

**STUDI PEMBUATAN KEFIR NIRA SIWALAN (*Borassus flabellifer* L.)  
(PENGARUH PENGECERAN NIRA SIWALAN DAN METODE INKUBASI)**

***Study of Making Palm (*Borassus flabellifer* L.) Sap Kefir (Palm Dilution and Incubation Methods Effect)***

M. Fatkhul Mubin<sup>1\*</sup>, Elok Zubaidah<sup>1</sup>

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang  
Jl. Veteran, Malang 65145

\*Penulis Korespondensi, Email: moh.fatkhulmubin@gmail.com

**ABSTRAK**

Nira siwalan merupakan salah satu produk hasil pohon siwalan (*Borassus flabellifer*) dengan kandungan gula yang tinggi. Kandungan gula yang tinggi tersebut dapat dimanfaatkan sebagai minuman probiotik antara lain *water kefir*. *Water kefir* terdiri dari berbagai mikroba yang kompleks, sehingga dibutuhkan metode inkubasi serta jumlah pemenuhan nutrisi yang tepat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pengenceran nira siwalan dan metode inkubasi terhadap produk akhir kefir nira siwalan. Penelitian disusun menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor yaitu pengenceran nira (1:5 dan 1:7) dan metode inkubasi (25 °C selama 24 jam, 37 °C selama 12 jam dan 37 °C selama 4 jam). Perlakuan terbaik adalah kefir nira siwalan dengan perlakuan metode inkubasi suhu 25 °C selama 24 jam dengan pengenceran nira siwalan 1:7 yakni dengan nilai total BAL  $5.62 \times 10^7$  cfu/ml; total khamir  $1.20 \times 10^6$  cfu/ml; pH 3.73; total asam 0.86%; dan total gula sebesar 10.33 %.

Kata Kunci: Diversifikasi Produk, Metode Inkubasi, Nira Siwalan, *Water Kefir*

**ABSTRACT**

*Palm sap is a palm's product which has high sugar content. This content can be used probiotic baverage such as water kefir. Water kefir has complex microorganism, so need a incubation method as well as the proper amount of nutrition. The purpose of this reseach was to determine the effect of palm sap dilution and incubation methods for the end product of palm sap kefir. Research compiled using 2 factors randomized block design, palm sap dilution (1:5 and 1:7) and incubation methods (25 °C for 24 h, 37 °C for 12 h and 37 °C for 4 hours). The best treatment of palm sap kefir obtained by method of incubation (25 °C for 24 hours) with palm sap dilution 1: 7 that the total value of BAL is  $5.62 \times 10^7$  cfu/ml;  $1.20 \times 10^6$  cfu/ml of total yeast; pH 3.73; 0.86% of total acid; and 10.33% of total sugar.*

Keywords: Diversification, Incubation Methods, Palm Sap, Water Kefir

**PENDAHULUAN**

Tanaman siwalan (*Borassus flabellifer* L.) merupakan jenis tanaman palem-paleman yang tumbuh melimpah di sepanjang Teluk Persia sampai Asia Tenggara, tidak terkecuali di Kabupaten Tuban Jawa Timur [1]. Nira siwalan merupakan salah satu produk hasil pohon siwalan yang paling banyak dimanfaatkan. Nira siwalan mengandung 10 – 15 g/100 cc total gula. Gula sendiri merupakan salah satu zat gizi makro yang penting bagi tubuh, karena zat ini berfungsi sebagai sumber komponen utama di tubuh. Jumlah gula yang berlimpah inilah yang dapat dimanfaatkan untuk pembuatan makanan fermentasi, yakni dengan perombakan

senyawa organik kompleks berupa gula dalam siwalan menjadi lebih sederhana dan menghasilkan senyawa yang bermanfaat bagi tubuh[2]

Kefir merupakan salah satu contoh bentuk pangan fermentasi yang mempunyai banyak manfaat. Berdasarkan penelitian kefir dalam dunia kesehatan yang dilakukan sebelumnya, kefir dapat menghambat pertumbuhan tumor lebih efektif daripada yoghurt, mampu menjaga pencernaan dari serangan bakteri patogen, menjaga metabolisme dan fungsi imun manusia, serta menjaga kadar kolesterol dalam darah [3]. Kefir selama ini biasanya dibuat dari susu. Namun, adanya kekhawatiran akan *lactose intolerant*, juga semakin meningkatnya golongan vegetarian, memicu peningkatan ketersediaan minuman probiotik non-susu. Oleh karena itu, bahan baku dari buah atau sayuran lebih disarankan sebagai medium pertumbuhan probiotik. Kefir dapat dibuat dari air yang ditambahkan gula. Hasil metabolit dari kefir air ini berfungsi sebagai minuman fungsional untuk mencegah berbagai macam penyakit. Kadar alkohol yang dihasilkan dari kefir air relatif lebih rendah dari pembuatan kefir berbahan baku susu, serta kandungan lemak terutama lemak hewani atau lemak yang ada sangat sedikit jumlahnya [4], serta berdasarkan penelitian terdahulu, terjadi peningkatan aktivitas antioksidan[5] dan antibakteri[6] pada teh daun sirsak ketika diberikan perlakuan penambahan *water kefir grain*.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pengenceran nira dan perlakuan inkubasi terhadap produk akhir kefir nira siwalan berdasarkan pada sifat fisik, kimia, mikrobiologis dan organoleptik.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Bahan**

Bahan-bahan dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah air nira siwalan yang didapat langsung dari Pasuruan (hasil penyadapan langsung) dan biji kefir yang diperoleh dari Diana Water Kefir. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kimia dan mikrobiologi yaitu NaOH 0,1 N, buffer pH 4 dan buffer pH 7, indikator PP, alkohol 70%, aquades, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, anthrone, kertas saring Whatman no.2, CaCO<sub>3</sub>, Pb-asetat, Na-oksalat, MRSA, pepton, PDA, aluminium foil dan plastik.

### **Alat**

Alat yang digunakan antara lain botol kaca dan tutup, saringan, beaker glass, pH meter, timbangan digital (METTLER TOLEDO), pipet tetes, pipet ukur, cawan petri, labu ukur, corong, bunsen, erlenmeyer, buret, tabung reaksi, spatula, buret, LAF, spektrofotometer (Spectro20D plus), inkubator (Binder), autoklaf, mikropipet 1 ml, blue tip dan kompor listrik.

### **Desain Penelitian**

Penelitian disusun menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor yaitu pengenceran nira siwalan (1:5 dan 1:7) dan metode inkubasi (25 °C selama 24 jam, 37 °C selama 12 jam dan 43 °C selama 4 jam). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 18 satuan percobaan. Data dianalisis dengan menggunakan metode analisis ragam (*Analysis of Variant* atau ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji lanjut BNT atau DMRT dengan selang kepercayaan 5%. Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan metode *Multiple Attribut* [7]

### **Tahapan Penelitian**

Tahapan penelitian dilakukan dengan dua tahapan yaitu pembuatan kefir air dan pembuatan kefir nira siwalan dengan perlakuan pengenceran nira dan metode inkubasi. Pembuatan kefir air digunakan sebagai pembanding (parameter kontrol) dalam pembuatan kefir nira siwalan[7]. Pembuatan kefir nira siwalan dilakukan dengan menambahkan *kefir grain* pada bahan baku (nira siwalan) yang telah diencerkan dengan air (1:5 dan 1:7). Larutan bahan baku tersebut kemudian dilakukan analisis total gula [8] dan pH [8].

Kemudian dilakukan pasteurisasi dan diinkubasikan sesuai dengan metode inkubasi yang diinginkan (suhu 43 °C selama 4 jam, 37 °C selama 12 jam dan 25 °C selama 24 jam). Setelah inkubasi dilakukan penyaringan dan dihitung analisis total gula, pH, total asam [8], total BAL [9], total khamir [9] dan uji organoleptik.[10]

## **Prosedur Analisis**

### **1. Analisis Total Bakteri Asam Laktat**

Sampel diencerkan ke dalam larutan pepton 0,1 % 9 ml (larutan ini merupakan pengenceran  $10^{-1}$ ), kemudian dilanjutkan pengenceran hingga  $10^{-8}$ . Pada tiga seri pengenceran terakhir, sampel tersebut diambil masing-masing 1 ml dan dituangkan ke dalam cawan petri yang kemudian diisi dengan media MRSA. Media MRSA yang telah berisi sampel tersebut diinkubasikan dengan suhu dan lama inkubasi sesuai dengan perlakuan. Pertumbuhan koloni pada setiap cawan dihitung sesuai dengan lama waktu inkubasinya. Dihitung angka TPC dalam 1 g dengan mengalikan jumlah koloni rata-rata dengan faktor pengenceran yang digunakan dengan satuan *colony forming unit/g* atau koloni/g.

### **2. Analisis Total Khamir**

Sampel diencerkan ke dalam larutan pepton 0,1 % 9 ml (larutan ini merupakan pengenceran  $10^{-1}$ ), kemudian dilanjutkan pengenceran hingga  $10^{-5}$ . Diambil masing – masing 1 mL dari 3 pengenceran terakhir dan dituang dalam cawan petri steril, lalu dituangi media PGYA steril (hangat) sampai dasar cawan tertutup media. Setelah media memadat, diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Dicatat pertumbuhan koloni pada setiap cawan yang mengandung koloni 30– 300 dan kemudian dihitung angka TPC.

### **3. Analisis Total Gula**

Ditentukan terlebih dahulu kurva standar total gula dengan melihat nilai absorbansi 6 larutan glukosa standar yang telah ditambahkan masing-masing 5 ml pereaksi anthrone. Hasil nilai absorbansi (630  $\lambda$ ) kemudian dianalisis dan dibuat kurva standar absorbansi. Sampel yang akan dianalisis, dicampur dengan  $\text{CaCO}_3$  dan aquades yang kemudian dihomogenkan dan dipanaskan. Larutan sampel tersebut kemudian diambil 1 ml filtrate dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 5 ml anthron (untuk sampel yang sangat pekat dapat diencerkan terlebih dahulu). Larutan sampel tersebut kemudian dihomogenkan dan dipanaskan pada suhu 100 °C selama 12 menit. Larutan sampel kemudian didinginkan dan dihitung nilai absorbansi (630  $\lambda$ ).

### **4. Analisis Total Asam**

Sampel dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml sebanyak 10 ml dan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan. Filtrat diambil 10 mL dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, dan ditambahkan indikator pp (+- 2-3 tetes). Filtrate tersebut kemudian dititrasi dengan larutan 0,1 N NaOH sampai warna larutan berubah menjadi merah muda dan warna tersebut tidak hilang selama 30 detik, pada akhir titrasi dihitung jumlah NaOH yang digunakan.

### **5. Analisis pH**

Elektroda pH meter sebelumnya dikalibrasi ke dalam larutan buffer pH 4. Setelah dilakukan kalibrasi, Elektroda pH meter dicelupkan ke dalam sampel kemudian ditunggu hingga menunjukkan angka konstan dan pH sampel dapat dibaca.

### **6. Organoleptik**

Pengujian sifat organoleptik pada kefir teh ditujukan untuk pengujian tingkat kesukaan dengan menggunakan metode *hedonic scale scoring* untuk membandingkan tingkat kesukaan panelis terhadap warna, rasa, aroma, dari masing-masing sampel. Setiap panelis

diminta untuk menuliskan seberapa jauh tingkat kesukaan panelis terhadap sampel yang disajikan dengan cara memberii nilai (skor) berdasarkan skala *numeric* (1-5 skala) pada lembar uji organoleptik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Karakteristik Bahan Baku

Data analisis karakteristik bahan baku berupa nira siwalan adalah nilai pH nira siwalan yang digunakan, yaitu sebesar 3.92 dan berbeda dengan literatur yang menyebutkan bahwa pH nira siwalan sebesar 6.7 – 6.9 [10]. Hal ini dimungkinkan karena nira siwalan tersebut telah mengalami fermentasi alami ketika dilakukan penyadapan di malam hari sebelum pengambilan bahan baku. Penyadapan nira siwalan dilakukan ketika pagi hari dan hasilnya diambil ketika sore hari dan ataupun sebaliknya. Nira siwalan yang disimpan atau berada dalam suhu kamar akan mengalami proses fermentasi atau peragian gula karena adanya proses enzimatis[12]

### 2. Analisis Kefir Air

Data analisis karakteristik kefir air ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Parameter Kimia dan Mikrobiologi Kefir Air

Parameter	Kefir Air	Kefir Susu
pH	4.32	Maks. 4.60
Total Khamir (cfu/ml)	$7.47 \times 10^4$	Min. $10^4$
Total BALn (cfu/ml)	$6.50 \times 10^8$	Min. $10^7$

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa kefir air (parameter kontrol) memiliki pH asam dan juga memiliki nilai mikrobiologis yang cukup baik serta memenuhi standar minuman probiotik kefir [3]. Belum adanya standar minuman probiotik kefir air menyebabkan peneliti melakukan pembuatan minuman kefir air (*home-made*) dan kemudian dianalisis sesuai standar minuman kefir susu.

### 3. Analisis Total Bakteri Asam Laktat Kefir Nira Siwalan

Hasil rerata analisis total BAL kefir nira siwalan karena perlakuan pengenceran nira siwalan dan metode inkubasi yang berbeda berkisar antara  $1.20 \times 10^7$  cfu/ml sampai  $3.25 \times 10^8$  cfu/ml, serta mengalami peningkatan nilai total BAL setelah fermentasi. Pengaruh perlakuan pengenceran nira siwalan dan metode inkubasi terhadap total BAL kefir nira siwalan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata Total BAL sebelum dan sesudah fermentasi

Metode Inkubasi	Pengenceran Nira Siwalan	Rerata Total BAL (cfu/ml)		
		Sebelum Fermentasi (awal)	Sesudah Fermentasi (akhir)	Peningkatan
25 °C(24 jam)	1:5	$6.02 \times 10^5$	$9.86 \times 10^7$	$9.80 \times 10^7$
	1:7	$3.16 \times 10^5$	$5.62 \times 10^7$	$5.59 \times 10^7$
37 °C(12 jam)	1:5	$2.52 \times 10^5$	$3.25 \times 10^8$	$3.25 \times 10^8$
	1:7	$1.05 \times 10^6$	$1.27 \times 10^8$	$1.25 \times 10^8$
43 °C(4 jam)	1:5	$3.53 \times 10^5$	$6.07 \times 10^6$	$5.71 \times 10^6$
	1:7	$1.70 \times 10^3$	$3.97 \times 10^6$	$3.96 \times 10^6$

Berdasarkan Tabel 2, rerata nilai total BAL mengalami peningkatan, yang mengindikasikan bahwa bakteri asam laktat dapat tumbuh dan bermetabolisme pada kefir nira siwalan. Hal ini dikarenakan kandungan gula yang tinggi pada nira siwalan digunakan

bakteri asam laktat sebagai nutrisi (sumber karbon) untuk bermetabolisme. Peningkatan rerata total BAL pada kefir nira siwalan dengan metode inkubasi 37°C selama 12 jam lebih tinggi dibandingkan dengan kefir nira siwalan dengan metode inkubasi yang lain. Hal ini dikarenakan metode inkubasi 37°C selama 12 jam merupakan metode inkubasi terbaik untuk bakteri pada kefir tumbuh. *Lactobacillus sp.* tumbuh baik pada pembuatan kefir dengan inkubasi suhu ± 35,5°C [13]

Rerata total BAL pada kefir nira siwalan dengan perlakuan pengenceran 1:5 lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan pengenceran 1:7 di semua perlakuan metode inkubasi. Hal ini dikarenakan dengan perbandingan pengenceran nira siwalan dengan air yang lebih kecil berpengaruh terhadap jumlah nutrisi yang dapat dimanfaatkan oleh BAL untuk bermetabolisme semakin besar. Mikroorganisme pada biji kefir akan menghidrolisis laktosa menjadi glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim laktase. Unit-unit monosakarida ini akan mengalami proses glikolisis menjadi piruvat, yang kemudian direduksi oleh bakteri asam laktat, sehingga semakin besar nutrisi yang tersedia maka semakin tinggi pula bakteri asam laktat [9]

#### 4. Analisis Total Khamir Kefir Nira Siwalan

Hasil rerata nilai total khamir kefir nira siwalan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rerata nilai total khamir kefir nira siwalan

Metode Inkubasi	Pengenceran Nira	Rerata Total Khamir (cfu/ml)
25 °C (24 jam)	1:5	6.56 x 10 <sup>5</sup>
	1:7	1.20 x 10 <sup>6</sup>
37 °C (12 jam)	1:5	9.50 x 10 <sup>4</sup>
	1:7	5.20 x 10 <sup>5</sup>
43 °C (4 jam)	1:5	1.37 x 10 <sup>4</sup>
	1:7	2.13 x 10 <sup>4</sup>

Berdasarkan Tabel 3, nilai total khamir tertinggi pada kefir nira siwalan dengan perlakuan pengenceran 1:7 dan metode inkubasi suhu 25° C selama 24 jam, sedangkan nilai terendah adalah kefir nira siwalan pengenceran 1:5 dengan metode inkubasi 43°C selama 4 jam. Hal ini disebabkan suhu optimum pada pertumbuhan khamir cenderung pada suhu netral (25 – 30° C). Rerata total khamir pada kefir nira siwalan dengan pengenceran 1:7 lebih tinggi dibanding dengan rerata total khamir pada kefir nira siwalan pengenceran 1:5 di semua metode inkubasi. Hal ini disebabkan kondisi pH yang rendah, khamir tidak dapat tumbuh secara optimum. Adapun pH yang disukai khamir untuk tumbuh adalah antara 4.00 – 4.5 (netral). Pada keadaan alkalis (terlalu basa, pH diatas 7.00) dan atau terlalu asam tidak dapat tumbuh dengan baik, sedangkan keadaan yang aerobik sangat disukai[14]

#### 5. Analisis pH kefir nira siwalan

Hasil analisis pH kefir nira siwalan dapat dilihat pada Tabel 4. Pengaruh metode inkubasi berpengaruh nyata terhadap pH kefir nira siwalan, sedangkan pengenceran nira tidak berpengaruh nyata terhadap pH kefir nira siwalan, begitu juga dengan interaksi antar dua faktor tersebut.

Tabel 4. Rerata nilai pH kefir nira siwalan akibat pengaruh metode inkubasi

Metode Inkubasi	Rerata Nilai pH
25 °C (24 jam)	3.64 <sup>a</sup>
37 °C (12 jam)	3.62 <sup>a</sup>
43 °C (4 jam)	4.15 <sup>b</sup>

Tabel 4 menunjukkan bahwa penggunaan metode inkubasi yang berbeda berpengaruh nyata (α= 5%) terhadap rerata nilai pH kefir nira siwalan, dimana rerata nilai pH tertinggi terdapat pada kefir nira siwalan metode inkubasi 43° C selama 4 jam dan terendah

terdapat pada kefir nira siwalan dengan metode inkubasi 37° C selama 12 jam, namun tidak berbeda nyata dengan metode inkubasi 25 °C selama 24 jam. Hal ini disebabkan setiap mikroorganisme memiliki suhu dan waktu optimum untuk hidup[15]

Penggunaan jumlah proporsi pengenceran nira siwalan yang berbeda tidak berpengaruh nyata ( $\alpha= 5\%$ ) terhadap rerata nilai pH kefir nira siwalan. Hal ini diduga karena perbedaan proporsi pengenceran nira siwalan yang kecil (1:5 dan 1:7). Derajat keasaman atau pH suatu larutan penyangga ditentukan oleh komponen - komponennya. Jika suatu campuran tersebut diencerkan maka harga perbandingan komponen – komponen tersebut tidak berubah, sehingga pH larutan penyangga juga praktis tidak berubah. Perubahan nilai pH terjadi apabila larutan diencerkan sebanyak 10 kali volume semula[16]. Perubahan nilai pH merupakan salah satu akibat dari proses fermentasi yang terjadi karena adanya akumulasi asam yang berasal dari bakteri asam laktat [17]. Rerata nilai pH berbanding terbalik dengan rerata nilai total asam kefir nira siwalan, semakin banyak jumlah asam maka semakin besar pula ion H<sup>+</sup> sehingga menurunkan nilai pH [18]

## 6. Analisis Total Asam

Hasil analisis total asam kefir nira siwalan dapat dilihat pada Tabel 5. Pengaruh metode inkubasi berpengaruh nyata terhadap total asam kefir nira siwalan, sedangkan pengenceran nira tidak berpengaruh nyata terhadap pH kefir nira siwalan.

Tabel 5. Rerata nilai total asam kefir nira siwalan akibat pengaruh metode inkubasi

Metode Inkubasi	Rerata Nilai Total Asam (%)
25 °C (24 jam)	0.89 <sup>b</sup>
37 °C (12 jam)	0.72 <sup>b</sup>
43 °C (4 jam)	0.30 <sup>a</sup>

Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan bahwa penggunaan metode inkubasi yang berbeda berpengaruh nyata ( $\alpha= 5\%$ ) terhadap rerata nilai total asam kefir nira siwalan, dimana rerata nilai total asam tertinggi terdapat pada kefir nira siwalan metode inkubasi 25 °C selama 24 jam, namun tidak berbeda nyata dengan metode inkubasi 37 °C selama 12 jam. Sedangkan rerata nilai total asam terendah terdapat pada kefir nira siwalan dengan metode inkubasi 43° C selama 4 jam. Hal tersebut dikarenakan sebagian besar bakteri asam laktat pada biji kefir tidak dapat bermetabolisme secara optimal pada suhu 43 °C sehingga asam yang dihasilkan-pun terdapat rendah. Hanya sedikit bakteri termofil yang terdapat pada biji kefir yaitu *Streptococcus thermophiles*, sedangkan yang lain adalah mayoritas bakteri mesofil[19]. Rerata nilai total asam yang tinggi tersebut dikarenakan penggunaan gula pada bahan baku (nira siwalan) menjadi asam laktat oleh mikroba dalam kefir grains. Mikroba pada kefir grains tersebut membentuk suatu matriks polisakarida (dekstran), dan mampu menghasilkan alkohol, karbon dioksida, asam-asam organik (laktat dan asetat) dan beberapa senyawa lain dari hasil penguraian [20]

Penggunaan jumlah proporsi pengenceran nira siwalan yang berbeda tidak berpengaruh nyata ( $\alpha= 5\%$ ) terhadap rerata nilai total asam kefir nira siwalan, hal ini sesuai dengan nilai pH kefir nira siwalan, karena semakin tinggi total asam maka semakin rendah nilai pH. Fermentasi karbohidrat oleh bakteri *Streptococcus* dan *Lactobacillus* dilakukan untuk memproduksi asam laktat sebagai produk utama.

## 7. Analisis Total Gula Kefir Nira Siwalan

Hasil analisis total asam kefir nira siwalan dapat dilihat pada Tabel 6 dan Tabel 7. Pengaruh pengenceran nira dan metode inkubasi berpengaruh nyata terhadap total asam kefir nira siwalan.

Tabel 6. Rerata nilai total gula kefir nira siwalan akibat pengaruh pengenceran nira

Pengenceran Nira Siwalan	Rerata Nilai Total Gula (%)
1:5	12.38 <sup>b</sup>
1:7	11.72 <sup>a</sup>

Tabel 7. Rerata nilai total gula kefir nira siwalan akibat pengaruh metode inkubasi

Metode Inkubasi	Rerata Nilai Total Gula (%)
25° C (24 jam)	9.00 <sup>a</sup>
37° C (12 jam)	10.02 <sup>b</sup>
43° C (4 jam)	17.13 <sup>c</sup>

Berdasarkan Tabel 6 menunjukkan bahwa faktor pengenceran nira siwalan yang berbeda berpengaruh nyata ( $\alpha= 5\%$ ) terhadap rerata nilai total gula kefir nira siwalan, dimana rerata nilai total gula tertinggi terdapat pada kefir nira siwalan dengan pengenceran 1:5 sebesar 12.38 % sedangkan untuk pengenceran 1:7 rerata total gula kefir nira siwalan sebesar 11,72 %. Hal ini dikarenakan dengan penambahan air yang digunakan pada pengenceran nira siwalan berpengaruh terhadap konsentrasi gula. Konsentrasi gula berbanding terbalik dengan jumlah pengenceran nira siwalan [16]

Berdasarkan Tabel 7 menunjukkan bahwa penggunaan metode inkubasi yang berbeda berpengaruh nyata ( $\alpha= 5\%$ ) terhadap rerata nilai total gula kefir nira siwalan, dimana rerata nilai total gula tertinggi terdapat pada kefir nira siwalan metode inkubasi 43 °C selama 4 jam dan terendah terdapat pada kefir nira siwalan dengan metode inkubasi 25 °C selama 24 jam. Hal ini dikarenakan karena perbedaan suhu dan waktu optimum untuk bermetabolisme yang berbeda di masing-masing mikroorganisme pada kefir nira siwalan, sehingga berbeda pula nilai total gula yang digunakan sebagai nutrisi oleh mikroorganisme tersebut. Aktifitas mikroba pada produk biasa diketahui dari berkurangnya kadar gula dalam sampel, dimana kultur yang tumbuh dengan optimal mampu bermultiplikasi dengan baik dan membutuhkan lebih banyak gula untuk dirombak sehingga gula yang tersisa pada produk semakin sedikit. Jumlah mikroorganisme yang kompleks pada *kefir grain* berpengaruh terhadap jumlah total gula pada produk kefir nira siwalan, hal tersebut berkaitan erat dengan peningkatan jumlah mikroorganisme dimana semakin banyak sel mikroba yang ada, maka gula akan semakin banyak digunakan untuk metabolisme sel. Peningkatan jumlah mikroba menyebabkan peningkatan perombakan senyawa gula yang ada pada medium menjadi asam-asam organik [21]. Hasil rerata nilai total gula berbanding terbalik dengan rerata nilai total asam, hal ini dikarenakan bahwa selama proses fermentasi ada aktivitas mikroorganisme untuk berkembang biak dan merombak gula sebagai sumber karbon menjadi asam laktat, sehingga jumlah total gula menurun sementara total asam meningkat [22]

### 8. Analisis Organoleptik Rasa Kefir Nira Siwalan

Hasil analisis kesukaan panelis (organoleptik) terhadap rasa kefir nira siwalan dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rerata tingkat kesukaan rasa kefir nira siwalan

Perlakuan	Nilai Tingkat Kesukaan
Pengenceran 1:5; suhu 25 °C (24 jam)	1.25 <sup>a</sup>
Pengenceran 1:5; suhu 37°C (12 jam)	2.15 <sup>c</sup>
Pengenceran 1:5; suhu 43°C (4 jam)	3.20 <sup>d</sup>
Pengenceran 1:7; suhu 25 °C (24 jam)	1.80 <sup>b</sup>
Pengenceran 1:7; suhu 37°C (12 jam)	3.05 <sup>d</sup>
Pengenceran 1:7; suhu 43°C (4 jam)	3.45 <sup>d</sup>

Berdasarkan Tabel 8, nilai tingkat kesukaan panelis terhadap rasa kefir nira siwalan tertinggi terdapat pada kefir nira siwalan metode inkubasi 43 °C selama 4 jam dengan pengenceran 1:7 akan tetapi tidak berbeda nyata terhadap tingkat kesukaan panelis terhadap kefir nira siwalan metode inkubasi 43 °C selama 4 jam (pengenceran 1:5) dan kefir nira siwalan metode inkubasi 37 °C selama 12 jam (pengenceran 1:7), sedangkan nilai terendah terdapat pada kefir nira siwalan metode inkubasi suhu 25 °C selama 24 jam dengan pengenceran 1:5. Hal ini diduga karena sifat asam kefir nira siwalan yang terdapat pada produk akhir kefir nira siwalan yang sangat kuat, sehingga panelis lebih menyukai rasa yang cenderung netral keasamannya. Selama fermentasi akan terbentuk asam-asam organik dan dengan semakin bertambahnya waktu fermentasi akan terbentuk asam-asam organik yang lebih banyak lagi [23]. Selain itu, faktor organoleptik rasa sangat dipengaruhi oleh senyawa kimia, suhu, konsentrasi dan interaksi dengan komponen yang lain [24]

### 9. Analisis Organoleptik Aroma Kefir Nira Siwalan

Hasil analisis kesukaan panelis (organoleptik) terhadap aroma kefir nira siwalan dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Rerata tingkat kesukaan aroma kefir nira siwalan

Perlakuan	Nilai Tingkat Kesukaan
Pengenceran 1:5; suhu 25 °C (24 jam)	1.10 <sup>a</sup>
Pengenceran 1:5; suhu 37 °C (12 jam)	3.45 <sup>d</sup>
Pengenceran 1:5; suhu 43 °C (4 jam)	3.20 <sup>cd</sup>
Pengenceran 1:7; suhu 25 °C (24 jam)	1.65 <sup>b</sup>
Pengenceran 1:7; suhu 37 °C (12 jam)	3.55 <sup>d</sup>
Pengenceran 1:7; suhu 43 °C (4 jam)	3.00 <sup>c</sup>

Berdasarkan Tabel 9, nilai tingkat kesukaan panelis terhadap aroma kefir nira siwalan tertinggi terdapat pada kefir nira siwalan metode inkubasi 37°C selama 12 jam dengan pengenceran 1:7, akan tetapi tidak berbeda nyata terhadap kefir nira siwalan metode inkubasi 37 °C (12 jam) dengan pengenceran 1:5 serta terhadap kefir nira siwalan metode inkubasi 43 °C (4 jam) dengan pengenceran 1:5, sedangkan nilai terendah terdapat pada kefir nira siwalan metode inkubasi suhu 25 °C selama 24 jam dengan pengenceran 1:5. Hal ini diduga karena adanya aktivitas khamir yang tinggi sehingga aroma alkoholnya terlalu menyengat sehingga tidak disukai oleh panelis. Kefir mempunyai aroma alkohol mirip tape yang disebabkan adanya aktivitas khamir dalam biji kefir. Khamir seperti *Saccharomyces cereviceae* menghasilkan enzim zimase dan invertase [25]. Faktor lain yang mempengaruhi aroma adalah kualitas komponen aroma, suhu, komposisi aroma, viskositas makanan, interaksi alami antar komponen dan komponen nutri dalam makanan tersebut seperti protein, lemak, dan karbohidrat [26]

### 10. Analisis Organoleptik Kenampakan Kefir Nira Siwalan

Hasil analisis kesukaan panelis (organoleptik) terhadap kenampakan kefir nira siwalan dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Rerata tingkat kesukaan kenampakan kefir nira siwalan

Perlakuan	Nilai Tingkat Kesukaan
Pengenceran 1:5; suhu 25 °C (24 jam)	2.75
Pengenceran 1:5; suhu 37 °C (12 jam)	2.75
Pengenceran 1:5; suhu 43 °C (4 jam)	3.10
Pengenceran 1:7; suhu 25 °C (24 jam)	2.70
Pengenceran 1:7; suhu 37 °C (12 jam)	3.15
Pengenceran 1:7; suhu 43 °C (4 jam)	2.80



Berdasarkan analisis ragam, pengaruh pengenceran dan metode inkubasi tidak berpengaruh terhadap kenampakan kefir nira siwalan. Hal itu karena panelis kesulitan untuk membedakan kenampakan pada produk kefir nira siwalan. Masing-masing perlakuan cenderung memiliki kenampakan yang hampir sama, dengan kenampakan produk yang sedikit keruh. Kekeruhan tersebut terbentuk dari metabolit-metabolit hasil fermentasi bakteri asam laktat, dan juga tidak adanya nutrisi yang berupa susu (laktosa) berpengaruh terhadap kenampakan produk. Keberadaan susu (laktosa) sebagai sumber nutrisi selama proses fermentasi pada yogurt dapat mempengaruhi kenampakan produk [27]. Protein yang terdapat dalam susu akan menggumpal ketika tingkat keasaman produk selama fermentasi meningkat dan mencapai titik isoelektrik. Keadaan tersebut berakibat meningkatnya kekentalan produk. Sedangkan kefir nira siwalan sendiri sumber nutrisi terdapat pada nira, bukan pada penambahan susu [28]

### 11. Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik untuk hasil penelitian ini menggunakan metode zeleny [5]. Pembobotan dilakukan berdasarkan tingkat kepentingan dan tiap parameter terhadap produk. Berdasarkan kriteria pemilihan perlakuan terbaik (berdasarkan parameter fisik, kimia dan mikrobiologis) diperoleh produk kefir nira siwalan dengan perlakuan pengenceran nira 1:7 dan metode inkubasi suhu 25 °C selama 24 jam. Perbandingan antara kefir nira siwalan dengan standar mutu kefir dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Perbandingan Kefir Nira Siwalan Perlakuan Terbaik Dengan Standar Mutu Kefir

Parameter Mutu	Kefir Nira Siwalan	Kefir*
pH	3.73	Maks. 4.60
Total BAL (cfu/ml)	$5.62 \times 10^7$	Min. $10^7$
Total Asam (%)	0.860	Min. 0.60
Total Khamir (cfu/ml)	$1.20 \times 10^6$	Min. $10^4$
Total Gula (%)	8.67	-

Sumber: \*[9]

Hasil perlakuan terbaik analisis organoleptik terdapat pada kefir nira siwalan pengenceran 1:7 dengan metode inkubasi 37 °C selama 12 jam, dengan skor organoleptik rasa sebesar 3.05 (netral), aroma sebesar 3.55 (netral) dan kenampakan sebesar 3.15 (netral). Hasil perlakuan terbaik organoleptik berbeda dengan hasil perlakuan terbaik dengan parameter fisik, kimia dan mikrobiologis. Hal tersebut dikarenakan panelis yang digunakan pada analisis organoleptik adalah panelis tidak terlatih (*untrained panel*) dan hanya mengetahui mengenai metode pembuatan dan penelitian kefir nira siwalan serta bahan-bahan yang ada didalam produk kefir nira siwalan ketika akan melakukan penilaian mutu organoleptik, sehingga panelis hanya menilai berdasarkan subyektifitas panelis terhadap kefir nira siwalan dengan tanpa melihat (mengerti) detail kandungan nutrisi kefir nira siwalan. Panel tidak terlatih hanya diperbolehkan menilai alat organoleptik yang sederhana seperti sifat kesukaan dan bukan orang ahli dengan tingkat kepekaan yang sangat tinggi [29]. Perbandingan antara kefir nira siwalan perlakuan terbaik parameter fisik, kimia dan mikrobiologis dengan kefir nira siwalan perlakuan terbaik parameter organoleptik dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Perbandingan Kefir Nira Siwalan Perlakuan Terbaik Fisik, Kimia, Mikrobiologis Dengan Organoleptik

Parameter Mutu	Kefir Nira Siwalan*	Kefir Nira Siwalan**
pH	3.73	3.68
Total BAL (cfu/ml)	$5.62 \times 10^7$	$1.27 \times 10^8$
Total Asam (%)	0.86	0.69
Total Khamir (cfu/ml)	$1.20 \times 10^6$	$5.20 \times 10^5$
Total Gula (%)	8.67	9.47
Organoleptik Rasa	1.80 (sangat tidak suka)	3.05 (netral)
Organoleptik Aroma	1.65 (sangat tidak suka)	3.55 (netral)
Organoleptik Kenampakan	2.70 (tidak suka)	3.15 (netral)

Keterangan: \*)berdasarkan perlakuan terbaik fisik, kimia, mikrobiologis

\*\*)berdasarkan perlakuan terbaik organoleptik

### SIMPULAN

Perlakuan terbaik pada parameter kimia, fisik serta mikrobiologi bahwa nilai produk tertinggi diperoleh dengan perlakuan pengenceran nira siwalan 1:7 dan metode inkubasi suhu 25 °C selama 24 jam yakni dengan nilai total bakteri asam laktat  $5.62 \times 10^7$  cfu/ml; total asam 0.86%; total khamir  $1.20 \times 10^6$  cfu/ml dan total gula sebesar 10.33%. Sedangkan untuk parameter organoleptik tertinggi diperoleh dengan perlakuan pengenceran nira 1:5 dengan metode inkubasi 43 °C selama 12 jam. Hasil perlakuan terbaik pada parameter organoleptik memiliki rerata nilai rasa 3.20 (netral); aroma 3.20 (netral) dan kenampakan 3.10 (netral).

### DAFTAR PUSTAKA

- 1) BPS Tuban. 2013. Badan Pusat Statistik Tuban – Tuban Dalam Angka Tahun 2013. Bappeda Tuban. Tuban
- 2) Hidayat, N. Padaga, M. C dan Suhartini, S. 2006. Mikrobiologi Industri. Penerbit Andi. Yogyakarta
- 3) Farnworth, E. R. 2005. Kefir – A Complex Probiotic. Food Research and Development Centre, Agriculture and Agri-food Canada. St. Hyacinthe, Quebec, Canada J2S 8E3. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods* 2 (1) 1-17
- 4) Supriono, T. 2008. Kandungan Beta Karoten, Polifenol Total dan Aktivitas “Merantas” Radikal Bebas Kefir Susu Kacang Hijau (*Viginaradiata*) oleh Pengaruh Jumlah Starter (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Candida kefir*) dan Konsentrasi Glukosa. Tesis. Magister Gizi Masyarakat. Program Pascasarjana. Universitas Diponegoro. Semarang
- 5) Musdholifah. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kefir Teh Daun Sirsak dari Berbagai Merk Dipasaran. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 4 No 1 p. 29-39, Januari 2016
- 6) Muizuddin, M. 2015. Studi Aktivitas Antibakteri Kefir Teh Daun Sirsak (*Annona Muricata linn.*) dari Berbagai Merk Teh Daun Sirsak Dipasaran. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 3 No 4 p.1662-1672, September 2015
- 7) Zeleny, M. 1982. Multiple Criteria Decision Making. McGraw Hill Book Company. New York
- 8) AOAC. 1990. Official Methods Of The Asociation Of Official Agriculture Chemist. AOAC Inc. Washington.
- 9) Ferdiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- 10) Meilgaard, M., G. V. Civile and B.T. Carr. 1999. Sensory Evaluation Techniques. 3<sup>rd</sup> edition. CRC Press. New York.
- 11) Davis, T.A. and Johnson, D.V. 1987. Current Utization and Further Development of The Palmyra (*Borassus flebelliber L., Arecaceae*) in Tamil Nadu State. *Economic Botany Journal*. India 41(2):47-266.

- 12) Grezico, Saka Iman. 2014. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan Terhadap Total Mikroba, Kadar Alkohol, dan Nilai Ph Nira Siwalan yang Diolah Menggunakan Kejut Listrik Pulsed Electric Field (PEF). Skripsi. Teknologi Industri Pertanian Universitas Brawijaya. Malang
- 13) Bergmann, Rafaela S., Pereira M. A., Veiga S. M., and Schneedorf J. 2010. Microbial Profile of A Kefir Sample Preparations – Grains in Natura And Lyophilized and Fermented Suspension. *Ciênc Food Science and Technology (Campinas) journal*. Technol. Aliment. vol.30 no.4 Campinas Oct/Dec. 2010
- 14) Savova, I dan Nikolova, M. 2002. Isolation and Taxonomic Study of Yeast Strains from Bulgarian Dairy Products. *Journal of Culture Collections*, Volume 3, 2000-2002, pp. 59-65
- 15) Nielsen, S. 2010. Food Analysis. Fourth Edition. USA
- 16) Hiskia. Achmad. 2001. Kimia Larutan. Bandung: Citra Aditya Bakti.
- 17) Yusmarini R. dan R. Efendi. 2004. Evaluasi Mutu Soyghurt yang dibuat dengan Penambahan Beberapa Jenis Gula. *Jurnal Natur Indonesia* 6(2): 104-110 (2004).
- 18) Gnanalakshmi, K. S., Dnanalakshmi, B., Ayyavoo, P. M., and Baskaran, D. 2013. Survival Of Yogrt Culture In Freeze Dried And Chemically Stabilized Spray Dried Yogurt Powder During Storage. *International Journal Of Current Research* , Vol. 5 (4), 1022 - 1024. 2013
- 19) Garrity. G.M. Bell, J.A. and Lilburn, T.G. 2004. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition. Baltimore: Williams dan Wilkins
- 20) Tomislav P., Sinko S., Zambelin S. and Samarjiza D. 2013. Microbiota of Kefir Grains. Department of Dairy Science. Faculty of Agriculture. University of Zagreb. Croatia
- 21) Rahmawati, R.D. 2006. Studi Viabilitas dan Aktivitas Antimikrobal Bakteri Probiotik (*Lactobacillus acidophilus*) dalam Medium Fermentasi Berbasis Susu dan Bekatul selama Proses Fermentasi. Skripsi. Universitas brawijaya. Malang
- 22) Liasari, Y. 2007. Pembuatan Minuman Probiotik Multifungsional dari Sari Murbei (Kajian Pengaruh Jenis Gula dan Konsentrasi Diamonium Hidrogen Phospat terhadap Produksi Eksopolisakarida oleh *Lactobacillus plantarum* B2). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang
- 23) Rahmawati, A. 2006. Studi Aktivitas Antioksidan Sari Jambu Biji. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- 24) Winarno, F.G. 2009. Kimia Pangan dan Gizi Edisi Terbaru. M-Brio Press. Jakarta
- 25) Bahar, B. 2008. Kefir Minuman Susu Fermentasi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- 26) Yana, Malsa Fian. 2015. Pembuatan Yogurt Berbasis Kacang Tunggak (*Vigna Unguiculata*) dengan Metode Freeze Drying (Kajian Jenis dan Konsentrasi Bahan Pengisi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 3 No 3 p.1203-1213, Juli 2015
- 27) Usmiati, S. 2007. Kefir Susu Fermentasi dengan Rasa Menyegarkan. Warta Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Peitanian Bogor. 29-.2:12-14, 2007
- 28) Widagdha, S. 2014. Pengaruh Penambahan Sari Anggur (*Vitis vinifera* L.) dan Perbedaan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Yogurt. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 3 No. 1 p.248-258, Januari 2015
- 29) Soekarto ST. 2008. Penilaian Organoleptik: Untuk Industri Pangan dan Hasil Pertanian. Bhrata Karya Aksara. Jakarta.