

Kajian Lama Fermentasi dan Konsentrasi Ekstrak Daun Maja (*Crescentia cujete Linn.*) terhadap Karakteristik Kefir Susu Kambing

Zelvia Dian Anggraeni¹, Dedin F. Rosida^{1)2)*}

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur

²Pusat Inovasi Teknologi Tepat Guna Pangan Dataran Rendah dan Pesisir, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur

*Email : dedin.tp@upnjatim.ac.id

Abstrak: Kefir adalah minuman fermentasi susu oleh biji kefir yang mengandung kultur bakteri dan *yeast*. Lama fermentasi berkaitan dengan fase pertumbuhan mikroba yang akan berpengaruh terhadap produk hasil fermentasi. Senyawa fitokimia dalam ekstrak daun maja dapat berperan sebagai prebiotik yang mendorong pertumbuhan bakteri asam laktat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun maja terhadap nilai pH, viskositas, total asam laktat, total bakteri asam laktat dan total khamir kefir susu kambing. Penelitian ini menggunakan dua faktor yaitu lama fermentasi (12, 16, 20 jam) dan konsentrasi ekstrak daun maja (2,5%, 5%, 7,5%) Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun maja berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap nilai pH, viskositas, total bakteri asam laktat dan total khamir, tetapi tidak berpengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap total asam laktat kefir. Kefir susu kambing dengan perlakuan lama fermentasi 20 jam dengan penambahan ekstrak daun maja sebesar 7,5% merupakan perlakuan terbaik dengan nilai pH sebesar 2,94, viskositas 642,7 cP, total asam laktat 1,44%, total bakteri asam laktat 9,3 log CFU/ml dan total khamir 6,1 log CFU/ml.

Kata kunci: kefir; susu kambing; daun maja; fermentasi; fisikokimia

Abstract: Kefir is a fermented milk drink made from kefir grains containing bacteria and yeast cultures. The duration of fermentation is related to the microbial growth phase which will affect the fermented product. Phytochemical compounds in maja leaf extract can act as prebiotics which encourage the growth of lactic acid bacteria. This study aims to determine the effect of fermentation time and concentration of maja leaf extract on pH, viscosity, total lactic acid, total lactic acid bacteria and total yeast kefir goat's milk. This study used two factors, the length of fermentation time (12, 16, 20 hours) and the concentration of maja leaf extract (2.5%, 5%, 7.5%). The results showed that the fermentation time and the concentration of maja leaf extract had a significant effect ($P < 0.05$) on the pH value, viscosity, total lactic acid bacteria and total yeast, but had no significant effect on the total lactic acid of kefir. Goat milk kefir with 20 hours of fermentation time and 7.5% of maja leaf extract was the best treatment with a pH value of 2.94, viscosity of 642.7 cP, total lactic acid 1.44%, total lactic acid bacteria 9, 3 log CFU/ml and total yeast 6.1 log CFU/ml.

Key words: kefir; goat's milk; maja leaves; fermentation; physicochemical

1. Pendahuluan

Kefir merupakan minuman fermentasi susu oleh biji kefir yang mengandung kultur bakteri dan *yeast*. Bakteri pada bibit kefir yaitu *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefiri*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* dan *Acetobacter spp*, sedangkan *yeast* terdiri dari *Saccharomyces spp* dan *Kluyveromyces marxianus* (Guzel-Seydim et al., 2021). Kefir memiliki karakteristik rasa yang asam, alkoholik dan berkarbonat (Rahayu dkk, 2020). Kefir menyerupai yogurt tetapi memiliki aroma khas *yeasty* seperti tape (Rohmah dkk, 2018).

Kefir memiliki berbagai manfaat bagi kesehatan, antara lain yaitu dapat meningkatkan kekebalan tubuh, mengatasi penyakit infeksi, mengontrol kadar gula darah,

menurunkan kadar kolesterol jahat, menurunkan risiko penyakit jantung, meningkatkan kesehatan tulang dan menurunkan risiko osteoporosis, mencegah kerusakan gigi, mencegah dan menurunkan risiko kanker, membantu detoksifikasi racun, memperbaiki proses pencernaan, mengatasi penyakit intoleransi laktosa, membantu penurunan berat badan, mengontrol inflamasi dan meningkatkan kesehatan kulit dan rambut (Aryanta, 2021).

Kefir mempunyai nilai fungsional karena mengandung bakteri probiotik yang dapat menjaga keseimbangan mikroflora dalam usus. *Lactobacillus kefir* dapat membantu sistem kekebalan tubuh dalam pertahanan melawan bakteri berbahaya seperti *E. coli* dan *Salmonella*. *Lactobacillus casei* bermanfaat dalam sistem pencernaan karena dapat memecah limbah di dalam tubuh sehingga dapat membantu penyerapan berbagai vitamin dan mineral (Aini dkk, 2021).

Khamir *Kluyveromyces marxianus* memiliki kemampuan bertahan hidup di saluran pencernaan untuk mencapai usus dengan aman dan berfungsi sebagai probiotik karena ketahanannya terhadap asam dan empedu yang dapat ditemui di lingkungan gastro intestinal (Karim et al., 2020).

Kefir dibuat melalui proses fermentasi susu oleh biji kefir. Susu yang digunakan pada pembuatan kefir pada penelitian ini yaitu susu kambing. Susu kambing dipilih karena kandungan nutrisinya seperti protein, karbohidrat, kalium, fosfor, zat besi, Vitamin A, E dan B kompleks yang lebih tinggi dibandingkan susu sapi (Kemenkes, 2017). Namun, susu kambing sangat jarang dikonsumsi dan tidak disukai masyarakat karena aroma khasnya yang amis (prengus) yang sangat tajam. Mengolah susu kambing menjadi minuman fermentasi seperti kefir dapat menjadi salah satu cara untuk mengurangi aroma prengus yang dimilikinya (Sihombing, 2013).

Tanaman Majapahit (*Crescentia cujete Linn.*) dikenal juga dengan sebutan buah maja atau buah berenuk. Tanaman majapahit dapat ditemui di hampir seluruh wilayah di Indonesia dan paling banyak dijumpai di daerah Mojokerto, Yogyakarta dan Banten (Rohaya dkk, 2021). Masyarakat Indonesia belum banyak yang memanfaatkan tanaman majapahit maupun mengolahnya menjadi produk pangan yang bermanfaat bagi kesehatan. Sedangkan di negara lain, tanaman majapahit sering dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan tradisional seperti mengobati batuk, demam, asma, diare, menurunkan tekanan darah tinggi, diabetes dan kanker (Balogun et al, 2021). Ekstrak daun maja mengandung senyawa kimia alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan fenol yang bersifat sebagai antioksidan (Putri dkk, 2021). Ekstrak daun maja memiliki aktivitas penghambatan radikal DPPH sebesar 93% sehingga tergolong ke dalam tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Reddy dan Urooj, 2013). Penambahan ekstrak daun maja diharapkan dapat meningkatkan nilai fungsional pada kefir susu kambing.

Kefir dihasilkan melalui proses fermentasi. Lama fermentasi merupakan salah satu faktor penentu dari nilai gizi suatu produk fermentasi (Rohman et al., 2019). Waktu fermentasi merupakan variabel yang berkaitan dengan fase pertumbuhan mikroba selama proses fermentasi berlangsung sehingga akan berpengaruh terhadap hasil fermentasi (Kusuma dkk, 2020). Waktu fermentasi berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba dan metabolit primer yang dihasilkan dalam proses fermentasi seperti asam laktat dan alkohol. Hal ini disebabkan semakin lama fermentasi, mikroba berkembang biak dan jumlahnya bertambah sehingga kemampuan untuk memecah substrat atau glukosa yang ada menjadi asam laktat dan alkohol semakin besar (Zaini, 2016). Senyawa fitokimia seperti asam organik, asam fenolik dan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak tumbuhan dapat berperan sebagai prebiotik yang menunjang pertumbuhan bakteri asam laktat dengan meningkatkan metabolisme bakteri asam laktat selama proses fermentasi (Zhang et al., 2019). Oleh karena itu diperlukan penelitian mengenai kajian lama fermentasi dan

konsentrasi ekstrak daun maja untuk mengetahui pengaruhnya terhadap karakteristik kefir susu kambing yang dihasilkan.

2. Materi dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Analisa Pangan Fakultas Teknik Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur. Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktor. Faktor pertama yaitu lama fermentasi 12 jam, 16 jam dan 20 jam. Faktor kedua yaitu konsentrasi ekstrak daun maja 2,5%, 5% dan 7,5%. Ulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Analisis data menggunakan analisa sidik ragam dengan tingkat kepercayaan 95%.

2.1. Pembuatan Ekstrak Daun Maja

Pembuatan ekstrak daun maja mengacu pada penelitian Reddy dan Urooj (2013) yang telah dimodifikasi. Daun maja dikeringkan pada suhu 60°C selama 24 jam kemudian direndam dalam air selama 72 jam pada suhu ruang. Kemudian dikeringkan lagi pada suhu 60°C selama 48 jam dan diblender hingga menjadi bubuk. Ekstrak daun maja yang telah halus sebanyak 25 gram ditambahkan dengan pelarut air sebanyak 500 ml dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit kemudian disaring.

2.2. Pembuatan Kefir Susu Kambing

Pembuatan kefir susu kambing mengacu pada penelitian Safira (2021) yang telah dimodifikasi. Susu kambing dipasteurisasi pada suhu 70°C selama 15 detik kemudian didinginkan hingga suhu 40°C kemudian ditambahkan biji kefir sebanyak 5% dan sari kurma sebanyak 25%. Setelah itu ditambahkan ekstrak daun maja dengan berbagai perlakuan konsentrasi yaitu 2,5%, 5% dan 7,5%. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama perlakuan lama fermentasi yaitu 12 jam, 16 jam dan 20 jam.

2.3. Pengujian Nilai pH

Pengujian nilai pH dilakukan dengan menggunakan pH meter.

2.4. Pengujian Viskositas

Pengujian viskositas dilakukan dengan menggunakan *viscometer*.

2.5. Pengujian Total Asam Laktat

Pengujian total asam menggunakan metode titrasi dengan cara mengambil 10 ml sampel dimasukkan dalam erlenmeyer, ditambahkan 50 ml akuades dan 5 tetes indikator PP 1% kemudian dihomogenisasi dan dititrasi dengan larutan NaOH 0,1N hingga terjadi perubahan warna merah muda yang tetap. Perhitungan total asam tertitrasi dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ asam laktat} = \frac{V1 \times N \times B}{V2 \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan :

V1 = Volume NaOH yang digunakan (ml)

V2 = Volume NaOH yang dititrasi (gram)

N = Normalitas NaOH

B = Berat Molekul asam laktat (90)

2.6. Pengujian Total Bakteri Asam Laktat

Pengujian total BAL dilakukan dengan cara sterilisasi alat terlebih dahulu dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Persiapan tabung reaksi 1 s/d 8 yang diberi label 10⁻¹ s/d 10⁻⁸ dan masing-masing cawan petri dengan nilai pengenceranya diberi tanda. Sampel diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10⁻¹ yang berisi 9 ml

larutan NaCl 0,85% kemudian divorteks. Setelah itu pada tabung reaksi 10^{-1} diambil 1 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10^{-2} dan seterusnya hingga tabung reaksi 10^{-8} . Sebanyak 1 ml sampel pada tabung reaksi 10^{-6} hingga 10^{-8} dari masing-masing perlakuan diambil dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang disiapkan. Media MRSA steril yang telah didinginkan pada suhu 45-47°C dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 10 ml dan diratakan dengan cara cawan diputar seperti membentuk angka delapan kemudian dibiarkan hingga memadat. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perhitungan jumlah mikroba dilakukan dengan menggunakan alat *Colony Counter*. Jumlah koloni yang diperoleh dikalikan dengan jumlah pengenceran, hasilnya merupakan jumlah total koloni bakteri.

$$\text{Total BAL (cfu/ml)} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{FP}$$

Keterangan :

FP = faktor pengenceran

2.7. Pengujian Total Khamir

Pengujian total khamir dilakukan dengan cara sterilisasi alat terlebih dahulu dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Persiapan tabung reaksi 1 s/d 4 yang diberi label 10^{-1} s/d 10^{-4} dan masing-masing cawan petri dengan nilai pengecernya diberi tanda. Sampel diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10^{-1} yang berisi 9 ml larutan NaCl 0,85% kemudian divorteks. Kemudian pada tabung reaksi 10^{-1} diambil 1 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10^{-2} dan seterusnya hingga tabung reaksi 10^{-4} . Sebanyak 1 ml sampel pada tabung reaksi 10^{-2} hingga 10^{-4} dari masing-masing perlakuan diambil dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang disiapkan. Media PDA steril yang telah didinginkan pada suhu 45-47°C dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 10 ml dan diratakan dengan cara cawan diputar seperti membentuk angka delapan kemudian dibiarkan hingga memadat. Setelah itu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perhitungan jumlah mikroba dilakukan dengan menggunakan alat *Colony Counter*. Total khamir pada setiap pengenceran dihitung dengan rumus berikut :

$$\text{Total khamir (cfu/ml)} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{FP}$$

Keterangan :

FP = faktor pengenceran

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Karakteristik Biji Kefir

Kefir susu kambing pada penelitian ini terbuat dari bahan baku susu kambing yang difermentasi oleh biji kefir. Jumlah total bakteri asam laktat (BAL) dan khamir pada biji kefir berperan penting dalam proses pembuatan kefir karena BAL dan khamir akan memfermentasi susu membentuk produk kefir (Rohmah dkk, 2018) sehingga kandungan total BAL dan khamir akan mempengaruhi karakteristik kefir yang dihasilkan. Jumlah total BAL dan khamir biji kefir dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisa biji kefir.

Parameter	Hasil Analisa	Literatur
Total BAL (cfu/ml)	$1,4 \times 10^9$	Minimal 10^7
Total Khamir (cfu/ml)	$3,5 \times 10^5$	Minimal 10^4

Sumber: CODEX STAN 243-2003

Berdasarkan data pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa jumlah total bakteri asam laktat (BAL) pada biji kefir sebesar $1,4 \times 10^9$ cfu/ml dan jumlah total khamir sebesar $3,5 \times 10^5$ cfu/ml. Hasil analisa biji kefir yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan kefir pada penelitian ini telah memenuhi standar WHO Codex Stan 243-2003 yang menyebutkan jumlah starter pada kefir sedikitnya mengandung bakteri asam laktat sebanyak 10^7 cfu/ml dan yeast/khamir sebanyak 10^4 cfu/ml.

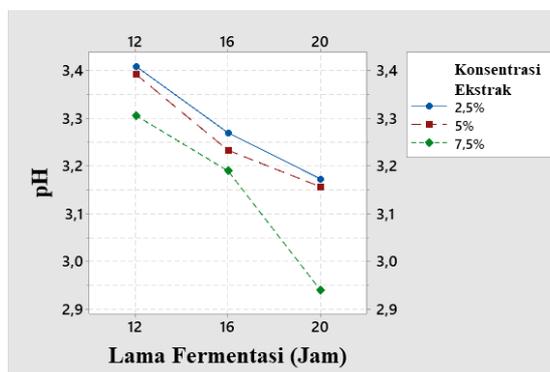
3.2. Nilai pH

Nilai pH yang dimiliki kefir susu kambing pada penelitian ini yaitu berkisar antara 2,94-3,41. Hasil pengukuran nilai pH pada penelitian ini tidak berbeda jauh dengan hasil analisa yang dilakukan oleh (Sulmiyati dkk, 2018) yang menghasilkan nilai pH pada kefir susu kambing sebesar 3,89.

Tabel 2. Rata-rata nilai pH kefir susu kambing dengan penambahan ekstrak daun maja.

Perlakuan		Rata-rata Nilai pH
Lama Fermentasi	Konsentrasi Ekstrak	
12 Jam	2,5%	3,41±0,01 ^a
	5,0%	3,39±0,01 ^{ab}
	7,5%	3,31±0,01 ^{bc}
16 Jam	2,5%	3,27±0,02 ^{cd}
	5,0%	3,23±0,02 ^{cde}
	7,5%	3,19±0,05 ^{de}
20 Jam	2,5%	3,17±0,05 ^{de}
	5,0%	3,16±0,04 ^e
	7,5%	2,94±0,06 ^f

Keterangan: nilai rata-rata yang disertai huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)



Gambar 1. Hubungan nilai rata-rata pH kefir susu kambing dari perlakuan lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun maja.

Hubungan antara lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun maja berpengaruh terhadap nilai pH kefir. Penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati (2015) dan Diantoro dkk (2015) juga menghasilkan terdapat interaksi antara konsentrasi daun kelor dan lama fermentasi terhadap nilai pH yoghurt.

Waktu fermentasi yang semakin lama dan konsentrasi ekstrak daun maja yang semakin tinggi maka nilai pH kefir susu kambing semakin menurun. Hal ini disebabkan karena adanya proses fermentasi oleh bakteri asam laktat yang terjadi selama waktu inkubasi. Proses fermentasi akan mengubah protein pada susu kambing menjadi asam laktat yang bersifat asam. Asam laktat yang terbentuk akan disekresikan keluar sel dan terakumulasi dalam media fermentasi sehingga makin lama waktu fermentasi, jumlah total asam yang terakumulasi semakin meningkat dan menurunkan nilai pH (Kinteki dkk, 2018).

Selain itu, penurunan nilai pH selama waktu fermentasi berhubungan dengan adanya bakteri asam laktat pada biji kefir yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan kefir. Bakteri asam laktat akan tumbuh dan bertambah banyak jumlahnya seiring dengan lama waktu fermentasi sehingga semakin lama waktu fermentasi, jumlah asam laktat yang terbentuk semakin banyak juga, sehingga semakin menurunkan nilai pH pada kefir. Seperti yang dijelaskan oleh (Yusriyah & Agustini, 2014), penurunan pH pada masing-masing proses fermentasi ini terjadi seiring dengan bertambahnya bakteri asam laktat, hal ini sesuai dengan peran bakteri asam laktat dalam menguraikan laktosa menjadi asam laktat dan asam organik lainnya.

Konsentrasi ekstrak daun maja yang semakin tinggi menjadikan nilai pH kefir susu kambing semakin menurun. Hal ini disebabkan karena adanya komponen fitokimia yang terkandung dalam ekstrak daun maja yang dapat meningkatkan aktivitas metabolisme bakteri asam laktat selama fermentasi kefir. Ekstrak daun maja mengandung asam organik, asam fenolik dan flavonoid (Hartati dkk, 2019). Komponen fitokimia ini dianggap dapat mendorong pertumbuhan BAL dan mempercepat penurunan pH (Zhang et al., 2019).

3.3. Viskositas

Viskositas yang dimiliki kefir susu kambing pada penelitian ini yaitu berkisar antara 150-642,7 cP. Hasil ini tidak berbeda jauh dengan hasil pengukuran viskositas kefir susu kambing yang dilakukan oleh (Berlianti dkk, 2022) yang menghasilkan 236,72 cP. Perbedaan hasil ini disebabkan karena perbedaan bahan baku susu kambing yang digunakan. Menurut Prastiwi dkk (2018) viskositas yang dihasilkan pada kefir optima disebabkan oleh kadar protein yang terdapat pada bahan baku, karena protein memiliki kemampuan untuk mengikat air sehingga nilai viskositas meningkat.

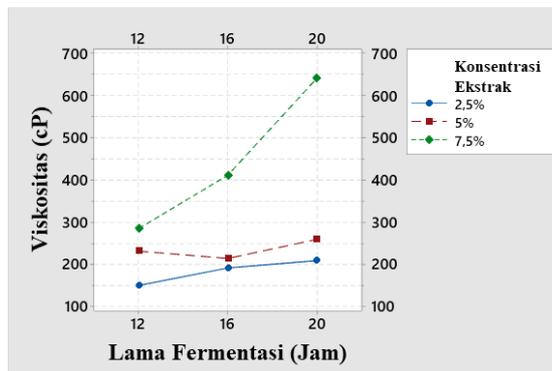
Tabel 3. Rata-rata nilai viskositas kefir susu kambing dengan penambahan ekstrak daun maja.

Perlakuan		Nilai Rata-rata Viskositas
Lama Fermentasi	Konsentrasi Ekstrak	
12 Jam	2,5%	150,0±2,00 ^e
	5,0%	231,3±10,07 ^{cde}
	7,5%	285,0±11,14 ^c
16 Jam	2,5%	191,7±10,07 ^{de}
	5,0%	214,0±6,00 ^{cde}
	7,5%	412,0±85,00 ^b
20 Jam	2,5%	209,0±11,00 ^{cde}

5,0%	259,7±10,50 ^{cd}
7,5%	642,7±1,15 ^a

Keterangan: nilai rata-rata yang disertai huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Hubungan antara lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun maja berpengaruh terhadap nilai viskositas pada kefir. Penelitian sebelumnya mengenai lama fermentasi dan penambahan ekstrak daun kelor memberikan pengaruh berbeda sangat nyata terhadap viskositas pada yogurt (Diantoro dkk, 2015) dan pada kefir susu kambing (Safira, 2021).



Gambar 2. Nilai rata-rata viskositas kefir susu kambing perlakuan lama fermentasi dan penambahan ekstrak daun maja

Waktu fermentasi yang semakin lama dan konsentrasi ekstrak daun maja yang semakin tinggi maka viskositas kefir susu kambing semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena pada saat fermentasi bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat dan asam organik lainnya yang menyebabkan pH menurun, ketika nilai pH mencapai titik isoelektrik, protein yang terdapat pada susu akan mengalami koagulasi dan membentuk globular yang menyebabkan viskositas kefir menjadi meningkat.

Seperti yang dijelaskan oleh Pangestu dkk (2017), pH meningkatkan interaksi antara protein pelarut dan meningkatkan interaksi kasein-kasein. Perubahan interaksi yang tajam tersebut akan meningkatkan viskositas. Menurut (Bayu dkk, 2017), semakin lama inkubasi maka semakin tinggi nilai viskositas kefir. Hal tersebut dapat terjadi karena lama inkubasi menyebabkan pertumbuhan mikroba starter yang digunakan semakin meningkat. Meningkatnya pertumbuhan mikroba menyebabkan semakin banyak asam laktat yang dihasilkan yang menyebabkan koagulasi protein. Disamping asam laktat, bakteri starter juga menghasilkan eksopolisakarida yang dapat mengikat air yang terhidrasi yang akan menurunkan aliran air dalam matriks bahan sehingga menghasilkan susu fermentasi dengan viskositas yang tinggi (Berlianti dkk, 2022).

Penambahan ekstrak daun maja yang semakin tinggi menyebabkan terjadinya peningkatan nilai viskositas pada kefir. Hal ini diduga karena adanya kandungan makromolekul pada ekstrak daun maja yang menyumbangkan jumlah padatan terlarut yang dapat menyebabkan peningkatan viskositas pada kefir. Seperti yang dijelaskan oleh Sawitri (2011), Semakin tinggi jumlah padatan terlarut dalam kefir akan menyebabkan semakin banyak jaringan gel yang terbentuk, sehingga nilai viskositas semakin meningkat. Ekstrak daun maja mengandung protein sebesar 51%, karbohidrat sebesar 40,4% dan serat sebesar 4,4% (Queen, 2019). Komponen makromolekul seperti

karbohidrat, protein dan serat yang berada dalam jumlah yang banyak akan meningkatkan viskositas pada kefir (Sentana dkk, 2017).

3.4. Total Asam Laktat

Total asam pada minuman kefir adalah jumlah asam laktat yang terbentuk selama proses fermentasi kefir.

Tabel 4. Rata-rata nilai total asam kefir susu kambing dengan penambahan ekstrak daun maja.

Perlakuan		Rata-rata Nilai Total Asam
Lama Fermentasi	Konsentrasi Ekstrak	
12 Jam	2,5%	0,47±0,01 ^f
	5,0%	0,63±0,05 ^e
	7,5%	0,85±0,02 ^d
16 Jam	2,5%	0,53±0,01 ^{ef}
	5,0%	0,90±0,03 ^{cd}
	7,5%	0,91±0,03 ^{cd}
20 Jam	2,5%	1,03±0,01 ^{bc}
	5,0%	1,11±0,05 ^{bc}
	7,5%	1,44±0,14 ^a

Keterangan: nilai rata-rata yang disertai huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Nilai rata-rata total asam laktat pada kefir susu kambing pada penelitian ini berkisar antara 0,47-1,44%. Hasil ini tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Silaban (2019) yang menghasilkan total asam laktat kefir susu kambing sebesar 0,65% dan hasil dari penelitian Bayu dkk (2017) yang menghasilkan kefir susu kambing dengan total asam laktat yang berkisar antara 0,57-1,95%. Nilai total asam laktat pada penelitian ini telah memenuhi standar WHO Codex Stan 243-2003 mengenai jumlah total asam laktat pada kefir minimal 0,6%.

Hubungan antara lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun maja tidak berpengaruh terhadap nilai total asam laktat pada kefir. Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Lathif (2016) mengenai kombinasi perlakuan lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun kersen tidak berpengaruh terhadap total asam kefir air yang dihasilkan. Safira (2021) dalam penelitiannya juga menghasilkan bahwa tidak terdapat interaksi antara perlakuan lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun maja terhadap total asam kefir susu kambing yang dihasilkan.

Waktu fermentasi yang semakin lama meningkatkan total asam laktat pada kefir susu kambing yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena selama proses fermentasi, bakteri asam laktat mampu memecah glukosa, maupun gula lainnya seperti laktosa, galaktosa, fruktosa, sukrosa, dan maltosa menjadi asam laktat (Siti dkk, 2020). Sehingga semakin lama waktu fermentasi maka kadar total asam laktat yang terbentuk semakin banyak. Seperti halnya pada penelitian yang dilakukan oleh Bayu dkk (2017) yang menghasilkan kadar keasaman kefir mengalami peningkatan seiring dengan lama waktu fermentasinya.

Pembentukan asam laktat dihasilkan selama proses fermentasi oleh bakteri homofermentatif seperti *Lactobacillus* dan *Leuconostoc* melalui proses glikolisis jalur *Embden-Mayerhoff-Parnass* yang mengubah glukosa menjadi asam piruvat, yang kemudian diubah menjadi asam laktat (Vitali et al., 2022). Proses metabolisme laktosa yaitu enzim β -galaktosidase memecah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa. Galaktosa dipecah menjadi galaktosa-1-fosfat kemudian dipecah lagi menjadi glukosa-1-fosfat. Sedangkan glukosa dipecah menjadi glukosa-6-fosfat. Glukosa-6-fosfat dan glukosa-1-fosfat menjadi glukonat-6-fosfat kemudian dipecah menjadi xilulosa-5-fosfat dan CO₂ kemudian dimetabolisme menjadi triosa-5-fosfat dan asetil. *Leuconostocs* dan *Lactobacilli* heterofermentatif melalui jalur glukonat 6 fosfat menghasilkan asam laktat, asam asetat dan CO₂ dalam jumlah yang sama (Shiby dan Mishra, 2013).

3.5. Total Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat merupakan jenis bakteri yang sangat penting dalam pengolahan minuman probiotik. Mutu minuman probiotik juga sangat ditentukan oleh jumlah bakteri asam laktat yang terdapat pada minuman tersebut (Agustine dkk, 2018).

Tabel 5. Rata-rata nilai total BAL kefir susu kambing dengan penambahan ekstrak daun maja.

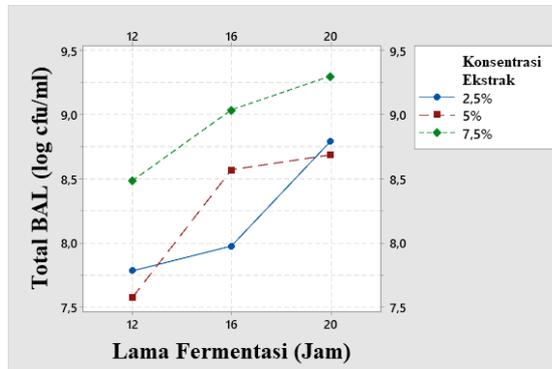
Perlakuan		
Lama Fermentasi	Konsentrasi Ekstrak	Nilai Rata-rata Total BAL
12 Jam	2,5%	7,78±0,10 ^d
	5,0%	7,57±0,05 ^d
	7,5%	8,48±0,37 ^c
16 Jam	2,5%	7,97±0,08 ^d
	5,0%	8,57±0,06 ^c
	7,5%	9,03±0,22 ^{ab}
20 Jam	2,5%	8,79±0,17 ^{bc}
	5,0%	8,68±0,04 ^{bc}
	7,5%	9,30±0,04 ^a

Keterangan: nilai rata-rata yang disertai huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Bakteri asam laktat yang khas terdapat pada kefir diantaranya yaitu *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus kefirgranum* dan *Lactobacillus parakefir* (Guzel-Seydim et al., 2021). Bakteri asam laktat yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah sebesar 7,57-9,3 log CFU/mL atau setara dengan $3 \times 10^7 - 2 \times 10^9$ CFU/mL yang telah memenuhi standar WHO mengenai produk fermentasi kefir minimal mengandung bakteri asam laktat sebanyak 10^7 CFU/ml.

Hubungan antara lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun maja berpengaruh terhadap jumlah total BAL pada kefir. Waktu fermentasi yang semakin lama dan konsentrasi ekstrak daun maja yang semakin tinggi maka jumlah total BAL kefir susu kambing semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena semakin lama waktu fermentasi, tersedianya energi yang dapat digunakan oleh bakteri untuk tumbuh dan berkembangbiak semakin banyak. Energi tersebut didapat dari perombakan laktosa yang akan dirombak

menjadi gula sederhana dan menghasilkan energi berupa ATP yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat (Sutedjo dan Nisa, 2015).



Gambar 3. Nilai rata-rata total BAL kefir susu kambing dari perlakuan lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun maja.

Hasil ini sejalan dengan penelitian oleh Mulyani dkk (2021) yang menyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi maka semakin tinggi pula total BALnya. Hal ini disebabkan oleh adanya makanan yang cukup untuk hidup dan berkembang biak bakteri asam laktat, bakteri asam laktat membutuhkan nutrisi atau makanan yang kemudian akan digunakan sebagai sumber energi untuk hidup dan berkembang biak.

Konsentrasi ekstrak daun maja yang ditambahkan semakin tinggi menjadikan jumlah total bakteri asam laktat pada kefir semakin tinggi pula. Hal ini disebabkan karena adanya polifenol yaitu asam organik, asam fenolik dan flavonoid pada ekstrak daun maja yang dapat berperan sebagai prebiotik yang dapat meningkatkan laju fermentasi BAL (Zhang et al., 2019). Penelitian terdahulu mengenai penambahan ekstrak daun pada minuman susu fermentasi juga menghasilkan total bakteri asam laktat yang semakin meningkat. Penambahan bubuk daun kesemek dan ekstrak daun murbei putih pada yogurt terbukti meningkatkan jumlah *Lactobacillus* selama 12 jam fermentasi (Joung et al., 2016).

3.6. Total Khamir

Khamir pada kefir didominasi oleh *Saccharomyces spp* dan *Kluyveromyces marxianus* (Guzel-Seydim et al., 2021).

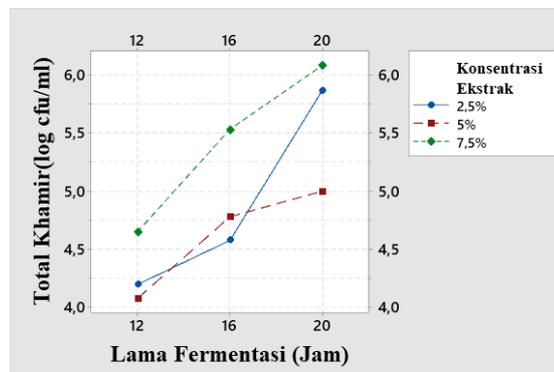
Tabel 6. Rata-rata nilai total khamir kefir susu kambing dengan penambahan ekstrak daun maja.

Perlakuan		Nilai Rata-Rata Total BAL
Lama Fermentasi	Konsentrasi Ekstrak	
12 Jam	2,5%	4,2±0,14 ^{de}
	5,0%	4,1±0,07 ^e
	7,5%	4,7±0,22 ^{cde}
16 Jam	2,5%	4,6±0,24 ^{cde}
	5,0%	4,8±0,19 ^{cd}
	7,5%	5,5±0,46 ^{ab}

	2,5%	5,9±0,12 ^a
20 Jam	5,0%	5,0±0,08 ^{bc}
	7,5%	6,1±0,08 ^a

Keterangan: nilai rata-rata yang disertai huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata (P<0,05)

Jumlah total khamir pada kefir susu kambing berkisar antara 4,1-6,1 log CFU/ml atau senilai dengan $1,2 \times 10^4 - 1,2 \times 10^6$ CFU/ml. Hasil ini tidak berbeda jauh dengan jumlah total khamir kefir susu kambing yang dihasilkan pada penelitian oleh Kinteki dkk (2018) yaitu sebesar $2,7 \times 10^6$ CFU/ml dan pada penelitian Rosa et al (2017) yaitu jumlah total khamir yang berkisar antara $1,5 \times 10^5$ hingga $3,7 \times 10^8$ CFU/ml. Hasil analisa total khamir kefir pada penelitian ini juga telah memenuhi standar Codex Stan 234-2003 untuk kefir yaitu minimal mengandung khamir/yeast sebanyak 10^4 cfu/ml.



Gambar 4. Nilai rata-rata total khamir kefir susu kambing dari perlakuan lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun maja.

Hubungan antara lama fermentasi dan konsentrasi ekstrak daun maja berpengaruh terhadap jumlah total khamir pada kefir. Waktu fermentasi yang semakin lama dan konsentrasi ekstrak daun maja yang semakin tinggi maka jumlah total khamir kefir susu kambing semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena semakin lama waktu fermentasi, tersedianya energi yang dapat digunakan oleh khamir untuk tumbuh dan berkembangbiak semakin banyak. *Kluyveromyces marxianus* merupakan khamir yang dapat memfermentasi laktosa (Codex Alimentarius, 2018). Menurut Sulmiyati dkk (2018), khamir terdiri atas dua kelompok berdasarkan metabolismenya yaitu bersifat fermentatif dan oksidatif. Khamir fermentatif dapat melakukan fermentasi alkohol, yaitu memecah glukosa melalui jalur glikolisis (*Emden Meyerhoff Parnass*).

Bakteri asam laktat dan khamir tumbuh secara berdampingan dan saling menguntungkan (Codex Alimentarius, 2018). Bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat yang jika keberadaannya dalam jumlah besar dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri asam laktat menjadi terhambat. Senyawa H_2O_2 yang dihasilkan bakteri asam laktat akan disingkirkan oleh enzim katalase yang dihasilkan oleh khamir (Sulmiyati dkk, 2018).

Penambahan ekstrak daun maja memperlambat pertumbuhan khamir pada waktu fermentasi yang semakin lama. Hal ini disebabkan karena adanya aktivitas antibakteri pada ekstrak daun maja yang dapat menghambat pertumbuhan khamir (Wang et al, 2021). Ardianti dan Kusnadi (2014) menjelaskan bahwa ekstrak daun maja tidak dapat membunuh bakteri, hanya bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteroistatik).

4. Kesimpulan

Kefir susu kambing dengan perlakuan lama fermentasi 20 jam dengan penambahan ekstrak daun maja sebesar 7,5% merupakan perlakuan terbaik dengan nilai pH sebesar 2,94, viskositas 642,7 cP, total asam laktat 1,44%, total bakteri asam laktat 9,3 log CFU/ml dan total khamir 6,1 log CFU/ml.

Daftar Rujukan

- Adi Wira Kusuma, G. P., Ayu Nocianitri, K., dan Kartika Pratiwi, I. D. P. (2020). Pengaruh lama fermentasi terhadap karakteristik fermented rice drink sebagai minuman probiotik dengan isolat *Lactobacillus sp.* f213. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 9(2), 181. <https://doi.org/10.24843/itepa.2020.v09.i02.p08>
- Agustine, L., Okfrianti, Y., dan Jum, J. (2018). Identifikasi total bakteri asam laktat (BAL) pada yoghurt dengan variasi sukrosa dan susu skim. *Jurnal Dunia Gizi*, 1(2), 79. <https://doi.org/10.33085/jdg.v1i2.2972>
- Aini, M., Rahayuni, S., Mardina, V., Quranayati, Q., dan Asiah, N. (2021). Bakteri *Lactobacillus spp* dan peranannya bagi kehidupan. *Jurnal Jeumpa*, 8(2), 614–624. <https://doi.org/10.33059/jj.v8i2.3154>
- Ardianti, A., dan Kusnadi, J. (2014). Ekstraksi antibakteri dari daun berenuk (*Crescentia cujete Linn.*) menggunakan metode ultrasonik. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(2), 28–35.
- Aryanta, I. W. R. (2021). Kefir dan manfaatnya bagi kesehatan. *Widya Kesehatan*, 3(1), 35–38. <https://doi.org/10.32795/widyakesehatan.v3i1.1657>
- Balogun, F. O., dan Sabiu, S. (2021). A review of the phytochemistry, ethnobotany, toxicology, and pharmacological potentials of *Crescentia cujete L. (Bignoniaceae)*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6683708>
- Bayu, K., Mohammad, Rizqiati, H., F., (2017). Analisis total padatan terlarut, keasaman, kadar lemak, dan tingkat viskositas pada kefir optima dengan lama fermentasi yang berbeda. *Jurnal Teknologi Pangan*, 1(2), 33–38.
- Berlianti, D., Sumarmono, J., dan Rahardjo, A. H. D. (2022). Pengaruh jenis susu terhadap sineresis, *water holding capacity*, dan viskositas kefir dengan *starter kefir grain*. *Journal of Animal Science and Technology*, 4(1), 72–80.
- Diantoro, A., Rohman, M., Budiarti, R., Palupi, H. T., Pertanian, F., dan Yudharta, U. (2015). Pengaruh penambahan ekstrak daun kelor terhadap kualitas yogurt. *Jurnal Teknologi Pangan*, 6(2), 59–66.
- Guzel-Seydim, Z. B., Gökırmaklı, Ç., dan Greene, A. K. (2021). A comparison of milk kefir and water kefir: physical, chemical, microbiological and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*, 113(May), 42–53. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.041>
- Hartati, Muis, A., Narhaeda, Mohd Nasir, H., dan Salsabila Md Norodin, N. (2019). *Effect of extraction and fractionation on antioxidant activity of extract and fraction Crescentia cujete L leaves*. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 551(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/551/1/012111>
- Joung, J. Y., Lee, J. Y., Ha, Y. S., Shin, Y. K., Kim, Y., Kim, S. H., dan Oh, N. S. (2016). Enhanced microbial, functional and sensory properties of herbal yogurt fermented with Korean traditional plant extracts. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(1), 90–99. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.1.90>
- Karim, A., Gerliani, N., dan Aider, M. (2020). *Kluyveromyces marxianus: an emerging yeast cell factory for applications in food and biotechnology*. *International Journal of Food Microbiology*, 333(May), 108818. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108818>

- Kinteki, G. A., Rizqiati, H., dan Hintono, A. (2018). Pengaruh lama fermentasi kefir susu kambing terhadap mutu hedonik, total bakteri asam laktat (BAL), total khamir dan pH. *Jurnal Teknologi Pangan*, 3(1), 42–50. <https://doi.org/10.14710/jtp.v3i1.20685>
- Lathif, Y. (2016). Pengaruh lama fermentasi dan variasi konsentrasi daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap total asam, pH medium dan aktivitas antioksidan kefir air the daun kersen. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Mulyani, S., Sunarko, K. M. F., dan Setiani, B. E. (2021). Pengaruh lama fermentasi terhadap total asam, total bakteri asam laktat dan warna kefir belimbing manis (*Averrhoa carambola*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 21(2), 113. <https://doi.org/10.35799/jis.21.2.2021.31416>
- Prastiwi, V. F., Bintoro, V. P., dan Rizqiati, H. (2018). Sifat mikrobiologi, nilai viskositas dan organoleptik kefir optima dengan penambahan *high fructose syrup* (HFS). *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(1), 27–32.
- Putri, R. J., Ridwan, B. A., Wardarini, U., dan Pawannei, S. (2021). Uji aktivitas antioksidan dan anti hiperurisemia ekstrak etanol daun maja (*Aegle marmelos L.*). *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia*, 7(2), 207–222. <https://jurnal-pharmacoonmw.com/jmpi/index.php/jmpi/article/view/89>
- Queen, U. E. (2019). Nutritive values of the leaves of *Crescentia Cujete* (*Ugbuba*). *International Journal of Chemistry*, 11(2), 106. <https://doi.org/10.5539/ijc.v11n2p106>
- Rahayu, W. E., Sa'diyah, S. H., dan Romalasari, A. (2020). Pengaruh waktu aplikasi dan konsentrasi penambahan sari buah jambu biji merah (*Psidium guajava L.*) terhadap kefir susu kambing. *Agromix*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.35891/agx.v11i1.1887>
- Rahim Fajar Pangestu, R. (2017). Aktivitas antioksidan, pH, viskositas, viabilitas bakteri asam laktat (BAL) pada *yogurt powder* daun kopi dengan jumlah karagenan yang berbeda. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 6(2), 78–84. <https://doi.org/10.17728/jatp.185>
- Rahmawati, E. (2015). Kadar protein, pH dan jumlah bakteri asam laktat yoghurt susu sapi dengan variasi penambahan sari daun kelor dan lama fermentasi yang berbeda. *Skripsi*, Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Reddy, V. P., & Urooj, A. (2013). *Antioxidant properties and stability of Aegle marmelos leaves extracts*. *Journal of Food Science and Technology*, 50(1), 135–140. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0221-z>
- Rohaya Nizla, Ali Rosyidin, U. M. (2021). Peningkatan kesejahteraan warga karang tengah melalui pemanfaatan buah berenek menjadi minuman herbal. 1(1), 24–33.
- Rohmah, F., dan Estiasih, T. (2018). Perubahan karakteristik kefir selama penyimpanan : kajian pustaka. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 6(3), 30–36. <https://doi.org/10.21776/ub.jpa.2018.006.03.4>
- Rohman, A., Dwiloka, B., dan Rizqiati, H. (2019). Pengaruh lama fermentasi terhadap total asam, total bakteri asam laktat, total khamir dan mutu hedonik kefir air kelapa hijau (*Cocos nucifera*). *Jurnal Teknologi Pangan*, 3(1), 127–133.
- Rosa, D. D., Dias, M. M. S., Grześkowiak, Ł. M., Reis, S. A., Conceição, L. L., dan Peluzio, M. D. C. G. (2017). *Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits*. *Nutrition Research Reviews*, 30(1), 82–96. <https://doi.org/10.1017/S0954422416000275>
- Safira, D. (2021). Pengaruh lama fermentasi dan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap karakteristik fisikokimia kefir susu kambing [Universitas Sumatera Utara]. <https://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/45248>
- Sawitri. (2011). Kajian penggunaan ekstrak susu kedelai terhadap kualitas kefir susu

- kambing. *Jurnal Ternak Tropika*, 12(1), 15–21. <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jnc/article/view/25803><https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jnc/article/view/27308><https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/tekpangan/article/view/23750><http://repository.lppm.unila.ac.id/11103/>
- Sentana, A., Trisnawati, C. Y., dan Jati, I. R. A. P. (2017). Identifikasi sifat fisikokimia dan organoleptik susu nabati yang diformulasikan dengan *linear programming*. *Jurnal Teknologi Pangan Dan Gizi*, 16(2), 47–51.
- Shiby, V. K., & Mishra, H. N. (2013). *Fermented milks and milk products as functional foods-a review*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 482–496. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.547398>
- Sihombing, D. E. (2013). Karakteristik kimia dan mikrobiologi yoghurt probiotik susu kambing dengan penambahan ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*). <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/65024>
- Silaban, I. J. A. (2019). Pemanfaatan kefir dan inulin dari umbi bengkoang (*Pachyrhizus erorus*) pada minuman probiotik dari susu segar kambing etawa. <https://repositori.usu.ac.id/handle/123456789/22042>
- Siti Aisa Liputo, Fatma Ingga, M. L. (2020). Pengaruh penambahan susu skim pada pembuatan kefir berbahan dasar susu jagung manis (*Zea mays L.*). *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*, 12–26.
- Sulmiyati, S., Said, N. S., Fahrodi, D. U., Malaka, R., dan Fatma, F. (2018). Perbandingan kualitas fisiokimia kefir susu kambing dengan kefir susu sapi. *Jurnal Veteriner*, 19(2), 263. <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2018.19.2.263>
- Sutedjo, K. S. D., dan Nisa, F. C. (2015). Konsentrasi sari belimbing (*Averrhoa carambola L.*) dan lama fermentasi terhadap karakteristik fisiko-kimia dan mikrobiologi yoghurt. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(2), 582–593.
- Vitali, F., Zinno, P., Schifano, E., Gori, A., Costa, A., De Filippo, C., Seljak, B. K., Panov, P., Devirgiliis, C., dan Cavalieri, D. (2022). *Semantics of dairy fermented foods: a microbiologist's perspective*. *Foods*, 11(13). <https://doi.org/10.3390/foods11131939>
- Wang, H., Sun, X., Song, X., dan Guo, M. (2021). *Effects of kefir grains from different origins on proteolysis and volatile profile of goat milk kefir*. *Food Chemistry*, 339(August 2020), 128099. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128099>
- Yusriyah, N. H., dan Agustini, R. (2014). Pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi bibit kefir terhadap mutu kefir susu sapi. *Unesa Journal Of Chemistry*, 3(2), 53–57.
- Zaini, Z. O. F. (2016). Pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH, total asam, jumlah mikroba, protein dan kadar alkohol kefir susu kacang kedelai (*Glycine max (L) Merill*). *Skripsi*, L, 10–11.
- Zhang, T., Jeong, C. H., Cheng, W. N., Bae, H., Seo, H. G., Petriello, M. C., dan Han, S. G. (2019). *Moringa extract enhances the fermentative, textural, and bioactive properties of yogurt*. *Lwt*, 101, 276–284. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.010>