

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN KONSENTRASI DAUN KELOR
(*Moringa oleifera*) TERHADAP KARAKTERISTIK KEFIR AIR DAUN
KELOR (*Moringa oleifera*)**

SKRIPSI

Oleh :

Husnun Nadhiroh

13620029



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN KONSENTRASI DAUN KELOR
(*Moringa oleifera*) TERHADAP KARAKTERISTIK KEFIR AIR DAUN
KELOR (*Moringa oleifera*)

SKRIPSI

Diajukan Kepada
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Persyaratan dalam Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

Oleh :
Husnun Nadhiroh
13620029

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018

PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN KONSENTRASI DAUN KELOR
(Moringa oleifera) **TERHADAP KARAKTERISTIK KEFIR AIR DAUN**
KELOR *(Moringa oleifera)*

SKRIPSI

Oleh :

Husnun Nadhiroh
 13620029

Telah Disetujui Oleh:

Dosen Pembimbing I



Ir. Liliek Haranie, A. R., M. P
 NIP. 19620901 199803 2 001

Dosen Pembimbing II

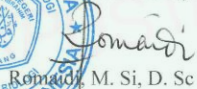


Mujahidin Ahmad, M. Sc
 NIDT. 19860512 2016 080110 60

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi




 Romadhoni, M. Si, D. Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN KONSENTRASI DAUN KELOR
(*Moringa oleifera*) TERHADAP KARAKTERISTIK KEFIR AIR DAUN
KELOR (*Moringa oleifera*)

SKRIPSI

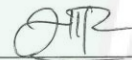
Oleh :

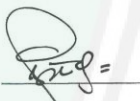
Husnun Nadhiroh
 13620029

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima
 Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

Tanggal,.....

1. Penguji Utama : Dr. Hj. Ulfa Utami, M. Si
 NIP.19650509 199903 2 002
2. Ketua Peguji : Prilya Dewi Fitriyani, M. sc
 NIDT. 19900428 20160801 2 062
3. Sekretaris Penguji : Ir. Hj. Liliek Harianie, A. R., M. P
 NIP. 19620901 199803 2 001
4. Anggota Penguji : Mujahidin ahmad, M. Sc
 NIDT. 19860512 2016 080110 60











Mengetahui
 Ketua Jurusan Biologi

Renaldi, M. Si, D. Sc
 NIP. 19840201 200901 1 019

SURAT PERNYATAAN ORISINILITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Husnun Nadhiroh

NIM : 13620029

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi Dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Karakteristik Kefir Air Daun Kelor (*moringa oleifera*)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang,

Penulis

Husnun Nadhiroh

NIM. 13620029

PERSEMBAHAN

Segala puji syukur dipanjatkan kepada Allah ﷻ, Tuhan semesta alam karena tas ridho dan karunia-Nya telah memberikan kesempatan yang sangat mulia kepada hamba-hamba-Nya untuk terus mengabdikan kepada-Nya, berfikir, berdzikir dan beramal shaleh yang juga merupakan kenikmatan yang luar biasa dari-Nya. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad ﷺ. Yang telah membawa umatnya menuju zaman pencerahan yang penuh dengan keridhoan.

Karya yang penuh dengan perjuangan ini tidak akan selesai jika tanpa dukungan serta doa dari orang-orang tercinta. Karya ini dipersmbahkan penulis sebagai rasa terimakasih yang mungkin tidak cukup bisa membalas apa yang telah diberikan baik secara moral maupun material. Kepada kedua orang tua penulis H.Hasan Mahmud dan Umi Hj. Umaimah. Dan saudara Muhammad Shohib Al-Haq yang telah mendo'akan, memberikan kasih sayang, memberikan dukungan setiap harinya serta memberikan yang terbaik bagi penulis.

Kepada guru-guru dan dosen-dosen penulis, semoga Allah selalu memberikan kesehatan dan meniggikan derajatnya baik didunia maupun di akhirat kelak, terimakasih atas bimbingan yang selama ini. Semoga ilmu yang telah diajarkan dapat menuntun penulis menuju keberkahan dengan hasil yang terbaik.

MOTTO

وَلَوْلَا إِذْ دَخَلْتَ جَنَّتَكَ قُلْتَ مَا شَاءَ اللَّهُ لَا قُوَّةَ إِلَّا بِاللَّهِ ۚ إِنَّ تَرَنَ أَنَا أَقَلَّ مِنْكَ مَالًا وَوَلَدًا

Artinya:

Dan mengapa kamu tidak mengatakan waktu kamu memasuki kebunmu "maasyaallaah, laa quwwata illaa billaah (sungguh atas kehendak Allah semua ini terwujud, tiada kekuatan kecuali dengan pertolongan Allah). Sekiranya kamu anggap aku lebih sedikit darimu dalam hal harta dan keturunan, *"Sungguh atas kehendak Allah ﷻ semua ini terwujud, tiada kekuatan kecuali dengan pertolongan Allah"* QS. AlKahfi (18):39

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur kehadiran Allah ﷻ yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penyusunan Skripsi yang berjudul **“Pengaruh Lama Fermentasi Dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Terhadap Karakteristik Total Asam, Ph, Antioksidan, Total Bal Dan Kadar Alkohol Kefir Air Daun Kelor (*Moringa Oleifera*)”** akhirnya bisa diselesaikan.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak, khususnya;

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M. Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M. Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M. Si, D. Sc, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Retno Susilowati, M. Si, selaku dosen wali yang telah memberikan banyak nasehat.
5. Ir. Liliek Hariani, A. R., M. P selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan wawasan, ilmu, arahan selama bimbingan hingga terselesainya penulisan skripsi ini.
6. Mujahidin Ahmad, M. Sc selaku dosen pembimbing agama yang telah banyak memberikan saran dan arahan penyusunan skripsi ini.
7. Seluruh dosen, staff administrasi, laboran dan karyawan jurusan Biologi yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini.
8. Kedua orang tua dan saudara yang telah memberikan dukungan, motivasi dan do'a serata mendorong penulis untuk penyelesain skripsi ini
9. Teman-teman Keluarga Besar Biologi A, terimakasih telah menjadi sahabat bahkan keluarga selama penulis menempuh studi. Kebersamaan, kekompakan, canda, tawa kalian yang menghiasi perjalanan menuju S. Si.

10. Seluruh teman-teman Jurusan Biologi angkatan 2013, yang berjuang bersama-sama menyelesaikan laporan sampai menyelesaikan skripsi dan menyelesaikan studi sampai memperoleh gelar S. Si
11. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang ikut membantu dan memberikan dukungan baik moril maupun materil dalam menyelesaikan skripsi ini.

Skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis menghargai setiap kritik dan saran untuk pengembangan perbaikan skripsi ini di masa mendatang. Akhir kata, kiranya skripsi ini bisa memberikan manfaat baik bagi penulis maupun pembaca.

Malang, 30 Februari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
----------------------	--------

HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
MOTTO	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan	8
1.4 Hipotesis	8
1.5 Manfaat Penelitian	9
1.6 Batasan Masalah	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Kefir	10
2.1.1 Starter Kefir Air	11
2.1.2 Medium Pertumbuhan Kefir Air	13
2.1.3 Proses Fermentasi Kefir Air	15
2.1.4 Manfaat Kefir	19
2.2 Kelor	20
2.2.1 Gizi dan Pemanfaatan Daun Kelor	20
2.3 Antioksidan	23

2.3.1 Metode Uji antioksidan DPPH.....	26
2.4 Fiqih Halal Haram Kefir air	28
BAB III METODE PENELITIAN	31
3.1 Rancangan Penelitian	31
3.2 Waktu dan Tempat	32
3.3 Alat dan Bahan	32
3.3.1 Alat	32
3.3.2 Bahan	33
3.4 Variabel Penelitian	33
3.5 Prosedur Penelitian.....	34
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	34
3.5.2 Rebusan Daun Kelor	34
3.5.3 Pembuatan Kefir Air Daun Kelor	34
3.5.4 Pengukuran Variabel	37
3.5.4.1 Total Asam	37
3.5.4.2 pH	37
3.5.4.3 Aktivitas Antioksidan	38
3.5.4.4 Uji TPC	39
3.5.4.5 Kadar Alkohol	40
3.6 Analisis Data	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1 Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor Terhadap Total Asam Kefir Air Daun Kelor	42
4.2 Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor Terhadap pH Kefir Air Daun Kelor.....	46
4.3 Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor Terhadap Total BAL Kefir Air Daun Kelor.....	51
4.4 Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor Terhadap Antioksidan Kefir Air Daun Kelor	57

4.5 Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor Terhadap Alkohol	
Kefir Air Daun Kelor.....	63
BAB V PENUTUP	72
5.1 Kesimpulan	72
4.6 Saran	73
DAFTAR PUSTAKA	74
LAMPIRAN	83



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bibit Kefir	12
Gambar 2.2 Struktur Sukrosa.....	14

Gambar 2.3 Lintasan Glikoliis Sukrosa	16
Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Kefir Air Daun Kelor	36
Gambar 4.1 Diagram Batang Total Asam Kefir Air Daun Kelor	42
Gambar 4.2 Diagram Batang pH Kefir Air Daun Kelor	47
Gambar 4.3 Diagram Batang Total BAL Kefir Air Daun Kelor.....	52
Gambar 4.4 Diagram Batang Antioksidan Kefir Air Daun Kelor	57
Gambar 4.5 Diagram Batang Alkohol Kefir Air Daun Kelor	64



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Strain Mikroba Kefir Air.....	13
---	----

Tabel 2.2 Kandungan Nutrisi Daun Kelor	22
Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan	31
Tabel 4.1.1 Ringkasan Analisa Keragaman Total Asam Kefir air Daun Kelor	44
Tabel 4.1.2 Analisis Uji Duncan Total Asam Kefir air Daun Kelor	45
Tabel 4.2.1 Ringkasan Analisa Keragaman pH Kefir air Daun Kelor	48
Tabel 4.2.2 Analisis Uji Duncan pH Kefir air Daun Kelor	49
Tabel 4.2.1 Ringkasan Analisa Keragaman Total BAL Kefir air Daun Kelor	54
Tabel 4.2.2 Analisis Uji Duncan Total BAL Kefir air Daun Kelor	55
Tabel 4.4.1 Ringkasan Analisa Keragaman Antioksidan Kefir air Daun Kelor ...	60
Tabel 4.4.2 Analisis Uji Duncan Antioksidan Kefir air Daun Kelor	61
Tabel 4.5.1 Ringkasan Analisa Keragaman Alkohol Kefir air Daun Kelor	65
Tabel 4.5.1 Analisis Uji Duncan Antioksidan Kefir air Daun Kelor	67

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Total Asam	83
Lampiran 2. Hasil Uji pH	84

Lampiran 3. Hasil Uji Total BAL	85
Lampiran 4. Hasil Uji Antioksidan	87
Lampiran 5. Hasil Uji Alkohol	93
Lampiran 6. Perhitungan.....	95
Lampiran 7. Gambar alat dan Bahan.....	97



ABSTRAK

Nadhiroh, Husnun. 2018. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Karakteristik Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*). Skripsi. Jurusan

Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Ir. Hj. Lilik Harianie, A.R, M.P., Pembimbing Agama: Mujahidin Ahmad, M.Sc

Kata Kunci: Kelor, Kefir air, Lama fermentasi, Konsentrasi kelor

Kefir air merupakan minuman fungsional yang baik bagi tubuh manusia. Media alternatif berperan penting dalam pengembangan produk ini, salah satunya yaitu daun kelor (*Moringa oleifera*). Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor terhadap karakteristik (total asam, pH, total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan dan kadar alkohol) kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan 16 perlakuan dan 3 ulangan. Faktor I lama fermentasi (0 jam, 18 jam, 21 jam dan 24 jam). Faktor II konsentrasi daun kelor (0%, 2,5%, 5% dan 10%). Dari kedua faktor tersebut ditambahkan 6% sukrosa dan 5% bibit kefir air kemudian diinkubasi. Hasil penelitian menunjukkan berpengaruh nyata terhadap total asam laktat, pH, total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan dan kadar alkohol kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan nilai signifikansi $< 0,05$. Sedangkan konsentrasi dan interaksi keduanya (lama fermentasi dan konsentrasi) berpengaruh nyata terhadap semua variabel yaitu; total asam laktat, pH, total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan dan kadar alkohol. Berdasarkan hasil pengujian total bakteri asam laktat berkisar 0,06% – 1,63%, data pH berkisar 6,03 – 3,30. Data total BAL (Bakteri Asam Laktat) setelah fermentasi berkisar 0,43 – 1,53 ($\times 10^7$ cfu/ml). Diperoleh nilai aktivitas antioksidan diperoleh nilai IC_{50} setelah fermentasi berkisar 44,08 – 19,73 (ppm) dan data kadar alkohol setelah fermentasi berkisar 0,2 – 0,4. Berdasarkan hasil dan pembahasan terhadap data yang diperoleh serta diintegrasikan dengan hukum Islam yang berpedoman pada Al-Quran dan Hadits, maka produk kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) adalah produk yang *halalan toyyiban*.

ABSTRACT

Nadhiroh, Husnun. 2018. The Influence of Old Fermentation and Moringa Leaves (*Moringa oleifera*) Concentration on the Characteristic of Kefir Water of Moringa Leaves

(Moringa oleifera). Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim of Malang. Advisor: Ir. Hj. Lilik Harianie, A.R, M.P., Counselor: Mujahidin Ahmad, M.Sc

Keywords: Moringa, kefir Water, Old Fermentation, Moringa concentration

Kefir water is a good functional drink for the human body. Alternative media play an important role in developing the product, one of which is Moringa Leaves (*Moringa oleifera*). The purposes of the research are to know the Influence of Old Fermentation and Moringa Leaves Concentration on the Characteristic (total acid, pH, total lactic acid bacteria, antioxidant activity and alcohol level) of Moringa Leaves of kefir water (*Moringa oleifera*). The research used Group Randomized Design (RAK) with 16 treatments and 3 replications. Factor I was Old Fermentation (0 hour, 18 hours, 21 hours and 24 hours). Factor II was Moringa Leaves concentration (0%, 2.5%, 5% and 10%). both factors were added 6% sucrose and 5% seeds of kefir water in incubation. The results showed significant effect on total lactic acid, pH, total lactic acid bacteria, antioxidant activity and alcohol content of Kefir water of Moringa Leaves (*Moringa oleifera*) with significance value of $<0,05$. While the concentration and interaction of both (long fermentation and concentration) significantly affected all variables namely; total lactic acid, pH, total lactic acid bacteria, antioxidant activity and alcohol content. Based on total lactic acid bacteria test result ranged from 0,06% - 1,63%, pH data ranged from 6,03 - 3,30. Total data of BAL (Lactic Acid Bacteria) after fermentation ranged from 0.43 to 1.53 ($\times 10^7$ cfu / ml). The value of antioxidant activity was obtained IC_{50} value after fermentation ranged from 44.08 - 19.73 (ppm) and data alcohol content after fermentation ranged from 0.2 to 0.4. Based on the results and discussion of data were obtained and integrated with Islamic law based on the Quran and Hadith, the product of Kefir water of Moringa leaves (*Moringa oleifera*) is a *halalan toyyiban* product

ملخص البحث

النضرة، حسن. ٢٠١٨. تأثير طول التخمر وتركيز أوراق المورينجا (*Moringa oleifera*) على خصائص المياه كيميائية الرائب لأوراق المورينجا (*Moringa oleifera*). البحث الجامعي. قسم علم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. الاشراف: ليليك هرياني، الحجة الماجستير، والاشراف الدين: مجاهدين أحمد، الماجستير

الكلمات الرئيسية: المورينجا، المياه كيميائية، طول التخمر، تركيز المورينجا

المياه كيميائية هي مشروب وظيفي جيد لجسم الإنسان. الإعلام البديل يلعب دورا هاما في تطوير هذا المنتج، واحدة منها هي أوراق المورينجا (*Moringa oleifera*). الأهداف هذا البحث هي تحديد تأثير طول التخمر وتركيز أوراق المورينجا على خصائص (حمض الكلي، pH، ومجموع بكتريا حمض اللاكتيك، والنشاط المضادة للأكسدة ومحتوى الكحول) من المياه كيميائية لأوراق المورينجا (*Moringa oleifera*). استخدم هذا البحث تصميم لعشوائية المجموعة (RAK) مع ١٦ معالجات و ٣ مكررات. عامل الاول هو طول التخمر (٠ ساعة و ١٨ ساعات و ٢١ ساعات و ٢٤ ساعات). وعامل الثاني هو أوراق المورينجا (0 %، 2.5 %، 5 % و 10 %). أضيفت من كل العوامل ٦ % السكر و ٥ % من بذور المياه كيميائية ثم اخفضت بهما. وأظهرت النتائج وجود تأثير كبير على إجمالي لحمض اللاكتيك، و pH، ومجموع بكتريا لحمض اللاكتيك، والنشاط المضادة للأكسدة ومستوى الكحول) من المياه كيميائية لأوراق المورينجا (*Moringa oleifera*) بقيمة أهمية $p < 0.0005$. بينما يؤثر تركيز وتفاعل كل منهما (طول التخمر والتركيز) بشكل كبير على جميع المتغيرات وهي: مجموع حمض اللاكتيك، و pH، والبكتيريا لحمض اللاكتيك الكلية، والنشاط المضادة للأكسدة ومحتوى الكحول. وبناء على نتائج الاختبار الإجمالية البكتيريا لحمض اللاكتيك تراوحت بين ٠.٠٠٦ % - ١.٦٣ %، والبيانات pH تراوحت ٣.٣٠ - ٦.٠٣. البيانات الإجمالية BAL (بكتريا لحمض اللاكتيك) بعد التخمر تراوحت ١٠٣ - ١٠٤٣ / cfu $\times 10^6$ مل). حصلت قيمة النشاط المضاد للأكسدة على قيمة IC_{50} بعد أن تراوحت التخمرات بين ٤٤.٠٨ - ١٩.٧٣ (ppm) وبيانات محتوى الكحول بعد التخمر تراوحت بين ٠.٢ و ٠.٤. استناداً إلى نتائج ومناقشة البيانات التي حصلت عليها مع الشريعة الإسلامية يعني على القرآن والحديث، فإن منتج المياه كيميائية لأوراق المورينجا (*Moringa oleifera*) هو منتج من إنتاج حلالا طبيا

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Zaman sekarang ini banyak yang mulai memperhatikan makanan yang dikonsumsi terutama yang berdampak bagi kesehatan. Dalam hal ini bukan hanya memperhatikan rasa, tetapi juga kualitas pangan yang memiliki peran dalam kesehatan (Sugiharti dan Lidya, 2014).

Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan (2005) pangan fungsional adalah pangan yang secara alami maupun telah melalui proses pengolahan mengandung satu atau lebih senyawa yang berdasarkan kajian-kajian ilmiah dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan.

Kefir air merupakan minuman probiotik terdapat bakteri baik yang berguna dalam proses pencernaan dengan peran mikroflora, yang berfungsi untuk menghambat mikroba patogen di saluran pencernaan. Asam laktat dalam kefir air dapat menghambat pembentukan toksin bakteri pembentuk spora dalam usus. Perbaikan mikroflora usus dapat dilakukan melalui peningkatan jumlah mikroflora usus (bakteri asam laktat) yang menguntungkan karena mampu mensintesa vitamin-vitamin serta meningkatkan antibodi. Manfaat kefir air dapat menjaga keseimbangan mikroflora dalam usus, sehingga sistem pencernaan kita tetap terjaga. Selain itu dapat mempercepat proses penyembuhan, mengatasi sembelit (konstipasi), kembung, maag, luka/benjolan usus, memperbaiki sirkulasi darah sehingga dapat menurunkan tekanan

darah serta menurunkan kadar kolesterol, meningkatkan metabolisme tubuh serta membantu menjaga radikal bebas dalam tubuh (Muizuddin dan Elok, 2015).

Awal mula kefir air terbuat dari campuran gula dan air Gulitz dkk (2011) sebab *grain* kefir air dapat bekerja selama sumber energi utamanya memiliki kandungan gula (Sandra, 2012). Pemanfaatan *carrier food* kefir air pada media cair dengan penambahan gula masih terbatas, sebagaimana buah dan sayuran (Penalver, 2004), seperti kefir air teh daun sirih (Zubaidah dan Musdholifah, 2016); kefir air teh rosella (Hastuti dan Kusnadi, 2016) dan kefir air nila siwalan (Zubaidah dan Mubin, 2016). Pembuatan pangan fungsional dengan media alternatif terbaru kefir air perlu ditemukan dan diuji coba dengan variasi sesuai dengan pangan fungsional ini. Salah satunya yaitu kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*).

Berdasarkan penelitian Munir (2013) membuktikan bahwa kefir air memiliki potensi sebagai antioksidan alami berupa asam laktat dan asam asetat yang dihasilkan oleh bakteri dan ragi secara bersamaan dalam kefir air sangat efektif, keduanya saling berinteraksi baik intraseluler maupun ekstraseluler dalam memproduksi senyawa asam yang berpotensi sebagai antioksidan alami.

Sebagaimana tentang kelor (*Moringa oleifera*) yang memiliki manfaat telah disebutkan Allah ﷻ secara implisit dalam QS. Asy-Syu'ara' ayat 7-8:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّأُولِي الْأَبْصَارِ ۚ وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُّؤْمِنِينَ ۚ

Artinya: Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, **berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?** Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman.

Kata زَوْجٌ berarti pasangan. Pasangan yang dimaksud ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul di celah-celah tanah yang terhampar di bumi, dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan pun memiliki pasangan-pasangan guna pertumbuhan dan perkembangan. Kata كَرِيمٌ antara lain adalah digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik, paling tidak ada yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002).

Ayat ini menunjukkan betapa kuasanya Allah ﷻ yang telah menumbuhkan berbagai tanaman-tanaman yang tentu semuanya itu tidak diciptakan dengan sia-sia dan bermanfaat bagi makhluk-Nya. Sebagaimana tanaman kelor (*Moringa oleifera*) yang dapat dimanfaatkan dalam pembuatan pangan fungsional kefir air.

Negara Indonesia termasuk Negara agraris dengan banyak ragam *flora* yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, diantaranya adalah antioksidan. Salah satu jenis tumbuhan yang diduga sebagai antioksidan adalah kelor (*Moringa oleifera*). Kelor kaya akan nutrisi yang berpotensi sebagai tanaman herbal dengan kandungan yang dimilikinya sehingga disebut sebagai *The Miracle of Tree* atau yang dikenal pohon ajaib (Toripah, et al., 2014).

Sebagian masyarakat terutama Indonesia bagian timur, mengenal daun kelor sebagai masakan sayuran. Selain itu secara tradisional, umumnya masyarakat menggunakan daun kelor dalam bentuk rebusan untuk mengobati berbagai macam

penyakit. Zat aktif dalam daun kelor yang berpotensi sebagai antioksidan adalah berbagai jenis vitamin (A, C, E, K, B₁, B₂, B₃ dan B₆), flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan terpenoid (Kurniasih, 2013). Manfaat senyawa bioaktif yang telah diketahui tersebut merupakan antioksidan alami yang sebagian besar mudah larut dalam air, oleh karena itu peneliti mengolah rebusan daun kelor dengan fermentasi kefir air merupakan cara efektif dalam menarik manfaat yang berpotensi sebagai antioksidan. Kandungan dan bahan kimia kefir air beragam, diantaranya dipengaruhi oleh beberapa starter mikroba, suhu, lama fermentasi, dan bahan utama yang telah digunakan (Yusriyah, 2014).

Pangan fungsional daun kelor telah ada sebelumnya, namun minuman fermentasi kefir air masih minim terutama dengan kombinasi daun kelor. Penelitian Yulianti (2008) minuman jeli daun kelor memiliki nilai pH 5,8-6,0. Kekuatan dari pengombinasian antara daun kelor dan kefir air adalah sama-sama mengandung kalsium, protein, dan mineral yang tinggi serta jarang ditemukan olahan fermentasi yang dikombinasikan dengan sayuran. Penambahan daun kelor akan berpengaruh terhadap karakteristik fisikokimia dan mikrobiologi kefir air.

Penelitian Diantoro dkk (2015) pengaruh penambahan ekstrak daun kelor terhadap kualitas yoghurt hasil terbaik (fisiko kimia) terdapat pada perlakuan lama fermentasi 48 jam dan penambahan ekstrak daun kelor 7% dengan kriteria kadar pH 4,56. Pada penelitian yogurt susu sapi dalam Rahman (2009) tanpa pemberian sari daun kelor dihasilkan nilai total BAL yang rendah dibandingkan dengan pemberian konsentrasi sari daun kelor 5% yang mengalami kenaikan nilai total BAL. Namun

terjadi penurunan pada pemberian sari daun kelor konsentration 10%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi sari daun kelor yang tinggi menyebabkan total BAL semakin rendah.

Menurut Zubaidah dan Maizuddin (2015) proses fermentasi kefir air dapat menggunakan media yang relatif sederhana yaitu dengan larutan gula dengan penambahan bibit sebanyak 5% dan poses fermentasi selama 24 jam. Lama fermentasi serta konsentrasi media juga berpengaruh terhadap mutu kimia kefir yang dihasilkan, sehingga perlu dibuat beberapa variasi konsentrasi media dan lama fermentasi dalam pembuatan kefir air. Sebab sesuatu akan dapat diambil manfaatnya jika sesuai dengan kadar dan kebutuhannya. Sebagaimana Allah ﷻ menjelaskan secara implisit dalam firman-Nya Al-Qur'an surat Al-Furqan ayat 2:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا

Artinya: yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan-Nya, **dan Dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.**

Tafsir Ibnu Katsir (2017), menjelaskan bahwa redaksi potongan surat Al-Furqan ayat 2 yang artinya “telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya”. Berarti segala sesuatu selain Allah ﷻ adalah makhluk (yang diciptakan) dan *marbub* (yang berada dibawah kekuasaan-Nya). Dia-lah pencipta segala sesuatu berada dibawah kekuasaan, aturan, tatanan dan takdir-Nya.

Berdasarkan tafsir surat Al-Furqan ayat 2 diatas bahwa segala sesuatu selain khaliq (pencipta) yaitu Allah ﷻ adalah makhluk (yang diciptakan) dan segala ciptaan Allah ﷻ telah ditetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya. Termasuk pada pembuatan kefir air tentunya Allah ﷻ sudah menggariskan ukuran konsentrasi serta lama fermentasi yang terbaik. Sehingga akan menghasilkan kefir air yang berkualitas.

Sugiharti (2014) fermentasi asam laktat dalam *grain* kefir air oleh sekelompok BAL dapat terhenti dengan penurunan pH, namun sebaliknya dengan kelompok khamir yang masih hidup, sehingga terbentuk alkohol yang berasal dari fermentasi gula. Penambahan *grain* kefir 5% dengan fermentasi 18 sampai 24 jam suhu 22°C menghasilkan pH kefir 4,65, asam laktat 0,6-0,8% dan kadar alkohol antara 0,5-1% (Hidayat dkk, 2006). Penelitian Agustini (2014) konsentrasi bibit kefir 5% menghasilkan jumlah BAL tertinggi terhadap mutu kefir. Konsentrasi starter yang terlalu rendah menghasilkan rasa yang belum optimal, sedangkan starter konsentrasi starter terlalu tinggi dapat dihasilkan rasa yang terlalu masam sehingga mengurangi kesukaan konsumen.

Penelitian yang dilakukan oleh Haryadi, dkk (2013) menggunakan konsentrasi gula pasir 5%, 7,5% dan 10% yang menghasilkan rerata total bakteri asam laktat berturut-turut sebesar $11,67 \times 10^8$, $1,83 \times 10^8$ dan $6,03 \times 10^8$ sehingga menunjukkan bahwa ketiga perlakuan telah memenuhi standar mutu kefir. Penelitian yang dilakukan oleh Gianti dan Herly (2011) menggunakan konsentrasi gula pasir 15%,

20% dan 25% yang menunjukkan hasil bahwa pada konsentrasi gula pasir 15% memiliki pH yang paling rendah serta total asam yang paling tinggi jika dibandingkan 20% dan 25%. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi gula pasir diatas 15% mikroba pada kefir telah mengalami plasmolisis karena kondisi larutan yang terlalu pekat sehingga jumlah asam organik yang terbentuk juga menurun. Dan penelitian Al-Baarri (2013) perlakuan jenis gula pasir dengan konsentrasi 6% merupakan perlakuan yang tepat dalam menghasilkan karakteristik fisik, kimia dan mikrobiologis kefir yang terbaik yaitu dapat menghasilkan pH 4,78, total BAL $2,3 \times 10^7$ cfu/ml dan aktivitas antioksidan 40,95%.

Sebagian besar penelitian kefir air digunakan fermentasi 24 jam, sebagaimana penelitian Zubaidah dan Maizuddin (2015); Zubaidah dan Musdholifah (2016) produk kefir air teh daun sirsak, Hastuti dan Kusnadi (2016) produk kefir air teh rosella. Penelitian Zubaidah dan Elok (2016) produk kefir nira siwalan dengan metode inkubasi, dihasilkan perlakuan terbaik lama fermentasi 24 jam dengan suhu 25°C. Kualitas kimia yang dihasilkan kefir berpengaruh terhadap lama fermentasi yang diberikan, sehingga proses lama fermentasi yang telah dilakukan yaitu selama 18 jam, 21 jam dan 24 jam (Kunaepah, 2008).

Aplikasi pembuatan kefir air dari medium daun kelor dapat memberikan manfaat lebih sebagai alternatif kesehatan. Berdasarkan pemaparan sebelumnya, peneliti tertarik akan pengaruh lama fermentasi (18 jam, 21 jam dan 24 jam) dengan konsentrasi daun kelor (2,5%, 5% dan 10%) terhadap bibit kefir air, untuk mengetahui perbedaan dari produk yang dihasilkan. Pengujian parameter yang telah

dilakukan yaitu total asam, pH, total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan, dan kadar alkohol. Daun kelor telah lama dikonsumsi, namun tidak semua orang suka mengonsumsi daun kelor, oleh karena itu perlu dilakukan kajian tentang kefir air daun kelor untuk menggali potensi daun kelor sebagai bahan minuman fungsional.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini yaitu :

Bagaimana pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor serta interaksi keduanya terhadap karakteristik (total asam, pH, total bakteri asam laktat, antioksidan dan alkohol) kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*)?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini yaitu :

Untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor serta interaksi keduanya terhadap karakteristik (total asam, pH, total bakteri asam laktat, antioksidan dan alkohol) kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*).

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini yaitu :

Ada pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor serta interaksi keduanya terhadap karakteristik total asam, pH, total bakteri asam laktat, antioksidan dan kadar alkohol kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*).

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu :

1. Diharapkan penelitian ini memberikan manfaat bagi peneliti selanjutnya
2. Hasil pembukuan penelitian ini bermanfaat dalam bidang kesehatan pangan dan gizi sebagai pengembangan alternatif pangan fungsional dari tumbuhan herbal daun kelor dalam pembuatan produk minuman fermentasi baru berupa kefir air.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dari penelitian ini yaitu :

1. Daun kelor yang digunakan adalah daun segar yang baru dipetik dari pohon.
2. Konsentrasi daun kelor dalam pembuatan kefir air adalah 2,5%, 5% dan 10%.
3. Fermentasi kefir air digunakan grain kefir air 5%.
4. Konsentrasi sukrosa sebanyak 6%.
5. Lama fermentasi kefir air daun kelor adalah 18 jam, 21 jam dan 24 jam.
6. Fermentasi kefir air daun kelor yaitu suhu ruang (25°C).
7. Uji pengambilan data yaitu dengan parameter total asam, pH, total bakteri asam laktat, antioksidan dan kadar alkohol kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.2 Kefir

Kefir adalah minuman tradisional yang diolah dengan proses fermentasi oleh starter berupa biji kefir atau *Kefir grains*. Minuman kefir berasal dari bangsa Turki dengan nama awalnya adalah "Keyif" yang berarti "Merasa Baik" dan sangat populer di Timur Tengah (Chaitow dan Trenev, 2002).

Kefir telah diproduksi selama ratusan tahun oleh masyarakat pegunungan Kaukasian sebelah utara atau sebelah timur laut Mongolia. Produksi kefir saat itu berskala rumah tangga secara tradisional dalam kantung kulit, atau dalam tembikar. Bahan untuk pembuatan kefir biasanya adalah susu sapi atau susu kambing. Kefir ini diproduksi di negara-negara di Rusia dan hanya sedikit diproduksi di negara-negara Eropa (Surono, 2004). Kefir mengandung 0,5 – 1,0 % alkohol dan 0,9 – 1,1 % asam laktat. Produk ini sangat populer di Uni Soviet, dimana konsumsi kefir mencapai 4,5 kg per kapita per tahun (Rahman dan Fardiaz, 1992).

Bibit kefir terdiri dari dua macam, yang lebih umum dan mudah dikenali adalah bibit kefir susu sementara yang lain adalah bibit kefir air. Bibit kefir air adalah penemuan yang relatif baru sementara sejarah bibit kefir susu berusia lebih dari 2.000 tahun. Bibit kefir susu dan bibit kefir air kaya akan probiotik meskipun mereka memiliki strain bakteri yang berbeda (Sandra, 2012).

Kefir air termasuk minuman fermentasi pada media larutan sukrosa dengan berbagai tambahan buah-buahan kering ataupun segar (Alsayadi dkk, 2013).

Pembuatan kefir air dimulai dari bibit kefir air dicampur dengan larutan sukrosa dan buah-buahan kering atau segar (contoh : kismis, buah ara, aprikot, plum kering) atau buah-buahan segar namun untuk campuran buah-buahan segar setiap hatrinya harus diganti (Penalver, 2004). Fermentasi bekerja pada suhu 25°C dengan hasil air keruh, berasa asam, berkarbonasi, kandungan gula rendah, dan berbau etanol (Schneedorf, 2012).

Kefir air merupakan minuman fungsional yang dapat memberikat efek kesehatan terhadap konsumen. Menurut BPOM (2005), pangan fungsional merupakan pangan alami yang bermanfaat bagi kesehatan. Pangan fungsional bila dikonsumsi tidak memiliki efek samping dan tidak berupa tablet, kapsul atau bubuk yang berasal dari bahan alami lainnya.

Kefir air dapat meningkatkan antibodi (Schneedorf, 2012.). Kefir air berasa asam berasal dari alkohol dan CO₂ yang menghasilkan buih dengan karakter mendesis. Rasa asam kefir air disebabkan adanya aktivitas bakteri yang menghasilkan asam laktat, sedangkan alkohol, beruap dan rasa berbusa didapatkan dari khamir yang memfermentasi gula sehinga menjadi alkohol dan CO₂. Adanya sedikit alkohol dan CO₂ dalam kefir dapat membangkitkan selera pengonsumsinya (Rahman dkk, 1992).

2.1.1 Starter Kefir Air

Starter atau biang dari produk kefir adalah biji kefir yang menyebabkan fermentasi. Biji ini mengandung bahan kering sebanyak 10% yang terdiri dari karbohidrat 56%, protein 32%, polisakarida 24% dan komponen lainnya (Usmiati, 2004). Kefir *grain* atau bibit kefir tersusun atas bakteri asam laktat (*Lactobacili*,

Lactococci, Leuconostoc), bakteri asam asetat dan campuran khamir yang menggumpal bersama dengan kompleks gula serta dilapisi matriks polisakarida. Gumpalan tersebut merupakan hubungan simbiosis (Smith, 2013).



Gambar 2.1 Grain kefir (Anfiteatro dan Schneedorf, 2004)

Menurut Schneedorf (2012), terdapat perbedaan tekstur dan medium kultur bibit kefir air dan bibit kefir susu. Bibit kefir air berwarna putih transparan dan mudah pecah jika terdapat penekanan. Tekstur bibit kefir air tidak seperti gel atau lendir dan tidak berwarna putih pekat sebagaimana bibit kefir susu. Biji kefir berasal dari bakteri asam laktat dan khamir yang berperan dalam struktur kefir dan cita rasa (Anfiteatro dan Schneedorf, 2004).

Bibit kefir air bersimbiosis antara berbagai jenis organisme yang mensintesis asam organik untuk pertumbuhan bibit kefir air itu sendiri (Schneedorf, 2012). Bibit kefir air berasal dari alam, yang terjadi simbiosis antara bakteri dan khamir (Pogacic *et al.*, 2013). Strain mikrobial yang terdapat dalam sampel bibit kefir air dapat dilihat pada tabel 2.1 berikut:

Tabel 2.1 Strain Mikrobial Kefir Air Schneedorf (2012):

Bakteri	
<i>Acetobacter aceti</i>	<i>Lactobacillus collinoides</i>
<i>Chryseomonas luteola</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i>
<i>Enterobacter hormachei</i>	<i>Lactobacillus fructivorans</i>
<i>Gluconobacter frateurii</i>	<i>Lactobacillus hilgardii</i>
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus kefir</i>
<i>Lactobacillus lactis cremoris</i>	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>
<i>Lactobacillus casei subsp. rhamnosus</i>	<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>
<i>Lactobacillus case subsp. Pseudopantarum</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides</i>
<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides subsp. Dextranicum</i>
<i>Lactobacillus kefirifaciens</i>	
<i>Lactobacillus casei subsp. Casei</i>	
Khamir	
<i>Candida colliculosa</i>	<i>Kloeckera apiculata</i>
<i>Candida inconspicua</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i>
<i>Candida famata</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
<i>Candida valida</i>	<i>Saccharomyces bayanus</i>
<i>Candida lambica</i>	<i>Saccharomyces florentinus</i>
<i>Candida magnoliidae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Candida kefyr</i>	<i>Saccharomyces pretoriensis</i>
<i>Hanseniaspora viniae</i>	<i>Torulaspora delbrueckii</i>
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	<i>Zygosaccharomyces florentinus</i>

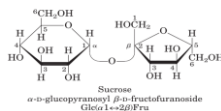
2.1.2 Media Pertumbuhan Kefir Air

Pertumbuhan kefir air yang utama digunakan adalah media sukrosa sebagai proses metabolisme bibit kefir air. Sukrosa telah dikenal sebagai bahan dapur dalam

rumah tangga sebagai gula dan dihasilkan tanaman dengan jalan mengkondensasikan glukosa dan fruktosa. Sukrosa berasal dari sayuran dan buah-buahan seperti tebu dan bit gula yang mengandung sukrosa dalam jumlah relatif besar. Gula diekstrak secara komersial dari tanaman tebu dan bit gula. Gula tebu maupun bit gula mengandung sukrosa sebesar 15%. Sumber karbon untuk mikrobial dapat berbentuk senyawa organik dan ada pula yang dapat menggunakan senyawa anorganik sebagai sumber karbon utama (Ramona, 1997).

Menurut Anfiteatro dan Schneedorf (2004), kefir air minuman kesehatan yang sangat baik. Kefir air dapat tumbuh dengan baik jika diberi larutan sukrosa atau gula tebu. Menurut Ramona (1997), organisme membutuhkan sukrosa (disakarida) sehingga mereka dapat mencegahnya menjadi dua bentuk dasar atau gula rantai tunggal (monosakarida) yaitu glukosa dan fruktosa.

Sukrosa termasuk Disakarida yang berperan penting dalam pengolahan pangan fungsional yang banyak terdapat pada tebu, bit, siwalan, dan kelapa kopyor. Sukrosa berbentuk kristal halus atau kasar dengan jumlah yang banyak biasanya berupa cairan sukrosa (sirup). Secara kimiawi, sukrosa (Gambar 3) tidak mempunyai gugus OH bebas yang reaktif karena keduanya saling terikat. Sukrosa dapat diuraikan menjadi glukosa dan fruktosa yang disebut gula *invert* (Winarno, 2004).

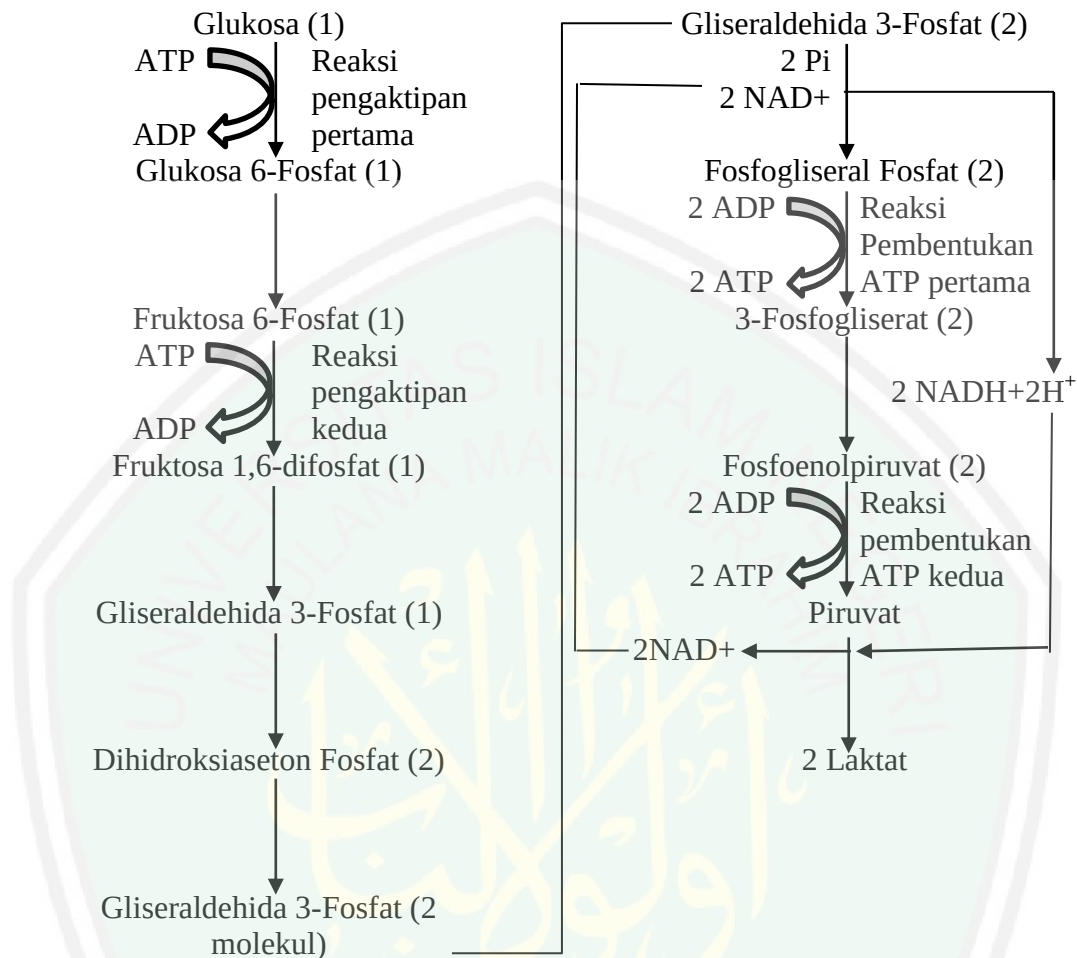


Gambar 2.2 Struktur Sukrosa (Nelson dan Cox, 2004)

Senyawa organik dan anorganik merupakan sumber karbon utama mikroba (Ramona, 1997). Khamir menggunakan sumber karbon sebagai penyusun bahan-bahan organik sel dan juga sebagai sumber energi. Gula merupakan sumber karbon yang merupakan komponen penting dalam fermentasi etanol oleh khamir (Lehninger, 1990).

2.1.3 Proses Fermentasi Kefir Air

Tahap pertama fermentasi kefir air diawali dari perubahan sukrosa menjadi D-glukosa dan D-fruktosa oleh bantuan enzim sukrase (Lehninger, 1990). Selanjutnya glukosa akan dipecah menjadi asam piruvat yang disebut Glikolisis glukosa melalui Jalur Embden-Meyerhof Parnas (EMP) (Purwoko, 2007). Glikolisis merupakan proses penguraian molekul glukosa yang memiliki 6 atom karbon, secara enzimatik di dalam urutan 10 reaksi enzimatik untuk menghasilkan 2 molekul piruvat, yang memiliki 3 atom karbon, lintasan glikolisis anaerobik dijelaskan dalam reaksi kimia berikut (Nelson, 2004) Gambar 2.3 :



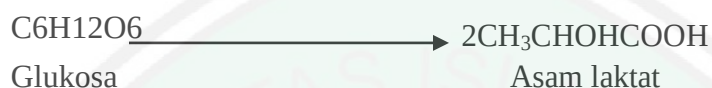
Keterangan: Lintasan glikolisis memiliki 2 fase, yaitu fase pertama (1) fosforilasi glukosa dan pengubahnya menjadi gliseraldehida 3-fosfat dan fase kedua (2) perubahan gliseraldehida 3-fosfat menjadi laktat dan pembentukan ATP yang terjadi secara bersamaan.

Gambar 2.3 Lintasan glikolisis anaerobik (Lehninger, 1990)

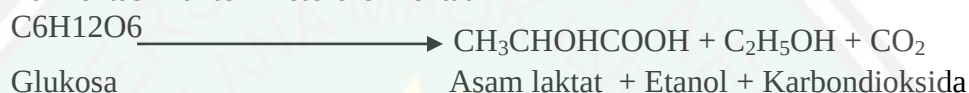
Menurut Supriyono (2008) proses fermentasi pada kefir oleh bakteri asam laktat terbagi dua macam, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Beberapa contoh genus yang merupakan bakteri homofermentatif dalam bibit kefir air adalah *Lactococcus* dan beberapa bakteri *Lactobacillus* seperti spesies *Lactobacillus casei*. Sedangkan contoh genus bakteri heterofermentatif yaitu *Leuconostoc* dan beberapa

bakteri *Lactobacillus* seperti spesies *Lactobacillus brevis* (Irianto, 2013; Kristian, 2011). Dua jenis bakteri tersebut terdapat perbedaan reaksi kimia yaitu (Supriyono, 2008) :

Fermentasi Bakteri Homofermentatif



Fermentasi Bakteri Heterofermentatif



Keduanya memiliki kesamaan mekanisme pembentukan asam laktat, yaitu piruvat diubah menjadi laktat dan diikuti dengan proses transfer elektron NADH menjadi NAD^+ . Pada fermentasi ini dapat dibedakan dengan keberadaan enzim-enzim yang berperan dalam jalur metabolisme glikolisis. Pada fermentasi heterofermentatif, tidak ada aldose dan heksose, tetapi menggunakan enzim fosfoketolase dan menghasilkan CO_2 . Metabolisme heterofermentatif dengan menggunakan heksosa akan menggunakan jalur heksosa monofosfat atau pentosa fosfat. Sementara itu, proses fermentasi homofermentatif melibatkan aldose dan heksose, tetapi tidak memiliki fosfoketolase serta hanya sedikit atau sama sekali tidak menghasilkan CO_2 . Jalur metabolisme yang digunakan pada homofermentatif adalah lintasan Embden-Meyerhof-Parnas (Irianto, 2013).

Tahap kedua fermentasi etanol yaitu asam piruvat diubah menjadi etanol. Fermentasi etanol merupakan proses serupa dengan glikolisis namun piruvat diubah menjadi etanol melalui asetaldehida dengan bantuan enzim piruvat dekarboksilase

dan etanol dehidrogenase. Proses fermentasi etanol berbeda dari glikolisis, karena khamir tidak mengandung dehidrogenase laktat, namun terdapat 2 reaksi sebagai gantinya yaitu piruvat dekarboksilase dan etanol dehidrogenase. Piruvat sebanyak 2 mol juga dihasilkan dalam tahap ini. Tahap ketiga adalah piruvat oleh enzim piruvat dekarboksilase diubah menjadi asetaldehida, lalu asetaldehida tereduksi menjadi etanol, yang menghasilkan tenaga pereduksi melalui kerja enzim etanol dehidrogenase. Reaksi kimia dari proses tersebut dijelaskan sebagai berikut (Lehninger, 1990) :



Tahap terakhir adalah peranan dari genus *Acetobacter*, dimana peran bakteri *Acetobacter aceti* akan merubah etanol menjadi asam asetat. Perubahan yang terjadi tersebut disebabkan oleh adanya proses asetikasi dari etanol menjadi asam asetat yang ditimbulkan sebagai akibat dari aktifitas bakteri tersebut (Timotius, 1982). Reaksi kimia yang terjadi dari perubahan etanol menjadi asam asetat dapat dilihat di bawah ini :



Metabolisme bakteri *Acetobacter aceti* bersifat aerobik, yang akan mengoksidasi etanol menjadi asam asetat. Mekanisme fermentasi asam asetat dibagi menjadi dua tahap, yaitu fermentasi etanol dan fermentasi asam asetat (Hidayat dkk, 2006). Fermentasi etanol, diawali dengan gula yang terdapat pada bahan baku diubah

oleh khamir menjadi etanol dan CO₂, yang berlangsung secara anaerob. Setelah etanol dihasilkan, maka segera diubah menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat secara aerob (Puspaningsih, 2009).

2.1.4 Manfaat Kefir

Menurut Bahar (2008), dalam beberapa literature, kefir termasuk makanan fungsional (*functional food*) dan probiotik. Pengertian probiotik sendiri menurut Codex (2003), adalah mikroorganisme hidup yang tercatat dalam jumlah yang cukup dan memberikan nilai positif bagi kesehatan. Terdapat dua jenis kefir yaitu kefir susu dan kefir air, keduanya memiliki kandungan dan nilai gizi yang berbeda sesuai dengan medium yang digunakan.

Kefir berperan dalam mendukung pertumbuhan bakteri dan membantu mengurangi patogen karena pHnya yang rendah. Oleh karena itu kefir air jika dikonsumsi dapat memberikan keuntungan bagi pengonsumsinya melalui peran bakteri baik dalam saluran pencernaan. Bakteri dalam kefir berperan membuat koloni dalam usus sedangkan khamir dalam kefir berperan membantu bakteri untuk melakukan penetrasi pada dinding usus. Penetrasi ini tidak hanya menghilangkan khamir jahat, tetapi juga melindungi dari parasit sehingga meningkatkan pencernaan menjadi lebih baik. Kefir juga berperan sebagai antibodi karena mengandung protein asam amino yang penting untuk kesehatan. Salah satunya adalah triptofan yang dapat memberikan efek menenangkan pada sistem syaraf (Pangkalan, 2008).

Konsumsi kefir air memberikan manfaat bagi kesehatan seperti: meningkatkan ketahanan alami terhadap infeksi saluran pencernaan, menekan

pertumbuhan sel kanker, menurunkan gejala melabsorpsi laktosa, menurunkan kolesterol dalam darah, memperbaiki sistem pencernaan, dan menstimulasi imunitas dalam pencernaan. Selain itu, konsumsi kefir air dapat menormalkan bakteri saluran pencernaan setelah pengobatan antibiotik, serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Winarsi, 2010).

2.2 Kelor (*Moringa oleifera*)

Klasifikasi tanaman kelor (*Moringa oleifera*) adalah sebagai berikut (Integrated Taxonomic Information Sistem, 2013; Syamsu Hidayat, 1991):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Brassicales
Famili	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i>

2.2.1 Gizi dan Pemanfaatan Daun Kelor

Kelor tidak hanya kaya akan nutrisi akan tetapi juga memiliki sifat fungsional karena tanaman ini mempunyai khasiat dan manfaat buat kesehatan manusia. Baik kandungan nutrisi maupun berbagai zat aktif yang terkandung dalam tanaman ini dapat dimanfaatkan untuk kepentingan makhluk hidup dan lingkungan. Oleh karena itu

kelor mendapat julukan sebagai “*miracle tree*”. Disamping itu, kelor sangat berpotensi digunakan dalam pangan, kosmetik dan industri (Krisnadi, 2015).

Daun kelor mengandung fenol banyak sebagai penangkal radikal bebas. Fenol dalam daun segar sebesar 3,4% sedangkan pada daun kelor yang telah diekstrak sebesar 1,6%. Penelitian lain menyatakan bahwa daun kelor mengandung vitamin C setara vitamin C dalam 4 jeruk, vitamin A setara vitamin A pada 4 wortel, kalsium setara dengan kalsium dalam 4 gelas susu, pottasium setara dengan yang terkandung dalam 3 pisang, dan protein setara dengan protein 2 ml yoghurt. Selain itu, dalam penelitian daun kelor mengandung antioksidan dan antimikroba yang tinggi. Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan asam askorbat, flavonoid, phenolik, dan karatenoid (Moyo *et al.*, 2012).

Selain itu kebutuhan konsumsi, pengobatan alternatif, daun kelor juga dapat digunakan sebagai bahan pengawet alami. Hasil penelitian Shah *et al.* (2015) menunjukkan bahwa ekstrak daun kelor atau yang dikenal dengan istilah *Moringa Leaf Extract* (MLE) dapat mempertahankan warna daging segar dalam kemasan AMP selama 12 hari penyimpanan pada suhu dingin. Hal ini disebabkan karena daun kelor sebagai sumber senyawa phenolik yang baik yang mampu mencegah terjadinya oksidasi lemak pada daging segar selama penyimpanan. Oleh karena itu penelitian tentang peran daun kelor sebagai pengawet alami mulai banyak dilakukan yang bertujuan untuk memperpanjang umur simpan produk pangan segar selain berkontribusi terhadap rasa dan aroma pada produk olahan. Komponen bioaktif yang

cukup tinggi sangat berperan penting dalam memperpanjang masa simpan produk, seperti karotenoid, asam askorbat dan senyawa phenolik (Tekle *et al.*, 2015).

Tabel 2.2 Kandungan Nutrisi Daun Kelor Tekle *et al.*(2015)

Analisis Nutrisi	Satuan	Daun Kelor
NUTRISI		
Kadar Air	(%)	94,01
Protein	Gram	22,7
Lemak	Gram	4,65
Karbohidrat	Gram	51,66
Serat	Gram	7,92
Mineral	Gram	2,3
Kalsium (Ca)	Mg	350-550
VITAMIN		
Vitamin A-B Caratone	Mg	6,80
Vitamin B-Choline	Mg	423,00
Vitamin B1-Thiamin	Mg	0,21
Vitamin B2-Riboflavin	Mg	0,05
Vitamin B3-Nicotinic Acid	Mg	0,80
Vitamin C-Assorbic Acid	Mg	220,00
ASAM AMINO*		
Ariginin	Mg	406,6
Histidin	Mg	149,8
Lysine	Mg	342,4
Tryptopan	Mg	107
Penilalanin	Mg	310,3
Metionin	Mg	117,7
Leusin	Mg	492,2
Isoleusin	Mg	299,6
Valin	Mg	374,5

* Per 100 gram bahan

Penemuan terbaru fungsi daun kelor sebagai farmakologis, yaitu anti mikroba, antijamur, antihipertensi, antihyperglukemik, antitumor, antikanker, antiinflamasi. Hal ini karea adanya kandungan diantaranya flavonoid, fenolik, karatenoid dan asam askorbat (Misra *et al.*, 2014).

Daun kelor dapat dimanfaatkan dalam bentuk tepung agar lebih awet dan mudah disimpan, demikian pula dengan biji kelor juga dapat diolah menjadi bentuk tepung. Fungsinya sama dengan tepung daun kelor sebagai bahan fortikulan untuk memperkaya nutrisi bahan pangan. Daun kelor yang akan dijadikan tepung harus dicuci untuk menghilangkan kotoran dan kuman dan sebaiknya tepung daun kelor ditambahkan pada saat makanan atau minuman siap disajikan karena zat gizinya rentan terhadap panas (Tekle, 2015).

Satu-satunya kelemahan dari daun kelor adalah adanya faktor flatulensi yang dapat menyebabkan perut kembung. Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan rafinosa, sukrosa, dan stakiosa. Untuk mengurangi sifat flatulensi yaitu melalui proses fermentasi, diantaranya dengan *Lactobacillus plantarum*. Salah satu produk minuman yang terbuat dari daun kelor melalui proses fermentasi *L. plantarum* dan *E. hirae* dapat mengurangi flatulensi yang disebabkan oleh kandungan rafinosa. Melalui proses fermentasi dapat memperpanjang masa simpan minuman selama 30 hari pada penyimpanan suhu 4°C. Selain itu dilaporkan bahwa daun kelor secara signifikan dapat memperpanjang masa simpan butter dan ekstrak daun kelor dapat mencegah terjadinya ketengikan pada roti daging kambing akibat reaksi oksidasi (Krisnadi, 2015).

2.3 Antioksidan

Antioksidan termasuk senyawa pemberi elektron, sedangkan menurut ilmu biologi antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah oksidasi sel melalui peredaman radikal bebas (Syahrizal, 2008).

Radikal bebas termasuk senyawa yang orbital terluarnya memiliki satu atau lebih molekul yang tidak berpasangan. Sehingga terjadi penyerangan dengan mengikat elektron sekitarnya (Winarsi, 2007).

Radikal bebas berasal dari debu, ataupun produksi berkelanjutan yang memiliki dampak buruk bagi tubuh manusia (Zuhra, *et al.*, 2008). Oleh karena itu tubuh perlu perlindungan serangan radikal bebas dengan mengonsumsi jenis antioksidan (Toripah *et al.*, 2014).

Radikal bebas berperan penting pada terjadinya arterosklerosis, stok, penyakit jantung koroner, gagal ginjal dan penuaan dini (Youngson, 2005) Kumalaningsih (2006). Meskipun tubuh juga memproduksi senyawa seperti enzim SOD (superoksida dismutase), katalase dan glutathione guna mengangkal radikal bebas, tetapi jumlahnya tidak mencukupi sehingga diperlukan antioksidan melalui makanan konsumsinya seperti vitamin C, E, β karoten, ataupun antioksidan jenis fitokimia dari golongan fenolik sebagai pelindung dari serangan radikal bebas. Sumber antioksidan alami ini dapat diperoleh dari buah-buahan dan sayur-sayuran (Kumalaningsih, 2006).

Indonesia sebagai negara tropis mempunyai keragaman flora yang berpotensi besar untuk dikembangkan dalam dunia pengobatan, diantaranya adalah antioksidan. Salah satu jenis tumbuhan yang diduga sebagai antioksidan adalah kelor (*Moringa oleifera*) (Tekle, 2015). Salah satunya pada bagian daun. Penelitian sebelumnya terhadap ekstraksi daun kelor (*Moringa oleifera*) menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang tinggi dalam proses *in vivo* dan *in vitro* (Sreelatha, 2009), selain itu

dalam daun kelor (*Moringa oleifera*) kaya akan *phytochemicals*, karoten, vitamin, mineral, asam amino, senyawa flavonoid *phenolic* (Fuglie, 2001).

Daun kelor banyak manfaat. Menurut hasil penelitian, daun kelor mengandung mineral, asam amino esensial, antioksidan seperti vitamin C, vitamin E, flavonoid, tanin, dan banyak lainnya (Fuglie, 2001). Pemanfaatan daun kelor masih belum maksimal, terutama di beberapa daerah di Indonesia. Berdasarkan survei yang dilakukan oleh Mutiara (2011) tentang keberadaan dan pemanfaatan daun kelor di Batu, Tumpang, Dampit, Junrejo dan Karangploso, Malang menyatakan bahwa hanya beberapa orang menggunakan daun kelor sebagai sayuran. Penggunaan daun kelor lebih banyak digunakan untuk memandikan jenazah, melepaskan jimat, dan sebagai pakan ternak. Salah satu yang paling menonjol dari kandungan tanaman Kelor adalah antioksidan, terutama di daun yang mengandung antioksidan tinggi. Berdasarkan uji fitokimia, daun Kelor (*Moringa oleifera*) mengandung tanin, steroid dan triterpenoid, flavonoid, saponin, interquinones, dan alkaloid, semuanya adalah antioksidan (Sreelatha, 2012). Menurut hasil penelitian, pada daun kelor segar memiliki kekuatan antioksidan 7 kali lebih banyak daripada vitamin C (Fuglie, 2001).

Daun kelor mengandung berbagai bahan kimia yang bermanfaat. Fitokimia dalam kelor adalah tanin, steroid dan triterpenoid, flavonoid, saponin, interquinones, dan alkaloid, semuanya adalah antioksidan (Kasolo et al., 2010). Antioksidan dalam daun kelor memiliki aktivitas netralisasi radikal bebas yang mencegah kerusakan oksidatif di sebagian besar biomolekul dan menghasilkan perlindungan yang signifikan terhadap kerusakan oksidatif (Sreelatha dan Padma, 2012).

Kelor juga mengandung 46 antioksidan kuat lainnya, termasuk: vitamin A, vitamin C, vitamin E, vitamin K, vitamin B (Cholin), vitamin B1 (Thiamin), vitamin B2 (Riboflavin), vitamin B3 (Niacin), vitamin B6, alanin, alpha-karoten, arginin, beta-karoten, beta-sitosterol, asam kafein, kolesterol, karotenoid, klorofil, kromium, delta-5-avenasterol, delta-7 avenasterol, glutathione, histidin, asam indol asetat, indoleacetonitrile, kaempferal, leusin, lutein, metionin, asam miristat, asam palmitat, prolamin, prolin, quercetin, rutin, selenium, treonin, tryptophan, xanthine, xantofil, zeatin, zeasantin, zinc (Kurniasih, 2013)

2.3.1 Metode Uji Antioksidan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

DPPH adalah singkatan umum untuk senyawa kimia organik yaitu 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil. DPPH adalah bubuk kristal berwarna gelap yang terdiri dari molekul radikal bebas yang stabil. DPPH memiliki berat molekul 394,32 dengan rumus molekul $C_{18}H_{12}N_5O_6$, larut dalam air. Penyimpanan wadah ditutup pada $-20^{\circ}C$ (Molyneux, 2004). Metode DPPH adalah salah satu tes kuantitatif untuk menentukan aktivitas antioksidan dan merupakan metode konvensional dan lama digunakan untuk menentukan aktivitas senyawa antioksidan (Talapessy et al., 2013).

Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) digunakan secara ekstensif untuk menguji kemampuan senyawa yang bertindak sebagai donor elektron atau hidrogen. Metode DPPH adalah metode yang dapat mengukur aktivitas antioksidan total baik dalam pelarut polar dan non-polar. Beberapa metode lain terbatas untuk mengukur senyawa yang dapat larut dalam pelarut yang digunakan dalam analisis. Metode

DPPH mengukur semua komponen antioksidan, baik yang larut dalam lemak atau dalam air (Prakash, 2001).

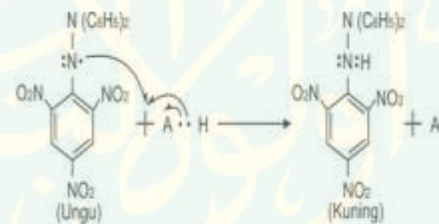
Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan sensitif dan hanya membutuhkan sampel kecil. DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) adalah senyawa radikal bebas yang stabil dari gugus nitrat oksida, yang memiliki karakteristik kerapatan ungu kehitaman, larut dalam DMF atau pelarut etanol / metanol, 127-129° C, panjang gelombang maksimum 517 nm, berat molekul 394,3 g / mol, rumus molekul $C_{18}H_{12}N_5O_6$ (Prakash, 2001).

Radikal bebas DPPH yang memiliki elektron tak berpasangan memberikan warna ungu dan menghasilkan daya serap panjang gelombang maksimum 517 nm. Warna akan berubah menjadi kuning ketika elektron tidak berpasangan. Efek intensitas warna yang terjadi terkait dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Jadi peningkatan efek intensitas warna menunjukkan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Dengan kata lain, kekuatan antioksidan diperoleh dengan mengurangi jumlah intensitas pewarna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH dengan mengukur absorbansi larutan uji. DPPH bereaksi dengan antioksidan akan membentuk penurunan difenilpicrylhydrazine dan radikal antioksidan (Prakash, 2001).

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) adalah radikal bebas stabil pada suhu kamar, kristal ungu dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari beberapa senyawa atau ekstrak bahan alami. Radikal bebas DPPH akan ditangkap oleh senyawa antioksidan dengan mereaksikan atom hidrogen dari senyawa

antioksidan oleh radikal bebas untuk mendapatkan pasangan elektronika dan mengubahnya menjadi hidrazin picryl tertentu (DPPH-H). DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik dengan transfer elektron atau radikal hidrogen di DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004).

Hasilnya dapat diamati dengan mengubah larutan dari ungu ke kuning. Perubahan warna menunjukkan bahwa DPPH telah dikurangi oleh hidrogen atau proses donasi elektron dari senyawa antioksidan sehingga perubahan warna dari ungu ke kuning dan DPPH tidak memberikan serapan pada panjang gelombang 517 nm (Molyneux, 2004).



Gambar 1.3 Reaksi DPPH dan Antioksidan (Yamaguchi *et al.*, 1998)

2.4 Fiqih Halal Haram Kefir

Kefir air adalah produk fermentasi yang memiliki banyak manfaat. Menurut Bahar (2008), kefir air memiliki sifat yang baik untuk tumbuh seperti memperbaiki sistem pencernaan serta penyerapan nutrisi makanan, memfasilitasi buang air besar, menyembuhkan masalah kesehatan (seperti diabetes, hipertensi, dan tumor) menurunkan kolesterol, mengurangi risiko penyakit jantung koroner, mencegah

infeksi saluran kemih. Tingkatkan sistem kekebalan tubuh, dan pertahankan stamina dalam tubuh. Sebagai minuman fermentasi kefir mengandung kadar alkohol 0,5-1,0% tergantung pada lama fermentasi yang dilakukan (Penalver, 2004).

Allah ﷻ berfirman dalam Al-Qur'an surat Al-Maidah ayat 88 yaitu:

وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا ۚ وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي أَنْتُمْ بِهِ مُؤْمِنُونَ

Artinya; “Dan **makanlah makanan yang halal lagi baik** dari apa yang Allah telah rezekikan kepadamu, dan bertakwalah kepada Allah yang kamu beriman kepada-Nya” Q.S. Al-Maidah (5): 88.

Ini merupakan perintah Allah ﷻ kepada kita manusia agar makan makanan yang halal dan baik. Halal dari aspek hukumnya dan baik dilihat dari substansinya. **حَلَالٌ** (boleh) **طَيِّبٌ** (baik) adalah yang bergizi. Makanlah olehmu makanan yang dibolehkan oleh agama dan mengandung gizi yang baik (Shihab, 2002).

Berdasarkan tafsir Al-Misbah oleh Shihab (2002) Makanlah apa yang sebahagian Allah ﷻ rezekikan kepadamu yang halal dan baik. Halal dari hukumnya dan baik atau proporsional disini berarti tidak merugikan diri sendiri. Jadi makan apa saja yang halal dan baik menurut selera kalian.

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا إِنَّمَا الْخَمْرُ وَالْمَيْسِرُ وَالْأَنْصَابُ وَالْأَزْلَامُ رِجْسٌ مِنْ عَمَلِ الشَّيْطَانِ فَاجْتَنِبُوهُ لَعَلَّكُمْ تُفْلِحُونَ

Artinya: Hai orang-orang yang beriman, **sesungguhnya (meminum) khamar**, berjudi menyembah berhala, mengundi nasib dengan panah, adalah termasuk perbuatan syaitan. **Maka jauhilah perbuatan-perbuatan itu agar kamu mendapat keberuntungan** (QS. Al-Maidah: 90).

Menurut al-Jazairi (2007) dalam tafsir Al-Aisar jilid 2 tentang surat Al-Maidah ayat 90 menafsirkan bahwa (meminum) khamar termasuk suatu keburukan yang disur oleh setan dan menjadikannya indah dalam jiwa-jiwa manusia serta menanamkan perasaan cinta terhadapnya, yangmana tujuan akhir yaitu terciptanya permusuhan diantara orang muslim. Sehingga meminum khamar dilarang dan dibenci Allah ﷻ karena menghilangkan kesadaran seseorang yang akan membuatnya bersifat diluar kendali akal pikirnya. Hal tersebut berbeda dengan kefir air, justru mengkonsumsi kefir air dilakukan seseorang bukan untuk memabukkan dirinya melainkan untuk mendapatkan manfaat kesehatan darinya.

Simbiosis antara bakteri dan ragi akan menjaga keseimbangan alkohol yang dihasilkan dalam proses fermentasi kefir air, sehingga kandungan alkohol yang dihasilkan akan tetap toleran, terutama dalam rentang fermentasi yang lebih pendek. Karena itu kefir air adalah halal karena manfaatnya yang besar untuk kesehatan tanpa kandungan alkoholnya. Sebagaimana dijelaskan dalam fatwa MUI (2009) tentang hukum alkohol yaitu, penggunaan alkohol / etanol yang dihasilkan oleh industri non khamr (baik sintesis kimia [petrokimia] atau produk fermentasi non-khamir) untuk proses produksi makanan, minuman, kosmetik, dan obat-obatan, hukum: mubah, jika secara medis tidak berbahaya.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial. Faktor I adalah lama fermentasi (0 jam, 18 jam, 21 jam dan 24 jam). Faktor II adalah konsentrasi daun kelor (0%, 2,5%, 5%, dan 10%), dari dua faktor dikombinasikan dengan penambahan sukrosa 6%, 5% biji kefir air dan diinkubasi pada suhu kamar sekitar 25 ° C. Kontrol juga dibuat tanpa konsentrasi daun kelor pada saat perawatan. Perlakuan kombinasi dalam tabel 3.1 di bawah ini:

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan

Lama Fermentasi (W)	Konsentrasi Rebusan Daun Kelor (K)			
	K0	K1	K2	K3
F0	F0K0	F0K1	F0K2	F0K3
F1	F1K0	F1K1	F1K2	F1K3
F2	F2K0	F2K1	F2K2	F2K3
F3	F3K0	F2K1	F3K2	F3K3

Keterangan:

F0K0 : Tanpa fermentasi dan tanpa konsentrasi daun kelor

FIK0 : Fermentasi 18 jam dan tanpa konsentrasi daun kelor

F2K0 : Fermentasi 21 jam dan tanpa konsentrasi daun kelor

F3K0 : Fermentasi 24 jam dan tanpa konsentrasi daun kelor

F0K1 : Tanpa fermentasi dan konsentrasi daun kelor 2,5%

F1K1 : Fermentasi 18 jam dan konsentrasi daun kelor 2,5%

F2K1 : Fermentasi 21 jam dan konsentrasi daun kelor 2,5%

F3K1 : Fermentasi 24 jam dan konsentrasi daun kelor 2,5%

F0K2 : Tanpa fermentasi dan konsentrasi daun kelor 5%

F1K2 : Fermentasi 18 jam dan konsentrasi daun kelor 5%

F2K2 : Fermentasi 21 jam dan konsentrasi daun kelor 5%

F3K2 : Fermentasi 24 jam dan konsentrasi daun kelor 5%

F0K3 : Tanpa fermentasi dan konsentrasi daun kelor 10%

F1K3 : Fermentasi 18 jam dan konsentrasi daun kelor 10%

F2K3 : Fermentasi 21 jam dan konsentrasi daun kelor 10%

F3K3 : Fermentasi 24 jam dan konsentrasi daun kelor 10%

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-Desember 2017 di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Genetika Jurusan Biologi dan Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kompor LPG, panci, beaker glass 100 ml, beaker glass 250 ml, beaker glass 500 ml, labu ukur 100 ml, gelas ukur 100 ml, gelas ukur 10 ml, tabung reaksi, saring, tabung ependorf, tabung reaksi, pengaduk kayu, sendok plastik, penyaring, pH meter, autoklaf, timbangan analitik,

pipet tetes, toples besar, vortex, termometer, mikropipet, erlenmeyer, corong gelas, biuret tetes, botol kaca, spektrofotometer, kuvet, spektrofotometer visible, sentrifuge, *water bath*, dan spektrofotometer, distilator dan piknometer.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kelor (*Moringa oleifera*) bibit kefir air (diperoleh dari rumah kefir), kapas, indikator phenolphthalein, larutan NaOH 0,1N, plastik wrap, aluminium foil, buffer 4 buffer 6, DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhydrazyl), etanol 95%, aquades, larutan buffer, reagen biuret, asam askorbat dan sukrosa (merek Gulaku).

3.4 Variabel Penelitian

Pada penelitian ini terdapat 3 macam variabel, yaitu:

1. Variabel bebas : Konsentrasi daun kelor (0%, 2,5%, 5%, dan 10%) dan lama fermentasi kefir air (0 jam, 18 jam, 21 jam dan 24 jam).
2. Variabel terikat : Pengamatan total asam, pH, aktivitas antioksidan, total BAL dan kadar alkohol
3. Variabel terkontrol : Rebusan daun kelor, Konsentrasi penambahan sukrosa 6%, Jumlah inokulum bibit kefir air sebanyak 5% dan Suhu inkubasi dalam fermentasi kefir air yaitu suhu ruang.

3.5 Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap, yaitu sterilisasi alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian, pembuatan produk meliputi pembuatan rebusan daun kelor serta fermentasi kefir air daun kelor dan pengukuran variabel penelitian. Adapun pelaksanaannya adalah:

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan dalam proses penelitian mulai dari pembuatan kefir air daun kelor dan pengujian variabel-variabel penelitian dicuci bersih serta disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.5.2 Rebusan Daun Kelor

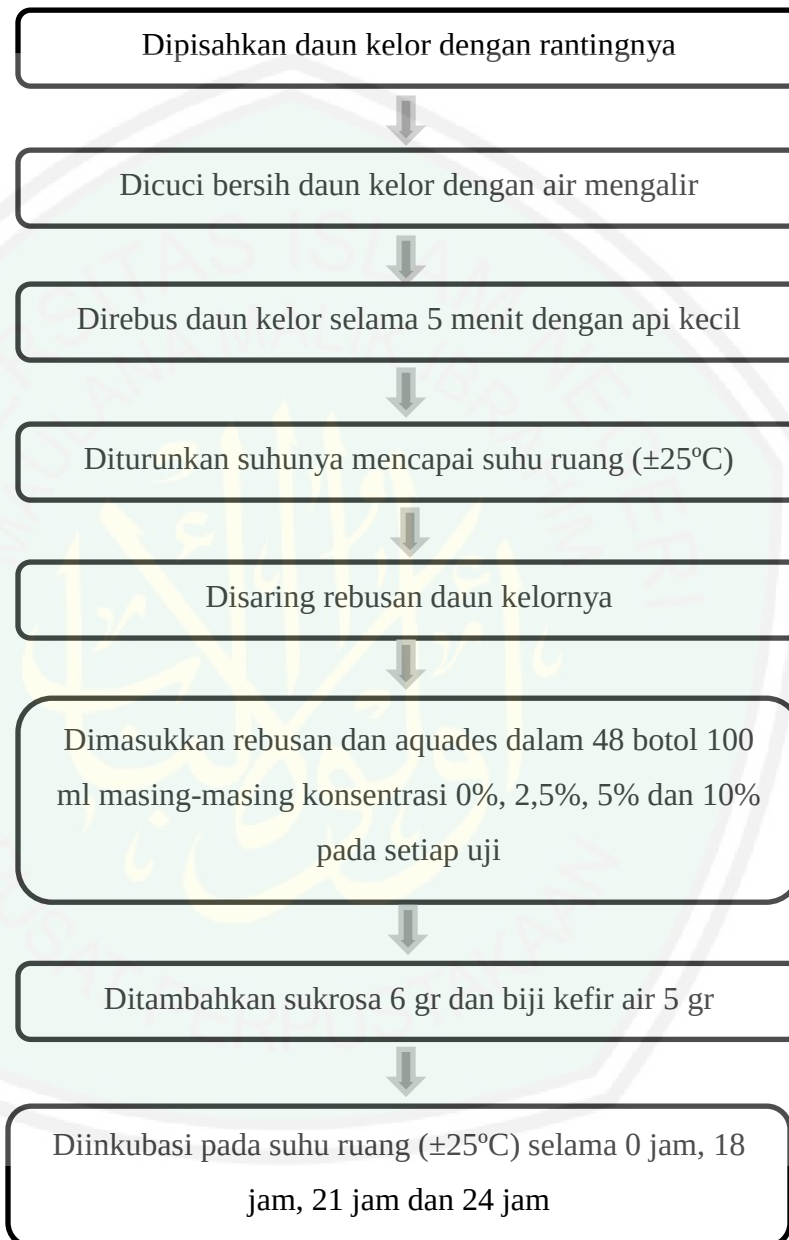
Rebusan daun kelor (*Moringa oleifera*) oleh Kurniawan (2014) dengan merebus daun kelor pada aquades, yaitu daun kelor dengan perbandingan 240 g daun segar dalam 2400 ml aquades selama 15 menit.

3.5.3 Pembuatan Kefir Air Daun Kelor

Pembuatan kefir air pada penelitian ini dijelaskan dalam penelitian Hastuti (2016) Pembuatan kefir air daun kelor diawali dengan penurunan suhu rebusan daun kelor hingga seperti suhu ruang (kurang lebih 25°C), kemudian dipersiapkan rebusan daun kelor sebanyak 15 botol untuk setiap perlakuan konsentrasi (yaitu untuk masing-masing perlakuan konsentrasi 0%, 2,5%, 5% dan 10%), dengan masing-

masing volumenya 100 ml. Selanjutnya pada masing-masing sampel dihomogenkan dengan 6% sukrosa (yaitu sebanyak 6 gr) dan baru dimasukkan pada masing-masing botol sesuai dengan rancangan penelitian pada tabel 3.1. Kemudian ditambahkan bibit kefir air sebanyak 5% pada masing-masing sampel (Zubaidah dan Maizuddin, 2015) dan diinkubasi pada suhu ruang (sekitar 25°C) selama 18 jam, 21 jam dan 24 jam sesuai dengan rancangan penelitian. Kefir air yang didapat dari proses fermentasi dilanjutkan dengan pengukuran variabel pengukuran. Pengukuran variabel diulangi kembali untuk ulangan 2 dan 3.

Proses Pembuatan Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*) adalah sebagai berikut:



Gambar 3.1 Diagram Alir Kefir Air Daun Kelor

3.5.4 Pengukuran Variabel

3.5.4.1 Total Asam

Pengukuran total asam menurut Hadiwiyo (1983) yaitu dilakukan sebanyak 10 ml sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml. Ditambahkan aquades sampai tanda batas lalu dihomogenkan dan disaring. Diambil filtrat 10 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Ditambahkan indikator *phenolphthalein* 2 tetes. Kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda, pembacaan skala pada saat warna merah muda terbentuk yang pertama kali dan bertahan sampai beberapa saat.

Kadar total asam laktat (%) dihitung dengan menggunakan rumus perhitungan:

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times 0,99 \times \text{FP}}{\text{Volume Sampel}} \times 100$$

Keterangan:

N NaOH = 0,0981 N

FP = Faktor Pengenceran

BM asam laktat = 0,09 (bobot setara asam laktat)

Standarisasi larutan NaOH 0,1 N

3.5.4.2 pH

Pengukuran pH medium menurut Afifah (2010) yaitu dinyalakan pH meter. Dimasukkan elektoda kedalam larutan buffer 4 dan dibiarkan sampai stabil. Dibilas

elektroda dengan aquades kemudian dikeringkan. Dimasukkan elektroda kedalam larutan sampel dan dibiarkan sampai stabil. Dicatat nilai pH yang ditunjukkan oleh layar.

3.5.4.3 Aktivitas Antioksidan

Pengujian dilakukan dengan DPPH (*Diphenyl Picryl Hydracil*) yang prinsipnya adalah penangkapan hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas. Dalam hal ini DPPH menjadi sumber radikal bebas, untuk dipertemukan dengan kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) yang menjadi antioksidan. Sampel disiapkan sebanyak 16 sampel dengan variasi fermentasi 18 jam, 21 jam, dan 24 jam dan konsentrasi 0%, 2,5%, 5%, dan 10%. Berikutnya dibuat larutan induk masing-masing sampel sebesar 100 ppm dengan melarutkan 10 ml sampel pada 100 ml metanol PA. Pengenceran menggunakan pelarut yaitu metanol PA dengan variasi konsentrasi 5 ppm, 6 ppm, 7 ppm, 8 ppm, dan 9 ppm pada setiap masing-masing sampel. Larutan stock DPPH 50 ppm dibuat dengan melarutkan 5 mg padatan DPPH kedalam 100 ml metanol PA. Larutan perbandingan dengan menggunakan larutan kontrol yang berisi 2 ml metanol PA dan 1 ml larutan DPPH 50 ppm. Sampel uji disiapkan masing-masing 2 ml larutan sampel dan 2 ml larutan DPPH. Sampel yang sudah diinokulasi, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 27°C hingga terjadi perubahan warna dari aktivitas DPPH, semua sampel dibuat triplo. Semua sampel yaitu sampel ekstrak yang telah di inkubasi di uji nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv-vis pada panjang gelombang 517 nm. Analisis pengujian antioksidan metode DPPH

dilakukan dengan melihat perubahan warna masing-masing sampel setelah di inkubasi bersama DPPH. Jika semua elektron DPPH berpasangan dengan elektron pada sampel ekstrak maka akan terjadi perubahan warna sampel dimulai dari ungu tua hingga kuning lemah. Diukur absorbansinya pada λ 517 nm, aktivitas antioksidan dihitung menurut persamaan

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \times 100$$

3.5.4.4 Uji TPC (*Total Plate Count*)

Metode hitung cawan (*Total Plate Count*) digunakan untuk menentukan total BAL. Menurut Fardiaz (1993), perhitungan total BAL dilakukan dengan total BAL yang tumbuh dihitung pada media biakan *Man Rogosa and Sharpe* (MRS).

MRS agar disiapkan sebanyak 65,13 gram untuk dilarutkan pada 1000 ml aquades. MRS agar yang telah larut disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. MRS yang telah steril dimasukkan pada cawan petri sebanyak 10 ml. Berikutnya pengenceran sampel dalam aquades steril menggunakan perbandingan 1 : 9, pengenceran dilakukan dari 10^{-1} - 10^{-8} , pada pengenceran pertama sebanyak 1 ml sampel kemudian diencerkan kedalam 9 ml aquades steril. Pengenceran kedua dilakukan dengan 1 ml yang sudah diencerkan pada pengenceran pertama dimasukkan kedalam 9 ml aquades steril, hal tersebut dilakukan berulang untuk pengenceran ketiga dan seterusnya. Berikutnya larutan pengenceran dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi 10 ml MRS agar, pencawanan dilakukan secara duplo 10^{-1} - 10^{-8} . Digerakkan cawan petri membentuk angka 8, agar

homogen. Cawan yang telah diinokulasi diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 48 jam.

$$\text{Total Bakteri Asam Laktat} = \text{jumlah koloni terhitung} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

3.5.5 Analisis Kadar Alkohol dengan Piknomter

1. Destilasi Hasil Fermentasi

Sampel kefir air sari buah ciplukan (*Physalis angulata* Linn.) hasil fermentasi disaring untuk dipisahkan dengan bibitnya. Hasil saringan tersebut dimasukkan ke dalam alat destilasi. Proses destilasi dilakukan pada suhu 70°C, karena titik didih alkohol 78-80°C dan titik didih air 100°C. Pengembunan uap hasil destilasi tersebut ditampung ke dalam gelas penampung (Erlenmeyer) sampai uap tidak menetes lagi yang ditutup dengan plastik dan diikat karet (Andriani, 2007).

2. Analisis Kadar dengan Menggunakan Piknometer

Kadar alkohol hasil distilasi dianalisis menggunakan piknometer. Piknometer dikeringkan ke dalam oven pada temperatur 100°C selama 10 menit kemudian didinginkan sampai suhu kamar. Setelah itu, piknometer ditimbang dengan neraca analitik. Selanjutnya distilat dimasukkan ke dalam piknometer yang telah ditimbang sebelumnya. Distilat dimasukkan hingga memenuhi piknometer. Kelebihan distilat pada puncak pipa kapiler dibersihkan. Piknometer yang berisi distilat ditimbang dan beratnya dicatat. Prosedur yang sama dilakukan pada aquades sebagai pembanding. Setelah itu dicatat suhu ruangan. Gravitasi jenis (*Specific gravity/SG*) alkohol dihitung dengan rumus di bawah ini (Wigyanto, 2007):

$$\text{SG sampel} = \frac{(a+b)-c}{(a+d)-c}$$

(a+b) = berat piknometer berisi distilat.

(a+d) = berat piknometer berisi aquades.

C = berat piknometer kosong.

Hasil perhitungan gravitasi jenis sampel kemudian dikonversikan dengan menggunakan tabel piknometer data dari *International Organization of Legal Metrology* (OIML) untuk mendapatkan kadar Alkohol (Bhavan dan Marg, 2005).

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS Uji *Analysis of Variance* (ANOVA) *two way*. Kemudian jika terdapat perbedaan yang nyata akan dilakukan uji lanjut dengan UJD (Uji Jarak Duncan) untuk mengetahui perlakuan yang berbeda.

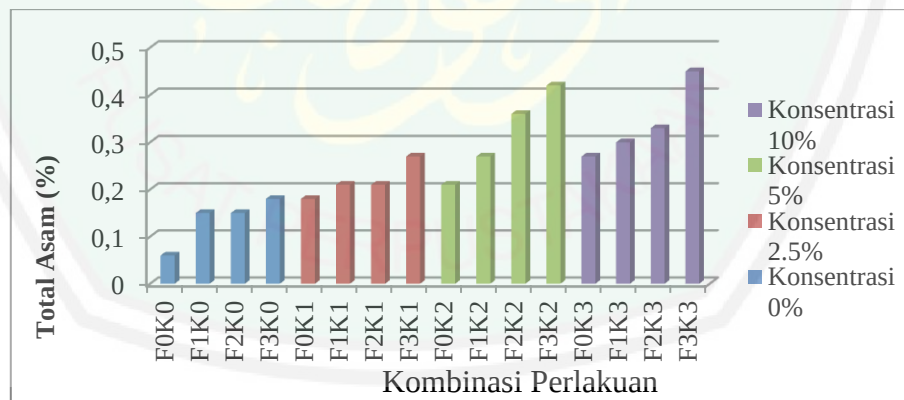
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Terhadap Total Asam Laktat Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Penelitian ini dipilih pengukuran kadar total asam laktat. Hal ini sebagaimana dijelaskan dalam tabel 2.1, bahwa *strain* bakteri asam laktat lebih banyak daripada *strain* bakteri asam asetat dan *yeast* pada starter kefir yang digunakan. Sehingga diasumsikan kandungan asam laktat pada kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) paling mendominasi daripada asam organik lainnya. Menurut Kunaepah (2008) asam laktat adalah metabolit primer yang dihasilkan dalam proses fermentasi BAL (Bakteri Asam Laktat). Adapun pengukuran rata-rata total asam laktat dapat dilihat pada tabel dan gambar 4.1 berikut:



Gambar 4.1 Diagram Batang Total Asam Laktat Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Berdasarkan gambar 4.1 menunjukkan hasil peningkatan total asam kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan semakin lama fermentasi dan semakin banyak

konsentrasi daun yang diberikan. Hal ini dikarenakan semakin lama fermentasi maka semakin banyaknya asam laktat yang dihasilkan oleh BAL selama inkubasi. Semakin tinggi kadar asam laktat juga dikarenakan semakin tingginya konsentrasi daun kelor (*Moringa oleifera*) yang digunakan pada masing-masing perlakuan. Sebagaimana Al Jabar (2018) menjelaskan bahwa daun kelor atau merunggai yang direbus dan diriskan, tanpa garam memiliki kandungan gula 1,00 gram serta adanya penambahan sukrosa 6% dari konsentrasi 100 ml setiap sampel. Menurut Sutedjo (2015), asam laktat yang dihasilkan oleh BAL akan tersekresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam substrat sehingga meningkatkan keasaman. Kadar total asam terendah didapat pada perlakuan kontrol F0K0 (tanpa penambahan konsentrasi daun kelor dan tanpa fermentasi) yaitu sebesar 0,06%, hal ini dikarenakan belum terjadinya proses fermentasi sehingga belum terbentuk asam laktat. Sebagaimana juga uji derajat keasaman (pH) pada perlakuan kontrol F0K0 dengan nilai pH yang masih tinggi yaitu 6,03. Kadar total asam semakin meningkat seiring bertambah lamanya proses fermentasi dan semakin banyaknya konsentrasi. Sehingga didapat kadar asam laktat tertinggi pada perlakuan F3K3 (konsentrasi daun kelor 10 % dan lama fermentasi 24 jam) yaitu sebesar 1,08 %, persentase tersebut sesuai standar kadar total asam kefir pada umumnya, sebagaimana dijelaskan Rahman dan Islam (2009) bahwa, maksimal kadar asam laktat kefir adalah 1,1 %. Hal ini menunjukkan bahwa kefir air daun kelor dengan lama inkubasi 24 jam merupakan perlakuan yang menghasilkan total asam laktat yang sesuai literatur.

Analisa statistik nilai rata-rata total asam laktat kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) bertujuan untuk mengetahui signifikansi nilai rata-rata total asam laktat sampel uji yang sudah diukur dengan metode titrasi. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan aplikasi SPSS. Berikut ini adalah tabel ringkasan hasil analisa keragaman pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor serta interaksi keduanya terhadap total asam laktat kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*).

Perbedaan diantara perlakuan dapat diketahui dengan menggunakan uji lanjut ANOVA. Ringkasan analisis (ANOVA) dapat dilihat pada tabel 4.1.1 dibawah ini:

Tabel 4.1.1 Ringkasan Analisa Keragaman Total Asam Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*) (Signifikansi 5%)

Sumber	Jumlah Kuadrat	df	Rata-Rata Kuadrat	F	Nilai Signifikansi
Lama Fermentasi	0,113	3	0,027	14,667	0,000
Konsentrasi	0,345	3	0,093	50,061	0,000
Interaksi	0,024	9	0,008	4,566	0,001

Berdasarkan tabel 4.1.1 diketahui hasil analisis total asam dengan *two way* ANOVA memiliki nilai signifikansi yang $< 0,05$ artinya lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor (*Moringa oleifera*) berpengaruh terhadap total asam kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*). Peningkatan lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor (*Moringa oleifera*) akan memberikan pengaruh yang nyata untuk total asam yang dimiliki kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*), hal tersebut juga berpengaruh nyata pada interaksi keduanya dengan hasil yang signifikan. Analisa statistik menunjukkan nilai signifikansi yang kurang dari 0,05 sehingga analisa dilanjutkan

dengan Uji Jarak Duncan (UJD) untuk mengetahui notasi sampel yang berbeda. Hasil pengujian dapat diamati berikut:

Tabel 4.1.2 Analisis Uji Duncan Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Total Asam Laktat Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Perlakuan	Total Asam Laktat (%)
F0K0	0,06 (a)
F1K0	0,15 (ab)
F2K0	0,15 (ab)
F3K0	0,18 (ab)
F0K1	0,18 (ab)
F1K1	0,21 (bc)
F2K1	0,21 (bc)
F3K1	0,30 (de)
F0K2	0,21 (bc)
F1K2	0,36 (ef)
F2K2	0,42 (fg)
F3K2	0,30 (de)
F0K3	0,27 (cd)
F1K3	0,30 (de)
F2K3	0,33 (de)
F3K3	0,45 (g)

Berdasarkan hasil Uji Jarak Duncan (UJD) pada tabel 4.1.2 menunjukkan bahwa notasi yang dihasilkan dari setiap perlakuan berbeda nyata, hal ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap total asam laktat. Beberapa perlakuan dengan notasi yang sama “ab” yaitu perlakuan F1K0, F2K0, F3K0 dan F0K1, notasi “bc” yaitu F1K1, F2K1, F0K2 dan notasi “de” yaitu F3K1, F3K2, F1K3 dan F2K3.

Perlakuan dengan notasi yang tidak berbeda nyata diantaranya yaitu F1K2 (fermentasi 18 jam dan konsentrasi kelor 5%) dan F2K2 (fermentasi 21 jam dan

konsentrasi kelor 5%) dengan rata-rata total asam laktat 0,36-0,42%. Hal ini dikarenakan adanya penurunan derajat keasaman (pH) setelah fermentasi 18 jam dengan rata-rata pH 3,56 sehingga membatasi terbentuknya total asam (Manik, 2005).

Penelitian ini didapat nilai total asam sebelum fermentasi dan tanpa konsentrasi yaitu 0,06%, hal ini disebabkan medium awal tidak mengandung asam dan belum terjadi reaksi fermentasi. Didapati nilai total asam laktat sebelum fermentasi yang lebih tinggi yaitu 0,27% dengan penambahan konsentrasi daun kelor 10%, hal ini dikarenakan banyaknya kandungan asam amino pada daun kelor (Funglie, 2001). Sedangkan setelah fermentasi penelitian ini menunjukkan nilai total asam laktat yang semakin tinggi yaitu 0,15% hingga 0,45%, hal ini dikarenakan metabolisme BAL menghasilkan metabolit sekunder berupa asam organik (asam laktat).

Asam-asam organik yang dihasilkan dari proses fermentasi kefir air memiliki manfaat baik untuk manusia. Sehingga daun kelor (*Moringa oleifera*) yang sudah difermentasi menjadi kefir air merupakan suatu produk halal yang memberikan kebaikan ketika mengkonsumsinya.

4.2 Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap pH Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*).

Analisis nilai pH medium atau derajat keasaman pada kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) yang dilakukan setelah fermentasi, bertujuan untuk mengetahui perubahan nilai rata-rata pH medium kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) setelah

proses fermentasi. Hal tersebut akan menandakan proses fermentasi yang sedang berlangsung, dimana mikroba dalam bibit kefir air akan merombak kandungan sukrosa yang terlarut untuk proses metabolismenya, sehingga menghasilkan asam-asam organik yang kemudian dapat terdisosiasi dan menurunkan nilai pH medium (Zubaidah dan Musdholifah, 2016). Pengukuran nilai pH secara langsung menggunakan pH meter. Adapun rata-rata nilai pH pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 4.2 berikut:



Gambar 4.2 Diagram Batang pH Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Berdasarkan Gambar 4.2 diketahui bahwa hasil pH kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) pada semua perlakuan mengalami penurunan. Sebelum fermentasi didapat nilai pH yang masih tinggi yaitu 6,03 pada perlakuan F0K0 dan menurun hingga 5,10 pada perlakuan F0K3. Hal ini dikarenakan daun kelor mengandung asam glutamat sekitar 97,2 mg/g dan asam aspartat 17,45 mg/g (Funglie, 2001). Begitupun setelah dilakukan fermentasi dari 18 jam hingga 24 jam nilai pH mengalami

penurunan dari 3,86-3,30. Nilai tertinggi didapat pada perlakuan F1K1 (lama fermentasi 18 jam dan konsentrasi 2,5%) yaitu 4,06 dan nilai terendah pada perlakuan F3K3 (lama fermentasi 24 jam dan konsentrasi 10 %) yaitu 3,30. Penurunan pH medium pada kefir air terjadi karena adanya disosiasi asam-asam organik yang dihasilkan dari proses fermentasi bibit kefir air (Zubaidah dan Maizuddin, 2015). Adapun semakin banyak konsentrasi daun kelor yang ditambahkan maka semakin rendah nilai pH. Hal ini dikarenakan semakin banyak konsentrasi daun kelor (*Moringa oleifera*) maka semakin tinggi juga kandungan gula (sukrosa) yang dapat dirombak menjadi asam organik.

Analisa statistik nilai rata-rata pH kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) bertujuan untuk mengetahui signifikansi nilai pH kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) yang sudah diukur. Perhitungan diantara perlakuan dapat diketahui dengan menggunakan uji lanjut *two way* ANOVA. Ringkasan analisis (ANOVA) dapat dilihat pada tabel 4.2.1 dibawah ini:

Tabel 4.2.1 Ringkasan Analisa Keragaman pH Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*) (Signifikansi 5%)

Sumber	Jumlah Kuadrat	df	Rata-Rata Kuadrat	F	Nilai Signifikansi
Lama Fermentasi	39,337	3	13,179	1459,993	0,000
Konsentrasi	1,412	3	0,567	52,278	0,000
Interaksi	0,674	9	0,164	7,214	0,000

Berdasarkan hasil analisa keragaman menunjukkan bahwa variabel konsentrasi daun kelor, lama fermentasi maupun interaksi keduanya berpengaruh nyata terhadap pH medium kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*). Penurunan pH

menunjukkan bahwa proses fermentasi telah berjalan. Menurut Zubaidah dan Musdholifah (2016) bahwa, penurunan pH merupakan salah satu akibat dari proses fermentasi yang terjadi karena adanya akumulasi asam yang berasal dari mikroba-mikroba starter kefir air. Fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat ditandai dengan peningkatan jumlah asam-asam organik yang diiringi dengan penurunan pH. Analisa statistik menunjukkan nilai signifikansi yang kurang dari 0,05 sehingga analisa dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan (UJD) untuk mengetahui notasi sampel yang berbeda. Hasil pengujian dapat diamati sebagai berikut :

Tabel 4.2.2 Analisis Uji Jarak Duncan (UJD) Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap pH Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Perlakuan	pH
F0K0	6,03 (i)
F1K0	3,86 (e)
F2K0	3,70 (cd)
F3K0	3,56 (bc)
F0K1	5,83 (h)
F1K1	4,06 (e)
F2K1	3,63 (bcd)
F3K1	3,46 (ab)
F0K2	5,50 (g)
F1K2	3,76 (de)
F2K2	3,56 (bc)
F3K2	3,46 (ab)
F0K3	5,10 (f)
F1K3	3,63 (bcd)
F2K3	3,33 (a)
F3K3	3,30 (a)

Keterangan: Sampel yang memiliki notasi sama dengan lainnya, maka tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Jarak Duncan 5%.

Berdasarkan tabel 4.2.2 telah diketahui notasi-notasi berbeda dan yang sama pada setiap sampel uji. Pengaruh interaksi lama fermentasi dan konsentrasi daun

kelor (*Moringa oleifera*) terhadap penurunan nilai pH, dikarenakan adanya peningkatan jumlah ion H^+ hasil dari disosiasi asam-asam organik yang dihasilkan dari metabolisme bibit kefir air. Dapat diamati pada gambar 4.2 bahwa semakin lama fermentasi dan semakin banyak konsentrasi daun kelor (*Moringa oleifera*) akan semakin menurunkan nilai pH. Akan tetapi pada perlakuan lama fermentasi 18 jam dengan tanpa konsentrasi (F1K0) hingga ditambahkan konsentrasi 2,5% (F1K1) mengalami kenaikan pH medium. Hal ini dikarenakan adanya proses adaptasi bibit kefir air pada media tumbuh baru yang berbeda dengan media pada umumnya yaitu air gula. Sebagaimana penelitian Funglie (2001) menyatakan bahwa, daun kelor (*Moringa oleifera*) kaya akan zat senyawa flavonoid, alkaloid, dan fenol. Senyawa-senyawa tersebut berpotensi sebagai antibakteri, sehingga proses metabolisme bibit kefir air pada awalnya terhambat oleh senyawa antibakteri yang terkandung dalam daun kelor.

Penambahan sukrosa 6% dalam fermentasi kefir air membantu proses adaptasi bibit kefir air untuk tumbuh dalam media daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai media tumbuh barunya. Dijelaskan oleh Pidoux (1998) bahwa penambahan sukrosa 6% pada fermentasi kefir air dapat dilakukan untuk mengoptimalkan proses fermentasi. Penelitian serupa pada kefir air yang ditumbuhkan pada medium sari tomat (*Solanum lycopersicum*) yang mengandung senyawa aktif solanin (0,007 %), saponin, asam folat, asam malat, asam sitrat, bioflavonoid (termasuk likopen, α dan β -karoten), protein, lemak, vitamin, mineral dan histamin dengan penambahan

sukrosa 12,5 % menunjukkan nilai pH medium yang lebih tinggi yaitu 3,20 hingga 3,74 setelah fermentasi 24 jam (Wigyanto, 2007).

Berdasarkan hasil pengukuran pH kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) yaitu 3,86-3,30 menunjukkan nilai pH yang lebih rendah dari penjelasan Gulitz (2011) bahwa standar pH kefir berada di kisaran pH 4. Sehingga untuk mengurangi rasa asam bisa dicampur dengan air mineral ketika mengkonsumsinya. Nilai pH suatu makanan atau minuman yang bersifat asam justru lebih menguntungkan dari pada basa, hal tersebut dikarenakan keadaan asam lebih mudah teradaptasi dalam perut dibandingkan dengan keadaan basa. Sebagaimana asam klorida dalam perut memiliki nilai pH 1, sehingga suatu makanan atau minuman yang cenderung bersifat asam akan lebih mudah beradaptasi dalam perut daripada makanan atau minuman dalam keadaan basa. Karena perut sendiri dirancang untuk menjadi asam, sehingga membantu dalam proses pencernaan (Barber, 2012). Selain itu keadaan asam juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Andriani, 2007).

4.3 Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Total Bakteri Asam Laktat Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Analisis total bakteri asam laktat (BAL) bertujuan untuk mengetahui jumlah koloni BAL pada setiap perlakuan kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*). Bakteri asam laktat dipilih sebagaimana dijelaskan dalam tabel 2.1 bahwa strain bakteri asam laktat lebih dominan daripada strain bakteri asam asetat dan yeast pada starter kefir air yang digunakan. Analisis dilakukan dengan metode Total Plate (TPC), yaitu

dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada cawan. Perhitungan dilakukan untuk mengetahui jumlah mikroba yang tumbuh pada produk fermentasi kefir air daun kelor. Data rata-rata hasil perhitungan BAL dapat diamati pada gambar 4.3 berikut:



Gambar 4.3 Diagram Batang Total BAL Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Berdasarkan gambar 4.3 dapat dilihat bahwa nilai total bakteri asam laktat kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) sebelum fermentasi adalah 0 cfu/ml, hal ini menandakan tidak adanya bakteri asam laktat yang tumbuh jika tanpa proses fermentasi. Adapun setelah difermentasi selama 18 jam meskipun tanpa tambahan daun kelor (konsentrasi 0%) ternyata bakteri asam laktat dapat tumbuh mencapai nilai 1×10^7 cfu/ml. Nilai total bakteri asam laktat terendah setelah fermentasi didapat pada perlakuan dengan konsentrasi daun kelor 2,5% dan lama fermentasi 18 jam dengan nilai $0,43 \times 10^7$ cfu/ml. Sedangkan nilai total bakteri asam laktat tertinggi

didapat pada perlakuan dengan konsentrasi daun kelor 10% dan Lama fermentasi 24 jam dengan nilai $1,53 \times 10^7$ cfu/ml.

Berdasarkan diagram rata-rata total BAL diatas menunjukan bahwa pertumbuhan BAL meningkat pada fermentasi 18 jam hingga fermentasi 24 jam. Lama fermentasi 18 jam merupakan kondisi substrat yang optimum bagi pertumbuhan BAL, hal ini dikarenakan nutrisi yang cukup serta kondisi pH mendekati 4. Menurut Manik (2005) bahwa, Pada pH 4 setelah BAL merombak sukrosa menjadi asam laktat pada medium kefir air maka BAL akan terhambat pertumbuhannya dan kondisi ini akan dimanfaatkan oleh khamir untuk tumbuh dan melakukan metabolismenya. Pelczar dan Chan (2005) juga berpendapat, bahwa faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan BAL adalah kadar garam, suhu, pH dan tersedianya karbohidrat sebagai sumber makanan.

Adapun pada konsentrasi daun kelor sebanyak 2,5% menunjukan nilai total BAL yang lebih rendah dari konsentrasi 10% yaitu berkisar 0,43 – 1,53 (10^7 cfu/ml), akan tetapi jumlah BAL mengalami peningkatan seiring bertambahnya lama fermentasi. Hal ini disebabkan kandungan metabolit sekunder daun kelor seperti flavonoid yang menghambat pertumbuhan BAL, sehingga perlu beradaptasi terlebih dahulu. Hal ini menyebabkan pertumbuhan BAL yang lebih lambat dari perlakuan lainnya. Adapun jumlah BAL yang meningkat seiring bertambahnya lama fermentasi dikarenakan BAL sudah adaptif dan toleran terhadap kondisi substrat.

Analisa statistik nilai rata-rata total BAL kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) bertujuan untuk mengetahui signifikansi perbedaan nilai rata-rata total BAL.

Analisis dilakukan dengan metode *two way ANOVA (Analysis of Variance)*. Berikut ini tabel ringkasan hasil analisa keragaman pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor (*Moringa oleifera*) serta interaksi keduanya terhadap jumlah BAL kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*).

Tabel 4.3.1 Ringkasan Analisa Keragaman Total Asam Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*) (Signifikansi 5%)

Sumber	Jumlah Kuadrat	df	Rata-Rata Kuadrat	F	Nilai Signifikansi
Lama Fermentasi	10,102	3	3,401	66,084	0,000
Konsentrasi	2,077	3	0,696	13,517	0,000
Interaksi	1,062	9	0,119	2,314	0,029

Berdasarkan hasil analisa keragaman menunjukkan bahwa setiap variabel berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) yaitu variabel konsentrasi, lama fermentasi maupun interaksi keduanya. Hal tersebut diketahui dari nilai signifikan setiap variabel yang ditunjukkan kurang dari 0,05.

Menurut Nurwantoro dan Djarijah (1997) bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba dalam pangan meliputi faktor intrinsik, merupakan sifat-sifat fisik, kimia, dan struktur yang dimiliki bahan itu sendiri. Faktor ekstrinsik, yaitu kondisi lingkungan pada penanganan dan penyimpanan bahan pangan seperti suhu, kelembaban, susunan gas diatmosfer. Faktor implisit yang merupakan sifat-sifat yang dimiliki oleh mikroba itu sendiri, dan faktor pengolahan. Adanya signifikansi pengaruh interaksi kedua yang ditunjukan pada tabel sidik ragam, sehingga analisa dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan (UJD) untuk mengetahui

notasi sampel uji yang berbeda antara satu dengan lainnya. Berdasarkan hasil pengujian dapat diamati pada tabel 4.3.2 berikut:

Tabel 4.3.2 Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Total Bakteri Asam Laktat Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Perlakuan	BAL (X') (CFU/mL)
F0K0	0,00 (a)
F1K0	0,63 (bc)
F2K0	0,80 (bc)
F3K0	1,00 (cd)
F0K1	0,00 (a)
F1K1	0,43 (b)
F2K1	0,76 (bc)
F3K1	1,06 (cd)
F0K2	0,00 (a)
F1K2	1,00 (cd)
F2K2	1,06 (cd)
F3K2	0,83 (bc)
F0K3	0,00 (a)
F1K3	1,30 (de)
F2K3	1,40 (de)
F3K3	1,53 (e)

Berdasarkan Tabel 4.3.2 dapat diketahui bahwa pengaruh interaksi antara lama fermentasi dan konsentrasi terhadap jumlah koloni BAL pada beberapa perlakuan tidak berbeda nyata. Hal ini dapat diketahui pada notasi yang tidak semua berbeda pada tiap perlakuan. Hanya kefir dengan perlakuan antara F0 (tanpa fermentasi) dan F1 (fermentasi 18 jam) yang menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini disebabkan pada perlakuan F0 belum terjadi fermentasi sedangkan perlakuan F1 terjadi fermentasi selama 18 jam sehingga diasumsikan BAL mengalami pertumbuhan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Usmiati dan Sudono (2004)

bahwa pertumbuhan BAL cenderung meningkat dari 0 jam sampai 12 jam kemudian cenderung stasioner dari 12 jam sampai 24 jam. Hal ini disebabkan berkurangnya nutrient serta meningkatnya senyawa asam hasil metabolisme *yeast*, sehingga akan menambah nilai H^+ dimana ion yang menyebabkan asam serta menurunnya pH, dimana pH yang rendah (< 4) dapat menghambat pertumbuhan BAL.

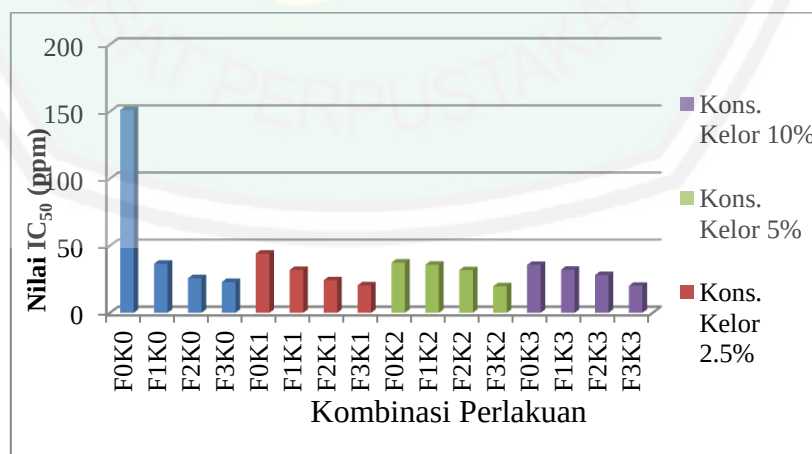
Adapun Notasi yang tidak berbeda nyata dari perlakuan fermentasi 18 jam hingga 24 jam pada semua perlakuan konsentrasi, hal ini mengindikasikan peningkatan jumlah BAL pada penelitian ini tidak begitu signifikan walaupun mencapai lama fermentasi 24 jam, yaitu dengan jumlah BAL berkisar 0,43 – 1,53 (10^7 cfu/ml). Hal ini disebabkan sebagian BAL masih dapat bertahan hidup walaupun pada suhu rendah. Sebagaimana Chou dan Weimer (1999) dalam penelitiannya, menyeleksi 7 isolat *Lactobacillus acidophilus* dan hasilnya menunjukkan bahwa semua isolat tahan terhadap pH 3,5 selama 90 menit. Sedangkan Jacobsen et al. (1999) menguji ketahanan 47 isolat BAL dari berbagai sumber pada pH 2,5. Dari 47 isolat tersebut hanya 29 isolat yang mampu bertahan pada pH 2,5 dan tidak ada satupun yang mampu tumbuh setelah inkubasi selama 4 jam. Tekle (2015) juga melakukan seleksi BAL asal makanan fermentasi Indonesia dan hasilnya menunjukkan hampir semua isolat memiliki ketahanan yang baik untuk tumbuh pada pH rendah dengan penurunan jumlah koloni pada pH rendah dibandingkan kontrol tidak sampai 1 unit log/ml.

Strain bakteri asam laktat, asam asetat serta *yeast* yang terkandung pada kefir air merupakan bakteri probiotik yang baik untuk menyeimbangkan mikroflora pada

usus. pada penelitian ini sesuai dengan SNI yang telah ditentukan yaitu minimal 1×10^7 . Kandungan probiotik serta asam yang terbentuk dapat mencegah mikroorganisme pembusuk dan mencegah mikroorganisme patogen. Sehingga menunjukkan bahwa kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) merupakan produk yang aman dan baik untuk dikonsumsi (*halalan Thoyyiban*).

4.4 Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Antioksidan Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Analisa aktivitas antioksidan kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) dilakukan untuk mengetahui nilai IC_{50} , sehingga diketahui adanya aktivitas antioksidan. Pengamatan menggunakan larutan 1,2 diphenil-2-pikrihidrazil (DPPH) sebagai radikal bebas yang dikombinasikan dengan sampel kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*), sehingga terjadi perubahan warna. Pengujian dilanjutkan dengan spektrofotometer untuk mengetahui inhibisi radikal bebas pada sampel. Adapun data rata-rata nilai hasil pengukuran dapat dilihat pada gambar 4.4 berikut:



Gambar 4.4 Diagram Batang Antioksidan Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Berdasarkan gambar 4.4 menunjukkan hasil penurunan aktivitas antioksidan kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan semakin lama fermentasi dan semakin banyak konsentrasi daun yang diberikan. Menurunnya nilai IC_{50} mengindikasikan semakin tingginya peredaman radikal bebas DPPH oleh sampel kefir air daun kelor, sehingga hal ini membuktikan adanya kandungan antioksidan yang tinggi pada kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*).

Perlakuan sebelum fermentasi dan tanpa konsentrasi daun kelor F0K0 menghasilkan nilai IC_{50} yang paling tinggi yaitu 151,11 ppm, nilai tersebut menunjukkan antioksidan yang tergolong lemah. Adapun perlakuan setelah fermentasi menunjukkan nilai IC_{50} yang sangat rendah dibanding sebelum fermentasi yaitu berkisar 44,08 ppm – 20,15 ppm. Nilai IC_{50} terendah didapat pada perlakuan F3K3 (fermentasi 24 jam dan konsentrasi 10 %) yaitu 20,15 ppm, hal ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling kuat dalam penelitian kali ini, serta tergolong aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Sedangkan nilai IC_{50} tertinggi didapat pada perlakuan F0K1 (fermentasi 0 jam dan konsentrasi 2,5 %) yaitu 44,08 ppm, hal ini menunjukkan aktivitas antioksidan paling rendah diantara perlakuan setelah fermentasi lainnya, akan tetapi nilai IC_{50} tersebut juga tergolong aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Nilai IC_{50} merupakan angka yang menunjukkan konsentrasi kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Menurut

Molyneux (2004) Senyawa antioksidan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50$ ppm, antioksidan kuat jika IC_{50} 50-100 ppm, antioksidan sedang jika IC_{50} 100-150 ppm, antioksidan lemah jika nilai $IC_{50} > 150-200$ ppm dan antioksidan sangat lemah jika $IC_{50} > 200$ ppm. Apabila suatu zat memiliki $IC_{50} > 200$ ppm, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan.

Penambahan konsentrasi daun kelor membuat aktivitas antioksidan semakin kuat. Hal ini dikarenakan daun kelor kaya akan senyawa antioksidan, antioksidan alami diantaranya yaitu tokoferol, lesitin, fosfatida, sesamol, gosipol, karoten, asam tanat, *gallic acid* (senyawa phenolic), *ferulic acid* (senyawa phenolic), *quersetin* (flavonoid) (Yuliani, 2015). Aktivitas antioksidan juga meningkat selama proses fermentasi disebabkan karena pada dasarnya, kefir air sendiri sudah berpotensi sebagai sumber antioksidan alami yang baik. Peningkatan aktivitas antioksidan terjadi karena adanya kemampuan dari bakteri asam laktat, bakteri asam asetat dan khamir. Sebagai mikroba dalam bibit kefir air yang dapat menghasilkan metabolit intraseluler dan ekstraseluler, berupa polipeptida, polisakarida, asam organik serta glutathione yang berpotensi sebagai antioksidan (Alsayadi *et al.*, 2013). Sehingga produk yang dihasilkan dari fermentasi daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan bibit kefir air, memberikan aktivitas antioksidan yang lebih besar dari kombinasi keduanya. Pernyataan tersebut diperkuat oleh Pelczar (1985) bahwa seringkali, kombinasi beberapa jenis antioksidan memberikan perlindungan yang lebih baik (sinergisme) terhadap oksidasi dibandingkan dengan satu jenis antioksidan saja.

Analisa statistik nilai rata-rata aktivitas antioksidan kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) bertujuan untuk mengetahui signifikansi perbedaan nilai rata-rata aktivitas antioksidan sampel uji yang sudah diukur dengan spektrofotometer. Analisis dilakukan dengan metode *two way ANOVA (Analysis of Variance)*. Berikut ini tabel ringkasan hasil analisa keragaman pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor (*Moringa oleifera*) serta interaksi keduanya terhadap aktivitas antioksidan kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*).

Perbedaan diantara perlakuan dapat diketahui dengan menggunakan uji lanjut ANOVA. Ringkasan analisis (ANOVA) dapat dilihat pada tabel 4.4.1 dibawah ini:

Tabel 4.4.1 Ringkasan Analisa Aktivitas Antioksidan Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*) (Signifikansi 5%)

Sumber	Jumlah Kuadrat	df	Rata-Rata Kuadrat	F	Nilai Signifikansi
Lama Fermentasi	72,321	3	24,107	11571300,00	0,000
Konsentrasi	1784,523	3	594,841	285523660,00	0,000
Interaksi	1025,179	9	113,909	54676225,33	0,000

Berdasarkan hasil analisa keragaman menunjukkan bahwa setiap variabel berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) yaitu variabel konsentrasi, lama fermentasi maupun interaksi keduanya. Hal tersebut diketahui dari nilai signifikan setiap variabel yang ditunjukkan kurang dari 0,05. Hal ini mengindikasikan bahwa lama fermentasi, variasi konsentrasi serta interaksi keduanya berpengaruh nyata terhadap daya aktivitas antioksidan. Adanya pengaruh interaksi kedua faktor yang signifikan sehingga analisa dilanjutkan dengan

Uji Jarak Duncan (UJD) untuk mengetahui notasi sampel uji yang berbeda antara satu dengan lainnya. Berdasarkan hasil pengujian dapat diamati pada tabel 4.4.2 berikut :

Tabel 4.4.2 Analisis Uji Jarak Duncan (UJD) Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) terhadap Aktivitas Antioksidan Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Perlakuan	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Aktivitas Antioksidan
F0K0	151,11 (k)	Lemah
F1K0	36,56 (g)	Sangat Kuat
F2K0	25,75 (g)	Sangat Kuat
F3K0	22,98 (d)	Sangat Kuat
F0K1	44,08 (j)	Sangat Kuat
F1K1	31,95 (h)	Sangat Kuat
F2K1	24,26 (i)	Sangat Kuat
F3K1	20,41 (e)	Sangat Kuat
F0K2	37,40 (i)	Sangat Kuat
F1K2	35,85 (g)	Sangat Kuat
F2K2	31,80 (cd)	Sangat Kuat
F3K2	19,73 (bc)	Sangat Kuat
F0K3	35,70 (f)	Sangat Kuat
F1K3	32,08 (e)	Sangat Kuat
F2K3	28,06 (b)	Sangat Kuat
F3K3	20,15 (a)	Sangat Kuat

Data dari analisis UJD Berdasarkan Uji Jarak Duncan 5% diatas menunjukkan bahwa perlakuan F1K0 dan F2K0 dengan notasi (g) tidak berbeda nyata, hal ini dikarenakan pada perlakuan tersebut belum ditambahkan daun kelor yang kaya akan senyawa antioksidan, sehingga kandungan antioksidan pada sampel terbatas. Perlakuan F2K1 dengan F0K2 keduanya bernotasi (i), begitupun pada perlakuan F3K1 dan F1K3 keduanya bernotasi (e). Sehingga diasumsikan pengaruh dari perlakuan tersebut tidak berbeda nyata. Sedangkan pada perlakuan lainnya memiliki notasi yang berbeda-beda, hal ini dikarenakan pengaruh dari masing-masing perlakuan tersebut berbeda nyata.

Perlakuan F2K2 dan F3K2 menunjukan notasi yang tidak berbeda nyata hal ini dikarenakan perbedaan kandungan asam organik yang berfungsi sebagai antioksidan pada keduanya tidak begitu signifikan.

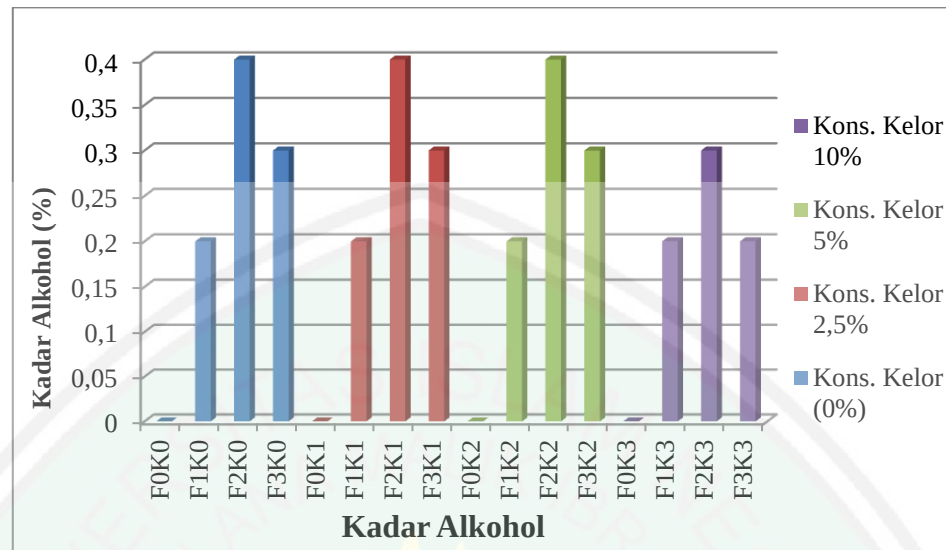
Notasi setiap perlakuan yang bervariasi dan hampir seluruhnya berbeda menunjukan interaksi kedua faktor (lama fermentasi dan konsentrasi) berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) peningkatan aktivitas antioksidan seiring dengan penambahan konsentrasi daun kelor. Hal ini dikarenakan daun kelor kaya akan zat aktif antioksidan (Nurwanto dan Djarijah, 1997). Begitupun semakin lama proses fermentasi maka aktivitas antioksidan juga semakin meningkat. Hal ini dikarenakan semakin lama proses fermentasi maka bibit kefir air dari simbiosis berbagai macam bakteri dan khamir semakin banyak menghasilkan senyawa-senyawa asam. Keadaan asam menunjukan banyaknya ion H^+ yang elektron valensinya tidak berpasangan. Sehingga selain flavonoid ion H^+ juga dapat mengikat elektron yang tidak berpasangan pada radikal bebas (DPPH). Sebagaimana menurut Hidayat (2013), bahwa keadaan asam dimana banyak mengandung ion H^+ merupakan kondisi yang sinergis, yaitu ion H^+ dapat mengikat elektron yang tidak berpasangan pada radikal bebas (DPPH) sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan. Zubaidah dan Musdholifah (2016) juga menjelaskan pada saat substrat mulai habis, akan merangsang terbentuknya enzim-enzim yang berperan untuk pembentukan metabolit sekunder. Selain terjadi pembentukan fenol, ternyata juga terjadi pembentukan beberapa vitamin lain sehingga dapat meningkatkan nilai aktivitas antioksidan kefir air. Prakash (2001) juga

melaporkan bahwa flavonoid dapat bertahan pada pH 3 – 8 sehingga flavonoid yang terdapat pada kefir air daun kelor tetap stabil walaupun pHnya asam.

Menurut Oktaviani (2014) bahwa penambahan alami sayuran yang sudah dikeringkan maupun yang masih segar pada minuman probiotik dapat meningkatkan aktivitas antioksidan serta meningkatkan proteksi konsumen terhadap penyakit yang disebabkan oleh paparan radikal bebas serta stres oksidatif. Sehingga kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) merupakan minuman probiotik yang kaya akan zat aktif antioksidan yang dapat memberikan efek fisiologis menyehatkan serta dapat menangkal radikal bebas.

4.5 Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Kadar Alkohol Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Analisa kadar alkohol dilakukan untuk mengetahui kadar alkohol kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) setelah difermentasi dengan bibit kefir air. Pengukuran digunakan dengan piknometer. Adapun data kadar alkohol kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) dapat dilihat pada gambar 4.5 berikut:



Gambar 4.5 Diagram Batang Kadar Alkohol Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Berdasarkan gambar 4.5 dapat dilihat bahwa nilai kadar alkohol kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) sebelum fermentasi adalah 0 % hal ini menandakan tidak terjadi reaksi perombakan sukrosa pada medium karena tidak ditambahkan bibit kefir air. Adapun setelah difermentasi selama 18 jam dengan konsentrasi 2,5 %, 5 % dan 10 % menghasilkan kadar alkohol terendah yaitu sebanyak 0,2 %. Kadar alkohol tertinggi didapat pada perlakuan dengan lama fermentasi 21 jam yaitu sebanyak 0,4 % dan mengalami penurunan setelah lama fermentasi 24 jam yaitu dengan kadar alkohol 0,2 % - 0,3 % . Hal ini dikarenakan pada lama fermentasi 18 jam pH medium kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) mencapai 3,86 – 3,63, dimana kondisi pH tersebut optimum untuk reaksi perombakan sukrosa oleh khamir yang terdapat pada bibit kefir air. Sebagaimana dijelaskan oleh Manik (2005) bahwa, Pada pH 4 setelah BAL merombak sukrosa menjadi asam laktat pada medium kefir air maka BAL akan

terhambat pertumbuhannya dan kondisi ini akan dimanfaatkan oleh khamir untuk tumbuh dan melakukan metabolismenya. Proses fermentasi gula oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang dapat menghasilkan etil alkohol (etanol) dan CO₂. Kemudian pada lama fermentasi 24 jam nilai kadar alkohol hasil fermentasi khamir dengan adanya oksigen akan mengalami fermentasi lebih lanjut oleh bakteri asam asetat, satu diantaranya bakteri *Acetobacter aceti* yang merombak alkohol menjadi asam asetat.

Sehingga nilai kadar alkohol mengalami penurunan menjadi 0,2 % - 0,3 %. Sebagaimana dijelaskan oleh Wigyanto (2016) bahwa, Kadar alkohol menurun dengan semakin lamanya fermentasi karena sebagian alkohol menguap adapun sukrosa juga berkurang karena ada sebagian sukrosa dioksidasi lebih lanjut menjadi asam asetat.

Data hasil penelitian kemudian dianalisis varian (ANOVA). Hal ini dilakukan untuk mengetahui *two way* signifikansi pengaruh faktor lama fermentasi, konsentrasi serta interaksi keduanya terhadap kadar alkohol kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*). Ringkasan data hasil analisis varian (Anava) pengaruh jenis rebusan daun terhadap volume dan kadar bioetanol disajikan pada tabel 4.5.1:

Tabel 4.5.1 Alkohol Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*) (Signifikansi 5%)

Sumber	Jumlah Kuadrat	df	Rata-Rata Kuadrat	F	Nilai Signifikansi
Lama Fermentasi	33,892	3	11,297	18,034	0,000
Konsentrasi	24,727	3	8,242	13,157	0,000
Interaksi	15,074	9	1,675	2,674	0,019

Berdasarkan tabel 4.5.1 diketahui hasil analisis kadar alkohol dengan *two way* ANOVA memiliki nilai signifikansi yang $< 0,05$ artinya lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor (*Moringa oleifera*) berpengaruh terhadap kadar alkohol kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*). Lama fermentasi dan konsentrasi daun kelor (*Moringa oleifera*) telah memberikan pengaruh yang nyata untuk kadar alkohol yang dimiliki kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*), hal tersebut juga berpengaruh nyata pada interaksi keduanya dengan hasil yang signifikan.

Menurut wigyanto (2007), beberapa faktor penting yang mempengaruhi kadar alkohol pada fermentasi kefir air diantaranya yaitu suhu, pH, oksigen, konsentrasi substrat, waktu fermentasi, dan jenis mikroba. Prescott dan Dum (1959), menambahkan bahwa waktu fermentasi merupakan faktor terpenting dalam proses fermentasi alkohol. Selain itu kadar alkohol juga ditentukan oleh kandungan gula pada substrat. penelitian Hasanah dkk. (2015), yang menyatakan bahwa semakin tinggi kadar glukosa awal maka kadar alkohol yang dihasilkan semakin tinggi pula, Menurut Asli (2009), konsentrasi gula awal mempengaruhi konsentrasi alkohol dan konversi gula dalam proses fermentasi. Rudolf *et al.* (2005), menyatakan secara teoritis 100% glukosa diubah menjadi 51,1% alkohol dan 48,9% menjadi CO₂. Selisih kandungan gula pada setiap konsentrasi dalam penelitian ini hanya sedikit dikarenakan penambahan sukrosa pada masing–masing sampel sama, yaitu sebanyak 6 gram per 100 ml. Adapun selisih kandungan gula yang disebabkan dari perbedaan konsentrasi daun kelor dalam penelitian ini hanya sedikit dan telah dikonversikan oleh BAL menjadi asam laktat pada tahap awal sebelum pH medium mencapai 4.

Sehingga jelas bahwa konsentrasi berpengaruh nyata terhadap kadar alkohol kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*).

Secara singkat jalur metabolisme perombakan gula menjadi alkohol yaitu berawal dari gula yang berfungsi sebagai substrat awal diubah menjadi asam piruvat melalui proses glikolisis, kemudian terjadi proses dekarboksilasi asam piruvat menjadi asetaldehid dan karbondioksida dengan bantuan enzim piruvat dekarboksilase. Asetaldehid hasil dari dekarboksilasi asam piruvat tersebut kemudian diubah menjadi alkohol dengan adanya alkohol dehidrogenase (Puspitasari dan Sidik, 2009). Adapun untuk mengetahui jarak signifikansi pengaruh dari setiap lama fermentasi maka dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan (UJD) dengan taraf signifikansi 5%. Hasil uji lanjut disajikan pada tabel 4.12:

Tabel 4.5.2 Analisis Uji Duncan Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Antioksidan Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*).

Perlakuan	Kadar Alkohol (%)
F0K0	0 (a)
F1K0	0,4 (d)
F2K0	0,4 (d)
F3K0	0,2 (b)
F0K1	0 (a)
F1K1	0,3 (c)
F2K1	0,4 (d)
F3K1	0,2 (b)
F0K2	0 (a)
F1K2	0,2 (b)
F2K2	0,4 (d)
F3K2	0,3 (c)
F0K3	0 (a)
F1K3	0,3 (c)
F2K3	0,2 (b)
F3K3	0,2 (b)

Berdasarkan tabel 4.5.2 telah diketahui bahwa masing-masing faktor fermentasi memiliki notasi yang berbeda. Hal ini menandakan adanya pengaruh lama fermentasi yang signifikan terhadap kadar alkohol kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*). Lama fermentasi 21 jam merupakan faktor dengan perolehan kadar alkohol paling tinggi, yaitu sebesar (0,4) sehingga dinotasikan (d). Lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar alkohol karena semakin lama fermentasi maka semakin banyak mikroorganisme yaitu *yeast* yang aktif atau berkembangbiak. Menurut Rahman (2009), khamir merupakan mikroorganisme heterofermentatif, dimana mampu mengubah substrat menghasilkan lebih dari satu senyawa. Khamir akan memecah gula sederhana menjadi alkohol dan karbondioksida. Dalam pembentukan alkohol atau etanol, mula-mula terjadi pemecahan glukosa menjadi asam piruvat. Asam piruvat mengalami dekarboksilasi menjadi acetaldehida. Acetaldehida tereduksi menjadi etanol.

Nilai kadar alkohol pada penelitian ini mengalami penurunan setelah dilakukan fermentasi selama 24 jam. Kunaepah (2008), menyatakan bahwa kandungan total asam yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dalam proses fermentasi termasuk dari golongan khamir atau *yeast*. Dari pernyataan tersebut dapat diduga bahwa khamir tidak dapat memecah substrat seperti pada awal fermentasi, sehingga kemampuan khamir untuk menghasilkan alkohol mulai menurun setelah dilakukan fermentasi 24 jam. Penurunan kadar alkohol disebabkan juga oleh pengkonversian alkohol menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat. Menurut Sari dkk (2008), menyatakan bahwa berkurangnya kadar alkohol disebabkan karena

alkohol telah terkonversi menjadi senyawa lain, misalnya ester. Menurut Pramita (2013), adanya penurunan jumlah alkohol yang didapatkan disebabkan karena etanol yang dihasilkan berubah menjadi asam-asam organik seperti asam cuka (asam asetat) oleh bakteri asam asetat pada bibit kefir air.

Hasil penelitian ini yaitu didapatkan hasil alkohol berkisar antara 0,2% hingga 0,4% setelah fermentasi selama 18 jam, 21 jam dan 24 jam. Sehingga hasil memiliki kadar alkohol kurang dari 1%, hal ini menunjukkan bahwa minuman kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) masih dalam kualitas baik dan layak dikonsumsi. Hal tersebut sesuai ijtihad fatwa MUI (Majelis Ulama' Indonesia) (2001) adanya batas 1% kadar alkohol yang diperbolehkan untuk dikonsumsi. Dengan demikian dapat memperjelas dalam penetapan status keharaman minuman fermentasi.

Allah ﷻ berfirman dalam Al-Qur'an surat Ash-Shaffat (37): 47:

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا إِنَّمَا الْخَمْرُ وَالْمَيْسِرُ وَالْأَنْصَابُ وَالْأَزْلَامُ رِجْسٌ مِّنْ عَمَلِ الشَّيْطَانِ فَاجْتَنِبُوهُ لَعَلَّكُمْ تُفْلِحُونَ

Artinya: "Hai orang-orang yang beriman, sesungguhnya (meminum) **khamar**, berjudi, (berkorban untuk) berhala, mengundi nasib dengan panah, adalah **termasuk perbuatan syaitan**. Maka jauhilah perbuatan-perbuatan itu agar kamu mendapat keberuntungan" Q.S. Ash-Shaffat (37): 47.

Ayat tersebut secara jelas menyebutkan perintah untuk menjauhi khamar.

Kata رِجْسٌ menunjukkan pada kenajisan. Kata رِجْسٌ dalam bahasa berarti kotor dan

najis (Asy-Syinqithi, 2007).

Berdasarkan tafsir Adwa'ul Bayan oleh Asy-Syanqithi (2007) (Hai orang-orang yang beriman, sesungguhnya khamar) minuman yang memabukkan yang dapat menutupi akal sehat (berjudi) taruhan(berkorban untuk berhala) patung-patung sesembahan (mengundi nasib dengan anak panah) permainan undian dengan anak panah (adalah perbuatan keji) menjijikkan lagi kotor (termasuk perbuatan setan) yang dihiasi oleh setan. (maka jauhilah perbuatan-perbuatan itu) yakni kekejian yang terkandung di dalam perbuatan-perbuatan itu jangan sampai kamu melakukannya (agar kamu mendapat keberuntungan).

Adapun Rasulullah ﷺ memerintahkan ummat-Nya untuk selalu mengkonsumsi makanan yang halal lagi baik, serta melarang keras untuk mengkonsumsi makanan yang haram. Sebagaimana sabda Rasulullah ﷺ :

عَنْ أَبِي عَبْدِ اللَّهِ النُّعْمَانِ بْنِ بَشِيرٍ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُمَا قَالَ سَمِعْتُ رَسُولَ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ يَقُولُ :
 إِنَّ الْخَلَالَ بَيِّنٌ وَإِنَّ الْحَرَامَ بَيِّنٌ وَبَيْنَهُمَا أُمُورٌ مُشْتَبِهَاتٌ لَا يَعْلَمُهُنَّ كَثِيرٌ مِنَ النَّاسِ, فَمَنْ
 اتَّقَى الشُّبُهَاتِ فَقَدْ اسْتَبْرَأَ لِدِينِهِ وَعَرْضِهِ, وَمَنْ وَقَعَ فِي الشُّبُهَاتِ وَقَعَ فِي الْحَرَامِ, كَالرَّاعِي يَرْعَى حَوْلَ
 الْحِمَى يُوشِكُ أَنْ يَرْتَعَ فِيهِ, أَلَا وَإِنَّ لِكُلِّ مَلِكٍ حِمًى أَلَا وَإِنَّ حِمَى اللَّهِ مَحَارِمُهُ أَلَا وَإِنَّ فِي الْجَسَدِ مُضْعَةً
 إِذَا صَلَحَتْ صَلَحَ الْجَسَدُ كُلُّهُ وَإِذَا فَسَدَتْ فَسَدَ الْجَسَدُ كُلُّهُ أَلَا وَهِيَ الْقُلْبُ (رواه البخاري ومسلم)

Artinya: “Dari Abu Abdillah Nu'man bin Basyir radhiallahuanhu dia berkata: Saya mendengar Rasulullah Shallallahu'alaihi wasallam bersabda: **Sesungguhnya yang halal itu jelas dan yang haram itu jelas.** Di antara keduanya terdapat perkara-perkara yang syubhat (samar-samar) yang tidak diketahui oleh orang banyak. Maka siapa yang takut terhadap syubhat berarti dia telah menyelamatkan agama dan kehormatannya. Dan siapa yang terjerumus dalam perkara syubhat, maka akan terjerumus dalam perkara yang diharamkan. Sebagaimana penggembala yang menggembalakan hewan gembalaannya disekitar (ladang) yang dilarang untuk memasukinya, maka lambat laun dia akan

memasukinya. Ketahuilah bahwa setiap raja memiliki larangan dan larangan Allah adalah apa yang Dia haramkan. Ketahuilah bahwa dalam diri ini terdapat segumpal daging, jika dia baik maka baiklah seluruh tubuh ini dan jika dia buruk, maka buruklah seluruh tubuh; ketahuilah bahwa dia adalah hati “(Riwayat Bukhori dan Muslim).

Sebagaimana hadits Nabi ﷺ diatas bahwa, telah jelas hal-hal yang dihalalkan juga yang diharamkan Allah ﷻ dan diantara keduanya adalah perkara subhat yang kebanyakan orang tidak mengetahuinya. Berkaitan dengan makanan dan minuman yang dikonsumsi seyogyanya harus dijamin kehalalannya baik dari zatnya maupun proses dalam memperolehnya, hal ini agar terhindar dari makanan ataupun minuman yang haram juga sekalipun syubhat. Adapun seseorang yang menghindari makanan ataupun minuman yang syubhat maka dapat menyelamatkan agama juga kehormatannya, sedangkan seseorang yang terjerumus dalam perkara syubhat maka akan terjeumus kedalam perkara yang diharamkan. Hal ini dikarenakan makanan yang dikonsumsi sangat berpengaruh terhadap aktivitas yang diamalkan setiap harinya.

Alkohol dalam kadar yang sedikit, rata-rata dapat ditemukan dalam komposisi sayur mayur dan buah-buahan sehingga masih aman dan bermanfaat untuk dikonsumsi. Alkohol juga terkandung dalam khamar yang dapat membahayakan kesehatan dan masyarakat. Dinamakan al-ghaul (alkohol) karena dapat merusak akal (yagtal al-‘aql) (Kunaepah, 2008).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil berdasarkan hasil dan pembahasan adalah sebagai berikut:

Lama proses fermentasi pada penelitian ini berpengaruh nyata terhadap total asam laktat, pH, total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan dan kadar alkohol kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan nilai signifikansi $< 0,05$. Sedangkan konsentrasi dan interaksi keduanya (lama fermentasi dan konsentrasi) berpengaruh nyata terhadap semua variabel yaitu; total asam laktat, pH, total bakteri asam laktat, aktivitas antioksidan dan kadar alkohol. Berdasarkan hasil pengujian total bakteri asam laktat berkisar 0,06%-1,63%, data pH berkisar 6,03-3,30. Data total BAL (Bakteri Asam Laktat) setelah fermentasi berkisar 0,43-1,53 ($\times 10^7$ cfu/ml). Diperoleh nilai aktivitas antioksidan diperoleh nilai IC_{50} setelah fermentasi berkisar 44,08-19,73 (ppm). Semakin rendah nilai IC_{50} maka semakin kuat aktivitas antioksidan sehingga kefir air daun kelor tergolong antioksidan yang sangat kuat dan data kadar alkohol setelah fermentasi berkisar 0,2-0,4. Berdasarkan hasil dan pembahasan terhadap data yang diperoleh serta diintegrasikan dengan Hukum islam yang berpedoman pada al Quran dan Hadits, maka produk kefir air daun kelor (*Moringa oleifera*) adalah produk yang *halalan toyyiban*.

5.1 Saran

Saran untuk penelitian kefir air daun kelor guna menyempurnakan dan dapat dikembangkan pada penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian tentang variasi media fermentasi yang baru (selain air gula) serta masa simpan kefi air daun kelor (*Moringa oleifra*).



DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah bin Muhammad bin ‘Abdurrohman bin Ishaq Alu Syaikh. 2003. *Tafsir Ibnu Katsir*. Jakarta: Penebar Sunnah
- Afifah, Nurul. 2010. Analisis Kondisi dan Potensi Lama Fermentasi Medium Kombucha (Teh, Kopi, Rosela) dalam Menghambat Bakteri Patogen “(*Vibrio cloreae* dan *Bacillus cereus*)” Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulanan Malik Ibrahim
- Agustni, Yuriyah, Nuril Hafidzoh dan Rudiana. 2014. Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Konsentrasi Bibit Kefir Terhadap Mutu Kefir Susu Sapi. *UNESA Journal of Chemistry*. 3 (2)
- Al-Baari, A., Azizah, N dan Mulyani, S. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal aplikasi Teknolog Pangan*, 1 (2):72-77
- Alsayahdi, M. Ms., AlJawfl, Y., Belarbi, M. dan Sabri F. Z. 2013. Antioxidant Potency of Water Kefir. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciennes*. 2 (6): 2444-2447
- Andriani., Darmono., W. Kurniawati. 2007. Pengaruh Asam Asetat dan Asam Laktat sebagai Antibakteri Terhadap Bakteri Salmonella sp. yang Diisolasi dari Karkas Ayam. *J. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner* 2007: 930-934
- Anfiteatro D. Dan Schneedorf, J. M. 2004. *Kefir, a Probiotic produced by encapsulated microorganism and inflammation*. In: Carvalho JCT. (ed). *Antiinflammatory phytotherapics (Portuguese)*. Techmed. 443-467

- Aristya, Amanda Liana, Anang. M. Legowo, Dan Ahmad N. 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 Vol. 04 No. 07*
- Asy-Syanqithi, Syaikh. 2007. *Tafsir Adwa'ul Bayan*. Jakarta: Pustaka Azzam
- Bahar, B. 2008. *Kefir Minuman Fermentasi dengan Segudang Khasiat untuk Kesehatan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Barber, Jack. 2012. pH Paranoia: Understanding Alkaline Water Claims. <http://www.watertechonline.com/ph-paranoia-understanding-alkaline-water-claims/> Diakses tanggal 30 November 2017
- Buckle, K.A. 1987. Ilmu Pangan, Universitas Indonesia (UI. Press), Jakarta.
- BPOM RI. (2005). Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK 00.05.41.1384 tentang Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmaka. Jakarta : Kepala BPOM
- Chaitow, L. and N. Trenev, 2002. Probiotics. Natasha Trenev Website. [www. Natren.com](http://www.Natren.com)
- Chou L.Z. dan Weimer B. 1999. Isolation and characterization of acid and bile tolerant isolates from strains of *L. acidophilus*. *J Dairy Sci* 82: 23-31
- Doerr B. and Cameron L. 2005. *Moringa Leaf Powder*. ECHO Technical Note. USA
- Winarno
- Fardiaz, S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan Edisi Pertama. Cetakan Pertama. Raja Grafindo Persada, Jakarta
- Fuglie, L. J. 2001. The Miracle Tree: Moringa oleifera: Natural Nutrition for the Tropics. Training Manual. Church World Service. Dakar, Senegal

- Gianti, I. dan H. Evanuarini. 2011. Pengaruh Penambahan Gula Dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Fisik Susu Fermentasi. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*. 6:28-33
- Gulitz, A., Stadie, J., Wnning, M., Ehrmann, M., dan Vogel, R. 2011. The Microbial Diversity of Water Kefir. *In International Journal of Food Microbiology*. 284-288
- Hadiwiyoto, S. 1983. *Teori dan Prosedur Pengujian Mutu susu dan Hasil Olahannya*. Yogyakarta: Liberty Press
- Haryadi, Haryadi (2013) *Analisa Kadar Alkohol Hasil Fermentasi Ketan Dengan Metode Kromatografi Gas Dan Uji Aktifitas Saccharomyces cereviceae Secara Mikroskopis (Analysis of Alcohol Content Fermented Glutinous by Method Chromatography Gas and Test Activity Saccharomyces Cereviceae in a Microscopic Manner)*. Undergraduate thesis, Undip
- Hastuti, Afifah Puji dan Kusnadi, Joni. 2016. Organoleptik dan Karakteristik Fisik Kefir Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* L.) dari Teh Rosella Merah di Pasaran. *Jurnal Pangan Agroindustri* 4(1) : 313-320
- Hidyat, N., Padaga, M. C., dan Suhartini, S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Andi
- Imam, Syaikh. 2009. *Tafsir Al-Qurtubi Juz 'Ammah*. Jakarta: Pustaka Azzam
- Integrated Taxonomic Information System. 2013. *Moringa oleifera* (Drumstick and Name. Encyclopedia of Life Newsletter. Tanggal akses 6 September 2014. http://hy_entr ies / 4 6 2 1 4 7 5 7 / o v e r v i e w / moringa-oleifera
- Irianto, Hari Eko. 2013. *Produk Fermentasi Ikan*. Bogor: Penebar Swadaya
- Khusnawati, Nur dan Sulistyowati, Eddy. 2014. Metode Pengeringan Oven pada Pengolahan Daun Kersen (*Muntinga calabura* L.) dan Hubungannya Terhadap Kandungan Zat Gizi. *Jurnal UNY*. 3 (2)

- Krisnadi, A. Dudi. 2015. *Kelor sumber Nutrisi*. Blora: LSM MEPELING
- Kristian, Vito. 2011. Peremajaan agnesia Pengembangan Adonan. <http://repository.wima.ac.id/6012/Bab%2011.pdf>. Diakses tanggal 15 April 2017
- Kumalaningsih, Sri., 2006, Antioksidan Alami: Penangkal Radikal Bebas, Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan, Trubus Agrisarana, Surabaya
- Kunaepah, Uun. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Fitokimia Kefir Susu Kacang Merah. *Tesis Program Pascasarjana Universitas Diponegoro*
- Kurniawan, Pitra. 2014. Tabloid Cempaka: Manfaatberbeda dari Buah dan Daun Kersen. <http://www.tabloidcempaka.com/index.php/read/kesehatan198/MnfaaBErbeda-dari-Buah-dan-Daun-Kersen#>. Vh5wTkA2fr. Diakses tanggal 15 April 2017
- Kurniasih. 2013. *Khasiat dan Manfaat Daun Kelor*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press
- Lehningeer A. L. 1990. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 2* (diterjemahkan oleh Thenawidjaja). Bogor: Erlangga
- Majelis Ulama Indonesia. 2009. *Fatwah nomer 11 tahun 2009: Tentang Hukum Alkohol*. <http://mui.or.id/wpcontent/uploads/2014/11/29HukumAlkohol.pdf>. Diakses tanggal 30 April 2017
- Manik, Sawitri Eirry. 2005. Kajian Konsentrasi Kefir Grain dan Lama Simpan dalam Refrigerator Terhadap Kualitas Kimiawi Kefir Rendah Lemak. *Jurnal Ilmu ilmu Peternakan*, 21 (1): 24-30

- Misra, A., Srivastava, S., & Srivastava, M. 2014. Evaluation of anti diarrheal potential of *Moringa oleifera* (Lam.) leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 43-46
- Mutiara, Titi. 2011. Uji Efek Pelancar ASI Tepung Daun Kelor (*Moringa oleifera* (Lamk)) pada Tikus Putih Galur Wistar. Laporan Hasil Penelitian Disertasi Doktor Tahun Anggaran 2011 Universitas Brawijaya
- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Dyphenylpicrylhydrazil (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Journals of Science and Technology*. 26:211-219
- Moyo, B. 2012. Antimicrobial Activities of *Moringa oleifera* Lam Leaf Etract. *African Journal of Biotechnology*. 11(11): 2797-2802
- Nurwantoro dan Abbas. 1997. *Mikrobiologi Pangan Hewani dan Nabati*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Nelson DL, Cox MM. 2004. *Lehninger's Principles Of Biochemistry*. 4th ed. U.S.A.: W.H. Freeman
- Pangkalan, Ide. 2008. *Healt Secret of Kefir*. Jakarta: Elex Media Komputindo
- Pelczar, Michael dan E.C.S.Chan. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Cetakan I. Jakarta: UI-Press
- Pelczar, M.J., E.C.S. Chan Jr, and N. R. Krieg. 2005. *Microbiology*. 5th ed. New Delhi (India): Tata McGraw- Hill
- Penalver, D. S. 2004. *Water Kefir*. <http://www.oglasia-oglasia.com/wp-content/uploads/2012/03/water-kefir.pdf>. Diakses tanggal 15 Maret 2017

- Pogacic, T., sinko, S., Zamberlin, S., dan Samarzija, D. 2013. Micribiota of Kefir Grains. Departement of Dairy Science, Faculty of Agriculture University of Zagreb. Croatia. *Mljekarstvo* 63 (1): 3-14
- Purwoko. T. 2007. Fisiologi Mikroba. Jakarta: Bumi Aksara
- Prakash, A. 2001. Medallion Laboratpries. Analytical Progress, Antioxidant Activity. <http://www.terranostrachocolate.com>. Diakses tanggal 7 April 2017
- Puspaningsih, N. 2009. Manipulasi Genetik *Saccharomyces cerevisiae* dalam Upaya Meningkatkan Produksi Etanol. <http://www.rudycr.com/PPS702ipb/01101/nyomantri.htm>. Diakses tanggal 16 April 2017
- Puspitasari, N. dan M. Sidik. 2009. Pengaruh Jenis Vitamin B dan Sumber Nitrogen dalam Peningkatan Kandungan Protein Kulit Ubi Kayu melalui Proses Fermentasi. *Seminar Tugas Akhir S1 Teknik Kimia Universitas Diponegoro*. Hal 1-8
- Putri, Mardiana Prasetyani dan Yunita Herwidiani Setiawati. 2015. Analisa Kadar Vitamin C pada Buah Nanas Segar (*Ananas comosus* (L.) Merr) dan Buah Nanas Kaleng Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Wiyata* 2(1), 34-37
- Rahman, A. S. Fardiaz, W. P. Rahaju, Suliantari dan C. C Nurwitri. 1992. *Bahan Pengajaran Teknologi Fermentasi Susu*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor
- Rahman, M. M, Fakir, M.S.A., Prodhan, A.K.M.A dan Islam, M.A.2009. Flower Morphology and Leaf Nutritive Value in China Cherry and Kumbhi. *Journal Agrofor. Environ.* 3 (2): 1-4

- Ramona Y. 1997. A Study on The Effect of Intial Reducing Sugar Concentration on The Growth of *S. Cerevisiae* and The Ethanol Formation in The Process of Making Wine From Bali Grapes (*Vitis vinnivera*). <http://isjd.pdii.lipi.go.id/index.php/Search>. Diakses tanggal 21 April 2017
- Syamsu Hidayat. 1991. *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia*, edisi kedua, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Schneedorf, J. M. 2012. *Kefir D'qua and Its Probiotic Properties*. Chapter 3. Intech. 53-76
- Shah, S. *et al.*, 2015, Evaluation and Comparison of Antimicrobial Activity of Tulsi (*Ocimum sanctum*), Neem (*Azadirachta indica*) and Triphala Extract Against *Streptococcus mutans* & *Lactobacillus acidophilus*: An In Vitro Study, *NJIRM*, 5 (4): 17-21
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Volume 4. Jakarta: Lentera Hati
- Sugiharti, Neneng dan Lidya. 2014. Karakteristik Kimia dan Mikrobiologi Kefir Air pada Berbagai Suhu dan Kerapatan Fermentasi, <http://www.bimkes.org/karakteristik-kimia-dan-mikrobiologi-kefir-air-pada-berbagai-suhu-dan-kerapatan-fermentasi/>Diakses tanggal 27 Maret 2017
- Surono, I.S. 2004. Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). TRICK. Jakarta. P31-32
- Sreelatha, S, Padma, R. 2009. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of *Moringa oleifera* Leaves in Two Stages of Maturity. *Plant Foods Hum. Nutr.* Volume 64 (303-311)

- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2009. SNI 2981:2009. Yoghurt. Badan Standarisasi Nasional (BSN), Jakarta
- Sutedjo dan Nisa. 2015. Konsentrasi Sari Belimbing (*Averrhoa carambola* L) dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Fisiko-Kimia dan Mikrobiologi Yoghurt. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol.3 No.2 p.582-593. FTP Universitas Brawijaya, Malang
- Syahrizal, D. 2005. Pengaruh Proteksi Vitamin C Terhadap Enzim Transaminase dan Gambaran Histopatologis Hati Mencit yang Dipapar Plumbum. *Tesis Universitas Sumatera Utara*
- Tekle, A., Belay, A., Kelem, K., Yohannes, M. W., Wodajo, B., and Tesfaye, Y. 2015. Nutritional Profile of Moringa *Stenopetala* Species Samples Collected from Different Places in Ethiopia. *European Journal of Nutrition & Food Safety*. 5(5): 1100-1101
- Timotius, K.H. 1982. *Mikrobiologi Dasar*. Cetakan I. Salatiga: UKSW
- Toripah, S.S.; Abidjulu, J.; Wehantouw, F. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam). *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*. Volume 3. Nomer 4
- Usmiati, S. dan A. Sudono. 2004. Pengaruh starter kombinasi bakteri dan khamir terhadap sifat fisikokimia dan sensori kefir. *J. Pascapanen* 1(1):12-21
- Wigyanto, I. Nurika dan I Vida. 2007. Perencanaan Produksi Kefir Tomat Skala Rumah Tangga. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 8. No. 3
- Winarno, F. G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas Potensi dan Aplikasi dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius
- Winarsi, Hery. 2010. *Protein Kedelai dan Kecambah Manfaatnya Bagi Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius

- Yamaguchi dan Rubatzky,V.E. 1998. *Dunia Sayuran, Prinsip, Produksi, dan Gizi, alih bahasa Catur Herison*.ITB, Bandung
- Yaqub, Ali M. 2009. *Kriteria Halal-Haram Untuk Pangan, Obat dan Kosmetika Menurut al-Qur'an dan Hadist*. Jakarta: Pustaka Firdaus
- Youngson, Robert. 2005. *Antioksidan Manfaat Vitamin C dan E Bagi Kesehatan*. Gramedia EGC
- Yuliarti, Nurheti. 2009. *A to Z food Supplement*. Yogyakarta: ANDI
- Zubaidah, Elok dan Maizuddin, Muhammad. 2015. Studi Aktivitas Antibakteri Kefir Teh Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dari Berbagai Merek Teh Daun Sirsak di Pasaran. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3 (4) : 1662-1672
- Zubaidah, Elok dan Mubin, Fatkahul M. 2016. Studi Pembuatan Kefir Nira siwalan (*Borassus flabellifera* L.) *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4 (1) : 291-301
- Zubaidah, Elok dan Musdolifah. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kefir Teh Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dari Berbagai Merek di Pasaran. *Jurnal Pangan dan agroindustri*. 4 (1): 29-39

Lampiran 1 Hasil Uji total Asam

Setelah Perhitungan

Lama Fermentasi	Konsentrasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)											
	0%			2,5%			5%			10%		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0 jam	0,09	0	0,09	0,18	0,18	0,09	0,18	0,18	0,09	0,18	0,18	0,18
18 jam	0,18	0,18	0,18	0,18	0,27	0,18	0,18	0,27	0,18	0,36	0,27	0,27
21 jam	0,18	0,27	0,18	0,36	0,36	0,36	0,45	0,36	0,45	0,27	0,36	0,27
24 jam	0,27	0,27	0,27	0,36	0,27	0,27	0,27	0,36	0,36	0,45	0,45	0,45

Rata-Rata Total Asam Laktat

Lama Fermentasi	Konsentrasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)			
	0	2,5%	5%	10%
0	0,06	0,15	0,15	0,18
18	0,18	0,21	0,21	0,30
21	0,21	0,36	0,42	0,30
24	0,27	0,30	0,33	0,45

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: total asam

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.437 ^a	15	.029	15.685	.000
Intercept	3.214	1	3.214	1731.273	.000
Fermentasi	.082	3	.027	14.667	.000
Konsentrasi	.279	3	.093	50.061	.000
fermentasi * konsentrasi	.076	9	.008	4.566	.001
Error	.059	32	.002		
Total	3.710	48			
Corrected Total	.496	47			

a. R Squared = .880 (Adjusted R Squared = .824)

Duncan

fermentasi_konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
F0K0	3	.1200						
F1K0	3	.1500	.1500					
F2K0	3	.1500	.1500					
F0K1	3	.1800	.1800					
F3K0	3	.1800	.1800					
F0K2	3		.2100	.2100				
F1K1	3		.2100	.2100				
F2K1	3		.2100	.2100				
F0K3	3			.2700	.2700			
F1K3	3				.3000	.3000		
F3K1	3				.3000	.3000		
F3K2	3				.3000	.3000		
F2K3	3				.3300	.3300		
F1K2	3					.3600	.3600	
F2K2	3						.4200	.4200
F3K3	3							.4500
Sig.		.137	.148	.128	.137	.137	.098	.400

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 2. Hasil Uji pH (Derajat Keasaman)

Lama Fermentasi	Konsentrasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)											
	0%			2,5%			5%			10%		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0 jam	4,7	4,5	4,4	4,9	5,4	5,4	5,5	4,7	5,5	5,1	5,1	5,1
18 jam	3,8	3,6	3,4	4,9	4,7	4,5	5,1	5,1	5,1	4,9	4,7	4,5
21 jam	3,5	3,6	3,6	4,1	4,1	4	4,9	4,7	4,5	4,5	4,5	4,4
24 jam	3,3	3,4	3,3	3,7	3,6	3,6	3,8	3,7	3,8	3,9	3,7	3,5

Rata-Rata pH Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Lama Fermentasi	Konsentrasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)			
	0	2,5%	5%	10%
0	6,03	5,83	5,50	5,10
18	3,86	4,06	3,76	3,63
21	3,70	3,63	3,56	3,33
24	3,56	3,46	3,46	3,30

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH Medium

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	60,090 ^a	15	4,006	468,993	,000
Intercept	819,227	1	819,227	95909,488	,000
fermentasi	39,337	3	13,179	1459,993	,000
konsentrasi	1,412	3	,567	52,278	,000
fermentasi * konsentrasi	,674	9	,164	7,214	,000
Error	,273	32	,009		
Total	879,590	48			
Corrected Total	60,363	47			

a. R Squared = ,995 (Adjusted R Squared = ,993)

Lampiran 3. Hasil Uji Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Setelah perhitungan

Lama Fermentasi	Konsentrasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)					
	0%			2,5%		
	1	2	3	1	2	3
0 jam	0	0	0	0	0	0
18 jam	$4,1 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$
21 jam	$4,1 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$	$3,7 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$

24 jam	$4,6 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	$2,5 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$
	5%			10%		
	1	2	3	1	2	3
0 jam	0	0	0	0	0	0
18 jam	$2,9 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$1,0 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$
21 jam	$2,5 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$
24 jam	$2,5 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$	$1,7 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$

Rata-Rata Total Bakteri Asam Laktat

Lama Fermentasi	Konsentrasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)			
	0	2,5%	5%	10%
0	0	0	0	0
18	$3,13 \times 10^7$	$1,90 \times 10^7$	$1,83 \times 10^7$	$1,33 \times 10^7$
21	$3,43 \times 10^7$	$1,96 \times 10^7$	$1,93 \times 10^7$	$1,33 \times 10^7$
24	$3,53 \times 10^7$	$2,50 \times 10^7$	$2,06 \times 10^7$	$1,46 \times 10^7$

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Total BAL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	13,360 ^a	15	,891	17,309	,000
Intercept	29,453	1	29,453	572,372	,000
fermentasi	10,102	3	3,401	66,084	,000
konsentrasi	2,077	3	,696	13,517	,000
fermentasi * konsentrasi	1,062	9	,119	2,314	,029

Error	1,647	32	,051		
Total	44,460	48			
Corrected Total	15,007	47			

a. R Squared = ,890 (Adjusted R Squared = ,839)

Lampiran 4. Hasil Uji Antioksidan

Kontrol : 2,525

Setelah Perhitungan

Lama Fermentasi	Konsentrasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)									
	0%									
	1					2				
	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm
0 jam	27,326	23,445	22,693	29,9000	32,198	27,920	29,742	30,178	31,683	32,198
18 jam	23,881	27,445	27,683	27,485	32,039	24,792	27,445	25,603	28,871	29,861
21 jam	26,613	23,445	22,693	29,900	32,198	27,128	29,742	30,178	31,683	32,198
24 jam	25,980	31,841	33,821	23,821	35,009	32,356	34,653	32,039	34,178	34,574
	3									
	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm					
0 jam	26,495	25,346	26,495	27,801	29,702					
18 jam	26,534	24,554	29,386	28,039	30,138					
21 jam	26,138	25,346	26,495	27,801	29,702					
24 jam	31,207	31,207	33,584	33,584	35,089					

Lama Fermentasi	Konsentrasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)									
	2,5%									
	1					2				
	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm
0 jam	28,198	27,722	29,980	30,693	31,247	26,613	27,634	29,861	29,702	32,237
18 jam	27,049	27,128	27,683	27,009	28,910	26,495	27,049	27,049	29,940	30,455
21 jam	27,801	30,455	30,455	29,504	32,356	27,524	29,425	30,376	32,118	31,366
24 jam	26,613	22,534	22,693	29,108	32,118	27,128	28,950	29,940	31,643	32,118
	3									
	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm					

0 jam	29,346	29,069	29,623	29,465	31,702
18 jam	26,574	26,336	27,801	26,851	30,613
21 jam	30,099	30,376	30,415	30,732	29,702
24 jam	26,138	25,346	26,455	26,772	29,702

Lama Fermentasi	Konsentrasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)									
	5%									
	1					2				
	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm
0 jam	19,128	23,049	22,574	21,346	23,841	27,326	21,504	21,584	23,603	24,356
18 jam	23,722	25,584	25,980	28	27,009	23,247	25,227	25,980	24,475	24,316
21 jam	25,465	29,306	29,386	29,504	30,019	27,801	27,920	28,594	29,306	28,118
24 jam	25,108	21,386	21,425	29,108	28,831	27,326	27,128	26,574	29,168	28,831
	3									
	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm					
0 jam	27,801	21,108	22,574	22,772	24,514					
18 jam	23,722	26,613	27,207	26,019	27,722					
21 jam	28,237	29,227	30,415	29,940	33,108					
24 jam	27,881	23,881	26,455	26,336	29,188					

Lama Fermentasi	Konsentrasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)									
	10%									
	1					2				
	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm
0 jam	28,712	29,148	28,712	29,188	30,891	27,326	28,277	28,712	29,188	32,732
18 jam	24,118	25,663	26,099	28,039	26,891	24,990	25,623	26,099	25,148	23,920
21 jam	24,633	22,217	29,623	29,584	29,702	27,762	30,693	28,871	26,653	29,108
24 jam	23,366	21,821	20,831	29,227	29,623	27,390	27,772	20,950	26,534	29,623
	3									
	5ppm	6ppm	7ppm	8ppm	9ppm					
0 jam	27,801	29,148	29,386	29,465	30,891					
18 jam	23,881	26,653	27,247	26,099	25,306					
21 jam	27,445	28,792	26,297	29,188	28,950					
24 jam	26,613	23,485	25,465	21,584	24,990					

Rata-Rata Inhibisi Antioksidan Terhadap DPPH

Konsentrasi Rebusan	Fermentasi
	0 jam

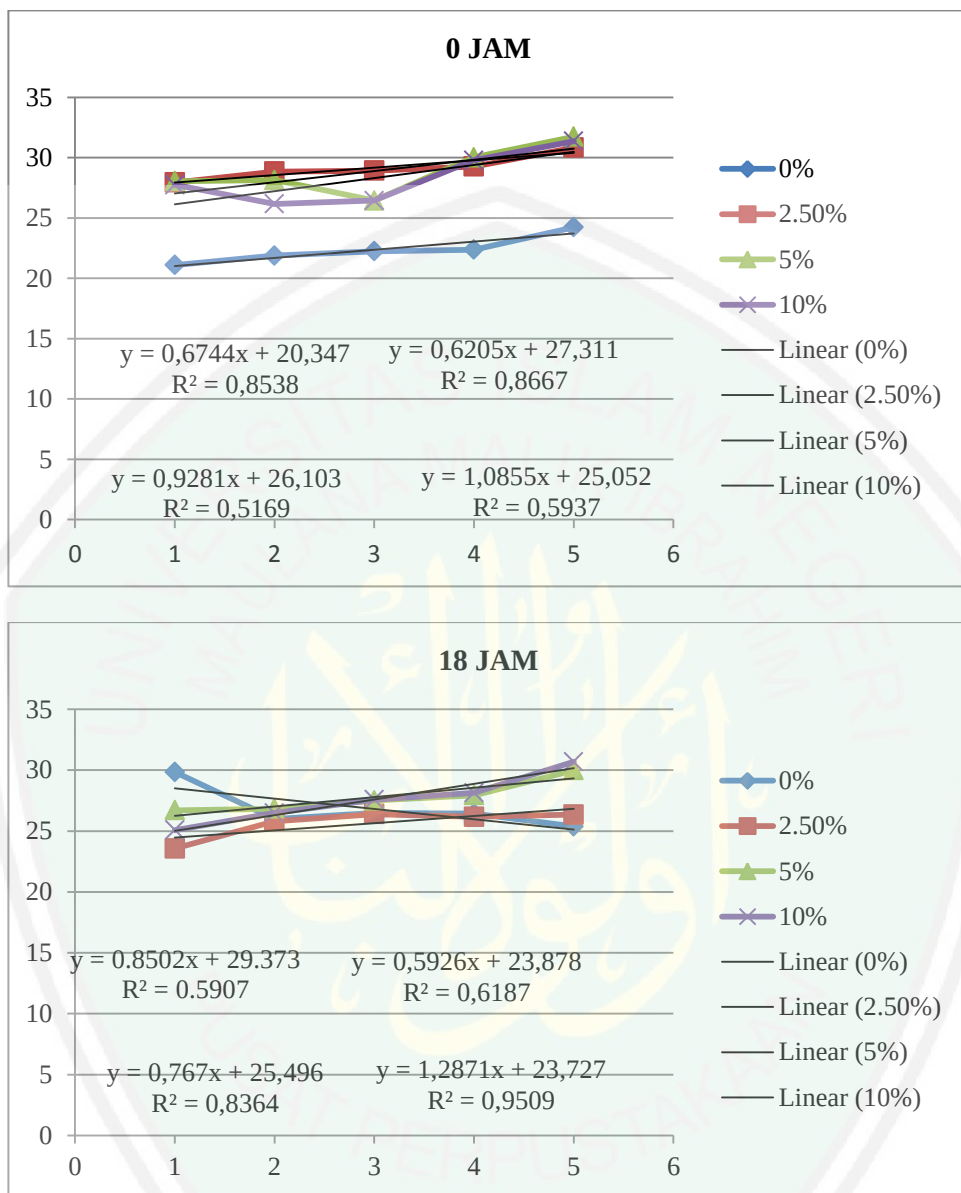
Daun Kelor	5 ppm	6 ppm	7 ppm	8 ppm	9 ppm
0%	21.10891	21.88779	22.24422	22.37426	24.23762
2.50%	27.94719	28.85809	28.93729	29.28053	30.83828
5%	28.05281	28.14521	26.45545	30.033	31.74917
10%	27.74752	26.17822	26.45545	29.79538	31.36634

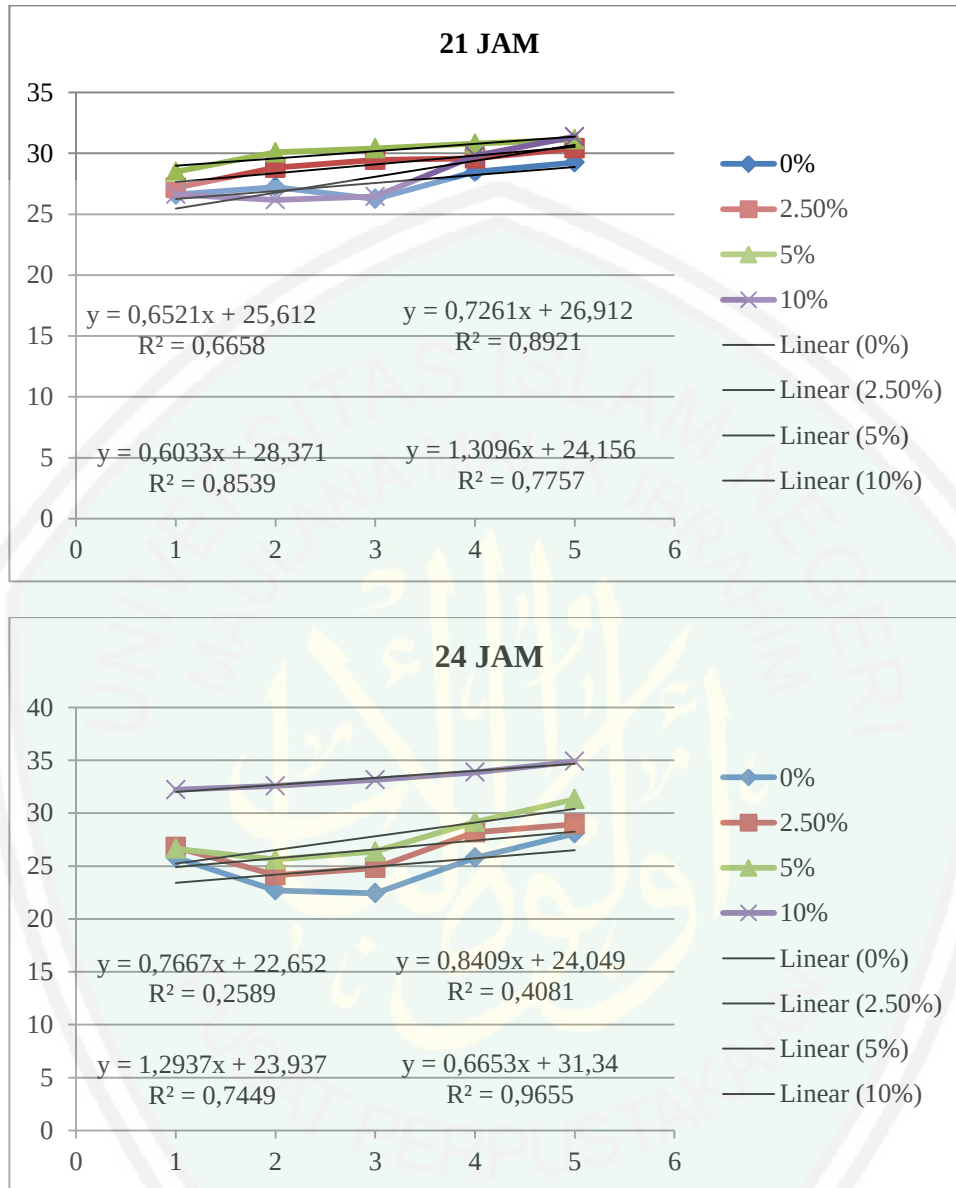
Konsentrasi Rebusan Daun Kelor	Fermentasi				
	18 jam				
	5 ppm	6 ppm	7 ppm	8 ppm	9 ppm
0%	24.33003	25.9802	26.48185	26.42904	25.37294
2.50%	23.56436	25.80858	26.38944	26.16502	26.34903
5%	26.70627	26.83828	27.5115	27.93399	29.9934
10%	25.06931	26.48185	27.57756	28.13201	30.67987

Konsentrasi Rebusan Daun Kelor	Fermentasi				
	21 jam				
	5 ppm	6 ppm	7 ppm	8 ppm	9 ppm
0%	26.61386	27.23432	26.26403	28.47525	29.25413
2.50%	27.16832	28.81848	29.46535	29.58416	30.41584
5%	28.47525	30.08581	30.41584	30.78548	31.14191
10%	26.62706	26.17822	26.45545	29.79538	31.36634

Konsentrasi Rebusan Daun Kelor	Fermentasi				
	24 jam				
	5 ppm	6 ppm	7 ppm	8 ppm	9 ppm
0%	25.7901	22.6931	22.4158	25.7822	28.0792
2.50%	26.77228	24.132	24.8185	28.1848	28.9505
5%	26.62706	25.6106	26.363	29.1749	31.3135
10%	32.21122	32.5677	33.1485	33.8614	34.8911

Grafik Regresi Linear IC₅₀





Hasil Perhitungan IC_{50}

Konsentrasi Daun Kelor	Lama Fermentasi			
	0 jam	18 jam	21 jam	24 jam
0%	151,1111	44,08032	37,39917	35,70235
2,5%	36,56567	31,94785	35,85115	32,07787
5%	25,7483	24,26112	31,79727	28,05652
10%	22,98296	20,41256	19,73427	20,14609

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: hasil

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2882.023 ^a	15	192.135	92224727.200	.000
Intercept	45152.374	1	45152.374	21673139524.009	.000
fermentasi	72.321	3	24.107	11571300.000	.000
konsentrasi	1784.523	3	594.841	285523660.000	.000
fermentasi * konsentrasi	1025.179	9	113.909	54676225.333	.000
Error	6.667E-005	32	2.083E-006		
Total	48034.397	48			
Corrected Total	2882.023	47			

Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

Antioksidan

Duncan

fermentasi_konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
F3K2	3	19.7300															
F3K3	3		20.1467														
F3K1	3			20.4100													
F3K0	3				22.9800												
F0K1	3					24.2600											
F2K0	3						25.7500										
F2K3	3							28.0600									
F1K2	3								31.8000								

F2K1	3									31.95 00							
F1K3	3										32. 080 0						
F0K3	3											35.7 000					
F2K2	3												35.8 500				
F1K0	3													36.5 600			
F0K2	3														37.4 000		
F0K0	3															43.9 700	
F1K1	3																44.0 800
Sig.		1.00 0	1.00 0	1.00 0	1.00 0	1.00 0	1.00 0	1.00 0	1.00 0	1.000	1.0 00	1.00 0	1.00 0	1.00 0	1.00 0	1.00 0	1.00 0

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 5. Kadar Alkohol

Lama Fermentasi	Konsentrasi Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)					
	0%			2,5%		
	1	2	3	1	2	3
0 jam	1,002483	1,002483	1,002483	1,001982	1,001798	1,001614
18 jam	0,999413	0,999451	0,999472	0,99966	0,999505	0,999505
21 jam	0,999451	0,999829	0,999432	0,99945	0,99945	0,99945
24 jam	0,999695	0,999714	0,999676	0,999733	0,999714	0,999695

	5%			10%		
	1	2	3	1	2	3
0 jam	1,006063	1,006044	1,006025	1,000885	1,000866	1,000866
18 jam	0,999695	0,999695	0,999714	0,999505	0,999486	0,999524
21 jam	0,999413	0,999413	0,999413	0,999714	0,999714	0,999695
24 jam	0,999472	0,999491	0,999472	0,999733	0,999714	0,999733

Setelah Perhitungan

Kadar Alkohol

Konsentrasi Daun Kelor	Lama Fermentasi			
	0 jam	18 jam	21 jam	24 jam
0%	0,0	0,4	0,4	0,2
2,5%	0,0	0,3	0,4	0,2
5%	0,0	0,2	0,4	0,3
10%	0,0	0,3	0,2	0,2

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: hasil

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.040 ^a	15	.069	332.800	.000
Intercept	2.253	1	2.253	10816.000	.000
Fermentasi	.860	3	.287	1376.000	.000
Konsentrasi	.030	3	.010	48.000	.000
fermentasi * konsentrasi	.150	9	.017	80.000	.000
Error	.007	32	.000		
Total	3.300	48			
Corrected Total	1.047	47			

a. R Squared = .994 (Adjusted R Squared = .991)

Hasil

Duncan

fermentasi_konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
F0K0	3	.0000				
F0K1	3	.0000				
F0K2	3	.0000				
F0K3	3	.0000				
F3K0	3		.1667			
F3K1	3			.2000		
F1K2	3			.2000		
F2K3	3			.2000		
F3K3	3			.2000		
F1K1	3				.3000	
F3K2	3				.3000	
F1K3	3				.3000	
F1K0	3					.4000
F2K0	3					.4000
F2K1	3					.4000
F2K2	3					.4000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 6. Perhitungan

Perhitungan total asam laktat

1. Pembuatan larutan NaOH 0,1 N

$$N \text{ NaOH} = \frac{\text{massa NaOH}}{\text{BE NaOH}} \times \frac{1000}{\text{Volume}}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa NaOH} &= N \text{ NaOH} \times \text{BE NaOH} \times \text{Volume} \div 1000 \\ &= 0,1 \times 40 \times 250 \div 1000 \\ &= 1 \text{ gram} \end{aligned}$$

2. Kadar total asam laktat (w/v) dihitung sebagai berikut:

$$\text{Total Asam (\%)} = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times 0,09 \times \text{FP}}{\text{Volume sampel}} \times 100\%$$

Keterangan:

ml NaOH = volume NaOH

FP = Faktor Pengenceran

BM asam laktat = 0,0981

Standarisasi larutan N NaOH = 0,1 N

Contohnya diketahui volume NaOH yang tertitrasi = 7 ml

$$\begin{aligned}\text{Total Asam (\%)} &= \frac{7 \times 0,1 \times 0,09 \times 10}{10} \times 100\% \\ &= 6,3\%\end{aligned}$$

3. Pembuatan MRS Agar

1 cawan petri = 10 ml agar MRS

1000 ml aquades = 62 gram bubuk MRS agar

36 cawan petri = 360 ml aquades dan 129,6 gram bubuk MRS agar

4. Menghitung persen inhibisi antioksidan terhadap DPPH

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Keterangan:

A blanko = serapan DPPH

A sampel = serapan sampel yang telah diberi DPPH

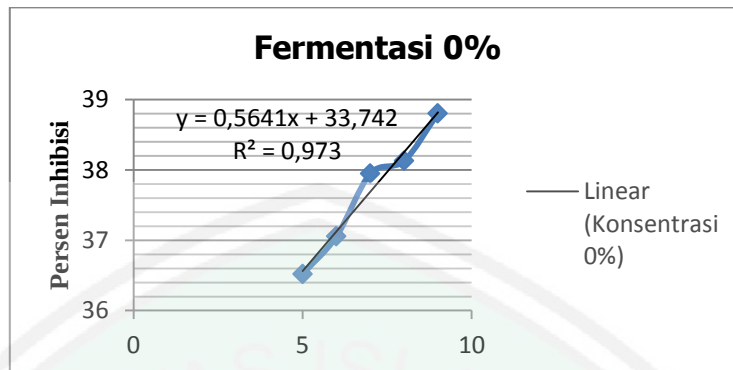
Diketahui A blanko = 2,525 dan A sampel = 1,737

$$\begin{aligned}\text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{2,525 - 1,737}{2,525} \times 100\% \\ &= 99,931\%\end{aligned}$$

Perhitungan dilakukan untuk semua sampel 5ppm, 6ppm, 7ppm, 8ppm, dan 9ppm

5. Menghitung IC₅₀ sampel

Dibuat grafik regresi linier dari tiap pengenceran setiap konsentrasi, contohnya sebagai berikut:



Dimasukkan kedalam rumus $y = ax + b$, dimana $y = 50$

$$Y = ax + b$$

$$50 = 0,5641x + 33,742$$

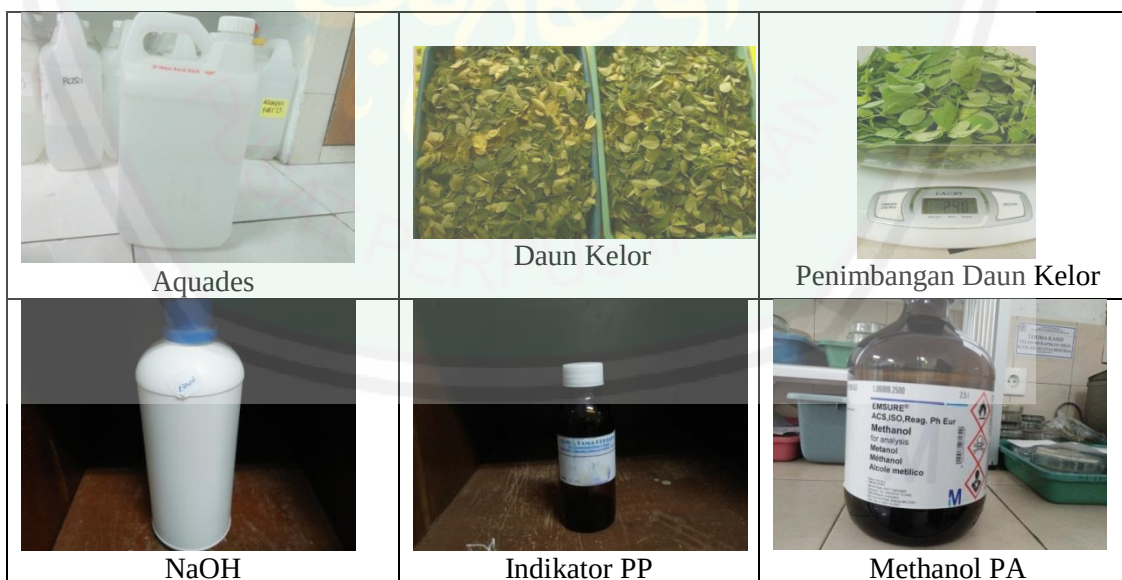
$$50 - 33,742 = 0,5641x$$

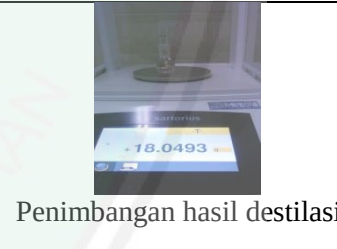
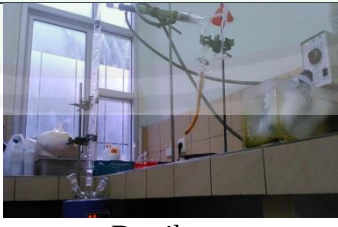
$$16,258 = 0,5641x$$

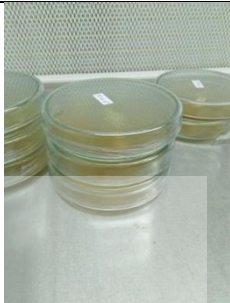
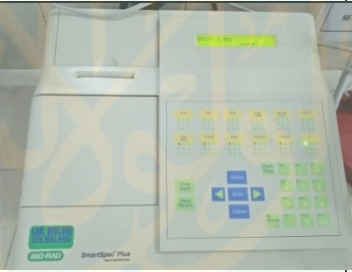
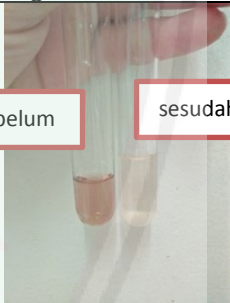
$$X = 28,8211$$

Sehingga konsentrasi 0% diketahui memiliki antioksidan sebesar 28,8211 ppm

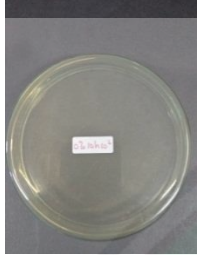
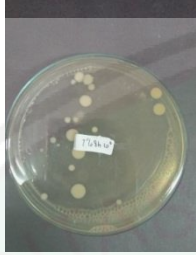
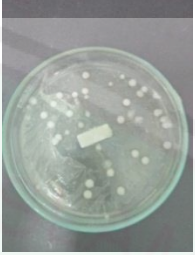
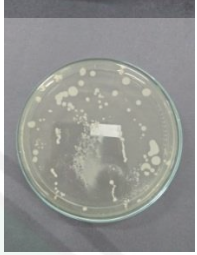
Lampiran 7. Gambar Alat dan Bahan Penelitian



		
DPPH	Alat gelas: Gelas ukur, Beker glas, dan Erlenmeyer	Hot Plate Stirer
		
Spektrofotometer	Hot Plate	pH meter
		
Bunsen dan Tip	Autoklaf	Laminar Air Flow
		
Mikropipet	Timbangan Analitik	Penimbangan hasil destilasi
		
Perebusan Daun Kelor	Destilator	Cuvet
Gula pasir 6 gr		

 Pembuatan media MRS agar	 Homogenkan menggunakan hotplate dan stirer	 Dimasukkan kedalam cawan sebanyak 10 ml
 Flakon berisi 9 ml aquades steril	 Pengenceran bertingkat dari 10^{-1}-10^{-8}	 Sampel pengencerkan dimasukkan kedalam cawan yang telah berisi MRS
 Larutan stok DPPH	 Sampel diukur inhibisi menggunakan spektrofotometer	 Perubahan warna setelah 30 menit

Lampiran 8. Hasil Total Bakteri Asam Laktat

Konsentrasi 0% (Kontrol)	Konsentrasi 2,5%	Konsentrasi 5%	Konsentrasi 10%
			



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

JURUSAN BIOLOGI

Jalan Gajayana No. 50 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Husnun Nadhiroh
NIM : 13620029
Fakultas/ Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi
Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Karakteristik Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)
Dosen pembimbing Biologi : Ir. Hj. Liliek Haranie, A. R., M.P

No	Tanggal	Uraian Konsultasi	Tanda tangan
1.	13 Januari 2016	Konsultasi Judul Skripsi	
2.	25 Januari 2016	Konsultasi BAB I	
3.	11 April 2017	Konsultasi BAB I	
4.	16 April 2017	BAB I, II, dan III	
5.	27 Mei 2017	BAB I, II, dan III	
6.	7 Juni 2017	ACC	
7.	21 Agustus 2017	Seminar Proposal Skripsi	
8.	17 Februari 2017	Konsultasi BAB IV	
9.	24 Maret 2018	Konsultasi BAB IV	
10.	29 Maret 2018	Konsultasi BAB IV dan BAB V	
11.	28 April 2018	Konsultasi BAB IV dan BAB V	
12.	8 Mei 2018	ACC	
13.	3 Juli 2018	Konsultasi BAB BAB IV dan BAB V	
14.	4 Juli 2018	ACC	

Malang, 3 Juli 2018

Pembimbing Skripsi

Ir. Hj. Liliek Haranie, A. R. M. P

NIP. 19620901 199803 2 001



Romaidi M. S. D.Sc

NIP. 19810201 200901 01



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI

Jalan Gajayana No. 50 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI AGAMA

Nama : Husnun Nadhiroh
NIM : 13620029
Fakultas/ Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi
Judul Skripsi : Lama Fermentasi dan Konsentrasi Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Karakteristik Kefir Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*)
Dosen pembimbing Agama : Mujahidin Ahmad, M.Sc

No	Tanggal	Uraian Konsultasi	Tanda tangan
1.	28 April 2018	Konsultasi BAB I, II dan IV	
2.	30 April 2018	Revisi BAB I, II, IV dan acc	
3.	3 Juli 2018	Revisi BAB I, II dan IV	
4.	4 Juli 2018	Acc	

Malang, 3 Juli 2018

Pembimbing Agama

Mujahidin Ahmad, M.Sc

NIP. 19860512201608011060



Dean, M.Sc D.Sc

NIP. 19810201 200901 019