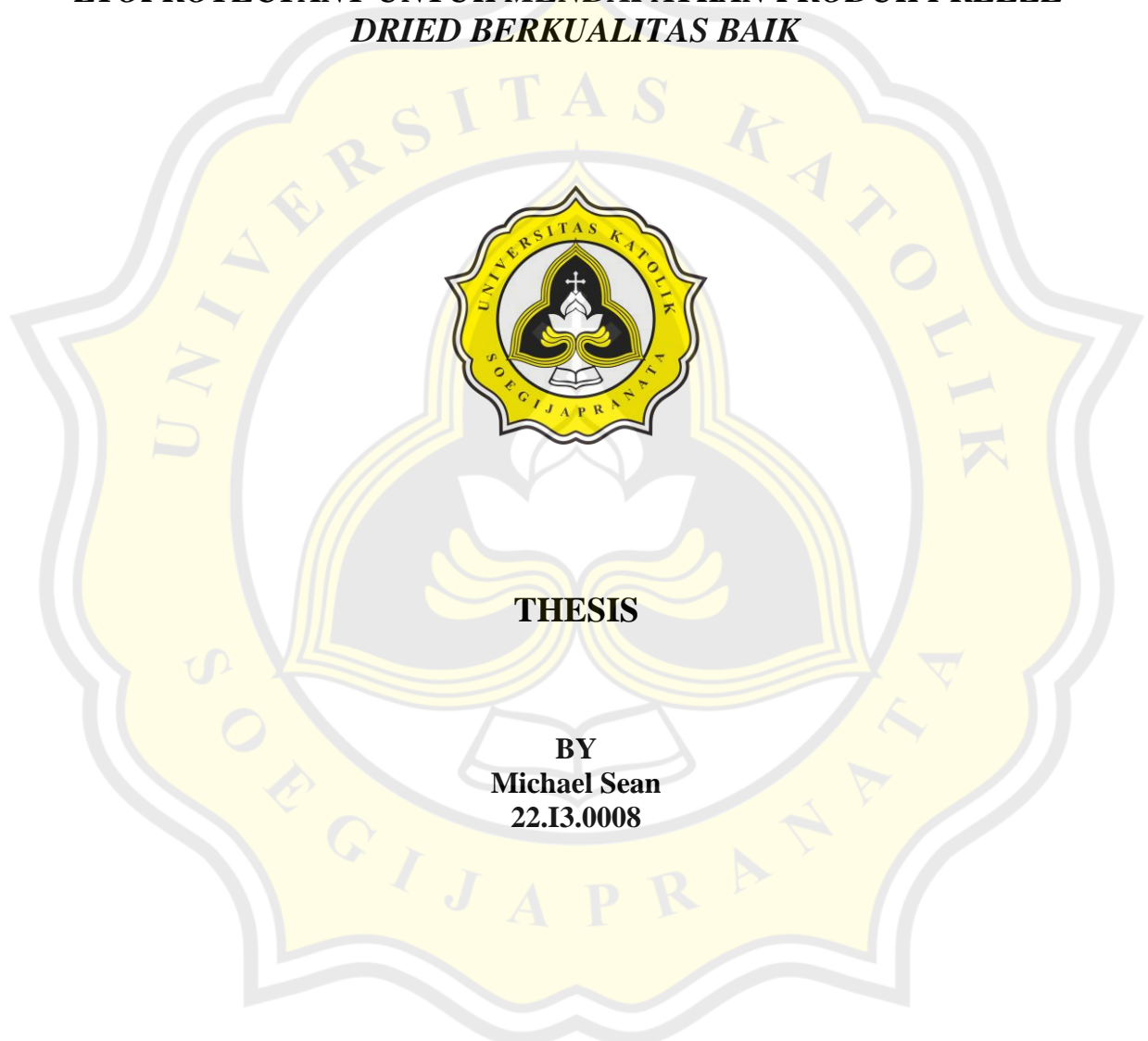


**FERMENTATION OF BITTER MELON (*Momordica charantia*)  
JUICE WITH *Lactobacillus fermentum* LLB3 AND ADDITION OF  
LYOPROTECTANT TO ACHIEVE A GOOD QUALITY OF  
FREEZE-DRIED PRODUCT**

---

***FERMENTASI JUS PARE (*Momordica charantia*) DENGAN  
*Lactobacillus fermentum* LLB3 DAN PENAMBAHAN  
LYOPROTECTANT UNTUK MENDAPATKAN PRODUK FREEZE-  
DRIED BERKUALITAS BAIK***



**THESIS**

**BY  
Michael Sean  
22.I3.0008**

**MASTER OF FOOD TECHNOLOGY PROGRAM  
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY  
SOEGIJAPRANATA CATHOLIC UNIVERSITY  
SEMARANG**

**2023**

**FERMENTATION OF BITTER MELON (*Momordica charantia*)  
JUICE WITH *Lactobacillus fermentum* LLB3 AND ADDITION OF  
LYOPROTECTANT TO ACHIEVE A GOOD QUALITY OF  
FREEZE-DRIED PRODUCT**

---

***FERMENTASI JUS PARE (*Momordica charantia*) DENGAN  
*Lactobacillus fermentum* LLB3 DAN PENAMBAHAN  
LYOPROTECTANT UNTUK MENDAPATKAN PRODUK FREEZE-  
DRIED BERKUALITAS BAIK***

**THESIS**

Submitted to fulfill the necessary requirements  
for a Master's Degree in Food Technology

BY  
Michael Sean  
22.I3.0008

**MASTER OF FOOD TECHNOLOGY PROGRAM  
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY  
SOEGIJAPRANATA CATHOLIC UNIVERSITY  
SEMARANG**

**2023**

## SUMMARY

Bitter melon (*Momordica charantia*/MC) is one of the plant-based functional foods, which has many health benefits potential due to its bioactive composition. Lactic acid fermentation of MC juice has been investigated as a promising method for modifying the content of bioactive compounds. *Lactobacillus fermentum* LLB3 is able to perform lactic acid fermentation on MC juice, and produces  $\beta$ -glucosidase enzyme, which is responsible for the liberation of several bioactive compounds from their glucoside precursors. This research aims to improve the processing methods, focusing on the effects of fermentation on the bioactive compounds (including total phenolic, total flavonoid,  $\beta$ -sitosterol D-glucoside, and stigmasterol content), and evaluate the effect of skim milk as lyoprotectant to maintain the viability of *L. fermentum* LLB3 after the freeze-drying process. This study used a completely randomized design experimental method, with MC juice samples obtained from fresh MC fruit (Taiwanese var.) with the age of 40 days after planting. The MC juice was fermented with the addition of three levels of dextrose concentration. The content of bioactive compounds was determined using the spectrophotometry (UV-Vis) and HPLC (UV-Vis) method. The fermented MC juice was also added with skim milk as a lyoprotectant prior to freeze-drying process. The number of surviving probiotics was calculated using the total plate count method. Paired T-test and analysis of variance were used as statistical analysis methods to evaluate the difference between variables.

The present study validates that *L. fermentum* LLB3 able to use MC juice as their growth medium without additional carbon source. The growth was observed optimally at the first 24 hours of fermentation at incubation temperature of 37°C. The highest bacterial count was obtained from the sample containing 5% of dextrose concentration, however, the specific utilization of dextrose could not be concluded in this research. Further fermentation up to 48 hours resulted in great reduction of viable cells, indicating that the bacterial death phase may have occurred after 24 hours of incubation in MC juice. In addition, this research successfully proves that adaptive evolution method could improve *L. fermentum* LLB3 growth to more than  $1 \times 10^7$  CFU/mL after 4 times of inoculation for 24 hours (each) incubation in MC juice. The fermented MC juice obtained from this research also exhibit an increase in total phenolic content, total flavonoid content, and stigmasterol content. Furthermore, addition of 20% w/v of skim milk was found to retain the viability of *L. fermentum* LLB3 in fermented MC juice up to 56.67%.

## RINGKASAN

Pare (*Momordica charantia*/MC) merupakan salah satu pangan fungsional nabati yang memiliki banyak potensi manfaat bagi kesehatan karena komposisi bioaktifnya. Fermentasi asam laktat jus MC telah diteliti sebagai metode yang menjanjikan untuk memodifikasi kandungan senyawa bioaktif. *Lactobacillus fermentum* LLB3 mampu melakukan fermentasi asam laktat pada jus MC, dan menghasilkan enzim  $\beta$ -glukosidase yang bertanggung jawab atas pembebasan beberapa senyawa bioaktif dari prekursor glukosidanya. Penelitian ini bertujuan untuk memperbaiki metode pengolahan, dengan berfokus pada efek fermentasi terhadap senyawa bioaktif (termasuk kandungan total fenolik, total flavonoid,  $\beta$ -sitosterol D-glukosida, dan stigmasterol), dan mengevaluasi efek susu skim sebagai lyoprotektan untuk mempertahankan viabilitas *L. fermentum* LLB3 setelah proses pengeringan beku. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan sampel jus MC diperoleh dari buah MC segar (varietas Taiwan) yang berumur 40 hari setelah masa tanam. Jus MC difermentasi dengan penambahan tiga tingkat konsentrasi dekstrosa. Kandungan senyawa bioaktif ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometri (UV-Vis) dan HPLC (UV-Vis). Jus MC yang difermentasi juga ditambahkan susu skim sebagai lyoprotektan sebelum proses pengeringan beku. Jumlah probiotik yang bertahan hidup dihitung menggunakan metode *total plate count*. Uji *Paired T-test* dan *analysis of variance* digunakan sebagai metode analisis statistik untuk mengevaluasi perbedaan antar variabel.

Penelitian ini memvalidasi bahwa *L. fermentum* LLB3 mampu menggunakan jus MC sebagai media pertumbuhannya tanpa sumber karbon tambahan. Pertumbuhan optimal diamati pada sampel dengan waktu fermentasi selama 24 jam pertama pada suhu inkubasi 37°C. Jumlah bakteri tertinggi diperoleh dari sampel yang mengandung konsentrasi dekstrosa 5%, namun pemanfaatan dekstrosa secara spesifik belum dapat disimpulkan dalam penelitian ini. Fermentasi lebih lanjut hingga 48 jam mengakibatkan berkurangnya sel-sel yang hidup secara signifikan, menunjukkan bahwa fase kematian bakteri mungkin terjadi setelah 24 jam inkubasi dalam jus MC. Selain itu, penelitian ini berhasil membuktikan bahwa metode evolusi adaptif dapat meningkatkan pertumbuhan *L. fermentum* LLB3 hingga lebih dari  $1 \times 10^7$  CFU/mL, setelah 4 kali inokulasi ke dalam jus MC dengan waktu inkubasi selama 24 jam (masing-masing). Jus MC fermentasi yang diperoleh dari penelitian ini juga menunjukkan peningkatan kandungan total fenolik, kandungan total flavonoid, dan kandungan stigmasterol. Selain itu, penambahan 20% b/v susu skim dapat mempertahankan viabilitas *L. fermentum* LLB3 dalam jus MC yang difermentasi hingga 56,67%.