

## Pengaruh Komposisi Beras dan Lama Fermentasi terhadap *Water Kefir* Beras Hitam (*Oryza Sativa* L.)

Maria Jessica<sup>1\*</sup>, Ardhia Deasy Rosita Dewi<sup>1</sup>, Tjandra Pantjajani<sup>1</sup>

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

\*corresponding author: m.j3ssic4@gmail.com

**Abstrak** - Beras hitam memiliki kandungan antosianin yang paling baik, yang bersifat sebagai antioksidan. Namun, perlakuan termal pada proses pemasakan beras hitam menyebabkan 80-94% antosianin terdegradasi. Oleh karena itu, dilakukan fermentasi *water kefir* menggunakan bahan baku beras hitam untuk meningkatkan aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh komposisi beras dan lama fermentasi terhadap perubahan parameter *water kefir* beras hitam menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan faktor komposisi beras 1:5, 1:10, dan 1:15 (b/v) serta faktor lama fermentasi 22 dan 28 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi beras dan lama fermentasi berinteraksi terhadap perubahan kadar gula total dan asam laktat secara signifikan, serta mempengaruhi perubahan kadar total asam tertitrasi (TAT), pH, etanol, aktivitas antioksidan, dan total BAL dan khamir pada *water kefir* beras hitam. Hasil uji organoleptik *water kefir* dengan komposisi beras hitam (b/v) 1:15 dan lama fermentasi 22 jam yang paling disukai oleh panelis, dengan karakteristik warna coklat kemerahan, aroma kurang asam, rasa manis yang netral, kurang beralkohol, kurang asam, dan *aftertaste* yang tidak pahit. Hasil uji mikroba kontaminan *Salmonella* sp. dan *coliform* pada *water kefir* beras hitam adalah negatif.

**Kata kunci:** beras hitam, lama fermentasi, *water kefir* beras hitam

**Abstract** - Black rice has the best anthocyanin content which has antioxidant activity. However, thermal treatment can cause 80-94% anthocyanin to be degraded. Therefore, this study using black rice to make water kefir so that antioxidant activity increased. This study aimed to determine the influence of rice composition and fermentation time of black rice water kefir using randomized block design with rice composition 1:5, 1:10, and 1:15 (b/v) and fermentation time 22 and 28 hours as the factors. The results showed that rice composition and fermentation time interacted the changes of total sugar level and lactic acid significantly, and influenced the changes of titrated total acid, pH, ethanol, antioxidant activity, and lactic acid bacteria and yeasts total plate count on black rice water kefir. The organoleptic test results showed that water kefir with black rice composition (b/v) 1:15 and 22 hours fermentation time was most preferred by panelists, which has reddish brown color, less acidic aroma, neutral sweetness, less alcoholic taste, less acidic taste, and not bitter aftertaste. Contaminant microbe test results for *Salmonella* sp. and *coliform* were negative.

**Keywords:** black rice, fermentation time, black rice water kefir

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara dengan konsumsi beras tertinggi di dunia. Namun, yang paling umum dikonsumsi adalah beras putih, sedangkan beras hitam masih belum dimanfaatkan secara optimal sebagai bahan pangan oleh masyarakat Indonesia meskipun khasiatnya sudah diketahui. Beras hitam memiliki pigmen yang paling baik dibandingkan dengan beras berwarna lain. Pigmen ini disebut sebagai antosianin, yang dapat berfungsi sebagai antioksidan, antimutagenik, antikarsinogenik, mencegah gangguan fungsi hati, antihipertensi dan menurunkan kadar gula darah (Kaneda, 2006). Namun, perlakuan termal di atas 50°C dapat mengakibatkan sebanyak 80-94% antosianin terdegradasi (Hiemori *et al.*, 2009; Surh & Koh, 2014). Kadar antosianin pada beras hitam mentah kurang lebih sebanyak 630 µg/g berat kering, sedangkan kadar antosianin pada beras hitam matang sebanyak 130,67-221,5 µg/g berat kering, yang menunjukkan adanya pengurangan antosianin yang signifikan selama proses pemasakan beras hitam (Hiemori *et al.*, 2009). Makin banyak antosianin yang terdegradasi, aktivitas antioksidan makin menurun. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan beras hitam sebagai bahan baku pembuatan *water kefir* dengan harapan antosianin dari beras hitam tidak banyak terdegradasi sehingga aktivitas antioksidan akan naik.

Pada penelitian ini, dilakukan variasi komposisi beras dan air dengan perbandingan (b/v) 1:5, 1:10, dan 1:15. Hal ini berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Thao *et al.* (2015) bahwa antosianin paling banyak terlarut pada perbandingan (b/v) 1:10 dan 1:16, yang menggunakan pelarut air dan etanol dengan perbandingan 2:8. Namun, penelitian ini menggunakan air sebagai pelarut antosianin, sehingga dipilih perbandingan 1:5, 1:10, dan 1:15 dengan harapan makin kecil perbandingan beras dan air, makin banyak antosianin yang terlarut.

Menurut Kristamtini & Heni (2010), makin rendah pH, antosianin makin stabil. Berdasarkan hal ini, maka penelitian ini memberikan perlakuan lama fermentasi 22 dan 28 jam pada *water kefir* beras hitam dengan harapan makin lama waktu fermentasi, antosianin akan makin stabil. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh komposisi beras hitam dan lama

fermentasi terhadap perubahan parameter fermentasi dan mutu akhir *water kefir* beras hitam.

Pada penelitian ini, digunakan *brown sugar* sebagai pengganti gula pasir. *Brown sugar* memiliki kandungan mineral yang sedikit lebih tinggi dibandingkan gula pasir karena adanya kandungan molase (Rana, 2017). Selain itu, *brown sugar* memiliki warna, aroma dan rasa yang khas, sehingga penggunaan *brown sugar* dalam penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan produk varian baru dari kefir. Dalam penelitian ini, dilakukan penelitian pendahuluan untuk menentukan kadar *brown sugar* terhadap Angka Lempeng Total Bakteri Asam Laktat (ALT BAL) *water kefir* beras hitam. Penelitian ini dilakukan dengan harapan makin banyak ALT BAL, fermentasi akan berlangsung lebih cepat dan asam yang terbentuk makin banyak sehingga antosianin akan makin stabil (Kristamtini & Heni, 2010).

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kompor, panci, saringan, timbangan analitik (*OHAUS*), gelas ukur (*Pyrex*), gelas kimia (*Pyrex*), rak tabung reaksi, mikropipet (*GILSON*<sup>®</sup>), tip, autoklaf (*HIRAYAMA*), cawan Petri (*ANUMBRA*), pH-meter (*Mettler Toledo*), *spreader*, *colony counter* (*Mon Scientific*), *gas chromatography* (*Hewlett Packard HP 6890 Series*), spektrofotometer (*Thermo Scientific*), kuvet plastik, *Erlenmeyer* (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), bunsen, buret (*Pyrex*), *waterbath* (*YIH DER*), pengaduk kaca.

### **Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah akuades, air, *water kefir grain*, beras hitam (*RASSENA*), *dark brown sugar* (*Ricoman*), alkohol 70%, alkohol 96%, Reagen DNS (*Merck*), Garam Rochelle (*Merck*), Fenol 5% (*SIGMA ALDRICH*), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (*Mallinckrodt, Merck*), Reagen PHF (*Merck*), CuSO<sub>4</sub> 0,4% (*Merck*), NaOH 0,01 N (*Merck*), indikator PP 1% (*Merck*), Reagen DPPH 0,4 M (*SIGMA ALDRICH*), aluminium foil (*Reynold Wrap Heavy Duty*), media

*Hektoen Agar (Merck)*, media *Lactose Broth (Merck)*, media *Bismulth Sulfite Agar (Merck)*, media *Xylose Lysine Deoxycholate (Merck)*, media *Brilliant Green Lactose Bile (Merck)*, *Tetrathionate Broth (TT Broth) (Merck)*, *Selenite Cystine Enrichment Broth (SC Broth) (Merck)*, media *MRSA (Himedia)*, media *PDA (Merck)*, *NaCl 0,9% (Merck)*.

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

Parameter pengujian yang dilakukan adalah pengujian kimiawi (uji kadar gula total, kadar gula reduksi, pH, kadar asam laktat, TAT, kadar etanol, dan aktivitas antioksidan), total BAL dan khamir dengan ALT, uji mikroba kontaminan *coliform* dan *Salmonella sp.*, dan uji organoleptik dengan 30 panelis agak terlatih. Variabel penelitian yang dilakukan yaitu komposisi beras hitam dan air yaitu 1:5, 1:10, dan 1:15 (b/v) serta lama fermentasi 22 jam dan 28 jam. Pada setiap uji dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

### **Penentuan Kadar *Brown Sugar* Terhadap Total BAL *Water Kefir* Beras**

#### **Hitam**

Beras hitam direndam dengan air dengan komposisi 1:5 (b/v) selama 80 menit, kemudian disaring dan ditambahkan *brown sugar* sebanyak 5%, 7,5%, 10% dan 15%. Setelah itu dipasteurisasi 65°C selama 30 menit dan kemudian didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Kemudian ditambahkan *kefir grain* sebanyak 15% (b/v) dan diinkubasi pada 22 jam. Kemudian dilakukan *sampling* sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan ke NaCl 0,9% steril dan dilakukan pengenceran hingga  $10^{-8}$ . Pada pengenceran  $10^{-6}$  dan  $10^{-8}$  diambil sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan ke media *MRSA* dengan teknik *spread plate*, setelah itu diinkubasi suhu 37°C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh dihitung dengan *colony counter*.

#### **Pembuatan *Water Kefir* Beras Hitam**

Beras hitam direndam dengan air perbandingan 1:5, 1:10, dan 1:15 (b/v) selama 80 menit, kemudian disaring dan ditambahkan *brown sugar* sebanyak 7,5% ke dalam masing-masing komposisi. Setelah itu dipasteurisasi 65°C selama 30 menit dan kemudian didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Pada beras hitam yang telah ditambahkan *brown sugar*, ditambahkan *kefir grain* sebanyak 15% (b/v), kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 22 jam dan 28 jam.

### Metode Analisa Data

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan menggunakan dua faktor. Faktor 1 adalah komposisi beras hitam sebesar 1:5, 1:10, dan 1:15 (b/v) dan faktor 2 adalah lama fermentasi 22 jam dan 28 jam. Data yang diperoleh diolah menggunakan program Minitab dengan menggunakan *ANOVA two way* untuk data yang berdistribusi normal dan homogen, serta uji lanjut diolah dengan metode *Tukey*. Data yang tidak berdistribusi normal dan tidak homogen diolah dengan metode *Friedman*.

### HASIL dan PEMBAHASAN

#### Uji Penentuan Kadar *Brown Sugar* Terhadap Total BAL *Water Kefir* Beras Hitam

Pada penelitian ini, dilakukan penelitian untuk menentukan kadar *brown sugar* terbaik terhadap total BAL. Hal ini dilakukan dengan harapan makin banyak total BAL maka proses fermentasi akan berlangsung lebih cepat serta asam yang dihasilkan makin banyak sehingga antosianin akan makin stabil. Komposisi beras yang digunakan adalah 1:5 (b/v). Hal ini dikarenakan makin kecil perbandingan beras dan air antosianin yang terlarut makin banyak. Menurut Duda-Chodak *et al.* (2015), antosianin dapat meningkatkan pertumbuhan BAL karena bakteri tersebut mampu memotong molekul antosianin dan menggunakan sebagian gula sebagai sumber karbon. Hasil penelitian disajikan pada Tabel 1.

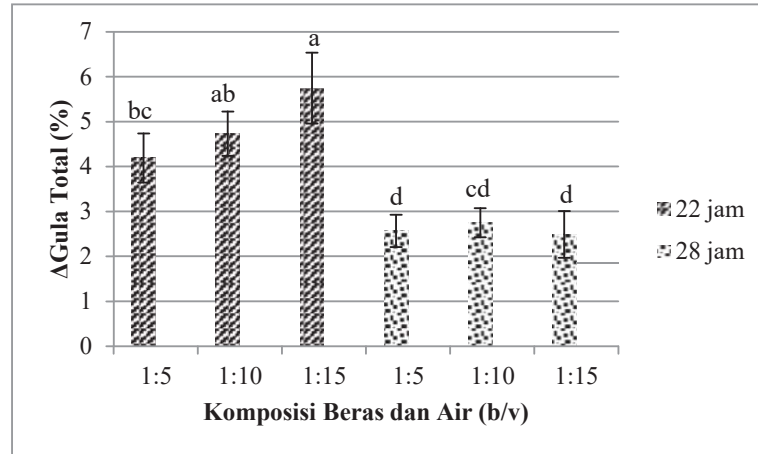
**Tabel 1.** Data Uji Penentuan Kadar *Brown Sugar* Terhadap Total BAL *Water Kefir* Beras Hitam

Variasi <i>Brown Sugar</i> (%)	Total BAL (CFU/mL)
5	$1,2 \times 10^7$
7,5	$2,02 \times 10^8$
10	$2,2 \times 10^7$
15	$2,8 \times 10^7$

Hasil penelitian pada Tabel 1 menunjukkan bahwa ALT BAL terbanyak terdapat pada penambahan *brown sugar* 7,5%, sehingga variasi gula 7,5% yang digunakan untuk pembuatan *water kefir* beras hitam.

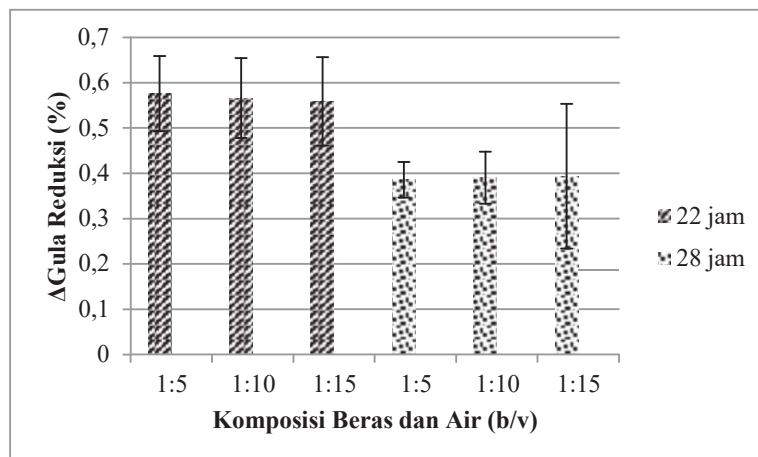
**Uji Kimiawi *Water Kefir* Beras Hitam**

**a. Gula Total dan Gula Reduksi**



**Gambar 1.** Rerata Penurunan Gula Total Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Pada Gambar 1, menunjukkan interaksi antara faktor komposisi beras dan lama fermentasi terhadap penurunan gula total memiliki perbedaan yang signifikan pada semua kombinasi perlakuan yang ditunjukkan dengan notasi yang berbeda. Penurunan gula total pada lama fermentasi 22 jam lebih besar daripada 28 jam. Hal ini mungkin disebabkan karena pada saat fermentasi 22 jam, mikroorganisme belum banyak memecah gula kompleks dan masih menggunakan gula sederhana yang ada di media untuk metabolismenya. Sedangkan pada lama fermentasi 28 jam, mikroorganisme mulai memecah gula kompleks menjadi gula sederhana sehingga penurunan gula total pada lama fermentasi 22 jam lebih besar dibandingkan dengan lama fermentasi 28 jam.



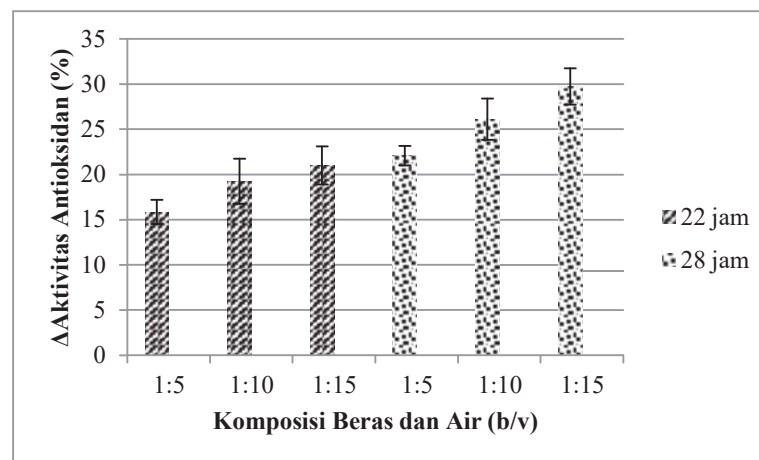
**Gambar 2.** Rerata Peningkatan Gula Reduksi Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Pada Gambar 2, dapat dilihat bahwa kadar gula reduksi sesudah fermentasi mengalami peningkatan. Hal ini mungkin disebabkan karena pada saat proses fermentasi, hasil pemecahan gula kompleks menjadi gula reduksi oleh mikroorganisme belum digunakan untuk metabolismenya, sehingga kadar gula reduksi yang terukur setelah fermentasi lebih besar daripada sebelum fermentasi. Kadar gula reduksi yang terukur pada T<sub>28</sub> mengalami perubahan peningkatan yang lebih kecil dibandingkan T<sub>22</sub>. Hal ini menunjukkan bahwa pada proses fermentasi selama 28 jam, mikroorganisme mulai memanfaatkan gula reduksi yang sudah dipecah untuk melakukan proses fermentasi. BAL pada *kefir grain*, seperti misalnya *Lactobacillus*, menggunakan gula reduksi seperti glukosa dan fruktosa dalam proses fermentasi untuk menghasilkan asam laktat (Sampurno & Cahyanti, 2013). Pada parameter gula reduksi, tidak ada interaksi antara kombinasi faktor komposisi beras dan lama fermentasi. Faktor yang mempengaruhi gula reduksi adalah lama fermentasi yang menunjukkan notasi yang berbeda, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2. Makin lama waktu fermentasi maka mikroorganisme makin banyak memanfaatkan gula reduksi dalam melakukan proses fermentasi

**Tabel 2.** Hasil Uji Tukey Lama Fermentasi Terhadap Gula Reduksi Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Parameter	Rerata Lama Fermentasi	
	22 jam	28 jam
ΔGula Reduksi (%)	0,567 <sup>a</sup> ± 0,009	0,39 <sup>b</sup> ± 0,004

### b. Aktivitas Antioksidan



**Gambar 3.** Rerata Penurunan Aktivitas Antioksidan Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Pada Gambar 3, dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan setelah fermentasi pada semua kombinasi perlakuan mengalami penurunan. Makin lama fermentasi yang dilakukan maka penurunan aktivitas antioksidan makin tinggi. Hal ini disebabkan karena antosianin yang ada pada beras hitam merupakan senyawa yang tidak stabil. Menurut Hornedo-Ortega *et al.* (2017), semua senyawa antosianin mengalami penurunan setelah proses fermentasi, terutama disebabkan karena fermentasi asam dengan penurunan sebesar 91% dan alkohol dengan penurunan sebesar 19%. *Cyanidin* merupakan senyawa antosianin yang utama pada beras hitam, yang memiliki banyak gugus hidroksil sehingga menyebabkan stabilitasnya lebih rendah jika dibandingkan dengan senyawa antosianin lain dengan gugus metil (Brouillard, 1983). Pada parameter aktivitas antioksidan, faktor yang mempengaruhi adalah komposisi beras dan lama fermentasi namun tidak ada interaksi antar faktor. Perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan notasi yang berbeda, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3 dan 4.

**Tabel 3.** Hasil Uji *Tukey* Komposisi Beras Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Parameter	Rerata Komposisi Beras (b/v)		
	1:5	1:10	1:15
$\Delta$ Aktivitas Antioksidan (%)	18,98 <sup>b</sup> ± 4,4	22,69 <sup>a</sup> ± 4,86	25,37 <sup>a</sup> ± 6,18

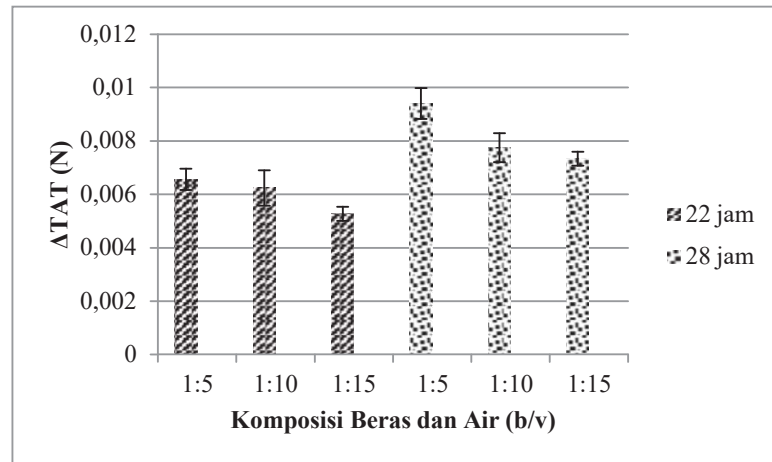
**Tabel 4.** Hasil Uji *Tukey* Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Parameter	Rerata Lama Fermentasi	
	22 jam	28 jam
$\Delta$ Aktivitas Antioksidan (%)	18,71 <sup>b</sup> ± 2,61	25,99 <sup>a</sup> ± 3,83

Makin kecil perbandingan komposisi beras dan air, makin banyak antosianin yang terlarut. Sedangkan pada lama fermentasi, makin lama penurunan aktivitas antioksidan makin besar. Hal ini dikarenakan waktu dan penyimpanan sangat mempengaruhi kestabilan antosianin (Clifford, 2000).



c. Total Asam Tertitrasi (TAT) dan pH



Gambar 4. Rerata Peningkatan TAT Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Gambar 4 menunjukkan bahwa makin lama fermentasi, peningkatan TAT makin besar. Hal ini disebabkan karena selama proses fermentasi, mikroorganisme pada *kefir grain* menghasilkan asam-asam organik sehingga menyebabkan kenaikan kadar TAT (Yusmarini & Efendi, 2004). Pada parameter TAT, faktor yang mempengaruhi adalah komposisi beras dan lama fermentasi namun tidak ada interaksi antar faktor. Perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan notasi yang berbeda, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 5 dan 6.

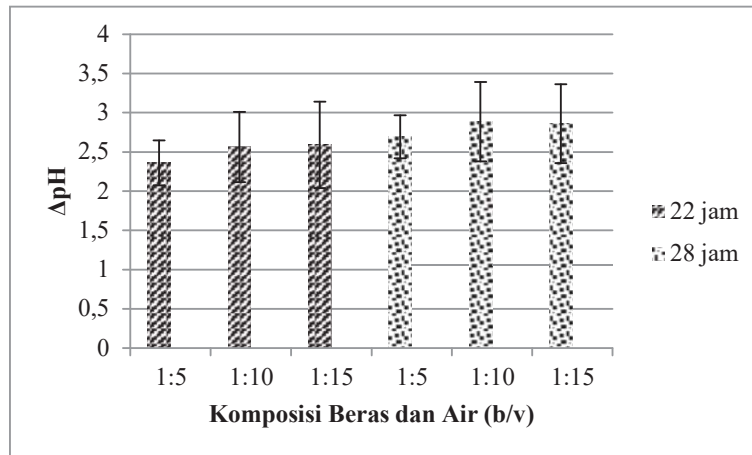
Tabel 5. Hasil Uji *Tukey* Komposisi Beras Terhadap TAT Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Parameter	Rerata Komposisi Beras (b/v)		
	1:5	1:10	1:15
ΔTAT (N)	0,008 <sup>a</sup> ± 0,002	0,007 <sup>b</sup> ± 0,0011	0,0063 <sup>b</sup> ± 0,0015

Tabel 6. Hasil Uji *Tukey* Lama Fermentasi Terhadap TAT Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Parameter	Rerata Lama Fermentasi	
	22 jam	28 jam
ΔTAT (N)	0,006 <sup>b</sup> ± 0,0007	0,0082 <sup>a</sup> ± 0,0011

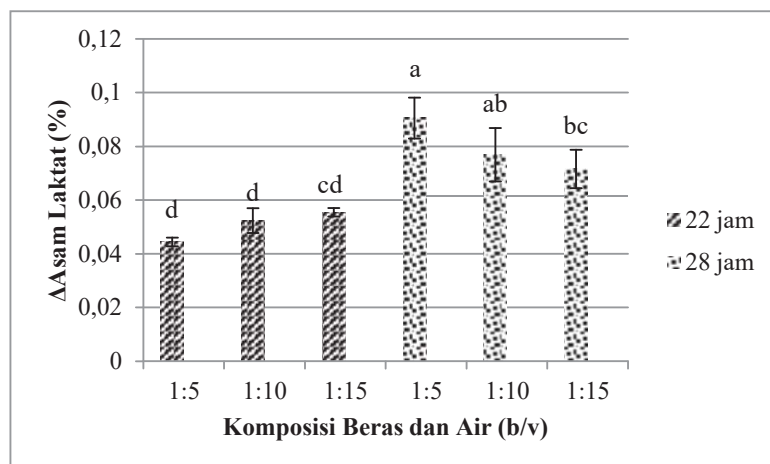
Makin kecil perbandingan beras dan air, TAT makin besar. Hal ini mungkin disebabkan karena pada komposisi beras 1:5 memiliki gula terlarut yang lebih banyak dibandingkan dengan komposisi lain. Makin lama fermentasi, TAT yang terukur makin besar. Hal ini disebabkan karena *kefir grain* makin banyak menghasilkan asam-asam organik sehingga menyebabkan kenaikan kadar TAT.



Gambar 5. Rerata Penurunan pH Pada Water Kefir Beras Hitam

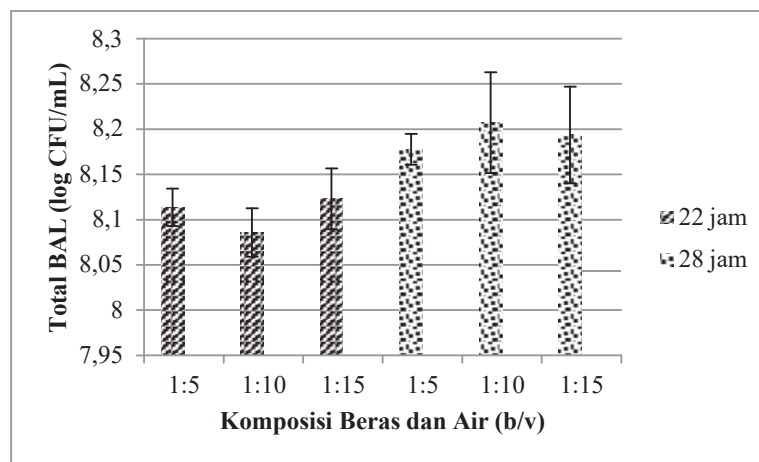
Gambar 5 menunjukkan bahwa makin lama proses fermentasi berlangsung, penurunan pH makin tinggi. Hal ini disebabkan karena terbentuknya asam-asam organik selama proses fermentasi sehingga menimbulkan suasana yang lebih asam dan mengakibatkan pH menjadi lebih rendah (Yusmarini & Efendi, 2004). Pada parameter pH, faktor komposisi beras dan lama fermentasi tidak mempengaruhi dan juga tidak ada interaksi antar faktor. Hal ini dikarenakan pada kefir grain kurang lebih mengandung  $10^7$ - $10^8$  spesies *Leuconostoc* dan *Lactobacillus*,  $10^6$ - $10^8$  bakteri asam asetat, dan  $10^6$ - $10^7$  yeasts per gram grain (Gulitz *et al.*, 2011) sehingga kemungkinan asam-asam yang dihasilkan pada semua kombinasi perlakuan kurang lebih sama.

**d. Asam Laktat dan Total Bakteri Asam Laktat (BAL)**



Gambar 6. Rerata Peningkatan Asam Laktat Pada Water Kefir Beras Hitam

Gambar 6 menunjukkan bahwa interaksi antara faktor komposisi beras dan lama fermentasi terhadap peningkatan asam laktat memiliki perbedaan yang signifikan pada semua kombinasi perlakuan, yang ditunjukkan dengan notasi yang berbeda. Makin lama fermentasi, asam laktat yang terbentuk makin banyak. Asam laktat dihasilkan dari metabolisme yang dilakukan oleh BAL, di mana mikroorganisme tersebut akan memanfaatkan gula pada media fermentasi untuk menghasilkan asam laktat (Gad *et al.*, 2010).



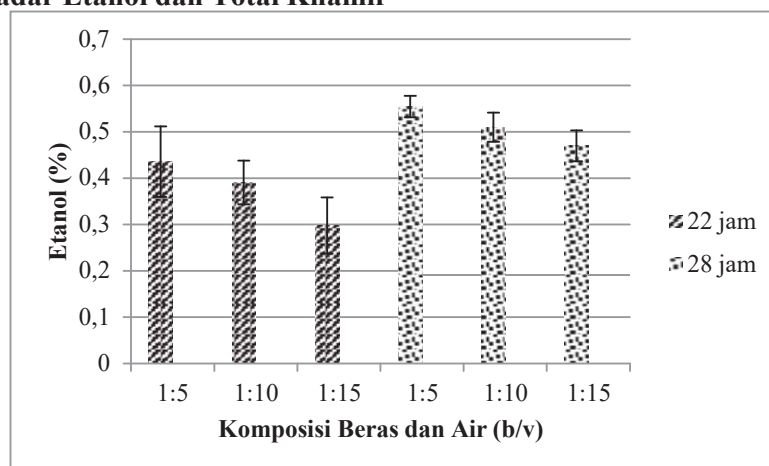
**Gambar 7.** Rerata Total BAL Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Berdasarkan *Codex Standart for Fermented Milk* 243 (2003), total BAL minimal pada minuman probiotik adalah  $10^7$  CFU/mL. Sampel yang diuji telah memenuhi syarat karena terdapat lebih dari  $10^7$  CFU/mL BAL. Gambar 7 menunjukkan bahwa makin lama proses fermentasi, maka total BAL akan mengalami peningkatan pada semua komposisi. Selama proses fermentasi, BAL memecah glukosa maupun gula lain menjadi asam laktat (Gad *et al.*, 2010). Hal ini sesuai dengan data asam laktat, yaitu makin lama waktu fermentasi makin banyak BAL yang terbentuk dan makin tinggi asam laktat yang dihasilkan. Pada parameter total BAL, faktor yang mempengaruhi adalah lama fermentasi yang ditunjukkan dengan notasi yang berbeda, seperti pada Tabel 7. Makin lama fermentasi, biomassa sel yang terbentuk makin banyak.

**Tabel 7.** Hasil Uji *Tukey* Lama Fermentasi Terhadap Total BAL Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Parameter	Rerata Lama Fermentasi	
	22 jam	28 jam
Total BAL (log CFU/mL)	8,11 <sup>b</sup> ± 0,019	8,19 <sup>a</sup> ± 0,015

e. **Kadar Etanol dan Total Khamir**

**Gambar 8.** Rerata Kadar Etanol Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Gambar 8 menunjukkan bahwa makin lama proses fermentasi maka kadar etanol yang dihasilkan akan makin meningkat pada semua komposisi. Pada proses fermentasi *water kefir*, dihasilkan etanol dan CO<sub>2</sub> dari proses fermentasi jalur heterofermentatif. Etanol yang dihasilkan merupakan hasil dari metabolisme khamir yang ada pada *kefir grain*. Selain itu, etanol yang terbentuk juga dikarenakan adanya bakteri heterofermentatif yang juga menghasilkan etanol, seperti *Leuconostoc* (Fardiaz, 1992). Pada parameter kadar etanol, faktor yang mempengaruhi adalah komposisi beras dan lama fermentasi namun tidak ada interaksi antar faktor. Perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan notasi yang berbeda, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 8 dan 9.

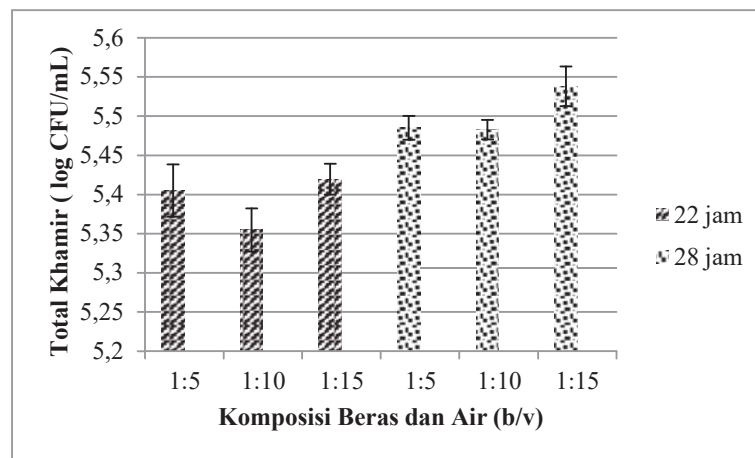
**Tabel 8.** Hasil Uji *Tukey* Komposisi Beras Terhadap Kadar Etanol Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Parameter	Rerata Komposisi Beras (b/v)		
	1:5	1:10	1:15
Etanol (%)	0,5 <sup>a</sup> ± 0,084	0,45 <sup>ab</sup> ± 0,084	0,38 <sup>b</sup> ± 0,122

**Tabel 9.** Hasil Uji *Tukey* Lama Fermentasi Terhadap Kadar Etanol Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Parameter	Rerata Lama Fermentasi	
	22 jam	28 jam
Etanol (%)	0,38 <sup>b</sup> ± 0,07	0,51 <sup>a</sup> ± 0,042

Tabel 8 menunjukkan bahwa kadar etanol pada semua komposisi beras memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini mungkin disebabkan karena makin kecil komposisi beras hitam dengan air maka gula dan nutrisi yang terlarut makin banyak dibandingkan dengan komposisi lain. Sedangkan pada Tabel 9, menunjukkan bahwa lama fermentasi memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kadar etanol *water kefir* beras hitam. Hal ini mungkin disebabkan karena makin lama waktu fermentasi maka hasil metabolisme mikroorganisme seperti etanol makin banyak diproduksi.

**Gambar 9.** Rerata Total Khamir Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Gambar 9 menunjukkan bahwa makin lama fermentasi maka total khamir yang terbentuk makin meningkat. Hal ini berhubungan dengan kadar etanol, yaitu makin tinggi total khamir maka kadar etanol yang dihasilkan juga makin banyak. Pada parameter total khamir, faktor yang mempengaruhi adalah komposisi beras dan lama fermentasi namun tidak ada interaksi antar faktor. Perbedaan yang signifikan ditunjukkan dengan notasi yang berbeda, seperti pada Tabel 10 dan 11.

**Tabel 10.** Hasil Uji *Tukey* Komposisi Beras Terhadap Total Khamir Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Parameter	Rerata Komposisi Beras (b/v)		
	1:5	1:10	1:15
Total Khamir (log CFU/mL)	5,45 <sup>ab</sup> ± 0,057	5,42 <sup>b</sup> ± 0,091	5,48 <sup>a</sup> ± 0,084

**Tabel 11.** Hasil Uji *Tukey* Lama Fermentasi Terhadap Total Khamir Pada *Water Kefir* Beras Hitam

Parameter	Rerata Lama Fermentasi	
	22 jam	28 jam
Total Khamir (log CFU/mL)	5,4 <sup>b</sup> ± 0,034	5,5 <sup>a</sup> ± 0,031

Tabel 10 menunjukkan bahwa total khamir pada semua komposisi beras memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini mungkin disebabkan karena khamir dan BAL saling bersimbiosis, yaitu khamir mengonsumsi asam laktat hasil metabolisme BAL sehingga meningkatkan pertumbuhannya (Cheirsilp *et al.*, 2003). Tabel 11 menunjukkan makin lama waktu fermentasi, biomassa sel yang terbentuk makin banyak.

### Uji Mikroba Kontaminan *Water Kefir* Beras Hitam

Hasil pengujian mikroba kontaminan menunjukkan bahwa tidak terdapat mikroba kontaminan baik *coliform* maupun *Salmonella* sp. pada *water kefir* beras hitam, seperti yang disajikan pada Tabel 12 dan Tabel 13.

**Tabel 12.** Hasil Uji Mikroba Kontaminan Bakteri *Coliform* pada *Water Kefir* Beras Hitam

Variasi Beras Hitam dan Air (b/v)	Lama Fermentasi	Jumlah Tabung Positif			Hasil (APM/mL)
		LB 3x (10 mL)	LB 1x (1 mL)	LB 1x (0,1 mL)	
1:5	22 jam	0	0	0	< 3
1:10		0	0	0	< 3
1:15		0	0	0	< 3
1:5	28 jam	0	0	0	< 3
1:10		0	0	0	< 3
1:15		0	0	0	< 3

**Tabel 13.** Hasil Uji Mikroba Kontaminan Bakteri *Salmonella* sp. pada *Water Kefir* Beras Hitam

Variasi Beras Hitam dan Air (b/v)	Lama Fermentasi	Media			Hasil (APM/mL)
		XLD	HE	BSA	
1:5	22 jam	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
1:10		Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
1:15		Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
1:5	28 jam	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
1:10		Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
1:15		Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

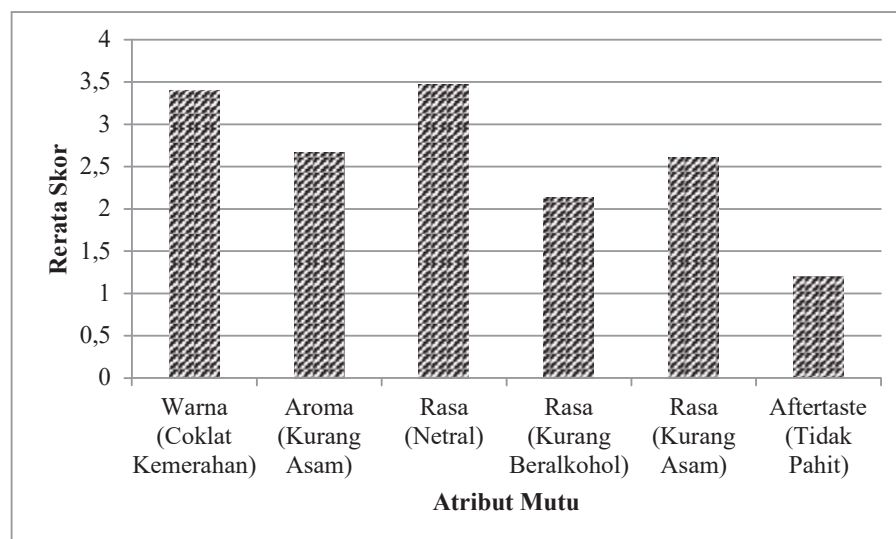
Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) tahun 2009 tentang minuman probiotik yogurt, jumlah bakteri *Coliform* maksimal adalah 10 AMP/g dan jumlah maksimal *Salmonella* sp. adalah negatif/25 g. Hasil uji mikroba kontaminan yang didapat menunjukkan jumlah bakteri *Coliform* pada sampel adalah < 3 AMP/mL dan jumlah bakteri *Salmonella* sp. adalah negatif/25 g, sehingga *water kefir* beras hitam dinyatakan aman untuk dikonsumsi.

#### Uji Organoleptik *Water Kefir* Beras Hitam

Hasil analisis statistik dengan metode *Friedman* pada semua hasil uji hedonik menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan. Hal ini mungkin dikarenakan panelis yang digunakan adalah panelis agak terlatih, yang sebelumnya tidak melakukan pelatihan sehingga dapat menghasilkan data yang variatif dan menimbulkan bias. Pada Gambar 10 menunjukkan bahwa *water kefir* dengan komposisi beras hitam (b/v) 1:15 dan lama fermentasi 22 jam memiliki warna yang paling disukai oleh panelis karena memiliki rerata skor paling tinggi, yaitu 3,67 (cukup suka). Gambar 11 menunjukkan bahwa *water kefir* dengan komposisi beras hitam (b/v) 1:5 dan lama fermentasi 22 dan 28 jam memiliki aroma yang paling disukai oleh panelis karena memiliki rerata skor paling tinggi, yaitu 3,57 (cukup suka). Hal ini dikarenakan *water kefir* dengan komposisi beras hitam (b/v) 1:5 dengan lama fermentasi 22 jam dan 28 jam memiliki perbandingan beras dengan air paling kecil, sehingga sampel tersebut memiliki aroma yang lebih kuat dibandingkan dengan sampel lain. Gambar 12 menunjukkan bahwa *water kefir* dengan komposisi beras hitam (b/v) 1:15 dan lama fermentasi 22 jam memiliki rasa yang paling disukai oleh panelis karena memiliki rerata skor paling tinggi, yaitu 4,03 (suka) serta Gambar

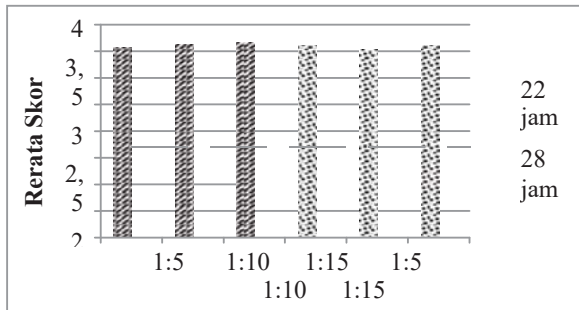
13 menunjukkan bahwa *water kefir* dengan komposisi beras hitam (b/v) 1:15 dan lama fermentasi 22 jam memiliki *aftertaste* yang paling disukai oleh panelis karena memiliki rerata skor paling tinggi, yaitu 3,63 (cukup suka). Hal ini dikarenakan sampel tersebut memiliki rasa asam yang tidak terlalu kuat, sedikit rasa *yeasty* serta sedikit sensasi soda sehingga lebih menyegarkan dan lebih disukai dibandingkan dengan sampel lain.

Berdasarkan rerata skor uji hedonik, rerata skor tertinggi didapatkan oleh sampel *water kefir* dengan komposisi beras hitam 1:15 (b/v) dan lama fermentasi 22 jam. Sampel inilah yang dilanjutkan uji deskriptif skala terstruktur. Hasil rerata skor uji deskriptif skala terstruktur sampel *water kefir* dengan komposisi beras hitam 1:15 (b/v) dan lama fermentasi 22 jam disajikan pada Gambar 14. Warna coklat kemerahan dipengaruhi oleh warna dari *brown sugar* dan antosianin yang terlarut dari beras hitam. Aroma dan rasa asam dipengaruhi oleh kadar asam laktat maupun TAT yang terbentuk dari hasil metabolisme mikroorganisme *kefir grain*. Rasa manis pada dipengaruhi oleh gula total maupun gula reduksi. Rasa alkohol dipengaruhi oleh kadar etanol yang terbentuk selama proses fermentasi. Sedangkan *aftertaste* yang tidak pahit dikarenakan senyawa yang larut air dari beras hitam, yaitu antosianin tidak menimbulkan rasa pahit (Vidal *et al.*, 2004).

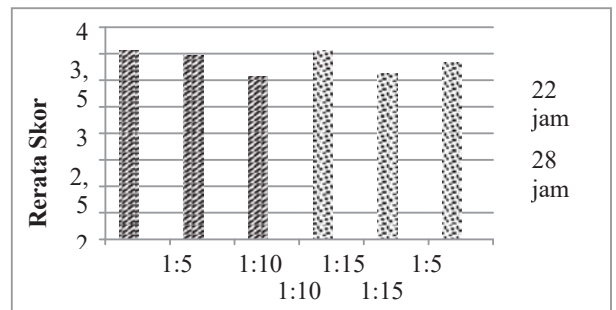


Gambar 14. Rerata Skor Deskriptif Skala Terstruktur *Water Kefir* Beras Hitam

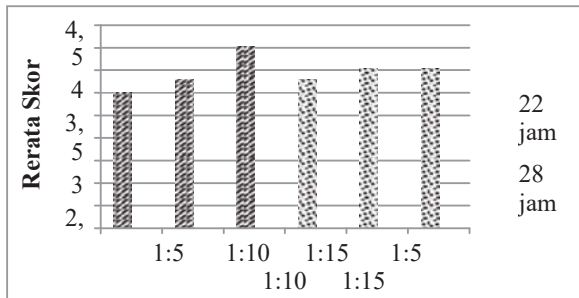




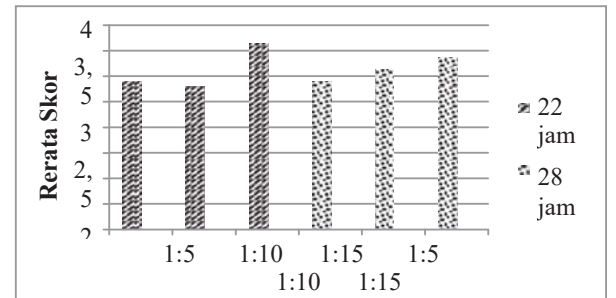
Gambar 10. Rerata Skor Kesukaan Warna Water



Gambar 11. Rerata Skor Kesukaan Aroma



Gambar 12. Rerata Skor Kesukaan Rasa Water Kefir Beras Hitam



Gambar 13. Rerata Skor Kesukaan After Taste Water Kefir Beras Hitam

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Interaksi antara faktor komposisi beras dan lama fermentasi mempengaruhi perubahan peningkatan kadar asam laktat dan penurunan gula total secara signifikan pada semua kombinasi perlakuan. Faktor komposisi beras mempengaruhi perubahan kadar aktivitas antioksidan, TAT, etanol, dan total khamir serta faktor lama fermentasi mempengaruhi perubahan gula reduksi, aktivitas antioksidan, TAT, etanol, dan total BAL dan khamir yang memiliki perbedaan yang signifikan pada semua perlakuan.

Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa *water kefir* dengan komposisi beras hitam (b/v) 1:15 dan lama fermentasi 22 jam yang paling disukai oleh panelis, dengan karakteristik warna coklat kemerahan, aroma asam yang kurang asam, rasa manis yang netral, rasa alkohol yang kurang beralkohol, rasa asam yang kurang asam, dan *aftertaste* yang tidak pahit. Hasil uji mikroba kontaminan terhadap *water kefir* beras hitam adalah negatif/25 mL terhadap *Salmonella* sp. dan < 3 APM/mL terhadap *coliform*.

## Saran

Dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh komposisi beras dan lama fermentasi pada *water kefir* beras hitam tanpa dilakukan kombinasi perlakuan serta dilakukan penelitian lebih lanjut tentang solusi untuk menjaga agar kadar antosianin pada beras hitam tidak mengalami penurunan saat diolah menjadi produk pangan, seperti penambahan gula trehalosa saat proses pengolahan beras hitam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono A, Fardiaz D, Puspitasari NL, Sedarnawati Y, Budianto S. (1989). *Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor.
- Association of Official Analytical Chemist (AOAC). (1995). *Official Methods of Analysis Chemist*. Vol. 1A. Wahington: AOAC, Inc.
- Barker, S. H. & William H. Summerson. (1941). The Colorimetric Determination of Lactic Acid in Biological Material. *J. Biol. Chem.* 1941, 138:535-554.
- Brouillard, R. (1983). The in vivo expression of anthocyanin color in plants. *Phytochemistry* 22(6):1311–23. doi: 10.1016/S0031-9422(00)84008-X.
- Cheirsilp, B., Shoji, H., Shimizu, H., & Shioya, S. (2003). Interactions between *Lactobacillus kefirianofaciens* and *Saccharomyces cerevisiae* in mixed culture for kefir production. *Journal of bioscience and bioengineering*, 96(3), 279–84.
- Clifford, M. N. (2000). Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric* 80:1063–72. doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:71063:AID-JSFA6053.0.CO;2-Q.
- Codex Standard. (2003). *Codex Standard for Fermented Milks: Codex Stan 243-2003*. Roma: FAO United Nations.
- Duda-Chodak, A., Tomasz Tarko, Paweł Satora, and Paweł Sroka. (2015). Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: a review. *European Journal of Nutrition*. 2015; 54(3): 325–341.
- Fardiaz, Srikandi. (1992). *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Gad, A. S., A. M. Kholif dan A. F. Sayed. (2010). Evaluation of The Nutritional Value of Functional Yogurt Resulting From Combination of Date Palm Syrup and Skim Milk. *Am. J. Food Technology*. 5: 250-259.
- Gulitz, A., Stadie, J., Wenning, M., Ehrmann, M. A., dan Vogel, R. F. (2011). The Microbial Diversity of Water Kefir. *International Journal of Food Microbiology* 151(3): 284-288.
- Haryadi, H. (2013). *Analisa Kadar Alkohol Hasil Fermentasi Ketan Dengan Metode Kromatografi Gas Dan Uji Aktifitas Saccharomyces cereviceae Secara Mikroskopis*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Hiemori, M., Koh, E., & Mitchell, A. E. (2009). Influence of cooking on anthocyanins in black rice (*Oryza sativa* L. *japonica* var. SBR). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1908–1914.
- Hornedo-Ortega, R., M. Antonia Alvarez-Fernandez, Ana B. Cerezo, Isidoro

- Garcia-Garcia, Ana M. Troncoso, and M. Carmen Garcia-Parrilla. (2017). Influence of Fermentation Process on the Anthocyanin Composition of Wine and Vinegar Elaborated from Strawberry. *Journal of Food Science*, Vol. 82, Nr. 2, 364-372.
- Kaneda, I., Kubo F., and Sakurai H. (2006). Antioxidative Compounds in the Extract of Black Rice Brans. *Journal of Health Science*. 2006; 52(5): 495511.
- Kristantini & Heni P. (2010a). Pemanfaatan Plasma Nutfah Beras Hitam lokal Yogyakarta sebagai bahan Pangan Fungsional, in: *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Padi 2009*, Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, p. 1271, Sukamdi.
- Muchtadi, T. R. dan Sugiyono. (1989). *Petunjuk Laboratorium Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Bogor: IPB.
- Rana, Sarika. (2017). *Is Brown Sugar Better Than White Sugar? You Will be Surprised!* <https://food.ndtv.com/food-drinks/is-brown-sugar-better-than-white-sugar-you-will-be-surprised-1766948/> [Akses 17 Desember 2018].
- Sampurno, A. & A. N. Cahyanti. (2015). Variasi Jenis Gula Tebu Terhadap Derajat Brix, pH, Total Asam dan kesukaan Panelis pada Water Kefir. *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*. Vol.11 No.2 Halaman 3439.
- Sasaki , Y., Ito, L.A., Canteli, V. C., Ushirobira, T.M., Ueda, M, T., Dias, F.B.P., Nakamura, C.V., dan Mello, J.C. (2007). Antioxidant Capacity and In Vitro Prevention of Dental Plaque Formation by Extract and Condensed Tannins of Paullinia cupana. *Molecules*. 12:1950-63.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). (2004). SNI 01-3546-2004. *Saus Tomat*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). (2009). SNI 2981-2009. *Yogurt*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). (2009). SNI 7552:2009. *Minuman Susu Fermentasi Berperisa*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Surh, J., & Koh, E. (2014). Effects of four different cooking methods on anthocyanins, total phenolics and antioxidant activity of black rice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 3296–3304.
- Thao, Ninh Le thu, Dao Thi Kim Thoa, Le Phuoc Thang, Than Thi Ut Xi, Dam Sao Mai, Nguyen Thi Ngoc Tram. (2015). Effect of ethanol on the anthocyanin extraction from the purple rice Vietnam. *Journal of Food and Nutrition Sciences (2015); 3(1-2): 45-48*.
- Vidal, S. Francis, L. Noble, A. Kwiatkowski, M. Cheynier, V. Waters, E. (2004). Taste and mouth-feel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. *Anal. Chim. Acta* 2004, 513, 57-65.
- Yusmarini & R. Efendi. (2004). Evaluasi Mutu Soygurt yang Dibuat Dengan Penambahan Beberapa Jenis Gula. *Jurnal Natur Indonesia* 104-110