

Pengaruh Lama Penyimpanan Dan Konsentrasi Ekstrak Bunga Tapak Dara Terhadap Aktivitas Antioksidan Dan Karakteristik Kefir

Effect of Storage Time and Tapak Dara Extract on Antioxidant Activity and Characteristic of Kefir

Sellen Gurusmatika^{1)*}, Sumartini²⁾

¹Program Studi Teknologi Pangan, Institut Teknologi Sumatera

²Politeknik Kelautan dan Perikanan Dumai

*Penulis Korespondensi: sellen.gurusmatika@tp.itera.ac.id

ABSTRACT

Tapak Dara is known have health properties, because it contains several phenolic and volatile compounds. At present, the development of functional food products is still a trend in the field of food technology. One of the beverage products which is known for its health effects is kefir. The purpose of this study was to determine the effect of the addition tapak dara extract and storage time on chemical characteristics, microbiology and antioxidant activity of kefir. The concentration of addition tapak dara extract 0; 3; 6; and 12%, and storage time 0; 7; and 14 days were observed to obtain the best characteristics of kefir. The results showed that ash, total solids, protein and lipids of kefir appropriate to nutritional value in CODEX standard number 243-2003. BAL and yeast of kefir have no affect on the addition of tapak dara extract but have affect on the storage time. In addition, the antioxidant activity tested by DPPH method showed that antioxidant activity is increasing with increasing concentration of tapak dara extract added. Characteristics of kefir with the addition of 12% tapak dara extract and storage time 7 days containing 6.09% ash, 11.12% total solids, 4.70% protein, 4.52% lipids, BAL 9.07 log cfu/mL, yeast 6.71 log cfu/mL, 0.59% acidity, 0.51% alcohol content and 77.9% antioxidant activity.

Keywords : Antioxidant Activity; Kefir; Tapak Dara

ABSTRAK

Tanaman tapak dara diketahui memiliki khasiat kesehatan, karena mengandung beberapa senyawa fenolik dan volatil. Saat ini, pengembangan produk pangan fungsional masih menjadi tren di bidang teknologi pangan. Salah satu produk minuman yang dikenal efek kesehatannya yaitu minuman fermentasi kefir. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak tapak dara pada kefir terhadap karakteristik kimia, mikrobiologi dan aktivitas antioksidan. Konsentrasi penambahan ekstrak tapak dara yaitu 0; 3%; 6%; dan 12%, serta lama penyimpanan yaitu 0; 7 hari; dan 14 hari diamati agar diperoleh karakteristik kefir tapak dara terbaik. Hasil penelitian diperoleh analisis kadar abu, total padatan, kadar protein dan kadar lemak dari semua sampel kefir menunjukkan nilai gizi yang sesuai dalam standar Codex nomor 243-2013 Susu fermentasi berperisai. Karakteristik mikrobiologi dari kefir tidak berpengaruh terhadap penambahan tapak dara namun berpengaruh pada lama penyimpanan. Sedangkan aktivitas antioksidan yang diuji dengan metode DPPH menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan semakin meningkat dengan semakin bertambah besar konsentrasi ekstrak tapak dara yang di tambahkan. Karakteristik dari sampel kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara 12% dan penyimpanan selama 7 hari mengandung kadar abu 6,90%, total padatan 11,12%, kadar

protein 4,70%, kadar lemak 4,52%, total BAL 9,07 log cfu/mL, total khamir 6,71 log cfu/mL, total asam 0,59%, kadar alkohol 0,51% dan aktivitas antioksidan 77,9%.

Kata kunci: Aktivitas Antioksidan; Kefir; Tapak Dara

PENDAHULUAN

Saat ini di masyarakat masih banyak ditemukan permasalahan mengenai penyakit degeneratif. Hal ini disebabkan akibat perubahan pola konsumsi makanan masyarakat saat ini yang condong untuk mengkonsumsi makanan cepat saji. Oleh karena itu tren di industri pangan saat ini yaitu berkompetisi untuk menciptakan produk pangan yang memiliki manfaat kesehatan. Pengolahan produk pangan yang telah dikembangkan saat ini yaitu berupa produk makanan dan minuman yang selain untuk kebutuhan rasa juga memiliki sifat fungsional yang memadukan fungsi gizi dan manfaat kesehatan, atau dikenal sebagai pangan fungsional. Salah satu produk minuman yang memiliki sifat fungsional yaitu Kefir. Menurut (Hafidzoh dan Agustini, 2014), kefir merupakan olahan susu yang di fermentasi menggunakan kefir *grain*.

Karakteristik kimia dan mikrobiologi yang dikandungnya berperan sebagai probiotik karena sifat dari bakteri asam laktat dan khamir pada kefir. Karakteristik kefir dipengaruhi oleh jenis dan jumlah mikrobial *grain* serta bahan utama. Bakteri asam laktat yang lebih dominan bekerja diharapkan dapat menghambat khamir dalam menghasilkan alkohol (Harun; DİNKÇİ 2011). Selain itu, mengonsumsi kefir dalam jangka panjang memiliki manfaat sebagai berikut: antioksidan, antikanker (Ersan *et al.*, 2016), antidiabetes, antihipertensi, antimikrobia dan antiinflamasi (Windayani *et al* 2019). Namun, di Indonesia saat ini belum banyak olahan kefir yang dikembangkan untuk dikonsumsi oleh masyarakat.

Pengembangan produk pangan fungsional diharapkan juga untuk mendukung olahan dari potensi bahan lokal. Salah satu potensi tanaman lokal yang dapat dipadukan dalam penciptaan produk pangan fungsional yaitu Tapak Dara (*Chatarantus roseus L*). Di Indonesia, tapak dara dikenal sebagai tanaman obat yang memiliki khasiat kesehatan (Satyarsa, 2019). Tanaman ini mudah tumbuh di halaman rumah, pemanfaatan daun tapak dara sebagai minuman kesehatan dilakukan dengan cara hanya merebus daunnya dengan air. Saat ini belum banyak masyarakat yang mengetahui manfaat tapak dara sebagai obat herbal.

Banyak penelitian yang membuktikan bahwa tanaman tapak dara dapat dijadikan sebagai anti-kanker dan anti-diabetes karena mengandung alkaloid anti-kanker Vinblastin dan Vincristin (Mishra dan Verma, 2017). Selain itu menurut (Nisar *et al.*, 2017) Nisar *et al.*, (2017) daun tapak dara mengandung beberapa senyawa volatil dan fenol yang dikenal sebagai senyawa antioksidan. Selain itu tapak dara juga terbukti berpotensi sebagai

antibakteri yang dicobakan dengan mengambil bagian tanaman yang berbeda (daun, akar, bunga, dan batang) membuktikan bahawa tapak dara dapat menghambat pertumbuhan dari strain bakteri (Patil and Ghosh, 2010).

Oleh karena itu, pengembangan produk kefir dengan perpaduan penambahan ekstrak tanaman tapak dara diharapkan dapat menambah alternatif baru produk pangan fungsional yang memiliki nilai kesehatan. Sehingga tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak daun tapak dara dan lama penyimpanan pada kefir susu sapi terhadap karakteristik kimia, mikrobiologi dan aktivitas antioksidan. Variasi konsentrasi ekstrak daun tapak dara dilakukan untuk memperoleh produk kefir yang terbaik dari nilai gizi dan aktivitas antioksidan yang optimal.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan adalah susu sapi segar yang diperoleh dari peternakan di Tanggamus-Lampung. Tanaman tapak dara yang diperoleh dari Balai Pelatihan Pertanian (BPP) Lampung. Kefir *grain* diperoleh dari PT Adiguna di Yogyakarta. Bahan kimia yang digunakan yaitu aquades, metanol, DPPH, dan media MRSA merk MERCK. Sedangkan peralatan yang digunakan yaitu Spektrofotometer (Thermo Scientific Genesys UV/Vis), timbangan digital, *vortex*, thermometer, *vacuum rotary evaporator* (Heidolph), dan pH Meter.

Tahapan Penelitian

Proses Ekstraksi Tapak Dara

Ekstraksi daun tapak dara dilakukan dengan modifikasi menurut (Nur, Sezer dan Uysal, 2018). Daun tapak dara dikeringkan dengan menggunakan oven selama 24 jam. Kemudian digiling dan didapatkan bubuk tapak dara. Bubuk tapak dara sebanyak 100 gram diekstraksi dengan metode maserasi pada suhu ruang menggunakan pelarut methanol. Maserasi dilakukan sebanyak 2 kali hingga berwarna jernih. Larutan yang diperoleh kemudian disaring dengan bantuan kertas filter. Larutan yang disaring dipekatkan menggunakan rotari evaporator pada suhu 40°C. Ekstrak pekat yang diperoleh disimpan pada suhu refrigerator hingga saat digunakan.

Proses pembuatan Kefir

Pembuatan kefir dilakukan menurut (Ersan *et al.* 2016) yang dimodifikasi. Toples kaca steril disiapkan, masing-masing diisi 250 mL susu sapi segar. Pembuatan kefir diawali dengan susu segar dengan penambahan ekstrak tapak dara masing-masing 0, 3, 6 dan

12% (v/v), dipanaskan sampai $\pm 85^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit, kemudian didinginkan sampai suhu 24°C . Sampel susu ditambah 3% kefir *grain* (v/v). Susu yang telah diinokulasi diinkubasi pada suhu ruang ($\pm 28^{\circ}\text{C}$) selama 10 jam, sampai pH mencapai 4,2 - 4,6 kemudian disaring agar terpisah antara hasil yang akan diuji dan kefir grain. Kefir yang didapatkan kemudian dilakukan penyimpanan pada suhu 4°C dengan variasi lama penyimpanan masing-masing 0, 7, dan 14 hari untuk melihat daya simpan kualitas kefir yang telah ditambahkan ekstrak tapak dara.

Pengujian Proksimat

Pengujian proksimat yang terdiri dari: kadar abu yang dilakukan secara termogravimetri; analisis kadar protein dengan metode Kjeldahl; dan analisis kadar lemak dengan menggunakan metode Soxhlet menurut (Sudarmaji *et al.* 1984).

Pengujian Mikrobiologis

Uji mikrobiologis meliputi uji total bakteri asam laktat (BAL) dan uji total khamir dilakukan menurut (Nurliyani *et al.*, 2014). Pada uji total khamir dengan menginokulasi sampel pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-5} pada media MEA. Pada uji BAL, koloni yang tumbuh pada masing-masing media MRSA yaitu pada pengenceran 10^{-3} hingga 10^{-7} dihitung seluruhnya. Setelah diperoleh jumlah koloni dari setiap pengenceran, selanjutnya dihitung total bakteri asam laktat yang tumbuh dengan cara mengalikan jumlah koloni dengan satu per faktor pengenceran yang dipakai. Jumlah koloni yang digunakan untuk menghitung total bakteri asam laktat adalah koloni yang berjumlah antara 25-250. Satuan yang digunakan untuk total *plate count* adalah log cfu/mL (Joni and Abrar, 2018).

Pengujian Total Asam

Pengujian total asam dilakukan dengan titrasi menurut (Aristya, Legowo dan Al-Baarri, 2013), keasaman tersebut dapat dinyatakan sebagai persentase asam laktat. Sampel kefir diambil 25 mL, dimasukkan dalam erlenmeyer, ditambah indikator fenolftalein 1% sebanyak 3 tetes kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga warna menjadi merah. Perhitungan keasaman titrasi dihitung dengan rumus:

$$\text{Total asam (\%)} = (a \times 0.009 \times 100/b)$$

Keterangan: a = mL NaOH 0,1 N x N NaOH 0,1N ; b = berat sampel (g)

Pengujian Kadar Alkohol

Pengujian kadar alkohol menggunakan metode piknometer menurut (Azizah *et al.* 2012). Sampel sebanyak 100 gram dimasukkan pada labu Kjeldahl dan ditambahkan air

destilasi sebanyak 100 mL lalu didestilasi hingga destilat mencapai 50 mL. Penimbangan dilakukan pada piknometer kosong, piknometer berisi akuades, dan piknometer berisi destilat. Kadar alkohol diperoleh dari konversi tabel berat jenis alkohol dengan rumus:

$$\text{Berat jenis alkohol} = \frac{(\text{berat piknometer} + \text{destilat}) - \text{berat piknometer kosong}}{(\text{berat piknometer} + \text{air destilasi}) - \text{berat piknometer kosong}} \times 100\%$$

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menurut (Kusnadi *et al.* 2019) dengan modifikasi. Analisa menggunakan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) sebagai radikal bebas. Sampel sebanyak 1 mL sampel ditambahkan 2 mL larutan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* DPPH 0,1mM yang telah dibuat. Kemudian larutan di homogenkan dengan divortex dan didiamkan ± 30 menit pada kondisi gelap. Kemudian diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum 517nm. Nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀) dicatat sebagai jumlah konsentrasi sampel untuk mengurangi konsentrasi DPPH sebanyak 50%. Persen penghambatan dihitung dengan rumus:

$$\% \text{penghambatan} = \frac{\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. blanko}} \times 100\%$$

Rancangan Percobaan

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama (I) terdiri dari 3 level dan faktor kedua (II) terdiri dari 4 level sehingga didapatkan 12 kombinasi perlakuan. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga didapatkan 36 satuan percobaan. Data hasil pengamatan yang telah dilakukan dianalisis menggunakan statistik. Adapun metode yang digunakan adalah *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan selang kepercayaan 5%, dan sidik ragam. Apabila dari hasil uji yang telah dilakukan menunjukkan adanya terjadi pengaruh, maka dapat dilakukan untuk uji lanjut yaitu DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan menggunakan selang kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Proksimat

Salah satu hal utama dari produk makanan adalah kandungan gizinya. Pada produk olahan susu fermentasi terkenal dengan gizinya yaitu kandungan protein serta kadar lemak. Pada Tabel 1 menunjukkan hasil pengujian kadar abu, total padatan, kadar protein dan kadar lemak dari kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara. Hasil pengujian kadar abu pada kefir menunjukkan bahwa pada perlakuan variasi penambahan konsentrasi ekstrak

tapak dara 0; 3; 6; dan 12% serta perlakuan lama penyimpanan pada kefir menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar abu. Sedangkan, interaksi kedua perlakuan tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar abu pada kefir. Kadar abu kefir dalam penelitian ini berkisar antara 0,225 hingga 0,67%. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Setyawardani *et al.*, 2017) dihasilkan kadar abu dari kefir susu kambing yaitu 0,80% hingga 0,89%. Penambahan ekstrak tapak dara meningkatkan nilai kadar abu dibandingkan dengan sampel control tanpa penambahan ekstrak tapak dara, yang dibuktikan dengan nilai kadar abu tertinggi pada kefir 12% penambahan ekstrak tapak dara yaitu 0,67%, hal ini kemungkinan karena penambahan ekstrak tapak dara yang juga mengandung biomassa dalam jumlah tertentu, sehingga mempengaruhi kadar abu kefir. Perbedaan nilai kadar abu pada produk kefir dari berbagai penelitian dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya yaitu komposisi bahan baku yang digunakan, lama fermentasi dan proses teknologi yang digunakan dalam pembuatan kefir.

Hasil total padatan pada kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara menunjukkan bahwa pada perlakuan variasi penambahan konsentrasi ekstrak tapak dara 0; 3; 6; dan 12% serta perlakuan lama penyimpanan pada kefir menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap jumlah padatan total. Sedangkan, interaksi kedua perlakuan tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) terhadap total padatan pada kefir. Nilai total padatan kefir hasil penelitian ini yaitu berkisar antara 9,29% hingga 11,31%. Total padatan kefir dipengaruhi oleh komponen penyusun kefir diantaranya yaitu, kadar abu, protein lemak dan komponen lain penyusunnya. Sehingga dengan adanya penambahan ekstrak tapak dara dalam kefir menyebabkan nilai total padatannya lebih tinggi dibandingkan dengan kefir tanpa penambahan ekstrak tapak dara, dimana didalam ekstrak tapak dara sendiri memiliki sejumlah biomassa penyusunnya.

Pada Tabel 1 menunjukkan kadar protein kefir berkisar antara 4,44 - 4,77%, dimana perlakuan penambahan variasi konsentrasi tapak dara tidak berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar protein kefir. Hal ini kemungkinan karena penambahan biomassa pada kefir secara optimal pada saat proses fermentasi, sedangkan lama penyimpanan tidak menambah jumlah biomassa dalam jumlah besar. Kadar protein kefir hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian dari (Setyawardani *et al.*, 2017) yang menghasilkan kadar protein kefir susu kambing rata-rata sebesar 4,17%. Standar CODEX nomor 243 2003 kadar protein (% m/m) minimal 2,7%. Berdasarkan standar tersebut, maka kefir hasil penelitian memiliki kualitas protein yang dapat dikonsumsi. Pada kefir *grain* terdapat mikroorganisme kompleks seperti sejumlah bakteri asam laktat yang mampu menghasilkan enzim lipase dan protease, kemudian sejumlah khamir yang terikat dalam matriks polisakarida. Sehingga selama penyimpanan kefir apabila tidak terjadi pertumbuhan mikroorganisme dalam jumlah

signifikan maka pelepasan lipase dan protease akan relatif tetap yang menyebabkan kadar protein dan kadar lemak tetap.

Hasil pengujian kadar lemak kefir pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pada perlakuan variasi penambahan konsentrasi ekstrak tapak dara 0; 3; 6; dan 12% serta perlakuan lama penyimpanan pada kefir menunjukkan pengaruh tidak nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar lemak. Kadar lemak yang dihasilkan dari kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara berkisar antara 4,24% hingga 4,54%. Berdasarkan standar CODEX nomor 243 2003 kadar lemak (% m/m) minimal kurang dari 10%, sehingga produk kefir yang dihasilkan sesuai dengan produk kefir standar. Aktivitas bakteri asam laktat pada kefir *grain* mampu menghasilkan enzim lipase yang berfungsi untuk menghidrolisis lemak. Semakin banyak pertumbuhan bakteri dalam susu kefir maka enzim lipase akan semakin banyak sehingga lemak terhidrolisis akan semakin banyak yang menyebabkan kadar lemak menurun. Pada penelitian ini jumlah kefir *grain* yang digunakan sama yaitu 3% dari volume susu yang digunakan, sehingga jumlah pertumbuhan pada kefir dari masing-masing perlakuan tidak jauh berbeda.

Tabel 1. Hasil pengujian kadar abu, total padatan, kadar protein dan kadar lemak pada kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara 0%; 3%; 6%; 12% dan lama penyimpanan

| Lama Penyimpanan (hari) | Konsentrasi ekstrak Tapak Dara (%) | Kadar Abu (%) | Total Padatan | Kadar Protein | Kadar Lemak |
|-------------------------|------------------------------------|---------------|---------------|---------------|-------------|
| 0 | 0 | 0,22 ± 0,10 | 9,29 ± 0,02 | 4,58 ± 0,27 | 4,24 ± 0,38 |
| | 3 | 0,44 ± 0,05 | 10,02 ± 0,26 | 4,44 ± 0,19 | 4,38 ± 0,44 |
| | 6 | 0,49 ± 0,15 | 10,25 ± 0,14 | 4,77 ± 0,20 | 4,34 ± 0,62 |
| | 12 | 0,55 ± 0,17 | 11,08 ± 0,31 | 4,71 ± 0,28 | 4,48 ± 0,22 |
| 7 | 0 | 0,43 ± 0,14 | 9,76 ± 0,50 | 4,49 ± 0,35 | 4,42 ± 0,39 |
| | 3 | 0,55 ± 0,02 | 10,68 ± 0,29 | 4,50 ± 0,31 | 4,49 ± 0,14 |
| | 6 | 0,67 ± 0,17 | 10,89 ± 0,29 | 4,76 ± 0,32 | 4,33 ± 0,61 |
| | 12 | 0,67 ± 0,18 | 11,12 ± 0,19 | 4,70 ± 0,37 | 4,52 ± 0,32 |
| 14 | 0 | 0,59 ± 0,08 | 10,00 ± 0,54 | 4,52 ± 0,22 | 4,54 ± 0,28 |
| | 3 | 0,63 ± 0,20 | 11,05 ± 0,31 | 4,49 ± 0,33 | 4,51 ± 0,50 |
| | 6 | 0,69 ± 0,13 | 11,11 ± 0,36 | 4,75 ± 0,35 | 4,48 ± 0,35 |
| | 12 | 0,69 ± 0,20 | 11,31 ± 0,30 | 4,72 ± 0,22 | 4,54 ± 0,39 |
| S | | * | * | tn | tn |
| C | | * | * | tn | tn |
| S*C | | tn | tn | tn | tn |

Keterangan: S = lama penyimpanan; C = konsentrasi ekstrak tapak dara; S*C = interaksi antara lama penyimpanan dan konsentrasi tapak dara; tn = tidak nyata; * = berbeda nyata ($P < 0,05$)

Pengujian Mikrobiologis

Hasil pengujian total bakteri asam laktat (BAL) dan total khamir pada kefir ditunjukkan pada Tabel 2. BAL merupakan mikroorganisme utama pada proses fermentasi pada kefir, bakteri tersebut memanfaatkan laktosa menghasilkan asam laktat. Proses metabolisme bakteri akan menghasilkan energi untuk pertumbuhannya. Perlakuan lama penyimpanan pada kefir menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap total BAL. Sedangkan, perlakuan variasi penambahan konsentrasi ekstrak tapak dara dan interaksi kedua perlakuan tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) terhadap total BAL pada kefir.

Hasil pengujian total BAL kefir pada penelitian ini berkisar antara 8,58 hingga 9,07 log cfu/mL. Hal ini sebanding dengan penelitian (Martharini dan Indratiningsih 2017), kefir dengan penambahan tepung kulit pisang dan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 mengandung total BAL rata-rata sebesar 9,51 log cfu/mL. Banyaknya total BAL kefir pada penelitian ini sesuai dengan standar Codex 2003 dimana kefir yang dikonsumsi minimal mengandung BAL sebesar 7 log cfu/mL.

Berdasarkan data dari Tabel 2, total khamir dari kefir pada penelitian ini berkisar antara 6,45 hingga 7,17 log cfu/mL. sedangkan hasil penelitian dari (Nurliyani, Harmayani, dan Sunarti 2015) total khamir dari kefir kombinasi susu kambing dan susu kedelai masing-masing sebesar 4,99 dan 5,81 log cfu/mL. berdasarkan standar Codex nomor 243 2003 dimana kefir yang dikonsumsi minimal mengandung khamir sebesar 4 log cfu/mL. Hasil analisis menunjukkan bahwa kualitas kefir yang dihasilkan dari penambahan ekstrak tapak dara selama masa penyimpanan 0, 7 dan 14 hari menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0,05$). Sedangkan, perlakuan variasi penambahan konsentrasi ekstrak tapak dara dan interaksi kedua perlakuan tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) terhadap total khamir pada kefir.

Khamir pada produk kefir berperan dalam menghasilkan CO₂ dan sedikit alkohol (Usmiati, 2007). *Saccharomyces cerevisiae* merupakan salah satu jenis khamir yang terdapat pada bibit kefir. *Saccharomyces cerevisiae* memiliki aktivitas amilolitik. Antosianin yang terdapat ada tapak dara (Mishra dan Verma 2017) merupakan suatu glikosida dan dengan bantuan bakteri *Lactobacillus plantarum* maka glikosida ini akan terhidrolisis menjadi gula. Khamir yang terdapat pada bibit kefir dapat memetabolisme gula seperti glukosa, laktosa, galaktosa, dan fruktosa (Seesuriyachan *et al.* 2011).

Tabel 2. Hasil pengujian total Bakteri Asam Laktat (BAL) dan Total Khamir pada kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara 0%; 3%; 6%; 12% dan lama penyimpanan

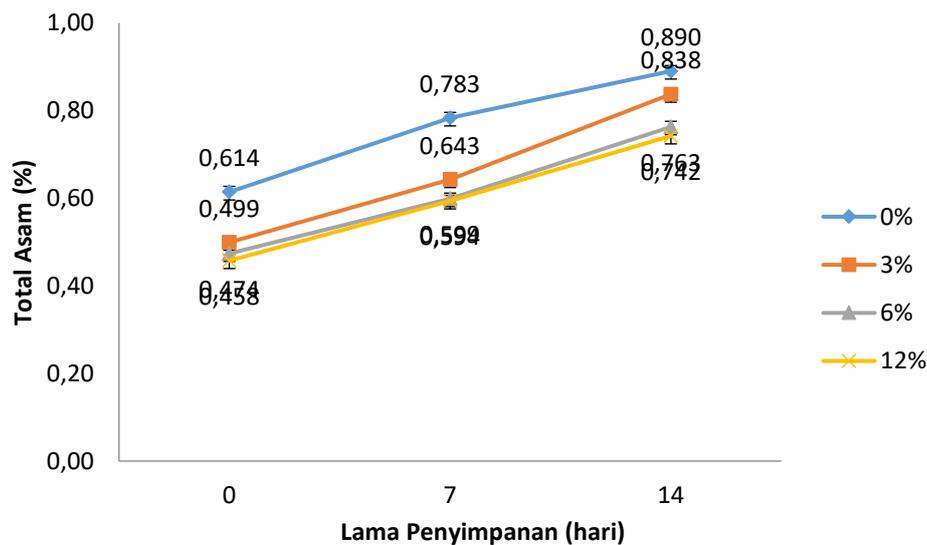
| Lama Penyimpanan (hari) | Konsentrasi ekstrak Tapak Dara (%) | Total BAL (log cfu/mL) | Total khamir (log cfu/mL) |
|-------------------------|------------------------------------|------------------------|---------------------------|
| 0 | 0 | 8,58 ± 0,15 | 6,47 ± 0,16 |
| | 3 | 8,60 ± 0,16 | 6,50 ± 0,14 |
| | 6 | 8,58 ± 0,13 | 6,45 ± 0,33 |
| | 12 | 8,61 ± 0,19 | 6,51 ± 0,26 |
| 7 | 0 | 8,95 ± 0,11 | 6,75 ± 0,26 |
| | 3 | 9,07 ± 0,20 | 6,69 ± 0,30 |
| | 6 | 9,04 ± 0,26 | 6,63 ± 0,20 |
| | 12 | 9,07 ± 0,22 | 6,71 ± 0,36 |
| 14 | 0 | 8,71 ± 0,21 | 7,00 ± 0,21 |
| | 3 | 8,80 ± 0,17 | 7,08 ± 0,11 |
| | 6 | 8,76 ± 0,18 | 7,17 ± 0,12 |
| | 12 | 8,70 ± 0,27 | 7,14 ± 0,25 |
| S | | * | * |
| C | | tn | tn |
| S*C | | tn | tn |

Keterangan: S = lama penyimpanan; C = konsentrasi ekstrak tapak dara; S*C = interaksi antara lama penyimpanan dan konsentrasi tapak dara; tn = tidak nyata; * = berbeda nyata ($P < 0,05$)

Pengujian Total Asam

Pengujian total asam dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman dari sampel kefir. Hasil analisis total asam menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan yaitu variasi konsentrasi ekstrak tapak dara dan lama penyimpanan serta interaksi antara kedua perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Pada Gambar 1, dapat dilihat bahwa pada masing-masing sampel kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara terjadi peningkatan nilai total asam seiring dengan semakin lama waktu penyimpanan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$. Pada sampel kefir yang diuji setelah proses pemanenan dan penambahan konsentrasi tapak dara 12% menunjukkan nilai total asam terendah 0,458%. Hal ini dipengaruhi oleh populasi bakteri asam laktat yang masih rendah setelah proses fermentasi, sehingga aktivitas bakteri asam laktat untuk memfermentasi karbohidrat (laktosa) menjadi asam laktat masih rendah. Sedangkan nilai total asam tertinggi pada kefir tanpa penambahan ekstrak tapak dara dan lama penyimpanan 14 hari yaitu 0,890%. Hal ini dikarenakan, aktivitas bakteri asam laktat sudah meningkat dan terjadi akumulasi asam laktat dengan semakin lama waktu penyimpanan. Nilai total asam pada produk kefir cenderung menunjukkan pola meningkat (Estiasih *et al.*, 2018). Peningkatan nilai total asam karena adanya proses degradasi dari laktosa secara terus menerus seiring dengan bertambahnya lama penyimpanan, sehingga semakin banyak asam-asam organik yang terbentuk.

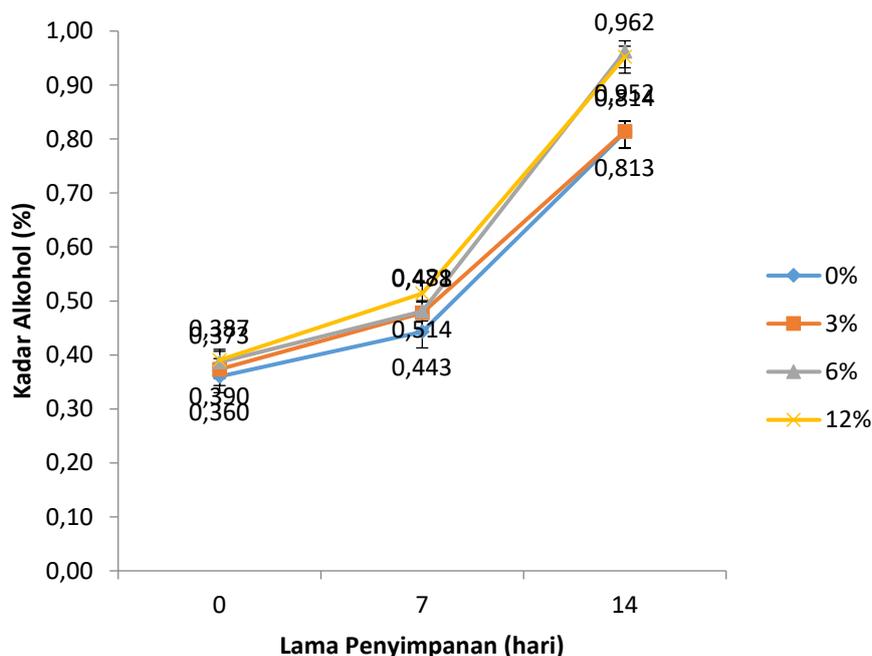
Pada Gambar 1, menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah konsentrasi tapak dara yang dihasilkan maka semakin sedikit nilai total asam yang dihasilkan. Penambahan sejumlah larutan tertentu yaitu ekstrak tapak pada kefir diduga mengandung jumlah bakteri asam laktat lebih sedikit dibandingkan dengan kefir tanpa penambahan ekstrak tapak dara yang mana bakteri asam laktat berasal dari bahan baku susu sapi. Nilai rata-rata total asam dari sampel kefir yaitu antara 0,458% sampai 0,890% hasil ini masih sesuai dengan SNI 01-2981-2009 produk fermentasi yang baik memiliki kadar asam laktat 0,5-2,0%. Berdasarkan penelitian (Nurhasanah *et al.*, 2019) mengemukakan bahwa penentuan total asam dengan titrasi NaOH untuk mendeteksi adanya kenaikan kadar keasaman susu yang disebabkan oleh proses fermentasi susu yang mengubah laktosa menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat. Laju pertumbuhan bakteri menunjukkan adanya pembentukan asam laktat dan peningkatan nilai keasaman. Menurut (Aristya *et al.* 2013) peningkatan nilai total asam juga dipengaruhi dari adanya bakteri-bakteri lain yang memproduksi asam seperti *S. cerevisiae* yang menghasilkan etanol, gas CO_2 dan senyawa lain yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat. Senyawa asam laktat yang terbentuk tersebut selain memberikan cita rasa pada kefir, juga dapat menghambat perkembangan mikroorganisme patogenik yang tidak diinginkan karena keasaman dari substrat tumbuhnya meningkat (Bayu *et al.*, 2017).



Gambar 1. Grafik nilai total asam pada kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara 0; 3; 6; dan 12% serta lama penyimpanan

Pengujian Alkohol

Pengujian alkohol dilakukan karena alkohol yang dihasilkan dari proses fermentasi kefir dapat mempengaruhi aroma dan rasa khas dari kefir, dimana rasa khas itu yang membedakan kefir dengan yoghurt. Gambar 2 menunjukkan hasil pengujian kadar alkohol kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara dan perlakuan lama penyimpanan. Kadar alkohol dari kefir hasil penelitian yaitu berkisar antara 0,33% hingga 0,97%, kadar alkohol kefir meningkat dengan semakin lama waktu penyimpanan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$. Hasil analisis statistik membuktikan bahwa pada perlakuan variasi penambahan konsentrasi ekstrak tapak dara 0; 3; 6; dan 12% dan perlakuan lama penyimpanan 0, 7 dan 14 hari, serta interaksi kedua perlakuan menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kadar alkohol pada kefir. Penambahan ekstrak tapak dara pada kefir menyebabkan kenaikan kadar alkohol, namun nilai kadar alkohol tersebut masih sesuai standar produk susu fermentasi. Hal ini karena kadar alkohol dipengaruhi oleh metabolisme bakteri heterofermentatif dan khamir yang menghasilkan etanol. Pada saat fermentasi bakteri asam laktat mengubah laktosa menjadi asam laktat dan menyebabkan pH menurun, selanjutnya khamir akan melakukan fungsinya untuk menghasilkan etanol sebagai hasil metabolitnya (Beshkova *et al.* 2003). Sehingga kadar alkohol pada saat penyimpanan cenderung meningkat, hal ini disebabkan oleh khamir yang mendominasi dibandingkan dengan bakteri asam laktat selama penyimpanan sehingga kadar etanol yang dihasilkan meningkat (Magalhães *et al.* 2011).



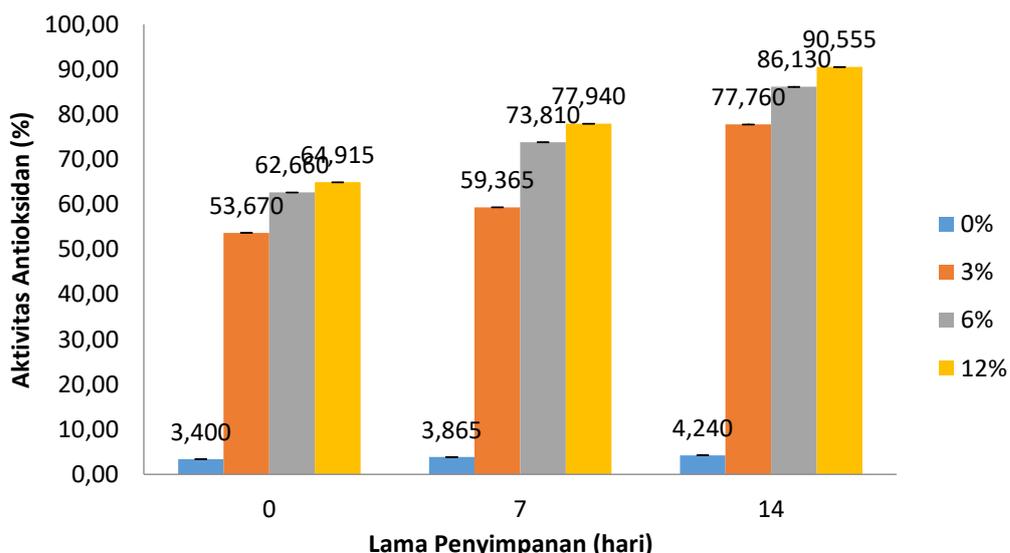
Gambar 2. Grafik nilai kadar alkohol pada kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara 0; 3; 6; dan 12% serta lama penyimpanan.

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode penghambatan menggunakan DPP ditunjukkan pada Gambar 3. Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada kefir menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan yaitu variasi konsentrasi ekstrak tapak dara 3%; 6%; 12% dan lama penyimpanan selama 7 hari dan 14 hari pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$, serta interaksi antara kedua perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$). Aktivitas antioksidan tertinggi pada sampel kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara 12% dengan lama penyimpanan selama 14 hari yaitu 90,55%. Sedangkan aktivitas terendah ditunjukkan pada sampel kefir tanpa penambahan ekstrak tapak dara dan tanpa penyimpanan. Hal ini diduga, pada proses penyimpanan dapat mengaktifkan senyawa polifenol pada ekstrak daun tapak dara dan pada susu kefir, sehingga pada sampel yang disimpan dalam 14 hari dapat menunjukkan potensi aktivitas antioksidan yang tinggi. Menurut (Mishra dan Verma, 2017), menyatakan bahwa tanaman ekstrak tapak dara memiliki potensi pada kepemilikan senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan. Hasil penelitian (Satyarsa, 2019) mengemukakan bahwa ekstrak tapak dara dengan pelarut methanol dapat membuka senyawa berkhasiat antioksidan dibandingkan dengan fraksi pelarut lainnya.

Hasil aktivitas antioksidan pada kefir menunjukkan nilai berkisar antara 3,4% hingga 90,55%. Berdasarkan Gambar 3, dapat dinyatakan bahwa penambahan ekstrak tapak dara dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Hal ini juga didukung hasil penelitian dari

(Antidiabetic) menyatakan bahwa aktivitas penghambatan oelh tapak dara yaitu berkisar antara 52,9% hingga 165,5%. Pada tanaman tapak dara menurut (Mishra dan Verma 2017), ada sekitar 400 lebih alkaloid yang terkandung dalam tapak dara yang dapat digunakan dalam bidang farmasi, industri kimia, dan bahan tambahan pangan. Beberapa alkaloid yang berperan sebagai antioksidan yaitu: *rosindin*, *vinblastine*, *vincristine*, *tabersonine* dan *vindesine*.



Gambar 3. Nilai aktivitas antioksidan pada kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara 0; 3; 6; dan 12% serta lama penyimpanan

KESIMPULAN

Kefir dengan penambahan ekstrak tapak dara variasi konsentrasi 0; 3; 6; dan 12% serta lama penyimpanannya mempengaruhi kualitas kefir yaitu pada kadar abu, total padatan, total asam, kadar alkohol dan aktivitas antioksidan. Namun tidak berpengaruh terhadap kadar protein dan kadar lemak kefir. Sedangkan perlakuan lama penyimpanan kefir berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri asam laktat dan khamir. Parameter yang diukur dari kefir hasil penelitian memenuhi standar kefir yang dapat dikonsumsi menurut CODEX 234-2003. Hal tersebut membuktikan bahwa karakteristik kimia dan mikrobiologi serta nilai aktivitas antioksidan yang tinggi pada kefir hasil penelitian telah sesuai dengan syarat pangan fungsional.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi melalui hibah penelitian SimLitabmas DIKTI atas pembiayaan penelitian dosen pemula (PDP) tahun 2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Aristya, A., A. Legowo, and A. Al-Baarri. 2013. "Total Asam, Total Yeast, Dan Profil Protein Kefir Susu Kambing Dengan Penambahan Jenis Dan Konsentrasi Gula Yang Berbeda." *Jurnal Pangan dan Gizi* 4(7): 116426.
- Azizah, N, AN Al-bAARI, and S. Mulyani. 2012. "Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH, Dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol Dari Whey Dengan Substitusi Kulit Nanas." *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 1(2): 72–77. /citations?view_op=view_citation&continue=/scholar?hl=id&as_sdt=0,5&scilib=1&citilm=1&citation_for_view=uuVlu5AAAAAJ:YsMSGLbcyi4C&hl=id&oi=p.
- Beshkova, D. M. et al. 2003. "Production of Volatile Aroma Compounds by Kefir Starter Cultures." *International Dairy Journal* 13(7): 529–35.
- Harun; DİNKÇİ, KESENKAŞ. 2011. "Antioxidant Properties of Kefir Produced from Different Cow and Soy Milk Mixtures." *Tarım BilimLeri Dergisi* 17(3): 253–59.
- Joni, Liza Setia, and Mahdi Abrar. 2018. "TOTAL BAKTERI ASAM LAKTAT (BAL) PADA FESES RUSA SAMBAR (Cervus Unicolor) DI TAMAN RUSA ACEH BESAR." 2(1): 77–85.
- Journal, Unesa et al. 2014. "Terhadap Mutu Kefir Susu Sapi the Effect of Fermentation and Concentration of Kefir Grains." 3(2): 53–57.
- Kusnadi, Joni, Dian Wuri Andayani, and Elok Zubaidah. 2019. "Ekstraksi Senyawa Bioaktif Cabai Rawit (Capsicum Frutescens L.) Menggunakan Metode Ekstraksi Gelombang Ultrasonik." *Jurnal Teknologi Pertanian* 20(2): 79–84.
- Magalhães, Karina T. et al. 2011. "Comparative Study of the Biochemical Changes and Volatile Compound Formations during the Production of Novel Whey-Based Kefir Beverages and Traditional Milk Kefir." *Food Chemistry* 126(1): 249–53.
- Martharini, Dwitiya, and Indratiningsih Indratiningsih. 2017. "Kualitas Mikrobiologis Dan Kimiawi Kefir Susu Kambing Dengan Penambahan Lactobacillus Acidophilus FNCC 0051 Dan Tepung Kulit Pisang Kepok (Musa Paradisiaca)." *Agritech* 37(1): 23.
- Mishra, Jai Narayan, and Navneet Kumar Verma. 2017. "A Brief Study on Catharanthus Roseus: A Review." *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2(2): 20–23.
- Nisar, Asma et al. 2017. "Antioxidant and Total Phenolic Content of Catharanthus Roseus Using Deep Eutectic Solvent." *Recent Advances in Biology and Medicine* 3(February): 7.
- Nur, Ela, Şimşek Sezer, and Tuna Uysal. 2018. "Volatile and Phenolic Compositions of the Leaves of Two Vinca L . Species from Turkey." : 103–10.

- Nurhasanah, Nurhasanah, Siwi Meutia Sadewi, R Supriyanto, and Aspita Laila. 2019. "Analisis Kadar Protein, Lemak, Dan Total Asam Laktat Dari Fermentasi Kefir Berbahan Baku Kolostrum Sapi." *Analit: Analytical and Environmental Chemistry* 4(2): 30–41.
- Nurliyani, N et al. 2014. "Profile of Bacteria and Short Chain Fatty Acids of Caecal Digesta in Malnourished Rat Fed Goat Milk Yoghurt." *Journal of Food and Nutrition Research* 2(12): 1015–20.
- Nurliyani, E Harmayani, and Sunarti. 2015. "Antidiabetic Potential of Kefir Combination from Goat Milk and Soy Milk in Rats Induced with Streptozotocin-Nicotinamide." *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 35(6): 847–58.
<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84963545421&partnerID=40&md5=87ad02cf5e96244d8131ccb004587f65>.
- Patil, Prajakta J, and Jai S Ghosh. 2010. "Antimicrobial Activity of *Catharanthus Roseus* – A Detailed Study." *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 1(1): 40–44.
- Penelitian, Artikel et al. 2017. "Analisis Total Padatan Terlarut , Keasaman , Kadar Lemak , Dan Tingkat Viskositas Pada Kefir Optima Dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda." 1(April): 33–38.
- Rohmah, Faizatur, and Teti Estiasih. 2018. "Perubahan Karakteristik Kefir Selama Penyimpanan : Kajian Pustaka." *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 6(3): 30–36.
- Satyarsa, Agung BS. 2019. "Potential Effects of Alkaloid Vindolicine Substances in Tapak Dara Leafs (*Catharanthus Roseus* (L .) G . Don) in Reducing Blood Glucose Levels Agung BS Satyarsa Medical Education Study Program Faculty of Medicine Udayana University Denpasar Bali Jl . P." *Jurnal of Medicine and Health* 2(4): 1009–19.
- Seesuriyachan, Phisit, Ampin Kuntiya, Prasert Hanmoungjai, and Charin Techapun. 2011. "Exopolysaccharide Production by *Lactobacillus Confusus* TISTR 1498 Using Coconut Water as an Alternative Carbon Source: The Effect of Peptone, Yeast Extract and Beef Extract." *Songklanakar Journal of Science and Technology* 33(4): 379–87.
- Setyawardani, Triana et al. 2017. "Kualitas Kimia, Fisik Dan Sensori Kefir Susu Kambing Yang Disimpan Pada Suhu Dan Lama Penyimpanan Berbeda." *Buletin Peternakan* 41(3): 298.
- Usmiati, S. 2007. Kefir: susu fermentasi yang menyegarkan dan menyehatkan. Badan Litbang Pertanian. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 29 : 12 - 14.
- Windayani, N., T. Kurniati, and M. Listiawati. 2019. "Psychochemical and Organoleptic Characteristics of Colostrum Kefir as Antibacterial." *Journal of Physics: Conference Series* 1175(1).
- Yilmaz-Ersan, Lutfiye, Tulay Ozcan, Arzu Akpınar-Bayizit, and Saliha Sahin. 2016. "The Antioxidative Capacity of Kefir Produced from Goat Milk." *International Journal of Chemical Engineering and Applications* 7(1): 22–26.