

The Effectiveness Probiotic Drink of Salak Bali (*Salacca zalacca*) in Inhibiting Growth of *Escherichia coli*

Nadya Treesna Wulansari^{1*}, A. A. Istri Mas Padmiswari¹, Ida Ayu Manik Damayanti¹

¹Fakultas Teknologi, Institut Teknologi dan Kesehatan Bali, Denpasar, Bali, Indonesia

Article History

Received : July 20th, 2022

Revised : August 09th, 2022

Accepted : September 06th, 2022

*Corresponding Author:

Nadya Treesna Wulansari,
Institut Teknologi dan Kesehatan
Bali, Denpasar, Bali, Indonesia
Email: nadyatreesna@gmail.com

Abstract: Salak bali (*Salacca zalacca*) is one of the local fruit varieties cultivated in Bali. This fruit contains antioxidants, so that it is potential to be used as a probiotic drink. Probiotic drinks containing live microbes can inhibit the growth of pathogenic microbes and balance the microbes in the intestines so that they can affect the health of those who consume them. This study aimed to determine the effectiveness of the probiotic drink of salak bali fruit juice (*Salacca zalacca*) in inhibiting the growth of *Escherichia coli*. The study employed experimental with a completely randomized design. Salak juice was fermented for 18 days and harvested every 3 days, then an antibacterial test was carried out. The data were analyzed by using analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at a 5% significance level. The finding showed that probiotic drink of salak bali fruit juice effective to inhibiting the growth of *Escherichia coli*. Optimal antibacterial growth was seen on the 15th day of fermentation with an inhibition zone of 8.13 ± 0.40 mm. The presence of inhibition caused by the phytochemical content found in salak fruit, SCOBY contained in drinks, and the length of the fermentation process.

Keywords: *Escherichia coli*, inhibition, probiotics, salak bali

Pendahuluan

Escherichia coli merupakan bakteri patogen usus yang berperan menyebabkan infeksi besar di seluruh dunia seperti diare (Rojas, *et al.*, 2018). Anggota family Enterobacteriaceae dalam kelas Gammaproteobacteria memiliki bentuk batang dengan sifat gram negatif (Jang, *et al.*, 2017). *E. coli* patogen terutama dibagi menjadi dua kelompok tergantung pada lokasi penyakit yaitu *E. coli* patogen ekstraintestinal (ExPEC) dan *E. coli* patogen usus (InPEC) (Rojas *et al.*, 2018). Radji (2011) menyatakan bahwa *E. coli* bersifat patogen dan jenis enteropatogenik (EPEC), enterotoksigenik (ETEC), enteroinvasif (EIEC), enterohemoragik (EHEC) serta enteroagregatif (EAEC) sering menyebabkan infeksi pada saluran pencernaan manusia. Penggunaan obat-obat kimia dalam mengatasi infeksi akibat *E. coli* dapat berdampak buruk bagi tubuh seperti efek racun pada organ ginjal (Kusuma, 2010). Oleh

sebab itu, untuk mencegah hal tersebut diperlukanlah adanya alternatif pengobatan.

Penggunaan obat alternatif seperti terapi/obat alami mampu mengurangi dampak dari penggunaan obat-obatan kimia. Salah satunya adalah dengan minuman probiotik. Probiotik adalah makanan suplemen berupa mikroba hidup yang menguntungkan manusia khususnya dalam keseimbangan mikroflora usus (Fuller, 1999). Probiotik secara langsung mampu membantu mikroflora yang berada di saluran pencernaan guna menghambat bakteri patogen yang dapat mengganggu saluran pencernaan. Probiotik juga dapat digunakan untuk membantu penderita *lactose intolerance*, dan mencegah penyakit diare (Tannock, 2005). Salah satu kategori minuman dapat dikatakan sebagai produk probiotik adalah kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Faizin & Fidyasari 2019).

Mengonsumsi minuman probiotik yang mengandung mikroba hidup berperan dalam kesehatan yaitu dapat menghambat pertumbuhan

mikroba patogen dan menyeimbangkan mikroba dalam usus sehingga mampu mempengaruhi kesehatan tubuh. Bakteri patogen yang bersifat selektif mampu dilawan oleh minuman probiotik yang menghasilkan bakteriosin. Kesehatan tubuh dapat dijaga karena adanya mikroflora usus. Selain itu, adanya bakteri asam laktat (BAL) dapat berpotensi membantu meningkatkan fisiologis usus. Petumbuhan bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* dapat dicegah dengan adanya bakteri probiotik.

Indonesia termasuk ke dalam negara yang kaya akan biodiversitas. Tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional alternatif dalam pengobatan banyak tumbuh pada hutan hujan tropis di Indonesia. Buah salak Bali (*Salacca zalacca*) merupakan tanaman yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Salak Bali memiliki kandungan aktivitas antioksidan sebesar $130,20 \pm 11,21 \mu\text{mol vit C/g db}$ lebih tinggi dibandingkan dengan varietas salak nglumut ($116,87 \pm 4,43 \mu\text{mol vit C/g db}$) dan salak pondoh ($79,57 \pm 7,56 \mu\text{mol vit C/g db}$) (Arivianti *et al.*, 2013). Melihat potensi antioksidan yang terkandung pada salak bali, komoditas ini berpotensi untuk dapat diolah menjadi produk minuman probiotik.

Pembuatan minuman probiotik buah salak dalam penelitian ini menggunakan stater SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*). SCOBY adalah campuran dari bakteri dan ragi yang hidup dalam koloni yang sama dan berbentuk seperti lapisan gel. Pada koloni SCOBY terdapat beberapa bakteri diantaranya: bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus* (Marsh, Hill, Ross, & Cotter, 2014), bakteri asam seperti *Komagataeibacter*, *Gluconobacter*, dan *Acetobacter* (Roos & Vuyst, 2018) dan yeast seperti *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae* (Coton *et al.*, 2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Nurina, *et al* (2014) menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat dihambat dengan ekstrak buah salak. Selain itu, pertumbuhan *Salmonella typhi* dapat dihambat dengan ekstrak buah salak pondoh (*Salacca edulis*) secara *in vitro* (Ismadi, *et al.*, 2019). Selain itu, bakteri asam laktat yang berasal dari SCOBY mampu menghambat mikroorganisme patogen baik bakteri dan jamur (Rahmiati, 2019). Oleh karena

itu, penelitian terkait efektivitas minuman probiotik sari buah salak bali dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* penting dilakukan.

Bahan dan Metode

Penelitian ini menggunakan alat seperti panci, sutil kayu, kain saring, pinset non logam, kompor, juicer, kain serbet, karet, toples kaca 1 liter, timbangan analitik, sprayer, baskom plastik, pisau, talenan, kertas filter, botol kemasan 250 ml, gelas ukur, cawan petri, inkubator, autoclave. Bahan penelitian antara lain salak bali (*Salacca zalacca*), gula, stater SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeasts*), air mineral, alkohol 70%, kapur anti semut, tissue, sarung tagan, kertas label dan alumunium foil dan *Nutrient Agar*, *Mueller Hinton Agar* (MHA). Desain penelitian merupakan eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap dengan 7 perlakuan dan 3 kali ulangan.

Pembuatan sari buah salak Bali diawali dengan mengupas kulit, memisahkan daging buah dan bijinya. Selanjutnya daging buah salak dibersihkan dengan menggunakan air mengalir dan ditimbang beratnya. Setelah ditimbang, dilakukan pemotongan daging buah salak dengan ukuran kurang lebih 2 cm. Selanjutnya, ditambahkan air dengan perbandingan buah salak dan air sebesar 1 : 2. Panaskan dengan suhu 50°C selama 10 menit, lalu disaring dan diambil filtratnya. Filtrat tersebut ditambahkan gula dengan perbandingan filtrat dan gula sebesar 1 : 4. Selanjutnya dipasteurisasi dan didinginkan.

Pembuatan minuman probiotik sari buah salak dilakukan dengan menuangkan sebanyak 1 liter sari buah salak dalam keadaan tidak panas ke dalam toples kaca yang sudah disterilkan. Setelah itu, starter SCOBY dimasukkan kedalam minuman salak dan diikat rapat menggunakan kain dan didiamkan pada suhu ruang. Pada minuman sari buah salak akan terbentuk lapisan selulosa dan lapisan tersebut dipisahkan dari sari buahnya. Sari buah salak fermentasi disaring agar bersih dari residu. Sari buah salak difermentasi selama 18 hari dan dipanen setiap 3 hari dengan mengambil SCOBY dan dilakukan penyaringan. Selanjutnya minuman probiotik sari buah salak dilakukan uji antibakteri.

Metode difusi cakram *Kirby Bauer* digunakan untuk menguji kemampuan antibakteri probiotik buah salak terhadap bakteri

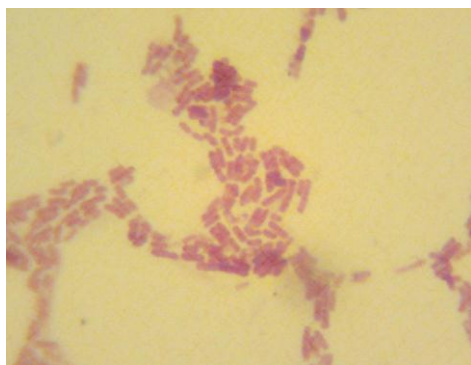
Escherichia coli. Inokulasi bakteri dilakukan dengan menggoreskan bakteri menggunakan kapas lidi steril ke media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Setelah itu letakan kertas cakram yang sudah direndam dengan minuman probiotik buah salak sesuai dengan lama fermentasinya selama 15 menit dan diinkubasi selama 1 hari (1 x 24 jam) di inkubator pada suhu 37°C. Setelah 1 hari di inkubasi, diameter zona hambat yang terbentuk dihitung dan tentukan rerata zona hambat untuk setiap lama fermentasi (Fransisca *et al.*, 2020).

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) (Pallant, 2010). Jika hasil menunjukkan adanya perbedaan ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan uji jarak berganda *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

Hasil dan Pembahasan

Rerata Diameter Zona Hambat

Minuman probiotik sari buah salak difermentasi selama 18 hari dan setiap 3 hari dilihat kemampuannya dalam menghambat *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang tergolong gram negatif dengan bentuk basil. Hasil pengecatan gram bakteri *Escherichia coli* dapat ditunjukkan pada gambar 1 berikut.



Gambar 1. Hasil Pengecatan Gram *Escherichia coli*

Adapun rerata daya hambat minuman probiotik sari buah salak terhadap *Escherichia coli* ditunjukkan pada Tabel 1.

Berdasarkan data Tabel 1 menunjukkan bahwa adanya adanya variasi rerata daya hambat berdasarkan lama fermentasi minuman probiotik buah salak. Pada fermentasi hari ke-0 dan ke-3 menunjukkan minuman probiotik buah tidak

adanya daya hambat terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Rerata daya hambat pada fermentasi hari ke-6 dan ke-9 berturut turut sebesar $5,96 \pm 1,45$ mm dan $6,35 \pm 0,15$ mm. Pada fermentasi hari ke-12 daya hambat yang dihasilkan sebesar $6,54 \pm 0,21$ mm. Daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* tertinggi yaitu sebesar $8,13 \pm 0,40$ mm yang dihasilkan adalah pada fermentasi hari ke 15. Sedangkan pada hari ke-18 fermentasi minuman probiotik salak tidak menunjukkan daya hambat. Diameter zona hambat yang dihasilkan minuman probiotik salak tergolong dalam kategori lemah (Harmita, 2008)

Tabel 1. Rerata Daya Hambat Minuman Probiotik Sari Buah Salak Terhadap *Escherichia coli*

Lama Fermentasi	Rerata Daya Hambat <i>Escherichia coli</i> (mm)
0 hari	$0,00 \pm 0,00a$
3 hari	$0,00 \pm 0,00a$
6 hari	$5,96 \pm 1,45b$
9 hari	$6,35 \pm 0,15b$
12 hari	$6,54 \pm 0,21b$
15 hari	$8,13 \pm 0,40c$
18 hari	$0,00 \pm 0,00a$

Keterangan: pada Tabel menunjukkan perbedaan huruf pada perlakuan yang menunjukkan hasil berbeda nyata ($p < 0,05$).

Pembahasan

Adanya daya hambat pada proses fermentasi minuman probiotik sari buah salak dapat disebabkan oleh adanya kandungan fitokimia yang terdapat pada buah salak dan SCOBY yang terkandung pada minuman. Penelitian yang dilakukan oleh Nurina *et al* (2014) menyatakan bahwa ekstrak buah salak berpengaruh mengganggu pertumbuhan *Escherichia coli*. Ekstrak buah salak pondoh (*Salacca edulis*) menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* secara in vitro (Ismadi *et al.*, 2019). Tanin, flavonoid dan alkaloid teridentifikasi terkandung dalam ekstrak buah salak (Nurina *et al.*, 2014). Setiap senyawa metabolit yang terkandung pada setiap tanaman memiliki mekanisme yang berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Efektivitas antibakteri tanin mampu melewati bakteri dinding sel hingga membran internal, mengganggu metabolisme sel, sehingga mampu

menghancurkan sel bakteri (Kaczmarek, 2020). Mengerutkan dinding sel atau membran sel bakteri sehingga mampu mengganggu permeabilitas sel bakteri serta adanya aktivitas fenolik yang bersifat koagular protein merupakan salah satu toksisitas tanin dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Rante *et al.*, 2017). Tanin mampu menghambat perlekatan bakteri sehingga kurangnya adhesi bakteri ke permukaan menyebabkan kematian sel bakteri (Hull Vance, 2011). Hartmann *et al.* (2010) mengatakan bahwa flavonoid mampu mengganggu integritas membrane sehingga menyebabkan disfungsi metabolisme sel yang berujung pada kematian sel. Othman *et al.* (2019) menyimpulkan bahwa mekanisme kerja alkaloid adalah mempengaruhi pembelahan sel, menghambat pernafasan dan enzim pada sel bakteri, serta menghancurkan membran sel.

Selain itu kandungan SCOBY dalam proses fermentasi berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. SCOBY adalah campuran dari bakteri dan ragi yang hidup dalam koloni yang sama dan berbentuk seperti lapisan gel. Pada koloni SCOBY, terdapat beberapa bakteri diantaranya: bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus* (Marsh, Hill, Ross, & Cotter, 2014), bakteri asam seperti *Komagataeibacter*, *Gluconobacter*, dan *Acetobacter* (Roos & Vuyst, 2018) dan yeast seperti *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae* (Coton *et al.*, 2017). Selain itu, bakteri asam laktat yang berasal dari SCOBY mampu menghambat mikroorganisme patogen baik bakteri dan jamur (Rahmiati, 2019).

Suprihatin (2010) menyebutkan bahwa fermentasi merupakan suatu proses perubahan kimia substrat organik yang melibatkan enzim yang dihasilkan oleh mikroba. Berdasarkan hasil fermentasi terlihat bahwa fermentasi hari ke 15 menunjukkan daya hambat tertinggi. Sedangkan pada fermentasi hari ke-0, ke-3 dan ke-18 tidak menunjukkan adanya daya hambat. Harmita (2008) menyatakan bahwa kemampuan aktivitas antibakteri suatu senyawa dapat dibedakan menjadi 3 kategori yaitu kuat (diameter zona hambat yang dihasilkan ≥ 22 mm), sedang (diameter zona hambat yang dihasilkan berkisar antara 12-21 mm dan lemah (diameter zona hambat yang dihasilkan ≤ 11 mm). Sehingga

minuman probiotik sari buah salak Bali yang difermentasi tergolong kategori yang masih lemah.

Rerata diameter zona hambat menunjukkan di awal fermentasi dan di akhir fermentasi tidak terdapat zona hambat. Peneliti beramsusi bahwa fermentasi yang terlalu awal pertumbuhan bakteri asam laktat yang terkandung pada SCOBY belum tumbuh secara optimal. Sedangkan pada fermentasi yang terlalu lama menyebabkan nutrisi untuk pertumbuhan bakteri asam laktat yang sudah mulai berkurang dan kondisi minuman sudah sangat asam. Hal ini didukung oleh Yunus *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri asam laktat yang menyebabkan populasinya kurang dapat disebabkan karena waktu fermentasi asam laktat yang terlalu singkat. Sedangkan jika sebaliknya, akan mengakibatkan penurunan jumlah populasi bakteri asam laktat, rasa produk akan menjadi asam, dan bakteri asam laktat yang bersifat heterofermentatif dapat menghasilkan toksik seperti etanol. Semakin lama proses fermentasi akan mengakibatkan jumlah gula pada media pertumbuhan bakteri asam laktat untuk tumbuh menjadi berkurang. Gula diperlukan sebagai sumber karbon, energi bagi pertumbuhannya. Energi yang digunakan dapat berupa xilosa, sukrosa dan laktosa (Koesoemawardani *et al.*, 2013).

Kesimpulan

Minuman probiotik sari buah salak Bali (*Salacca zalacca*) efektif dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Pertumbuhan antibakteri yang optimal terlihat pada fermentasi hari ke-15 dengan zona hambat sebesar $8,13 \pm 0,40$ mm.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Institut Teknologi dan Kesehatan Bali serta seluruh pihak yang telah membantu dalam penelitian ini sehingga berjalan dengan lancar.

Referensi

Arivianti, S., & Parnanto, N. H. R. (2013). Kapasitas antioksidan buah salak (*Salacca edulis* REINW) kultivar pondoh, nglumut

- dan Bali serta korelasinya dengan kadar fenolik total dan vitamin C. *Agritech*, 33(3), 324-333. DOI: <https://doi.org/10.22146/agritech.9555>.
- Coton, M., Pawtowski, A., Taminiau, B., Burgaud, G., Deniel, F., Coulloume-Labarthe, L., & Coton, E. (2017). Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods. *Fems Microbiology Ecology*, 93(5), 1–16. <https://doi.org/10.1093/femsec/fix048>.
- Faizin, M & Fidyasari, A. (2019). *Uji Aktivitas Antibakteri Dari Minuman Probiotik Sirsak Gunung (Annona montana Macf.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Salmonella sp.* Diploma thesis, Akademi Farmasi Putera Indonesia Malang.
- Fransisca, D., Kahanjak, D. N., & Frethernety, A. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan (Journal of Environmental Sustainability Management)*, 4 (1): 460-470. DOI: <https://doi.org/10.36813/jplb.4.1.460-470>.
- Faizain, M. & Fidyasari, A. (2019). Aktivitas Antibakteri dari Minuman Probiotik Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Salmonella* sp. Karya Tulis Ilmiah. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Retrieved from <http://repository.poltekkespim.ac.id/id/eprint/441/1/ARTIKEL%20KTI.pdf>
- Fuller, R. (1999). *Probiotics for Farm Animals*. Tannock, G.W., editor. New York: Horizon Scientific Press.
- Hartmann, M., Berditsch, M., Hawecker, J., Ardakani, M. F., Gerthsen, D., & Ulrich, A. S. (2010). Damage of the bacterial cell envelope by antimicrobial peptides gramicidin S and PGLa as revealed by transmission and scanning electron microscopy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(8), 3132-3142.
- Harmita & M. Radji. (2008). *Kepekaan Antibiotik dalam Buku Ajar Analisis Hayati Ed. 3*, EGC, Jakarta, pp. 1- 5.
- Hull Vance, S., Tucci, M., & Bengezzi, H. (2011). Evaluation of the antimicrobial efficacy of green tea extract (egcg) against *Streptococcus pyogenes* in vitro - biomed 2011. *Biomedical sciences instrumentation*, 47, 177–182.
- Ismadi, I. T., Pestariati, P., & Astuti, S. S. E. (2019). Uji Antibakteri Ekstrak Buah Salak (*Salacca Edulis*) Pada Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Typhi* Secara In Vitro. *Analisis Kesehatan Sains*, 8(1).
- Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications-a review. *Journal of applied microbiology*, 123(3), 570–581. DOI: <https://doi.org/10.1111/jam.13468>.
- Kaczmarek, A. (2020). Tannic Acid with Antiviral and Antibacterial Activity as A Promising Component of Biomaterials— A Minireview. *Materials* (13) DOI: <https://doi.org/10.3390/ma13143224>.
- Koesoemawardani D., S. Rizal & M. Tauhid. (2013). Perubahan sifat mikrobiologi dan kimiawi rusip selama fermentasi. *Agritech* 33(3): 265-272. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.
- Kusuma, S.A.F. (2010). *Escherichia coli*. Makalah Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran, Bandung.
- Marsh, A. J., O’Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2014). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple Kombucha (tea fungus) samples. *Food Microbiology*, 38, 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.09.003>.
- Nurina, C., Samingan, S., & Iswadi, I. (2015). Uji Antimikroba Ekstrak Buah Salak (*Salacca edulis*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Biologi Edukasi: Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 6(1), 19-23. Retrieved from <http://jurnal.unsyiah.ac.id/JBE/article/view/2271>.
- Othman L, Sleiman A & Abdel-Massih RM (2019) Antimicrobial Activity of Polyphenols and Alkaloids in Middle

- Eastern Plants. *Front. Microbiol.* 10 (911): 1-28 DOI: 10.3389/fmicb.2019.00911.
- Pallant, Jullie. 2010. *SPSS Survival Manual 4 th Edition*. New York: Mc Graw Hill.
- Radji, M. (2011). *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rante, B. K., Assa, Y. A., & Gunawan, P. N. (2017). Uji daya hambat getah kulit buah pisang goroho (*Musa acuminata* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *e-GiGi*, 5(2).
- Tannock, G.W. (2005). *Probiotics and Prebiotics: Scientific Aspects*. New York: Horizon Scientific Press. pp : 43.
- Rahmiati & Simanjuntak, H.A (2019). Kemampuan Bakteri Asam Laktat Dalam Menghambat *Salmonella thypii*. *Jurnal Jeumpa*, 6 (2): 257-264. DOI: <https://doi.org/10.33059/jj.v6i2.1898>.
- Rojas-Lopez M, Monterio R, Pizza M, Desvaux M and Rosini, R. (2018). Intestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Insights for Vaccine Development. *Front. Microbiol.* 9:440. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00440>.
- Roos, J. D., & Vuyst, L. D. (2018). Acetic acid bacteria in fermented foods and beverages. *Current Opinion in Biotechnology*. 49, 115–119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.08.007>.
- Suprihatin. (2010). *Teknologi Fermentasi*. Surabaya: UNESA University Press.
- Yunus, Y., & Zubaidah, E. (2014). Pengaruh Konsentrasi Sukrosa Dan Lama Fermentasi Terhadap Viabilitas *L. Casei* Selama Penyimpanan Beku Velva Pisang Ambon [In Press April 2015]. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2), 303-312.