

**PENGARUH PENAMBAHAN ASAM BENZOAT TERHADAP PERTUMBUHAN RAGI
DAN KADAR ALKOHOL PADA FERMENTASI KULIT NANAS (*Ananas comosus* L.)
LOKAL**

***EFFECTS OF ADDITION BENZOIC ACID ON YEAST GROWTH AND ALCOHOL
CONTENT ON THE FERMENTATION OF LOCAL PINEAPPLE (*Ananas comosus* L.) SKIN***

Feni Puji Astuti¹⁾, Olvie Syenni Datu¹⁾, Trina Ekawati Tallei²⁾

¹⁾ Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

²⁾ Program Studi Biologi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

*feniastuti5@gmail.com

ABSTRACT

*Pineapple skin (*Ananas comosus* L.) has good nutritional value. Pineapple waste that has not been used will cause environmental problems, and therefore one of the utilization of pineapple waste by fermentation. The addition of benzoic acid is done so that the fermentation product is not alcoholic. The aim of this study was to evaluate the effect of addition benzoic acid on yeast growth and alcohol content on the fermentation of pineapple skin (*Ananas comosus* L.). Fermentation was carried out for 7 days by adding some concentrations of benzoic acid and measured total acid, alcohol content, pH, and yeast growth on media Saboroud Dextrose Agar (SDA). Results of the study showed that the added fermentation concentration of 0.05%; 0.1% and 0.2% benzoic acid have lower alcohol content and yeast amount compared with fermentation using 0% benzoic acid, so concluded there is an effect of the addition of benzoic acid on yeast growth and alcohol content.*

Keywords: *Pineapple, Benzoic Acid, Alcohol, Yeast.*

ABSTRAK

Kulit buah nanas (*Ananas comosus* L.) memiliki nilai gizi yang baik. Limbah buah nanas yang belum dimanfaatkan akan menimbulkan masalah lingkungan, maka dari itu salah satu pemanfaatan limbah buah nanas dengan cara fermentasi. Penambahan asam benzoat dilakukan agar produk fermentasi tidak bersifat alkoholik. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh penambahan asam benzoat terhadap kadar alkohol dan pertumbuhan ragi pada fermentasi kulit nanas (*Ananas comosus* L.). Fermentasi dilakukan selama 7 hari dengan menambahkan beberapa konsentrasi asam benzoat kemudian diukur total asam, kadar alkohol, pH, serta pertumbuhan ragi pada media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi yang ditambahkan konsentrasi 0,05%; 0,1% dan 0,2% asam benzoat memiliki kadar alkohol dan jumlah ragi yang lebih rendah dibandingkan dengan fermentasi yang menggunakan 0% asam benzoat, sehingga disimpulkan terdapat pengaruh penambahan beberapa konsentrasi asam benzoat terhadap pertumbuhan ragi dan kadar alkohol.

Kata Kunci : Nanas, Asam Benzoat, Alkohol, Ragi.

PENDAHULUAN

Pemanfaatan tanaman nanas selama ini hanya terbatas pada daging buahnya, yang diolah menjadi beberapa macam pangan atau dimakan mentah, sementara bagian kulit dibuang dan tidak dimanfaatkan atau diolah lebih lanjut karena struktur fisik kulitnya yang kasar dan keras, sehingga dapat menjadi limbah yang menumpuk dan dapat menjadi masalah kebersihan karena mencemari lingkungan.

Nanas dapat dibudidayakan di daerah tropis maupun subtropis. Kabupaten Bolaang Mongondow yang terletak di Sulawesi Utara merupakan daerah yang banyak menghasilkan tanaman buah nanas. Menurut Ramadhan (2016), sekitar 27% dari buah nanas merupakan bagian kulit. Nanas termasuk buah tidak dapat disimpan dalam waktu yang lama, karena memiliki kadar air yang relatif tinggi (90,73%) dalam 100 gram bahan (Nur dan Fithri, 2015). Kurangnya ketahanan selama penyimpanan dapat menyebabkan nanas mudah rusak, susut, dan cepat busuk. Buah nanas dalam kondisi segar hanya mempunyai umur simpan antara 1 sampai 7 hari, pada suhu kurang lebih 22°C (Salfauqi *et al.*, 2018).

Salah satu pemanfaatan limbah buah nanas yaitu dapat dilakukan dengan cara fermentasi (Kusuma *et al.*, 2019). Fermentasi secara umum diartikan sebagai suatu proses konversi gula menjadi asam organik ataupun alkohol (Nurhadianty *et al.*, 2018). Mikroorganisme (bakteri, jamur, dan ragi) memainkan peran penting dalam realisasi proses fermentasi. Khamir mempunyai sekumpulan enzim yang diketahui sebagai *zymase* yang berperan pada fermentasi senyawa gula, seperti glukosa menjadi etanol dan karbondioksida (Hasanah *et al.*, 2012).

Benzoat merupakan suatu bahan pengawet yang diperbolehkan untuk digunakan yang diatur oleh peraturan menteri No. 722/menkes /IX/ 88, tetapi dalam penggunaannya harus sesuai dengan dosis yang dianjurkan (Handoko, 2015). Menurut Coskun (2017), asam benzoat dapat menurunkan atau menghambat produksi alkohol dengan mempengaruhi pertumbuhan ragi, sehingga produk hasil fermentasi tidak bersifat alkoholik. Berdasarkan penjelasan tersebut penulis ingin melakukan penelitian yang bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penambahan asam benzoat terhadap pertumbuhan ragi dan kadar alkohol pada fermentasi kulit buah nanas lokal.

METODOLOGI PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Lanjut Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi Manado. Penelitian ini terlaksana pada bulan Desember 2019 sampai dengan Juli 2020.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorium. Penelitian yang dilakukan dimulai dari proses fermentasi kulit nanas dengan menggunakan empat konsentrasi asam benzoat yaitu 0%; 0,05%; 0,1% dan 0,2%.

Alat dan Bahan

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: pisau pemotong (NAKAMI), timbangan analitik (ADAM), *autoclave* (ALP[®]), cawan petri (Pyrex[®]), pengaduk, pipet tetes, mikropipet (GILSON), pinset, pembakar spiritus, tabung reaksi *centrifuge*, rak tabung reaksi, wadah penyimpan fermentasi (Ball), *laminar air flow* (LAF) (N-Bioteck[®]), pH universal (MERCK), *incubator* (MMM Group[®]), *aluminium foil* (KLINPAK), *erlenmeyer* (Pyrex[®]), beker gelas (Pyrex[®]), gelas ukur (Pyrex[®]), Buret (Pyrex[®]), *plastic wrap* (CLING WRAP).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : limbah kulit nanas yang akan digunakan kulit buah nanas bagian luar, Asam Benzoat (C₂H₆O₂) (BENZOIC ACID), gula halus, air mineral, akuades (WATERone), indikator *fenolftalein* (pp) (MERCK), Media *Sabaroud Dextrosa Agar* (SDA)(MERCK), NaOH (MERCK).

Prosedur Penelitian

Persiapan Sampel

Sampel buah nanas yang diperoleh dari desa Lobong Kecamatan Passi Barat, Kabupaten Bolaang Mongondow Provinsi Sulawesi Utara, dikupas untuk dipisahkan kulit dengan daging buah kemudian diambil bagian kulitnya sebanyak 1200 gr untuk dibersihkan, ditiriskan dan disiapkan untuk beberapa konsentrasi.

Fermentasi Kulit Nanas

Kulit buah nanas yang telah dipotong kecil-kecil dan dibersihkan kemudian ditimbang seberat 300 gr untuk masing-masing perlakuan. Selanjutnya sampel buah nanas dimasukkan ke dalam wadah fermentasi lalu ditambahkan 100 gr gula dan air pada toples fermentasi hingga sampel kulit nanas terendam oleh air (\pm 500 ml). Untuk masing-masing perlakuan ditambahkan asam benzoat dengan konsentrasi 0%, 0.05%, 0.1% dan 0.2% ke dalam wadah fermentasi. Wadah kemudian ditutup agar fermentasi berlangsung secara anaerob, dan disimpan dalam gelap selama 1 minggu dalam suhu ruang. Setiap hari cairan fermentasi diambil sampelnya untuk diperiksa pertumbuhan ragi menggunakan media pertumbuhan ragi (SDA) dan kadar alkohol (Melani, 2012).

Pengujian Pertumbuhan Ragi

Perhitungan jumlah ragi yang terdapat pada fermentasi kulit nanas dilakukan setiap hari dengan perhitungan *Total Plate Count* yang menggunakan metode *pour plate*. Pengenceran dilakukan dengan cara menyiapkan 5 tabung reaksi yang masing-masing telah di isi dengan 9 ml NaCl 0,9%. Kedalam tabung pertama dimasukkan 1 ml sampel fermentasi dan diberi tanda pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya dari tabung 10^{-1} dipipet sebanyak 1 ml dan ditambahkan kedalam tabung yang kedua yang berisikan 9 ml larutan NaCl 0,9 % dan diberi tanda pengenceran 10^{-2} . Demikian pengenceran selanjutnya hingga pengenceran 10^{-5} . Pengujian *Total Plate Count* dilakukan dengan cara mengambil 50 μ l dari setiap pengenceran dengan cara dipipet dan ditebarkan ke dalam cawan petri dan ditambahkan 15 ml *Saboraud Dextrose Agar* (SDA), kemudian cawan petri dikocok atau digoyangkan perlahan hingga tersebar merata dan media dibiarkan memadat selama (\pm 2 jam) kemudian cawan petri dibungkus dengan *plastic wrap* dan *aluminium foil* untuk diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 - 48 jam dengan posisi dibalik. Selanjutnya, dilakukan perhitungan jumlah koloni yang tumbuh dengan menggunakan *colony counter* (Safrida *et al.*, 2019). Jumlah koloni mikroba yang dianalisis yaitu rentang jumlah antara 30-300 koloni cfu/ml (Sukmawati, 2018). Menurut Pradikaningrum (2015), Perhitungan jumlah sel dilakukan dengan rumus :

$$\text{Jumlah} \frac{\text{sel}}{\text{ml}} = \frac{\text{jumlah koloni}}{\text{volume yang disebar di cawan petri} \times \text{faktor pengenceran}}$$

Perhitungan Kadar Alkohol Dalam Fermentasi

Mengacu pada penelitian Berlian *et al.* (2016), perhitungan kadar alkohol dapat dilakukan dengan menyiapkan volume sampel sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam *erlenmeyer*, kemudian ditambah larutan pp (*fenolftalein*) 3 tetes. Selanjutnya larutan diaduk dan dititrasi menggunakan larutan NaOH sampai larutan berubah warna menjadi merah muda. Titrasi kadar alkohol dilakukan sebanyak empat kali pengulangan. Volume larutan titrasi yang diperoleh dimasukkan ke dalam rumus untuk digunakan pada perhitungan kadar alkohol yang terkandung dalam fermentasi kulit nanas. Menurut Yulianti (2014), rumus perhitungan kadar alkohol sebagai berikut :

$$\text{Kadar Alkohol (\%)} = \frac{a \times M \times BE \times \text{pengenceran}}{\text{volume sampel} \times 100} \times 100\%$$

Keterangan:

a = Rata-rata Hasil Titrasi (ml)

M = Molaritas NaOH (0,1M)

BE = Berat Ekuivalen Alkohol

Perhitungan Total Asam

Mengacu pada penelitian Amanda *et al.* (2013), sampel sebanyak 10 ml ditambahkan dengan 2-3 tetes indikator fenolftalein, kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai berwarna merah muda dan stabil, sesuai dengan larutan standar. Volume hasil titrasi yang diperoleh kemudian dimasukkan kedalam rumus untuk dihitung. Menurut Jannah *et al.* (2014), rumus perhitungan total asam sebagai berikut :

$$\text{Kadar Asam (\%)} = \frac{V_1 \times N \times B}{V_2 \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan :

V_1 = Volume NaOH (ml)

V_2 = Volume sampel (ml)

N = Normalitas NaOH (0,1 N)

B = Berat Molekul Asam Laktat (90)

Uji Organoleptik (Aroma, Rasa, Warna dan Bentuk)

Pengujian organoleptik meliputi aroma, rasa, warna dan bentuk pada fermentasi kulit buah nanas dilakukan dengan *Hedonic Scale Test*, yaitu uji organoleptik yang berdasarkan pilihan panelis

(Salfauqi *et al.*, 2018). Nilai skala uji hedonik yang digunakan yaitu (5 = sangat suka, 4 = suka, 3 = agak suka (Netral), 2 = tidak suka, dan 1 = Sangat tidak suka) (Handoko, 2015). Uji organolpetik diberikan kepada empat panelis.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa dengan ANOVA (*Analysis of Variances*) dengan menggunakan piranti lunak SPSS 25.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fermentasi Kulit Nanas

Proses fermentasi berlangsung selama 7 hari (satu minggu). Selama proses fermentasi tersebut terjadi perubahan rasa, aroma maupun warna. Perubahan-perubahan tersebut dapat memperbaiki gizi dari produk dan umumnya menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan (Prakosa dan Santosa, 2010).

Kadar Alkohol Pada Fermentasi Kulit Nanas dengan Beberapa Konsentrasi

Menurut Wigiyaningrum (2009), tinggi rendahnya alkohol yang dihasilkan setelah proses fermentasi berhubungan dengan adanya jumlah khamir yang ada, yang disebabkan oleh aktifitas enzim *amylase* yang mengubah pati menjadi maltosa, dan enzim maltase yang menghidrolisis maltosa menjadi glukosa. Kadar alkohol dengan penambahan asam benzoat cenderung memiliki kadar alkohol yang lebih rendah dibandingkan yang tidak ditambahkan asam benzoat. Hasil kadar perhitungan kadar alkohol dilihat pada Tabel 1. Kadar alkohol (%) fermentasi kulit nanas. Tabel 2. Kadar alkohol pada blangko gula dan grafik peningkatan alkohol fermentasi kulit nanas dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Kadar Alkohol (%) Pada Fermentasi Kulit Nanas

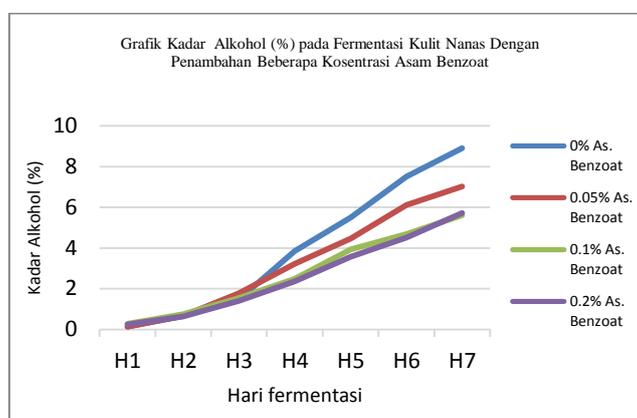
Waktu fermentasi	Kadar Alkohol (%)			
	Konsentrasi Asam benzoat (%)			
	0%	0,05%	0,1%	0,2%
H1	0,138	0,138	0,276	0,241
H2	0,661	0,672	0,747	0,632
H3	1,483	1,782	1,552	1,414
H4	3,852	3,231	2,495	2,357
H5	5,497	4,462	3,933	3,565
H6	7,509	6,118	4,692	4,508
H7	8,901	7,015	5,612	5,715

Tabel 2. Kadar Alkohol (%) Pada Blanko Gula

Waktu Fermentasi	Kadar Alkohol (%)
H 1	0.115
H 2	0.126
H 3	0.184
H 4	0.322
H 5	0.402
H 6	0.667
H 7	0.954

Keterangan:

- H1 = Kadar alkohol pada fermentasi hari pertama
- H2 = Kadar alkohol pada fermentasi hari kedua
- H3 = Kadar alkohol pada fermentasi hari ketiga
- H4 = Kadar alkohol pada fermentasi hari keempat
- H5 = Kadar alkohol pada fermentasi hari kelima
- H6 = Kadar alkohol pada fermentasi hari keenam
- H7 = Kadar alkohol pada fermentasi hari ketujuh



Gambar 1. Grafik Peningkatan Kadar Alkohol Pada Fermentasi Kulit Nanas

Berdasarkan pengamatan yang disajikan pada Tabel 1. kadar alkohol yang dihasilkan pada fermentasi kulit nanas selama 7 hari untuk setiap perlakuan memiliki kadar alkohol yang semakin hari semakin meningkat. Peningkatan ini merupakan hasil aktivitas yang dilakukan oleh mikroba yang merubah glukosa menjadi etanol (Fatimah *et al.*, 2013). Berdasarkan Tabel 2. Kadar alkohol pada blangko juga mengalami peningkatan, akan tetapi nilainya jauh lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan karena tidak ditambahkan dengan kulit buah nanas. Pada output *descriptive* diketahui terdapat perbedaan rata-rata dari kadar alkohol fermentasi kulit nanas. Rata-rata pada konsentrasi 0% yaitu 4,005 ; konsentrasi 0.05% yaitu 3,345 ; konsentrasi 0.1% yaitu 2,758 dan untuk konsentrasi 0.2% yaitu 2,633.

Mengenai rata-rata pada output *descriptive* tersebut maka secara deskriptif konsentrasi penambahan asam benzoat 0% memiliki rata-rata kadar alkohol paling tinggi, dibandingkan dengan rata-rata kadar alkohol yang memiliki konsentrasi asam benzoat yang lebih besar. Semakin tinggi konsentrasi asam benzoat yang ditambahkan, mengakibatkan penurunan kadar alkohol pada proses fermentasi kulit nanas lokal. Menurut Coskun (2017), asam benzoat menghambat atau mengurangi produksi alkohol karena menekan pertumbuhan ragi. Hal tersebut sesuai dengan penambahan beberapa konsentrasi asam benzoat yang mempengaruhi penurunan kadar alkohol pada fermentasi kulit nanas.

Derajat Keasaman (pH) Fermentasi Kulit Nanas

Salah satu yang mempengaruhi proses fermentasi adalah derajat keasaman atau pH. pH dari substrat atau media fermentasi merupakan salah satu yang menentukan kehidupan khamir. Salah satu dari sifat khamir adalah bahwa pertumbuhannya dapat berlangsung baik pada suasana asam (Hasanah, 2008). Sifat asam-basa dari suatu larutan dapat ditunjukkan dengan mengukur pH nya. pH adalah suatu parameter yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman larutan. Larutan asam mempunyai pH lebih kecil dari 7. Larutan basa mempunyai pH lebih besar dari 7, sedangkan pH pada larutan netral yaitu 7 (Wibowo dan Ali, 2019). Pengukuran pH dilakukan pada fermentasi kulit nanas dan blangko gula. Nilai hasil pengukuran pH dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengukuran pH

Hari	pH				Blangko
	Nanas 0%	Nanas 0.05%	Nanas 0.1%	Nanas 0.2%	
H1	6	6	5	5	6
H2	4	4	4	4	5
H3	4	4	4	4	5
H4	4	4	4	4	5
H5	4	4	4	4	4
H6	3	3	4	4	4
H7	3	3	3	3	3

Keterangan :

- H1 = Nilai pH pada fermentasi hari pertama
- H2 = Nilai pH pada fermentasi hari kedua
- H3 = Nilai pH pada fermentasi hari ketiga
- H4 = Nilai pH pada fermentasi hari keempat
- H5 = Nilai pH pada fermentasi hari kelima
- H6 = Nilai pH pada fermentasi hari keenam
- H7 = Nilai pH pada fermentasi hari ketujuh

Terjadi penurunan pH pada proses fermentasi yang berlangsung selama 7 hari. Hasil pengukuran pH pada fermentasi kulit nanas yang di tambahkan beberapa konsentrasi asam benzoat mengalami penurunan. Alkohol yang terbentuk dari perombakan karbohidrat kemudian dirombak lagi menjadi asam-asam yang dapat menurunkan pH (Mulyani *et al.*, 2008). Pada umumnya semakin meningkatnya kandungan asam suatu bahan maka nilai pH akan semakin menurun (Simanjuntak, 2016).

Nilai Total Asam Pada Fermentasi Kulit Nanas dengan Beberapa Konsentrasi Penambahan Asam Benzoat

Uji total asam dilakukan untuk mengetahui kadar total asam pada proses fermentasi kulit nanas karena adanya aktivitas mikroba. Pengujian Total Asam dilakukan dengan titrasi asam-basa. Hasil dari titrasi yang dilakukan kemudian dihitung dan dimasukkan kedalam rumus yang tertera. Hasil penentuan kadar total asam pada fermentasi kulit nanas dengan penambahan beberapa konsentrasi asam benzoat dapat dilihat pada Tabel 4. Nilai kadar total asam blangko dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 4. Kadar Total Asam Fermentasi Kulit Nanas

Waktu fermentasi	Kadar Total Asam (%)			
	Konsentrasi Asam benzoat (%)			
	0%	0,05%	0,1%	0,2%
H1	0,018	0,018	0,054	0,045
H2	0,126	0,135	0,144	0,099
H3	0,288	0,324	0,288	0,225
H4	0,792	0,54	0,477	0,468
H5	1,035	0,882	0,783	0,675
H6	1,53	0,135	0,9	0,882
H7	1,71	1,395	1,08	1,062

Tabel 5. Kadar Total Asam Pada Blanko

Waktu Fermentasi	Kadar Total Asam (%)
H1	0,018
H2	0,018
H3	0,027
H4	0,045
H5	0,072
H6	0,126
H7	0,18

Keterangan :

H1 = Kadar total asam pada fermentasi hari pertama

H2 = Kadar total asam pada fermentasi hari kedua

H3 = Kadar total asam pada fermentasi hari ketiga

H4 = Kadar total asam pada fermentasi hari keempat

H5 = Kadar total asam pada fermentasi hari kelima

H6 = Kadar total asam pada fermentasi hari keenam

H7 = Kadar total asam pada fermentasi hari ketujuh

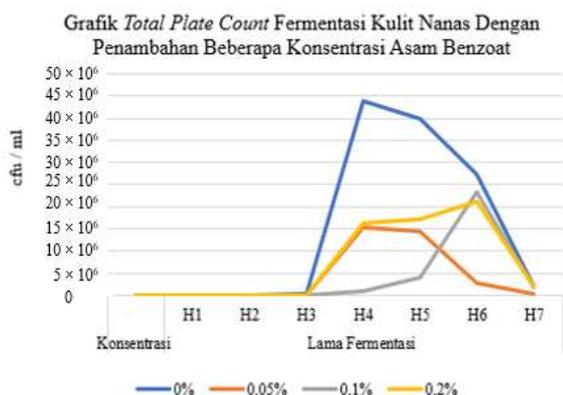
Menurut Lestari *et al.* (2018), Semakin bertambahnya waktu fermentasi dilakukan maka total asam yang dihasilkan akan semakin tinggi karena mikroorganisme terus melakukan metabolisme yang menghasilkan asam laktat. Hal ini sesuai dengan peningkatan kadar asam yang terjadi pada konsentrasi 0% ; 0,05% ; 0,1% dan 0,2%, yang mengalami peningkatan selama bertambahnya hari fermentasi. Menurut Apandi

(1984), Kenaikan total asam ini disebabkan karena terdegradasinya karbohidrat menjadi gula-gula sederhana. Adanya asam pada bahan pangan yang terbentuk selama proses fermentasi dapat menjadikan bahan pangan tersebut tidak mudah terkontaminasi mikroba khususnya bakteri patogen (Suseno *et al.*, 2016).

Nilai Perhitungan *Total Plate Count* (TPC) Ragi

Perhitungan TPC (*Total Plate Count*) dihitung pada jumlah koloni yang berkisar antara 30 sampai 300. Menurut Safrida *et al.* (2019), Perhitungan dilakukan pada media agar yang jumlah populasi mikrobaanya antara 30 sampai 300 koloni. Jika jumlah populasi kurang dari 30 koloni akan menghasilkan perhitungan yang kurang teliti secara statistik, sama seperti halnya jika lebih dari 300 koloni akan menghasilkan hal yang sama karena terjadi persaingan diantara koloni. Jumlah koloni yang dilihat adalah yang paling sedikit (dapat dihitung) dari pengenceran terkecil.

Fermentasi kulit nanas setiap harinya dilakukan penanaman sampel pada media, bertujuan untuk dihitung dan dilihat pertumbuhan koloni yang muncul pada fermentasi. Media yang digunakan adalah media *Saboroud Dextrose Agar* (SDA). Fungsi dari *Saboroud Dextrose Agar* (SDA) yaitu, isolasi mikroorganisme menjadi kultur murni, untuk budidaya jamur patogen, komensal dan ragi, digunakan dalam evaluasi mikologi makanan, serta secara klinis membantu dalam diagnosis ragi dan jamur penyebab infeksi (Kustyawati, 2009). Grafik *Total Plate Count* fermentasi kulit nanas dapat dilihat pada Gambar 2. dan hasil dari perhitungan koloni fermentasi kulit nanas dengan penambahan 0% asam benzoat dapat dilihat pada Tabel 6., hasil perhitungan koloni fermentasi kulit nanas 0,05% dapat dilihat pada Tabel 7., hasil perhitungan koloni fermentasi kulit nanas 0,1% dapat dilihat pada Tabel 8., dan hasil perhitungan koloni fermentasi kulit nanas 0,2% dapat dilihat pada Tabel 9.



Gambar 2. Grafik *Total Plate Count* Pada Fermentasi kulit Nanas.

Tabel 6. *Total Plate Count* pada media SDA (0% Asam Benzoat)

Hari	Faktor Pengenceran					Total Cfu/ml
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	
H1	37	32	-	-	-	0,0357 × 10 ⁶
H2	-	-	-	-	-	-
H3	93	65	42	-	-	0,329533 × 10 ⁶
H4	-	-	172	81	56	43,88 × 10 ⁶
H5	296	280	256	128	84	39,8798 × 10 ⁶
H6	172	127	109	89	58	27,25368 × 10 ⁶
H7	287	118	90	30	-	2,02355 × 10 ⁶

Tabel 7. *Total Plate Count* pada media SDA (0,05% Asam Benzoat)

Hari	Faktor Pengenceran					Total Cfu/ml
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	
H1	-	-	-	-	-	-
H2	-	-	-	-	-	-
H3	81	31	-	-	-	0,0391 × 10 ⁶
H4	220	179	113	70	30	15,3324 × 10 ⁶
H5	48	46	39	37	32	14,45632 × 10 ⁶
H6	67	63	54	50	-	2,80485 × 10 ⁶
H7	147	48	40	-	-	0,308467 × 10 ⁶

Tabel 8. *Total Plate Count* pada media SDA (0,1% Asam Benzoat)

Hari	Faktor Pengenceran					Total Cfu/ml
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	
H1	54	-	-	-	-	0,0108 × 10 ⁶
H2	-	-	-	-	-	-
H3	83	-	-	-	-	0,0166 × 10 ⁶
H4	-	220	64	-	-	0,86 × 10 ⁶
H5	187	80	78	71	-	3,98435 × 10 ⁶

H6	84	69	56	53	52	$23,174 \times 10^6$
H7	72	60	40	33	-	$1,8836 \times 10^6$

Tabel 9. Total Plate Count pada media SDA (0,2% Asam Benzoat)

Hari	Faktor Pengenceran					Total Cfu/ml
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
H1	-	-	-	-	-	-
H2	-	-	-	-	-	-
H3	69	35	-	-	-	$0,0419 \times 10^6$
H4	296	43	40	38	36	$16,10904 \times 10^6$
H5	136	64	55	44	38	$17,21104 \times 10^6$
H6	127	80	79	53	47	$21,27308 \times 10^6$
H7	178	83	43	36	-	$2,0654 \times 10^6$

Berdasarkan Gambar 2. pertumbuhan ragi semakin meningkat seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Dari grafik tersebut dapat dilihat hasil fermentasi dengan penambahan asam benzoat dengan konsentrasi 0% memiliki pertumbuhan koloni yang lebih tinggi dibandingkan dengan hasil fermentasi dengan penambahan asam benzoat 0,05%; 0,1% dan 0,2%. Demikian terjadi karena senyawa benzoat sebagai pengawet makanan diketahui dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri, khamir maupun kapang. Meskipun demikian, efektivitas pengendaliannya cenderung lebih tinggi pada khamir dan kapang dibandingkan bakteri (Frazier dan Westhoff, 1988).

Diketahui hari pertama dan kedua fermentasi pertumbuhan mikroba masih mengalami fase adaptasi, hal ini yang menyebabkan pertumbuhan mikroba pada hari pertama dan kedua masih sedikit serta grafik yang relatif datar. Selama fase adaptasi, sel-sel berkembang namun tidak terjadi pembelahan sel atau perubahan jumlah sel (Ulandari, 2015). Ketika mikroorganisme dipindahkan ke dalam suatu medium, mula-mula akan mengalami fase adaptasi (*lag phase*) untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan di sekitarnya (Middelbeek *et al.*, 1992).

Hari ketiga fermentasi mulai terjadi fase pertumbuhan awal, yang memasuki fase logaritmik (*log phase*), dan mulai mengalami fase pertumbuhan secara cepat pada hari keempat. Pada fase ini terjadi pembelahan sel dan populasi berlipat ganda setiap waktu generasi. Sel akan bertumbuh dan membela diri secara *eksponensial* hingga jumlah yang maksimum (sefiana, 2012). Berdasarkan grafik, fermentasi dengan

penambahan konsentrasi asam benzoat sebanyak 0,05% ; 0,1%; dan 0,2 % memiliki pertumbuhan jumlah koloni yang lebih sedikit dibandingkan dengan fermentasi yang tidak ditambahkan asam benzoat. Demikian terjadi karena asam benzoat mampu menghambat pertumbuhan ragi. Sama seperti halnya penelitian yang dilakukan oleh Coskun (2017), Asam benzoat dapat menurunkan atau menghambat produksi alkohol dengan mempengaruhi pertumbuhan ragi.

Hari kelima dan hari keenam fermentasi dengan penambahan asam benzoat 0% mulai mengalami penurunan jumlah mikroba karena pada fase tersebut terjadi proses fase menuju kematian. Sedangkan pada fermentasi dengan penambahan asam benzoat 0,05% mengalami grafik yang relatif tetap atau fase stasioner (*stationery phase*). Menurut Ulandari (2015), Pada fase stasioner laju pembelahan sel sebanding dengan laju kematian sel sehingga jumlah sel hidup tetap konstan. Pada fase ini terjadi akibat pengurangan sumber-sumber nutrisi atau penimbunan zat racun akhir metabolisme. Hari keenam fermentasi dengan penambahan asam benzoat 0,05% mulai mengalami penurunan jumlah mikroba karena pada fase tersebut mikroba mengalami fase menuju kematian.

Lain halnya pada fermentasi dengan penambahan asam benzoat 0,1% dan 0,2 % yang mengalami peningkatan pada hari kelima, dan mengalami kenaikan secara pesat pada hari keenam. Hal tersebut diduga karena adanya penambahan konsentrasi asam benzoat yang lebih besar dibandingkan dengan sebelumnya sehingga kenaikan jumlah bakteri sedikit lebih lambat. Namun dugaan lain menyebutkan adanya interaksi bakteri yang satu dengan bakteri yang lain,

sehingga pada saat pertumbuhan bakteri menurun ada salah satu jenis atau lebih bakteri yang mengalami peningkatan (Agung, 2011).

Hari ketujuh terjadi penurunan jumlah koloni yang cukup pesat pada fermentasi kulit nanas dengan penambahan beberapa konsentrasi asam benzoat. Penurunan yang terjadi karena pada hari ketujuh mulai mengalami fase kematian (*death phase*). Fase ini nutrisi yang tersedia telah habis dan terjadi peningkatan produk yang toksik, sehingga sel mengalami lisis total. Kematian mulai terjadi dan populasi sel menurun dengan laju *eksponensial* (Standbury dan Whitaker, 1987). Fase kematian merupakan fase mulai terhentinya aktivitas atau dalam pertumbuhan koloni terjadi kematian yang melebihi bertambahnya individu (Iestari dan Hartati, 2017).

Uji Organoleptik (Aroma, Rasa, Warna dan Bentuk)

Fermentasi kulit nanas dengan beberapa konsentrasi penambahan asam benzoat memiliki pengaruh terhadap kesukaan panelis. Fermentasi dengan beberapa penambahan konsentrasi asam benzoat rata-rata memiliki interval nilai yaitu 3,0 (agak suka). Perubahan warna hasil fermentasi terjadi seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Warna fermentasi kulit nanas yang awalnya hijau kekuningan segar, dengan bertambahnya waktu fermentasi menjadi agak kuning-kecoklatan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penerimaan panelis terhadap warna fermentasi kulit nanas memiliki rata-rata yaitu ± 4 (suka). Menurut Desrosier (1988), perubahan cita rasa pada umumnya cenderung terjadi pada perubahan warna. Adanya perubahan warna tersebut bisa diakibatkan oleh mikroba yang menyebabkan warna atau cairan sirup menjadi keruh.

Perubahan bentuk hasil fermentasi juga berpengaruh terhadap nilai kesukaan panelis. Hasil penelitian menunjukkan penerimaan panelis terhadap tekstur atau bentuk hasil fermentasi yaitu 2,69 (tidak suka sampai agak suka (Netral)). Hasil fermentasi yang mulanya cair jernih menjadi sedikit keruh dan kental. Adanya sifat koloidal senyawa pektin dapat mencegah pengendapan suspensi. Tetapi pada waktu ekstraksi, pektin akan dihidrolisa oleh enzim metilesterase sehingga menyebabkan kekeruhan pada minuman nanas akan mengendap. Jika mikroba tumbuh pada bahan pangan maka mikroba tersebut dapat menyebabkan berbagai perubahan pada

penampakan atau komposisi kimia dan cita rasa (Eskin *et al.*, 1971).

Aroma pada fermentasi kulit nanas dengan beberapa penambahan asam benzoat berpengaruh terhadap kesukaan panelis. Hasil penelitian menunjukkan rata – rata keseluruhan penerimaan panelis terhadap fermentasi yaitu 3,75 (agak suka (netral) sampai suka). Menurut Fardiaz (1992), nilai kesukaan panelis terhadap aroma mengalami penurunan selama penyimpanan. Penurunan tersebut disebabkan oleh terbentuknya senyawa-senyawa seperti alkohol dan asam, sehingga menghasilkan aroma yang tidak disukai. Fermentasi dengan penambahan asam benzoat 0% lebih disukai panelis dengan rata-rata tertinggi yaitu 4 (suka), hal ini diduga karena kulit nanas belum ditambahkan asam benzoat sehingga menimbulkan aroma nanas yang lebih kuat (Handoko, 2015).

Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh penambahan asam benzoat dengan beberapa konsentrasi terhadap kulit buah nanas. Rata-rata keseluruhan nilai kesukaan panelis terhadap rasa yaitu 3,94 (agak suka (netral) sampai suka). Menurut Handoko (2015), Semakin lama waktu penyimpanan maka nilai kesukaan panelis terhadap rasa semakin menurun. Hal ini disebabkan selama penyimpanan terjadi degradasi senyawa-senyawa karbohidrat yang terdapat di dalam bahan oleh aktivitas mikroorganisme menjadi asam-asam organik, alkohol, dan air yang mengakibatkan terjadinya penyimpangan rasa.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penilitan dapat disimpulkan bahwa Penambahan asam benzoat pada fermentasi kulit nanas berpengaruh pada pertumbuhan ragi dan jumlah kadar alkohol. Asam benzoat sebagai pengawet makanan dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri, khamir dan kapang, sehingga berpengaruh pada nilai pertumbuhan ragi. Asam benzoat dapat menurunkan atau menghambat kadar alkohol dengan mempengaruhi ragi.

SARAN

Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk menganalisis jenis ragi yang terkandung dalam kulit nanas (*Ananas comosus* L.) untuk mengetahui jenis – jenis ragi yang terdapat pada kulit nanas dan Penelitian lebih lanjut untuk menganalisis mengenai beberapa uji untuk peningkatan kualitas dan mutu pada fermentasi kulit nanas (*Ananas comosus* L.).

DAFTAR PUSTAKA

- Agung, F. R. 2011. Uji Viabilitas Konsorsium Bakteri Dekomposer Selama Dua Bulan Guna Menentukan Waktu Inokulum Yang Optimal. [Thesis]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Amanda, L. A., Legowo, A. M dan Al-baarri, A. N. 2013. Total Asam , Total Yeast, dan Profil Protein Kefir Susu Kambing Dengan Penambahan Jenis dan Konsentrasi Gula Yang Berbeda. *Jurnal Pangan dan Gizi*. **4(7)**: 39-48.
- Apandi, M. 1984. *Teknologi Buah dan Sayur*. Alumni, Bandung.
- Berlian, Z., Aini, F., dan Ulandari, R. 2016. Uji Kadar Alkohol Pada Tapai Ketan Putih dan Singkong Melalui Fermentasi Dengan Dosis Ragi Yang Berbeda. *Jurnal Biota*. **1(2)**: 106-111.
- Coskun, F. 2017. A Traditional Turkish Fermented Non-Alcoholic Grape-Based Beverage, “Hardaliye”. *Journal of Beverages*. **3(2)**: 1-11
- Desrosier, N. W. 1998, 2008. *Teknologi Pengawetan Pangan. Terjemahan M. Muljohardjo*. UI-Press, Jakarta.
- Eskin, N.A.M., H.M. Henderson, dan R.J. Townsend. 1971. *Biochemistry of Food Academic*. Press, New York and London.
- Fatimah., Febriana, L. G dan Lina, R. G. 2013. Kinetika Reaksi Fermentasi Alkohol Dari Buah Salak. *Jurnal Teknik Kimia USU*. **2(2)**: 17-20.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Frazier, W. C., dan Westhoff, D. C. (1988). *Food Microbiology 4 th Edition*. McGraw Hill, New York.
- Handoko, N. 2015. Pengaruh Proporsi Kulit Buah Nanas dan Konsentrasi Natrium Benzoat Terhadap Kesukaan Sirup Kulit Buah Nanas (*Ananas comocus*) [Skripsi]. Fakultas Pertanian Sekolah Tinggi Ilmu Pertanian (STIPER) Dharma Wacana Metro, Lampung.
- Hasanah, H. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Tape Ketan Hitam (*Oryza sativa* L. var *forma glutinosa*) dan Tape Singkong (*Manihot utilissima* Pohl). [Skripsi]. UIN Malang, Malang.
- Hasanah, H., Jannah, A., dan Fasya, A. G. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Tape Singkong (*Manihot utilissima* Pohl). *Jurnal Alchemy*. **1(2)**: 68-79.
- Jannah, A. M., A. M. Legowo, Y. B. Pramono, A. N. Al-Baarri, dan S. B. M. Abduh. 2014. Total Bakteri Asam Laktat, pH, Keasaman, Citarasa dan Kesukaan *Yogurt Drink* dengan Penambahan Ekstrak Buah Belimbing. *Jurnal Aaplikasi Teknologi Pangan*. **3(2)**: 7-11.
- Keenan, C. W. 1980. *Ilmu Kimia Untuk Universitas Jilid I*. Erlangga, Jakarta.
- Kustyawati, M. E. 2009. Kajian Peran Yeast Dalam Pembuatan Tempe. *Agritech..* **29(2)**: 64-70.
- Kusuma, A. P., Chuzaemi, S., dan Mashudi. 2019. Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Limbah Buah Nanas (*Ananas comosus* (L. Merr)) Terhadap Kualitas Fisik dan Kandungan Nutrien Menggunakan *Aspergillus niger*. *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis*. **2(1)**: 1-9.
- Lestari, M. W., V. P. Bintoro, dan H. Rizqiati. 2018. Pengaruh lama fermentasi terhadap tingkat keasaman, viskositas, kadar alkohol, dan mutu hedonik kefir air kelapa. *Jurnal Teknologi Pangan*. **2(1)**: 8-13.
- Lestari, P. B dan Hartati, T. W. 2017. *Mikrobiologi Berbasis Inkuiry*. Gunung Samudra, Malang.
- Melani, A. 2012. Fermentasi Limbah Buah Nanas Dengan *Sacharomyces Cereveceae* Menggunakan Proses Hidrolisis. *Jurnal Teknik Kimia*. **2(4)**: 334 – 363.
- Middlebeek, E.J., R.O. Jenkins and J.S. Drijver-de Haas. 1992. *Growth in batch culture*. In *Vitro Cultivation of Micro-organisms*. Biotechnology by Open Learning.

- Mulyani, S., A. M. Legowo, dan A. A. Mahanani. 2008. Viabilitas bakteri asam laktat, keasaman dan waktu pelelehan es krim probiotik menggunakan starter *Lactobacillus casei* dan *Bifidobacterium bifidum*. *J. Indon. Trop. Anim. Agric.* **33(2)**: 120-125.
- Nurhadianty, V., Cahyani, C., Nirwana, W. O. C., dan Dewi, L. K. (2018). *Pengantar Teknologi Fermentasi Skala Industri*. UB Press, Malang.
- Pradikaningrum, H. 2015. Uji Viabilitas Mikroenkapsulasi *Lactobacillus casei* Menggunakan Matrik Kitosan. [Skripsi]. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Prakosa, C dan Santosa, A. 2010. Karakteristik Tape Buah Sukun Hasil Fermentasi Penggunaan Konsentrasi Ragi Yang Berbeda. *Magistra.* **22(73)**:48-55.
- Ramadhan, R. 2016. Pengaruh dosis dan lama inkubasi multi enzim natura terhadap kualitas protein dari kulit nanas (*Ananas comosus* (L. Merr)) [Skripsi]. Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang.
- Safrida, Y. D., Raihanaton dan Ananda. 2019. Uji Cemaran Mikroba Dalam Susu Kedelai Tanpa Merek Di Kecamatan Jaya Baru Kota Banda Aceh Secara *Total Plate Count* (TPC). *Jurnal Serambi Engineering.* **5(1)**: 64-371.
- Salfauqi, N., Muhajir dan Muhardina, V. 2018. Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat dan Lama Penyimpanan Terhadap Mutu Minuman Sari Nanas (*Ananas comosus* L.). *Jurnal Penelitian Pasca Panen Penelitian.* **15(3)** :140-146.
- Sefriana, F. 2012. Variasi Nitrogen dan Hidrolisi Enzimatis pada Produksi Beta Glukan *Sacharomyces cerevisiae* dengan Medium Onggok Ubi Kayu dan Onggok Umbi Garut. [Skripsi]. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Simanjuntak, H dan Shanti, D. L. 2016. Karakteristik Kimia dan Aktivitas Antioksidan Kombucha dari Tumbuhan Apu-apu (*Pistia stratiotes*) Selama Fermentasi. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan. *Jurnal Teknologi Hasil Perikanan.* **2(5)**: 123-133.
- Stanbury, P. F dan Whitaker, A. 1987. *Principles of Fermentation Tecnology*. Toronto, Canada.
- Sukmawati. 2018. Identify of Floc-Forming Bacteria in Shrimp. *Jurnal Bioscience.* **1(2)**: 13–20.
- Suseno, D., Meryandini, A., dan Sunarti, T. C. 2016. Kinerja Fermentasi Sagu Asam Menggunakan Starter Cair dan Padat Dari Isolat Bakteri Asam Laktat *Indigenous*. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian.* **26(1)**: 111-124.
- Ulandari, R. 2015. Uji Kadar Alkohol Pada Tapai Ketan Putih dan Singkong melalui Fermentasi Dengan Dosis Ragi Yang Berbeda dan Sumbangsihnya Pada Materi Bioteknologi di kelas II SMA/MA. [Skripsi]. Program Studi Biologi Fakultas Tarbiyah dan Keguruan. Universitas Islam Negeri (UIN) Raden Fatah, Palembang.
- Wibowo, R. S., dan Ali, Muhammad. 2019. Alat Pengukur Warna Dari Tabel Indikator Universal pH Yang Diperbesar Berbasis Mikrokontroler Arduino. *Jurnal Edukasi Elektro.* **2(3)**: 99-109.
- Wigiyaningrum, C. 2009. Pengaruh Bahan Penutup Terhadap Kadar Alkhol pada Proses Fermentasi Ubi Kayu (*Manihot esculenta crantz*) dan Ubi Jalar (*Ipomea batatas* L. Sin). [Skripsi]. UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
- Yulianti, C. H. 2014. Uji Beda Kadar Alkohol pada Tape Beras, Ketan Hitam dan Singkong. *Jurnal Teknika.* **6(1)**: 531-536