

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN VARIASI KONSENTRASI
REBUSAN DAUN GAHARU (*Gyrinops versteegii*) TERHADAP
KARAKTERISTIK KEFIR AIR REBUSAN DAUN GAHARU (*Gyrinops
versteegii*)**

SKRIPSI

Oleh :
ACHMAD MUNAJIB
NIM. 13620125



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2019**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN VARIASI KONSENTRASI
REBUSAN DAUN GAHARU (*Gyrinops versteegii*) TERHADAP
KARAKTERISTIK KEFIR AIR REBUSAN DAUN GAHARU (*Gyrinops
versteegii*)**

SKRIPSI

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

Oleh :
ACHMAD MUNAJIB
NIM. 13620125

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2019**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN VARIASI KONSENTRASI
REBUSAN DAUN GAHARU (*Gyrinops versteegii*) TERHADAP
KARAKTERISTIK KEFIR AIR REBUSAN DAUN GAHARU (*Gyrinops
versteegii*)**

SKRIPSI

Oleh :
ACHMAD MUNAJIB
NIM. 13620125

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal 28 Desember 2018

Pembimbing I

Ir. Liliek Harianie, AR, M.P
NIP. 19620901 199803 2 001

Pembimbing II

Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 19731212 1998031 008

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN VARIASI KONSENTRASI
REBUSAN DAUN GAHARU (*Gyrinops versteegii*) TERHADAP
KARAKTERISTIK KEFIR AIR REBUSAN DAUN GAHARU (*Gyrinops
versteegii*)**

SKRIPSI

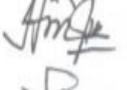
Oleh :
ACHMAD MUNAJIB
NIM. 13620125

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal 2 Januari 2019

Susunan Dewan Penguji

1. Penguji Utama : Dr. Ulfa Utami, M.Si
NIP. 19650509 199903 2 002
2. Ketua : Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc
NIDT. 19900428 20160801 2 062
3. Sekretaris : Ir. Liliek Harianie, AR, M.P
NIP. 19620901 199803 2 001
4. Anggota : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 19731212 199803 1 008

Tanda Tangan

()
()
()
()

Mengetahui dan Mengesahkan
Ketua Jurusan Biologi,




Romaidi, M.Si, D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Achmad Munajib
NIM : 13620125
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap Karakteristik Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan 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 dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Yang membuat pernyataan



Achmad Munajib
NIM. 13620125

MOTTO

سَمِعْنَا وَ اطَّعْنَا غَفْرَانَكَ رَبَّنَا وَإِلَيْكَ الْمَصِيرُ

“ Kami dengar dan kami taat, Ampunilah kami ya tuhan kami dan kepada-Mu tempat kami kembali”



HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan ikhtiar, kerja keras, doa dan syukur yang besar ku persembahkan sebuah karya sederhana untuk:

1. Kedua orang tua, Abahku (Akhmad Akhsan) dan Ibuku (Dewi Mudawamah) yang telah sabar mendidik, mendukung, memberikan do'a dan restu kepada penulis selama studi.
2. Segenap keluarga, kakakku (Masyhudatul Umami, S.Hi) dan (Khusni Mubarak, Lc) yang telah memberikan banyak sekali motivasi.
3. Crew GTA Griya Tahfidh Al-Quran UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan sahabat Musyrif seperjuangan dalam Makhad Al-jamiah yang selalu menemani dan menyemangati selama studi.
4. Sahabat-sahabati INSANI (Insan santri Al-yasini) beserta teman alumni pesantren Robithotul Ashfiya' yang memberikan banyak sekali pelajaran berharga.
5. Sahabat-sahabati CSSMoRA (Community of Santri Scholar of ministry of Religius Affair) beserta teman-teman santri Sabilurrasyad Pasuruan yang memberikan banyak cerita, pengalaman, canda dan tawa
6. Sahabat-sahabati HTQ (Hai'ah Tahfidzil Quran) yang banyak sekali tawa canda kalian yang sukar untuk ditinggalkan.
7. Teman-teman satu jurusan Biologi khususnya angkatan 2013 yang tidak bisa disebutkan satu persatu terimakasih atas segalanya dan untuk semuanya

KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmanirrohim Assalamu'alaikum warohmatullahi wabarokatuh, Syukur Alhamdulillah, penulis Selalu memuji Allah SWT sampai kapanpun dan selama-lamanya atas limpahan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya. sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas akhir/skripsi dengan baik. Shalawat serta salam semoga selalu terlimpah curahkan bagi baginda Rasulullah SAW yang telah membawa cahaya kebenaran bagi umatnya.

Penulis mengucapkan banyak terimakasih teriring do'a *jazakumulloh ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang sudah membantu atas selesainya skripsi ini dengan baik, sehingga dengan penuh hormat penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag. selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Hj. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si D. Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir.Hj. Liliek Harianie, AR. M.P dan Dr. H. Ahmad Barizi, M.A. selaku dosen pembimbing skripsi, terima kasih atas waktu, arahan, bimbingan dan kesabaran selama membimbing penulis.

5. Kedua orangtua dan segenap keluarga tercinta yang selalu memberikan do'a dan dukungannya kepada penulis dalam menuntut ilmu.
6. Teman-teman semua terima kasih atas segalanya khususnya dalam membantu menyelesaikan skripsi ini baik berupa materil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan, namun penulis tetap berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah khazanah Ilmu Pengetahuan kepada para pembaca khususnya kepada penulis secara pribadi. *Aamin Ya Rabbal Alamin. Wassalamu'alaikum warohmatullahi wabarokatuh.*

Malang, 2 Januari 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
ORISINALITAS PENELITIAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
ملخص البحث	xviii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan.....	8
1.4 Hipotesis.....	9
1.5 Manfaat.....	9
1.6 Batasan Masalah.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kefir.....	11
2.1.1 Starter Kefir Air.....	15
2.1.2 Medium pertumbuhan Kefir Air.....	18
2.1.3 Proses Fermentasi Kefir.....	19
2.1.4 Nilai Gizi dan Khasiat.....	23

2.2 Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	24
2.2.1 Morfologi Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	26
2.2.2 Kedudukan Taksonomi Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	27
2.2.3 Kandungan Gizi dan pemanfaatan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>)	28
2.2.4 Kandungan Kimia (Metabolit Sekunder) Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	32
2.3 Antioksidan.....	34
2.3.1 Radikal Bebas.....	38
2.3.2 Metode Uji Antioksidan DPPH (<i>1,1-difenil-2-pikrilhidrazil</i>).....	42
2.4 Fiqih Halal Haram Kefir.....	46
 BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian.....	51
3.2 Waktu dan Tempat.....	53
3.3 Alat dan Bahan.....	53
3.3.1 Alat.....	53
3.3.2 Bahan.....	54
3.4 Variabel Penelitian.....	54
3.5 Prosedur Penelitian.....	55
3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan.....	55
3.5.2 Pembuatan Produk.....	55
3.5.2.1 Pembuatan Rebusan daun gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	55
3.5.2.2 Pembuatan Kefir Air Rebusan daun gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	56
3.5.3 Pengukuran Variabel.....	58
3.5.3.1 Uji Aktivitas Antioksidan.....	58
3.5.3.2 Pengukuran pH Medium.....	59
3.5.3.3 Uji TPC (Total Plate Count)	60

3.5.3.4 Analisis Kadar Alkohol Dengan Piknometer.....	60
3.6 Analisis Data.....	62

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>) Terhadap Karakteristik Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	63
4.1.1 Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>) Terhadap Total BAL Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	63
4.1.2 Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>) Terhadap pH Medium Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	70
4.1.3 Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>) Terhadap Kadar Alkohol Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	76
4.1.4 Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>) Terhadap Aktivitas Antioksidan Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>)	83
4.2 Kajian Integrasi Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>) Terhadap Karakteristik Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	88

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	95
5.2 saran	96
DAFTAR PUSTAKA	97
LAMPIRAN	105

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Strain Mikroba Bibit Kefir Air.....	17
Tabel 3.1 Rancangan Penelitian.....	52
Tabel 4.1 Jumlah Bakteri Asam Laktat Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	63
Tabel 4.2 Ringkasan Analisa Keragaman Total BAL Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	66
Tabel 4.3 Hasil Analisis UJD Terhadap Total BAL Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	67
Tabel 4.4 Ringkasan Analisa Keragaman pH Medium Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	74
Tabel 4.5 Hasil Penggunaan Uji Jarak Duncan Pada Nilai pH Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>)	75
Tabel 4.6 Ringkasan Analisa Keragaman Kadar Alkohol Kefir Air Rebusan Daun Gaharu	79
Tabel 4.7 Hasil Analisis UJD Terhadap Nilai Kadar Alkohol Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	80
Tabel 4.8 Ringkasan Analisa Keragaman Aktivitas Antioksidan Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	86
Tabel 4.9 Hasil Analisis UJD Terhadap Aktivitas Antioksidan Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	86

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Sukrosa.....	19
Gambar 2.2 Morfologi gaharu <i>Gyrinops versteegii</i>	27
Gambar 2.3 Rebusan daun gaharu.....	32
Gambar 2.4 Sumber radikal bebas.....	41
Gambar 2.5 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas.....	44
Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Kefir Air Rebusan Daun Gaharu.....	57
Gambar 3.2 Diagram Alir Pengukuran pH Medium Kefir Air Rebusan Daun Gaharu.....	59
Gambar 4.1 Diagram Batang Nilai pH Medium Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	70
Gambar 4.2 Diagram Batang Kadar Alkohol Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	76
Gambar 4.3 Diagram Batang Aktivitas Antioksidan Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (<i>Gyrinops versteegii</i>).....	83

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Uji Total Bakteri Asam Laktat (BAL).....	105
Lampiran 2 Hasil Uji pH (Derajat Keasaman).....	105
Lampiran 3 Hasil Uji Kadar Alkohol.....	106
Lampiran 4 Hasil Perhitungan Uji Antioksidan.....	107
Lampiran 5 Grafik Regresi Linier IC ₅₀	108
Lampiran 6 Hasil Perhitungan IC ₅₀	109
Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian.....	110
Lampiran 8 Perhitungan.....	112
Lampiran 9 Tabel Standar Internasional tahun 2003.....	114
Lampiran 10 SPSS <i>two way</i> ANOVA (<i>Analysis Of Variance</i>).....	115

ABSTRAK

Munajib, Achmad. 2013. **Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap Karakteristik Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)**. Skripsi. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Ir. Liliek Harianie AR. MP. ; Pembimbing Agama: Dr. H. Ahmad Barizi, M.A

Kata Kunci : Kefir air, Rebusan Daun Gaharu, Konsentrasi, Fermentasi

Kefir air merupakan salah satu minuman hasil dari fermentasi bibit kefir air. Media alternatif penting ditemukan untuk pengembangan produk ini, salah satu media yang berpotensi yaitu rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi dan variasi konsentrasi terhadap karakteristik (total bakteri asam laktat, pH medium, kadar alkohol dan aktivitas antioksidan) kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). Penelitian ini merupakan eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial. Faktor I adalah konsentrasi rebusan daun gaharu (5%, 10%, 15% dan 20%). Faktor II adalah lama fermentasi (18 jam, 21 jam dan 24 jam). dari kedua faktor tersebut di kombinasikan dengan penambahan sukrosa 6%, bibit kefir air 5% dan diinkubasi pada suhu ruang. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi dan variasi konsentrasi rebusan daun gaharu berpengaruh nyata terhadap semua parameter uji yaitu total BAL, pH medium, kadar alkohol dan aktivitas antioksidan dengan nilai signifikansi $< 0,05$.

Perlakuan S4M0 (Konsentrasi 20% dan Lama Fermentasi 24 jam) memberikan nilai terbaik pada uji aktivitas antioksidan. Hasil Penelitian total bakteri asam laktat, pH medium dan kadar alkohol telah memenuhi standard SNI. jumlah BAL (Bakteri Asam Laktat) setelah fermentasi berkisar 1×10^7 cfu/ml hingga $3,1 \times 10^7$ cfu/ml, derajat keasaman/pH medium setelah dilakukan fermentasi didapatkan nilai 4 – 3,27, kadar alkohol yang dihasilkan sesudah fermentasi berkisar 0,4 – 0,8 dan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} setelah fermentasi berkisar 23 – 3,89 (ppm). Berdasarkan data yang diperoleh, produk yang dihasilkan adalah produk yang halal dengan manfaat yang baik untuk kesehatan.

ABSTRACT

Munajib, Achmad. 2013. **The Effect of Fermentation Duration and Concentration Variation of Agarwood Leaf Decoction (*Gyrinops versteegii*) On The Characteristic of Kefir Water Agarwood Leaves Decoction (*Gyrinops versteegii*)**. Thesis. Department of Biology, Science and Technology Faculty of State Islamic University Maulana Malik Ibrahim of Malang. Biology Advisor: Ir. Liliek Harianie AR.MP.; Religion Advisor: Dr. H. Ahmad Barizi, M.A

Keywords: Kefir water, Agarwood Leaf Decoction, Concentration, Fermentation

Kefir water is one of the drinks produced from fermented kefir seeds. An important alternative media is found for the development of this product, one of the potential media is the decoction of agarwood leaves (*Gyrinops versteegii*). This study aims to determine the effect of fermentation time and variations in concentration on characteristics (total Lactic Acid Bacteria, pH of medium, alcohol content and antioxidant activity) kefir boiled water of agarwood leaves (*Gyrinops versteegii*). This study was an experiment with a randomized block design (RAL) factorial pattern. The first factor is the concentration of agarwood leaf decoction (5%, 10%, 15% and 20%). Factor II is the duration of fermentation (18 hours, 21 hours and 24 hours). of these two factors combined with the addition of 6% sucrose, 5% kefir water seeds and incubated at room temperature. The results showed that the fermentation time and variations in the concentration of agarwood leaf stew had a significant effect on all test parameters, namely total BAL, chemical quality of medium pH and alcohol content) and antioxidant activity with a significance value <0.05.

The S4M0 treatment (20% concentration and 24-hour fermentation time) gave the best value in the antioxidant activity test. The results of the study were total lactic acid bacteria, pH of the medium and alcohol content that met the SNI standard. the amount of BAL (Lactic Acid Bacteria) after fermentation ranges from 1×10^7 cfu / ml to 3.1×10^7 cfu / ml, the acidity / pH of the medium after fermentation is 4 - 3.27, the alcohol content produced after fermentation ranges from 0 , 4 - 0.8 and antioxidant activity is very strong with IC_{50} values after fermentation ranging from 23 - 3.89 (ppm). Based on the data obtained, the products produced are halal products with good benefits for health.

ملخص البحث

منادب، احمد. ٢٠١٩. تأثير مدة التخمير و تركيزات مختلفة المغلي من ورقة الاغارود (*Gyrinops versteegii*) على خصائص كفير الماء المغلي من ورقة الاغارود (*Gyrinops versteegii*) . البحث الجامعي. قسم علم الحياة، كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المرب: (١) الدكتورة ليليك هارياني، (٢) (الدكتور الحاج أحمد باريزي الماجستير.

كلمة الرئيسي: كفير الماء، المغلي ورقة الاغارود، التركيز، التخمير.

كفير الماء هي واحدة من المشروبات المنتجة من بذور الكفير المخمرة. تم العثور على وسائل الإعلام البديلة الهامة لتطوير هذا المنتج ، واحدة من وسائل الإعلام المحتملة هي المغلي الورقة الاغارود (*Gyrinops versteegii*). تهدف هذه الدراسة إلى تحديد تأثير وقت التخمير والتغيرات في التركيز على الخصائص (بكتيريا حمض اللاكتيك الكلية ، ودرجة الحموضة المتوسطة ، ومحتوى الكحول والنشاط المضاد للأكسدة) الكفير الماء المغلي ، ورقة الاغارود (*Gyrinops versteegii*). كانت هذه الدراسة عبارة عن تجربة مع تصميم عشوائية التصميم بالكامل. العامل الأول هو تركيز مغذيات ورقة الاغارود (٥ ٪ ، ١٠ ٪ ، ١٥ ٪ و ٢٠ ٪). العامل الثاني هو مدة التخمير (١٨ ساعة و ٢١ ساعة و ٢٤ ساعة). من هذين العاملين مجتمعة مع إضافة ٦ ٪ من السكروز ، وبذور الكفير ٥ ٪ من المياه وحضنت في درجة حرارة الغرفة. أوضحت النتائج أن زمن التخمير وتغير تركيز ورقة الاغارود قد أثر بشكل كبير على جميع معاملات الاختبار ، أي LAB الكلي ، ودرجة الحموضة المتوسطة ، ومحتوى الكحول والنشاط المضاد للأكسدة بقيمة دلالة > ٠.٠٥.

أعطى علاج S4M0 (تركيز ٢٠ ٪ ووقت التخمير على مدار ٢٤ ساعة) أفضل قيمة في اختبار نشاط مضادات الأكسدة. وكانت نتائج الدراسة عبارة عن بكتيريا حمض اللاكتيك الكلية ، ودرجة الحموضة للمحتوى المتوسط والكحول الذي يستوفي معيار SNI. كمية BAL (بكتيريا حمض اللاكتيك) بعد التخمير تتراوح من 1×10^7 cfu / ml إلى 3.1×10^7 cfu / ml ، الحموضة / pH للوسط بعد التخمير ٤ - ٣.٢٧ ، محتوى الكحول الناتج بعد التخمير يتراوح من ٤٠ - ٠.٨. والنشاط المضاد للأكسدة قوي للغاية مع قيم IC_{50} بعد التخمير تتراوح بين ٢٣ - ٣.٨٩ (ppm). بناءً على البيانات التي تم الحصول عليها ، فإن المنتجات التي يتم إنتاجها هي منتجات حلال مع فوائد جيدة للصحة.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perhatian manusia akan kesehatan semakin lama semakin meningkat, terbukti dengan meningkatnya selektifitas terhadap produk yang dikonsumsi yakni dengan mengutamakan komoditas yang mempunyai nilai lebih dalam kesehatan atau yang lebih berkualitas. Menurut Lina (2014) jenis produk pangan yang menghasilkan efek kesehatan semakin diutamakan oleh masyarakat dibanding dengan sekedar mendapat rasa yang memuaskan perut dan lidah. Masyarakat mulai sadar dan kembali kepada produk pangan herbal, tradisional, organik dengan macam jenis pangan baru yang terbukti memberikan nilai kesehatan lebih. Hal ini juga merupakan bentuk patuh terhadap Allah سبحانه وتعالى dalam surat ke-2 (سورة البقرة) ayat 172:

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ ءَامَنُوا كُلُوا مِن طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُمْ وَاشْكُرُوا لِلَّهِ إِن كُنتُمْ إِيَّاهُ تَعْبُدُونَ

“Hai orang-orang yang beriman, makanlah di antara rizki yang baik-baik yang Kami berikan kepadamu dan bersyukurlah kepada Allah, jika benar-benar hanya kepada Allah kamu menyembah”

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah سبحانه وتعالى memberi amanat bagi hamba-hamba-Nya yang beriman agar memakan makanan yang baik dan berkualitas yang berasal dari rizki yang telah disiapkan oleh Allah سبحانه وتعالى kepada hambanya, agar mereka selalu bersyukur kepada-Nya dengan rizki yang telah diberikan (Ibnu Katsir, 2014). Tafsir ayat ini mengandung lafadh طيبات yang berarti makanan yang baik-baik. Mufassirin menjelaskan kalimat طيبات adalah makanan yang baik ketika dikonsumsi oleh manusia terhadap kondisi badan akan

kesehatannya. Setiap makanan yang halal mempunyai makna baik ketika dikonsumsi, tetapi makanan yang طيبات sudah pasti lebih baik dan memiliki kandungan gizi dan manfaat yang lebih.

Masyarakat pada umumnya telah memiliki daya selektifitas dalam memilih pangan. Masyarakat juga mempunyai perhatian akan طيبات yakni makanan yang berkualitas. Menurut Sampurno (2015) produk pangan fungsional lebih diutamakan oleh masyarakat dibanding dengan produk obat-obatan, dikarenakan hasil psikologis yang menyehatkan dengan tanpa mengkonsumsi obat. Pangan fungsional merupakan bahan pangan yang berefek positif pada kesehatan konsumen, meliputi produk yang utuh dan segar hingga produk pangan olahan dengan kandungan cita rasa serta gizi yang terkandung didalamnya (Winarti, 2010).

Firdausi (2014) menjelaskan bahwa kefir merupakan produk yang mulai disukai oleh banyak kalangan sebagai makanan fungsional berkualitas, sebab kelebihanannya secara empiris terbukti mampu mengobati bahkan mencegah berbagai penyakit seperti paru-paru, jantung, hati, ginjal serta menurunkan kolesterol. Kefir juga membuat tubuh terasa lebih berenergi dan segar bugar. Kefir terdiri dari dua jenis yaitu kefir susu (Rahman, 1992) dan kefir air (Mubin, 2016).

Kefir air merupakan minuman fermentasi yang memanfaatkan kombinasi antara khamir dan bakteri yang berasal dari kefir Grains dengan hasil alkohol (etanol), asam-asam organik (laktat dan asetat), karbon dioksida dari hasil penguraian gula. Bahar (2008) menjelaskan bahwa khasiat dari kefir air mampu menyembuhkan gangguan kesehatan (seperti hipertensi, tumor dan diabetes).

Muneer (2013) menunjukkan dalam penelitiannya bahwa kefir air berpotensi sebagai antioksidan alami berupa asam asetat dan asam laktat yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam bibit kefir air.

Kefir air bisa dibuat dengan komposisi gula pasir yang dicampur pada medium air (Gulitz, 2011). Pengembangan kefir air melaju meningkat dengan penggunaan medium air yang dipakai diantaranya rebusan daun kersen (Lathif, 2016), rebusan daun sirsak (Zubaidah, 2016), kefir rosella merah dari teh rosella (Kusnadi dan Hastuti, 2016), kefir nira siwalan *Borassus flabellife* (Mubin dan Zubaidah, 2016). Inovasi dalam pembuatan kefir air perlu dikaji lebih lanjut dalam melengkapi variasi medium baru yang lebih sesuai dan berpotensi lebih dalam kesehatan dengan mengembangkan produk kefir sebagai sifat fungsional yang lebih berkualitas dengan medium tumbuh baru berupa rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Gaharu adalah tumbuhan kayu yang mempunyai warna khas kecoklatan yang mempunyai kadar damar wangi didalamnya. Ada banyak jenis gaharu di dunia salah satunya adalah *Gyrinops versteegii* yang merupakan tumbuhan gaharu yang paling populer di Indonesia bagian timur. Ekstrak daun jenis tumbuhan ini mengandung antioksidan yang tinggi (Fadhilah, 2014). Daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) berdasarkan penelitian dengan DPPH mempunyai potensi sebagai antioksidan alami karena dalam Screening Fitokimia dari ekstrak daun gaharu memiliki senyawa metabolit sekunder diantaranya senyawa terpenoid, flavonoid dan fenol (Mega, 2010). Senyawa fenol atau polifenol mampu menetralkan dan menyerap radikal bebas yang ada (Zheng, 2009), sedangkan Yanti (2015) dalam

penelitian menerangkan bahwa daun *Gyrinops versteegii* mengandung fenol, flavonoid dan tanin. Silalahi (2006) menambahkan daun ini mengandung senyawa glikosida.

Hasil pengujian antioksidan oleh Harahap (2015) diketahui daun gaharu mempunyai aktivitas antioksidan sangat kuat. Ekstrak metanol dan air daun gaharu mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin (Wil dkk, 2014). Senyawa yang terkandung tersebut termasuk senyawa antioksidan alami yang dinilai lebih aman dibandingkan antioksidan sintetik yang mana pada jangka waktu lama bisa mengakibatkan karsinogenik dan mutagenik (Simanjuntak, 2004). Diperkuat lagi oleh Nugraha (2015) daun gaharu memiliki banyak senyawa kimia dari golongan flavanoida yaitu flavon, isoflavon dan flavonol sehingga bisa dipergunakan daunnya untuk minuman seduh yang kaya akan senyawa aktif antioksidan yang bermanfaat bagi tubuh.

Harahap (2015) menjelaskan daun gaharu dari Langkat memiliki IC_{50} sebesar 39,70 ppm, sedangkan daun gaharu dari Arboretum Universitas Sumatera Utara memiliki IC_{50} sebesar 30,65 ppm. Hasil kajian tersebut menunjukkan daun gaharu mempunyai aktivitas antioksidan sangat kuat. Hasil pengamatan oleh Isromarina (2015) dalam ekstrak daun gaharu fraksi gabungan menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi pada IC_{50} dengan nilai 11,659 mikrogram/ml dan 12,958 mikrogram/ml. Kandungan antioksidan yang dimiliki pada daun tua lebih besar dibanding daun muda. Pembuatan rebusan daun gaharu ini tidak memakai pucuk disebabkan daun pucuk akan cepat lembek, kering dan layu (Samsuri, 2010).

Pengolahan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) dijelaskan oleh departemen kehutanan (2003) tentang teknik budidaya gaharu bahwa untuk membuat secangkir air rebusan gaharu cukup ambil 7-9 helai daun yang cukup tua dan bersih dari hama penyakit setelah itu dicuci kemudian direbus sehingga air rebusannya berkurang seperempatnya. Fitriana (2015) menambahkan pembuatannya bisa dilakukan dengan merebus 10 g daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) pada 100 ml air mendidih selama kurang lebih 15 menit. Menurut Jailani (2014) setelah daun gaharu diambil dari pohon kemudian dibersihkan dan dirajang atau diris kecil-kecil kemudian di didihkan dengan air panas 100 cc selama 6 menit. Samsuri dan Fitriani (2010) menambahkan bahwa membuat teh dari daun gaharu bisa dengan cara diseduh atau pun langsung direbus, lalu ditambahkan gula sesuai selera.

Penggunaan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) dalam produk kefir air adalah bentuk kombinasi sempurna dari sekedar penggunaan larutan sukrosa sebagai medium pembuatan kefir air. Siagian (2002) memperkuat, kombinasi berbagai jenis antioksidan menghasilkan perlindungan yang lebih bagus terhadap oksidasi dari pada satu jenis antioksidan saja. Sehingga khasiat antioksidan dalam kefir air dan daun gharu (*Gyrinops versteegii*) menjadi alasan penting dalam penelitian produk inovasi.

Fermentasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) menjadi kefir air menggunakan khamir dan bakteri asam laktat. BAL melakukan pemecahan glukosa sehingga menghasilkan asam laktat yang merangsang pertumbuhan

khamir. Khamir berguna dalam proses fermentasi kefir air dengan menghasilkan komponen pembentuk flavor dan alkohol sebagai cita rasa yang diciptakan.

SNI kefir belum ada sehingga disamakan dengan minuman fermentasi yoghurt yaitu nilai pH dibawah 4,6 dan total minimal BAL 10^7 cfu/ml (Rosiana, 2013). Fermentasi oleh BAL bisa berhenti disebabkan turunnya nilai pH medium, akan tetapi khamir yang terdapat dalam biji kefir masih aktif meskipun berada dalam pH yang rendah, sehingga mampu menfermentasi sukrosa menjadi senyawa etanol (Sugiharti, 2014). Waktu fermentasi sebagai acuan akan kandungan alkohol pada kefir air (Nadhiroh, 2018). Kadar alkohol pada kefir air sekitar 0,5 % - 1 % tergantung lama fermentasi yang dilakukan (Otles dkk, 2003), sedangkan menurut Penalver (2004) dalam Khotib, (2018) mengandung alkohol 0,5 % - 3,0 %. Kapasitas alkohol menjadi tolak ukur dalam kehalalan produk kefir air sehingga menjadi salah satu parameter yang harus dilakukan dalam uji karakteristik kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Proses fermentasi kefir air yang telah digunakan selama 18 jam, 21 jam dan 24 jam (Lathif, 2016). Waktu fermentasi yang dipakai mempunyai pengaruh pada hasil mutu kimia. Lama proses fermentasi 24 jam menunjukkan waktu inkubasi yang lebih baik dibandingkan dengan lama fermentasi 36 jam. Pada fermentasi selama 36 jam mengakibatkan turunnya kadar protein diakibatkan turunnya derajat keasaman media (Susanti dan Utami, 2011). Khotib (2018) menambahkan bahwa lama fermentasi berpengaruh pada derajat keasaman medium kefir air.

Pengamatan yang dilaksanakan oleh Mubin dan Zubaidah (2016) pada pengolahan kefir nira siwalan dari hasil pohon siwalan memberitahukan perlakuan terbaik dengan waktu fermentasi 24 jam pada suhu inkubasi 27 °C, yakni dengan nilai total khamir $1,20 \times 10^6$ cfu/ml dan total bakteri asam laktat 5.62×10^7 cfu/ml. Menurut Rahmah (2016) fermentasi 18 jam dan 24 jam paling disukai. Hal ini dikarenakan pada lama fermentasi 18 jam dan 24 jam menghasilkan aroma tidak menyengat dan sesuai. Berbeda dengan Nurminabari (2015) menyatakan bahwa pada fermentasi 21 jam merupakan fermentasi terbaik dalam hal rasa.

Kuswinarto (2018) menyatakan bahwa produk minuman yang berkualitas ditentukan oleh beberapa faktor diantaranya konsentrasi starter. Nadhiroh (2018) menambahkan bahwa konsentrasi yang ditambahkan pada sampel uji berpengaruh pada mutu kimia kefir air. Lathif (2016) menjelaskan proses fermentasi kefir air menggunakan medium baru bisa dilakukan dengan konsentrasi 5 %, dan konsentrasi 10 %. Khotib (2018) menambahkan variasi konsentrasi substrat pada medium baru kefir air yaitu 15 % dan 20 %. Perbedaan konsentrasi ini menghasilkan rasa dan bau yang berbeda pada produk beserata hasil senyawa antioksidan yang dihasilkan. Hal ini disebabkan media awal pertumbuhan biji kefir berupa air dan campuran gula, yang kemudian pada penelitian selanjutnya menggunakan rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) yang kaya akan senyawa antioksidan diantaranya terpenoid, fenol dan flavonoid.

Produk kefir air dari medium rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) akan menambahkan variasi terbaru yang bermanfaat bagi tubuh. Penjelasan yang telah diutarakan, peneliti berkeinginan untuk mengamati percobaan pada

pengaruh variasi konsentrasi daun *Gyrinops versteegii* (5 %,10 %, 15 % dan 20 %) dan waktu lama fermentasi (18 jam, 21 jam dan 24 jam) dengan bibit kefir air. Adapun penelitian berfokus pada pengukuran aktivitas antioksidan sebagai salah satu objek kajian kefir air dari medium rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*), total bakteri asam laktat mewakili karakteristik mikbiologis sedangkan pH medium dan kadar alkohol mewakili karakteristik fisik dan kimia yang semua parameter saling berhubungan untuk menunjukkan proses fermentasi yang berlangsung dengan hasil produk yang berkualitas.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dapat digagas dari pengamatan ini adalah:

Adakah pengaruh lama fermentasi dan variasi konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) terhadap karakteristik kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*)?

1.3 Tujuan

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah:

Mengetahui pengaruh lama fermentasi dan variasi konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) terhadap karakteristik kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*)

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang dapat ditarik oleh peneliti yaitu:

Ada pengaruh lama fermentasi dan variasi konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) terhadap karakteristik kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*).

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat dihasilkan dari pengamatan yaitu:

1. Hasil penelitian dapat berguna untuk penelitian selanjutnya, sebagai pengembangan produk inovasi.
2. Secara akademis penelitian ini merupakan bentuk kontribusi dalam bidang gizi dan kesehatan pangan tentang pengaplikasian daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) sebagai medium baru pada proses fermentasi kefir air dengan bibit kefir air.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah yang dapat diketahui dari penelitian ini yaitu:

1. Daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) yang dipakai untuk penelitian berasal dari gaharu yang tumbuh baik di perkebunan gaharu Gondangwetan pasuruan.
2. Daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) yang digunakan dalam pembuatan rebusan adalah daun yang sudah berumur tua pada pohon berusia 7,5 tahun.
3. Sampel yang diuji adalah rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) sebanyak 100 ml.

4. Konsentrasi Daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) dalam pembuatan rebusan adalah 5%, 10%, 15% dan 20%.
5. Starter kefir air yang dipakai untuk fermentasi kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) adalah bibit kefir air dengan presentase 5%.
6. Konsentrasi sukrosa yang dipakai untuk proses fermentasi sebanyak 6%
7. Variasi waktu fermentasi yang digunakan pada pembuatan kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) adalah 18 jam, 21 jam dan 24 jam.
8. Suhu inkubasi selama proses fermentasi kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) adalah suhu ruang (27 °C – 30 °C).
9. Uji karakteristik kefir air rebusan daun gaharu yaitu dengan parameter total BAL, pH medium, kadar alkohol dan aktivitas antioksidan pada kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*).

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Kefir

Kefir adalah produk minuman yang dibuat dengan proses fermentasi oleh starter *Kefir grains* atau biasa disebut sebagai biji kefir. Kefir merupakan minuman tradisional berasal dari pegunungan Kaukasian perbatasan Asia dan Eropa sebelah tenggara Rusia. Menurut penduduk setempat, minuman kefir ini dikenal dengan sebutan airan (Trenev, 2002) dan sangat populer di Timur Tengah, sedangkan bangsa Turki menyebut kefir dengan sebutan "Keyif" yang mempunyai arti "Terasa Baik" (Chaitow, 2002).

Sejarah kefir Menurut tradisi lisan sudah ada semenjak Nabi Muhammad SAW dengan adanya upaya pemberian biji kefir kepada ummatnya. Pada saat itu, biji kefir dibuat dari susu unta. Biji kefir tersebut berhasil menyebar hingga dunia Barat berkat perantaraan seorang yang bernama Irina Sakharova yang sedang melaksanakan riset dengan Lembaga Fisikawan Rusia tentang biji kefir (*kefir grains*). Setelah itu kefir mulai berkembang secara terbuka dan menyeluruh di Rusia, sehingga terus menyebar keseluruh penjuru dunia (Widodo, 2002).

Kefir adalah minuman yang memanfaatkan proses fermentasi oleh bakteri asam laktat (BAL) seperti *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis* dan khamir untuk menghasilkan asam dan senyawa etanol. Kefir mengandung 0,9 - 1,1 % asam laktat dan kadar alkohol sebanyak 0,5 -1,0 % (Surono, 2004). Kefir pada awalnya didapatkan dengan proses pasteurisasi atau fermentasi susu, dengan memakai starter berbentuk biji atau bibit kefir (*kefir granule*), yaitu butiran-

butiran putih atau krem yang merupakan kumpulan bakteri dan berbagai jenis khamir atau ragi nonpatogen. Bakteri berperan sebagai penghasil asam laktat dan komponen flavor, sedangkan khamir mempunyai peran penghasil karbon atau gas asam arang. Biji kefir atau butiran kefir mengandung bakteri baik diantaranya adalah *Lactobacillus fructivorans*, *Lactococci*, *Bulgaricus Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus parakefir*, *Lactobacillus delbrueckii-subsp. Lactobacillus kefiri*, *Lactobacillus kefirgranum*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, (Ide, 2008).

Kefir sudah diproduksi selama bertahun-tahun oleh penduduk pegunungan Kaukasian bagian utara yang bertepatan dengan sebelah timur laut Mongolia. Pada waktu itu kefir dibuat berskala rumah tangga dengan cara tradisional. Bahan yang digunakan dalam pembuatan kefir berupa susu kambing atau susu sapi. Kefir juga telah diproduksi oleh banyak negara di Rusia dan sedikit diproduksi disebagian negara di Eropa (Surono, 2004). Produk kefir ini cukup terkenal di Uni Soviet, hingga konsumsi produk ini mencapai 4,5 kg per kapita per tahun. Kefir mengandung 0,9-1,1% asam laktat dan 0,5-1% alkohol hasil dari mikroorganisme pada bibit kefir. Komposisi nutrisi kefir berupa lemak sebanyak 1,5%, protein 3,5%, air 89,5%, laktosa 4,5% dengan nilai pH dibawah 4,6 (Sanikta, 2013).

Karakteristik kefir bisa dideskripsikan dengan bentuk berwarna putih atau kekuningan, rasanya asam yang menyegarkan, aromanya seimbang dan tekstur agak tebal, konsistensi elastis akan tetapi tidak lengket. Komponen utama dari kefir itu sendiri berupa asam volatil, diacetyl, karbon dioksida dan asam laktat beserta etanol, yang mana komponen ini berpengaruh pada sifat sensori kefir

(Wszolek, 2006). Hasil rasa dalam minuman kefir dikarenakan peran bakteri yang menghasilkan komponen flavor dan khamir sebagai penghasil karbondioksida dan alkohol. Itulah penyebab rasa kefir asam dan terdapat rasa alkohol serta soda. Interaksi antara alkohol dan karbondioksida ini menghasilkan buih (Yusriah, 2014).

Bibit kefir terdiri dari dua macam yaitu bibit kefir susu dan bibit kefir air. Bibit kefir air merupakan hasil penemuan yang relatif baru sedangkan sejarah bibit kefir susu telah mencapai usia lebih dari 2.000 tahun. Kedua bibit ini sama-sama kaya akan probiotik akan tetapi mempunyai strain bakteri yang berbeda (Lathif, 2016). Strain mikroorganisme yang berada pada biji kefir air berjumlah lebih sedikit dibanding bibit kefir susu (Schneedorf, 2012). Gizi yang terkandung pada kefir susu lebih banyak dari pada kefir air, dikarenakan kandungan gizi alami pada medium susu yang dipakai, akan tetapi kefir air mempunyai kelebihan tersendiri dengan tidak memiliki lemak susu. Hal ini disebabkan kefir air tidak memakai susu sebagai medium fermentasinya, sehingga bermanfaat untuk menghindari penimbunan lemak berlebih dalam tubuh dan terhindar dari lactose intolerant (Sandra, 2012). Seiring semakin besarnya golongan vegetarian pada masyarakat juga memotivasi banyak peneliti didalam menyediakan produk minuman probiotik non-susu dan memakai bahan baku dari tumbuhan atau sayuran sebagai medium pertumbuhan probiotik (Mubin dan Zubaidah, 2016).

Kefir air merupakan minuman fermentasi yang berasal dari simbiosis antara khamir dan bakteri dalam kefir granula yang mampu menghasilkan alkohol (etanol), karbon dioksida, asam laktat, asam asetat dan berbagai senyawa lainnya

hasil perombakan sukrosa. Kefir air mempunyai banyak keistimewaan diantaranya kadar alkohol yang dihasilkan relatif lebih rendah sehingga mampu menjaga keseimbangan mikroflora dalam usus. Perbaikan mikroflora usus dapat tercapai melalui peningkatan mikroflora usus yang menguntungkan (bakteri asam laktat) karena mampu mensintesa vitamin-vitamin dan dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Schneedorf, 2012).

Kefir air memiliki beberapa kelebihan diantaranya kandungan lemak yang ada padanya sangat sedikit dari pada kefir berbahan baku susu (Supriono, 2008 dalam Mubin, 2016). Selain itu, disebabkan rasanya yang sedikit masam (berasa asam ringan), sehingga paradigma kefir air sebagai minuman kesehatan akan lebih disukai dan diminati oleh masyarakat dari pada kefir susu yang rasa asamnya kuat (Sampurno, 2012).

Fermentasi dalam produksi kefir air menggunakan media air dan campuran gula yang ditambahkan buah segar maupun buah kering (Alsayadi, 2013) Pembuatan kefir air dilaksanakan dengan dimasukkannya biji kefir kedalam media sukrosa (gula) beserta buah kering yang digunakan (contoh : aprikot, kismis dan buah ara) atau menggunakan buah yang lebih segar akan tetapi untuk penambahan padanya harus ada pergantian ditiap harinya untuk menjaga kesegarannya (Penalver, 2004). Kefir air lebih fleksibel dan mempunyai indeks glikemik (GI) yang rendah karena biji kefir air masih mampu aktif pada berbagai macam cairan selagi mempunyai gula atau sukrosa yang terkandung didalamnya (Sandra, 2012). Fermentasi bisa terus aktif pada suhu 27°C atau suhu ruang

dengan hasil air keruh pada media dan mempunyai kadar gula rendah, berkarbonasi, menghasilkan aroma etanol dan berasa asam (Schneedorf, 2012).

Penelitian kefir dalam dunia kesehatan yang dilakukan oleh para ahli menunjukkan kefir mampu menghambat pertumbuhan tumor lebih efektif dibanding yoghurt, dan mampu aktif dalam menjaga pencernaan dari serangan bakteri patogen sekaligus menjaga fungsi imun dan metabolisme dalam tubuh manusia, serta menjaga kadar kolesterol dalam darah. Minuman fermentasi kefir air mempunyai keunggulan dan manfaat yaitu mampu mengontrol dan menghilangkan bakteri dan *yeast* patogen yang berada dalam tubuh. (Mubin, 2016). SNI kefir belum ada sehingga disamakan dengan minuman fermentasi yoghurt yaitu nilai pH dibawah 4,6 dan total minimal BAL 10^7 cfu/ml (Rosiana, 2013). Standard kehalalan produk kefir dalam fatwa majelis ulama Indonesia (MUI) adalah dengan kadar alkohol dibawah 1% (Khotib,2018)

2.1.1 Starter Kefir Air

Starter kefir adalah butiran-butiran biji kefir yang terdiri atas mikroba yang dikelilingi oleh matriks berupa lendir yang terdiri atas gula polisakarida yang disebut kefiran. Bibit kefir juga terdiri atas campuran berbagai kamir (*ragi*) dan bakteri, keduanya mempunyai peran pada pembentukan struktur kefir dan cita rasanya (Ide, 2008). Menurut Hui (1993) dalam Angela (2016), starter adalah populasi mikroorganisme dengan jumlah dan keadaan fisiologis yang siap diinokulasi pada media fermentasi. Starter biasanya berada pada fase log karena pada fase tersebut mikroba bertumbuh dengan cepat. Menurut Gulitz (2011)

dalam Angela (2016), starter yang dicampurkan sebaiknya berkisar 3-11% dari volume media bahan fermentasi.

Starter kefir dideskripsikan berbentuk granula yang tidak beraturan dan berukuran 2 – 3 cm atau seperti biji gandum dan berwarna sedikit kuning atau keputih-putihan (Wood, 1998). Struktur bibit kefir atau starter kefir yaitu berlipat-lipat dibagian permukaannya, dan merupakan hasil penebalan dari berbagai mikroba (Sawitri, 2011).

Starter kefir air terdiri atas khamir dan bakteri asam laktat diantaranya *Lactobacillus lactic* dan *Lactobacillus kefirgranum* yang keduanya berperan dalam pembentukan asam laktat, *Lactobacillus kefiranofaciens* yang merupakan bakteri penyebab koagulasi atau penggumpalan, *Leuconostoc* berperan sebagai pembentuk diasetil, dan *Candida* merupakan penghasil CO₂ dan etanol (Susilorini dan Sawitri, 2005).

Rendaman air biji kefir mampu mempebesar fungsi imunitas dalam tubuh (Schneedorf, 2012). Flavor kefir air terbentuk dari asam dan hasil kombinasi CO₂ bersama alkohol. Rasa masam yang ditimbulkan oleh produk kefir dikarenakan aktifitas bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat yang berbuah asam hasil metabolismenya. Adapun alkohol atau senyawa etanol dengan rasa berbusa hingga beruap merupakan hasil aktifitas khamir yang mampu menfermentasi sukrosa menjadi CO₂ dan alkohol. Hasil CO₂ dan alkohol ini dalam kefir bisa meningkatkan selera bagi konsumen (Angela, 2016).

Schneedorf (2012) menerangkan kultur biji kefir air mempunyai bentuk dan media bahan yang berbeda dengan kultur biji kefir susu. Butiran biji kefir air

bersifat transparan dan tegas, mudah pecah atau terbelah dengan sedikit tekanan padanya. Biji kefir air bukan berbentuk gel atau lendir seperti yang pada biji kefir susu dan warnanya tidak putih susu atau putih pekat (Anfiteatro dan Schneedorf, 2004).

Strain mikroorganisme yang berada pada sampel biji kefir air bisa diketahui pada Tabel 2.1 berikut ini:

Tabel 2.1 Strain Mikroorganisme Biji Kefir Air (Schneedorf, 2012)

Bakteri	
<i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus buchneri</i> <i>Chryseomonas luteola</i> <i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Acetobacter aceti</i> <i>Lactobacillus lactis cremoris</i> <i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> <i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>Pseudoplanarum</i> <i>Enterobacter hormachei</i> <i>Gluconobacter frateuri</i>	<i>Lactobacillus fructiovorans</i> <i>Lactobacillus hilgardii</i> <i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactobacillus collinoides</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>Dextranicum</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i>
Khamir	
<i>Candida magnoliae</i> <i>Candida kefir</i> <i>Candida colliculosa</i> <i>Saccharomyces pretoriensis</i> <i>Candida famata</i> <i>Hanseniaspora vlnae</i> <i>Hanseniaspora yalbensis</i> <i>Candida lambica</i>	<i>Torulasporea delbruechii</i> <i>Zygosaccharomyces florentinus</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Kloeckera apiculata</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i> <i>Saccharomyces. florentinus</i> <i>Kluyveromyces lactis</i> <i>Candida inconspicua</i>

Standar Codex No. 243 (Codex, 2003) menunjukkan bahwa bibit kefir air mengandung *Lactobacillus kefir*, spesies dari genus *Leuconostoc*, *Lactococcus* dan *Acetobacter* yang tumbuh dengan hubungan yang cukup kuat dan spesifik,

selain mengandung bakteri tersebut, kefir grains juga mengandung khamir yang berperan memfermentasi laktosa yaitu *Kluyveromyces marxianus* maupun khamir yang tidak dapat memfermentasi laktosa seperti *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces unisporus*, dan *Saccharomyces exiguus*.

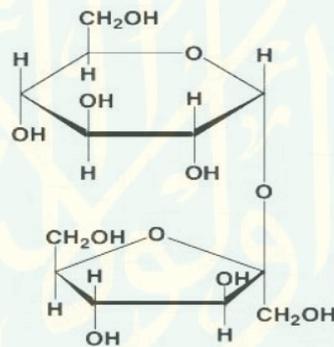
Kanbe (1992) menjelaskan bahwa starter kefir air terdiri akan berbagai macam jenis bakteri asam laktat dan khamir yang memiliki peran sebagai pembentuk cita rasa atau flavour dan struktur kefir itu sendiri, beberapa golongan bakteri yang dapat dikelompokkan pada bibit kefir air yang bisa diidentifikasi adalah 1) bakteri aromatic asam laktat seperti *Lactobacillus destranicum*, *Leucinestoc kefir* dan *Lactobacillus mesenteroides*, 2) bakteri mesofilik asam laktat seperti *Strerococcus lactis*, dan *Strerococcus ceremoris*, 3) bakteri asam asetat *Acetobacter aceti* dan *Glukonobacter sp*, 4) *L termofilik kefir*, *Lactobacillus bulgaricus*, *L.buchneri*, *L.bresvis*, dan *Lactobacillus caucasium*, 5) khamir atau yeast juga ikut memfermentasi laktosa seperti *Candida pseudotrupalis*, *Candida kefir* dan *Sacharomyces lactis*. Dan masih banyak spesies bakteri dan khamir pada bibit kefir yang belum diidentifikasi.

2.1.2 Medium Pertumbuhan Kefir Air

Medium pertumbuhan kefir air yang dipakai pada produk yaitu gula yang berperan sebagai bahan mentah dalam melajukan proses metabolisme biji kefir air. Sukrosa merupakan gula dan dihasilkan oleh tanaman (buah-buahan dan sayuran) dengan jalan mengkondensasikan glukosa dan fruktosa seperti bit gula

dan tebu. Secara komersial gula diekstrak dari tumbuhan tebu atau bit gula. Kandungan gula (sukrosa) pada tebu atau bit gula sebesar 16 % (Ramona, 1997).

Bibit kefir air harus tumbuh dan berproses dengan optimum dalam menghasilkan minuman kesehatan yang berkualitas. Satu-satunya cara untuk pertumbuhan biji kefir air dengan baik yaitu apabila larutan yang digunakan diberi campuran gula (sukrosa) (Anfiteatro, 2004). Mikroorganisme membutuhkan gula disakarida untuk proses metabolisme mereka, sehingga menguraikan dan memecahkannya menjadi beberapa bentuk dasar dan sederhana sehingga berbentuk monosakarida atau gula rantai tunggal yaitu fruktosa dan glukosa (Ramona, 1997).



Gambar 2.1 Struktur Sukrosa (Sumber : Ramona, 1997)

2.1.3 Proses Fermentasi Kefir Air

Langkah awal dalam fermentasi kefir air adalah membentuk D-fruktosa dan D-glukosa dari gula sukrosa oleh perlakuan enzim sukrase (Lehninger, 1990). kemudian glukosa diuraikan membentuk asam piruvat dengan proses glikolisis glukosa membentuk jalur EMP (Embden Meyerhof Parnas) (Purwoko, 2007). Glikolisis adalah proses pemecahan glukosa yang merupakan molekul yang

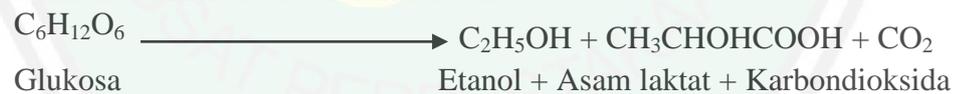
mempunyai 6 atom karbon menjadi 2 molekul piruvat dengan kelengkapan 3 atom karbon melalui proses reaksi enzimatik di dalam urutan ke-10 (Lehninger, 1990)

Supriyono (2008) menjelaskan bahwa bakteri asam laktat (BAL) sebagai pelaku dalam lajunya proses fermentasi pada bibit kefir air terdapat dua macam jenis yaitu heterofermentatif dan homofermentatif. Genus bakteri heterofermentatif diantaranya yaitu *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc* dan beberapa bakteri *Lactobacillus* lainnya, Sedangkan genus dari bakteri homofermentatif pada strain biji kefir air adalah *Lactobacillus casei*, *Lactococcus* dan beberapa bakteri *Lactobacillus* yang semisalnya (Irianto, 2013; Kristian, 2011). Reaksi kimia yang terjadi pada kedua jenis bakteri diatas sebagai berikut (Supriyono, 2008) :

Fermentasi Bakteri Homofermentatif



Fermentasi Bakteri Heterofermentatif



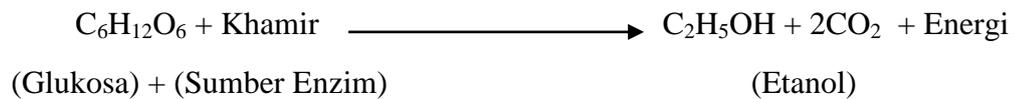
Perbedaan dari keduanya adalah dari hasil proses yang dilakukan, bakteri homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat sedangkan bakteri heterofermentatif mempunyai hasil berupa etanol, asam laktat dan karbondioksida. Persamaan dari kedua reaksi tersebut adalah pada mekanismenya didalam menghasilkan asam piruvat dan asam laktat yang akan dirubah menjadi laktat yang diikuti oleh proses transfer elektron menjadi NAD^+ yang mulanya berbentuk NADH . Bentuk fermentasi ini bisa dibedakan dengan memahami

keberadaan enzim yang memiliki peran pada laju metabolisme glikolisis. Pola fermentasi oleh bakteri heterofermentatif tidak berbentuk heksose maupun aldose, akan tetapi membentuk enzim fosfoketolase yang akhirnya menghasilkan CO₂.

Proses fermentasi oleh bakteri homofermentatif melibatkan aldose dan heksose, tetapi tidak mempunyai fosfoketolase dan sedikit sekali bahkan tidak sedikitpun menghasilkan CO₂. Jalur proses metabolisme yang dijalani oleh homofermentatif adalah lintasan EMP (Embden Meyerhof Panas). Sedangkan proses metabolisme heterofermentatif dengan menggunakan heksosa yang memakai jalur pentosa fosfat atau heksosa monofosfat (Irianto, 2013).

Fermentasi etanol bermula dengan adanya proses asam piruvat yang menghasilkan perubahan bentuk menjadi etanol. Fermentasi etanol adalah proses yang serupa dengan glikolisis akan tetapi piruvat dirubah dengan melibatkan enzim etanol dehidrogenase beserta piruvat dekarboksilase membentuk etanol melalui asetaldehida. Fermentasi etanol memiliki proses yang tidak sama dengan glikolisis, karena khamir yang terkandung tidak memiliki dehidrogenase laktat. Pada proses ini juga menghasilkan molekul piruvat. (Lehninger, 1990).

Bentuk piruvat yang dihasilkan dirubah oleh enzim piruvat dekarboksilase menjadi asetaldehida, kemudian asetaldehida ini tereduksi menjadi etanol dengan menghasilkan tenaga pereduksi melibatkan aktifitas enzim etanol dehidrogenase. Reaksi kimia yang terjadi dari proses diatas diterangkan sebagai berikut (Lehninger, 1990) :



Langkah terakhir yaitu perannya genus *Acetobacter*, yang mana salah satu dari genus tersebut adalah bakteri *Acetobacter aceti* yang memberikan produk asam asetat dari proses perubahan etanol. Perubahan ini terbentuk disebabkan proses asetifikasi didalamnya sehingga menghasilkan asam asetat (Timotius, 1982). Reaksi kimia yang berlangsung akibat perubahan etanol menjadi asam asetat bisa dijelaskan sebagai berikut:



Proses metabolisme bakteri *Acetobacter aceti* berupa aerobik yaitu oksidasi etanol membentuk asam asetat. Tahapan fermentasi asam asetat terbagi menjadi 2 tahap, yaitu fermentasi etanol dan fermentasi asam asetat (Hidayat, 2006). Ketika fermentasi etanol dimulai gula yang didapat dari bahan baku akan dirubah menjadi etanol dan karbondioksida oleh khamir dengan cara anaerob. Kemudian etanol yang ada akan dirubah lagi menjadi asam asetat akan perilaku bakteri asam asetat dengan cara aerob (Puspaningsih, 2009).

Fermentasi oleh bakteri asam laktat dalam bibit kefir air bisa berhenti disebabkan turunnya nilai pH medium, akan tetapi khamir yang terdapat dalam biji kefir masih aktif meskipun berada dalam pH yang rendah, sehingga mampu menfermentasi sukrosa menjadi senyawa etanol (Sugiharti, 2014). Waktu fermentasi sebagai acuan akan kandungan alkohol pada kefir air (Nadhiroh, 2018). Kadar alkohol pada kefir air sekitar 0,5 % - 1 % tergantung lama

fermentasi yang dilakukan (Otles dkk, 2003), sedangkan menurut Penalver (2004) dalam Khotib, (2018) mengandung alkohol sebesar 0,5 % - 3,0 %.

2.1.4 Nilai Gizi dan Khasiat

Kefir mempunyai banyak kelebihan jika dibanding dengan susu segar. Keunggulan itu adalah (Fardiaz, 1997):

1. Tersedianya asam yang dibentuk dari peranjangan masa simpan, mampu mencegah perkembangan mikroba pembusuk sehingga mencegah adanya mikroba patogen didalamnya dan meningkatkan keamanan produk kefir.
2. Adanya asam amino esensial dan mineral yang bermanfaat sebagai unsur pemelihara dan unsur pembangun dalam perbaikan sel yang rusak.
3. Memperbesar kandungan, vitamin (asam folat, B2, B12) fosfor, kalsium dan mineral yang bagus untuk kesehatan.
4. Meningkatkan ketersediaan Chromium (Cr), kalsium (Ca) dan magnesium (Mg) yang merupakan unsur mineral mikro esensial.
5. Kandungan fosfor yang terbentuk membantu lemak, protein dan karbohidrat pada perbaikan dan pembentukan sel serta untuk menghasilkan energi.

Kefir air mempunyai banyak kelebihan diantaranya yaitu kadar alkohol yang diperoleh relatif lebih kecil sehingga menjaga keseimbangan mikroflora dalam usus. Perbaikan mikroflora usus dapat dilakukan melalui peningkatan mikroflora usus yang menguntungkan (bakteri asam laktat) karena dalam mensintesa vitamin-vitamin dan dapat meningkatkan sistem kekebalan dari tubuh. Minuman fermentasi kefir memiliki keunggulan yaitu mampu mengontrol dan

menghilangkan bakteri dan yeast patogen yang ada dalam tubuh. Manfaat minuman fermentasi kefir sendiri antara lain mengontrol kadar kolesterol dengan cara melindungi dari kerusakan kardiovaskular, meminimalis resiko tumor dan kanker di organ dalam khususnya di organ pencernaan, menyembuhkan penyakit seperti migrain, diare (Zubaidah, 2016).

Dampak kesehatan yang dihasilkan dari BAL yaitu mampu memperbaiki dan meningkatkan daya cerna laktosa serta mengendalikan bakteri berbahaya atau pathogen didalam saluran pencernaan, menghambat pertumbuhan tumor, meminimalis resiko kolestrol, bersifat antikarsinogenik dan antimutagenik, meningkatkan fungsi imunitas, mencegah penyakit sembelit dalam perut, meningkatkan produksi vitamin B dan dan inaktivasi semua senyawa beracun dan menghasilkan metabolit-metabolit seperti asam laktat dan H_2O_2 (Sari, 2007).

kefir air secara empiris terbukti dalam berbagai penelitian dipercaya mampu mengobati dan mencegah berbagai penyakit dalam seperti jantung, ginjal, hati dan paru-paru serta mampu menurunkan kolestrol dan meningkatkan nafsu makan dan membuat tubuh terasa lebih segar dan berenergi (Firdausi, 2010 dalam Michael, 2014)

2.2 Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

Gaharu merupakan produk hasil hutan non kayu bernilai komersial tinggi berwarna coklat kehitaman hingga hitam berupa gumpalan padat. Gaharu memiliki bau harum dibagian akar, batang, dahan dan cabang dari spesies

tumbuhan penghasil gaharu setelah mengalami proses perubahan fisika dan kimia akibat terinfeksi oleh jamur (Sidiyasa dan Mira, 2009).

Bangsa Indonesia adalah bangsa produsen gaharu terbanyak di dunia. Indonesia pada tahun 1990 akhir mampu memproduksi gaharu kurang lebih 600 ton/tahun, adapun awal tahun 2000 menunjukkan kuota produksinya menurun hingga 300 ton/tahun dan hanya terpenuhi antara 10-15 % saja dan pada tahun berikutnya terus menurun hingga kuota produksinya hanya 50-150 ton/tahun pada tahun 2004 (Sumarna, 2012).

Negara Indonesia memiliki 25 macam spesies penghasil gaharu yang terkelompok pada 8 genus dan 3 famili (Thymeleaceae, Leguminosaceae, dan Euphorbiaceae), salah satunya adalah genus *Gyrinops*. Total terdapat 9 spesies dari genus *Gyrinops*. Gaharu yang dikembangkan dalam perdagangan oleh Indonesia ada 3 spesies yaitu *Aquilaria malaccensis* dari Kalimantan dan Sumatera; *Aquilaria filaria* dari Sulawesi, Papua, dan Maluku; serta *Gyrinops versteegii* yang banyak diproduksi dari Nusa Tenggara (Siran, 2011). Jenis *Aquilaria malaccensis* dan *Gyrinops versteegii* memiliki hubungan kekerabatan yang sangat dekat (Ding Hou, 1960). Jenis *Gyrinops versteegii* merupakan salah satu tumbuhan penghasil gaharu yang berkualitas superior. Beberapa spesies dalam genus *Gyrinops* belum semuanya terbudidayakan dengan baik dan benar, seperti aspek bagaimana informasi karakteristik fenotipnya yang superior atau inferior dan keragaman genetiknya, (Mulyaningsih and Yamada, 2007).

Gyrinops versteegii adalah pohon gaharu yang tak kalah kualitasnya bila dibandingkan dengan jenis-jenis gaharu lainnya yang ada di Indonesia. Jenis ini

adalah jenis yang penyebarannya lebih banyak di Indonesia bagian timur. Lahan tempat tumbuh memiliki tekstur tanah bervariasi dari berlempung, berbatuan dan berpasir, atau liat dengan struktur remah. *Gyrinops versteegii* bisa tumbuh pada lahan yang sangat subur, sedang, hingga lahan-lahan ekstrim dengan solum tanah yang cukup dangkal (<1 m). Tanaman ini tidak dapat tumbuh pada lahan terendam air secara permanen (Sumarna, 2013).

2.2.1 Morfologi Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

Tanaman gaharu *Gyrinops versteegii* termasuk biseksual memiliki Batang berwarna abu kecoklatan, tinggi pohon bisa mencapai 30 meter, banyak cabang, dengan diameter 50 cm (Sumarna, 2012). Gaharu genus *Gyrinops* memiliki kayu berwarna gelap, kayunya keras dan permukaan batang licin kadang beralur dan kulitnya tersisip seperti garis-garis pendek berwarna putih, lingkaran tumbuh kurang jelas serta kayu gubal cukup sulit dibedakan (Maulia, 2015).

Daun *Gyrinops versteegii* memiliki ciri bagian tepi daun melengkung dan sedikit bergelombang, permukaan daun mengkilap dan licin, dan tulang daun sekunder sebanyak 12-16 pasang (Susilo, 2003). Daun lonjong memanjang, panjang sekitar 8 cm, lebar daun 5 – 6 cm berwarna hijau tua, ujung meruncing dan tepi daun merata (Sumarna, 2012).

Bunga tanaman gaharu muncul di bawah ketiak daun dan ujung ranting. Mahkota bunga berbentuk lancip dengan panjang mencapai 5 mm. Kelopak bunga berbentuk pipa. Bunganya bau yang harum dengan warna hijau kekuningan. (Departemen Kehutanan, 2003). Tumbuhan *Gyrinops versteegii* memiliki buah

berwarna kuning kemerahan dengan bentuk lonjong (Setyaningrum, 2014). Benih tanpa endosperem, embrio lurus atau langsung (Betrianingrum, 2009).



Buah gaharu

bunga gaharu

Daun gaharu

Batang gaharu

Gambar 2.2 Morfologi gaharu *Gyrinops versteegii* (Sumber: Sitepu *et al.*, 2011).

2.2.2 Kedudukan Taksonomi Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

Tanaman penghasil gaharu pada umumnya tanaman tersebut berasal dari famili Thymeleaceae dan genus *Aquilaria*, *Aetoxylon*, *Genotylus*, *Grynops*, *Wikstroema*, *Enkkleia*, *Dalbergia*, dan *Excoccaria* (Setyaningrum, 2014). Tanaman-tanaman tersebut mampu menghasilkan resin beraroma khas gaharu yang merupakan hasil produk metabolisme sekunder yang biasa disebut dengan gubal gaharu. Namun, hanya ada tiga spesies yang menghasilkan gubal berkualitas tinggi yaitu *Aquilaria malaccensis*, *Aquilaria macrocarpa* dan *Gyrinops versteegii* (Setyaningrum dan saprianto, 2014).

Gyrinops adalah genus dari famili Thymelaeaceae yang dikenal sebagai penghasil gaharu yang berhasil tumbuh baik di Indonesia. Eksploitasi yang tak terkendali telah mengancam kelestarian tumbuhan ini. Oleh karena itu, upaya

perlindungan telah dilakukan dengan memasukkan *Gyrinops versteegii* sebagai jenis penghasil gaharu utama di Indonesia, kedalam daftar Appendix II CITES (Convention on the International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna) pada bulan Oktober 2004 (Betrianingrum, 2009).

Gilg (1932) menjelaskan *G. Versteegii* memiliki taksonomi sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Thymelaeales

Famili : Thymelaeaceae

Marga : *Gyrinops*

Spesies : *Gyrinops versteegii*

2.2.3 Kandungan Gizi dan pemanfaatan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

Tumbuhan gaharu yang selama ini diambil bagian gubal pada batangnya untuk digunakan parfum, obat dan dupa serta anti serangga. Cina merupakan negara yang memanfaatkan tanaman gaharu dalam pengobatan berbagai penyakit misalnya peradangan ginjal, asma, kanker, perut, dada, thyroid, paru-paru, diare, kolik dan tumor (Mardiastuti dan Soehartono, 2003 dalam Mega, 2010).

Gaharu (*Gyrinops versteegii*) diketahui secara empiris mempunyai banyak khasiat pengobatan. Pengobatan tradisional di India (Ayurveda) membuktikan

bahwa tumbuhan gaharu mampu menyembuhkan luka yang sudah membusuk (Snelder and Lasco, 2008). Dalam pengobatan tradisional Cina (TCM), gaharu dimanfaatkan sebagai obat pada gangguan ginjal, sistem pernafasan dan perut. Gaharu juga bisa dimanfaatkan sebagai produk kecantikan (kosmetik), minyak gosok, obat rematik, obat sakit jantung dan penyembuh perut kembung (Setyowati dan Wardah, 2007). Ekstrak daun gaharu secara empiris dan telah dibuktikan oleh banyak peneliti mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Swastini dan Mega, 2010).

Tumbuhan gaharu secara kimiawi mengandung agarospirol, kusunol, sesquiterpen alkohol, 3,4-dihidroksi-dihydroagarufuran, sesquiterpen, p-methoxybenzylacetone, Daun tanaman gaharu dapat dijadikan produk teh yang memiliki khasiat meningkatkan kesegaran tubuh. Senyawa aktif agarospirol yang terdapat pada daun tanaman gaharu mampu menekan sistem syaraf pusat sehingga menghasilkan dampak menenangkan pada diri konsumen. Rebusan daun gaharu terbukti manjur dan mujarab sebagai obat anti mabuk (Tarigan, 2004). Hasil penelitian juga menyatakan ekstrak daun gaharu memiliki efek farmakologis seperti anti tukak, antioksidan, antibakteri, analgetik dan anti kanker (Mega, 2010).

Daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) mempunyai potensi yang terus dikembangkan sebagai sumber senyawa antioksidan alami disebabkan berdasarkan pengujian pada DPPH (*Diphenil pikril Hidrazil*) persen peredaman ekstrak daun gaharu sesudah 5 menit = 106,32% dan inhibisi sesudah 60 menit = 111,31%. Senyawa dinyatakan memiliki potensi sebagai antioksidan apabila persen

inhibisinya lebih besar dari 50 %. Screening Fitokimia dari bahan ekstrak daun gaharu memperkuat akan kandungan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan misalnya senyawa fenol, terpenoid dan flavonoid (Mega, 2010).

Kardena (2015) menjelaskan akan hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun gaharu hasil maserasi dengan metanol mengandung senyawa golongan flavonoid, tanin, polifenol, glikosida dan triterpenoid. Daun gaharu memiliki kandungan alkaloid, saponin, tritepenoid, flavonoid, tanin dan steroid (Wil dkk, 2014). Senyawa aktif antioksidan diantaranya adalah flavonoid, asam fenolik, vitamin E, karoten, tokoferol, vitamin C, bilirubin, albumin dan asam urat (Gheldof *et al.*, 2002 dalam Mega dan Swastini, 2010). Diperkuat lagi oleh Nugraha (2015) daun gaharu mempunyai banyak kandungan senyawa kimia dari golongan flavanoida yaitu flavon, isoflavon dan flavonol sehingga dimanfaatkan daunnya sebagai minuman seduh yang mberfungsi sebagai antioksidan. Senyawa tersebut termasuk antioksidan alami yang dinyatakan lebih aman daripada antioksidan sintetik yang pada rentan waktu lama bisa mengakibatkan dan mutagenik (Oktaviani, 2014).

Parwata (2015) menjelaskan dalam penelitiannya bahwa hasil analisis kandungan kimia Gaharu jenis *Gyrinops versteegii* menunjukkan ekstrak air daun gaharu kaya akan kandungan senyawa flavonoid, fenol, dan terpenoid Karakteristik daun Gaharu menunjukkan kadar air 60,90%,. Kadar total fenol terbesar pada ekstrak air yaitu 14.980 mg GAE/100 mg. Kapasitas antioksidan terkuat terjadi pada ekstrak air dengan $IC_{50} = 3,44$ mg/mL (5 menit) dan 3,03 mg/mL (60) sehingga bisa dihukumi sebagai antioksidan alami.

Budidaya gaharu semakin terus berkembang akan tetapi dalam menunggu hasil yang bisa diberikan oleh tumbuhan gaharu memakan waktu yang sangat lama sedangkan petani masih memerlukan biaya produksi termasuk perawatan dan pemeliharaan untuk menghasilkan gubal gaharu yang optimal. Kegiatan yang bisa dilakukan secara cepat dan tidak membutuhkan waktu cukup lama adalah memanfaatkan daun gaharu menjadi produk minuman yang merupakan solusi dan alternatif buat para petani gaharu sehingga gaharu telah telah memiliki nilai ekonomis yang menguntungkan sebelum menghasilkan gubal (Admaja, 2015).

Hasil kajian dan penelitian oleh para ahli menunjukkan bahwa rebusan daun gaharu merupakan minuman yang aman untuk dikonsumsi. Beberapa pengujian dilakukan terhadap rebusan daun gaharu menyatakan hasil yang positif dan bagus pada kesehatan, diantara hasil dari pengamatan tersebut adalah (Admaja, 2015) :

1. Hasil pemeriksaan fisik terhadap objek membuktikan hasil Insomnia rating scale (IRS) semakin rendah yang menunjukkan mampu mengobati insomnia dengan dinyatakan tidur lebih nyenyak/pulas dan bangun dikeesokan harinya menjadi lebih ringan dan segar.
2. Dapat menaikan kadar kolesterol baik dengan menurunnya kekentalan padadaerah yang sangat berperan dalam penurunan radikal bebas sehingga memiliki kemampuan yang besar dalam mencegah terjangkitnya penyakit degeneratif seperti stroke dan diabetes..
3. Mampu menurunkan kadar gula darah dalam tubuh.

4. Mampu meningkatkan kesuburan bagi wanita dan menaikkan aktifitas seksual bagi pria dan wanita.
5. Tidak mengganggu produksi air susu ibu.
6. Tidak mengganggu sistem darah (hematopetik).
7. Tidak mengganggu fungsi liver dan hati.



Gambar 2.3 Rebusan daun gaharu (sumber : Nasution, 2015)

2.2.4 Kandungan Kimia (Metabolit Sekunder) Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

Berdasarkan kemotaksonomi, daun gaharu dalam keluarga Thymelaeaceae seperti *Gyrinops versteegii* mengandung senyawa-senyawa sebagai berikut (Hegnauer, 1973; Sheng-zhuo dkk., 2013):

1) Diterpenoid dan triterpenoid

Terdapat dua jenis senyawa diterpenoid yaitu jenis tigliane dan abietane. Jenis tigliane berupa senyawa trienoilforbol-13-asetat dan 12-hidroksilforbol-13-asetat. Jenis abietane berupa senyawa , metil-7- oksodehidroabietat, asam 7 α -hidroksipodokarpen-8-en-13-on-18-oat, metil abieta-8,9,12-trien-19-oat , 8-norisopimara-8,15-dien-4 β -ol, dihidrotansinon, kriptotansinon, tansinon , tansinon IIA. Selain senyawa diterpenoid juga terdapat senyawa triterpenoid, berupa

pentasiklik triterpen dan tertrasiklik. Jenis triterpen tetrasiklik, seperti cucurbitasin I, dihidrocucurbitasin F, heksanorcucurbitasin I, cucurbitasin D, neocucurbitasin B, isocucurbitasin D. Sedangkan jenis triterpen pentasiklik, seperti hederagenin, 22- hidroksihopan-3-on, 2 α -hidroksiursan.

2) Seskuiterpen dan minyak atsiri

senyawa seskuiterpen dan minyak atsiri secara garis besar berasal dari resin gaharu, tetapi terdapat juga di daun diantaranya cadinan, valencan, selinan, eremofilan, guaian, vetispiran, prezizan. Komponen minyak atsiri meliputi 3,4-dihidroksiagarofuran, norogsoagarofuran, hidroksidihidro agarofuran dan dihidroagarofuran, sequiterpenoida, eudesmana, dan velancana.

3) Senyawa fenolik, flavonoid, tanin

Senyawa fenolik, flavonoid, tanin pada gaharu Meliputi senyawa flavan, 2-(2- feniletil) kromon, coumarinolignan (aquillochin). Senyawa jenis flavan diantaranya adalah senyawa 5-O-xilosilglikosida dari 7-O- metilapigenin, 7- β -D-glikosida dari 5-O-metilapigenin, mangiferin, 5-O-xilosilglikosida dari 7,4'-di-O-metilapigenin, luteolin, 5- β - D-glikosida dari 7,3'-di-O-metilluteolin, genkwanin, hidroksigenkwanin, 5-hidroksil-7,3',4'- trimetoksiflavon, 7,4'-dimetil-luteolin, 4',5-dihidroksi-3',7- dimetoksiflavon, apigenin-7,4'-dimetileter, lethedioside A, lethedoside A, 7-hidroksi-4'- metoksi-5-O-glukosa flavon, 7,4'-dimetoksi-5-O-glukosa flavon, luteolin-7,3',4' metileter, acacetin, 7,3'-dimetoksi-4'-hidroksi-5-O-glukosa flavon, formononetin, hesperetin, genkwanin 5-O- β -primeverosida, homoeriodiktiol. Pada minyak atsiri daun gaharu diperoleh sejumlah kecil senyawa difenil keton dan senyawa fenolik lainnya seperti iriflofenon, 7- β -D-

glukosida dari 5-O-metilapigenin, aquilarinosida A, mangiferin, iriflofenon 2-O- α -ramnosida, 2-O- α -L-ramnopiranosida-1,4,6,4'-trihidroksibenzofenon, iriflofenon 3,5C- α -ramnosida, serta 3,3'- (3-hidroksipropan-1,2-diil) difenol. Selain itu, terdapat pula senyawa-senyawa tanin seperti justisidin F, ciwujiaton, (+)-siringaresinol, justisidin A, glukopiranosida, siringaresinol-4,4'-di-O- β -D-siringaresinol-4'- β -O-D-glukopiranosida.

4) Senyawa lain

Terdapat pula senyawa sterin, asam kelidonat, asam sinamat, lilin,. Senyawa-senyawa folatil yang terkandung dalam gaharu antara lain berupa keton (5,4%), senyawa alkil (31,64%), ester (5,81%), alkohol, asam (4,79%), aldehid (2,63%), kinolin (1,23%), fenol (0,62%), naftalen (0,51%), furan (0,33%), 1,8-sineol (0,23%), dan indol (0,16%) alkena (0,48%), philippines (0,36%), (Zheng, 2015). Daun gaharu mengandung senyawa furanoid sesquiterpene, di antaranya adalah a-agarofuran, b-agarofuran, dan agarospirol. Senyawa aktif agarospirol yang berfungsi menjadi antidepresi dengan menekan sistem syaraf pusat yang menghasilkan ketenangan dan dapat mengembalikan kebugaran tubuh (Mega, 2010).

2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah suatu senyawa yang berfungsi dalam menyeimbangkan ikatan dalam radikal bebas sehingga bermanfaat dalam pencegahan berbagai penyakit degeneratif misalnya karsinogenesis, strok, kardiovaskuler, diabetes dan beberapa penyakit lainnya. Senyawa antioksidan

merupakan substansi yang diperlukan untuk tubuh dalam penyerapan radikal bebas pencegahan terhadap kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas pada sel normal, lemak dan protein. Antioksidan mempunyai struktur kimia yang mampu menyerahkan elektron valensinya terhadap struktur molekul radikal bebas dengan tidak mengganggu sedikitpun fungsi didalamnya. Antioksidan juga berfungsi untuk menghentikan laju reaksi berantai radikal bebas (Zheng W., 2009 ; Shafie, 2011 ; Wrsiati, 2011).

Perlawanan terhadap kerugian radikal bebas yang berbentuk radikal bebas endogen ataupun radikal bebas eksogen telah terjadi didalam tubuh manusia secara alami dengan menyediakan penangkal berupa sistem antioksidan yang terdiri dari tiga kelompok yaitu (Anonim, 2012) :

1. Antioksidan Primer yang merupakan antioksidan yang bertugas dalam mencegah propagasi yaitu pencegah terbentuknya radikal bebas selanjutnya, antioksidan ini diantaranya yaitu transferin, albumin dan feritritin.
2. Antioksidan Sekunder adalah antioksidan yang bertugas dalam menangkap radikal bebas dan menghentikan terbentuknya radikal bebas, jenis antioksidan ini diantaranya yaitu katalase, Glutathion Peroxidase (GPx) dan Superoxide Dismutase (SOD).
3. Repair enzyme atau Antioksidan tersier merupakan antioksidan yang berguna untuk memperbaiki jaringan tubuh yang sudah rusak oleh akibat radikal bebas.

Beberapa sumber antioksidan yang bisa diambil manfaatnya oleh manusia digolongkan menjadi 3 yaitu (1) antioksidan yang telah tersedia di dalam tubuh manusia yang disebut dengan enzim antioksidan (Glutation Peroksidase (GPx),

Katalase dan enzim Superoksida Dismutase), (2) antioksidan sintetis yang biasanya dipergunakan dalam produk pangan misalnya Butil Hidroksi Toluen (BHT), Butil Hidroksi Anisol (BHA), Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) dan propil galat. (3) antioksidan alami yang didapatkan dari bagian tanaman seperti akar, kayu, kulit kayu, bunga, biji, buah dan daun serta serbuk sari. Antioksidan ini juga dapat diperoleh dari mikroba dan hewan. Jenis antioksidan yang banyak didapatkan dari bahan alami berupa vitamin C, E, pigmen (antosianin, klorofil), beta karoten, polifenol dan flavonoid (Siswono, 2005 ; Ardiansyah, 2007).

Enzim antioksidan atau antioksidan endogenus enzimatis berupa katalase, (CAT) superoksida dismutase (SOD) dan glutathion peroksidase (GPx). Superoksida dismutase adalah metaloenzim yang bertugas katalisasi dismutasi radikal anion superoksida (O_2^*) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Enzim ini berkarakteristik tidak stabil terhadap panas dan stabil pada kondisi basa, serta masih aktif meskipun disimpan sampai 5 tahun pada suhu $5^\circ C$. Gutteridge dan Halliwell (1999) menjelaskan bahwa aktivitas Superoksida dismutase terbesar terdapat di pankreas, ginjal, kelenjar adrenalin, paru-paru, hati, limfa, otak, timus, lambung, darah, ovarium dan usus (Shafie, 2011; Wrasati, 2011; Zheng W., 2009).

Aktivitas atau kapasitas antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam meredam laju reaksi pembentukan radikal bebas. Pernyataan aktivitas antioksidan secara *in vitro* dinyatakan secara spektroskopi (dengan alat spektrofotometer). Eksplorasi senyawa fitokimia terutama senyawa bioaktif yang diperoleh dari tanaman obat atau dari bahan yang lainnya secara

terus menerus dikaji untuk memperoleh senyawa antioksidan yang bermanfaat dalam menjaga kesehatan tubuh manusia dan terhindar dari berbagai penyakit (Prakash, 2001).

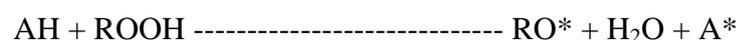
Penambahan antioksidan primer (AH) dengan konsentrasi rendah pada lipida bisa mencegah atau menghentikan reaksi autooksidasi minyak dan lemak. Penambahan tersebut mampu menghalangi reaksi oksidasi dalam tahapan propagasi ataupun inisiasi. Radikal-radikal antioksidan (A*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak memiliki cukup energi untuk bisa bereaksi pada molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990). Menurut Hamilton (1983) radikal-radikal antioksidan bisa saling bereaksi menyusun produk non radikal.



Radikal lipida



Tinggi konsentrasi antioksidan yang dilibatkan mampu mempengaruhi laju reaksi oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, kapasitas antioksidan golongan fenolik sering musnah bahkan antioksidan tersebut membentuk prooksidan. Pengaruh kadar konsentrasi pada laju reaksi oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sample yang akan diuji.



Stuckey (1972) menjelaskan bahwa inhibisi oksidasi lipida oleh antioksidan melalui lebih dari satu mekanisme tergantung pada keadaan sistem

dan reaksi makanan. Ada 4 kemungkinan mekanisme inhibisi tersebut yaitu (a), penambahan lipida pada cincin aromatik antioksidan (b) pemberian elektron, (c) pemberian hidrogen, (d) pembentukan kompleks antara lipida dan cincin aromatik antioksidan. Eksplorasi lebih lanjut menyatakan bahwa ketika atom hidrogen labil pada suatu antioksidan tertentu dirubah dengan deuterium, antioksidan tersebut menjadi tidak efektif. Hal ini membuktikan bahwa metode inhibisi dengan cara pemberian hidrogen lebih bagus dari pada pemberian elektron. Beberapa peneliti meyakini bahwa pemberian hidrogen atau elektron merupakan mekanisme utama.

2.3.1 Radikal Bebas

Kegiatan tubuh yang berlebihan dan kurangnya asupan gizi yang baik sebab pola makan yang tidak teratur serta minimnya olah raga menyebabkan meningkatnya radikal bebas yang timbul dalam tubuh. Kelebihan radikal bebas ini dikarenakan antioksidan alami dalam tubuh berupa antioksidan endogen (Glutathion Peroxidase, Superoxide Dismutase dan Katalase) tidak berdaya lagi dalam stabilisasi atau inhibisi radikal bebas. Radikal-radikal bebas tersebut akan membuat reaksi baru berupa reaksi oksidasi dengan protein dan lemak, sehingga mengakibatkan rusaknya tress a-membran sel dan rusaknya komposisi DNA. Hal inilah penyebab awal terjadinya kerusakan oksidatif atau biasa disebut dengan tress oksidatif. Tress oksidatif jika didiamkan dalam waktu lama menyebabkan terjadinya suatu mutasi hingga mengakibatkan efek negatif dengan timbulnya penyakit tress ative seperti katarak, kanker, penuaan dini, jantung dan penyakit

lainnya (Ardiansyah, 2007 ; Moein, dkk., 2007; Orhan, dkk., 2009 ; Shafie, 2011).

Radikal bebas merupakan molekul atau atom yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan bisa berdiri sendiri (Clarkson and Thompson, 2000). Mayoritas radikal bebas melakukan reaksi dengan cepat pada atom lain dalam mengisi orbital yang tidak berpasangan, sehingga radikal bebas normalnya berdiri sendiri hanya dalam periode waktu yang singkat sebelum berpasangan dengan atom lain. Simbol untuk radikal bebas yaitu sebuah titik yang berada di dekat simbol atom (R). *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang sangat reaktif yang terdiri dari golongan radikal bebas dan golongan nonradikal. Golongan radikal bebas diantaranya *hydroxyl radicals* ($\text{OH}\cdot$), *peroxyl radicals* ($\text{RO}_2\cdot$) dan *superoxide anion* (O_2^-). Golongan nonradikal seperti *organic peroxides* (ROOH) dan *hydrogen peroxide* (H_2O_2) (Halliwell and Whiteman, 2004).

Radikal bebas tanpa disadari terbentuk secara berkelanjutan melalui kejadian metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi dan sebagai respon atas faktor eksternal tubuh seperti pencemaran lingkungan, asap rokok dan sinar ultraviolet. pengamatan dibidang gizi pada tingkat seluler menyatakan bahwa antioksidan berperan sebagai pemberi perlindungan pada jaringan tubuh dari efek negatif radikal bebas tersebut (Mega dan Swastini 2010). Radikal bebas yang memiliki satu atau lebih elektron tidak stabil pada orbital valensinya, untuk mencapai keseimbangannya, radikal bebas bereaksi dengan mengambil paksa elektron dari molekul disekitarnya. Reaksi ini akan terus berlanjut didalam tubuh

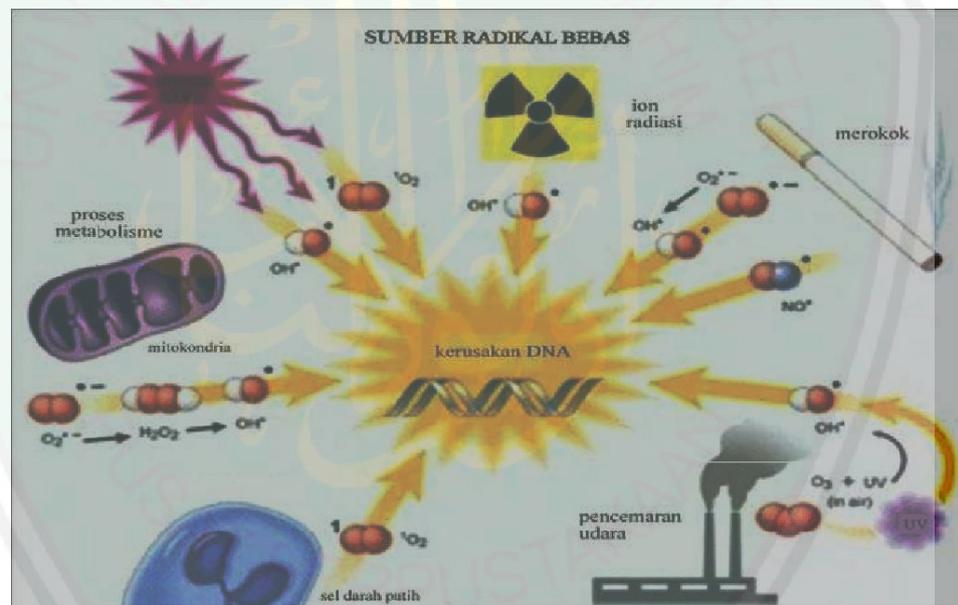
dan jika tidak cegah akan mengakibatkan berbagai penyakit degeneratif seperti jantung, penuaan dini, katarak, kanker, serta penyakit lainnya (Maulida dan Naufal 2010).

Radikal bebas memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan di orbit terluarnya sehingga relatif tidak stabil. Untuk mendapatkan kestabilannya, molekul yang bersifat reaktif tersebut mencari pasangan elektronnya, sehingga disebut juga sebagai *reactive oxygen species* (ROS). Mekanismenya bisa dengan donasi, meski umumnya dengan “mencuri” dari sel tubuh lain. Terdapat 2 macam ROS, yaitu: (1) molekul oksigen tunggal dan (2) molekul oksigen dengan elektron yang tidak mempunyai pasangan (Aging, 2011).

Molekul yang termasuk kedalam radikal bebas tipe 1 diantaranya ialah radikal hidroksil (OH^-) anion superoksida ($+\text{O}_2^-$), dan radikal peroksil lipid (LOO). $+\text{O}_2^-$ adalah molekul reaktif yang pertama terbentuk ketika proses metabolisme protein dan lipid, yang kemudian terkonversi menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) atau dimetabolisme oleh sistem enzim. hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan oksidan yang bersifat relatif lemah, tetapi mampu menginisiasi laju reaksi oksidatif dan membentuk radikal bebas. Perubahan bentuk H_2O_2 menjadi OH terjadi melewati reaksi yang dikatalisasi oleh metal transisi (Cu^+ atau Fe^{2+}). ROS bisa menyebabkan disfungsi sel akibat pengambilan elektron dari komponen lipid, DNA dan protein. Ketika sel tubuh kehilangan elektronnya, maka sel tersebut akan menjadi radikal bebas yang akan memulai rangkaian reaksi serupa selanjutnya yang berkesinambungan. Hal ini akan berujung pada kerusakan sel termasuk penuaan kulit. Radikal bebas terjadi selain bermula secara alami

dalam sistem biologis tubuh, juga terbentuk dari eksternal, begitu juga setiap respirasi di mitokondria dan Reaksi inflamasi akan menghasilkan oksidan (Aging, 2011).

Kelebihan gizi termasuk faktor pemicu internal. Hal ini disebabkan ketika proses metabolisme berlangsung, disamping energi juga akan dihasilkan radikal bebas. Sedangkan sebagai faktor eksternal antara lain sinar ultraviolet matahari antara pukul 10.00–15.00, polusi pabrik dan asap rokok, konsumsi alkohol dan emisi kendaraan bermotor (Aging, 2011).



Gambar 2.4 Sumber radikal bebas (Pendayala, 2008).

Radikal bebas yang ada bisa merusak sel tubuh dengan melalui organel sel terluar yaitu membran sel. Membran sel yang sudah rusak ini terjadi dengan cara: (1) radikal bebas melakukan ikatan secara kovalen bersama enzim sebagai reseptor yang bertempat di membran sel, kemudian berakibat perubahan pada aktivitas beberapa komponen yang ada pada membran sel tersebut; (2) radikal bebas juga bersama komponen membran sel yang dituju membentuk ikatan

kovalen dengan membuat perubahan pada struktur membran sel sehingga mengakibatkan kerusakan fungsi membran sel dan merubah karakteristik membran sel menjadi seperti antigen; (3) radikal bebas sebagai pengganggu paksa terhadap sistem transport pada membran sel dengan cara berikatan kovalen, serta mengoksidasi kelompok *thiol* dengan cara mengubah asam lemak *polyunsaturated* sekaligus; (4) radikal bebas berinisiasi peroksidasi lipid dengan cara langsung terhadap asam lemak (Sikka *et al.*, 1995).

Tahapan kerusakan pada sel atau jaringan akibat gangguan radikal bebas yang pertama diketahui dan paling banyak amati yaitu peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid sering terjadi dalam membran sel, terutama asam lemak tak jenuh yang termasuk bagian komponen terpenting dalam penyusunan membran sel. Pengujian pada tingkat peroksidasi lipid diukur dengan menghitung produk akhirnya, yaitu *malondialdehyde* (MDA), *malondialdehyde* ini adalah produk oksidasi asam lemak tak jenuh dan memiliki toksik pada sel tubuh. Perhitungan kadar *malondialdehyde* adalah perhitungan aktivitas radikal bebas secara tidak langsung sebagai indikator stres oksidatif. Pengukuran perlawanan radikal bebas yang lainnya yang sering digunakan dan sangat efektif adalah menggunakan DPPH (*difenil pikril hidrazil*) sebagai radikal bebas yang diuji dengan senyawa antioksidan (Slater, 1984; Powers and Jackson, 2008).

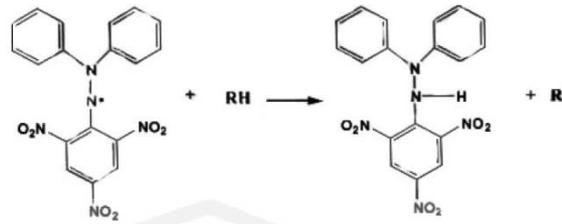
2.3.2 Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH (*difenil pikril hidrazil*)

Pengujian antioksidan senyawa bahan alami bisa dilakukan dengan reaksi kimia pada penggunaan DPPH (*difenil pikril hidrazil*) sebagai senyawa radikal

bebas yang bersifat stabil dengan mengamati proses peredaman pada panjang gelombang maksimum di spektrofotometer. Peredaman berupa warna ungu dilibatkan sebagai bentuk kemampuannya menjadi anti radikal bebas (*free radical scavenger*) (Mega, 2010).

DPPH (*difenil pikril hidrazil*) adalah radikal bebas bersifat stabil disuhu kamar (27 °C) dengan bentuk kristal yang warnanya ungu dan sering digunakan dalam mengukur aktivitas antioksidan dari ekstrak bahan alami (dari tumbuhan dan buah). DPPH sebagai radikal bebas akan ditangkap oleh senyawa antioksidan bahan alami melalui jalur reaksi penggabungan atom hidrogen dari senyawa antioksidan pada radikal bebas dalam mendapatkan pasangan elektron dan merubahnya menjadi difenil pikril hidrazin (DPPH-H). DPPH sebagai Radikal bebas mempunyai elektron tidak memiliki pasangan dengan menunjukkan berwarna ungu serta absorbansi maksimal dengan panjang gelombang 517 nm. Perubahan warna kuning terjadi ketika elektron menemukan pasangannya disaat peredaman. Keterlibatan perubahan warna yang terjadi mempunyai hubungan dengan jumlah elektron pada DPPH dalam menangkap atom hidrogen (Amelia, 2011)

Elektron yang diterima oleh DPPH atau radikal bebas berakhir berbentuk molekul yang stabil. Berlangsungnya pertemuan antara DPPH dan senyawa aktif antioksidan dengan cara mengirim elektron atau hidrogen terhadap DPPH, akan menetralkan karakteristik radikal bebas (Simanjuntak, 2004). Mekanisme peredaman radikal bebas (DPPH) yang berinteraksi bersama antioksidan bisa diamati pada gambar dibawah ini (Amelia, 2011) :



Gambar 2.5 Reduksi DPPH dengan senyawa peredam radikal bebas (Molyneux, 2004).

Metode DPPH sering dipilih oleh peneliti karena cepat, akurat, mudah dan sederhana serta peka dengan menggunakan sedikit sampel. DPPH (*difenil pikril hidrazil*) merupakan senyawa radikal bebas bersifat stabil kelompok nitrit oksid. Senyawa ini mempunyai karakteristik padatan dan cairannya berwarna ungu gelap yang bisa dilarutkan pada pelarut DMF atau metanol, memiliki titik didih sebesar 126°C hingga 128°C , berat molekul 394,3 g/mo dengan panjang gelombang maksimum 517 nm dan rumus molekulnya adalah $\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$ (Prakash, 2001).

Pengaruh intensitas warna pada DPPH berindikasi akan meningkatnya kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Dengan kata lain, daya antioksidan didapat dari perhitungan jumlah pengurangan intensitas warna ungu pada DPPH yang berbanding dengan kurangnya konsentrasi larutan DPPH melalui pengujian absorbansi larutan uji. DPPH yang bereaksi dengan senyawa antioksidan pasti membentuk reduksi *difenilpikrilhidrazin* (DPPH-H) dan radikal antioksidan (Prakash, 2001).

Kapasitas antiradikal bebas DPPH diuji dari reduksi warna ungu kehitaman pada DPPH dengan panjang gelombang 514 nm. Pengukuran aktivitas antiradikal bebas berupa persen peredaman (% peredaman DPPH) absorbansi dengan puncak 514 memakai persamaan berikut ini (Mega, 2010) :

$$\left(1 - \frac{\text{absorbansi hitung sampel}}{\text{absorbansi hitung DPPH}} \right) \times 100\%$$

Absorbansi hitung objek uji beserta DPPH dengan panjang gelombang 514 nm bisa dikalkulasi memakai persamaan berikut :

$$A_{517} - \frac{A_{497} + A_{537}}{2}$$

Nilai 0% bermakna tidak memiliki kapasitas antiradikal bebas, dan nilai 100% menunjukkan inhibisi total dan pengamatan perlu diteruskan pada pengenceran substrat untuk memahami batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan bisa dinyatakan aktif sebagai antiradikal bebas apabila prosentase inhibisinya sama dengan atau lebih besar dari 50% (Mega, 2010).

Nilai IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (µg/ml) yang memberikan inhibisi DPPH sebesar 50% (mampu meredam proses oksidasi DPPH sebesar 50%). Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi (Y=AX+B) dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai kordinatnya (sumbu Y). Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan IC₅₀ masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang diperoleh sebagai IC₅₀. Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat apabila IC₅₀ bernilai 50-100 ppm, dan sedang jika IC₅₀

bernilai 100-150 ppm, dan antioksidan lemah apabila IC_{50} bernilai 15-200 ppm (Mardawati, 2008).

2.4 Fiqih Halal Haram Kefir

Kefir merupakan produk pangan fungsional berupa minuman hasil fermentasi oleh mikroba (bakteri dan khamir) dalam bibit kefir yang mempunyai banyak khasiat untuk kesehatan dan kebugaran tubuh. Zubaidah (2016) menjelaskan bahawa Kefir air memiliki banyak kelebihan yaitu kadar alkohol yang diperoleh relatif lebih kecil, menjaga keseimbangan mikroflora dalam usus. Perbaikan mikroflora usus dapat dilakukan melalui peningkatan mikroflora usus yang menguntungkan (bakteri asam laktat) karena mempermudah dalam mensintesa vitamin-vitamin dan mampu meningkatkan sistem kekebalan dari tubuh.

Minuman fermentasi kefir memiliki keunggulan yaitu mampu mengontrol dan menghilangkan bakteri dan *yeast* patogen yang ada dalam tubuh. Manfaat minuman fermentasi kefir sendiri antara lain mengontrol kadar kolesterol dengan cara melindungi dari kerusakan kardiovaskular, meminimalis resiko tumor dan kanker pada organ pencernaan dan jaringan/organ vital lainnya serta menyembuhkan penyakit seperti migrain, diare (Musdholifah, 2016).

Mengonsumsi minuman adalah salah satu yang diperintahkan oleh Allah سبحانه واكلوا واشربوا ولا تسرفوا ان الله لا يحب لا يحب 31 (سورة الاعراف) ke-7 surat dan تعالى واكلوا واشربوا من رزق الله ولا تعثوا : 60 (سورة البقرة) ke-2 surat. Senada dengan Al-Qur'an menjelaskan kata produk pangan dengan 4 bentuk

lafadh yaitu طعام, شرب, غذاء dan ماءة. Kata شرب (minum/minuman) disebutkan sebanyak 38 kali. Hal ini memberitahukan bahwa Allah سبحانه وتعالى memperhatikan penuh pada pola pangan manusia termasuk didalamnya adalah produk minuman (Al Baqi, 1410 H).

Penjelasan oleh banyak peneliti akan kebaikan dan kaya manfaat yang terdapat dalam kefir air menunjukkan bahwa produk kefir ini layak dan halal dikonsumsi. Produk yang halal lagi baik tidak boleh dihukumi haram sebagaimana dalam surat Al-Maidah ayat 87: *ياايها الذين امنو لا تحرموا طيبات ما احل الله لكم*. *lafadh* احل الله bermakna sesuatu yang dihalalkan (Produk halal) pada tafsir Al-Azhar dijelaskan حلال adalah sesuatu yang dibolehkan oleh agama, Berbeda dengan *lafadh* طيبا yang bermakna sesuatu kekuatan yang dengannya dipermudah jalan kebaikan dalam dunia dan akhirat (Hamka, 1999). Ibnu Katsir juga menerangkan dalam tafsirnya bahwa keadaan rizki yang dikonsumsi harus dalam kondisi halal dan baik (Ibnu Katsir, 2014).

Ulama ahli fiqih banyak menerangkan akan kehati-hatian didalam mengkonsumsi suatu produk, termasuk didalamnya adalah adanya indikasi yang memabukkan (kadar alkohol tinggi) sedangkan kefir menurut Penalver (2004). mengandung alkohol dengan kadar yang tergantung oleh lama fermentasi yang dilakukan. Allah سبحانه وتعالى jelas megharamkan minuman yang memabukkan sebagaimana dalam surat ke-5 (سورة المائدة) ayat 90 :

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا إِنَّمَا الْخَمْرُ وَالْمَيْسِرُ وَالْأَنْصَابُ وَالْأَزْلَامُ رَجْسٌ مِّنْ 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.*

Al-Jazairi (2007) dengan tafsirnya *Al-Aisar* pada jilid 2 halaman 739 menafsiri, “*Hai orang-orang yang beriman*”, yaitu wahai hamba-hamba yang membenarkan Allah سبحانه وتعالى sebagai Tuhannya dan ridho Islam sebagai agamanya serta Muhammad صلى الله عليه وسلم sebagai Nabi dan Rasul-Nya, ketahuilah bahwa, “... *Sesungguhnya khamar, berjudi, (berkorban demi) berhala, mengundi nasib dengan cara apapun, adalah perbuatan keji dan mungkar yang termasuk perbuatan setan.*” Yakni perbuatan itu dibenci oleh Allah سبحانه وتعالى dan bentuk keburukan yang diperintah oleh setan dan setan membuatnya indah dalam diri dan nafsu hamba-Nya untuk senantiasa merasakan kenikmatan terhadapnya (sesuatu yang memabukkan).

Produk minuman disebut khamar itu didasarkan dengan sifatnya yang menyebabkan peminumnya mabuk hingga tertutupi akalnya sebagaimana dalam hadis nabi Muhammad dalam *shohih ibnu majah* no 2734 dan *shahih musim* no 2003. *كُلُّ مُسْكِرٍ خَمْرٌ وَكُلُّ خَمْرٍ حَرَامٌ*. ‘*Segala sesuatu yang memabukkan adalah khamar, dan setiap khamar hukumnya haram*’. Imam An- Nawawi menjelaskan hadits rosul di kitab *Syarh Shahih Muslim* 7/190 bahwa:

وان كان قد ظهر فيه شيء من مبادئ الاسكار والتغير اراقه: لانه اذا اسكر صار حراما و نجسا.
 فيراق ولا يسقيه الخادم لان المسكر لا يجوز سقيه الخادم كما لا يجوز شربه. واما شربه صل الله عليه وسلم
 قيل الثلاث فكان حيث لا تغير ولا مبادئ تغيرز ولا شك اصلا.

“Seandainya terjadi perubahan yang mengindikasikan minuman tersebut memabukkan dan berubah (menjadi khamr), beliau membuangnya. Karena jika minuman tersebut menyebabkan mabuk, jadilah ia haram dan najis. Beliau shallallaahu ‘alaihi wa sallam membuangnya dan tidak memberikannya kepada pembantunya (untuk diminum). Minuman yang memabukkan yang tidak boleh diberikan kepada pembantu sebagaimana tidak diperbolehkan meminumnya sendiri. Mengenai Nabi shallallaahu ‘alaihi wa sallam meminumnya sebelum tiga hari, hal itu dikarenakan belum berubah karakternya, tidak ada indikasi perubahan, dan tidak ada keraguan (bahwa ia halal) secara asal”

Penejelasan mengenai hadis ini bahwa minuman yang didiamkan atau difermentasi mempunyai peluang berubah menjadi memabukkan ketika didiamkan selama 3 hari lebih. Berbeda dengan kefir air waktu perendaman yang dibutuhkan cukup singkat. Mubin dan Zubaidah (2016) menjelaskan bahwa waktu pembuatan kefir paling bagus adalah 24 jam ditambahkan oleh Kunaepah (2008) bahwa kefir dibuat dengan waktu 18 jam, 21 jam dan 24 jam. Senada dengan penelitian Lathif (2016) yang menggunakan waktu selama 18 jam, 21 jam dan 24 jam dan diperkuat oleh hastuti dan kunsadi (2016) bahwa pembuatan kefir dengan karakteristik terbaik pada waktu inkubasi selama 24 jam. Kesimpulan dari waktu ini menunjukkan bahwa kefir bukanlah produk yang memabukkan.

Kefir grains mengandung bakteri asam laktat yang dapat menguraikan laktosa menjadi asam laktat dan khamir yang dapat menghasilkan karbondioksida dan sedikit alkohol. Peneliti Mubin dan Zubaidah (2016) menerangkan bahwa kadar alkohol yang dihasilkan dari kefir air sangat rendah dibanding dengan pembuatan kefir berbahan baku susu. Kunaepah (2008) menjelaskan bahwa kadar

alkohol pada kefir susu kacang merah mencapai 0,47%-0,78%. Hasil penelitian oleh para ahli menunjukkan bahwa kefir susu memiliki kadar alkohol di bawah 1% dan mengindikasikan bahwa kefir air jauh dibawah 1% sehingga dapat disimpulkan bahwa kefir air hukumnya halal, sebagaimana dalam Fatwah MUI tahun 2009 tentang hukum alkohol yaitu, Pemakaian etanol atau alkohol sebagai produk industri non khamar (baik berupa hasil sintesis kimia maupun hasil industri fermentasi non khamar) untuk proses produksi produk makanan, minuman, obat-obatan dan kosmetika hukumnya: mubah (diperbolehkan) apabila dibuktikan secara medis tidak membahayakan. Hukum ini diperkuat dengan fatwa MUI (Majlis ulama Indonesia) no 24 tahun 2003 tetantang produk pangan. Makanan dan minuman dengan kadar alkohol dibawah 1% dihukumi halal.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini berbentuk eksperimen dengan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari dua faktor. Faktor yang pertama tentang lama fermentasi dan Faktor kedua tentang konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). Kedua faktor tersebut di kombinasikan dengan penambahan sukrosa 6 % dan bibit kefir air 5 % serta diinkubasi pada suhu ruang sekitar 27 °C. Kontrol yang digunakan adalah tanpa waktu fermentasi pada konsentrasi rebusan daun gaharu dan kontrol tanpa adanya konsentrasi pada proses fermentasi kefir. penelitian ini diulangi hingga tiga kali ulangan pada setiap perlakuan.

1. **Faktor pertama:** Variasi konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) (S)

S1: Konsentrasi 5 %

S2: Konsentrasi 10 %

S3: Konsentrasi 15 %

S4: Konsentrasi 20 %

2. **Faktor kedua :** Lama fermentasi (M)

M1 : Lama Fermentasi 18 jam

M2 : Lama Fermentasi 21 jam

M3 : Lama Fermentasi 24 jam

Kombinasi dari kedua faktor tersebut bisa diamati pada Tabel 3.1 berikut:

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (%)	Lama Fermentasi (jam)			
	M0 (0)	M1 (18)	M2 (21)	M3 (24)
S0 (0)	S0M0	S0M1	S0M2	S0M3
S1 (5)	S1M0	S1M1	S1M2	S1M3
S2 (10)	S2M0	S2M1	S2M2	S2M3
S3 (15)	S3M0	S3M1	S3M2	S3M3
S4 (20)	S4M0	S4M1	S4M2	S4M3

Keterangan :

S0M0 : konsentrasi rebusan daun gaharu 0% dan Lama fermentasi 0 jam.

S0M1 : konsentrasi rebusan daun gaharu 0% dan Lama fermentasi 18 jam.

S0M2 : konsentrasi rebusan daun gaharu 0% dan Lama fermentasi 21 jam.

S0M3 : konsentrasi rebusan daun gaharu 0% dan Lama fermentasi 24 jam.

S1M0 : konsentrasi rebusan daun gaharu 5% dan Lama fermentasi 0 jam.

S1M1 : konsentrasi rebusan daun gaharu 5% dan Lama fermentasi 18 jam.

S1M2 : konsentrasi rebusan daun gaharu 5% dan Lama fermentasi 21 jam.

S1M3 : konsentrasi rebusan daun gaharu 5% dan Lama fermentasi 24 jam.

S2M0 : konsentrasi rebusan daun gaharu 10% dan Lama fermentasi 0 jam.

S2M1 : konsentrasi rebusan daun gaharu 10% dan Lama fermentasi 18 jam.

S2M2 : konsentrasi rebusan daun gaharu 10% dan Lama fermentasi 21 jam.

S2M3 : konsentrasi rebusan daun gaharu 10% dan Lama fermentasi 24 jam.

S3M0 : konsentrasi rebusan daun gaharu 15% dan Lama fermentasi 0 jam.

S3M1 : konsentrasi rebusan daun gaharu 15% dan Lama fermentasi 18 jam.

S3M2 : konsentrasi rebusan daun gaharu 15% dan Lama fermentasi 21 jam.

S3M3 : konsentrasi rebusan daun gaharu 15% dan Lama fermentasi 24 jam.

S4M0 : konsentrasi rebusan daun gaharu 20% dan Lama fermentasi 0 jam.

S4M1 : konsentrasi rebusan daun gaharu 20% dan Lama fermentasi 18 jam.

S4M2 : konsentrasi rebusan daun gaharu 20% dan Lama fermentasi 21 jam.

S4M3 : konsentrasi rebusan daun gaharu 20% dan Lama fermentasi 24 jam.

3.2 Waktu dan Tempat

Penelitian tentang “Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap Karakteristik Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)” dilaksanakan pada bulan Desember 2017 – Mei 2018 di Laboratorium Mikrobiologi, Genetik, Jurusan Biologi dan Laboratorium organik Jurusan Kimia, gedung Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang dipakai pada penelitian ini adalah kompor, panci, gelas beker 500 ml, gelas beker 250 ml dan 100 ml, gelas ukur 100 ml, labu ukur 100 ml, gelas ukur 10 ml, erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, sendok plastik, flakon, pH meter, timbangan analitik, autoklaf, toples besar, termometer,

mikropipet, corong gelas, botol kaca, spektrofotometer, cuvet, labu alat gelas, piknometer, alat destilasi dan *Laminar Air flow* (LAF).

3.3.2 Bahan

Bahan yang pakai ketika penelitian berlangsung yaitu aluminium foil, buffer 4, buffer 7, kertas, tissue, biji kefir air (didapat dari Rumah Kefir Shop Batu, Malang Jawa Timur), kapas, plastik warp, aluminium foil, DPPH (*diphenylpicrylhydrazyl*) (merek Sigma), metanol PA 95%, aquades, deMann Rogosa Sharpe Agar (MRSA), sukrosa (merek Gulaku), daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) (diperoleh dari kebun gaharu Pasuruan).

3.4 Variabel Penelitian

Pada penelitian ini terdapat 3 macam variabel, yaitu :

1. Variabel bebas : Konsentrasi rebusan daun gaharu (0 %, 5 %, 10 %, 15 %, dan 20 %) serta Lama fermentasi kefir air (0 jam, 18 jam, 21 jam dan 24 jam)
2. Variabel terikat : Pengukuran aktivitas antioksidan dan pengukuran pH medium, Perhitungan jumlah mikroba dan pengukuran kadar alkohol
3. Variabel terkontrol: Rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*), umur daun gaharu yang diambil merupakan daun tua, konsentrasi penambahan sukrosa 6 %, jumlah inokulum biji kefir air sebanyak 5 %, dan suhu inkubasi dalam fermentasi kefir yaitu suhu ruang.

3.5 Prosedur Penelitian

Pengamatan ini terdiri dari beberapa tahap, tahap yang pertama berupa sterilisasi alat dan bahan yang dipergunakan dalam penelitian dan pembuatan produk yang meliputi pembuatan rebusan daun gaharu kemudian fermentasi rebusan daun gaharu serta pengukuran variabel penelitian. Adapun pelaksanaannya adalah :

3.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian, mulai dari pembuatan kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) hingga pengujian semua variabel pengamatan dicuci bersih dan disterilkan pada autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C

3.5.2 Pembuatan Produk

3.5.2.1 Pembuatan Rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*)

Pembuatan rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) dijelaskan oleh Samsuri (2006) bahwa membuat rebusan daun gaharu dengan cara dibersihkan daunnya dengan dibilas dengan air bersih kemudian direbus. Dengan merebus daun gaharu dengan presentase 10% pada aquades yaitu 240 gram daun gaharu berbanding 2400 ml Aquades mendidih selama 15 menit.

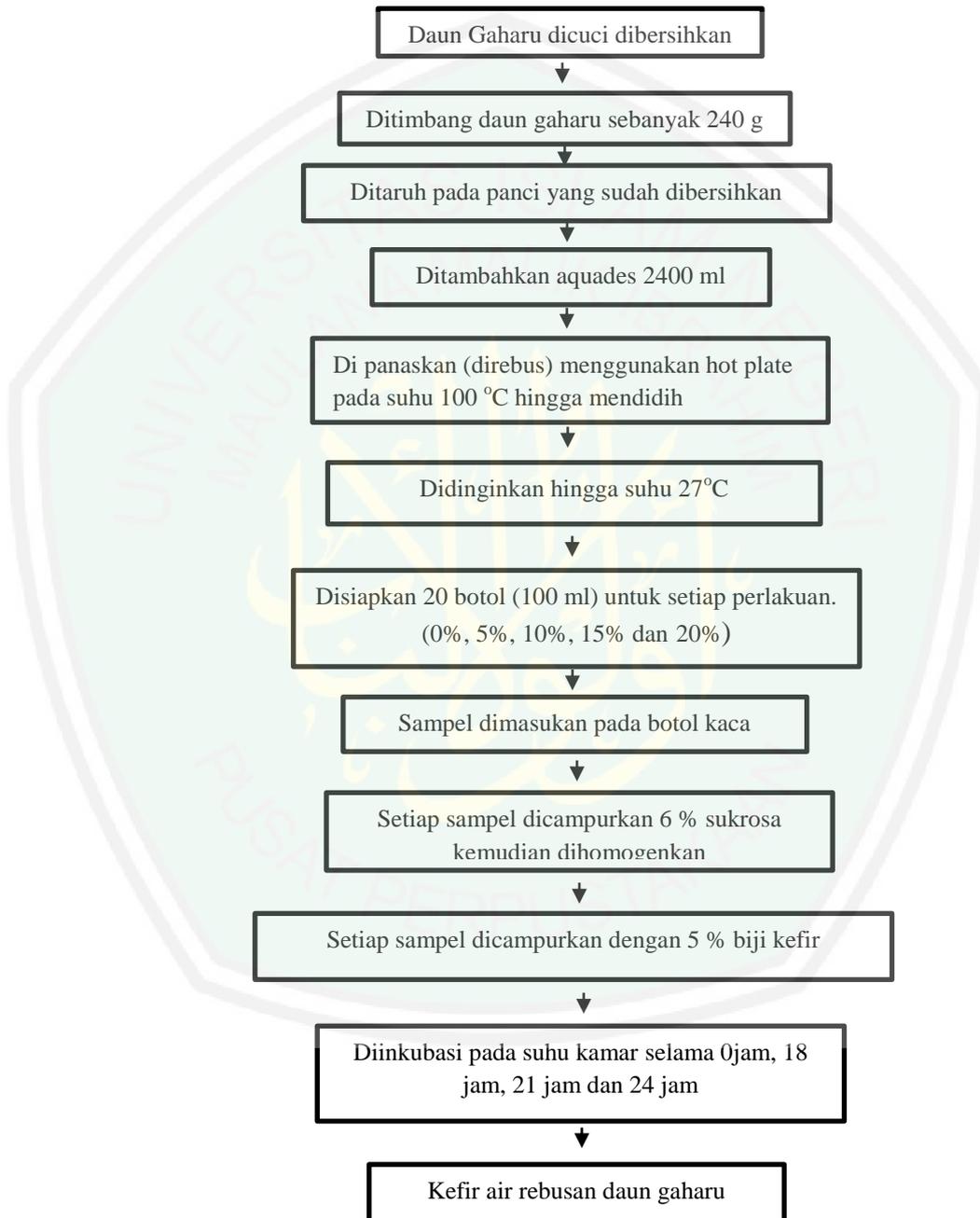
3.5.2.2 Pembuatan Kefir Air Rebusan daun gaharu (*Gyrinops verstegii*)

Pembuatan kefir air yang dilakukan pada penelitian sesuai dengan Roman (2014) bahwa Pembuatan kefir air rebusan daun gaharu diawali dengan penurunan suhu pada rebusan daun gaharu sehingga kurang lebih 26°C, kemudian dipersiapkan rebusan daun gaharu sebanyak 20 botol untuk setiap perlakuan konsentrasi (yaitu untuk masing-masing perlakuan konsentrasi (0%, 20 %, 15 %, 10 % dan 5 %) dengan volume setiap botol 100 ml. Selanjutnya pada setiap sampel diberi sukrosa sebanyak 6% sukrosa (setara 6 gram) kemudian dihomogenkan sebagaimana dalam rancangan penelitian pada Tabel 3.1. Kemudian ditambahkan biji kefir air dengan presentase 5% pada setiap sampel uji (Maizuddin dan Zubaidah, 2015) dan diinkubasi pada suhu ruang (27 °C - 30 °C) pada waktu fermentasi 0jam, 18 jam, 24 jam dan 21 jam. Kefir yang diperoleh dari proses fermentasi diikuti dengan pengukuran variabel penelitian. Pengukuran variabel diulangi dengan beberapa replikasi atau ulangan sesuai dengan rumus :

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15 \dots \dots \dots \text{(Hanifah, 2014)}$$

Sehingga berlandaskan rumus diatas dilakukan replikasi minimal dua kali ulangan.

Proses pembuatan kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops verstegii*) dapat disajikan sebagai berikut :



Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Kefir Air Rebusan Daun Gaharu

3.5.3 Pengukuran Variabel

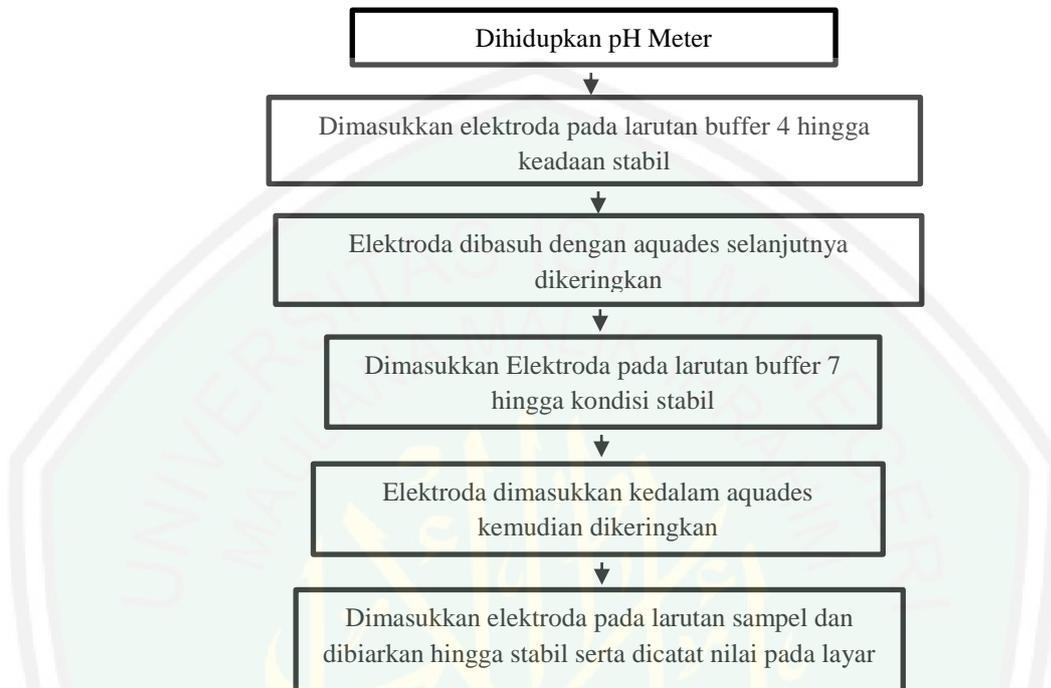
3.5.3.1 Uji Total Bal menggunakan TPC (*Total Plate Count*)

Metode uji cawan (*Total Plate Count*) dipakai ketika menghitung jumlah bakteri asam laktat. Fardiaz (1993) menjelaskan perhitungan total BAL dilakukan dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media agar *Man Rogosa and Sharpe* (MRS). *Man Rogosa and Sharpe* agar diuat sebanyak 62 gram dan dilarutkan kedalam 1000 ml aquades. MRSA yang sudah terlarut disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. MRSA yang telah steril dimasukkan pada setiap cawan yang disiapkan sejumlah 10 ml.

Pengenceran ekstrak sampel pada aquades steril menggunakan perbandingan 1 : 9, pengenceran bertahap dari 10^1 hingga 10^8 . Awal pengenceran sebanyak 1 ml sampel selanjutnya diencerkan pada 9 ml aquades yang steril. Pengenceran ke-2 dilakukan dengan pengambilan 1 ml larutan yang telah diencerkan pada pengenceran pertama dan dimasukkan pada 9 ml aquades steril, perlakuan ini dikerjakan sama pada pengenceran ke-3 dan seterusnya. Larutan pengenceran kemudian dimasukkan pada cawan yang sebelumnya diisi 10 ml MRSA dengan digoreskan pada cawan petri membentuk angka 8 bertujuan agar homogen. Cawan yang telah diinokulasi, berikutnya diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

3.5.3.2 Pengukuran pH Medium

Pengukuran pH medium menurut Afifah (2010), dilakukan sebagai berikut :



Gambar 3.2 Diagram Alir Pengukuran pH Medium Kefir Air Rebusan Daun Gaharu

3.5.3.3 Analisis Kadar Alkohol Dengan Piknometer

1. Destilasi Hasil Fermentasi

Sampel uji kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) hasil fermentasi disaring untuk dipisahkan dengan bibit kefir air. Sampel yang sudah disaring kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat pada alat destilasi. Proses destilasi dilakukan ketika suhu 70°C , karena titik didih alkohol pada 78°C - 80°C dan titik didih air 100°C . Adanya embunan uap setelah proses destilasi dikumpulkan dalam gelas penampung sampai uap tidak keluar lagi dari alat destilasi, kemudian gelas penampung ditutup plastik dan diikat (Kurniawati, 2009).

2. Analisis Kadar Alkohol Dengan Menggunakan Piknometer

Kadar alkohol hasil destilasi, dianalisa dengan piknometer. Piknometer dikeringkan terlebih dahulu dalam oven selama 10 menit pada suhu 100°C. Setelah itu didiamkan pada suhu ruang sampai dingin. Kemudian diukur berat piknometer pada neraca analitik. Setelah itu destilat dimasukkan kedalam piknometer yang sudah diketahui beratnya hingga memenuhi piknometer. Piknometer dan destilat yang berada didalamnya ditimbang dan ditulis data beratnya yang muncul di layar neraca analitik. Pengukuran lainnya pada aquades sebagai pembanding dengan cara dan tahapan yang sama (Jhonprimen, 2012). Perhitungan Gravitasi jenis atau SG (*Specific gravity*) etanol menggunakan rumus sebagai berikut (Azizah, 2012):

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

(a+d) = berat piknometer berisi aquades.

(a+b) = berat piknometer berisi distilat.

C = berat piknometer kosong.

Hasil pengukuran SG (*Specific gravity*) sampel dilanjutkan dengan dikonversikannya pada tabel piknometer yang berasal dari *International Organization of Legal Metrology* (OIML) sehingga kadar alkohol dapat ditentukan (Marg, 2005).

3.5.3.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan pengkombinasian larutan sampel kefir air daun gaharu sebagai antioksidan dengan DPPH (*Diphenyl Picryl Hydracil*) sebagai radikal bebas dengan prinsip penangkapan hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas atau Interaksi antara keduanya baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH.

Pengukuran aktivitas antioksidan dijelaskan oleh Choirunnisa' (2017) bahwa sampel uji disiapkan sebanyak 20 sampel dengan ragam konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15% dan 20% dan fermentasi 0 jam, 18 jam, 21 jam dan 24 jam. Setelah itu dibuat larutan induk masing-masing sampel sebesar 100 ppm dengan melarutkan 10 ml sampel pada 100 ml metanol PA. Pengenceran menggunakan pelarut berupa metanol PA dengan variasi konsentrasi 9 ppm, 8 ppm, 7 ppm, 6 ppm, dan 5 ppm pada setiap masing-masing sampel.

Larutan stok DPPH 50 ppm disiapkan dengan 5 mg padatan DPPH yang dilarutkan pada metanol PA sebanyak 100 ml. Larutan perbandingan dengan menggunakan larutan kontrol yang berisi 1 ml larutan DPPH 50 ppm dan 2 ml metanol PA. Sampel uji disiapkan masing-masing 2 ml larutan sampel dan 2 ml larutan DPPH. Semua sampel dibuat triplo. Sampel yang sudah diinokulasi selanjutnya diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 27 °C sehingga terjadi perubahan warna dari aktivitas inhibisi DPPH. Seluruh sampel uji yang telah di inkubasi di ukur nilai absorbansinya memakai spektrofotometer dengan λ 514 nm.

Perubahan intensitas warna yang pada setiap sampel setelah diinkubasi bersama DPPH terjadi ketika elektron yang ada pada DPPH berpasangan pada

elektron masing-masing sampel uji sehingga akan ada perubahan intensitas warna sampel yang berasal dari ungu gelap menjadi kuning terang, setelah itu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 514 nm, aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus :

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

Dan dilanjutkan dengan menghitung nilai IC₅₀ dengan mencari nilai x dari regresi linier persamaan regresi $y = ax + b$ dengan y bernilai 50 (Wolfe dan Liu, 2007).

3.6 Analisa Data

Hasil data yang didapatkan diuji lanjut memakai analisa *Analysis of Variance* (ANOVA) *two way*. Setelah itu apabila ditemukan perbedaan yang nyata pada signifikansi maka analisis dilanjutkan menggunakan Uji Jarak Duncan (UJD) sehingga memahami perlakuan yang berbeda nyata pada setiap parameter penelitian.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.3 Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap Karakteristik Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*).

4.1.1 Pengaruh Lama Fermentasi Dan Variasi Konsentrasi Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap Total BAL Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Bakteri asam laktat masuk pada kategori bakteri gram positif, bakteri yang melakukan metabolisme karbohidrat yang menghasilkan asam laktat. Perhitungan total bakteri asam laktat (BAL) dilakukan untuk memahami jumlah koloni BAL di media yang disiapkan pada perlakuan kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). Analisis bakteri asam laktat dipilih sebagai objek penelitian dikarenakan bakteri asam laktat lebih mendominasi dibanding *strand* bakteri asam asetat dan *yeast* pada starter kefir air yang dipakai dalam medium, sebagaimana yang sudah dipaparkan dalam tabel 2.1. Data rata-rata perhitungan BAL bisa dicermati pada tabel 4.1 berikut ini:

Tabel 4.1 Jumlah Bakteri Asam Laktat Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi			
	0 jam (M0)	18 jam (M1)	21 jam (M2)	24 jam (M3)
0% (S0)	0	1×10^7 cfu/ml	$2,2 \times 10^7$ cfu/ml	$1,3 \times 10^7$ cfu/ml
5% (S1)	0	$1,1 \times 10^7$ cfu/ml	$2,4 \times 10^7$ cfu/ml	$1,2 \times 10^7$ cfu/ml
10% (S2)	0	$1,3 \times 10^7$ cfu/ml	$3,1 \times 10^7$ cfu/ml	$1,9 \times 10^7$ cfu/ml
15% (S3)	0	$0,9 \times 10^7$ cfu/ml	$2,3 \times 10^7$ cfu/ml	$1,2 \times 10^7$ cfu/ml
20% (S4)	0	$0,8 \times 10^7$ cfu/ml	$1,9 \times 10^7$ cfu/ml	$0,9 \times 10^7$ cfu/ml

Berdasarkan tabel 4.1 diketahui nilai total bakteri asam laktat (BAL) kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops verst eegii*) sebelum berlangsungnya fermentasi bernilai 0 cfu/ml yang mengindikasikan bahwa tidak ada satupun bakteri asam laktat yang mampu tumbuh tanpa adanya fermentasi. Sedangkan sesudah fermentasi berlangsung selama 18 jam dengan tanpa campuran rebusan daun gaharu (konsentrasi 0 %) terbukti bakteri asam laktat mampu hidup dan tumbuh mencapai nilai 1×10^7 cfu/ml. Hal ini sesuai dengan standard codex 234-2003 kefir mengandung BAL $7 \log \text{CFU mL}^{-1}$ (Fauziah, 2017) dan SNI Jumlah BAL dalam kefir ($\geq 10^7$ cfu/ml) (Rosiana, 2013). Rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni bakteri dengan faktor pengeceran pada MRS agar yang terdapat pada cawan petri, satuan yang dipakai pada hasil jumlah koloni adalah CFU/mL (*Colony forming units*) (Waluyo, 2008).

Nilai $0,8 \times 10^7$ cfu/ml pada perlakuan (S4M1) merupakan nilai terendah dari pengukuran total bakteri asam laktat (BAL) fermentasi selama 18 jam dan konsentrasi 20% yang kemudian naik seiring bertambahnya waktu fermentasi (21 jam) mencapai nilai $1,9 \times 10^7$ cfu/ml. Adapun nilai tertinggi hasil pengukuran total bakteri asam laktat ditemukan pada perlakuan (S2M2) fermentasi selama 21 jam dan konsentrasi 10% dengan nilai $3,1 \times 10^7$ cfu/ml. Nilai ini lebih besar dari proses fermentasi sebelumnya (S2M3) dengan nilai $1,3 \times 10^7$ cfu/ml, akan tetapi semakin panjang waktu fermentasi (S2M4) nilai total bakteri berkurang hingga mencapai nilai $1,9 \times 10^7$ cfu/ml.

Berdasarkan data rata – rata total bakteri asam laktat pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri asam laktat berkembangbiak dengan

baik pada lama fermentasi 21 jam dan pertumbuhan BAL sebelumnya lebih rendah, dengan waktu fermentasi 18 jam. Hal ini menunjukkan lama fermentasi 21 jam menjadi kondisi substrat yang lebih baik dibandingkan 18 jam bagi pertumbuhan bakteri asam laktat. Adapun lama fermentasi 18 jam total bakteri asam laktat perkembangannya lebih kecil dari pada perlakuan setelahnya (21 jam dan 24 jam) dikarenakan kandungan metabolit sekunder rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) berupa senyawa aktif antioksidan seperti flavonol, polifenol dan flavonoid sehingga bakteri asam laktat membutuhkan adaptasi pada awal pertumbuhannya sebagaimana dijelaskan oleh Khotib (2018) bahwa BAL perlu melakukan adaptasi terlebih dahulu dikarenakan hasil senyawa metabolit sekunder (senyawa antioksidan) pada sari buah ciplukan. Hal ini menjadikan perlakuan 18 jam memiliki total BAL lebih kecil dibandingkan 21 jam dan 24 jam. Adapun jumlah bakteri asam laktat yang meningkat dengan proses fermentasi disebabkan BAL sudah toleran dan adaptif pada keadaan substrat yang ditempatinya.

Perlakuan M3 (24 jam) jumlah BAL semakin kecil sebagaimana dijelaskan dalam hasil penelitian Fauziah (2017) bahwa bakteri asam laktat kefir meningkat sebanyak 4 log unit (media MRSA) pada 18 jam, kemudian mencapai jumlah maksimum (10 log unit) pada jam ke-21 fermentasi kemudian cenderung menurun pada proses fermentasi 24 jam, penurunan ini disebabkan pada fermentasi 24 jam kondisi substrat terjadi penurunan pH yang menyebabkan turunnya jumlah *Streptococcus* dan *Lactococcus*.

Analisis statistik data nilai rata-rata total bakteri asam laktat kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) dilakukan agar memahami signifikansi perbedaan rata-rata nilai total BAL. Analisa menggunakan metode *two way Analysis of Variance* memakai aplikasi SPSS 16.0. Adapun hasil analisa keberagaman pengaruh variasi konsentrasi dan lama fermentasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) terhadap jumlah bakteri asam laktat kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) terdapat pada tabel hasil ringkasan berikut:

Tabel 4.2 Ringkasan Analisa Keragaman Total BAL Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

Sumber	Jumlah Kuadrat	Df	Rata – rata Kuadrat	F	Signifikansi
Lama Fermentasi	1,369	4	,114	7,466	,000
Variasi Konsentrasi	42,404	3	14,135	153,083	,000
Interaksi	2,757	12	,689	12,36	,000

Data hasil analisis tabel 4.2 menunjukkan setiap variabel penelitian berpengaruh nyata pada total BAL kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) yaitu lama fermentasi dan variasi konsentrasi. Hasil ini disimpulkan dari nilai signifikansi masing-masing variabel penelitian bernilai lebih kecil dari 0,05 sehingga pengujian diteruskan pada Uji Jarak Duncan (UJD) dalam memahami perbedaan notasi-notasi perlakuan pada sampel. Berlandaskan hasil analisis yang dilakukan bisa diamati pada tabel berikut :

Tabel 4.3 Hasil Analisis UJD Terhadap Total BAL Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

Perlakuan	BAL ($\times 10^7$) (CFU/mL)	Notasi
S0M0	0	a
S0M1	1	b
S0M2	2,2	c
S0M3	1,3	b
S1M0	0	a
S1M1	1,1	b
S1M2	2,4	c
S1M3	1,2	b
S2M0	0	a
S2M1	1,3	b
S2M2	3,1	d
S2M3	1,9	c
S3M0	0	a
S3M1	0,9	b
S3M2	2,3	c
S3M3	1,2	b
S4M0	0	a
S4M1	0,8	b
S4M2	1,9	c
S4M3	0,9	b

Berdasarkan Tabel 4.3 pengaruh variasi konsentrasi dan panjang waktu fermentasi terhadap total bakteri asam laktat tidak berbeda nyata di beberapa perlakuan. Hasil analisis perfaktor didapatkan bahwa S3M2 tidak berbeda nyata dengan S4M2, S2M3, S0M3, S3M2, S1M2 dan S0M2, namun berbeda nyata dengan yang lainnya. Hasil terbaik terhadap analisis perfaktor ini adalah perlakuan S2M2 dengan notasi (d) yang menunjukkan jumlah BAL yang lebih banyak sehingga lebih menguntungkan, sebagaimana dijelaskan oleh Maryana (2014), banyaknya jumlah BAL menambahkan nilai fungsional produk berupa

perlawanan pada bakteri patogen dalam saluran pencernaan. Banyaknya jumlah BAL pada perlakuan S2M2 dikarenakan bakteri asam laktat kefir air berada pada fase perkembangan atau pertumbuhan, sebagaimana dijelaskan oleh Maizudin dan Zubaidah (2016) menjelaskan pada kefir nira siwalan bahwa waktu fermentasi 21 jam merupakan periode pertumbuhan bakteri yang cepat (fase log) sehingga bakteri asam laktat meningkat secara signifikan, ditambahkan oleh choirunnisa' (2018) bahwa pada dasarnya lama fermentasi juga akan memberikan waktu bagi bakteri untuk berkembang biak sehingga semakin panjang proses fermentasinya maka jumlah bakteri dalam produk juga akan semakin meningkat. Khotib (2018) menjelaskan bakteri asam laktat pada medium sari buah ciplukan mengalami fase log (pertumbuhan bakteri) hingga waktu 21 jam. Pelczar (1986) dalam Safitri (2013) menerangkan bahwa pertumbuhan bakteri terdiri dari fase lamban kemudian dilanjutkan laju periode tumbuhnya yang cepat (*log phase*), setelah itu terjadi fase statis yang kemudian diakhiri laju *death phase* yaitu suatu penurunan pada populasi beberapa sel hidup.

Lama fermentasi dan konsentrasi berpengaruh nyata dikarenakan pada notasi yang tidak semua sama pada setiap perlakuan. Perlakuan antara M0 (tanpa fermentasi) dan M1 (fermentasi 18 jam) yang menunjukkan perbedaan yang nyata begitu juga dengan M2 dan M3. Perlakuan M3 (lama fermentasi 24 jam) memberikan nilai total BAL yang semakin menurun dikarenakan pH waktu fermentasi tersebut semakin rendah. Hal ini dijelaskan oleh Khotib (2018) bahwa lama fermentasi 24 jam menyebabkan berkurangnya nutrient serta meningkatnya senyawa asam hasil metabolisme khamir pada medium sehingga akan menambah

nilai H⁺ dimana ion yang menyebabkan asam serta menurunnya pH medium, dimana pH yang rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri asam laktat.

Hasil notasi yang sama yang berarti tidak berbeda nyata pada perlakuan dan menunjukkan turunnya jumlah BAL pada eksperimen ini tidak begitu signifikan meskipun pada waktu fermentasi selama 24 jam, yaitu dengan total bakteri asam laktat mencapai 0,9 – 1,9 ($\times 10^7$ cfu/ml). Hal ini dikarenakan sebagian BAL masih dapat bertahan hidup meskipun pada pH rendah. Sesuai dengan Weimer (1999) pada pengamatannya yang menyeleksi 7 isolat dengan hasil semua isolat bertahan selama 90 menit pada pH 3,5, begitu juga Jacobsen (1999) mengamati ketahanan 47 isolat BAL dari beberapa bahan pada pH 2,5. Dari 47 isolat itu terdapat 29 isolat yang masih bertahan dengan pH 2,5 dan tidak ada isolat yang bisa tumbuh ketika waktu inkubasi 4 jam. Kusumawati (2002) juga menguji bakteri asam laktat dari berbagai jenis makanan fermentasi di Indonesia dengan hasil hampir seluruh isolat mempunyai ketahanan dan mampu tumbuh pada derajat keasaman rendah.

Djarjah dan Nurwantoro (1997) menjelaskan beberapa faktor yang memberikan pengaruh pada jumlah mikroorganisme pada produk pangan terdiri dari faktor ekstrinsik berupa keadaan lingkungan saat penyimpanan dan penanganan produk makanan atau minuman diantaranya susunan gas di atmosfer, kelembaban dan suhu sedangkan faktor intrinsik berupa sifat-sifat kimia, struktur dan fisik yang dimiliki bahan pangan tersebut dan terakhir berupa faktor implisit sebagai sifat-sifat atau karakteristik setiap mikroorganisme yang berperan dalam pengolahannya.

Strand bakteri asam laktat dan asam asetat yang terdapat pada kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) adalah kelompok bakteri probiotik bermanfaat dalam keseimbangan mikroflora dalam usus. Kandungan probiotik dan asam yang dihasilkan mampu membunuh mikroba patogen dan sebagai pencegah mikroba pembusuk yang merugikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa kefir air ini merupakan produk yang baik dan aman untuk dikonsumsi.

4.1.2 Pengaruh Lama Fermentasi Dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap pH Medium Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu faktor dari penilaian bahan pangan untuk dikonsumsi. Analisa pH yang dilakukan menggunakan pH meter yang memakai ujung katoda untuk mendeteksi derajat keasaman. Nilai hasil pengamatan dilanjutkan dengan dihitung rata-rata dari tiga ulangan yang dilakukan sehingga menunjukkan hasil diagram pada Gambar 4.1 berikut :



Gambar 4.1 Diagram Batang Nilai pH Medium Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Pengamatan pada Gambar 4.2 menunjukkan hasil pH kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) sebelum dilakukan fermentasi dan tanpa campuran rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) bernilai 6 dan terus meningkat seiring dengan adanya campuran konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) dengan nilai 6,11 pada konsentrasi 5% hingga 6,77 pada konsentrasi 20%. Berbeda dengan pengaruh fermentasi medium yang bermula pH bernilai 6 semakin lama proses fermentasi yang berlangsung pH medium kefir air menurun hingga bernilai 3,27.

Berdasarkan pada data pengamatan diatas setiap variabel konsentrasi mengalami penurunan nilai pH dengan bertambahnya waktu fermentasi. Penelitian ini menunjukkan proses fermentasi yang sedang berlangsung dengan adanya mikroorganisme yang terdapat pada bibit kefir air merombak sukrosa pada media untuk melangsungkan metabolismenya. Hasil metabolisme ini berupa asam-asam organik yang nantinya akan terdisosiasi sehingga menurunkan derajat keasaman medium (Zubaidah dan Muzdalifah, 2016).

Nilai pH tertinggi terdapat pada perlakuan S4M0 yang bernilai 6,77. Tingginya derajat keasamaan pada kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) ini dikarenakan belum berlangsungnya fermentasi sehingga media belum terbentuk asam (asam laktat dan asam asetat) sebagaimana dijelaskan oleh Zubaidah dan Musdholifah (2016) bahwa penurunan nilai pH adalah akibat dari proses fermentasi yang berlangsung dengan terjadinya akumulasi asam oleh mikroorganisme pada bibit kefir air. Bakteri yang terlibat dalam laju fermentasi

dibuktikan dengan meningkatnya kadar asam-asam organik dengan diiringi turunnya nilai pH.

Nilai pH medium kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) setelah fermentasi berkisar antara 3,27- 4. Nilai terendah 3,27 didapatkan pada perlakuan S0M4 yang menunjukkan bahwa fermentasi dapat berlangsung dengan baik pada konsentrasi 0% dengan waktu fermentasi 24 jam. Semakin lamanya waktu fermentasi membuktikan akan berhasilnya mikroorganisme pada biji kefir air untuk mengurai sukrosa pada media dengan metabolismenya yang menghasilkan produk asam. Hal ini sesuai dengan penelitian Lathif (2016) pada kefir air teh daun kersen bahwa penurunan pH mengindikasikan adanya akumulasi asam oleh mikroba pada starter kefir air selama proses fermentasi, sehingga semakin lama fermentasi semakin rendah derajat keasaman medium kefir air.

Hasil pengujian pH medium pada Gambar 4.1 menunjukkan bahwa perlakuan S0M0 bernilai 6, S1M0 bernilai 6,11 dan S2M0 bernilai 6,37 diikuti S3M0 bernilai 6,53 serta S4M0 bernilai 6,77 sehingga semakin banyak konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) akan meningkatkan derajat keasaman medium kefir air. Berdasarkan hasil analisis kimia, daun gaharu memiliki beberapa komponen senyawa lain berupa furanoid sesquiterpene, di antaranya adalah agarofuran dan agarospirol (Betrianingrum, 2009) kandungan senyawa ini mempengaruhi laju proses fermentasi. Sehingga semakin tinggi konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) pada perlakuan M0 akan menghambat proses fermentasi. Bibit kefir air akan membutuhkan adaptasi untuk melakukan metabolisme pada media tumbuh baru yang berbeda dengan

media tumbuh asalnya (air gula) Hasil ini sesuai dengan penelitian kefir air teh daun kersen oleh Lathif (2016) bahwa semakin banyak konsentrasi teh daun kersen (*Muntiga calabura*) yang diberikan maka nilai pH medium meningkat.

Pengamatan ini dilanjutkan dengan analisa statistik nilai derajat keasaman kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) memakai aplikasi SPSS 16.0. dengan tujuan mengetahui signifikansi nilai pH kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) yang sudah diamati. Hasil dari analisis keragaman pengaruh lama fermentasi dan variasi konsentrasi rebusan daun gaharu serta interaksi keduanya terhadap nilai pH medium kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) dapat dilihat pada tabel 4.4 berikut :

Tabel 4.4 Ringkasan Analisa Keragaman pH Medium Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

Sumber	Jumlah Kuadrat	Df	Rata – rata Kuadrat	F	Signifikasi
Lama Fermentasi	2,122	4	,531	7,880	,000
Variasi Konsentrasi	84,966	3	28,322	420,623	,000
Kombinasi	,268	12	,022	332	,000

Analisa pada tabel 4.4 menunjukkan nilai signifikansi lama fermentasi dan variasi konsentrasi serta kombinasi keduanya bernilai lebih kecil dari 0,05 sehingga variabel percobaan berpengaruh nyata terhadap pH medium kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). Analisis statistik menghasilkan data yang diperoleh menunjukkan perlakuan berpengaruh nyata terhadap parameter uji sehingga dilanjutkan Uji Jarak Duncan (UJD) yang dengannya diketahui notasi-notasi yang berbeda. Hasil tersebut bisa dilihat pada tabel 4.5 berikut ini :

Tabel 4.5 Hasil Penggunaan Uji Jarak Duncan Pada Nilai pH Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

T	Rata-rata pH Medium	Notasi
S0M0	6	d
S0M1	3,43	ab
S0M2	3,47	ab
S0M3	3,27	a
S1M0	6,11	e
S1M1	3,57	b
S1M2	3,5	abc
S1M3	3,4	ab
S2M0	6,37	def
S2M1	3,7	abc
S2M2	3,67	abc
S2M3	3,5	abc
S3M0	6,53	ef
S3M1	3,87	bc
S3M2	3,8	bc
S3M3	3,6	abc
S4M0	6,77	f
S4M1	4	c
S4M2	3,87	bc
S4M3	3,76	abc

Data pada tabel 4.5 diatas menunjukkan notasi yang sama dan notasi yang berbeda pada sampel uji. Perlakuan dengan notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata seperti pada perlakuan S1M2, S2M1, S2M2, S2M3 dan S3M3 yang bernetasi (abc), sedangkan pada perlakuan yang bernilai notasi berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata seperti pada perlakuan S0M3, S1M0, S1M1, S4M0, S4M2 dan S0M0. Pengaruh kombinasi lama fermentasi dan konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) pada turunnya nilai pH medium, disebabkan meningkatnya kadar ion H⁺ hasil disosiasi asam-asam organik dari

proses metabolisme bibit kefir air. Berdasarkan data yang diperoleh, semakin lama fermentasi akan meningkatkan keasaman dengan menurunnya nilai pH medium. Menurut Primurdia (2014) bahwa asam laktat yang dihasilkan sebagai produk utama akan terdisosiasi menghasilkan H^+ dan $CH_3CHOHCOO^-$. Winarno (1991) menyatakan bahwa peningkatan asam disebabkan karena adanya donor proton, sehingga intensitas asam tergantung pada banyaknya ion H^+ akibat hidrolisa asam. Menurut Widowati (2002) menambahkan bahwa asam-asam organik yang dihasilkan merupakan asam-asam yang terdisosiasi dalam bentuk ion-ion H^+ sehingga semakin banyak asam yang dihasilkan, maka akan semakin banyak pula ion H^+ yang terbentuk sehingga pengukuran pH oleh elektroda pH meter menunjukkan nilai yang semakin menurun.

Sukrosa 6% yang dicampurkan dalam media fermentasi bibit kefir air membantu proses adaptasi mikroba dalam biji kefir air pada pertumbuhannya di medium rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) yang sebagai lingkungan tempat hidup barunya. Pidoux (1998) menjelaskan bahwa pemberian gula diproses fermentasi kefir air bertujuan untuk optimalisasi proses fermentasi. Berpedoman pada penelitian yang sudah dilakukan Lathif (2016) bahwa pemberian sukrosa 6% membuktikan perlakuan terbaik dalam proses fermentasi oleh mikroorganisme pada biji kefir air (Lathif,2016).

Pengukuran pH medium kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) bernilai 4 - 3,2 memberikan hasil nilai pH medium yang baik dan aman untuk dikonsumsi beserta sesuai dengan Standard Nasional Indonesia (SNI) dengan nilai pH dibawah 4,5 (Rosiana, 2013). Mikroflora dalam usus yang

menerima produk pangan dapat menerima dengan baik ketika derajat keasaman tidak terlalu basa (Kuswinarto, 2018). Andriani (2007) menjelaskan bahwa derajat keasaman medium produk pangan termasuk minuman yang bersifat asam memiliki dampak positif yaitu menghambat pertumbuhan bakteri patogen.

4.1.3 Pengaruh Lama Fermentasi Dan Variasi Konsentrasi Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap Kadar Alkohol Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Analisis kadar alkohol dilakukan untuk mengetahui kadar alkohol pada kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) setelah difermentasi bibit kefir air. Pengukuran langsung menggunakan piknometer hingga didapat nilai SG (*specific gravity*) yang berikutnya dikonversikan dalam tabel piknometer data dari *International Organization of Legal Metrology* (OIML). Mengenai data kandungan isi alkohol pada kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) bisa diamati dalam gambar dibawah ini:



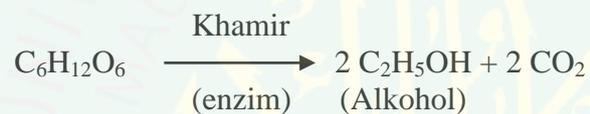
Gambar 4.2 Diagram Batang Kadar Alkohol Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Berlandaskan gambar 4.2 diatas diketahui bahwa tidak ada kadar alkohol kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) sebelum fermentasi. Hasil ini menunjukkan tidak ada proses metabolisme oleh mikroba bibit kefir air untuk merombak sukrosa, berbeda dengan setelah dilakukannya fermentasi, khamir mampu menghasilkan hasil metabolismenya, terbukti pada fermentasi 18 jam didapatkan kadar alkohol terendah yaitu 0,4 % pada konsentrasi 0%, 5%, 15% dan 10%. Kadar alkohol meningkat setelah dilakukan fermentasi selama 21 jam pada setiap konsentrasi, yaitu bernilai 0,8%. Nilai ini adalah nilai kadar alkohol tertinggi pada penelitian. Lama fermentasi setelahnya (24 jam) menunjukkan kadar alkohol menurun menjadi 0,6% pada konsentrasi 0%, 5%, 10% dan 20%. Adapun pada konsentrasi 15% nilainya lebih rendah yaitu 0,4%. Berdasarkan hasil ini, lama fermentasi 21 jam sebagai waktu yang optimal bagi mikroba penghasil alkohol untuk melangsungkan metabolismenya pada substrat kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Hasil kadar alkohol tertinggi terdapat pada waktu fermentasi 21 jam. Hal ini dijelaskan oleh Khotib (2018) bahwa semakin lama waktu fermentasi berlangsung, maka kadar alkohol yang dihasilkan semakin banyak sehingga kesempatan aktivitas mikroba dalam menghasilkan alkohol semakin besar. Pada lama fermentasi 21 jam pH medium kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) mencapai 3,8 – 3,4, 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 dibawah 4 setelah BAL merombak

sukrosa menjadi asam laktat pada medium kefir air maka BAL akan terhambat pertumbuhannya dan kondisi ini akan dimanfaatkan oleh khamir dalam menghasilkan alkohol.

Kadar alkohol yang dihasilkan dalam substrat mulai dari nilai terendah 0,4 pada fermentasi 18 jam hingga nilai tertinggi 0,8 dengan fermentasi 21 jam disebabkan oleh fermentasi gula (sukrosa) dengan peran khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang memproduksi etanol (etil alkohol) dan karbondioksida yang dijelaskan oleh Winarno (1980) melalui reaksi:



Berikutnya pada waktu fermentasi selama 24 jam ukuran nilai alkohol kembali mengalami penurunan hingga 0,4 dan 0,6 disebabkan adanya fermentasi lanjutan oleh *Acetobacter aceti* sebagai bakteri asam asetat dalam mengurangi hasil alkohol membentuk asam asetat melalui reaksi persamaan dibawah ini (Winarno, 1980) :



Penurunan alkohol pada lama fermentasi 24 jam ini diperkuat Wigyanto (2016) dalam penelitiannya, ukuran nilai alkohol semakin rendah seiring dengan semakin panjangnya waktu fermentasi berlangsung karena sebagian alkohol terjadi penguapan dan sukrosa berkurang disebabkan sebagian sukrosa teroksidasi lebih lanjut memproduksi asam asetat.

Data hasil pengukuran selanjutnya dianalisis varian (ANOVA) dengan memakai aplikasi spss 16.0. Hal ini dilaksanakan untuk memahami pengaruh

signifikansi faktor variasi konsentrasi dan lama waktu fermentasi beserta kombinasi keduanya pada kadar alkohol kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). Ringkasan data hasil analisis varian (Anava) disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 4.6 Ringkasan Analisa Keragaman Kadar Alkohol Kefir Air Rebusan Daun Gaharu

Sumber	Jumlah Kuadrat	df	Rata – rata Kuadrat	F	Signifikansi
Lama Fermentasi	6,019E9	4	1,505E9	5,856E14	,000
Variasi Konsentrasi	4,559E9	3	1,520E9	5,915E14	,000
Kombinasi	1,806E10	12	1,505E9	5,856E14	,000

Berdasarkan hasil analisa tabel 4.6 diatas memberitahukan bahwa variabel konsentrasi, lama fermentasi dan kombinasi keduanya memiliki pengaruh nyata pada kadar alkohol kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) yang menunjukkan nilai lebih kecil dari 0,05.

Prescott (1959) dalam Nadiroh (2018) menerangkan bahwa penggunaan waktu fermentasi adalah faktor utama dalam proses fermentasi alkohol. Kusuma (2010) menambahkan, beberapa indikator penting yang berperan dalam menghasilkan alkohol saat fermentasi kefir air yaitu oksigen, suhu, konsentrasi substrat, pH, jenis mikroba dan lama fermentasi. Khotib (2018) menambahkan bahwa kadar glukosa yang ditambahkan pada media diawal fermentasi memiliki pengaruh terhadap kadar alkohol yang dihasilkan.

Rudolf *et al.* (2005) menjelaskan bahwa 100% glukosa diubah menjadi 51,1% alkohol dan 48,9% menjadi CO₂. Asli (2009) menambahkan bahwa volume gula diawal memberikan efek pada konsentrasi alkohol dan konversi gula pada

proses fermentasi. Jalur mekanisme penguraian sukrosa membentuk alkohol yaitu bermula dari gula yang berfungsi sebagai substrat awal mengalami proses glikolisis yang menghasilkan asam piruvat, setelah itu asam piruvat melalui proses dekarboksilasi menjadi karbondioksida dan asetaldehid dengan peran enzim piruvat dekarboksilase. Asetaldehid hasil dari dekarboksilasi asam piruvat ini dirubah menjadi alkohol dengan bantuan enzim alkohol dehidrogenase (Sidik dan Puspitasari, 2009). Adapun untuk memahami jarak signifikansi pengaruh dari perlakuan waktu fermentasi dilakukan menggunakan Uji Jarak Duncan (UJD) dengan taraf signifikansi 5%. Hasil uji ini ditunjukkan dalam tabel berikut:

Tabel 4.7 Hasil Analisis UJD Terhadap Nilai Kadar Alkohol Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

t	Kadar Alkohol (%)	Notasi
S0M0	0,0	d
S0M1	0,4	c
S0M2	0,8	a
S0M3	0,6	b
S1M0	0,0	d
S1M1	0,4	c
S1M2	0,8	a
S1M3	0,6	b
S2M0	0,0	d
S2M1	0,4	c
S2M2	0,8	a
S2M3	0,6	b
S3M0	0,0	d
S3M1	0,4	c
S3M2	0,8	a
S3M3	0,4	c
S4M0	0,0	d
S4M1	0,6	b
S4M2	0,8	a
S4M3	0,6	b

Berdasarkan tabel 4.6 diketahui bahwa pada perlakuan S0M2, S1M2, S3M2, S2M2 dan S4M2 memiliki yang notasi sama (a), hal ini menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata pada perlakuan tersebut. Setiap perlakuan yang bernotasi sama tetap memiliki pengaruh tetapi tidak signifikan, akan tetapi notasi berbeda dengan perlakuan yang lainnya sehingga menunjukkan pengaruh yang signifikan. Hasil ini menunjukkan adanya pengaruh variasi konsentrasi dan lama fermentasi serta kombinasi keduanya pada kadar alkohol kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) terhadap kadar alkohol. Kadar alkohol terendah setelah fermentasi ditemukan pada perlakuan lama fermentasi 18 jam dan Kadar alkohol tertinggi terdapat pada perlakuan lama fermentasi 21 jam kemudian kadar alkohol menurun pada waktu fermentasi 24 jam. Khotib (2018) menjelaskan bahwa salah satu mikroorganisme yang mempengaruhi kadar alkohol adalah *Candida kefir* yang tergolong dalam khamir. Kunaepah (2008) menjelaskan bahwa kandungan asam yang tinggi bisa memperlambat tumbuhnya mikroba pada proses fermentasi termasuk khamir *Candida kefir*. *Candida kefir* ini tidak mampu memecah substrat seperti diawal fermentasi, sehingga kemampuan *Candida kefir* dalam menghasilkan alkohol menurun. Hal ini sesuai dengan penelitian bahwa di perlakuan fermentasi terlama (24 jam) nilai kadar alkohol menurun.

Perubahan nilai kadar alkohol ini disebabkan oleh aktivitas khamir pada bibit kefir air, sebagaimana dijelaskan oleh Rahman (1992) khamir adalah jenis mikroba heterofermentatif yang bisa merubah substrat untuk memproduksi

beberapa macam jenis senyawa. Khamir merombak gula sederhana untuk membentuk alkohol dan CO₂. Proses pembentukan alkohol ini bermula terjadi penguraian glukosa menjadi asam piruvat. Asam piruvat mengalami dekarboksilasi menjadi acetaldehida. Acetaldehida tereduksi membentuk alkohol/etanol.

Perlakuan M3 pada lama fermentasi 24 jam kadar alkohol menurun disebabkan telah dikonversikan menjadi senyawa lain sebagaimana dijelaskan Wigyanto (2016) bahwa turunnya kadar alkohol dikarenakan oleh pengkonversian alkohol menjadi asam asetat oleh bakteri asam asetat. Sari (2008) menambahkan bahwa menurunnya kadar alkohol diakibatkan oleh alkohol sudah terkonversi menjadi senyawa lain, diantaranya ester. Diperkuat oleh Pramita (2013), adanya penurunan nilai kadar alkohol yang dihasilkan dikarenakan etanol yang diperoleh telah diubah menjadi asam-asam organik misalnya asam cuka oleh bakteri asam asetat pada bibit kefir air, sehingga dari penjelasan diatas hasil pengukuran kadar alkohol pada penelitian telah sesuai dengan literatur.

Kadar alkohol yang dihasilkan pada setiap perlakuan setelah fermentasi yaitu 0,4 %, 0,6 % dan 0,8% yang menunjukkan telah memenuhi standard yang ditentukan oleh MUI (Majelis Ulama' Indonesia) yaitu dibawah 1% yang tidak menimbulkan efek memabukkan pada produk yang dihasilkan. Berdasarkan ijtihad fatwa MUI (Majelis Ulama' Indonesia) pada tahun 2009 tentang hukum alkohol yaitu, Penggunaan alkohol atau etanol hasil industri non khamr (baik merupakan hasil sintesis kimiawi [dari petrokimia] ataupun hasil industri fermentasi non khamr) untuk proses produksi produk makanan, minuman,

kosmetika, dan obat-obatan, hukumnya: mubah, apabila secara medis tidak membahayakan. Hukum ini diperkuat dengan fatwa MUI no 24 tahun 2003 tentang produk pangan. Makanan dan minuman dengan kadar alkohol dibawah 1% dihukumi halal.

4.1.4 Pengaruh Lama Fermentasi Dan Variasi Konsentrasi Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap Aktivitas Antioksidan Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Pengamatan aktivitas antioksidan kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) dilakukan untuk mengetahui nilai IC_{50} . Perubahan aktivitas antioksidan ditandai dengan menurunnya nilai IC_{50} . Analisis ini memakai larutan *difenil pikril hidrazil* atau DPPH berupa radikal bebas yang diinteraksikan pada sampel kefir air daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). Pengukuran selanjutnya dengan spektrofotometer untuk memahami nilai persentase peredaman fisiologis terhadap (DPPH) radikal bebas oleh sampel uji. Berikut nilai rata – rata IC_{50} hasil pengujian bisa diamati pada Gambar dibawah ini:



Gambar 4.3 Diagram Batang Nilai IC_{50} Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Berdasarkan pada gambar 4.3 diatas, nilai IC_{50} pada kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) pada perlakuan (S0M0) sebelum fermentasi dan tanpa konsentrasi rebusan daun gaharu menunjukkan nilai tertinggi mencapai 175 ppm, angka ini menunjukkan aktivitas antioksidan lemah sebagaimana dijelaskan oleh Mardawati (2008) antioksidan lemah jika IC_{50} bernilai 150-200 ppm. Data IC_{50} terendah didapatkan setelah terjadinya proses fermentasi yaitu pada perlakuan S4M3 (konsentrasi 20% dan lama fermentasi 24 jam) dengan nilai 3,89 ppm yang menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat sebagaimana dijelaskan oleh Zuhra (2008) bahwa semakin rendah nilai IC_{50} berarti semakin besar aktivitas antioksidan, dengan kata lain suatu senyawa dihukumi sebagai antioksidan sangat kuat bila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm.

Mardawati (2008) menyatakan suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, antioksidan kuat apabila IC_{50} bernilai 50-100 ppm, dan antioksidan sedang bila IC_{50} berkisar 100-150 ppm, dan antioksidan lemah apabila IC_{50} bernilai 150-200 ppm. Nilai IC_{50} pada gambar 4.3 memberitahukan bahwa semakin lama fermentasi maka semakin rendah nilai nilai IC_{50} sehingga semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Perlakuan S1M0 hingga S4M0 menunjukkan semakin banyak konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) yang ditambahkan menghasilkan nilai aktivitas antioksidan yang semakin tinggi. Hal ini disebabkan rebusan daun gaharu memiliki senyawa antioksidan yaitu zat flavonoid, terpenoid dan fenol (Mega,2010), pada penelitiannya Yanti (2015) mengandung fenol, flavonoid dan

tanin. Sedangkan dalam penelitian Will (2014) mengandung senyawa antioksidan alkaloid, triterpenoid, tanin steroid dan saponin. Ditambahkan oleh Nugraha (2015) mengandung flavon, flavonol dan isoflavon sehingga konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyneros versteegii*) menunjukkan kaya akan senyawa aktif antioksidan.

Aktivitas antioksidan juga bertambah selama proses fermentasi dikarenakan pada dasarnya kefir air sudah mempunyai potensi untuk berperan sebagai antioksidan alami yang bagus. Meningkatnya aktivitas antioksidan juga dikarenakan kemampuan bakteri asam laktat (BAL), khamir dan bakteri asam asetat sebagai mikroba dalam bibit kefir air yang bisa menghasilkan produk metabolit ekstraseluler dan intraseluler berupa asam organik, polisakarida, polipeptida dan glutathine yang berpotensi kuat menjadi antioksidan (Alsayadi *et al.*, 2013), sehingga produk kefir air rebusan daun gaharu (*Gyneros versteegii*) bersama biji kefir air, menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi jika diinteraksikan antara keduanya. Keterangan ini diperjelas oleh Siagian (2002) yaitu seringkali kombinasi dari berbagai macam antioksidan menghasilkan perlindungan yang lebih baik serta bersinergis pada proses oksidasi dibanding dengan hanya memakai satu jenis antioksidan.

Analisis statistik memakai metode *two way Analysis of Variance* pada aplikasi SPSS 16.0 yang berikutnya disajikan dalam tabel ringkasan hasil analisa keragaman pengaruh lama fermentasi dan variasi konsentrasi rebusan daun gaharu (*Gyneros versteegii*) terhadap aktivitas antioksidan kefir air rebusan daun gaharu (*Gyneros versteegii*) dapat diamati pada tabel berikut:

Tabel 4.8 Ringkasan Analisa Keragaman Aktivitas Antioksidan Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) (Signifikansi 5%).

Sumber	Jumlah Kuadrat	Df	Rata – rata Kuadrat	F	Signifikasi
Lama Fermentasi	13538,497	4	3384,624	846,155	,000
Variasi Konsentrasi	30364,640	3	10121,547	2,53013	,000
Kombinasi	35646,118	12	2970,510	742,627	,000

Berdasarkan tabel 4.8 semua variabel mempunyai pengaruh yang nyata pada aktivitas antioksidan kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) yang menunjukkan nilai lebih kecil dari 0,05. Sehingga dilanjutkan Uji Jarak Duncan (UJD) sebagai berikut:

Tabel 4.9 Hasil Analisis Uji Jarak Duncan Aktivitas Antioksidan Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

T	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Notasi	Aktivitas Antioksidan
S0M0	175,94	k	Lemah
S0M1	23,004	gh	Sangat Kuat
S0M2	13,17	ef	Sangat Kuat
S0M3	10,06	cde	Sangat Kuat
S1M0	43,37	j	Sangat Kuat
S1M1	34,62	i	Sangat Kuat
S1M2	15,55	f	Sangat Kuat
S1M3	8,18	bcd	Sangat Kuat
S2M0	41,69	j	Sangat Kuat
S2M1	31,21	i	Sangat Kuat
S2M2	15,81	fg	Sangat Kuat
S2M3	6,604	abc	Sangat Kuat
S3M0	31,27	i	Sangat Kuat
S3M1	26,14	h	Sangat Kuat
S3M2	11,001	de	Sangat Kuat
S3M3	5,46	ab	Sangat Kuat
S4M0	20,58	g	Sangat Kuat
S4M1	15,12	f	Sangat Kuat
S4M2	7,63	bcd	Sangat Kuat
S4M3	3,89	a	Sangat Kuat

Data dari analisis UJD pada tabel 4.9 menunjukkan bahwa perlakuan S1M1, S2M1 dan S3M0 bernotasi sama (i) yang menunjukkan tidak berbeda nyata. Sebagian besar perlakuan yang dilakukan bervariasi dan hampir seluruhnya berbeda sehingga mengindikasikan kombinasi kedua variabel (variasi konsentrasi dan lama fermentasi) memiliki pengaruh nyata terhadap parameter uji aktivitas antioksidan kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Hasil terbaik dari perlakuan ini adalah S4M3 dengan notasi (a) dengan nilai terendah pada IC_{50} yang mengindikasikan aktivitas antioksidan tertinggi dikarenakan aktivitas antioksidan meningkat beriringan dengan banyaknya konsentrasi rebusan daun gahar yang kaya akan zat aktif antioksidan dan mempunyai peredaman radikal bebas yang tinggi (Swastini, 2010). Semakin lama waktu yang digunakan fermentasi juga menunjukkan aktivitas antioksidan semakin tinggi. Kejadian ini disebabkan karena semakin lama waktu fermentasi berlangsung membuat biji kefir air dengan kerja sama berbagai jenis bakteri dan khamir semakin banyak menyuplai senyawa – senyawa asam yang menyebabkan meningkatnya ion H^+ yang elektron valensinya tidak berpasangan, sehingga selain flavonoid dan senyawa antioksidan lainnya, ion H^+ juga bisa menyeimbangkan elektron yang tidak berpasangan pada radikal bebas *1,1-difenil-2-pikrikhidrazil* (DPPH), sebagaimana dijelaskan oleh Primurdia (2014) menerangkan bahwa terjadinya sintesa gula menghasilkan asam laktat oleh peran BAL menjadikan senyawa fenol yang dihasilkan semakin banyak sehingga aktivitas antioksidannya bertambah besar. Penguraian sukrosa menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat memberikan ion H^+ pada radikal bebas, kondisi asam dengan banyak kandungan

ion H^+ adalah kondisi tepat dan sinergis, yaitu ion H^+ bisa mengikat elektron yang tidak stabil pada radikal bebas (DPPH) sehingga berpasangan yang akhirnya memperbesar aktivitas antioksidan.

Machavarapu (2013) menerangkan bahwa senyawa flavonoid bisa bertahan pada pH 3 – 8, sehingga flavonoid yang terkandung kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) tetap stabil walaupun pHnya asam. Musdholifah dan Zubaidah (2016) menambahkan bahwa ketika substrat telah melakukan proses waktu fermentasi terjadi beberapa enzim yang berperan dalam membentuk metabolit sekunder, sehingga selain terjadi pembentukan senyawa antioksidan dalam medium kefir, ternyata juga terjadi pembentukan berbagai vitamin yang menyebabkan tingginya nilai aktivitas antioksidan pada kefir air.

4.4 Kajian Integrasi Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap Total BAL, Mutu Kimia (pH Medium dan Kadar Alkohol) Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*).

Hasil Penelitian menunjukkan bahwa rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) mampu meningkatkan kapasitas atau aktivitas antioksidan kefir air yang merupakan produk minuman fungsional. Produk makanan atau minuman sangat diperhatikan oleh Allah سبحانه وتعالى disurat ke-2 (سورة البقرة) ayat 172 yang berbunyi:

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا كُلُوا مِن طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُمْ وَاشْكُرُوا لِلَّهِ إِن كُنتُمْ إِيَّاهُ تَعْبُدُونَ

Artinya : *Hai orang-orang yang beriman, makanlah dari rizk yang baik-baik yang telah kami berikan kepadamu dan bersyukurlah kepada Allah , jika kamu sungguh-sungguh menyembah kepada-Nya.*

Ibnu Katsir (2009) dalam tafsirnya pada halaman 323 jilid pertama menjelaskan bahwa Allah سبحانه وتعالى memerintahkan kepada semua hambaNya yang memiliki keimanan didalam dirinya agar mengkonsumsi makanan atau minuman yang baik-baik dari rizki yang sudah ditetapkan oleh Allah سبحانه وتعالى kepada mereka, dan agar mereka selalu berterimakasih dan memuji kepada-Nya atas rizki yang telah diberikan, jika mereka benar-benar mengakui sebagai hamba-Nya. Dan mengkonsumsi bahan pangan yang halal menjadi faktor penyebab diterimanya ibadah yang dilakukan dan terkabulnya (permintaan) doa.

Keterangan tafsir surat ke-2 dalam Al-Qur'an ayat ke-172, manusia diberi amanat dalam mengkonsumsi produk pangan yang berkualitas baik (طيبات), begitu juga firman Allah سبحانه وتعالى yang termaktub dalam kitabullah surat ke-2 (سورة البقرة) ayat 168:

يا ايها الناس كلوا مما فى الارض حلالا طيبا

Artinya: *“Hai sekalian manusia, makanlah makanan yang halal dan baik dari apa yang telah disediakan di bumi.”*

Qarni (2008) menafsiri dalam kitab *tafsir mussayar* tentang ayat ke-168 diatas bahwa manusia diharuskan (wajib) mengkonsumsi makanan yang halal lagi baik oleh Allah سبحانه وتعالى. Tafsir tersebut menunjukkan bahwa makanan yang halal dan baik ditentukan oleh 2 hal yaitu halal lagi baik akan zat yang terkandung pada produk pangan tersebut dan tidak menjijikkan serta halal lagi baik cara

memperolehnya. Asy Syinqithi (2006) pada kitab *Adhwa'ul Bayan* menafsirkan surat Al-Baqarah ayat ke-168 bahwa Allah telah memperbolehkan (menghalalkan) sertiap hambanya supaya memakan apa saja yang ada di muka bumi dengan ketentuan makanan yang halal, baik, dan bermanfaat bagi dirinya sendiri serta yang tidak membahayakan bagi tubuh dan akal pikirannya sehingga setiap sesuatu yang dihalalkan dengan baik berarti sudah layak dikonsumsi bagi manusia.

Allah سبحانه وتعالى juga menjelaskan dalam Al-Qur'an surat ke-80 (سورة عيس) ayat 24

فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ

Artinya: “Maka hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya”

Sayyid Qutub (2007) menerangkan dalam tafsirnya bahwa lafadh ينظر berarti melihat menggunakan mata telanjangnya serta merenungi dan bertafakkur dengan mata hati bahwa makanan merupakan sesuatu yang paling lekat dan selalu ada pada manusia. Seharusnya mereka memperhatikan perkara yang dipermudah bagi mereka didepan mata mereka dan yang terjadi berulang kali pada diri mereka. Agar mereka mengambil hikmah darinya yang menakjubkan dan dengan makanan itu membuat takwa semakin bertambah kepada Allah سبحانه وتعالى. Perhatian akan produk pangan juga diperintahkan dalam surat ke-2 (سورة البقرة) ayat 259: فانظر الى طعامك وشرابك yang artinya *maka lihat dan perhatikanlah makanamu dan minumanmu.*

Berdasarkan tafsir diatas dapat diketahui bahwa memperhatikan produk makanan merupakan hal penting diantaranya dengan melihat kandungan yang baik dan bermanfaat didalamnya seperti kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops*

versteegii). Hidayat (2006) dalam Kuswinarto (2018) menjelaskan bahwa minuman fermentasi memiliki keunggulan yaitu rasa masam yang terbentuk akan memperpanjang daya simpan, mencegah mikroorganisme patogen, mencegah mikroorganisme pembusuk. Allah سبحانه وتعالى juga menjelaskan dalam surat ke-7 (سورة الاعرف) ayat 31 *المسرفين* لا يحب الله ان تسرفوا ان الله لا يحب المسرفين (سورة الاعرف) yang artinya “*makan dan minumlah tetapi jangan berlebih-lebihan sesungguhnya Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan*”. Termasuk derajat keasaman yang berlebihan dengan nilai pH yang sangat tinggi atau sebaliknya menjadikan kondisi yang tidak baik dalam usus seperti dijelaskan oleh Kuswinarto (2018) bahwa rentan pH yang dapat diterima oleh mikroflora dalam usus tidak terlalu asam dan tidak terlalu basa. Berbeda dengan produk kefir ini yang memiliki pH 3,5 - 4 yang mana nilai tersebut bernilai masam dan tidak terlalu asam sehingga dapat diterima dengan baik oleh usus maka produk kefir air ini termasuk didalam produk (طيبات) makanan yang halal lagi baik.

Baik buruk dan halal haram produk fungsional tergantung dari nilai kadar alkohol yang terdapat didalamnya, sebagaimana dijelaskan dalam hadits pada *shohih ibnu majah* no 2734 dan *shahih musim* no 2003 *كُلُّ مُسْكِرٍ خَمْرٌ وَكُلُّ خَمْرٍ حَرَامٌ* yang artinya ‘*Segala sesuatu yang memabukkan adalah khamr, dan semua khamr haram hukumnya.*’. Kadar Kadar alkohol pada penelitian ini paling tinggi disetiap perlakuan adalah 0,4% sehingga produk ini tidak memabukkan, sehingga ini merupakan pengamalan dari firman Allah سبحانه وتعالى pada surat ke-37 (سورة الصافات) ayat 47:

[يا ايها الذين امنوا انما الخمر والميسر والانصاب ولازلام رجز من عمل الشيطان
فاجتنبوه لعلكم تفلحون

Artinya: *Hai orang-orang yang beriman sesungguhnya khamar, perjudian, (berkorban demi) berhala, pengundian nasib dengan panah adalah termasuk macam perilaku setan.. Maka menjauhlah dari perkara itu supaya kamu mendapatkan keuntungan”*

Ayat ini memerintahkan untuk menjauhi sesuatu yang memabukkan (خمر) karna termasuk رجز yang bermakna kenajisan atau dalam arti bahasa berarti kotor dan najis. tafsir Asy-Syinqithhi (2007) menjelaskan bahwa خمر merupakan minuman yang memabukkan yang dapat menutupi akal sehat dan itu adalah perbuatan yang keji, menjijikan dan kotor (termasuk perbuatan setan) yang dihiasi oleh setan. (Maka jauhilah perbuatan itu) yakni kekejian yang terkandung dalam perbuatan itu, jangan sampai kamu melakukannya (agar kamu mendapatkan keberuntungan). Hal ini senada dengan Firman Allah سبحانه وتعالى dalam surat ke-16 (سورة النحل) ayat 67: *وَمِنْ ثَمَرَاتِ النَّخِيلِ وَالْأَعْنَابِ تَتَّخِذُونَ مِنْهُ سَكَرًا وَرِزْقًا حَسَنًا*: 67 yang artinya : *“Dan dari buah kurma dan anggur, kemudian kamu jadikan minuman yang memabukkan dan rezki (minuman) yang baik. Tafsir Muyassar jilid 2 pada halaman 447 menjelaskan bahwa, salah satu nikmat yang Allah سبحانه وتعالى anugerahkan kepada kalian – wahai manusia – adalah manfaat yang kalian peroleh dari buah kurma dan anggur. Kalian bisa mengolahnya menjadi minuman yang memabukkan atau minuman keras. Ayat ini turun sebelum datang wahyu tentang pengharaman khamar, tetapi mengindikasikan bahwa makanan atau minuman yang asalnya tidak memabukkan bisa diolah dan dibuat menjadi*

minuman keras. Nabi ﷺ menjelaskan dalam kitab *Syarh Shahih Muslim* 7/190 bahwa:

وان كان قد ظهر فيه شيء من مبادئ الاسكار والتغير اراقه: لانه اذا اسكر صار حراما و نجسا. فيراق ولا يسقيه الخادم لان المسكر لا يجوز سقيه الخادم كما لا يجوز شربه. واما شربه صل الله عليه وسلم قبل الثلاث فكان حيث لا تغير ولا مبادئ تغيرز ولا شك اصلا.

“Seandainya telah ada perubahan yang mengakibatkan minuman tersebut memabukkan dan berubah (menjadi khamr), beliau membuangnya. Karena apabila minuman itu menyebabkan mabuk, dihukumilah ia haram dan najis. Beliau shallallaahu ‘alaihi wa sallam membuangnya dan tidak memberikannya kepada pembantunya (untuk diminum). Minuman yang memabukkan yang tidak boleh diberikan kepada pembantu sebagaimana tidak diperbolehkannya meminumnya sendiri. Mengenai Nabi shallallaahu ‘alaihi wa sallam meminumnya sebelum tiga hari, hal itu disebabkan belum berubah karakter dan sifatnya, tidak ada indikasi perubahan, dan tidak ada keraguan (bahwa ia halal) secara asal”

Hadis diatas menjelaskan bahwa waktu pendiaman (fermentasi) sebelum tiga hari masih dihukumi halal dengan ketentuan tidak merubah karakter pada produk. Hal ini telah sesuai dalam penelitian bahwa pembuatan kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*), dibuat dalam kurang atau sama dengan satu hari yang tidak menimbulkan efek memabukkan pada setiap produk yang dihasilkan, dan kadar alkohol jauh dibawah 1% yang berdasarkan ijtihad fatwa MUI (Majelis Ulama’ Indonesia) pada tahun 2009 tentang hukum alkohol yaitu, Penggunaan alkohol atau etanol hasil industri non khamr (baik merupakan hasil sintesis kimiawi [dari petrokimia] ataupun hasil industri fermentasi non khamr) untuk proses produksi produk makanan, minuman, kosmetika, dan obat-obatan, hukumnya: mubah, apabila secara medis tidak membahayakan. Hukum ini

diperkuat dengan fatwa MUI no 24 tahun 2003 tentang produk pangan. Makanan dan minuman dengan kadar alkohol dibawah 1% dihukumi halal. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa pada setiap perlakuan (18 jam, 21 jam dan 24 jam) kadar alkohol yang dihasilkan kurang dari 1% sehingga produk kefir air termasuk produk *halalan thayyiban*.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu lama proses fermentasi dan variasi konsentrasi berpengaruh nyata terhadap karakteristik (total bakteri asam laktat, pH medium, kadar alkohol dan aktivitas antioksidan) kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*). Perlakuan S4M0 (Konsentrasi 20% dan Lama Fermentasi 24 jam) memberikan nilai terbaik pada uji aktivitas antioksidan. Hasil Penelitian total bakteri asam laktat, pH medium dan kadar alkohol telah memenuhi standard SNI. jumlah BAL (Bakteri Asam Laktat) setelah fermentasi berkisar 1×10^7 cfu/ml hingga $3,1 \times 10^7$ cfu/ml, derajat keasaman/pH medium setelah dilakukan fermentasi didapatkan nilai 4 – 3,27, kadar alkohol yang dihasilkan sesudah fermentasi berkisar 0,4 – 0,8 dan aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC_{50} setelah fermentasi berkisar 23 – 3,89 (ppm).

Berdasarkan data yang didapatkan setelah pengujian pada setiap parameter penelitian beserta hasil integrasi dengan Al-Qur'an dan Hadits dengan hukum fiqih yang berpedoman kepada keduanya maka produk kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) adalah produk yang *halalan toyyiban*.

5.2 Saran

Saran setelah dilakukannya penelitian kefir air rebusan daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) adalah pembuatan kefir air rebusan daun gaharu terbaik dengan lama fermentasi 24 jam dan konsentrasi 20%, dan untuk menyempurnakan dan dikembangkan pada penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian mengenai suhu yang optimum bagi pertumbuhan kefir air dan penerapan medium fermentasi baru selain air gula sebagai adaptasi bagi kefir air.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdi, Redha “Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis” *Jurnal*, (Pontianak: Politeknik Negeri Pontianak, 2010)
- Abdullah. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir*. Bogor: Pustaka Imam Asy-syafi’i.
- Al-Jazairi, Abu Bakar Jabir. 2006. *Tafsir Al-Aisyar* (diterjemahkan oleh Hatim, Azhari dan Mukti, Abdurrahim). Jakarta : Darus Sunnah Press.
- Alsayadi, M. Ms., AlJawfl, Y., Belarbi, M. dan Sabri F. Z. 2013. Antioxidant Potency of Water Kefir. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2 (6): 2444-2447
- Amelia, P. 2011. Isolasi, Elusidasi Struktur dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Kimia dan Daun Garcinia bethami Pierre. *Tesis University Indonesia*
- 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., Schneedorf, J. M. 2004. Kefir, a Probiotic produced by encapsulated microorganism and inflammation. In:Carvalho JCT. (ed.). *Antiinflammatory phytotherapies (Portuguese)*. Techmedd. 443-467.
- Anonymous, 1992. International Dairy Federation. General standard of identity for fermented milks,163: 4.
- Asli, M. S. 2010. A Study on Some Efficient Parameters in Batc Fermentation of Ethanol Using Saccharomyces Cerevesiae SC1 Extracted from Fermented Siahe Sardasht Pomace. *African Journal of Biotechnology* 9(20): 2906-2912.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan RI. 2005. *Ketentuan Pokok Pengawasan Pangan Fungsional*. Badan Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Bahar, B. 2008. *Kefir Minuman Fermentasi dengan Segudang Khasiat untuk Kesehatan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama
- Betrianingrum, Citra. 2009. Kajian Pertumbuhan Eksplan Pucuk Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Melalui Teknik Exvitro. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Chaitow, L. and N. Trenev, 2002. Probiotics. Natasha Trenev Website. www.Natren.com.

- Choirunnisa', Lely. 2017. Pengaruh Konsentrasi Starter Dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Fruitghurt Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulanan Malik Ibrahim.
- 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.
- Clarkson, P.M., Thomson, H.S. 2000. *Antioxidants: What role do they play in physical activity and health*, *Am J Clin Nutr.* 729 (Suppl): 637-346
- Codex Alimentarius. 2003. Codex Standard for Fermented Milks (*Codex stand 243-2003*) CCNEA document (CA/NEA 13/7/6).
- Dalimartha S. 2006. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jakarta : Puspa Swara.
- Edeoga HO, Okwu DE, Mbaebie BO. 2005. Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 7:685-688.
- Farnworth, E. and Mainville, I. 2008. *Handbook Of Fermented Functional Food Second Edition*. United States : CRC Press.
- Febrisiantosa, A., Purwanto, B. P., Arief, I. I. dan Widyastuti, Y. 2013. Karakteristik fisik, kimia, mikrobiologi Whey Kefir dan Aktifitasnya Terhadap Penghambatan Angiotensin Converting Enzyme (ACE). *LIPI. Bogor.* 2:147-152.
- Fauziah, Farah. 2017. karakteristik fisik dan mutu gizi kefir dengan fortifikasi vitamin D3. Skripsi. Semarang: universitas diponegoro semarang
- 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
- Halliwell, B. 2002. *Handbook of Antioxidants. Second Edition Revised and Expanded. Food-Derived Antioxidants: How to Evaluate Their Importance in Food and in Vivo: 1-33.*
- Harahap, Rizki Khadijah. 2015. Uji Antioksidan Daun Muda dan Daun Tua Gaharu Berdasarkan Perbedaan Tempat Tumbu. Teknologi Hasil Hutan. Fakultas Kehutanan. Universitas Sumatra Utara. Medan.
- 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
- Hidayah, Nurun. 2014. Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan dan Sari Kulit Pisang Terhadap Kualitas Minuman Simbiotik dari Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca*). Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulanan Malik Ibrahim

- Ide, P. 2008. *Health Secret of Kefir*. PT Elex Media Koputindo. Jakarta.
- Irianto, Hari Eko. 2013. *Produk Fermentasi Ikan*. Bogor: Penebar Swadaya
- Isromarina, Rini. 2015. Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan Dan Sitotoksitas Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap Sel Kanker Leher Rahim (Hela). Universitas Gajahmada. Yogyakarta.
- Jacobsen CN, VR Nielsen, AE Hayford, PL Moller, KF Michaelsen, AP Erregaard, B Sandstorm, M Tvede dan M Jakobsen. 1999. Screening of probiotic activities of forty seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in human. *Applied and Environmental Microbiology*. 65: 4949-4956.
- Kanbe, M. 1992. Uses of Intestinal Lactic Acid Bacteria and Health. In : Nakasawa, Y. and Hosono, A. (Ed). *Function of Fermented Milk, Challenge for The Health Science*, page 41. Elsevier Applied Science, New York.
- Khotib, Iqbalullah Miftahul. 2018. Pengaruh Lama Fermentasi Dan Variasi Konsentrasi Sari Buah Ciplukan (*Physalis angulata* Linn.) Terhadap Aktivitas Antioksidan, Total Bakteri Asam Laktat Dan Mutu Kimia Kefir Air Sari Buah Ciplukan (*Physalis angulata* Linn.) Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulanan Malik Ibrahim.
- Kristian, Vito. 2011. Peremajaan agnesia Pengembangan Adonan. <http://repository.wima.ac.id/6012/Bab%2011.pdf>. Diakses tanggal 15 April 2017
- Kosikowski F dan Mistry VV. *Cheese and Fermented Milk Foods* (3rd eds). New York, 1982.
- 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*.
- Kuswinarto, Rahma Rahiima. 2017. Pengaruh Konsentrasi Starter Dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Fruitghurt Sari Kulit Buah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* L.) Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulanan Malik Ibrahim.
- Kusumawati, N. 2002. Seleksi bakteri asam laktat indigenus sebagai galur probiotik dengan kemampuan mempertahankan keseimbangan mikroflora usus feses dan mereduksi kolesterol serum darah tikus. Tesis. Institut Pertanian Bogor: Program Studi Ilmu Pangan.
- Lathif, Yudrik. 2016. Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Total Asam, pH Medium dan

Aktivitas Antioksidan Kefir Air Teh Daun Kersen (*Muntingia Calabura* L.) Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim

- Lehninge A. L. 1990. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 2* (diterjemahkan oleh Thenawidjaja). Bogor: Erlangga
- Machavarapu, M., Manoj K. S., dan Meena V. 2013. "Optimization of Physico-chemical Parameters for the Extraction of Flavonoids and Phenolic Components from the Skin of *Allium cepa*." *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology* 2(7): 3125-3129.
- 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
- Mardawati, E., Filianti., Harta. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*) Dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis Di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasik Malaya. Hal.4
- Maryana, Dwi. 2014. pengaruh penambahan sukrosa terhadap jumlah bakteri dan keasaman whey fermentasi dengan menggunakan kombinasi *lactobacillus plantarum* dan *lactobacillus acidophilus*. Skripsi. Makassar: Universitas Hasanuddin
- Maulia, Zahrotul. 2015. Inventarisasi Teknik Pembibitan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Di Jawa Timur Dan Pemanfaatannya Sebagai Karya Ilmiah Populer. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Mega, IM dan Swastini, DA. 2010. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Metanol Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Jurnal Kimia* 4(2). Hal. 187-192.
- Miller, David Niven. 2015. Water Kefir/ Tibicos. <http://growyouthful.com/recipes/water-kefir.php>. Diakses tanggal 29 September 2015.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *Songklanakar J. Sci. Technol* 26 (2), 211-21
- Nadiah Thayyarah. (2013). *Buku Pintar Sains dalam Alquran : Mengerti Mukjizat Ilmiah Firman Allah* ﷻ. Jakarta : Zaman.
- Nelson DL, Cox MM. 2004. *Lehninger's principles of biochemistry*. 4th ed. U.S.A.: W.H. Freeman.
- Nugraha, Reza., Ridwanti, Batubara dan Hirawati Ginting. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gaharu Berdasarkan Umur Pohon.

Program Studi Kehutanan. Fakultas Kehutanan. Universitas Sumatera Utara.

Nurwantoro dan A.S Djarijah. 1997. *Mikrobiologi Hewani Dan Nabati*. Yogyakarta: Kanisius.

Siti Nuryanti, Sabirin Matsjeh, Chairil Anwar, Tri Joko Raharjo. 2010. Indikator Titration Asam-Basa dari Ekstrak Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.). *AGRITECH*, Vol. 30, No. 3. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Oktaviani, E. P. 2014. Kualitas dan Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Naskah Skripsi S-1. Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Yogyakarta*.

Otles Semih, Cagindi Ozem. 2003. Kefir : A Probiotic Dairy Consumption, Nutritional, and Therapeutic Aspects . *Pakistan Journal of Nutrition* 2 (2):54-59. *Asian Network for Scientific Information*.

Parwata, Adi., Manuaba, Putra., Yasa, Sutirta., Bidura. 2016. Characteristics and Antioxidant Activities of Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Leaves. *International Journal of Biological And Chemical Research*. Vol. 33, No. 1: 294-301.

Pelczar, M.J., E.C.S. Chan Jr, and N. R. Krieg. 1993. *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 12 Mei 2017

Pidoux, M. 1989. The microbial flora of sufary kefir grains (The gingerbeer plant): biosynthesis of the grain from *Lactobacillus hilgardii* producing a polysaccharide gel. *Mircen Journal*, 5:223-238.

Powers, S.K., Jackson, M.J. 2008. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *Physiol Rev*, 88, 1243-76.

Prakash, A. 2001. Medallion Laboratpries. Analytical Progress, Antioxidant Activity. <http://www.terranostrachocolate.com>. Diakses tanggal 7 April 2017.

Primurdia, E. G., & Kusnadi, J. (2014). Antioxidant Activity of Probiotic Drink From Dates Extract (*Phoenix dactilyfera* L.) With the Isolates of *L. plantarum* and *L. casei*. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 2(3), 98–109.

Putri, Pramita. 2013. Maserasi, Perkolasi, Soxhletasi, Infusa, Dekok, Destilas Uap <http://dokumen.tips/documents/maserasi-perkolasi-soxhletasi-infusadekok-destilasi-uap.html> diakses tanggal 3 Desember 2016

- Purbasari, Argandhina, Setya Budi M. Abduh, dan others. "Nilai pH, Kekentalan, Citarasa, dan Kesukaan pada Susu Fermentasi dengan Perisa Alami Jambu Air (*Syzygium Sp.*)" *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 3, no. 4 (2013). <http://jatp.ift.or.id/index.php/jatp/article/view/145>.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Penerbit Bumi Aksara
- 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
- Puspaningsih, N. 2009. Manipulasi Genetik *Saccharomyces cerevisiae* dalam Upaya Meningkatkan Produksi Etanol. <http://www.rudycct.com/PPS702ipb/01101/nyomantri.htm>. 1092009. Diakses tanggal 21 November 2017
- 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
- 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 18 April 2017
- Roman RR., Alarcon AF, Lara LA and Flores SJL. 1992. Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. *Arch Med Res. Spring; 23(1):59-64*.
- Rosiana, Ema dan Nurliana. 2013. kadar bakteri asam laktat dan derajat asam kefir yang di fermentasi dengan penambahan gula dan lama inkubasi yang berbeda. *Jurnal Medika Veterinaria*. 7 (2): 0853-1943
- Rudolf, A., Malek, A., Guido, A., Gunnar, L. 2005. A Comparisson Between Batch and Fed Batch Simultaneous Saccharification and Fermentation of Steam Pretreated Spruce. *J. Enz. Microbiol. Technol.* 37: 195-204
- Sampurno, A dan Cahyanti. 2015. Variasi Jeis Gula Tebu Terhadap Derajat Brix, pH, Total Asam dan Kesukaan Panelis Pada Kefir Air. *Jurnal Teknologi Pangan Dan Hasil Pertanian*. Vol. 11. No. 2. Hal. 34-39.
- Samsuri, Taufiq dan Herdiana Fitriana. Pembuatan Teh Dari Daun Gaharu *Gyrinops versteegii*. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi (Biosantis)*. FPMIPA. Mataram.

- Sanikta. 2013. Manfaat Probiotik Pada Kefir Susu dan Kefir Air. <http://biologi.unas.ac.id:8180/web/biologi/publikasi/fermentasi/pdf>. Diakses tanggal 9 April 2017
- Sari, N.K. 2007. Tren dan Potensi Susu Sapi dalam Food Review bulan Maret 2007. PT Media Pangan Indonesia
- Sawitri, Manik 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
- Schneedorf, J. M. 2012. *Kefir D'qua and Its Probiotic Properties*. Chapter 3. Intech. 53-76
- Septa kukuh. Star Fruit (*Averrhoa carambola* L) Concentrate and Fermentation Period in Physic-Chemical Microbiology Properties of Yoghurt. *Jurnal Pangan dan Agroindustri Malang*. 2015; 3(2): 582-593.
- Shihab, Quraisy. 2002. *Tafsir Al Misbah Pesan Kesan dan Keserasian Al Qur'an Vol 3 Surat Al-Maidah*.
- Sikka, S., Rajasekaran, M., Hellstrom, W.J.G. (1995) Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Male Infertility. *Journal of Andrology*, 16, 8-464.
- Simanjuntak, P., Parwati, T., Lenny, L. E., Murwani, R. 2004. Isolasi dan identifikasi antioksidan dari ekstrak Benalu Teh (*Scurrula oortiana*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5(1): 19-24.
- Salminen, S., C. Bouley and M. C. Boutron Ruault, 1998. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *Br. J. Nutr.*, 80: 147-71.
- Smith, Alli and Adanlawo, I.G. 2014. In Vitro and In Vivo Antioxidant Activity of Saponin Extracted from The Root of Gracinia kola (Bitter Kola) o Aloxan-Induced Diabetic Rats. In *Word Journal Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 3(7) : 8-26.
- Sudarsono D. Gunawan, Wahyuono S., Argo I., Donatus, dan Purnomo. 2002. *Tumbuhan Obat II. Pusat Studi Obat Tradisional*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Pp. 147 – 150.
- 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-ai-pada-berbagai-suhu-dan-kerapatan-fermentasi/> Diakses tanggal 27 Maret 2017.
- Sumarna, Y. 2013. *Budidaya Dan Bisnis Gaharu*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Supriyono, Teguh. 2008. Kandungan Beta Karoten, Polifenoltotal dan Aktivitas “Meratas” Radikal Bebas Kefir Susu Kacang Hijau (*Vigna radiata*) oleh

Pengaruh Jumlah starter (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Candida kefir*) dan Konsentrasi Glukosa. Tesis Universitas Diponegoro Semarang

- Surono, I. S. 2004. Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). Jakarta : TRICK.
- Sutedjo, K.S.D dan F. C. Nisa. 2015. Konsentrasi Sari Belimbing (*Averrhoa Carambola L*) dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Fisiko-Kimia dan Mikrobiologi Kefir. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Malang. Vol. 3 No. 2 p.582-593.
- Syamsu Hidayat. 1991. *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia, edisi kedua*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Tampubolon, Komariah. 2008. Mikroorganisme Dalam Pangan Laut. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Tarigan 2004. Profil Budidaya Gaharu. Departemen Kehutanan. Pusat Bina Penyeluhan Kehutanan Jakarta.
- Timotus. 1982. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Salatiga
- Usmiati, S. 2007. Kefir, Susu fermentasi dengan rasa menyegarkan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor*. 29(2) :12-14
- Winarno, F. G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Widowati, S., & Misgiyarta. (2002). *Efektifitas Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Pembuatan Produk Fermentasi Berbasis Protein/ Susu Nabati*. Jakarta: Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- Wolfe, RH dan KL Liu (2007). Seluler Aantioxidant Kegiatan (CAA) Assay untuk Aassessing Aantioxidants, makanan, dan suplemen makanan. *J. Agric. MakananChem*.55 (22): 8896- 8907.
- 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 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Data tertinggi yang diambil dari setiap ulangan ($\times 10^7$ CFU/ml)

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi											
	M0			M1			M2			M3		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
S0	0	0	0	1,2	0,7	1,1	1,9	2,5	2,1	1,2	1,5	0,9
S1	0	0	0	0,9	1,3	1	2,1	2,7	2,4	0,8	0,7	1,6
S2	0	0	0	0,8	1,4	1,8	3,2	2,6	3,3	1,9	1,4	2,3
S3	0	0	0	1,3	1,1	1,2	2,9	2,1	1,8	1,2	1	1,5
S4	0	0	0	1,3	0,9	1	2,4	1,6	1,9	1,2	1	1,1

Rata-rata Total Bakteri Asam Laktat ($\times 10^7$ CFU/ml)

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi			
	M0	M1	M2	M3
S0	0	1	2,2	1,3
S1	0	1,1	2,4	1,2
S2	0	1,4	3,1	1,9
S3	0	0,9	2,3	1,2
S4	0	0,8	1,9	0,9

Lampiran 2. Hasil Uji pH (Derajat Keasaman)

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi											
	M0			M1			M2			M3		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
S0	6	6,1	5,9	3,5	3,3	3,5	3,4	3,4	3,6	3,4	3,1	3,3
S1	5,9	6,3	6,1	3,8	3,4	3,5	3,6	3,5	3,4	3,2	3,6	3,4
S2	6,4	6,5	6,2	3,7	3,5	3,9	3,5	3,8	3,7	3,4	3,4	3,7
S3	6,3	6,6	6,7	4	4,1	3,5	3,6	3,9	3,9	3,5	3,7	3,6
S4	6,6	6,8	6,9	3,6	5	3,4	3,7	3,9	4	3,8	3,4	3,5

Rata- rata pH Medium

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi			
	M0	M1	M2	M3
S0	6	3,43	3,47	3,27
S1	6,11	3,57	3,5	3,4
S2	6,37	3,7	3,67	3,5
S3	6,53	3,87	3,8	3,6
S4	6,77	4	3,87	3,76

Lampiran 3. Hasil Uji Kadar Alkohol

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi					
	M0			M1		
	1	2	3	1	2	3
S0	1,00257	1,00257	1,00257	0,99979	0,99971	0,99975
S1	1,00197	1,00186	1,00192	0,99938	0,99946	0,99948
S2	1,00608	1,00612	1,00609	0,99945	0,99941	0,99942
S3	1,00075	1,00079	1,00072	0,99938	0,99943	0,99948
S4	1,00088	1,00084	1,00085	0,99878	0,99877	0,99871

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi					
	M2			M3		
	1	2	3	1	2	3
S0	0,99879	0,99871	0,99875	0,99907	0,99906	0,99905
S1	0,99874	0,99878	0,99877	0,99904	0,99907	0,99908
S2	0,99872	0,99871	0,99871	0,99901	0,99904	0,99903
S3	0,99868	0,99869	0,99874	0,99943	0,99941	0,99945
S4	0,99876	0,99879	0,99867	0,99908	0,99903	0,99905

Kadar Alkohol

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi			
	M0	M1	M2	M3
S0	0,0	0,4	0,8	0,6
S1	0,0	0,4	0,8	0,6
S2	0,0	0,4	0,8	0,6
S3	0,0	0,4	0,8	0,4
S4	0,0	0,6	0,8	0,6

Lampiran 4. Hasil Perhitungan Uji Antioksidan

Kontrol : 2,117

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi 0 jam (M0)				
	5 ppm	6 ppm	7 ppm	8 ppm	9 ppm
S0	2,9845	2,5487	2,1934	3,0041	3,9761
S1	17,4489	18,5643	18,6433	18,8664	19,3367
S2	18,815	19,4269	19,53	20,3323	22,2309
S3	21,0823	22,3408	23,2287	23,3195	25,3565
S4	23,8404	24,0752	24,9487	28,5755	28,4225

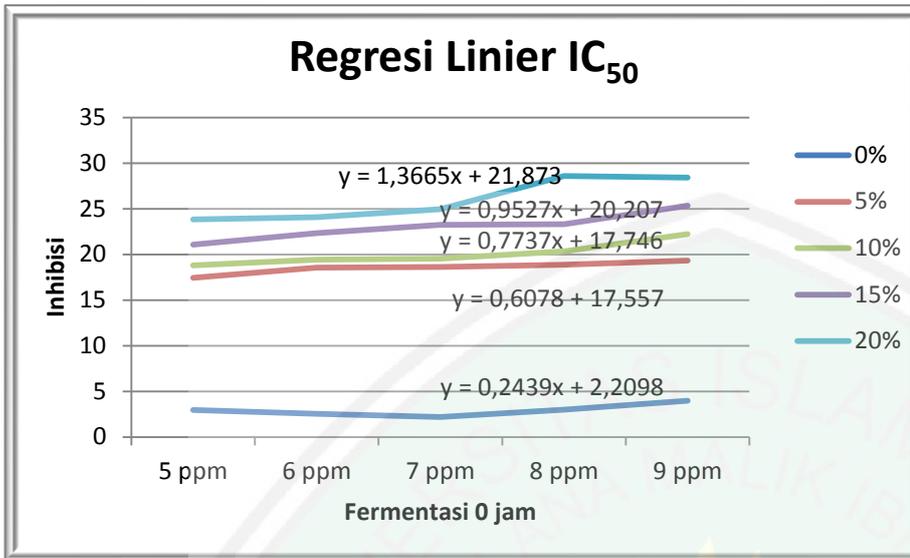
Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi 18 jam (M1)				
	5 ppm	6 ppm	7 ppm	8 ppm	9 ppm
S0	20,1265	20,3987	21,2876	23,9457	25,2983
S1	23,3395	23,6117	24,5006	27,1587	28,5113
S2	28,6477	28,6477	28,6477	29,2654	31,9831
S3	31,3243	31,9419	32,9714	34,0008	34,0008
S4	29,2654	30,0889	31,3243	33,1773	35,2362

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi 21 jam (M2)				
	5 ppm	6 ppm	7 ppm	8 ppm	9 ppm
S0	31,3255	31,3255	32,149	35,0315	36,1638
S1	34,5165	34,5165	35,34	38,2225	39,3548
S2	39,8698	39,8698	39,8698	40,4875	43,2052
S3	42,5464	43,164	44,1935	45,2229	45,2229
S4	40,4875	41,311	42,5464	44,3994	46,4583

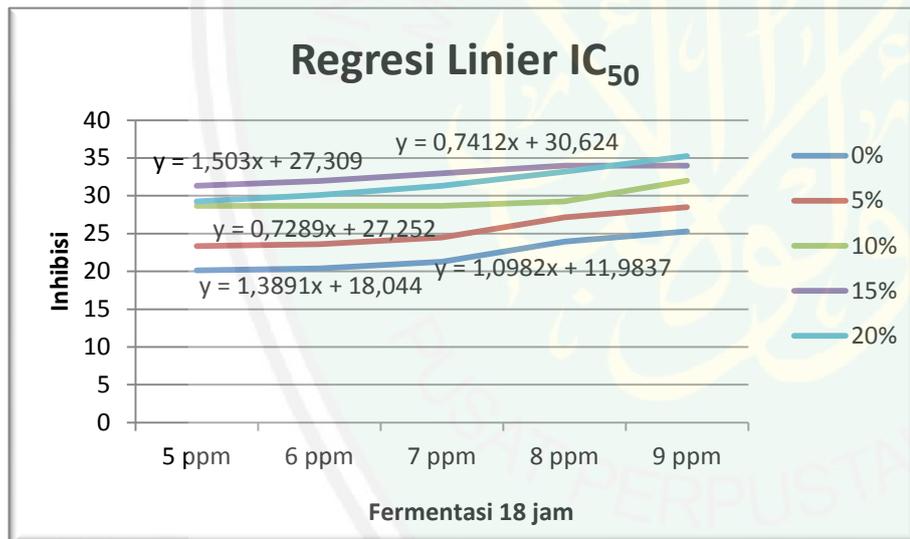
Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi 24 jam (M3)				
	5 ppm	6 ppm	7 ppm	8 ppm	9 ppm
S0	35,202	36,4374	38,0845	40,5551	41,3993
S1	38,3021	39,5375	41,1846	43,6552	44,4994
S2	47,5348	48,1524	48,1524	49,1819	49,1819
S3	49,3878	48,976	49,7995	50,2113	51,0349
S4	49,4701	50,0878	51,3437	51,3437	52,3731

Lampiran 5. Grafik Regresi Linier IC₅₀

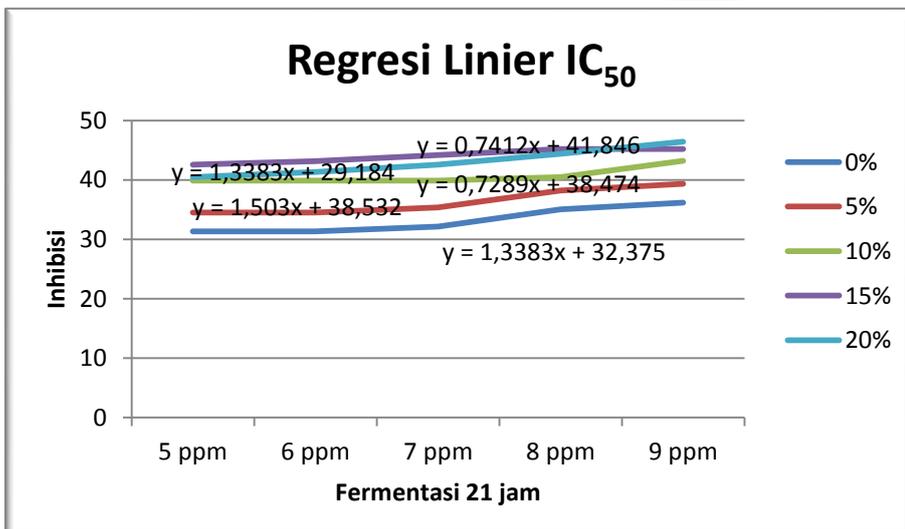
Lama fermentasi 0 jam



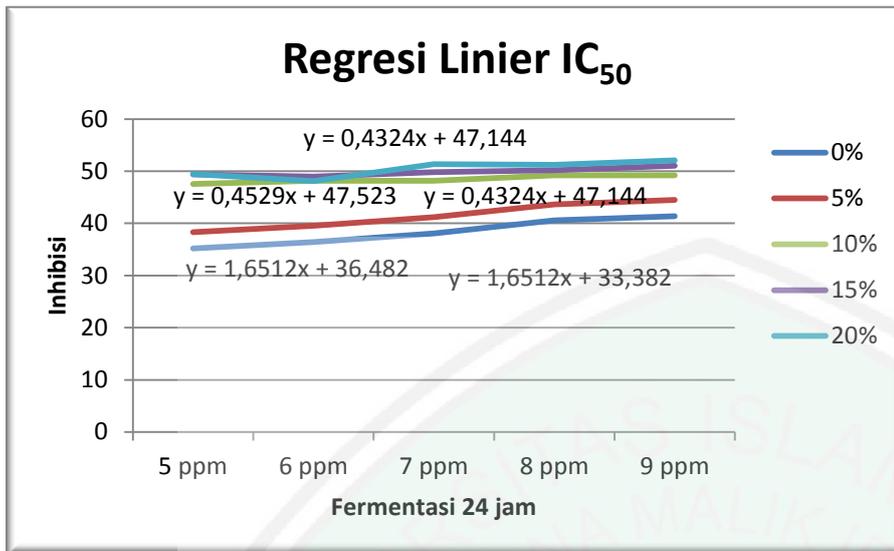
Lama fermentasi 18 jam



Lama fermentasi 21 jam



Lama fermentasi 24 jam

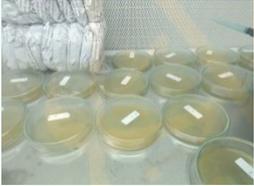
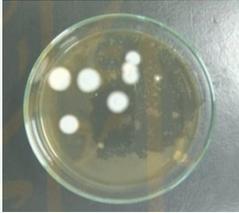
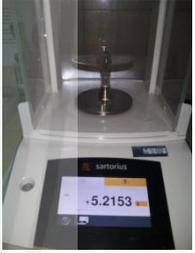


Lampiran 6. Hasil Perhitungan IC₅₀

Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu	Lama Fermentasi			
	M0	M1	M2	M3
S0	175,9418	23,00482	13,1697	10,0642
S1	53,37776	34,61692	15,5541	8,18677
S2	41,68799	31,20867	15,8129	6,605
S3	31,27217	26,14139	11,0011	5,4692
S4	20,58324	15,09714	7,63007	3,8913

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

 <p>Pohon Gaharu</p>	 <p>Menimbang Daun Gaharu</p>	 <p>Aquades</p>	 <p>Bibit Kefir Air</p>
 <p>Sukrosa</p>	 <p>Pemeliharaan bibit kefir</p>	 <p>Merebus Daun Gaharu</p>	 <p>Pembuatan stock sukrosa dan bibit kefir</p>
 <p>Stock sukrosa</p>	 <p>Penalaran 6%</p>	<p>Pengukuran Antioksidan</p> 	<p>Mikropipet</p> 
 <p>Hasil pengukuran pada display spektrofotometer</p>	 <p>Proses destilasi alkohol</p>	 <p>Pemberian Bibit kefir air 5%</p>	 <p>Kefir konsentrasi 0%</p>
 <p>Kefir Konsentrasi 5%</p>	 <p>Kefir konsentrasi 10%</p>	 <p>Kefir konsentrasi 15%</p>	 <p>Kefir Konsentrasi 20%</p>

 <p>DPPH 50 ppm</p>	 <p>Timbangan Analitik</p>	 <p>Alat gelas</p>	 <p>Plakon 5ppm – 9ppm</p>
 <p>Labu alas bulat</p>	 <p>Alat destilasi</p>	 <p>Cuvet</p>	 <p>pH meter</p>
 <p>Pembuatan MRSA</p>	 <p>MRSA pada Cawan</p>	 <p>Koloni Bakteri</p>	 <p>Menimbang Piknometer</p>

Lampiran 8. Perhitungan

1. Pembuatan MRS Agar

1 cawan petri = 10 ml agar MRS

1000 ml aquades = 62 gram bubuk MRS agar

60 cawan petri = 600 ml aquades dan 37,2 gram bubuk MRS agar

180 cawan petri = 1.800 ml aquades dan 111,6 gram bubuk MRS agar (3 kali ulangan)

2. Menghitung Total BAL (Bakteri Asam Laktat)

$$\text{Total BAL} = \text{jumlah koloni terhitung} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran}}$$

Contohnya diketahui jumlah koloni sebanyak 17 pada faktor pengenceran 10^{-6} sehingga dapat dihitung sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Total Bakteri Asam Laktat} &= 17 \times 1/10^{-6} \\ &= 17 \times 10^6 \\ &= 1,7 \times 10^7 \end{aligned}$$

3. 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

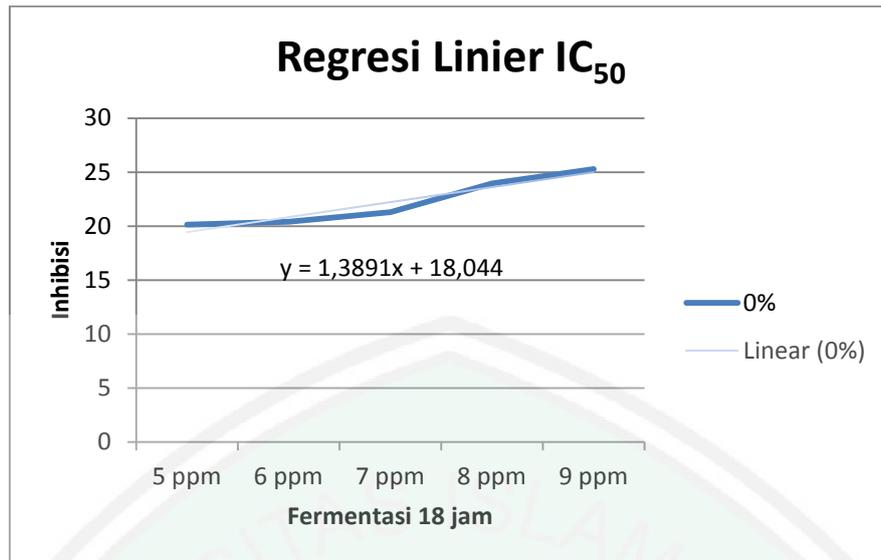
Diketahui A blanko = 2,117 dan A sampel = 1,137

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas antioksidan (\%)} &= \frac{2,117 - 1,137}{2,117} \times 100\% \\ &= 46,9\% \end{aligned}$$

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

4. Menghitung IC₅₀ sampel

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



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

$$Y = ax + b$$

$$50 = 1,3891x + 18,044$$

$$50 - 18,044 = 1,3891x$$

$$31,956 = 1,3891x$$

$$X = 23,0042$$

Jadi konsentrasi 0% pada fermentasi 18 jam memiliki aktivitas antioksidan sebesar 23,0042 ppm

5. Menghitung kadar alkohol

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

$(a+d)$ = berat piknometer berisi aquades.

$(a+b)$ = berat piknometer berisi distilat.

C = berat piknometer kosong.

Contohnya diketahui:

$$(a+d) = 18,0082$$

$$(a+b) = 18,0979$$

$$C = 12,7318$$

$$\begin{aligned} \text{SG Sampel} &= \frac{18,0979 - 12,7318}{18,0082 - 12,7318} \\ &= 1,017 \end{aligned}$$

Hasil perhitungan gravitasi sampel uji yaitu 1,017 dikonversikan dengan menggunakan tabel piknometer data dari *International Organization of Legal Metrology* (OIML) sehingga menunjukkan kadar alkohol yaitu 0 %.

Lampiran 9. Tabel Standar Internasional tahun 2003

Otles and Cagindi: Kefir: A Probiotic Dairy-Composition

Table 1: The chemical composition and nutritional values of kefir (Renner and Renz-Schaven, 1986; Hallé *et al.*, 1994)

Components	100 g	Components	100 g
Energy	65 kcal	Mineral content (g)	
Fat (%)	3.5	Calcium	0.12
Protein (%)	3.3	Phosphor	0.10
Lactose (%)	4.0	Magnesium	12
Water (%)	87.5	Potassium	0.15
		Sodium	0.05
Milk acid (g)	0.8	Chloride	0.10
Ethyl alcohol (g)	0.9		
Lactic acid (g)	1	Trace elements	
Cholesterol (mg)	13	Iron (mg)	0.05
Phosphatateds (mg)	40	Copper (µg)	12
		Molybdenum (µg)	5.5
Essential amino acids (g)		Manganese (µg)	5
Tryptophan	0.05	Zinc (mg)	0.36
Phenylalanin+tyrosine	0.35		
Leucine	0.34	Aromatic compounds	
Isoleucine	0.21	Acetaldehyde	
Threonine	0.17	Diacetyl	
Methionine+cystine	0.12	Acetoin	
Lysine	0.27		
Valine	0.22		
Vitamins (mg)			
A	0.08	B ₁₂	0.5
Carotene	0.02	Niacin	0.09
B ₁	0.04	C	1
B ₂	0.17	D	0.08
B ₆	0.05	E	0.11

Lampiran 10. SPSS two way ANOVA (Analysis Of Variance).

1. pH (Derajat Keasaman)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		pH Medium
N		60
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4,1313
	Std. Deviation	1,13328
	Absolute	,344
Most Extreme Differences	Positive	,344
	Negative	-,185
Kolmogorov-Smirnov Z		2.417
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000

a. Test distribution is Normal.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pH Medium

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	87.357 ^a	19	4.598	68.283	.000
Intercept	1108.540	1	1108.540	1.646E4	.000
fermentasi	2.122	4	.531	7.880	.000
konsentrasi	84.966	3	28.322	420.623	.000
fermentasi * konsentrasi	.268	12	.022	.332	.000
Error	2.693	40	.067		
Total	1198.590	60			
Corrected Total	90.050	59			

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

2. Antioksidan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Aktivitas Antioksidan
N		60
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	28,9869
	Std. Deviation	37,53645
	Absolute	,327
Most Extreme Differences	Positive	,327
	Negative	-,261
Kolmogorov-Smirnov Z		1.989
Asymp. Sig. (2-tailed)		.001

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Aktivitas Antioksidan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	79549.255a	19	4186.803	1.047E3	.000
Intercept	45427.014	1	45427.014	1.136E4	.000
fermentasi	13538.497	4	3384.624	846.155	.000
konsentrasi	30364.640	3	10121.547	25.3013	.000
fermentasi * konsentrasi	35646.118	12	2970.510	742.627	.000
Error	160.000	40	4.000		
Total	125136.269	60			
Corrected Total	79709.255	59			

a. R Squared = 1,000 (Adjusted R Squared = ,999)

3. Total Bakteri Asam Laktat

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Total BAL
N		60
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,7833
	Std. Deviation	,56506
	Absolute	,167
Most Extreme Differences	Positive	,167
	Negative	-,116
Kolmogorov-Smirnov Z		1.128
Asymp. Sig. (2-tailed)		.157

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Total BAL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	46.531a	19	2.449	26.523	.000
Intercept	80.736	1	80.736	874.397	.000
fermentasi	1.369	4	.114	7.466	.000
konsentrasi	42.404	3	14.135	153.083	.000
fermentasi * konsentrasi	2.757	12	.689	1.236	.000
Error	3.693	40	.092		
Total	130.960	60			
Corrected Total	50.224	59			

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

4. Kadar Alkohol

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		alkohol
N		60
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,3875
	Std. Deviation	,31327
	Absolute	,168
Most Extreme Differences	Positive	,142
	Negative	-,168
Kolmogorov-Smirnov Z		4.172
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000

a. Test distribution is Normal.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: alkohol

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.863E10 ^a	19	1.507E9	5.866E14	.000
Intercept	1.520E9	1	1.520E9	5.917E14	.000
Fermentasi	6.019E9	4	1.505E9	5.856E14	.000
Konsentrasi	4.559E9	3	1.520E9	5.915E14	.000
fermentasi * konsentrasi	1.806E10	12	1.505E9	5.856E14	.000
Error	.000	40	2.569E-6		
Total	3.015E10	60			
Corrected Total	2.863E10	59			

a. R Squared = ,974 (Adjusted R Squared = ,962)



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

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Achmad Munajib
NIM : 13620125
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil 2018/2019
Pembimbing : Ir. Liliek Harianie, AR, M.P
Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap Karakteristik Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	03 Februari 2018	Konsultasi Judul	
2	09 Februari 2018	Konsultasi Bab 1	
3	08 Maret 2018	Konsultasi Bab 1	
4	12 April 2018	Konsultasi Bab 1	
5	12 Oktober 2018	Konsultasi Bab II, III	
6	04 Desember 2018	Konsultasi Bab IV	
7	06 Desember 2018	Konsultasi Bab IV	
8	10 Desember 2018	Konsultasi Bab IV	
9	13 Desember 2018	Konsultasi Bab IV	
10	17 Desember 2018	Konsultasi Bab IV	
11	21 Desember 2018	Konsultasi Bab V, Abstrak	
12	27 Desember 2018	Konsultasi Abstrak	

Malang, 10 Januari 2018

Pembimbing Skripsi,

Ir. Liliek Harianie, AR, M.P
NIP. 19620901 199803 2 001

Ketua Jurusan,

Romadi, M.Si., D.Sc
NIP.19810201 200901 1 019



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

Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Achmad Munajib
NIM : 13620125
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Ganjil 2018/2019
Pembimbing : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi dan Variasi Konsentrasi Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*) Terhadap Karakteristik Kefir Air Rebusan Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	12 Oktober 2018	BAB I dan BAB II	
2	26 Desember 2018	BAB IV dan BAB V	
3	27 Desember 2018	Abstrak	

Malang, 10 Januari 2019

Pembimbing Skripsi,

Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 197312121998031008

Ketua Jurusan,

Romaidi, M.Si., D.Sc
NIP. 198102012009011019