

**OPTIMASI PENGGANTIAN SUBSTRAT DAN EKSPOS UDARA
PADA PRODUKSI KEFIR-AIR****OPTIMIZATION OF SUBSTRATE REPLACEMENT AND AIR EXPOSURE
ON WATER-KEFIR PRODUCTION****Sri Rejeki Retna Pertiwi, Noli Novidahlia, dan Mustika Rani Asakami**

Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi Fakultas Ilmu Pangan Halal Universitas Djuanda Bogor,
Jl. Tol Ciawi No. 1, Kotak Pos 35 Ciawi, Bogor 16720.

Korespondensi: Sri Rejeki Retna Pertiwi, E-mail: sri.rejeki.pertiwi@unida.ac.id

(Diterima Dewan Redaksi: 11-07-2015)

(Dipublikasi Dewan Redaksi: 02-10-2015)

ABSTRACT

Supply of food can affect the growth of microbes. Food supply can be renewed by replacing the substrate treatment. In the first study, increasing weight of water-kefir grains and pH value changes of water-kefir fermented at various frequencies of substrate replacement were observed. Kefir grains were fermented in 5% sugar solution with various frequencies of substrate replacement (every day, 2, 3, 4, 5 days) for 20 days. Frequency of substrate replacement significantly affected the weight of water-kefir grains and pH value. Optimum condition for increasing weight of water-kefir grains was found on every day substrate replacement. In the following study, increasing weight of water-kefir grains, pH value, total bacteria, and total yeast were observed on water-kefir fermented with 2 treatment types of air exposure (close and open container) and everyday substrate replacement. Air exposure treatment did not significantly affect on weight of water-kefir grains but significantly affect on pH value, total bacteria, and total yeast. Total bacteria and total yeast were higher in close container treatment.

Keywords: air exposure, substrate replacement, water-kefir.

ABSTRAK

Suplai makanan dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Suplai makanan dapat diperbaharui dengan perlakuan penggantian substrat. Pada penelitian awal diamati pertambahan bobot biji kefir-air dan perubahan nilai pH kefir-air yang difermentasikan pada berbagai frekuensi penggantian substrat. Biji kefir-air difermentasikan pada media larutan gula 5% dengan perlakuan frekuensi penggantian substrat (setiap 1, 2, 3, 4, 5 hari) selama 20 hari. Frekuensi penggantian substrat berpengaruh terhadap pertambahan bobot biji kefir-air dan nilai pH. Pertambahan bobot biji kefir-air maksimal dicapai pada perlakuan penggantian substrat setiap hari. Pada penelitian berikutnya diamati pertambahan bobot biji kefir-air, nilai pH, total bakteri, dan total khamir pada kefir-air yang difermentasikan pada 2 perlakuan ekspos udara (wadah tertutup dan terbuka) dan substrat diganti setiap hari. Perlakuan ekspos udara tidak berpengaruh nyata terhadap pertambahan bobot biji kefir-air tetapi berpengaruh nyata terhadap nilai pH, total bakteri, dan jumlah khamir. Total bakteri dan total khamir lebih tinggi dijumpai pada perlakuan wadah tertutup.

Kata kunci: ekspos udara, kefir-air, penggantian substrat.

PENDAHULUAN

Peningkatan pengetahuan gizi berdampak positif pada kesadaran masyarakat dalam memilih dan menentukan bahan pangan yang akan dikonsumsi. Jenis makanan yang berkembang pesat terkini adalah pangan probiotik, salah satunya adalah kefir. Kefir adalah minuman fungsional probiotik, yang mengandung sekitar 52 jenis bakteri dan khamir yang bermanfaat (Pagocic *et al.*, 2013).

Kefir merupakan produk minuman susu fermentasi tradisional yang telah diproduksi dan dikonsumsi selama bertahun-tahun di wilayah Eropa Timur sampai Mongolia. Nama kefir berasal dari Pegunungan Kaukasus. Masyarakat di Pegunungan Kaukasus percaya bahwa biji kefir diberikan kepada mereka oleh Nabi Muhammad SAW (Gaware *et al.*, 2011).

Pada awalnya, media fermentasi yang digunakan untuk membuat minuman kefir adalah susu, akan tetapi kemudian berkembang selain susu, yaitu susu kedelai (Abraham and DeAnthoni, 1999), larutan gula merah (Zanirati *et al.*, 2015), larutan gula sukrosa (Pidoux, 1989; Waldherr *et al.*, 2010). Perubahan media fermentasi yang digunakan menyebabkan karakteristik biji kefir berubah sehingga terdapat dua jenis biji kefir, yaitu biji kefir susu dan biji kefir air. Biji kefir susu berupa matriks gel, berbentuk seperti bunga kol, berwarna putih susu, sedangkan biji kefir air berupa matriks gel bening seperti kristal atau berwarna agak kekuningan tergantung media yang digunakan untuk menumbuhkan, dan mudah terpisah ketika ditekan. Di Indonesia biji kefir air disebut juga ganggang atau alga kristal.

Matriks gel biji kefir baik biji kefir air maupun biji kefir susu tersusun dari polisakarida yang didalamnya terdapat simbiosis mutualisme antara bakteri asam laktat (BAL) homofermentatif dan heterofermentatif dan khamir (Kooiman, 1968; Frengova *et al.*, 2002; Pagocic *et al.*, 2013; de Oliveira Leite *et al.*, 2013). BAL yang terdapat di dalam biji kefir adalah

Lactobacilli dan *Lactococci*. Kelompok bakteri *Lactobacilli* meliputi *L. brevis*, *L. viridescens*, *L. casei*, *L. kefir*, *L. kefiranofaciens*, *L. kefirgranum*, *L. parakefir*, kelompok *Lactococci* meliputi *Leuconostoc spp* dan *Lactococcus lactis*. Sedangkan kelompok khamir yang terdapat di dalam biji kefir adalah *Candida kefir*, *Saccaromyces cerevisiae*, *C. holmii*, *S. unisporus*, dan *S. lipolytica* (Abraham and DeAnthoni, 1999; Pagocic *et al.*, 2013; de Oliveira Leite *et al.*, 2013).

Media fermentasi kefir air meliputi gula sukrosa, kismis, dan air yang berperan menyuplai zat gizi yang dibutuhkan oleh pertumbuhan biji kefir air. Pertumbuhan populasi mikroorganisme biasanya dibatasi oleh habisnya makanan yang tersedia atau penimbunan zat racun sebagai hasil akhir metabolisme. Selain itu, pengaruh udara luar juga dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba, karena mikroba ada yang bersifat aerob dan anaerob (Sunatmo, 2009).

Pada penelitian ini diamati pengaruh frekuensi penggantian substrat air gula dan kismis (tiap 1, 2, 3, 4, dan 5 hari) terhadap pertumbuhan biji kefir air dan juga pengaruh ekspos udara terhadap pertumbuhan biji kefir air. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui frekuensi penggantian larutan gula dan kismis yang optimum pada produksi kefir air, serta kondisi ekspos udara yang tepat selama fermentasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan baku yang digunakan untuk penelitian ini adalah biji kefir-air, gula pasir, kismis, dan air minum dalam kemasan yang sudah berstandar. Alat-alat yang digunakan dalam proses fermentasi adalah *refrigerator*, termometer, stoples plastik tertutup, dan sendok plastik, sedangkan alat untuk analisis adalah pH meter, neraca, pipet tetes.

Penelitian dibagi dua tahap. Tahap pertama adalah memfermentasi biji kefir-air pada media larutan gula 5% pada suhu 5°C selama 20 hari, dengan 5 taraf perlakuan frekuensi penggantian larutan gula (tiap 1, 2, 3, 4, dan 5 hari). Formula fermentasi kefir-air mengacu pada Beccary (2011), yaitu biji

kefir-air 10 gram ditumbuhkan di dalam 250 ml substrat larutan gula 5% dan kismis 2 gram. Tiap taraf perlakuan dilakukan ulangan 2 kali. Pengamatan meliputi penambahan bobot biji kefir-air dan perubahan pH, dilakukan pada saat penggantian larutan gula dan kismis. Dari 5 taraf perlakuan, dapat diketahui frekuensi penggantian substrat yang optimum, yaitu yang dapat menghasilkan penambahan bobot biji kefir-air maksimum.

Penelitian dilanjutkan dengan analisis pengaruh ekspos udara (fermentasi dalam wadah tertutup dan wadah terbuka) terhadap pertumbuhan kefir-air dengan frekuensi penggantian substrat optimum hasil penelitian sebelumnya. Pengamatan dilakukan terhadap penambahan bobot biji kefir-air, pH kefir-air, dan uji mikrobiologi meliputi perhitungan total bakteri dan total khamir baik pada biji kefir-air maupun pada minuman kefir-air.

Analisis bobot biji kefir-air dilakukan dengan menggunakan neraca analitik. Analisis pH dengan menggunakan pH meter (Apriyantono dkk, 1985). Uji mikrobiologi yang dilakukan adalah metode perhitungan total bakteri dan total khamir (Fardiaz, 1989).

Data peningkatan bobot biji kefir-air dan pH kefir air yang diperoleh pada

penelitian tahap pertama ditabulasikan dan dianalisis menggunakan Anova untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap perparame-ter yang diuji sehingga diperoleh nilai p. Jika nilai $p < 0.05$ maka perlakuan berpengaruh nyata terhadap parameter yang diuji dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar taraf perlakuan. Data penelitian tahap kedua dianalisis menggunakan uji-t untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan antara fermentasi dalam wadah terbuka dan wadah tertutup.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Frekuensi Penggantian Subtrat terhadap Pertambahan Bobot Biji Kefir-Air dan pH

Mikroba memerlukan substrat sebagai makanan untuk pertumbuhannya. Selama proses fermentasi, terjadi pertumbuhan mikroba dan juga dihasilkan zat hasil metabolisme atau metabolit sehingga kondisi media menjadi berubah dan dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba. Penggantian substrat dapat memberikan ketersediaan makanan dalam jumlah cukup secara kontinyu dan kondisi media kembali ideal untuk pertumbuhan mikroba.

Tabel 1. Pertambahan bobot biji kefir-air dan pH pada tiap frekuensi penggantian substrat

Frekuensi Penggantian Subtrat	Pertambahan Bobot Biji Kefir-air (gram/hari)	pH Kefir Air
tiap 1 hari	0.181 ^a	5.34 ^a
tiap 2 hari	0.137 ^b	5.15 ^b
tiap 3 hari	0.132 ^b	4.92 ^c
tiap 4 hari	0.129 ^b	4.70 ^d
tiap 5 hari	0.107 ^c	4.71 ^d
Regresi	$Y = -0.015x + 0.184$	$Y = -0.121x + 5.277$
Korelasi	0.83	0.84

Keterangan: Huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$

Penggantian substrat setiap hari menghasilkan pertambahan bobot biji kefir-air paling tinggi dibandingkan penggantian

substrat setiap 2, 3, 4, dan 5 hari (Tabel 1). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa frekuensi penggantian berpengaruh nyata

($p < 0.05$) terhadap penambahan bobot biji kefir air. Biji kefir air mengandung berbagai jenis BAL dan khamir. Di dalam biji kefir, BAL dan khamir menyusun matriks gel kefir saling bersimbiosis, maka bila pertumbuhan bakteri cepat, akan diiringi dengan pertumbuhan khamir yang cepat pula. BAL akan menggunakan enzim dan vitamin B yang dihasilkan oleh khamir untuk pertumbuhannya, sedangkan khamir menggunakan hasil fermentasi dari bakteri asam laktat sebagai sumber karbon dan energi (de Oliveira Leite *et al.*, 2013). Lebih lanjut dalam reviewnya dikemukakan oleh de Oliveira Leite *et al.* (2013) bahwa ketika bakteri dipisahkan dari biji kefir, pertumbuhan khamir tidak optimal. Akan tetapi, interaksi antara BAL dan khamir dalam fermentasi kefir dapat terhambat oleh pertumbuhan salah satu atau kedua kelompok mikroba tersebut. Mikroba-mikroba tersebut dapat bersaing dalam mendapatkan makanan untuk pertumbuhannya, atau dapat juga menghasilkan metabolit yang menghambat atau mendukung pertumbuhan antara satu dengan lainnya. Hal ini terbukti bahwa semakin jarang waktu penggantian substrat, penambahan bobot biji kefir-air semakin menurun dan terjadi juga penurunan pH sebagai akibat metabolit yang dihasilkan dengan korelasi kuat yaitu 0.83 dan 0.84.

Perbandingan karakteristik hasil fermentasi kefir-air dengan perbedaan ekspos udara

Total bakteri dan khamir pada perlakuan wadah tertutup baik pada biji kefir-air maupun minuman kefir-air lebih tinggi dibanding pada wadah terbuka (Tabel 2). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan ekspos udara berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap pertumbuhan mikroba selama proses fermentasi kefir-air.

BAL dan khamir di dalam biji kefir maupun substrat kefir sangat beragam, tergantung asalnya, tetapi yang pasti ada adalah *Lactobacilli* (de Oliveira Leite *et al.*, 2013). Dengan demikian perbandingan antara mikroba yang aerob dan anaerob tidak diketahui secara pasti. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi dalam wadah tertutup, yang berarti lebih sedikit oksigen, lebih mendukung pertumbuhan mikroba baik BAL maupun khamir. Hal ini menunjukkan bahwa mikroba yang terdapat di dalam biji kefir-air dan substrat kefir-air mayoritas bersifat anaerob sehingga apabila ditumbuhkan dalam wadah terbuka yang berarti terekspos udara selama fermentasi, mikroba anaerob tersebut akan terhambat pertumbuhannya.

Tabel 2. Perbandingan karakteristik hasil fermentasi kefir-air dengan perbedaan ekspos udara

Parameter	Wadah tertutup	Wadah terbuka
Pertambahan bobot biji kefir-air (gram/hari)	0.181 ^a	0.124 ^b
pH kefir air	5.34 ^b	5.60 ^a
Total bakteri biji kefir-air (koloni/gram)	11700 ^a	630 ^b
Total bakteri substrat kefir-air (koloni/ml)	73000 ^a	990 ^b
Total khamir biji kefir-air (koloni/gram)	24.6 x 10 ^{5 a}	9.3 x 10 ^{5 b}
Total khamir substrat kefir-air (koloni/ml)	24.5 x 10 ^{5 a}	11.1 x 10 ^{5 b}

Keterangan: Huruf yang berbeda dalam satu baris menunjukkan berbeda nyata pada $\alpha = 0.05$.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penggantian substrat pada produksi biji kefir air yang optimal dilakukan setiap hari dan dilakukan proses fermentasi dalam kondisi tertutup.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan pada kefir air dengan menguji jumlah dari tiap jenis mikroorganisme penyusun kefir air secara lebih selektif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham AG and DeAntoni GL. 1999. Characterization of kefir grains grow in cow's milk and soya milk. *Journal of Dairy Research* 66 (2): 327-333. <http://www.sciencedirect.com>.
- Apriyantono A, Fardiaz D, Puspitasari, NL, dan Budiyo S. 1985. Analisis Pangan. Petunjuk Laboratorium. Pusat Antar Universitas, IPB, Bogor.
- Beccary. 2011. Crystal Algae. www.CRYSTALALGAE/sobatonline.com. (11 May 2011).
- de Oliveira Leite AM, Miguel MAL, Peixoto RS, Rosado AS, Silva JT, and Paschoalin VMF. 2013. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology* 44(2): 341-349.
- Fardiaz S. 1989. Mikrobiologi Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- Frengova GI, Simova ED, Beshkova DM, and Simov ZI. 2002. Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria of Kefir Grains. *Z. Naturforsch* 57c: 805-810.
- Gaware V, Kotade R, Dolas K. 2011. The magic of kefir: a Review History of Kefir. *Pharmacologyonline* 1: 376-386.
- Kooiman P. 1968. The chemical structure of kefir, the water-soluble polysaccharide of the kefir grain. www.sciencedirect.com. *Carbohydrate Research* 7 (2): 200-211 (26 Mei 2011).
- Pidoux M. 1989. The microbial flora of sugary kefir grain (the gingerbeer plant): biosynthesis of the grain from *Lactobacillus hilgardii* producing a polysaccharide gel. *MIRCEN Journal* 5: 223-238.
- Pogacic T, Sinko S, Zamberlin S, Samarzija D. 2013. Microbiota of kefir grains. *Mljekarstvo* 63(1): 3-14.
- Sunatmo TI. 2009. Mikrobiologi Essensial 1. Penerbit Ardy Agency, Jakarta.
- Waldherr FW, Doll VM, Meibner D, and Vogel RF. 2010. Identification and Characterization of a Glucan-Producing Enzyme from *Lactobacillus hilgardii* TMW 1.828 involved in Granule Formation of Water Kefir. *Food Microbiology* 27 (5): 672-678. www.sciencedirect.com. Diakses 08 Juni 2011.
- Zanirati DF, Abatemarco Jr. M, de Cicco Sandez SH, Nicoli JR, Nunue AC, and Neumann E. 2015. Selection of lactic acid bacteria from Brazilian kefir grains for potential use as starter or probiotic cultures. *Anaerobe* 32: 70-76.