

## Kefir Susu Kacang Merah (*Phaseolus Vukgaris*) dengan Gula Aren (*Palm Sugar*)

Gracia Rebecca Setyoningsih<sup>1\*</sup>, Tjandra Pantjajani<sup>1</sup>, Fenny Irawati<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fakultas Teknobiologi, Universitas Surabaya, Raya Kalirungut  
Surabaya - Indonesia 60293

\*corresponding author: gracia\_rebecca20@yahoo.com

**Abstrak**—Diversifikasi pengolahan bahan dasar kacang-kacangan masih sangat terbatas, salah satunya adalah kacang merah. Kacang merah dapat menjadi solusi pembuatan susu untuk para penderita *lactose intolerance*. Gula aren digunakan karena indeks glikemiknya lebih rendah daripada gula tebu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi gula aren (b/v) terhadap produk kefir susu kacang merah menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Hasil penelitian menunjukkan bahwa susu kacang merah dengan kadar protein terbaik adalah perbandingan kacang merah dan air 1:5. Hasil analisis statistik menunjukkan terdapat perubahan kadar gula reduksi, gula total, asam laktat, pH, protein, etanol, total asam tertitrasi (TAT), total BAL dan khamir pada kefir susu kacang merah dengan gula aren. Hasil uji organoleptik yang paling disukai oleh panelis adalah kefir susu kacang merah dengan konsentrasi gula aren 7,5% (b/v) dengan karakteristik warna coklat tua, beraroma cukup asam, memiliki rasa manis, rasa sedikit beralkohol, rasa cukup asam, dan *aftertaste* sedikit pahit. Hasil uji mikroorganisme kontaminan pada kefir susu kacang merah adalah < 3 APM/mL untuk bakteri *coliform* dan negatif/25 mL untuk *Salmonella sp.*

**Kata Kunci** : kacang merah, gula aren, kefir

**Abstract**—Diversification of food products use red beans still limited. Red beans can be a solution in milk making for lactose intolerances. Palm sugar contains more mineral than cane sugar. Palm sugar is used because its glycemic index lower than crystal sugar. This research aims to inovate food products and determine the influence of palm sugar concentration (b/v) on red beans milk kefir using randomized block design. The results showed that red beans milk with the highest protein content was red beans and water with ratio 1:5. The results of statistical analysis showed that there were influences in reduction sugar, total sugar level, lactic acid, pH, ethanol, titrated total acid, total of lactic acid bacterias and yeasts in red beans milk kefir with palm sugar. The organoleptic test result showed that red beans milk kefir with the concentration of palm sugar 7,5% (b/v) was the most preferred treatment by panelists, which has dark brown color, quite acidic aroma, neutral sweetness, less alcholic taste, quite acidic taste, dan less bitter aftertaste. The contaminant microorganisms test results showed that there were < 3 APM/mL for *coliform* bacteria and negative/25 mL for *Salmonella sp.*

**Keywords** : red beans, palm sugar, milk kefir

## PENDAHULUAN

Fermentasi merupakan suatu teknik pengolahan makanan yang paling umum dan populer di dunia karena dapat membuat makanan menjadi lebih awet, memberikan cita rasa dan aroma yang enak, serta dapat meningkatkan kandungan nutrisi dalam makanan (Surono, 2004). Salah satu produk dari fermentasi adalah kefir dari susu yang ditambahkan dengan bibit kefir yang terdiri dari khamir dan asam laktat. Kefir merupakan salah satu produk makanan fungsional karena memiliki sumber nutrisi dan bermanfaat bagi pencernaan manusia di mana kefir dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Zakaria, 2009).

Diversifikasi pengolahan bahan dasar kacang-kacangan masih sangat terbatas. Susu kacang kedelai menjadi solusi bagi para penderita *lactose intolerance* yang tidak dapat mengonsumsi susu segar. Kacang kedelai yang umum digunakan sebagai bahan dasar susu memiliki kelemahan, yaitu berbau langu karena terdapat aktivitas enzim lipoksigenase sehingga masyarakat kurang dapat menerimanya (Yusmarini & Efendi, 2004). Oleh karena itu, perlu dilakukan diversifikasi berbahan dasar kacang-kacangan yang dapat diterima oleh masyarakat, salah satunya dengan pengolahan kacang merah menjadi kefir.

Kacang merah merupakan sumber serat makanan yang dapat mengurangi risiko penyakit jantung dan kanker usus (Broughton *et al.*, 2003). Komponen nilai gizi kacang merah per 100 gram adalah kalori 336 kal, protein 23,1 gram, lemak 1,7 gram, karbohidrat 59,5 gram, kalsium 80 mg, fosfor 400 mg, besi 5 mg, vitamin B1 0,6 mg, dan air 12 gram (Depkes RI, 1989).

Susu kacang merah memiliki cita rasa yang lebih enak dibandingkan susu kacang kedelai, kacang tanah, kacang hijau, dan kacang tunggak. Fermentasi susu kacang merah juga memiliki rasa yang tidak berbeda nyata dengan hasil dari fermentasi susu skim (Pratiwi *et al.*, 2011). Namun, hingga saat ini masih sedikit penelitian produk fermentasi dengan bahan dasar kacang merah sehingga penelitian berbahan dasar kacang merah untuk pembuatan kefir susu perlu dieksplorasi.

Fermentasi kefir pada umumnya menggunakan gula pasir sebagai sumber energi dan sumber karbon untuk biosintesis sel terutama untuk siklus glikolisis (Gunawan *et al.*, 2015). Gula pasir atau gula kristal putih memiliki kandungan

nutrisi yang sangat rendah sehingga dapat dikatakan bahwa konsumsi gula pasir sama saja dengan konsumsi kalori yang tidak memiliki manfaat nutrisi. Oleh karena itu, dapat digunakan bahan alternatif lain, yaitu gula aren karena gula aren memiliki kandungan kalsium, fosfor, dan zat besi yang lebih tinggi daripada gula pasir serta indeks glikemiknya rendah. Nilai indeks glikemik untuk gula aren adalah 35, sedangkan gula pasir 64. Gula aren baik untuk penderita diabetes karena kadar gulanya lebih rendah daripada gula pasir (Utami, 2008).

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas kimia (*Pyrex*), *Erlenmeyer* (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), kompor, *waterbath* (*YIH DER*), blender (*Miyako*), panci, saringan, pengaduk kaca, timbangan analitik (*OHAUS*), buret (*Pyrex*), cawan petri (*ANUMBRA*), ose, *spreader*, *colony counter* (*Mon Scientific*), pH-meter (*Mettler Toledo*), spektrofotometer (*Thermo Scientific*), kain saring, aluminium foil (*Reynold Wrap Heavy Duty*), rak tabung reaksi, mikropipet (*GILSON*<sup>®</sup>), autoklaf (*HIRAYAMA*), kuvet plastik, bunsen, tip, dan *gas chromatography* (*Hewlett Packard HP 6890 Series*).

### **Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang merah (supermarket *Chicco*), gula aren (*Haan*), *kefir grains* (dari Laboratorium Bioteknologi Mikroorganisme Fakultas Teknobiologi Universitas Surabaya), air (*Pure it*), NaCl (*Merck*), reagen DNS (*Merck*), garam *Rochelle* (*Merck*), akuades, *de Mann Rogosa Agar* (*Merck*), etanol 70%, asam laktat (*Merck*), NaCl 0,9% (*Merck*), spiritus, TCA, asam sulfat pekat, reagen PHF (*Merck*), NaOH, indikator PP 1% CuSO<sub>4</sub>, fenol (*Merck*), media *Lactose Broth*, media *Hektoen Agar* (*Merck*), media *Bismulth Sulfite Agar* (*Merck*), media *Xylose Lysine Deoxycholate* (*Merck*), media *Brilliant Green Lactose Bile* (*Merck*), media *Selenite Cystine Enrichment Broth* (*SC Broth*) (*Merck*), media *MRSA* (*Himedia*), dan media *Potato Dextrose Agar* (*PDA*) (*Merck*).

### **Parameter Pengujian dan Variabel Penelitian**

Parameter pengujian pada penelitian ini adalah pengujian secara kimiawi dan biologis (mikroorganisme). Pengujian secara kimiawi meliputi uji kadar etanol, gula reduksi, gula total, asam laktat, pH, total asam tertitrasi (TAT), dan protein. Pengujian secara biologis dilakukan dengan uji aktivitas mikroba menggunakan metode angka lempeng total, uji bakteri asam laktat, uji mikroba koliform, uji *Salmonella*, dan uji khamir. Setiap uji pada kefir dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Variabel yang digunakan dalam penelitian ada dua, yaitu variasi kadar kacang merah untuk membuat susu kacang merah yang memenuhi kadar protein susu pada SNI dan variasi konsentrasi gula aren dalam membuat kefir. Variasi perbandingan kadar kacang merah dengan air yang digunakan adalah 1:3 dan 1:5 (b/v). Variasi konsentrasi gula aren yang digunakan adalah 0%, 2,5%, 5%, dan 7,5%.

### **Pembuatan Susu Kacang Merah**

Kacang merah direndam dalam air selama 8 jam, kemudian kacang merah dibuang kulitnya. Setelah itu, dicuci hingga bersih. Kacang merah diblender dengan air pada variasi perbandingan 1:3 dan 1:5 (b/v) hingga halus. Setelah itu, hasilnya disaring dengan kain saring dan dipanaskan di atas kompor dengan api kecil hingga mendidih. Perbandingan kacang merah dengan air yang menghasilkan kadar protein terbaik (1:5) ditambahkan dengan gula aren dengan variasi konsentrasi 0%, 2,5%, 5%, dan 7,5%. Setelah itu, dilakukan pasteurisasi pada suhu 65°C selama 2 menit dan diulang sebanyak tiga kali, lalu didinginkan hingga mencapai suhu ruang (Novia, 2012).

### **Fermentasi Kefir**

Susu kacang merah yang telah diberi gula aren ditambahkan *kefir grains* sebesar 5% (b/v), kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 18 jam (Rahmah *et al.*, 2017).

### **Metode Pengujian Kefir**

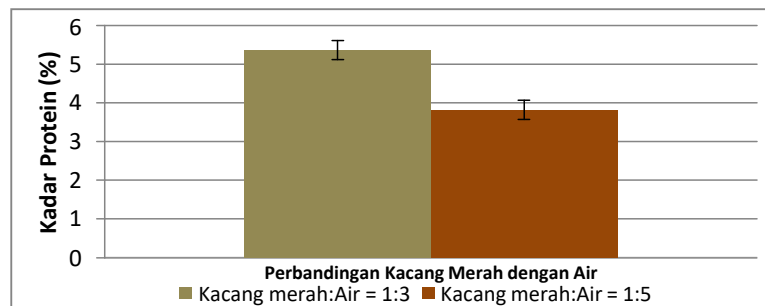
Kefir susu kacang merah dilakukan uji pH, kadar gula reduksi dengan metode DNS, gula total dengan metode *Phenol-Sulfuric Acid*, asam laktat dengan metode PHF, total asam tertitrasi, etanol dengan *gas chromatography*, protein

dengan metode Kjeldahl, uji sel viabel bakteri asam laktat dan khamir dengan metode Angka Lempeng Total, uji mikroba kontaminan *Salmonella sp.* dan *coliform*, uji organoleptik dengan metode *hedonic scoring* dan deskriptif skala terstruktur.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Perbandingan Susu Kacang Merah dengan Kadar Protein Terbaik

Sampel yang diuji adalah sampel dengan perbandingan kacang merah dan air, yaitu 1:3 dan 1:5. Kacang merah yang digunakan dikupas kulitnya karena berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa sampel susu kacang merah dengan kulit menghasilkan kenampakan visual yang kurang menyerupai susu pada umumnya, yaitu coklat. Berdasarkan data hasil penelitian ditemukan kadar protein untuk sampel susu kacang merah dengan perbandingan kacang merah dan air 1:3 sebesar 5,365%, sedangkan perbandingan 1:5 sebesar 3,827%. Sampel susu kacang merah yang digunakan adalah perbandingan kacang merah dan air 1:5 karena kadar protein yang dihasilkan sudah memenuhi standar minimal protein susu, yaitu 2,7% (Codex, 2003).



Gambar 1. Hasil Uji Kadar Protein

### Uji Karakterisasi Kefir Susu Kacang Merah dengan Gula Aren

Kefir susu kacang merah dengan variasi gula aren dilakukan berbagai uji karakteristik berupa kadar gula reduksi, gula total, asam laktat, protein, alkohol, lahpH, asam tertitrasi, juma koloni khamir, dan jumlah koloni BAL. Hasil Uji Karakterisasi Kefir disajikan pada **Tabel 1**.

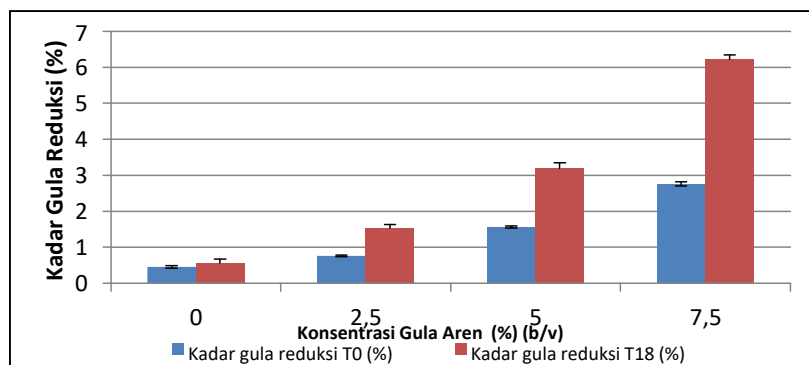
**Tabel 1.** Data Uji Karakteristik Kefir Susu Kacang Merah dengan Gula Aren

Parameter Uji	Konsentrasi Gula Aren	Hasil Uji Karakteristik		
		T <sub>awal</sub>	T <sub>akhir</sub>	ΔT
Kadar Gula	0%	0,458±0,035	0,560±0,111	0,101 <sup>d</sup> ±0,089
Reduksi (%)	2,5%	0,762±0,025	1,537±0,091	0,775 <sup>c</sup> ±0,116
	5%	1,565±0,032	3,191±0,154	1,626 <sup>b</sup> ±0,128
Kadar Gula Total (%)	7,5%	2,762±0,053	6,220±0,127	3,457 <sup>a</sup> ±0,077
	0%	5,623±0,072	3,746±0,122	1,877 <sup>b</sup> ±0,155
Kadar Gula Total (%)	2,5%	8,885±0,139	6,593±0,0,152	2,292 <sup>ab</sup> ±0,285
	5%	12,626±0,134	10,093±0,181	2,534 <sup>a</sup> ±0,092
Kadar Asam Laktat (%)	7,5%	15,427±0,294	12,615±0,093	2,811 <sup>a</sup> ±0,310
	0%	0,018±0,001	0,041±0,001	0,024 <sup>d</sup> ±0,001
Kadar Asam Laktat (%)	2,5%	0,032±0,001	0,070±0,001	0,039 <sup>c</sup> ±0,002
	5%	0,066±0,001	0,126±0,002	0,059 <sup>b</sup> ±0,003
Kadar Protein (%)	7,5%	0,084±0,003	0,152±0,001	0,068 <sup>a</sup> ±0,004
	0%	-	4,457±0,519	-
Kadar Protein (%)	2,5%	-	4,675±0,233	-
	5%	-	4,895±0,205	-
Kadar Alkohol (%)	7,5%	-	5,322±0,704	-
	0%	-	1,421 <sup>c</sup> ±0,297	-
Kadar Alkohol (%)	2,5%	-	1,870 <sup>c</sup> ±0,160	-
	5%	-	2,415 <sup>b</sup> ±0,189	-
pH	7,5%	-	3,299 <sup>a</sup> ±0,142	-
	0%	6,820±0,053	4,786±0,081	2,033 <sup>b</sup> ±0,035
pH	2,5%	6,670±0,034	4,260±0,075	2,277 <sup>a</sup> ±0,032
	5%	6,530±0,036	4,163±0,038	2,367 <sup>a</sup> ±0,068
Kadar Asam Tertritiasi (x 10 <sup>-2</sup> N)	7,5%	6,380±0,020	4,043±0,032	2,417 <sup>a</sup> ±0,074
	0%	1,402±0,532	3,000±0,100	1,598 <sup>b</sup> ±0,611
Kadar Asam Tertritiasi (x 10 <sup>-2</sup> N)	2,5%	2,137±0,228	4,667±0,611	2,530 <sup>ab</sup> ±0,831
	5%	3,407±0,200	6,273±0,261	2,867 <sup>ab</sup> ±0,397
Jumlah Khamir (log CFU/mL)	7,5%	3,900±0,265	7,480±0,457	3,580 <sup>a</sup> ±0,711
	0%	-	7,932 <sup>d</sup> ±0,054	-
Jumlah Khamir (log CFU/mL)	2,5%	-	8,060 <sup>c</sup> ±0,049	-
	5%	-	8,326 <sup>b</sup> ±0,023	-
Jumlah Khamir (log CFU/mL)	7,5%	-	8,526 <sup>a</sup> ±0,018	-
	0%	-	8,101 <sup>d</sup> ±0,017	-
Jumlah Khamir (log CFU/mL)	2,5%	-	8,212 <sup>c</sup> ±0,015	-
	5%	-	8,288 <sup>b</sup> ±0,009	-
Jumlah Khamir (log CFU/mL)	7,5%	-	8,339 <sup>a</sup> ±0,008	-

Keterangan: Rerata ± SD, notasi huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan berdasarkan uji Tukey dengan  $\alpha = 0,05$  pada setiap parameter

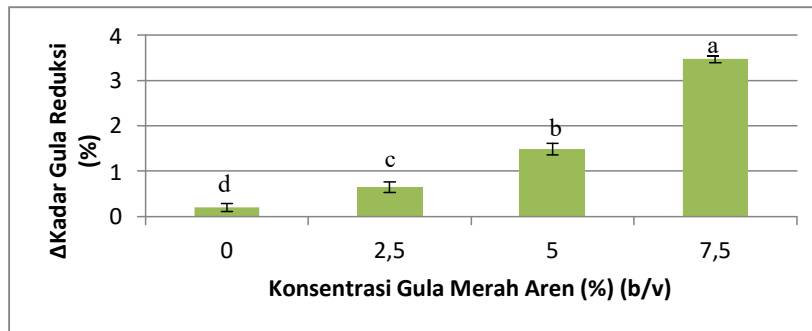
### Kadar Gula Reduksi

Berdasarkan **Gambar 2** ditemukan bahwa kadar gula reduksi mengalami peningkatan seiring dengan penambahan konsentrasi gula aren (b/v). Hal ini disebabkan karena selama fermentasi, gula-gula kompleks seperti sukrosa yang ada pada sampel dipecah menjadi glukosa dan fruktosa oleh *yeast* (Adams & Nout, 2001). Gula reduksi digunakan oleh BAL selama fermentasi sebagai sumber energi (Sampurno & Cahyanti, 2013). Namun, berdasarkan hasil penelitian ditemukan bahwa nilai persentase gula reduksi meningkat. Hal ini dapat terjadi karena berbagai mikroorganisme dalam *kefir grains* bekerja memecah gula-gula kompleks pada gula aren menjadi gula-gula yang lebih sederhana. Gula-gula sederhana yang terbentuk kemungkinan belum dimanfaatkan oleh BAL seluruhnya selama proses fermentasi. Oleh karena itu, ketika proses fermentasi dihentikan masih terdapat banyak gula-gula reduksi. Kandungan sukrosa dalam gula aren adalah 83,31% (Rumokoi, 1990). Glukosa dan fruktosa yang terbentuk termasuk ke dalam golongan gula pereduksi sehingga gula pereduksi mengalami peningkatan.



**Gambar 2.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap Kadar Gula Reduksi

Pada **Gambar 3** menunjukkan bahwa makin besar konsentrasi gula aren, maka perubahan kadar gula reduksi juga makin besar. Hal ini terjadi karena gula aren mengandung banyak sukrosa, yaitu 83,31% (Rumokoi, 1990) sehingga bakteri dalam *kefir grains* akan memecah sukrosa menjadi gula fruktosa dan glukosa (Adams & Nout, 2001). Variasi konsentrasi gula aren yang meningkat mengandung sukrosa yang makin banyak sehingga kemungkinan bakteri pemecah gula-gula kompleks akan mengubahnya menjadi gula-gula sederhana.



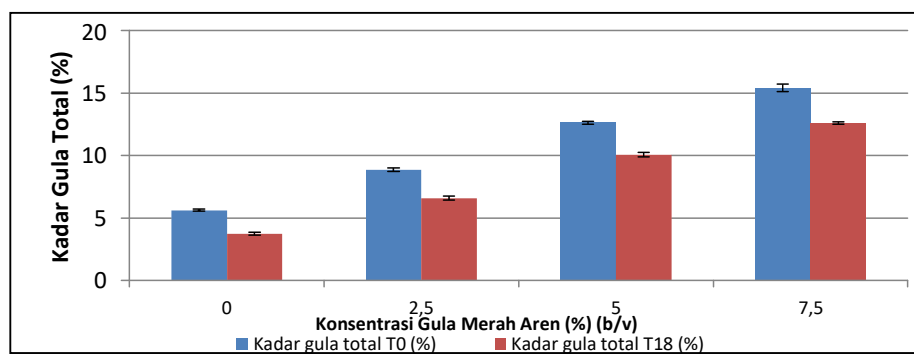
**Gambar 3.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap ΔKadar Gula Reduksi

### Kadar Gula Total

Berdasarkan data hasil penelitian ditemukan bahwa kadar gula total mengalami penurunan dari setelah fermentasi (**Gambar 4**). Penurunan nilai gula total terjadi karena BAL memanfaatkan gula-gula yang ada pada sampel sebagai sumber energi dan nutrisi. Gula-gula reduksi yang terbentuk akibat konversi gula kompleks dimanfaatkan oleh BAL untuk menghasilkan asam laktat (Sintasari *et al.*, 2014).

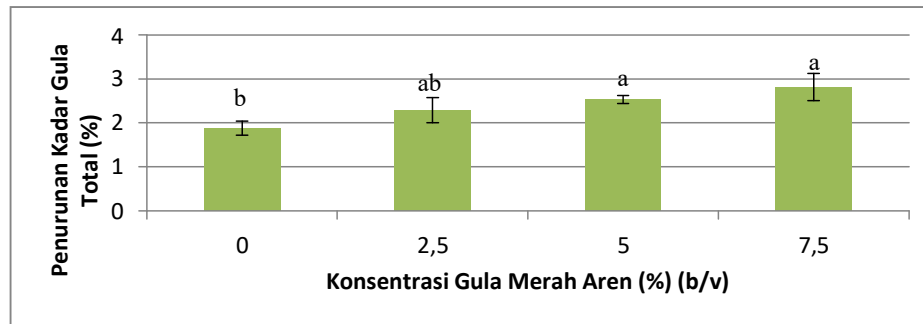
**Gambar 5** menunjukkan bahwa nilai penurunan kadar gula total terbanyak terdapat dalam sampel dengan konsentrasi gula aren 7,5%. Kadar gula total pada setiap sampel kefir mengalami penurunan. Hal ini mungkin terjadi karena gula-gula sederhana yang ada pada sampel akan dikonsumsi oleh BAL untuk menghasilkan asam laktat (Sintasari *et al.*, 2014). Pengurangan kadar gula total dalam sampel terjadi karena pemanfaatan sumber karbon oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Glukosa digunakan khamir untuk tumbuh dan berkembang biak. Selain itu, glukosa juga dikonversi menjadi produk metabolit seperti alkohol (Hawusiwa *et al.*, 2015). Khamir juga berperan dalam penguraian gula menjadi gas karbondioksida dan berbagai asam organik (Pratiwi *et al.*, 2011).

a



**Gambar 4.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap Kadar Gula Total

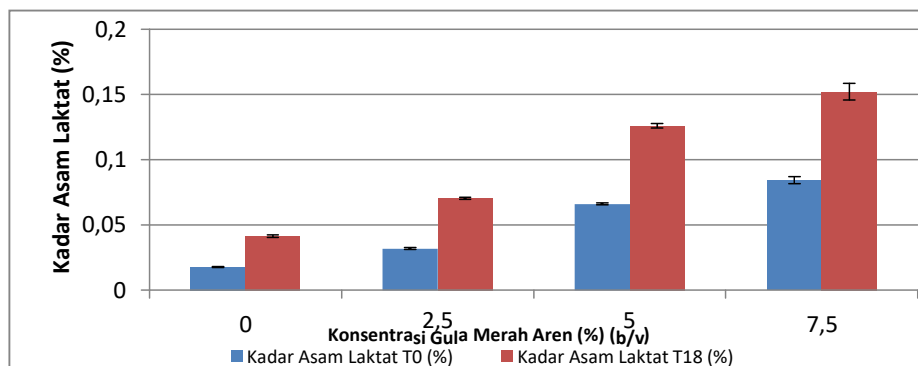




**Gambar 5.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap Penurunan Kadar Gula Total

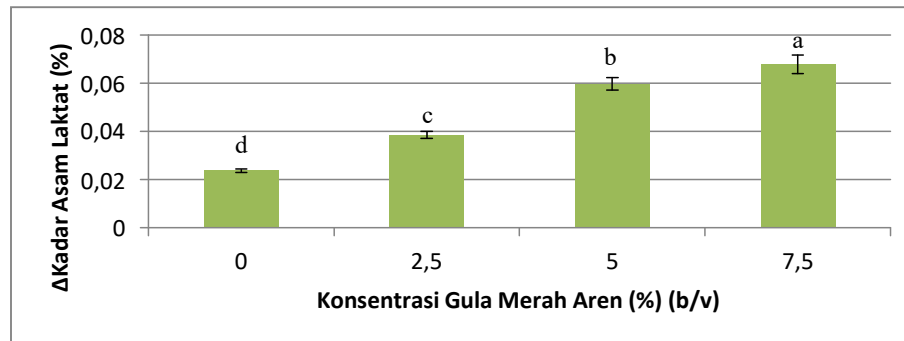
### Kadar Asam Laktat

Kadar asam laktat mengalami kenaikan setelah fermentasi (**Gambar 6**). Hal tersebut terjadi karena bakteri asam laktat dalam *kefir* telah mengonsumsi gula-gula yang ada dan mengubahnya menjadi asam laktat (Kunaepah, 2008). BAL memanfaatkan gula-gula yang ada pada sampel untuk proses metabolisme yang menghasilkan produk metabolit berupa asam laktat. Makin banyak gula yang dikonsumsi oleh bakteri asam laktat maka kadar asam laktat juga meningkat.



**Gambar 6.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap Kadar Asam Laktat

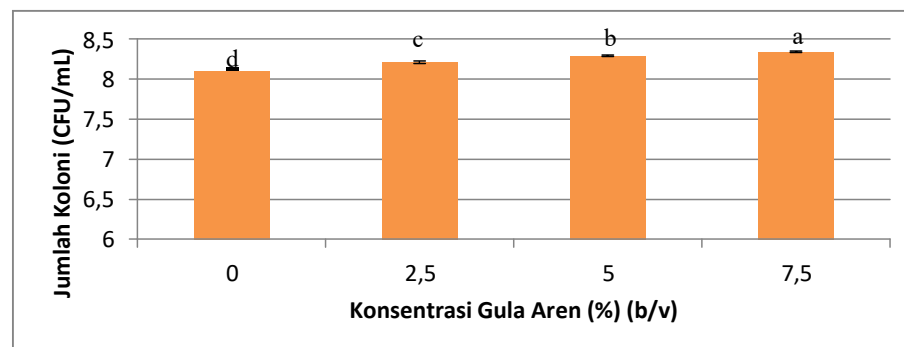
Konsentrasi gula aren 5% (b/v) memiliki kadar asam laktat yang paling tinggi (**Gambar 7**). Hal ini mungkin karena BAL pada *kefir grains* dapat bekerja optimal dalam sampel tersebut. Namun, pada konsentrasi gula aren 2,5% (b/v) menunjukkan kadar asam laktat paling sedikit. Hal ini mungkin disebabkan karena kandungan gula dalam sampel yang sedikit sehingga mikroorganisme dalam *kefir grains* dapat memanfaatkan gula-gula yang jumlahnya sedikit sehingga asam laktat yang dihasilkan juga sedikit.



**Gambar 7.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap ΔKadar Asam Laktat

### Jumlah Koloni BAL

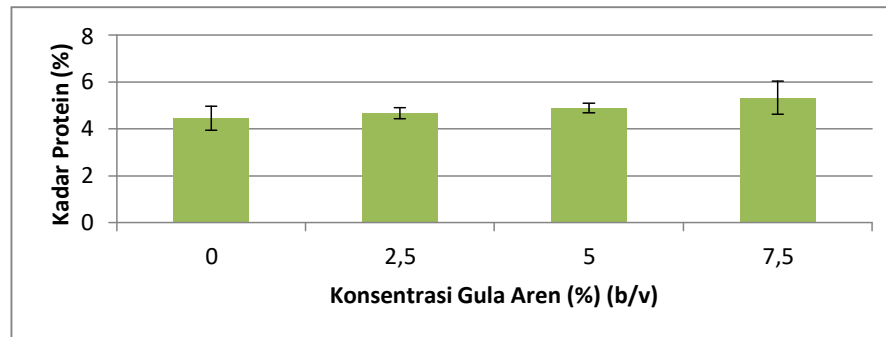
Selama proses fermentasi terjadi peningkatan jumlah bakteri asam laktat. Seluruh sampel kefir memiliki jumlah koloni BAL lebih dari  $10^7$  CFU/mL, yaitu  $10^8$  CFU/mL (Codex, 2013) sehingga sudah memenuhi syarat kefir susu. Bakteri akan mengonsumsi gula-gula dalam sampel dan memetabolismenya menjadi asam laktat (Kunaepah, 2008). **Gambar 8** menunjukkan bahwa terjadi peningkatan ALT setelah fermentasi. Peningkatan ini terjadi karena BAL berkembangbiak dan BAL cenderung tahan terhadap pH rendah (Corcoran, 2005).



**Gambar 8.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap Jumlah Koloni BAL

### Kadar Protein

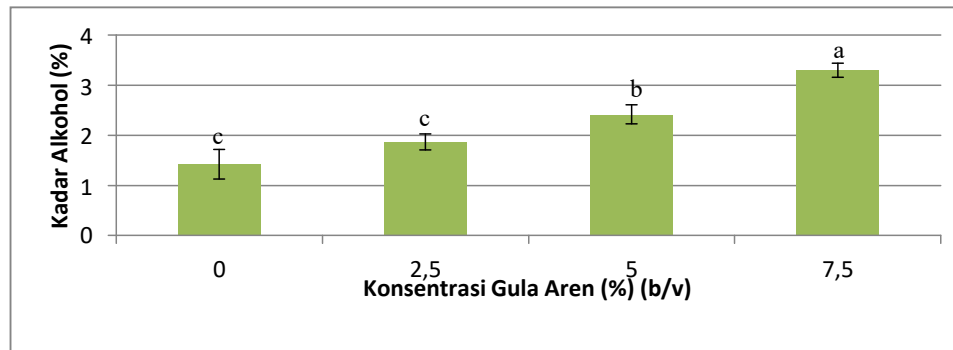
Hasil penelitian kadar protein menunjukkan tidak ada beda signifikan untuk setiap sampel. Pada **Gambar 9** menunjukkan bahwa makin besar konsentrasi gula maka kadar proteinnya mengalami kenaikan. Hal ini mungkin disebabkan oleh enzim-enzim yang dihasilkan oleh bakteri. Protein-protein dalam sel bakteri mungkin bercampur dengan substrat sehingga menyebabkan peningkatan kadar protein dalam sampel. Hal ini terjadi karena komponen utama penyusun sel mikroorganisme adalah protein (Yusmarini & Efendi, 2004).



**Gambar 9.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap Kadar Protein

### **Kadar Alkohol**

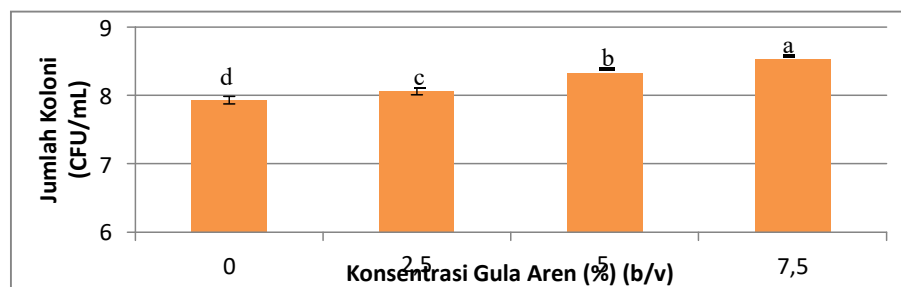
Hasil penelitian menunjukkan bahwa terbentuk alkohol pada semua sampel. Hal ini terjadi karena *yeast* mengkonsumsi gula-gula yang ada dan mengubahnya menjadi etanol serta gas karbondioksida (Kunaepah, 2008). Khamir berperan dalam produksi gas karbondioksida dan etanol sehingga kefir menghasilkan ciri-ciri rasa yang khas berupa sedikit beralkohol, asam, dan bersoda (Usmiati, 2007). Pada sampel konsentrasi gula aren dari 2,5%-7,5% (b/v) mengalami kenaikan kadar alkohol (**Gambar 10**). Hal ini terjadi karena makin banyak gula dalam sampel maka mikroorganisme-mikroorganisme dalam *kefir grains* makin banyak mengkonsumsi gula sehingga alkohol yang dihasilkan juga makin besar (Muksin *et al.*, 2013). Kadar alkohol tertinggi terdapat pada sampel kefir susu kacang merah dengan konsentrasi gula aren 7,5% (b/v). Hal ini kemungkinan terjadi karena total gula yang terkandung dalam sampel tersebut paling tinggi daripada sampel lainnya sehingga *yeast* dapat mengkonsumsi gula lebih banyak untuk menghasilkan etanol selama fermentasi. Dalam proses fermentasi, glukosa akan diubah untuk menghasilkan asam piruvat. Asam piruvat dalam kondisi anaerob oleh piruvat dekarboksilase diubah menjadi asetaldehid, kemudian asetaldehid akan diubah oleh dehidrogenase menjadi etanol dan *Acetobacter* akan mengubah alkohol menjadi asetaldehid. Asetaldehid akan diubah menjadi asam asetat (Madigan *et al.*, 2011).



**Gambar 10.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap Kadar Alkohol

### Jumlah Koloni Khamir

Hasil alkohol berupa etanol merupakan hasil produksi metabolisme khamir. Selain menghasilkan etanol, khamir juga menghasilkan gas CO<sub>2</sub> sebagai produk sampingan (Kunaepah, 2008). Berdasarkan **Gambar 11** terdapat koloni khamir dalam media PDA. Selama proses fermentasi terjadi peningkatan kadar alkohol. Hal ini dapat diperkuat dengan hasil jumlah koloni khamir menggunakan media PDA menunjukkan bahwa jumlah koloni khamir mengalami peningkatan dan terdapat beda signifikan untuk masing-masing sampel. Hasil jumlah koloni khamir pada setiap sampel lebih dari 10<sup>7</sup> CFU/mL, yaitu 10<sup>7</sup> hingga 10<sup>8</sup> CFU/mL (Codex, 2013). Peningkatan ini terjadi kemungkinan karena mikroorganisme berkembang biak. Selain itu, khamir cenderung tahan terhadap pH rendah (Corcoran, 2005).

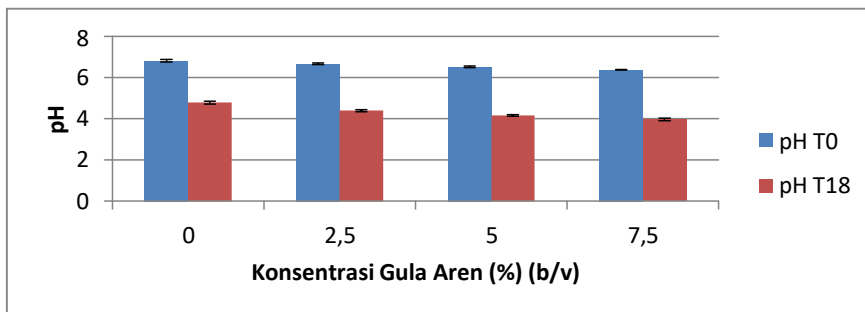


**Gambar 11** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap Jumlah Koloni Khamir

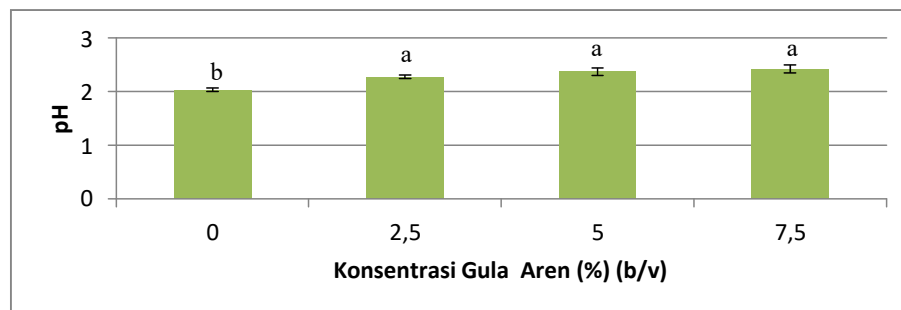
### pH

Pada seluruh sampel kefir terjadi penurunan pH setelah fermentasi (**Gambar 12**). pH menurun disebabkan karena terbentuknya berbagai jenis asam pada larutan selama proses fermentasi. Sukrosa merupakan sumber energi dan karbon yang nantinya akan dikonsumsi oleh BAL dan menghasilkan asam selama

proses fermentasi. Akumulasi asam tersebut akan menurunkan pH medium pada sampel (Yunus & Zubaidah, 2015). Pada *kefir grains* yang digunakan terdapat bakteri asam asetat yang mengubah etanol dari produksi *yeast* menjadi asam asetat (Martinez, 2016). Asam asetat yang terbentuk selama fermentasi ini mungkin menyebabkan penurunan nilai pH. Selain asam asetat, terdapat juga jenis-jenis asam organik lain yang terbentuk selama fermentasi. pH produk minuman dipengaruhi oleh keberadaan asam-asam organik seperti asam asetat dan asam piruvat yang terbentuk selama proses fermentasi (Hawusiwa *et al.*, 2015).



**Gambar 12.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap pH



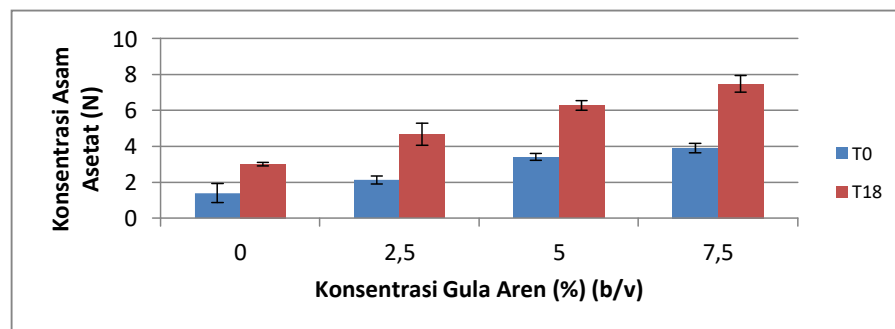
**Gambar 13.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap ΔpH

Sampel tanpa gula aren (0%) berbeda signifikan terhadap sampel dengan konsentrasi gula aren 2,5%, 5%, dan 7,5% (**Gambar 13**). Hal ini menandakan bahwa penambahan gula aren pada sampel memberikan dampak yang berbeda dengan sampel tanpa penambahan gula. Penambahan gula aren mengakibatkan asam yang terbentuk semakin banyak. Semua jenis asam-asam organik yang terbentuk ini mungkin menyebabkan penurunan pH larutan.

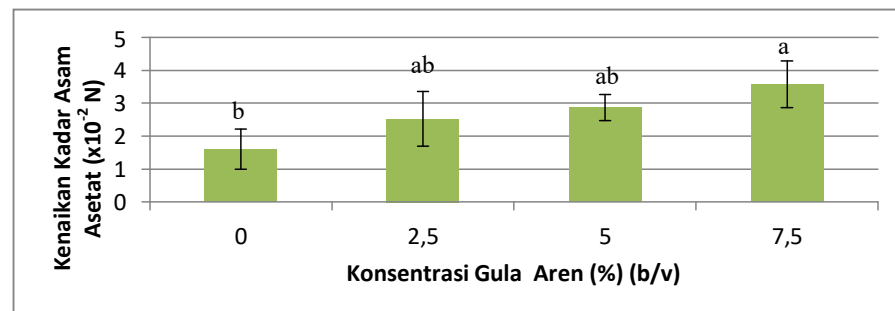
### Kadar Asam Tertitrasi

**Gambar 14** menunjukkan bahwa kadar asam tertitrasi mengalami kenaikan setelah fermentasi. Sampel dengan konsentrasi gula aren 7,5% berbeda signifikan dengan sampel tanpa penambahan gula aren (0%). Hal ini menandakan bahwa

terdapat dampak yang berbeda, yaitu kadar total asam tertitrasi akan meningkat bila ditambah dengan gula aren. BAL akan mengonsumsi gula-gula yang ada pada sampel untuk menghasilkan asam laktat (Gadet *al.*, 2010). Makin banyak asam yang terbentuk, maka total kadar asam tertitrasi meningkat. Meningkatnya konsentrasi asam tertitrasi pada sampel didukung dengan menurunnya nilai pH pada sampel (**Gambar 12**) akibat dari asam-asam organik yang terbentuk selama proses fermentasi. Sukrosa akan digunakan oleh mikroorganisme dalam *kefir* selama fermentasi terjadi aktivitas BAL dan menghasilkan asam-asam organik. Akumulasi asam-asam organik tersebut berperan sebagai produk utama dari aktivitas bakteri asam laktat sehingga dapat meningkatkan nilai total asam seiring dengan penurunan pH (Musdholifah & Zubaidah, 2016).



**Gambar 14.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap Kadar Asam Tertitrasi



**Gambar 15.** Pengaruh Konsentrasi Gula Aren terhadap Kenaikan Kadar Asam Tertitrasi

### Uji Mikroba Kontaminan

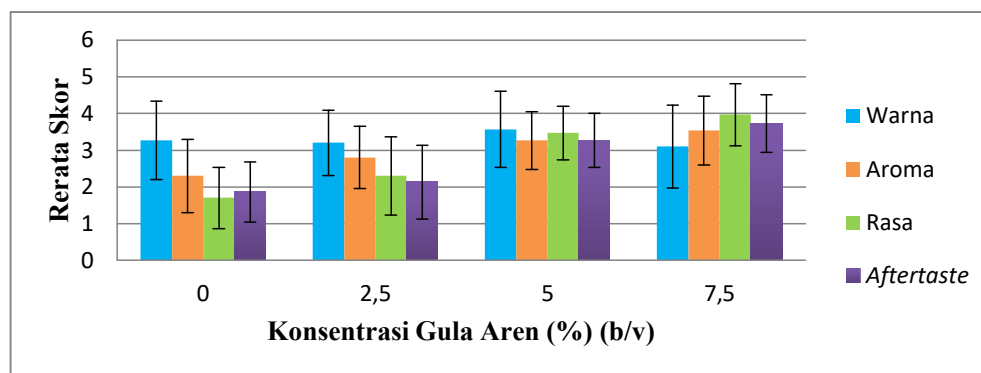
Setiap sampel kefir susu kacang merah diuji kandungan mikroba kontaminannya. Hal ini dilakukan untuk mengetahui kelayakan konsumsi. Menurut Standar Nasional Indonesia (2009), jumlah bakteri *Coliform* maksimal adalah 10 AMP/gram dan *Salmonella* sp. adalah Negatif/25 gram dalam minuman probiotik yogurt. Berdasarkan hasil penelitian uji mikroba kontaminan sampel

susu kacang merah, ditemukan jumlah bakteri *Coliform* adalah <3 AMP/mL dan *Salmonella* sp. adalah Negatif/25 gram. Oleh karena itu, kefir susu kacang merah dengan gula aren dapat dinyatakan aman dan layak untuk dikonsumsi.

### Uji Organoleptik

Berdasarkan hasil uji hedonik organoleptik warna menunjukkan bahwa sampel kefir susu kacang merah dengan konsentrasi gula aren 5% (b/v) memiliki rerata skor tertinggi, yaitu 3,567% (**Gambar 16**). Hasil uji organoleptik untuk aroma, rasa, dan *aftertaste* ditemukan rerata skor tertinggi pada sampel kefir kacang merah dengan konsentrasi gula aren 7,5% (b/v) (**Gambar 16**). Hal ini mungkin karena aroma alkohol dan *aftertaste* yang tidak terlalu tajam, serta rasa asam dan alkohol yang tidak terlalu kuat.

Uji organoleptik kemudian dilanjutkan dengan uji deskriptif skala terstruktur. Sampel yang diuji adalah kefir susu kacang merah dengan konsentrasi gula aren 7,5% (b/v) karena nilai rerata skornya tertinggi untuk keseluruhan atribut organoleptik serta merupakan sampel yang paling disukai oleh panelis. Berdasarkan hasil uji deskriptif skala terstruktur ditemukan bahwa sampel kefir susu kacang merah tersebut berwarna cokelat tua, beraroma cukup asam, memiliki rasa manis, rasa yang sedikit beralkohol, rasa yang cukup asam, dan *aftertaste* yang sedikit pahit.



**Gambar 16.** Hasil Uji Organoleptik dengan Metode *Hedonic Scoring*

Keterangan : 1 = Tidak suka      4 = Suka  
 2 = Kurang suka      5 = Sangat suka  
 3 = Cukup suka

## KESIMPULAN

Pembuatan susu kacang merah digunakan perbandingan kacang merah dengan air 1:5 karena memenuhi standar kadar protein susu dari SNI, yaitu 3,827%. Dalam pembuatan kefir susu kacang merah terdapat pengaruh dari variasi konsentrasi gula aren pada kefir susu kacang merah terhadap kadar etanol, gula reduksi, asam laktat, total asam tertitiasi (TAT), protein, sel viabel BAL dan khamir. Selain itu, terdapat pengaruh konsentrasi gula aren terhadap penurunan kadar gula total dan pH.

Hasil uji mikroba kontaminan *Coliform* adalah <3 APM/mL dan *Salmonella* sp. adalah Negatif/25 gram. Hasil uji organoleptik susu kacang merah dengan konsentrasi gula aren 7,5% merupakan sampel yang paling disukai oleh panelis. Hasil uji deskriptif skala terstruktur sampel kefir susu kacang merah tersebut berwarna coklat tua, beraroma cukup asam, memiliki rasa manis, rasa yang sedikit beralkohol, rasa yang cukup asam, dan *aftertaste* yang sedikit pahit.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M., & Nout, M. (2001). *Fermentation and Food Safety*. Gaithersburg: Aspen Publication.
- Broughton, W., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes. *Plant and Soil*, 252: 55-128.
- Commission, C. A. (2003). Codex Standard for Fermented Milks: Codex STAN 243. *FAO/WHO Food Standards*.
- Corcoran, B. M. (2005). Survival of Probiotic Lactobacilli in Acidic Environment Is Enhanced in the Presence of Metabolizable Sugars. *Applied and Environmental Microbiology*, 3060-3067.
- Gad, A., Kholif, A., & Sayed, A. (2010). Evaluation of the Nutritional Value of Functional Yogurt Resulting from Combination of Date Palm Syrup and Skim Milk. *Journal of Food Technology*, 5, 250-259.
- Gunawan, G., Atmodjo, P., & dan Sidharta, B. (2015). *Variasi Kismis dan Sukrosa terhadap Pertumbuhan Asam Laktat dan Alkohol Kristal Alga*. Yogyakarta: Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Press.



- Han, I., & Baik, B. (2006). Oligosaccharide content and composition of legumes and their reduction by soaking, cooking, ultrasound, and high hydrostatic pressure. *Cereal Chemistry*, 83(4): 428-433.
- Hawusiwa, E., Wardani, A., & Ningtyas, D. (2015). Pengaruh Konsentrasi Pasta Singkong (*Manihot esculenta*) dan Lama Fermentasi pada Proses Pembuatan Minuman Wine Singkong. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*.
- Jay, J., Loessmer, M., & Golden, D. (2005). *Modern Food Microbiology*. New York: Springer Science.
- Kunaepah, U. (2008). *Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total, dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah*. Semarang: Universitas Diponegoro Press.
- Lehninger, A. (1982). *Principles of Biochemistry*. New York: Worth Publishers.
- Madigan, M., Martinko, J., & Stahl, D. (2011). *Biology of Microorganisms 13th Edition*. San Fransisco: Benjamin Cummings.
- Mann, d., Rogosa, J., & Sharpe, M. (1960). A medium for the cultivation of Lactobacilli. *Journal Applied Bacteriological*, 23: 130-135.
- Martinez, A. (2016). Inferring the Role of Microorganisms in Water Kefir Fermentation. *International Journal of Food Science and Technology*, 1-13.
- Muksin, F., Musa, W., & Tangio, J. (2013). *Optimasi Variasi Konsentrasi Ragi dan Waktu Fermentasi pada Pembuatan Alkohol Buah Mengkudu*. Gorontalo: Universitas Negerti Gorontalo Press.
- Musdholifah, & Zubaidah, E. (2016). Studi Antioksidan Kefir Teh Daun Sirsak dari Berbagai Merk Dipasaran. *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 4 No. 1*, p. 29-39.
- Myers, R. L., & Myers, R. L. (2007). *The 100 Most Important Chemical Compounds: A Reference Guide*. Westport: Greenwood Press.
- Novia, D. (2012). *Pembuatan Yogurt Nabali Melalui Fermentasi Susu Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris*) Menggunakan Kultur Backslop*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pratiwi, A., Elfita, & Aryawati, R. (2011). Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Sifat Fisik dan Kimia Pembuatan Minuman Kombucha dari Rumput Laut *Sargassum sp.* *Ilmu Kelautan FMIPA UNSRI. Maspari Jurnal*, 4(1), 131-136.
- Rahmah, F., Nurminabari, I., & Gozali, T. (2017). *Pengaruh Penggunaan Jenis Gula Merah dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Water Kefir*. Bandung: Universitas Pasundan Press.
- Rumokoi, M. (1990). *Manfaat Tanaman Aren (*Arenga pinnata Merr.*)*. Manado: Balai Penelitian Kelapa.
- Sampurno, A., & Cahyanti, A. N. (2013). *Karakteristik Yogurt Berbahan Dasar Susu Kambing dengan Penambahan Berbagai Jenis Gula Merah*. Semarang: Universitas Semarang Press.
- Sintasari, Ayu, R., Kusnadi, J., & Ningtyas, D. W. (2014). Pengaruh Penambahan Konsentrasi Susu Skim dan Sukrosa terhadap Karakteristik Minuman Probiotik Sari Beras Merah. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 65.
- Surono, I. S. (2004). *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Jakarta: Tri Cipta Karya.

- Usmiati, S. (2007). Kefir, Susu Fermentasi dengan Rasa Menyegarkan. *Jurnal Warta Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian*, Vol. 29 (2).
- Utami, M. (2008). *Studi Pengembangan Usaha Gula Merah Tebu di Kabupaten Rembang*. Bogor: Universitas Institut Pertanian Bogor Press.
- Yunus, Y., & Zubaidah, E. (2015). Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Lama Fermentasi terhadap Viabilitas *L. casei* Selama Penyimpanan Beku Velva Pisang Ambon. *Jurnal Pangand an Agroindustri Vol. 3 No. 2*, p. 303-312.
- Yusmarini, & Efendi, R. (2004). Evaluasi mutu soygurt yang dibuat dengan penambahan beberapa jenis gula. *Jurnal Natural Indonesia*, 6(2): 104-110.
- Zakaria, Y. (2009). Pengaruh jenis susu dan persentase starter yang berbeda terhadap kualitas kefir. *Jurnal Agripet*, Vol. 9, No. 1:26-30.