral, 4 = suka dan 5 = sangat suka.

Subjek dalam penelitian ini adalah yoghurt almond dan sari buah jeruk. Filtrat almond yang digunakan dalam pembuatan yoghurt almond didapat dari kacang almond mentah yang masih memiliki kulit pelapis dan dibeli secara online melalui www.tokopedia.com. Sedangkan sari buah jeruk yang digunakan berasal dari buah jeruk manis lokal (*Citrus sinensis* L. *Osbeck*) yang dibeli di pasar tradisional Kota Semarang. Pembuatan yoghurt almond dilakukan dengan cara kacang almond mentah direndam pada air hangat selama 8 jam. Setelah proses perendaman selesai selanjutnya

kacang almond ditiriskan dan ditambahkan kembali air matang untuk dihaluskan menggunakan *blender*. Kemudian dilakukan penyaringan menggunakan saringan hingga didapat filtrat almond yang sudah bersih dari ampas kacang almond. Setelah itu, filtrat yang ada harus dipanaskan pada suhu pasteurisasi yaitu antara 70-80°C dengan api kecil selama \pm 3 menit. Filtrat almond yang telah dipasteurisasi kemudian suhunya diturunkan hingga mencapai suhu antara 40-45°C, kemudian ditambahkan mikroorganisme sebagai starter yoghurt (*Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Streptococcus thermophilus*) lalu difermentasikan selama 6 jam setelah itu baru ditambahkan sari buah jeruk manis. Kemudian yoghurt almond yang sudah ditambahkan sari buah jeruk, ditambah lagi waktu fermentasinya selama 3 jam.

Data aktivitas antioksidan, total bakteri asam laktat, dan sifat fisik yang meliputi pH dan viskositas dianalisis menggunakan *two way ANOVA*. Sedangkan data tingkat penerimaan produk dianalisis menggunakan uji *Friedman* dengan uji lanjut menggunakan uji *Wilcoxon* untuk melihat beda nyata antar kelompok.

HASIL

1. Aktivitas Antioksidan (% inhibisi)

Hasil analisis aktivitas antioksidan (% inhibisi) yoghurt almond dengan penambahan sari buah jeruk dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan (% inhibisi) Yoghurt Almond dengan Penambahan Sari Buah Jeruk

Perlakuan	Aktivitas Antioksidan (%)
Filtrat almond 10% + 0% sari buah jeruk	40.0 \pm 18.02**
Filtrat almond 10% + 8% sari buah jeruk	36.0 \pm 20.22**
Filtrat almond 20% + 0% sari buah jeruk	41.5 \pm 16.48**
Filtrat almond 20% + 8% sari buah jeruk	49.0 \pm 15.13**

Keterangan: tanda (*) menunjukkan perbedaan yang signifikan sedangkan (**) menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan

Aktivitas antioksidan pada penelitian ini diukur dengan menggunakan metode DPPH (2,2 *dhipenyl-1-pycrilhidrazyl*) dengan indikator % inhibisi. Berdasarkan hasil analisis, aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada yoghurt almond dengan konsentrasi 20% dan penambahan sari buah jeruk 8% (v/v) yaitu dengan nilai sebesar 49%. Melalui hasil uji *Two Way ANOVA* dinyatakan bahwa tidak

terdapat pengaruh bermakna ($p=0.867$) penambahan sari buah jeruk pada yoghurt almond terhadap aktivitas antioksidan yoghurt almond.

2. Total Bakteri Asam Laktat

Hasil analisis total bakteri asam laktat yoghurt almond dengan penambahan sari buah jeruk dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis Total Bakteri Asam Laktat Yoghurt Almond dengan Penambahan Sari Buah Jeruk

Perlakuan	Total BAL (CFU/ml)
Filtrat almond 10% + 0% sari buah jeruk	1.29E7 ± 0.74E7**
Filtrat almond 10% + 8% sari buah jeruk	6.27E6 ± 5.72E6**
Filtrat almond 20% + 0% sari buah jeruk	1.68E8 ± 1.13E8**
Filtrat almond 20% + 8% sari buah jeruk	2.08E7 ± 1.53E7**

Keterangan: tanda (*) menunjukkan perbedaan yang signifikan sedangkan (**) menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan

Kandungan total bakteri asam laktat pada penelitian ini diukur dengan menggunakan metode hitungan cawan atau *Total Plate Count* (TPC). Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa total bakteri asam laktat tertinggi terdapat pada yoghurt almond 20% tanpa penambahan sari buah jeruk yaitu $1,68 \times 10^8$ CFU/ml, sedangkan pada yoghurt almond 10% dengan 8% penambahan sari buah jeruk tidak memenuhi syarat sebagai probiotik karena jumlah koloni

bakteri asam laktat $< 10^7$. Hasil uji *Two Way ANOVA* menyatakan bahwa tidak terdapat pengaruh yang bermakna ($p=0.371$) penambahan sari buah jeruk pada yoghurt almond terhadap total bakteri asam laktat yoghurt almond.

3. Kadar Keasaman (pH)

Hasil analisis kadar keasaman (pH) yoghurt almond dengan penambahan sari buah jeruk dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Analisis Kadar Keasaman (pH) Yoghurt Almond dengan Penambahan Sari Buah Jeruk

Perlakuan	pH
Filtrat almond 10% + 0% sari buah jeruk	4.298 ± 3.748**
Filtrat almond 10% + 8% sari buah jeruk	4.195 ± 3.645**
Filtrat almond 20% + 0% sari buah jeruk	4.418 ± 3.868**
Filtrat almond 20% + 8% sari buah jeruk	4.311 ± 3.761**

Keterangan: tanda (*) menunjukkan perbedaan yang signifikan sedangkan (**) menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan

Untuk mengukur kadar keasaman pada penelitian ini menggunakan metode elektrometri dengan alat ukur pH meter. Seperti ditunjukkan pada Tabel 3, dapat disimpulkan bahwa kadar keasaman tertinggi terdapat pada yoghurt almond dengan formulasi filtrat 10% dengan penambahan 8% (v/v) sari buah jeruk. Hal ini disebabkan oleh penambahan waktu inkubasi selama 3 jam setelah ditambahkan sari buah jeruk sehingga mengakibatkan monosakarida yang terdapat dalam sari buah jeruk dimanfaatkan oleh bakteri asam laktat pada yoghurt almond, sehingga terbentuk asam laktat yang

lebih banyak dan menyebabkan suasana menjadi asam (pH turun). Keempat hasil pengukuran pH sampel ini telah sesuai dengan standar SNI yoghurt yaitu pH mencapai 4,0. Sedangkan berdasar hasil uji *Two Way ANOVA* dinyatakan bahwa penambahan sari buah jeruk tidak memberikan pengaruh yang bermakna terhadap penurunan pH yoghurt almond ($p=0.210$).

4. Viskositas

Hasil analisis viskositas yoghurt almond dengan penambahan sari buah jeruk dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Analisis Viskositas Yoghurt Almond dengan Penambahan Sari Buah Jeruk

Perlakuan	Viskositas
Filtrat almond 10% + 0% sari buah jeruk	0.0454 ± 0.0123**
Filtrat almond 10% + 8% sari buah jeruk	0.0424 ± 0.0080**
Filtrat almond 20% + 0% sari buah jeruk	0.0688 ± 0.0387**
Filtrat almond 20% + 8% sari buah jeruk	0.0684 ± 0.0390**

Keterangan: tanda (*) menunjukkan perbedaan yang signifikan sedangkan (**) menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan

Metode pengukuran viskositas yang digunakan dalam menilai kekentalan yoghurt ini yaitu metode gravimetri. Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa yoghurt almond dengan tingkat kekentalan terendah yaitu yoghurt almond 10% dan penambahan sari buah jeruk 8% (v/v) dengan nilai viskositas 0.0424 cm²/s. Penurunan nilai viskositas disebabkan oleh bertambahnya volume cairan pada yoghurt yang berasal dari sari buah jeruk tersebut. Sedangkan viskositas tertinggi terdapat pada yoghurt almond 20% tanpa penambahan sari buah jeruk. Sementara itu, hasil uji *Two Way ANOVA* menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang bermakna dari penambahan

sari buah jeruk terhadap viskositas yoghurt almond (p=0.921).

5. Mutu Organoleptik

Mutu organoleptik yoghurt almond diketahui melalui uji organoleptik yang dilakukan oleh 25 orang panelis agak terlatih. Penilaian ini didasarkan pada warna, aroma, rasa dan tingkat kekentalan/viskositas produk. Berdasarkan uji normalitas data diperoleh bahwa data berdistribusi tidak normal sehingga dilakukan uji *Friedman* kemudian dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon* apabila p<0.05 untuk mengetahui beda nyata antar kelompok perlakuan.

Tabel 6. Hasil Analisis Mutu Organoleptik Yoghurt Almond dengan Penambahan Sari Buah Jeruk

Perlakuan	Kategori				Rata-rata
	Aroma	Warna	Rasa	Kekentalan	
Filtrat almond 20% + 0% sari buah jeruk	3.12 ± 1.36 ^a (netral)	3.96 ± 1.09 ^b (suka)	2.44 ± 1.55 ^a (tidak suka)	3.52 ± 1.35 ^b (suka)	3.26 (netral)
Filtrat almond 10% + 0% sari buah jeruk	2.92 ± 1.25 ^a (netral)	3.00 ± 1.25 ^a (netral)	2.60 ± 1.04 ^a (netral)	2.40 ± 1.04 ^a (tidak suka)	2.73 (netral)
Filtrat almond 20% + 8% sari buah jeruk	3.32 ± 1.11 ^a (netral)	3.88 ± 0.88 ^b (suka)	3.36 ± 1.35 ^b (netral)	3.54 ± 1.12 ^b (suka)	3.52 (suka)
Filtrat almond 10% + 8% sari buah jeruk	3.36 ± 0.95 ^a (netral)	3.84 ± 0.98 ^b (suka)	3.54 ± 1.22 ^b (suka)	3.48 ± 1.04 ^b (netral)	3.55 (suka)
	p=0.620	p=0.020	p=0.008	p=0.000	

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf *superscript* berbeda (a, b, c) menunjukkan beda nyata pada kolom yang sama.

a. Aroma

Berdasarkan uji organoleptik diketahui bahwa aroma yang paling disukai oleh panelis yaitu yoghurt almond 10% dengan penambahan 8% (v/v) sari buah jeruk. Sedangkan yoghurt almond 10% tanpa penambahan sari jeruk merupakan sampel yang paling tidak disukai oleh panelis. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penambahan sari buah jeruk ini mampu meningkatkan daya terima panelis terhadap yoghurt almond tersebut walaupun tidak terdapat perbedaan yang signifikan (p=0.620) antar kelompok perlakuan.

b. Warna

Warna yoghurt almond dengan nilai rerata tertinggi terdapat pada yoghurt

almond dengan konsentrasi filtrat almond 20% tanpa penambahan sari buah jeruk. Sedangkan nilai rerata terendah berdasarkan kategori warna yaitu yoghurt almond 10% tanpa penambahan sari buah jeruk. Hasil uji statistik juga menunjukkan adanya beda nyata (p=0.020) antar kelompok perlakuan.

c. Rasa

Berdasarkan uji organoleptik diketahui bahwa nilai rerata tertinggi pada kategori rasa terdapat pada varian sampel yoghurt almond 10% dan penambahan sari buah jeruk sebanyak 8% (v/v). Sedangkan nilai rerata terendah terdapat pada yoghurt almond 20% tanpa penambahan sari buah jeruk,

sehingga dapat disimpulkan bahwa penambahan sari buah jeruk mampu meningkatkan penerimaan panelis terhadap produk. Ditemukan juga adanya perbedaan yang bermakna ($p=0.008$) antar kelompok perlakuan.

- d. Kekentalan/Viskositas
Yoghurt almond 20% dengan penambahan sari buah jeruk 8% (v/v) merupakan kelompok perlakuan yang paling disukai oleh panelis dari kategori kekentalan/viskositas. Sedangkan yoghurt almond 10% tanpa penambahan sari buah jeruk merupakan kelompok perlakuan yang memiliki nilai rerata terendah diantara kelompok perlakuan lainnya. Berdasarkan uji statistik juga ditemukan adanya perbedaan yang bermakna ($p=0.000$) antar kelompok perlakuan.

PEMBAHASAN

Aktivitas Antioksidan

Penambahan sari buah jeruk sebanyak 8% (v/v) pada yoghurt almond dengan berbagai variasi filtrat (20% dan 10%) tidak berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan aktivitas antioksidan. Hasil analisa aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan (% inhibisi) tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan yoghurt almond 20% dengan penambahan sari buah jeruk 8% dengan nilai rerata 49%. Apabila dilihat pada tabel 1, terdapat perbedaan antara yoghurt almond 10% dan 20% sebelum dan sesudah perlakuan. Pada perlakuan penambahan sari buah jeruk 8% dalam yoghurt almond 10% menyebabkan adanya penurunan aktivitas antioksidan dari yang mulanya sebelum ditambahkan sari buah jeruk bernilai 40% kemudian turun menjadi 36% setelah ditambah sari buah jeruk. Sedangkan hal yang berbeda juga terjadi pada yoghurt almond 20% setelah dilakukan penambahan sari buah jeruk 8% dimana terjadi peningkatan nilai aktivitas antioksidan dari yang mulanya 41,5% kemudian meningkat menjadi 49%. Hal ini dimungkinkan disebabkan karena adanya kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang berbeda pada yoghurt almond dengan konsentrasi filtrat 10% dan 20%. Pada yoghurt almond dengan konsentrasi filtrat 10% memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang lebih rendah apabila dibandingkan dengan yoghurt almond konsentrasi filtrat 20%.

Flavonoid merupakan senyawa antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas.²⁷ Flavonoid mampu menstabilkan *reactive oxygen species* (ROS) dengan cara bereaksi dengan komponen senyawa radikal yang reaktif, hal ini disebabkan oleh tingginya reaktivitas kelompok hidroksil dalam flavonoid sehingga radikal bebas dibuat menjadi tidak aktif. Semakin banyak kandungan flavonoid dalam suatu bahan makanan maka semakin meningkat juga fungsi dari antioksidan endogen yang ada.²⁶ Menurut Rezaeizadeh, flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan dikarenakan memiliki gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogen kepada senyawa radikal bebas dan menstabilkan senyawa oksigen reaktif (ROS).³⁰ Sejalan dengan hal tersebut, komponen antioksidan lainnya berupa polifenol juga berpotensi meningkatkan aktivitas antioksidan dalam suatu bahan makanan.^{28,29}

Perlakuan penambahan sari buah jeruk pada yoghurt almond dalam penelitian ini juga diiringi dengan penambahan waktu inkubasi pada yoghurt almond. Suhu inkubasi yang berkisar antara 40-45°C dimungkinkan sebagai salah satu faktor yang menyebabkan hilangnya sebagian antioksidan khususnya senyawa flavonoid yang terdapat pada filtrat almond dan sari buah jeruk tersebut. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Vazquez et al bahwa senyawa flavonoid dapat hilang dalam proses pengolahan terutama proses pemanasan pada suhu 45°C dan 60°C.¹² Seperti diketahui bahwa flavonoid dengan struktur tertentu khususnya posisi hidroksil dalam molekulnya dapat berperan sebagai penyumbang proton dan menunjukkan aktivitas antioksidan. Sehingga selama proses inkubasi lanjutan, dimungkinkan terjadinya kerusakan struktur posisi hidroksil dalam flavonoid sehingga menurunkan aktivitas antioksidan pada produk tersebut.¹³ Senyawa polifenol dan flavonoid mampu mendonorkan atom hidrogen ke radikal bebas DPPH membentuk senyawa DPPH tereduksi (DPPH-H) yang stabil akibat adanya gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik senyawa polifenol yang dapat mendonorkan atom hidrogen. Semakin tinggi kandungan polifenol dan flavonoid maka semakin banyak radikal DPPH yang tereduksi sehingga konsentrasinya semakin berkurang.³⁰

Total Bakteri Asam Laktat

Penambahan sari buah jeruk tidak berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan jumlah bakteri asam laktat pada yoghurt almond. Hasil analisis total bakteri asam laktat pada yoghurt almond menunjukkan bahwa total bakteri asam laktat tertinggi terdapat pada yoghurt almond tanpa

penambahan sari buah jeruk, yaitu sebesar 1.68×10^8 CFU/ml dan nilai terendah terdapat pada yoghurt almond 10% dengan penambahan sari buah jeruk 8% (v/v), yaitu sebesar $6,27 \times 10^6$ CFU/ml. Hasil ini juga tidak jauh berbeda dengan hasil uji total bakteri asam laktat pada yoghurt almond yang dilakukan oleh Shilin dan Sharareh yang didapatkan nilai sebesar $4,55 \times 10^8$ CFU/ml. Pada penelitian tersebut juga dibuktikan bahwa lamanya waktu penyimpanan yoghurt juga berpengaruh terhadap penurunan jumlah bakteri asam laktat.¹⁴

Penambahan sari buah jeruk pada yoghurt almond dilakukan setelah yoghurt almond diinkubasi selama 6 jam, kemudian setelah ditambahkan sari buah jeruk dilakukan penambahan waktu inkubasi selama 3 jam. Penurunan total bakteri asam laktat setelah melalui waktu inkubasi selama 9 jam ini juga sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan adanya penurunan jumlah bakteri asam laktat pada yoghurt tempe setelah 7 jam difermentasi. Pada penelitian tersebut juga dijelaskan bahwa selama proses fermentasi, peningkatan total bakteri probiotik dimulai dari jam ke-0 hingga ke-7. Total bakteri probiotik tertinggi terdapat pada fermentasi jam ke-7 dan mulai menurun pada fermentasi jam ke-8. Pola pertumbuhan bakteri probiotik tiap jamnya mengikuti pola pertumbuhan bakteri yang terdiri dari tiap-tiap fase pertumbuhan. Pola pertumbuhan bakteri probiotik melewati fase-fase pertumbuhan yaitu fase lag, fase log, fase stasioner dan fase kematian.¹⁵ Menurut penelitian yang dilakukan oleh Shah, penurunan pH dan peningkatan kadar keasaman juga menjadi faktor yang menentukan kelangsungan hidup organisme probiotik. Hal ini berkaitan dengan adanya penurunan pH medium serta akumulasi asam organik sebagai hasil metabolit fermentasi.¹⁶ Pada penelitian ini, kultur starter yang digunakan berupa bakteri *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* dan *S. thermophilus* dimana ketiga bakteri ini memiliki pH optimum yang berbeda-beda. *S. thermophilus* merupakan bakteri asam laktat yang biasa hidup pada pH 6,5 kemudian *L. bulgaricus* memiliki pH optimum 5,8 – 6 sedangkan *L. acidophilus* biasa hidup pada pH 5,5 – 6.^{15,31}

Selain dipengaruhi oleh waktu fermentasi, pertumbuhan bakteri asam laktat juga dipengaruhi oleh nutrisi pada substrat yaitu kandungan gula pada substrat. Ketersediaan nutrisi yang memadai dalam substrat akan dimanfaatkan oleh bakteri probiotik untuk tumbuh dan berkembang hingga mencapai puncak pertumbuhan. Pada penelitian ini diberikan perlakuan penambahan gula yang sama yaitu 0,05% (b/v). Sedangkan perbedaan masing-masing variasi terdapat pada perbandingan filtrat almond dan

penambahan sari buah jeruk. Pada yoghurt almond 20% diketahui memiliki jumlah bakteri asam laktat yang lebih banyak dikarenakan konsentrasi almond pada perbandingan ini lebih besar apabila dibandingkan dengan yoghurt almond 10%. Sehingga dapat dibuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi filtrat almond pada yoghurt akan meningkatkan jumlah serat pangan yang memiliki fungsi khusus yaitu sebagai substrat penunjang kehidupan bakteri asam laktat. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa kandungan serat pangan yang terdapat dalam kacang almond, secara signifikan mampu meningkatkan jumlah *bifidobacteria* dan *Eubacterium rectale*.¹⁷

Kadar Keasaman (pH)

Data hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata nilai pH pada yoghurt setelah penambahan sari buah jeruk berkisar antara 4,195 – 4,311. Sedangkan rerata nilai pH yoghurt almond tanpa penambahan sari buah jeruk berkisar antara 4,298 – 4,418. Nilai pH tertinggi terdapat pada yoghurt almond 20% tanpa penambahan sari buah jeruk, sedangkan nilai pH terendah terdapat pada yoghurt almond 10% dengan penambahan 8% (v/v) sari buah jeruk. Meski begitu, hasil analisis menunjukkan tidak adanya pengaruh secara signifikan namun pH yang dihasilkan telah sesuai dengan syarat pH yang ditetapkan oleh SNI yaitu antara 4 – 4,5.¹⁸

Penambahan sari buah jeruk menyebabkan penurunan pH dan peningkatan kadar keasaman. Jeruk manis (*Citrus sinensis L.*) memiliki rasa yang asam dengan nilai pH 4.00 sehingga hal inilah yang menyebabkan penurunan nilai pH yang tidak terlalu signifikan setelah penambahan sari buah tersebut.¹⁹ Selain itu, terdapat juga faktor lain yang mempengaruhi nilai pH pada yoghurt almond tersebut yaitu perbedaan waktu fermentasi. Pada yoghurt almond tanpa penambahan sari buah jeruk hanya dilakukan fermentasi selama 6 jam, sedangkan yoghurt almond dengan penambahan sari buah jeruk dilakukan penambahan waktu fermentasi selama 3 jam sehingga total waktu fermentasi yaitu selama 9 jam. Menurut Singleton dan Sainsbury, lamanya proses fermentasi memiliki pengaruh terhadap penurunan pH yoghurt. Penurunan pH merupakan salah satu akibat dari proses fermentasi yang terjadi karena adanya produksi asam laktat yang diperoleh dari bakteri asam laktat. Asam laktat yang dihasilkan akan terdisosiasi menghasilkan H^+ dan $CH_3CHOHCOO^-$ sehingga semakin tinggi asam laktat memungkinkan semakin banyaknya ion H^+ dalam medium (yoghurt), sehingga lama fermentasi

menentukan jumlah ion H⁺ yang dihasilkan dan terjadinya penurunan pH pada yoghurt.²⁰

Kekentalan/Viskositas

Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak terdapat pengaruh yang signifikan antara perlakuan formulasi dan penambahan sari buah jeruk ($P>0,05$) terhadap nilai viskositas sehingga tidak dilakukan analisis selanjutnya. Nilai viskositas tertinggi terdapat pada yoghurt almond 20% tanpa penambahan sari buah jeruk yaitu 6,88 cP sedangkan nilai terendah terdapat pada yoghurt almond 10% dengan penambahan sari buah jeruk 8% (v/v) yaitu sebesar 4,24 cP. Menurut Winarno dan Fernandez, produk fermentasi sejenis yoghurt seharusnya memiliki viskositas antara 8,28 – 13,00 cP. Nilai pH yang rendah dapat menurunkan kelarutan kasein sehingga terjadi interaksi hidrofobik antara misel kasein pembentuk struktur dan konsistensi yoghurt drink yang menyebabkan yoghurt drink makin kental sehingga terjadi peningkatan nilai viskositas.²¹ Namun pada penelitian ini tidak digunakan bahan berupa susu hewani yang mengandung kasein karena produk yang ingin dihasilkan yaitu produk bebas kasein sehingga dapat dikonsumsi oleh penderita autisme. Sehingga dimungkinkan oleh karena hal tersebut menyebabkan nilai viskositas yoghurt almond tidak mencapai nilai viskositas minimal yaitu hanya sebesar 4,24 cP – 6,88 cP. Selain itu juga terdapat ketidak-sesuaian dengan teori yaitu kandungan pektin yang terdapat dalam sari buah jeruk tidak dapat mempengaruhi nilai viskositas dari yoghurt dengan penambahan sari buah jeruk. Seharusnya, kandungan pektin yang terdapat dalam buah dapat berguna sebagai pengental dalam makanan.²² Selain itu suasana asam pada yoghurt drink seharusnya menyebabkan pembentukan gel pada yoghurt oleh pektin. Hal ini dikarenakan pektin memiliki sifat dapat larut dalam air tetapi apabila dicampur dengan gula dan asam akan membentuk gel, karena pektin adalah koloid yang bersifat *reversible*.²³

Mutu Organoleptik

Mutu organoleptik yang diuji meliputi parameter aroma, warna, rasa dan viskositas/kekentalan yoghurt almond. Mutu organoleptik yoghurt almond diperoleh dari skor penilaian panelis yang memiliki rentang nilai antara 1-5. Secara keseluruhan yoghurt almond dengan konsentrasi filtrat 10% dan penambahan sari buah jeruk 8% merupakan sampel yang paling disukai oleh panelis. Sedangkan yoghurt almond dengan konsentrasi filtrat 10% tanpa penambahan sari buah jeruk memiliki nilai rerata hasil organoleptik terendah dan termasuk kategori netral.

Aroma merupakan salah satu sifat sensori yang paling sulit diklasifikasikan dan dijelaskan karena ragamnya yang begitu besar. Aroma merupakan campuran kompleks dari sejumlah besar senyawa volatil dimana komposisinya bervariasi pada berbagai jenis buah-buahan dimana setiap buah-buahan memiliki aroma yang khas tergantung dari kombinasi dan konsentrasi komponen volatil serta persepsi masing-masing individu.²⁴ Agar menghasilkan bau/aroma, suatu zat harus mengandung senyawa volatil yang dapat menguap.²⁵ Berdasarkan hasil uji organoleptik terhadap aroma yoghurt almond dapat diketahui bahwa tingkat kesukaan panelis terhadap aroma yoghurt almond berada pada kisaran nilai 2,92 – 3,36 dan termasuk dalam kategori netral, dimana yoghurt almond 10% dan penambahan sari buah jeruk memiliki nilai rerata tertinggi sedangkan yoghurt almond 10% tanpa penambahan sari buah jeruk memiliki nilai rerata terendah. Sehingga dengan adanya penambahan sari buah jeruk ini, mampu meningkatkan kesukaan panelis terhadap produk dari segi aroma. Meskipun begitu, setelah dianalisis menggunakan uji Friedman tidak didapatkan pengaruh yang bermakna ($P>0,05$) antara penambahan sari buah jeruk terhadap aroma yoghurt almond.

Berdasarkan kategori warna, yoghurt almond yang paling disukai oleh panelis yaitu yoghurt almond 20% tanpa penambahan sari buah jeruk. Sebagian besar panelis menilai bahwa yoghurt almond 20% ini memiliki warna yang paling mirip dengan warna yoghurt pada umumnya yaitu putih susu. Sedangkan nilai rerata terendah dari uji organoleptik berdasarkan kategori warna terdapat pada yoghurt almond 10% tanpa penambahan sari buah jeruk. Menurut panelis, warna pada sampel yoghurt ini merupakan yoghurt dengan warna sampel paling jernih dibandingkan sampel lainnya sehingga tidak terlihat seperti yoghurt pada umumnya. Sedangkan yoghurt dengan penambahan sari buah jeruk memiliki warna yang lebih keruh dibandingkan dengan warna yoghurt tanpa penambahan sari buah jeruk. Warna keruh pada yoghurt disebabkan karena adanya kandungan pektin yang terdapat dalam buah jeruk, selain itu pektin juga berperan dalam peningkatan viskositas pada suatu bahan makanan ataupun produk.²⁶

Rasa merupakan salah satu parameter terpenting dalam menentukan kualitas dan daya terima suatu produk. Hasil rerata penilaian panelis terhadap rasa yoghurt almond menunjukkan bahwa nilai rerata tertinggi terdapat pada yoghurt almond 10% dengan penambahan sari buah jeruk 8% yaitu 3,54 (suka). Sebagian besar panelis menilai bahwa

penambahan sari buah jeruk ini mampu meningkatkan kesukaan panelis terhadap produk karena yoghurt terasa lebih segar walaupun rasa asamnya meningkat. Sedangkan nilai rerata terendah terdapat pada yoghurt almond 20% tanpa penambahan sari buah jeruk yaitu 2,44 (tidak suka). Hasil ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ria bahwa penambahan sari buah jeruk pada yoghurt mampu meningkatkan kesukaan panelis terhadap produk yoghurt tersebut.¹¹ Selain itu, seringkali parameter rasa memiliki hasil yang berbanding terbalik dengan fakta nilai zat gizi dalam suatu produk. Dalam pemilihan produk makanan, konsumen cenderung memilih produk yang secara sensoris memiliki nilai yang lebih tinggi walaupun nilai gizinya tidak begitu baik.

Hasil tingkat penerimaan terhadap uji kesukaan viskositas yoghurt almond menunjukkan bahwa yoghurt almond 20% dengan penambahan sari buah jeruk 8% merupakan sampel yang paling disukai oleh panelis. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ucan, kandungan pektin yang terdapat dalam sari buah jeruk mampu meningkatkan viskositas yoghurt tersebut sehingga kekentalan yang dihasilkan menjadi pas dan sesuai seperti produk yoghurt pada umumnya.²⁶ Sedangkan produk yoghurt almond 10% tanpa penambahan sari buah jeruk dinilai oleh panelis sebagai produk yang memiliki viskositas terendah dibandingkan sampel produk lainnya.

SIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan sari buah jeruk tidak memberikan pengaruh secara signifikan terhadap aktivitas antioksidan, total bakteri asam laktat, kadar keasaman (pH) dan juga viskositas pada yoghurt almond. Namun, penambahan sari buah jeruk ini mampu meningkatkan mutu organoleptik pada kategori aroma, rasa dan juga viskositas yoghurt almond. Berdasar hasil uji organoleptik secara keseluruhan diperoleh bahwa yoghurt almond 10% dengan penambahan sari buah jeruk 8% merupakan produk yang paling disukai oleh panelis. Namun, yoghurt almond 20% tanpa penambahan sari buah jeruk memiliki total bakteri asam laktat dan viskositas tertinggi. Sedangkan antioksidan tertinggi terdapat pada yoghurt almond 20% dengan penambahan sari buah jeruk 8%.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan lemak, protein, serta ada tidaknya cemaran logam maupun mikrobiologi berupa bakteri Coliform, E.coli serta Salmonella

sehingga dapat diketahui bahwa produk yoghurt almond ini telah memenuhi syarat mutu yoghurt menurut SNI. Selain itu, untuk saran jangka panjang juga dapat dipertimbangkan metoda enkapsulasi antioksidan pada pemrosesan sari buah yang akan ditambahkan dalam produk probiotik khusus untuk penderita *autism disorder* ini. Diharapkan melalui proses tersebut, didapatkan produk dengan kandungan antioksidan spesifik khususnya yaitu glutation.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kepada Tuhan YME atas segala berkat yang telah diberikan sehingga karya tulis ilmiah ini dapat diselesaikan. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ibu Gemala Anjani, SP, M.Si, Ph.D selaku pembimbing dan para penguji atas segala bimbingan dan saran yang telah diberikan dalam penyusunan karya tulis ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada orang tua, sahabat, dan teman-teman atas dukungan dan doa, serta kepada pihak-pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

DAFTAR PUSTAKA

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. Washington DC : American Psychiatric Association; 2000.
2. Central for Disease Control and Prevention (CDC). Identified Prevalence of Autism Spectrum Disorders. ADDM Network; 2008. Available from URL : www.cdc.gov/ncbddd/autism/data.html.
3. BPS. 2010. Statistik Indonesia. Jakarta : BPS.
4. Millward C, Ferriter M, Calver SJ, Connell-Jones GG. Gluten- and casein-free diets for autistic spectrum disorder. The Cochrane database of systematic reviews. 2008;(2):CD003498. doi:10.1002/14651858.CD003498.pub3.
5. Helena M. R. T. Parracho, Max O. Bingham,† Glenn R. Gibson, Anne L. McCartney. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *Journal of Medical Microbiology* 2005; Vol 54 : 987–991.
6. Choudhury K, Clark J, Griffiths H.R. An almond-enriched diet increases plasma α -tocopherol and improves vascular function but does not affect oxidative stress markers or lipid levels. *Life and Health Sciences*. 2014.
7. Garrido, I. Monagas, M. Gomez-Cordoves, C dan Bartolome, B. Polyphenols and Antioxidant Properties of Almond Skins: Influence of Industrial Processing. *Journal of Food Science*. Vol. 73. 2008.
8. Mandalari G, Nueno-Palop C, Bisignano G, Wickham MSJ, Narbad A. Potential Prebiotic Properties of Almond (*Amygdalus communis* L.)

- Seeds. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008, Vol.74 : 4264 – 4270.
9. Sennet L. The fruit kids eat most is. London : CNN International Edition; 2015.
 10. He S, Hekmat S. Sensory Evaluation of Non-Dairy Probiotic Beverages. *Journal of Food Research*. Vol.4. 2015.
 11. Khasanah RN. Kandungan Vitamin C Yoghurt dengan Penambahan Sari Buah Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour. Var Tawangmangu) Pada Konsentrasi Berbeda. [skripsi]. Surakarta : Universitas Sebelas Maret. 2013.
 12. Vazquez LC, Alanon ME, Robledo VR, et al. Bioactive Flavonoids, Antioxidant Behaviour and Cytoprotective Effects of Dried Grapefruit Peels (*Citrus paradisi* Macf.). *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016.
 13. Ghasemi K, Ghasemi Y, Ebrahimzadeh MA. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus species peels and tissues. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009. Vol 22 (3) : 277–281.
 14. Shilin H, Sharareh H. Sensory Evaluation of Non-Dairy Probiotic Beverages. *Journal of Food Research*. 2015, Vol. 4.
 15. Kusumaningrum AP. Kajian Total Bakteri Probiotik dan Aktivitas Antioksidan Yoghurt Tempe dengan Variasi Substrat. [skripsi]. Surakarta : Universitas Sebelas Maret. 2011.
 16. Shah NP. Probiotic Bacteria : Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. *J Dairy Sci*. 2000, Vol.83 : 894 – 907.
 17. Mandalari G, Nueno-Palop C, Bisignano G, Wickham MSJ, Narbad A. Potential Prebiotic Properties of Almond (*Amygdalus communis* L.) seeds. *Appl Environ Microbiol.* 2008, Vol.74 : 4264-4270.
 18. Badan Standarisasi Nasional. 2009. SNI Yoghurt (SNI 01-2981-2009). Jakarta : Dewan Standar Indonesia [diakses tanggal : 30 Juni 2016]
 19. Bamise CT, Oziegbe EO. Laboratory Analysis of pH and Neutralizable Acidity of Commercial Citrus Fruits in Nigeria. 2013, Vol.7(2) : 72-76.
 20. Singleton P, Sainsbury D. *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*. 1988. 2nd edition. Singapore : John Willey and Sons, Ltd.
 21. Winarno FG, Fernandez IE. Susu dan Produk Fermentasinya. 2007. Bogor : M-Brio Press.
 22. Goycoolea FM, Cardenas A. Pectins from *Opuntia* spp : a short review. *J. PACD*. 2003.
 23. Dhalmi DS. Pengaruh Penambahan Dadih terhadap Kadar Air, pH, Total Koloni Bakteri Asam Laktat, dan Kadar Gula Permen Jeli. [skripsi]. Sumatera Barat : Universitas Andalas. 2011.
 24. El HMAM, Feng-Jie Z, Fei-Fei W, Chun-Hua Z, Tao J. Advances in Fruit Aroma Volatile Research (Review). *Molecules* 2013; 18: 8200-8299.
 25. Setyaningsih D, Apriyantono A, Sari MP. Analisis Sensori Untuk Industri Pangan dan Agro. Bogor : IPB Press. 2010.
 26. Nijveldt RJ, Nood EV, Hoorn DEC, Boelens PG, Norren KV, Leeuwen PAM. Flavonoids : a review of probable mechanisms of action and potential application. *Am J Clin Nutr* 2001; Vol.74 : 418 – 425.
 27. Reynertson KA, Basile MJ, Kennely EJ. Antioxidant Potential of Seven Myrtaceous Fruits. *Ethnobotany Research & Applications*. 2005, Vol 3 : 25-35.
 28. Rekha C, Poornima G, Manasa M, Abhipsa V, Devi JP, Kumar HTV, Kekuda TRP. Ascorbic Acid, Total Phenol Content and Antioxidant Activity of Fresh Juice of Four Ripe and Unripe Citrus Fruits. *Research Article Chemical Science Transactions*. 2012, vol. 1 (2) : 303 – 310.
 29. Evans RCA, Miller NJ, Paganga G. Structure Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. *Free Radical Biol Med*. 1996, vol. 20 : 933-956.
 30. Rezaeizadeh A, Zuki ABZ, Abdollahi M, Goh YM, Nordin MM, Hamid M, Azmi TI. Determination of Antioxidant Activity in Methanolic and Chlorofomic Extract of *Momordica Charantia*. *African Journal of Biotechnology*. 2011, vol. 10 (24) : 4932 – 4940.
 31. Rault A, Bouix M, Beal C. Fermentation pH influences the physiological-state dynamics of *Lactobacillus bulgaricus* CFL1 during pH-controlled culture. *Appl Environ Microbiol.* 2009, vol. 75 (13) : 4374 – 4381.