p-ISSN: 1907-8056
e-ISSN: 2527-5410
AGROINTEK
Jurnal Teknologi Industri Pertanian
journal homepage: journal.trunojoyo.ac.id/agrointek

Pengaruh fermentasi kefir terhadap daya cerna pati dan karakteristik fisikokimia tepung labu parang

Ahmad Aji Laksono[1], Harsi Dewantari Kusumaningrum[1,2*], Endang Prangdimurti[1,2]

[1]*Program Studi Ilmu Pangan, IPB University, Bogor, Indonesia*
[2]*Divisi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknik dan Teknologi, IPB University, Bogor, Indonesia*

Article history
Diterima:
16 Juli 2025
Diperbaiki:
17 September 2025
Disetujui:
1 Oktober 2025

Keyword
Lactic acid bacteria;
Milk kKefir;
Pumpkin flour;
Starch Digestibility;
Water Kefir;

ABSTRACT

The utilization of pumpkin flour (Cucurbita moschata Duch) as kefir beverage by fermentation using milk and water kefir grains was investigated. This study aimed to evaluate the changes in starch digestibility, physicochemical properties, and microbiological characteristics of pumpkin flour kefir fermented with milk and water kefir grains. Fermentation was conducted at 25°C for 0, 8, 12, and 24 hours with the addition of 5% pumpkin flour and 10% kefir grains (v/v). The analysis included starch digestibility, total starch, total sugar, proximate composition, viscosity, pH, color, and microbiological analysis of lactic acid bacteria (LAB), including total aerobic LAB, anaerobic LAB, and total yeast. The results showed that fermentation significantly affected total starch, total sugar, proximate composition, viscosity, pH, color, and microbiological characteristics. After 24 hours of fermentation, starch digestibility in milk kefir slightly decreased from 10.42% to 7.47%, whereas in water kefir, it increased from 5.98% to 12.23%. Total sugar content decreased in both milk kefir (from 46.53% to 37.26%) and water kefir (from 38.39% to 16.68%). Additionally, antioxidant capacity and viscosity increased, while pH decreased during fermentation. The proximate composition generally increased, except for carbohydrate content, which decreased in milk kefir, and fat content, which diminished in water kefir. Fermentation also led to an increase in the microbiological loads in milk kefir and water kefir, including total aerobic and anaerobic LAB and total yeast. The pumpkin kefir products have the potential to be developed as functional probiotic beverages that are beneficial for digestive health and as an alternative source of probiotics.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

* Penulis korespondensi
Email : h_kusumaningrum@apps.ipb.ac.id
DOI 10.21107/agrointek.v20i3.31127

PENDAHULUAN

Labu parang (*Cucurbita moschata* Duch) merupakan salah satu komoditas hasil pertanian dengan rata-rata tingkat konsumsi labu parang pada tahun 2018-2022 mencapai 2,21-2,26 kg/kapita/tahun (BPS 2022). Labu parang berwarna kuning maupun oranye ketika matang dan dapat diolah menjadi pangan fungsional yang kaya nilai gizi. Di kalangan masyarakat lokal, buah ini dimanfaatkan untuk membuat berbagai olahan pangan, seperti dodol, keripik, kolak, dan manisan. Oleh karena itu, pengolahan labu parang dalam bentuk tepung dapat diaplikasikan sebagai substitusi dalam berbagai olahan produk pangan.

Tepung labu parang mengandung pati yang terdiri dari dua jenis pati, yaitu amilosa (polimer linier unit α-D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α-1,4 glikosidik) dan amilopektin (polimer bercabang dari α-D-unit glukosa yang dihubungkan oleh ikatan α-1,4 dan α-1,6 glikosidik). Tepung labu parang mengandung pati sebanyak 92,73 % berat basah dan amilosa sebanyak 21,35 % berat kering (Yuan et al. 2022). Labu parang memiliki kandungan *raffinose family oligosaccharides* (RFO) yang tersusun dari tiga monosakarida, yaitu galaktosa, fruktosa, dan glukosa. RFO termasuk dalam kelompok karbohidrat kompleks yang resisten terhadap enzim pencernaan manusia, namun dapat difermentasi oleh mikroorganisme yang berada di kolon. (Pessarakli 2016).

Salah satu produk fermentasi tepung labu parang yang potensial dikembangkan adalah produk kefir yang mirip dengan yogurt. Proses pembuatan produk kefir umumnya dilakukan menggunakan biji kefir. Berdasarkan jenis bijinya, kefir terbagi menjadi dua jenis, yaitu kefir susu dan kefir air. Kefir susu difermentasi dalam media susu yang bermanfaat untuk menjaga saluran pencernaan dan meningkatkan penyerapan nutrisi, sedangkan kefir air difermentasi dalam media non-susu yang memberikan manfaat fungsional terutama melalui produksi asam organik serta metabolit ragi (Guzel-Seydim et al. 2021).

Biji kefir memiliki dua jenis, yaitu biji kefir susu dan biji kefir air, yang dapat dilihat pada Gambar 1. Biji kefir susu berbentuk butiran granula yang diperoleh dari fermentasi susu. Butiran kefir memiliki ukuran 0,1 hingga 2,0 cm dengan kandungan yang terdiri dari 58% polisakarida, 30% protein, 7% lemak dan 5% abu (Gökırmaklı and Güzel-Seydim 2022). Kefir memiliki spesies bakteri yang bertanggung jawab untuk memproduksi eksopolisakarida yaitu *Lactobacillus kefiranofaciens, L. kefir, L. Kefirgranumkefirgranum, L. pParakefir,* dan *L. paracasei* (Lynch et al. 2021, Gökırmaklı and Güzel-Seydim 2022, Wang et al. 2022). Biji kefir susu mengandung berbagai mikroorganisme dengan proporsi sekitar 50 persen *Lactobacillus* sp., 20 persen *Leuconostoc* sp., 10 persen *Streptococcus* sp., 8 persen *Pediococcus* sp., 7 persen *Lactococcus* sp., dan 5 persen bakteri lainnya. Sementara itu, biji kefir air terdiri atas kurang lebih 70 persen *Lactobacillus* sp., 10 persen *Leuconostoc* sp., 10 persen *Acetobacter* sp., 5 persen *Bifidobacterium* sp., serta 5 persen mikroorganisme bakteri lainnya (Fiorda et al. 2017).



Gambar 1 Biji kefir susu (A) dan biji kefir air (B)

Proses fermentasi menggunakan biji kefir dapat memodifikasi struktur pati dan serat dalam tepung labu parang melalui hidrolisis oleh enzim amilase dan enzim laktase. Pati memiliki beberapa jenis, di antaranya pati yang cepat dicerna (*rapidly digestible starch*), pati yang lambat dicerna (*slowly digestible starch*), dan pati resisten (*resistant starch*). Serat pangan dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis, yaitu serat pangan larut (*soluble dietary fiber*) dan serat pangan tidak larut (*insoluble dietary fiber*), yang secara kolektif menghasilkan total *dietary fiber* (TDF). *Soluble dietary fiber* (SDF) merupakan serat yang dapat larut dalam air, seperti gum, pektin, β-glukan, dan selulosa termodifikasi. *Insoluble dietary fiber* (IDF) merupakan serat pangan yang tidak larut dalam air, seperti selulosa, lignin, dan RS. Pada tepung labu parang, IDF terdiri dari selulosa, hemiselulosa, dan lignin, sedangkan SDF terdiri dari pektin (Williams et al. 2019, Yuan et al. 2022).

Pada penelitian ini, pengembangan produk fermentasi berupa minuman fungsional probiotik berbasis tepung labu parang dilakukan

menggunakan biji kefir susu dan kefir air. Fermentasi dilakukan pada suhu 25 ℃ selama 0, 8, 12, dan 24 jam. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh fermentasi terhadap daya cerna pati, total pati, total gula, karakteristik fisikokimia (proksimat, viskositas, warna, pH, dan aktivitas antioksidan), serta karakteristik mikrobiologis (jumlah BAL aerob, anaerob, dan khamir).

METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan yaitu labu parang (yang diperoleh dari pasar tradisional di Kota Bogor, Jawa Barat), akuades, biji kefir susu, biji kefir air, susu UHT, air minum dalam kemasan, gula pasir, natrium metabisulfit (Merck KGaa), buffer fosfat, enzim α-amilase (Hunan Insen Biotech co., LTD), Glucoamylase/amiloglukosidase (Hunan Insen Biotech co., LTD), asam dinitrosalisilat, asam askorbat (Merck KGaa), etanol (Merck KGaa), kalium hidroksida (Merck KGaa), DPPH (Sigma), metanol (Merck KGaa), kertas saring (Whatman), heksana (Merck KGaa), HCL (Merck KGaa). Maleic acid (Merck KGaa), TPTZ (Sigma), DG 18 (Merck KGaA), MRSA (Merck KGaA).

Alat-alat yang digunakan *tray drayer*, ayakan 60 mesh, vortex, spektrofotometer UV-VIS (UV mini-1240, Shimadzu, Japan), alat gelas, *waterbath* (Daihan Labtech Co., Ltd., Korea Selatan), *hotplate*, *miller machine*, timbangan, pH meter (Horiba LAQUA PH-1200-S), aw meter Aqualab 4TE (METER Group Inc., Amerika Serikat), *chromameter* CR-400 (minolta Co.,Ltd., Jepang), viskometer, oven, tanur, sentrifus (Centrifuge 5810 R, Eppendrof), neraca analitik digital (KERN-jerman), brookfield (Model LVT USA, Serial No. 8545050, Amerika Serikat), autoklaf, dan laminar.

Pembuatan Tepung Labu Parang (Purwanto et al. 2013)

Labu parang (*Cucurbita moschata* Duch) yang digunakan dalam penelitian merupakan buah yang sudah matang dan berwarna oranye dengan bobot berkisar antara 3 – 5 kg dan usia panen 3 – 4 bulan. Labu parang diperoleh dari pasar tradisional di Kota Bogor, Jawa Barat dengan bagian yang digunakan yaitu daging buah. Bagian daging buah dilakukan pengecilan ukuran sekitar 2-3 mm, dilanjutkan dengan proses perendaman dalam natrium metabisulfit (Na2S2O5) 0,3% selama 15 menit. Proses perendaman bertujuan untuk menghambat perubahan warna dan tekstur pada labu parang. Proses pencucian bertujuan untuk menghilangkan residu yang menempel pada daging buah. Proses pembuatan tepung dilakukan dengan pengeringan menggunakan *Tray tray dryer* dengan suhu 60°C selama 8 jam. Proses penepungan dilakukan menggunakan alat *miller machine* dan dilakukan pengayakan dengan ukuran 60 mesh hingga menjadi tepung,

Fermentasi Kefir (Yilmaz et al. 2022, Spizzirri et al. 2023).

Proses fermentasi dilakukan menggunakan tepung labu parang, bersama dengan biji kefir susu atau biji kefir air, yang dilakukan dalam wadah toples plastik. Untuk fermentasi dengan biji kefir susu, tepung labu parang dicampurkan ke dalam susu dengan konsentrasi 5% (b/v). Sementara itu, untuk fermentasi dengan biji kefir air, tepung labu parang dicampurkan ke dalam air dengan konsentrasi yang sama, yaitu 5% (b/v). Setelah dihomogenkan dan dipanaskan pada suhu 95°C selama 15 menit. Selanjutnya, didinginkan hingga mencapai suhu 20–25°C sebelum biji kefir ditambahkan dengan konsentrasi 10% (b/v). Proses fermentasi kemudian dilanjutkan selama 0, 8, 12, dan 24 jam di dalam inkubator bersuhu 25°C. Setelah fermentasi selesai, biji kefir dipisahkan untuk mendapatkan hasil fermentasi.

Analisis Total Pati (Liu and Liu 2020)

Pembuatan larutan standar dilakukan menggunakan maltosa dari larutan stok 0,5 mg/10 mLL akuades. Larutan standar disiapkan dengan volume 0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0 mLL, masing-masing diencerkan hingga volume akhir 1 mLL. Sebanyak 0,3 mLL dari tiap larutan ditambahkan reagen 2 mLL DNS, lalu dipanaskan selama 10 menit pada suhu 90–100°C. Setelah didinginkan, larutan ditambah 10 mLL akuades dan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Untuk analisis sampel, sebanyak 0,5 gram sampel ditimbang dan ditambah 10 mLL larutan KOH 4 N, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Sebanyak 2 mLL hasil inkubasi dicampur dengan 5 mLL enzim amyloglucosidase (AMG) berkonsentrasi 300 μ/mL, dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 45 menit. Setelah itu, 0,3 mLL larutan diambil, diberi reagen DNS, dipanaskan selama 10 menit pada suhu 90–100°C, didinginkan pada suhu ruang, ditambah 10 mLL akuades, dan dianalisis menggunakan

spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Perhitungan total pati dilakukan berdasarkan kurva standar.

Analisis Total Gula (Zhang et al. 2020)

Pembuatan larutan standar dilakukan menggunakan glukosa dengan konsentrasi 0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0 mg. Masing-masing larutan ditambahkan hingga mencapai volume 1 mLL dengan akuades, lalu dicampurkan dengan larutan fenol 5%. Selanjutnya, 5 mLL larutan asam sulfat pekat (95%) ditambahkan ke dalam campuran tersebut, dan larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Inkubasi dilakukan dalam penangas air bersuhu 30°C selama 10 menit. Setelah proses inkubasi, larutan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm. Data yang diperoleh digunakan untuk menyusun kurva standar absorbansi. Analisis sampel dimulai dengan mencampurkan 1 gram sampel dengan 5 mLL akuades, lalu dihomogenkan. Campuran disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan sebanyak 1 mLL diambil, dicampurkan dengan 1 mLL larutan fenol 5%, dan dihomogenkan. Setelah itu, ditambahkan 5 mLL larutan asam sulfat pekat (95%), lalu diinkubasi selama 10 menit dalam penangas air bersuhu 30°C. Sampel hasil inkubasi dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 490 nm. Kadar karbohidrat dinyatakan dalam persen glukosa (%) menggunakan persamaan (1).:

$$\%Glukosa = (\frac{G}{W} \times F) \times 100 \quad (1)$$

% glukosa = (G / W × F) × 100. dengan G = konsentrasi glukosa (g), diperoleh dari absorbansi sampel berdasarkan kurva standar; W = berat sampel (g); dan F = faktor pengenceran.

Analisis Daya Cerna Pati (Lin et al. 2023)

Sebanyak 1 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mLL akuades, dipanaskan dalam penangas air suhu bersuhu 90°C sampai tergelatinisasi, kemudian didinginkan. Setelah dingin, diambil sebanyak masing-masing 2 mLL larutan sampel untuk sampel dan untuk blanko. Pada sampel ditambahkan 8 mLL larutan buffer fosfat pH 7,0 yang telah dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 37°C. Selanjutnya, ditambahkan 5 mLL larutan enzim α-amilase (suhu 37°C) ke dalam campuran, kemudian divortexdivorteks. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Untuk blanko, hanya menggunakan sampel dan buffer fosfat. Setelah inkubasi, sebanyak 0,3 mLL larutan diambil dan ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 2 mLL larutan DNS. Tabung ditutup rapat lalu dipanaskan dalam penangas air mendidih selama 10 menit. Setelah dipanaskan, larutan didinginkan, kemudian ditambahkan 10 mLL akuades dan dihomogenkan. Absorbansi larutan sampel dan blanko diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Nilai daya cerna pati *in vitro* dihitung dengan membandingkan kadar maltosa yang dihasilkan dari sampel terhadap dengan kadar maltosa dari pati murni. Kurva standar diperoleh dari reaksi DNS terhadap larutan maltosa murni 0,5 mg/mLL dengan volume 0,0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1,0 mLL, yang kemudian ditepatkan menjadi 1 mLL menggunakan air akuades. Rumus Perhitungan %daya cerna pati terdapat pada persamaan (2) dan untuk %total daya cerna pati terdapat pada persamaan (3).

$$\%Daya\ cerna\ pati = \frac{A - B}{C - D} \times 100 \quad (2)$$

Keterangan:
A : Kadar maltosa sampel
B : Kadar maltosa blanko sampel
C : Kadar maltosa pati murni
D : Kadar maltosa blanko pati murnisebagai berikut : % Daya cerna pati = (Kadar maltosa sampel - Kadar maltosa blanko sampel) / (Kadar maltosa pati murni - Kadar maltosa blanko pati murni) × 100.

$$\%Total\ daya\ cerna\ pati = \frac{\%Daya\ cerna\ pati}{\%Total\ pati} \times 0{,}9 \times 100 \quad (3)$$

Untuk % Total daya cerna pati = (% Daya cerna pati / % Total pati) × 0,9 × 100. Catatan: Konversi glukosa menjadi pati dilakukan dengan mengalikan nilai glukosa yang dilepaskan (dari total kandungan gula pereduksi) dengan faktor 0,9.

Analisis Kapasitas Antioksidan DPPH (Yilmaz-Ersan et al. 2018)

Pembuatan larutan DPPH. Larutan DPPH 100 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 1 mg dilarutkan dengan 100 mLL metanol absolut dalam labu ukur. Pembuatan larutan sampel standar dibuat dari asam askorbat 5

mg dilarutkan dengan 50 mL metanol dengandilakukan dengan melarutkan 5 mg asam askorbat dalam 50 mL metanol menggunakan labu ukur. Dibuat variasi konsentrasi 0,0; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 mg/mLL. 0,1 mLL sampel diambil dan ditambahkan 2,9 mLL DPPH. Sampel tersebut divorteks dan diinkubasi selama 30 menit di ruangan gelap. Analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Pengukuran daya antioksidan blanko, pengujian dilakukan dengan memipet 4 mL DPPH. Lalu divortex divorteks dan diinkubasi pada ruangan gelap dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Analisis pada sampel, 1 gram sampel kemudian ditambahkan 10 mLL metanol dan dilakukan homogenisasi. Setelah homogen, sampel disentrifugasi pada 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan Supernatant diambil 0,1 mLL dan ditambahkan 2,9 mLL DPPH. Sampel tersebut divorteks dan diinkubasi selama 30 menit di ruangan gelap. Analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm (Rumpf *et al*. 2023). Kapasitas antioksidan dapat dihitung sebagai berikutdengan persamaan (4).

$$\%Kapasitas\ antioksidan = \frac{A\ blanko - A\ larutan\ sampel}{A\ blanko} \times 100\% \quad (4)$$

: (% kapasitas antioksidan) = ([A blanko-A larutan sampel])/(A blanko) x100 %.

Analisis Kapasitas Antioksidan FRAP (Koh et al. 2024).

Metode FRAP digunakan untuk mengukur kemampuan antioksidan dalam mereduksi ion ferri (Fe^{3+}) menjadi ion ferro (Fe^{2+}). Prinsip kerja metode ini didasarkan pada reaksi reduksi kompleks antara ion ferri dan senyawa 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) menjadi kompleks ion ferro berwarna biru pada pH rendah. Perubahan tersebut dimonitor dengan mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 593 nm. Larutan FRAP (20 mLL, disiapkan dengan mencampurkan buffer natrium asetat (300 mM, pH 3,6), larutan TPTZ (10 mM) dalam asam klorida 40 mM, dan ferri klorida heksahidrat (20 mM,) pada proporsi rasio 10:1:1 (v/v)). Pembuatan larutan standar sebanyak 300 mg $FeSO_4.7H_2O$Larutan standar sebanyak 300 mg $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ dilarutkan dalam 100 mLL akuades untuk menghasilkan larutan stok. Sebanyak 10 mLL dari larutan stok diambil dan diencerkan hingga 100 mLL untuk memperoleh larutan standar kerja. Dibuat variasi konsentrasi larutan standar sebesar 0,00; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 mg/mL. Analisis sampel sebanyak 1 gram sampel diekstraksi dengan 10 mLL metanol, dihomogenisasi dan disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Sebanyak 0,1 mLL supernatan diambil, dicampurkan dengan 3 mLL larutan FRAP, divorteks dan diinkubasi dalam *waterbath* pada suhu 30°C selama 5 menit. Setelah inkubasi, absorbansi diukur pada panjang gelombang 593 nm. Perhitungan dapat dilihat pada persamaan (5).

$$\%Kapasitas\ antioksidan = \frac{A\ sampel - A\ blanko}{A\ sampel} \times 100\% \quad (5)$$

Kapasitas antioksidan (%)=([A sampel – A blanko])/(A sampel) x 100 %.

Analisis pH

Analisis pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang sebelumnya telah dikalibrasi menggunakan larutan buffer fosfat pH 4,0 dan pH 7,0. Setelah proses kalibrasi, sampel diukur untuk menentukan nilai pH-nya.

Analisis Proksimat

Analisis proksimat meliputi analisis kadar air, analisis kadar abu, analisis kadar lemak, dan analisis kadar protein mengacu pada metode analsis analisis (AOAC 2012) 925.10. dan Dan untuk kadar karbohidrat menggunakan *by difference*. Perhitungan menggunakan basis basah (bb) dan basis kering (bk).

Analisis Warna

Analisis warna dilakukan menggunakan alat *Chromameter*. Sebelum pengukuran, alat dikalibrasi terlebih dahulu dengan menekan tombol *calibrate* sesuai panduan, menggunakan pelat kalibrasi sebagai acuan pada sumbu X dan Y. Setelah kalibrasi, kepala pengukur (*measuring head*) diletakkan di atas permukaan sampel, lalu tombol *measure* ditekan untuk melakukan pengukuran. Pengukuran dilakukan pada tiga titik berbeda pada permukaan sampel, dan hasilnya dinyatakan dalam parameter warna L*, a*, dan b*. Nilai L* merepresentasikan tingkat kecerahan (dari 0 = hitam hingga 100 = putih). Nilai a* menunjukkan kecenderungan warna ke arah hijau (negatif) atau merah (positif), sedangkan nilai b* menunjukkan kecenderungan warna ke arah biru

(negatif) atau kuning (positif). Rentang nilai a* dan b* berkisar antara -60 hingga +60.

Analisis Viskositas

Analisis viskositas dilakukan menggunakan viskometer. Sampel dimasukkan ke dalam gelas ukur 100 mLL hingga penuh. Pengukuran dilakukan menggunakan *spindle* yang sesuai dengan jenis sampel, *spindle* nomor 2 untuk kefir susu dan *spindle* nomor 1 untuk kefir air, dengan kecepatan putar 30 rpm. *Spindle* diturunkan menggunakan tuas (revolver) hingga seluruh bagian *spindle* terendam dalam sampel. Selanjutnya, pilih kecepatan putar (RPM) dan amati skala pembacaan pada indikator viskometer (dalam persen). Nilai yang ditunjukkan dikalikan dengan faktor koreksi yang sesuai, sehingga diperoleh nilai viskositas akhir dalam satuan centipoise (cP).

Analisis Mikrobiologi

Penentuan jumlah total koloni bakteri asam laktat (BAL) dan khamir dilakukan menggunakan metode tuang. Sebanyak 1 mLL suspensi sampel dicampurkan dengan 9 mLL akuades steril, dilakukan pengenceran berseri dari 10^{-4} hingga 10^{-7}. Sebanyak 1 mLL dari masing-masing hasil pengenceran diinokulasikan ke dalam media selektif. Media MRS agar (*Man Rhogose Shape Agar*) digunakan untuk menghitung jumlah BAL, dengan inkubasi pada suhu 30 °C selama 3 hari dalam kondisi anaerob menggunakan sistem Anoxomat. Sementara itu, media DG18 (*Dichloran Glycerol*) agar digunakan untuk enumerasi khamir, dengan inkubasi pada suhu 25°C selama 3 hari. Hasil perhitungan koloni dinyatakan dalam satuan cfu/mLL.

Analisis Statistika

Analisis dilakukan dalam tiga kali ulangan, dan hasilnya disajikan dalam bentuk rerata ± standar deviasi (SD). Data dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA), dan apabila terdapat perbedaan yang signifikan, dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey pada tingkat kepercayaan 95% (α = 0,05). Seluruh proses pengolahan data menggunakan perangkat lunak Minitab.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Tepung Labu Parang

Profil karakteristik tepung labu parang (*Cucurbita moschata* Duch) disajikan pada Tabel 1. Hasil analisis menunjukkan perbedaan karakteristik dibandingkan dengan hasil penelitian (Yuan et al. 2022) yaitu pada kadar air sampel dianalisis lebih rendah dari 31,36 %bb, kadar abu memiliki nilai yang lebih rendah dari 0,25 %bk, kadar protein lebih tinggi dari protein 0,89 %bk, dankadar0,89 %bk, dan kadar lemak lebih tinggi dari 1,21 %bk. Selain itu, pada warna L* ditemukan lebih rendah dari pada 97,58, pada warna a* lebih tinggi dari 1,61, dan pada warna b* lebih tinggi dari 2,32. Tepung ini juga mengandung serat pangan, dengan total serat pangan sebesar 19,88% yang terdiri dari serat pangan larut (SDF) yaitu 4,77% dan serat pangan tidak larut (IDF) yaitu 15,11%. Perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh nutrisi pada tanah, tingkat kematangan buah serta metode yang digunakan (Purwanto et al. 2013). Serat pangan tidak larut (*insoluble dietary fiber)* dapat terdiri dari hemiselulosa, dan lignin, sedangkan serat pangan larut (s*oluble dietary fiber)* terdiri dari pektin dan polisakarida non-pektin (Yuan et al. 2022).

Tabel 1 Karakteristik tepung labu parang

Parameter	Jumlah
Air (%bb)	10,42±0,45
Abu (%bk)	6,52±0,01
Lemak (%bk)	1,85±0,00
Protein (%bk)	15,25±0,12
Karbohidrat (%bk)	76,38±0,13
Daya cerna pati (% bb)	5,81±0,14
Total pati (%bb)	20,20±0,43
Total gula (%bb)	42,89±0,43
Serat pangan larut (%)	4,77±0,02
Serat pangan tidak larut (%)	15,11±0,06
Total serat pangan (%)	19,88±0,09
DPPH (mg AEAC/g)	0,61±0,33
FRAP (µmol $FeSO_4$/g)	2,04±0,10
L^*	73,19±0,92
a^*	5,03±0,57
b^*	39,53±0,72
a_w	0,23±0,00

Keterangan: (%bb) merupakan basis basah, (%bk) merupakan basis kering, hasil analisis dinyatakan dalam bentuk rata-rata±standar deviasi.

Secara fungsional, kapasitas antioksidan tepung labu parang yaitu 0,61 mg AEAC/g (DPPH) dan 2,04 µmol $FeSO_4$/g (FRAP). Kadar pati tepung labu parang yaitu 20,20 %bb, daya cerna pati yaitu 5,81% (bb). Adapun kadar total gula sebesar 42,89% (bb) dan aktivitas air yaitu 0,23. Kapasitas antioksidan pada bahan ini

berkaitan dengan kandungan β-karoten (Stryjecka et al. 2023).

Pati yang terkandung pada tepung labu parang terdiri dari amilosa dan amilopektin, sedangkan gula yang ditemukan meliputi glukosa. Selain itu pada labu parang juga ditemukan selulosa dan hemiselulosa (Bai et al. 2020). Sementara itu, hasil analisis warna dipengaruhi oleh tingkat kematangan buah, yang menyebabkan variasi dalam hasil analisis (Pereira et al. 2020).

Perubahan Daya Cerna Pati Selama Fermentasi Kefir Labu Parang

Perubahan daya cerna pati tepung labu parang disajikan pada Tabel 2. Total pati pada kefir susu berkisar antara 4,90-5,21%, total gula berkisar antara 36,91-46,53%, daya cerna pati berkisar antara 7,45-10,42%, Pada kefir air analisis total pati berkisar antara 3,94-4,78%, total gula berkisar antara 16,68-38,39%, daya cerna pati berkisar antara 5,98-12,23%.

Pada fermentasi dengan biji kefir susu, daya cerna pati cenderung menurun seiring dengan lamanya waktu fermentasi meskipun tidak secara signifikan, dari 10,42% pada awal fermentasi menjadi 7,47% pada jam ke-24. Terjadinya pembentukan eksopolisakarida oleh mikroorganisme dalam kefir diduga dapat menghambat daya cerna pati (Hidayat et al. 2015; Schwan et al. 2022). Fermentasi menunjukkan pengaruh yang signifikan pada total pati jam ke-8, yaitu mengalami peningkatan, kemudian diikuti oleh penurunan. Fermentasi juga menunjukkan pengaruh signifikan terhadap total gula, dengan kecenderungan menurun dari 46,53% menjadi 37,26%. Penurunan kadar gula ini mengindikasikan bahwa mikroorganisme secara aktif mengonsumsi gula sederhana untuk pertumbuhannya.

Pada fermentasi dengan biji kefir air, daya cerna pati menunjukkan tren peningkatan yang signifikan seiring dengan lamanya waktu fermentasi, dari 5,98% menjadi 12,23% pada jam ke-24. Selain itu fermentasi dengan biji kefir air memberikan pengaruh signifikan terhadap total pati yang mengalami pemenurun seiring lamanya fermentasi. Peningkatan daya cerna menandakan bahwa mikroorganisme dalam kefir air efektif dalam menghidrolisis pati. Hal ini disebabkan oleh perbedaan komposisi mikrobiota atau aktivitas enzimatis yang berbeda serta media fermentasi yang berbeda antara kedua jenis kefir. Total gula pada kefir air mengalami penurunan yang signifikan selama proses fermentasi dari 38,39% menjadi 16,68% pada jam ke-24.

Analisis daya cerna pati menandakan sejauh mana pati dapat diurai oleh enzim pencernaan menjadi gula sederhana yang mudah diserap tubuh. Namun, proses ini dapat mengalami hambatan tergantung pada struktur dan komposisi pati, misalnya oleh eksopolisakarida. Hal ini terjadi selama proses fermentasi karena adanya perubahan struktur (Zajšek et al. 2013). Selama proses fermentasi, mikroorganisme menghasilkan enzim seperti amilase, yang dapat menguraikan molekul pati menjadi gula yang lebih sederhana, seperti maltosa dan glukosa (Jenie et al. 2012). Senyawa-senyawa ini diduga kemudian dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme pada kefir. Laktosa juga dihidrolisis oleh enzim laktase menjadi glukosa dan galaktosa, yang kemudian dapat dimetabolisme lebih lanjut oleh mikroorganisme menjadi asam laktat (Setiarto et al. 2021, Pertiwi et al. 2023).

Tabel 2 Total pati, total gula dan daya cerna pati kefir susu dan kefir air

Waktu fermentasi (jam)	Kefir susu			Kefir air		
	Total pati (%)	Total gula (%)	Daya cerna pati (%)	Total pati (%)	Total gula (%)	Daya cerna pati (%)
0	4,90±0,83^{b}	46,53±3,71^{a}	10,42±3,47^{a}	4,78±0,14^{a}	38,39±0,52^{a}	5,98±2,36^{b}
8	6,36±0,07^{a}	36,91±3,78^{b}	10,17±5,33^{a}	3,91±0,12^{b,c}	21,19±5,22^{b}	10,28±3,25^{a,b}
12	5,10±0,19^{b}	41,18±3,11^{a,b}	8,66±7,83^{a}	3,43±0,61^{c}	19,24±1,29^{b,c}	11,68±4,80^{a}
24	5,21±0,12^{b}	37,26±3,73^{b}	7,47±0,73^{a}	4,14±0,34^{b}	16,68±0,47^{c}	12,23±1,21^{a}

Perbedaan jenis huruf yang ditampilkan dalam kolom yang sama mengindikasikan adanya signifikansi statistik berdasarkan uji lanjut Tukey pada α = 0,05. hasil analisis dinyatakan dalam bentuk rata-rata±standar deviasi.

Tabel 3 Kapasitas antioksidan dan pH kefir labu parang

Waktu fermentasi (jam)	Kefir susu			Kefir air		
	DPPH (mg AEAC/g)	FRAP (µmol $FeSO_4$/g)	pH	DPPH (mg AEAC/g)	FRAP (µmol $FeSO_4$/g)	pH
0	0,144±0,01[c]	0,698±0,10[b]	6,19±0,02[a]	0,098±0,01[c]	0,624±0,03[b,c]	5,56±0,00[a]
8	0,147±0,05[c]	0,821±0,13[b]	4,42±0,04[b]	0,096±0,02[c]	0,649±0,07[b]	5,04±0,01[b]
12	0,376±0,01[b]	0,523±0,07[c]	3,93±0,01[c]	0,389±0,00[b]	0,530±0,05[c]	4,54±0,01[c]
24	0,502±0,02[a]	1,048±0,04[a]	3,73±0,08[d]	0,480±0,03[a]	1,071±0,07[a]	4,03±0,04[d]

Perbedaan jenis huruf yang ditampilkan dalam kolom yang sama mengindikasikan adanya signifikansi statistik berdasarkan uji lanjut Tukey α = 0,05. hasil Hasil analisis dinyatakan dalam bentuk rata-rata±standar deviasi.

Perubahan Kapasitas Antioksidan dan pH Selama Fermentasi Kefir Labu Parang

Kapasitas antioksidan dan pH kefir tepung labu parang dapat dilihat pada Tabel 3. Untuk kefir susu, kapasitas antioksidan dengan metode DPPH berkisar antara 0,144–0,502 mg AEAC/g, dan metode FRAP berkisar antara 0,698–1,04 µmol $FeSO_4$/g, pada analisis pH berkisar antara 3,73-6,13. Pada kefir air, metode DPPH menunjukkan kisaran 0,098–0,480 mg AEAC/g, sedangkan metode FRAP berkisar antara 0,624–1,071µmol $FeSO_4$/g, pada analisis pH berkisar antara 4,03-5,56.

Berdasarkan hasil analisis, fermentasi menggunakan biji kefir susu menyebabkan peningkatan kapasitas antioksidan (metode DPPH dan FRAP) secara signifikan seiring waktu fermentasi, dari 0,144 mg AEAC/g pada 0 jam menjadi 0,502 mg AEAC/g pada 24 jam. Kapasitas antioksidan FRAP meningkat secara signifikan dari 0,698 µmol $FeSO_4$/g pada 0 jam menjadi 1,048 µmol $FeSO_4$/g pada 24 jam. Hal ini mengindikasikan bahwa mikroorganisme dalam kefir mampu menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti asam fenolik dan peptida bioaktif. Nilai pH kefir susu juga menurun secara signifikan seiring waktu fermentasi, dari 6,19 menjadi 3,73. Penurunan pH ini menciptakan kondisi asam yang mendukung kestabilan senyawa antioksidan dan memfasilitasi pelepasan senyawa fenolik dari matriks pangan.

Tren serupa juga diamati pada fermentasi dengan biji kefir air, dimana kapasitas antioksidan DPPH meningkat secara signifikan seiring waktu fermentasi, dari 0,098 mg AEAC/g menjadi 0,480 mg AEAC/g pada 24 jam. Kapasitas antioksidan FRAP meningkat secara signifikan dari 0,624 µmol $FeSO_4$/g pada 0 jam meningkat pada 1,071 µmol $FeSO_4$/g pada 24 jam. Nilai pH kefir air juga menurun secara signifikan seiring waktu fermentasi, dari 5,56 menjadi 4,03. Penurunan pH ini menciptakan kondisi asam yang mendukung kestabilan senyawa antioksidan dan memfasilitasi pelepasan senyawa fenolik dari matriks pangan. Beberapa jenis mikroorganisme, seperti *lactobacillus acidophilus* dan *bifidobacterium longum*, dikenal mampu mengikat senyawa intraseluler dan berkontribusi pada penurunan pH (Yilmaz-Ersan et al. 2018).

Proses fermentasi menggunakan biji kefir melibatkan mikroorganisme seperti bakteri asam laktat dan khamir yang berperan dalam pembentukan senyawa-senyawa bioaktif, termasuk peptida, asam organik yang memiliki aktivitas antioksidan (Jenie et al. 2012). Proses fermentasi memecah protein dan lemak yang terkandung dalam susu menjadi komponen yang lebih sederhana dan juga berkontribusi pada peningkatan aktivitas antioksidan. Jenis mikroorganisme probiotik yang dapat meningkatkan sifat antioksidan yaitu *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, dan *Streptococcus spp*. (Fiorda et al. 2017).

Kapasitas antioksidan pada kefir susu bersumber dari susu dan tepung labu parang. Protein dalam susu, seperti kasein, β-laktoglobulin, α-laktalbumin, laktoferin, serum albumin, dan imunoglobulin, dapat memberikan aktivitas antioksidan secara langsung atau melalui proses hidrolisis menjadi berbagai peptida oleh enzim proteolitik (Yilmaz-Ersan *et al.* 2018). Sementara itu, antioksidan pada kefir air berasal dari tepung labu parang, seperti polifenol, karotenoid, dan flavonoid (Enneb et al. 2020, Koh et al. 2024).

Bakteri asam laktat mampu mengikat Fe^{2+}. Beberapa jenis mikroorganisme, seperti *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum*, dan *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, bahkan

dapat mengikat senyawa intraseluler seperti penisilamin (Yilmaz-Ersan et al. 2018). Hasil analisis pH pada Tabel 3 menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, pH akan semakin menurun. Hal ini disebabkan karna karena kefir mengandung bakteri asam laktat yang dapat menurunkan pH seiring dengan pertumbuhan mikroorganisme di dalamnya (Pertiwi et al. 2023).

Selama fermentasi dengan biji kefir susu dan biji kefir air, produk kefir mengalami penurunan pH yang dipengaruhi oleh mikroorganisme bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat yang dapat menghasilkan asam organik (Rubak et al. 2020, Yusuf et al. 2020) Asam yang dihasilkan seperti asam laktat, asam asetat, dan asam amino .(Alrosan et al. 2023a)

Perubahan Proksimat, Viskositas dan Warna Selama Fermentasi Kefir Labu Parang

Berdasarkan hasil analisis proksimat kefir tepung labu parang (Tabel 4), kefir susu menunjukkan kadar air berat basah berkisar antara 85,47-87,71% (bb), kadar abu berat kering 5,74-6,28% (bk), kadar lemak 321,66-30,77% (bk), kadar protein 12,84-27,73% (bk), dan kadar karbohidrat 35,19-59,75% (bk). Sementara itu, hasil analisis kefir air menunjukkan kadar air di kisaran 95,44-96,82% (bb), kadar abu 4,60-9,58% (bk), kadar lemak 6,14-53,35% (bk), kadar protein 10,86-41,26% (bk), dan kadar karbohidrat 31,17-60,78% (bk).

Berdasarkan hasil analisis, pada fermentasi kefir labu parang dengan biji kefir susu, terjadi peningkatan signifikan pada kadar air, abu, lemak, dan protein seiring waktu fermentasi. Peningkatan kadar air dari 0 jam ke 24 jam fermentasi mengindikasikan adanya perubahan struktur makromolekul selama fermentasi. Pada kefir susu, kadar karbohidrat karbohidrat cenderung menurun secara signifikan, karena diduga digunakan sebagai substrat utama metabolisme mikroba. Sementara itu, peningkatan kadar karbohidrat pada kefir air karena terjaditerjadi karena pelepasan gula sederhana yang dihasilkan dari proses hidrolisis polisakarida, terutama pati dari tepung labu maupun eksopolisakarida (EPS) butiran kefir, melalui aktivitas enzim mikroba seperti amilase dan dextranase. Proses hidrolisis ini menghasilkan akumulasi gula terlarut yang berkontribusi terhadap kenaikan karbohidrat sebelum akhirnya dimanfaatkan lebih lanjut oleh mikroba pada fase fermentasi berikutnya (Tedom Dzusuo et al. 2024). Pada fermentasi dengan biji kefir air, kadar air dan kadar abu meningkat secara signifikan dari 0 jam sampai 8 jam, sedangkan pada 8 jam sampai 24 jam mengalami peningkatan, namun tidak signifikan. Kadar protein dan karbohidrat cenderung meningkat secara signifikan, namun, kadar lemak cenderung menurun dari 0 jam sampai 8 jam secara signifikan sedangkan pada 8 jam sampai 24 jam mengalami penurunan tidak signifikan. Hal ini diduga disebabkan oleh aktivitas enzim lipase yang menghidrolisis lemak (Rizqiati et al. 2021).

Tabel 4 Karakteristik proksimat kefir labu parang

Jenis Kefir	Waktu fermentasi (jam)	Air bb(%)	Abu bk(%)	Lemak bk(%)	Protein bk(%)	Karbohidrat bk(%)
Kefir susu	0	85,47 ±0,06^{d}	5,74 ±0,12^{c}	21,66±1,80^{b}	12,84±1,84^{b}	59,75 ±0,16^{a}
	8	86,71 ±0,05^{c}	5,86 ±0,02^{b,c}	22,98±0,04^{b}	25,36±1,49^{a}	45,78±1,56^{b}
	12	87,25 ±0,06^{b}	6,08 ±0,02^{a,b}	24,32±0,01^{b}	26,67±0,46^{a}	42,91±0,45^{b}
	24	87,67 ±0,02^{a}	6,28 ±0,07^{a}	30,77±1,01^{a}	27,73 ±1,32^{a}	35,19±0,37^{c}
Kefir air	0	95,44 ±0,02^{b}	4,60±0,09^{b}	53,35±2,11^{a}	10,86±0,41^{c}	31,17±0,78^{d}
	8	96,74 ±0,02^{a}	8,89±0,07^{a}	7,20±1,46^{b}	32,85±5,49^{a,b}	51,06±4,11^{b}
	12	96,76 ±0,04^{a}	9,58±0,14^{a}	8,02±1,18^{b}	41,26±0,46^{a}	41,12±1,50^{c}
	24	96,82 ±0,00^{a}	9,13±0,02^{a}	6,14±0,23^{b}	23,93±0,05^{b,c}	60,78±0,31^{a}

Perbedaan jenis huruf yang ditampilkan dalam kolom yang sama mengindikasikan adanya signifikansi statistik berdasarkan uji lanjut Tukey $\alpha = 0,05$. hasil Hasil analisis dinyatakan dalam bentuk rata-rata±standar deviasi

Tabel 5 Karakteristik warna dan viskositas kefir labu parang

Jenis kefir	Waktu fermentasi (jam)	L*	a*	b*	Viskositas (cP)
Kefir Susu	0	75,56 ±2,12^{c}	1,35 ±0,21^{a}	25,08 ±0,33^{c}	12,00±0,00^{d}
	8	78,09 ±0,54^{b}	1,30 ±0,07^{a}	35,54 ±2,98^{a}	39,50±4,21^{c}
	12	79,87 ±1,30^{a}	0,95 ±0,26^{b}	31,44 ±0,71^{b}	299,58±4,98^{a}
	24	78,63 ±0,92^{a,b}	0,98 ±0,13^{b}	32,90 ±0,69^{b}	216,25±3,10^{b}
Kefir air	0	34,61 ±0,61^{b}	5,80 ±1,46^{a}	34,52 ±4,92^{b}	20,00±0,00^{d}
	8	38,76 ±2,30^{a}	4,97 ±0,88^{a}	35,73 ±4,42^{a,b}	15,33±0,77^{c}
	12	35,83 ±0,71^{b}	5,32 ±0,88^{a}	39,09 ±3,85^{a}	27,50±0,90^{b}
	24	39,08 ±0,70^{a}	8,77 ±14,74^{a}	36,87 ±1,41^{a,b}	58,66±1,30^{a}

Perbedaan jenis huruf yang ditampilkan dalam kolom yang sama mengindikasikan adanya signifikansi statistik berdasarkan uji lanjut Tukey α = 0,05. hasil Hasil analisis dinyatakan dalam bentuk rata-rata±standar deviasi

Tabel 6 Karakteristik mikrobiologi kefir labu parang

Jenis Kefir	Waktu fermentasi	BAL Aerob (log CFU/mLL)	BAL anaerob (log CFU/mLL)	Khamir (log CFU/mLL)
Kefir susu	0	4,62±0,33^{c}	5,44±0,25^{c}	5,36±0,20^{b}
	8	5,60 ±0,84^{b,c}	6,14±0,17^{b,c}	5,38±0,47^{b}
	12	6,78±0,19^{a,b}	6,74±0.08^{a,b}	6,73±0,14^{a}
	24	7,42±0,39^{a}	7,69±0,66^{a}	6,91±0,32^{a}
Kefir Air	0	6,53±0,44^{c}	6,39±0,07^{c}	5,98±0,09^{b}
	8	7,34±0,21$^{c.b}$	7,40±0,51^{b}	6,86±0,26^{a,b}
	12	7,56±0,40^{b}	8,09±0,10^{a,b}	7,27±0,14^{a}
	24	8,75±0,02^{a}	8,75±0,02^{a}	7,72±0,62^{a}

Perbedaan jenis huruf yang ditampilkan dalam kolom yang sama mengindikasikan adanya signifikansi statistik berdasarkan uji lanjut Tukey α = 0,05. hasil Hasil analisis dinyatakan dalam bentuk rata-rata±standar deviasi.

Selama proses fermentasi kefir, dihasilkan berbagai metabolit seperti asam laktat, asam asetat, etanol, dan eksopolisakarida, yang dapat memengaruhi komposisi nutrisi. Penelitian lain menunjukkan bahwa selama fermentasi, protein dapat mengalami hidrolisis oleh enzim protease dari mikroorganisme, menghasilkan peptida dan asam amino bebas (Garofalo et al. 2015). Proses fermentasi juga akan menghasilkan efek osmotik yang menghasilkan metabolit asam organik. Selain itu, selama proses fermentasi, akan dihasilkan asam lemak karena mikroorganisme memproduksi enzim lipase sehingga meningkatkan kadar lemak (Haryani et al. 2021, Pertiwi et al. 2023).

Bakteri pada umumnya memetabolisme karbohidrat terlebih dahulu, kemudian melanjutkan pada ke protein dan lemak. Seluruh komponen ini akan terdegradasi menjadi molekul yang lebih sederhana, seperti glukosa dan galaktosa dari laktosa, asam amino dari protein, serta asam lemak dari lemak (Hidayat et al. 2015, Vicenssuto and de Castro 2020). Aktivitas enzimatis lipolitik dan proteolitik yang dihasilkan oleh mikroorganisme kefir turut menghidrolisis komponen lemak dan protein, sehingga melepaskan asam lemak bebas dan asam amino. Proses ini berkontribusi terhadap perubahan struktur serta komposisi lemak dan protein yang terukur dalam produk akhir (Koh et al. 2024). Berdasarkan (Codex Alimentarius Commission 2018), standar pada susu fermentasi menetapkan kandungan lemak kurang dari 10% dan kandungan protein minimal 2,7%. Selama proses fermentasi, kefir air akan menghasilkan beberapa enzim, salah satunya adalah lipase, yang berfungsi menghidrolisis lemak menjadi asam lemak bebas dan gliserol (Rosa et al. 2017).

Hasil analisis karakteristik warna dan viskositas kefir labu parang terdapat pada Tabel 5. Analisis warna menggunakan notasi CIE dengan parameter L∗ (kecerahan), a∗ (kemerahan), dan b∗ (kekuningan). Fermentasi dengan biji kefir susu memiliki nilai L∗ berkisar antara 75,56–78,63 yang menunjukkan warna terang karena adanya warna putih pada susu. Nilai a∗ berkisar antara

1,35–0,98 yang menunjukkan warna agak merah, dan nilai b∗ berkisar antara 25,08–32,90 menunjukkan warna kuning. Viskositas berkisar di antara 12,00-216,25 cP. Pada fermentasi kefir air, nilai L∗ berkisar antara 34,61–39,08, nilai a∗ berkisar antara 4,97–8,77, dan nilai b∗ berkisar antara 34,53–39,09. Viskositas berkisar diantara antara 20,00-58,66 cP.

Pada fermentasi dengan biji kefir susu, masing-masing parameter L*,a*, dan b* secara signifikan memberikan nilai yang berbeda selama fermentasi, kemungkinan karena warna putih susu dan pemecahan pigmen karotenoid dari labu parang sehingga warna cenderung kuning seperti pada Gambar 2. Warna pada fermentasi dengan biji kefir air pada parameter L*,b* secara signifikan memberikan nilai yang berbeda dan mengalami peningkatan. Namun pada, parameter a* tidak memberikan dampak signifikan namun nilainya meningkat. Pada kefir air tepung labu parang memiliki warna cenderung lebih oranye. Perubahan warna ini dapat dipengaruhi oleh perubahan pH, aktivitas enzim, dan interaksi antara pigmen labu parang dengan komponen susu dan metabolit mikroba (Prado et al. 2015, Rizky and Zubaidah 2015). Kefir susu memberikan hasil yang berbeda pada waktu fermentasi dari untuk semua parameter. Warna pada kefir susu dan kefir air dipengaruhi oleh kandungan pada masing-masing bahan. Susu memberikan warna putih yang berasal dari kasein, dan tepung labu parang memiliki kandungan warna yang berasal dari karotenoid.



Gambar 2 Penampakan kefir susu (A) dan kefir air (B) setelah fermentasi 24 jam

Viskositas pada jenis kefir susu dan kefir air memberikan dampak yang signifikan. Semakin lama fermentasi, nilai viskositas meningkat, produk akan semakin mengental. Viskositas pada kefir susu dipengaruhi oleh penggumpalan kasein selama fermentasi, salah satu mikroorganisme yang berperan adalah *Lacticaseibacillus rhamnosus* (Pertiwi et al. 2023). Adapun viskositas pada kefir air disebabkan oleh tepung labu parang yang terhidrolisis oleh mikroorganisme. Viskositas yang meningkat diduga disebabkan adanya polisakarida yang dihasilkan dari fermentasi kefir (Zajšek et al. 2013).

Perubahan Jumlah BAL aerob dan BAL anaerob serta Khamir Selama Fermentasi Kefir

Penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah BAL aerob dan anaerob serta khamir mengalami peningkatan secara signifikan selama fermentasi kefir tepung labu parang, baik dengan biji kefir susu maupun kefir air (Tabel 6). Berdasarkan regulasi Codex Alimentarius CXS 243-2003, jumlah minimum mikroorganisme pada kefir adalah 10^7 CFU/g untuk BAL dan 10^4 CFU/g untuk khamir. Hasil analisis menunjukkan bahwa jumlah BAL dan khamir masih memenuhi kriteria Codex. Mikroorganisme BAL aerob pada kefir susu meliputi *Acetobacter spp.*, sementara BAL anaerob seperti meliputi *Lactobacillus kefiranofaciens* dan *Lactobacillus kefiri*. Untuk jenis khamir, ditemukan *Kluyveromyces lactis* dan *Kluyveromyces marxianus* (Yilmaz et al. 2022, Alraddadi et al. 2023).

Kefir air labu parang memiliki kandungan BAL serta khamir yang lebih tinggi dibandingkan dengan kefir susu. Hal ini disebabkan oleh perbedaan jenis mikroorganisme yang terdapat pada masing-masing kefir (Blaiotta et al. 2014, Açik et al. 2020). Khamir berperan dalam pemanfaatan sukrosa sebagai sumber energi sehingga dengan mengubah sukrosa menjadi fruktosa dan galaktosa, yang pada akhirnya menghasilkan etanol. Selama fermentasi, jumlah khamir semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan penelitian (Alrosan et al. 2023b) yang menunjukkan peningkatan yaitu 5,6 log CFU/mLL pada 0 jam sampai dengan 8,7 log CFU/mLL pada 24 jam. Peningkatan mikroba ini diduga sangat erat kaitannya dengan peningkatan aktivitas antioksidan, protein, dan senyawa metabolit lain seperti asam organik, yang terbukti dari penurunan pH dan peningkatan daya cerna selama fermentasi. Hasil analisis mikroorganisme telah memenuhi standar Codex Alimentarius CXS 243-2003 sebagai salah satu minuman probiotik. Berdasarkan penelitian (Guzel-Seydim et al. 2005), jumlah BAL (Bakteri Asam Laktat) berkisar antara 4,14 log CFU/mLL pada 0 jam hingga 8,64 log CFU/mLL pada 22 jam. Hasil

analisis mikroorganisme BAL pada kefir susu dan kefir air hasil fermentasi tepung labu parang menunjukkan potensi BAL yang baik sebagai probiotik. BAL membantu menyeimbangkan mikrobiota usus dan mendukung metabolisme pencernaan (Setiarto et al. 2015, 2021).

KESIMPULAN

Fermentasi tepung labu parang dengan biji kefir susu menurunkan daya cerna pati, sementara fermentasi dengan biji kefir air justru meningkatkannya. Total pati pada kefir susu menunjukkan peningkatan, sedangkan pada kefir air mengalami penurunan. Total gula menunjukkan penurunan pada kedua jenis fermentasi tersebut. Fermentasi juga meningkatkan viskositas dan kapasitas antioksidan, serta menurunkan pH seiring dengan durasi fermentasi. Karakteristik proksimat kefir susu menunjukkan peningkatan kadar air, protein, abu dan lemak, disertai penurunan kandungan karbohidrat. Sementara itu, kefir air mengalami peningkatan kadar air, protein, karbohidrat dan abu, namun kandungan lemaknya menurun. Analisis mikrobiologis menunjukkan peningkatan jumlah BAL aerob, BAL anaerob, serta khamir selama fermentasi pada kefir susu maupun kefir air. Produk kefir yang dihasilkan telah memenuhi standar mikrobiologi untuk minuman probiotik, ditandai dengan pertumbuhan signifikan BAL aerob, BAL anaerob, serta khamir selama fermentasi. Dengan demikian, produk kefir berbasis tepung labu parang berpotensi sebagai pangan fungsional sekaligus alternatif sumber probiotik karena kemampuannya dapat meningkatkan aktivitas antioksidan, memperbaiki profil gizi, serta mendukung kesehatan pencernaan.

DAFTAR PUSTAKA

Açik, M., F. P. Çakiroğlu, M. Altan, and T. Baybo. 2020. Alternative source of probiotics for lactose intolerance and vegan individuals: Sugary kefir. Food Science and Technology 40(3):523–531. https://doi.org/10.1590/fst.27919

Alraddadi, F. A. J., T. Ross, and S. M. Powell. 2023. Evaluation of the microbial communities in kefir grains and kefir over time. International Dairy Journal 136. https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2022.105490

Alrosan, M., T. C. Tan, A. M. Easa, S. Gammoh, M. H. Alu'datt, S. Kubow, A. M. Almajwal, and A. Al-Qaisi. 2023a. Enhanced functionality of fermented whey protein using water kefir. International Journal of Food Properties 26(1):1663–1677. https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2225799

Alrosan, M., T. C. Tan, A. M. Easa, S. Gammoh, M. H. Alu'datt, S. Kubow, A. M. Almajwal, and A. Al-Qaisi. 2023b. Enhanced functionality of fermented whey protein using water kefir. International Journal of Food Properties 26(1):1663–1677. https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2225799

AOAC. 2012. *Official Methods of Analysis of the AOAC*.

Bai, Y., M. Zhang, S. Chandra Atluri, J. Chen, and R. G. Gilbert. 2020. Relations between digestibility and structures of pumpkin starches and pectins. Food Hydrocolloids 106(March):105894. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105894

Blaiotta, G., M. Di Capua, A. Romano, R. Coppola, and M. Aponte. 2014. Optimization of water curing for the preservation of chestnuts (Castanea sativa Mill.) and evaluation of microbial dynamics during process. Food Microbiology 42:47–55. https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.02.009

BPS. 2022. Rata-rata Konsumsi Kelompok Sayur-Sayuran labu parang 2019-2021. https://www.bps.go.id/indicator/5/2100/1/rata-rata-konsumsi-perkapita-seminggu-menurut-kelompok-sayur-sayuran-per-kabupaten-kota.html

Codex Alimentarius Commission. 2018. *Codex Alimentarius, International Food Standards : Standard For Fermented Milks*. *FAO/WHO Food Standards*.

Enneb, S., S. Drine, M. Bagues, T. Triki, F. Boussora, F. Guasmi, K. Nagaz, and A. Ferchichi. 2020. Phytochemical profiles and nutritional composition of squash (Cucurbita moschata D.) from Tunisia. South African Journal of Botany 130:165–171. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.12.011

Fiorda, F. A., G. V. de Melo Pereira, V. Thomaz-Soccol, S. K. Rakshit, M. G. B. Pagnoncelli,

L. P. de S. Vandenberghe, and C. R. Soccol. 2017. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. Food Microbiology 66:86–95. https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.004

Garofalo, C., A. Osimani, V. Milanović, L. Aquilanti, F. De Filippis, G. Stellato, S. Di Mauro, B. Turchetti, P. Buzzini, D. Ercolini, and F. Clementi. 2015. Bacteria and yeast microbiota in milk kefir grains from different Italian regions. Food Microbiology 49(1):123–133. https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.01.017

Gökırmaklı, Ç., and Z. B. Güzel-Seydim. 2022. Water kefir grains vs. milk kefir grains: Physical, microbial and chemical comparison. Journal of Applied Microbiology 132(6):4349–4358. https://doi.org/10.1111/jam.15532

Guzel-Seydim, Z. B., Ç. Gökırmaklı, and A. K. Greene. 2021. A comparison of milk kefir and water kefir: Physical, chemical, microbiological and functional properties. Trends in Food Science & Technology 113:42–53. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.04.041

Guzel-Seydim, Z., J. T. Wyffels, A. C. Seydim, and A. K. Greene. 2005. Turkish kefir and kefir grains: Microbial enumeration and electron microscobic observation. International Journal of Dairy Technology 58(1):25–29. https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00177.x

Haryani, K., P. R. Lakzita, and P. P. Sari. 2021. Modifikasi tepung sorgum dengan metode fermentasi menggunakan bakteri asam laktat lactobacillus bulgaricus. Jurnal Inovasi Teknik Kimia 6(1):11–16. https://doi.org/10.31942/inteka.v6i1.4448

Hidayat, E., I. K. W, M. Irhas, F. Sidiq, and R. Susanti. 2015. Analysis of Proximate and Protein Profile of Kefir from Fermented Goat and Cow Milk. Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education 7(2):2–6. https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v7i2.3950

Jenie, betty S. laksmi, R. P. Putra, and F. Kusnandar. 2012. Mixed culture fermentation of lactic acid bacteria and autoclaving to improve resistant starch and functional properties of banana tanduk flour (Musa paradisiaca formatypica). Jurnal Pascapanen 9(1):18–26.

Koh, W. Y., X. X. Lim, B. H. Khor, B. Rasti, T. C. Tan, R. Kobun, and U. Uthumporn. 2024. Production and Optimisation of Fermented Pumpkin-Based Mature Coconut Water Kefir Beverage Using Response Surface Methodology. Beverages 10(2). https://doi.org/10.3390/beverages10020034

Lin, S., B. Huang, S. Liu, Y. Liu, Q. Zhang, and W. Qin. 2023. Impact of supplement of Qingke flours on physiochemical properties, sensory and in vitro starch digestibility of wheat bread and its enhancement by bread quality improvers. Food Chemistry: X 19(September):100855. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100855

Liu, K., and Q. Liu. 2020. Enzymatic determination of total starch and degree of starch gelatinization in various products. Food Hydrocolloids 103(December 2019):105639. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105639

Lynch, K. M., S. Wilkinson, L. Daenen, and E. K. Arendt. 2021. An update on water kefir: Microbiology, composition and production. International Journal of Food Microbiology 345(January):109128. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109128

Pereira, A. M., F. D. Krumreich, A. H. Ramos, A. C. R. Krolow, R. B. Santos, and M. A. Gularte. 2020. Physicochemical characterization, carotenoid content and protein digestibility of pumpkin access flours for food application. Food Science and Technology (Brazil) 40(December):691–698. https://doi.org/10.1590/fst.38819

Pertiwi, A. F., E. Taufik, and I. I. Arief. 2023. Karakteristik Kefir Susu Sapi Dengan Penambahan Ekstrak Bunga Telang (Clitoria ternatea). Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia 28(1):34–45. https://doi.org/10.18343/jipi.28.1.34

Pessarakli, M. 2016. *Handbook of Cucurbits Growth,Cultural Practices, and Physiology*. (Z. Z. Minmin Miao, editor)

CRC Press. https://doi.org/10.1201/b19233-6

Prado, M. R., L. M. Blandón, L. P. S. Vandenberghe, C. Rodrigues, G. R. Castro, V. Thomaz-Soccol, and C. R. Soccol. 2015. Milk kefir: Composition, microbial cultures, biological activities, and related products. Frontiers in Microbiology 6(OCT):1–10. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01177

Purwanto, C. C., D. Ishartani, and D. Rahadian. 2013. Kajian sifat fisik dan kimia tepung labu kuning dengan perlakuan blanching dan perendaman na metabisulfit. Teknosains Pangan 2(2):41–48.

Rizky, A. M., and E. Zubaidah. 2015. PENGARUH PENAMBAHAN TEPUNG UBI UNGU JEPANG (Ipomea batatas L var . Ayamurasaki) TERHADAP SIFAT FISIK , KIMIA , DAN ORGANOLEPTIK Effect Substitution of Purple Sweet Potato Flour (Ipomea batatas L var . Ayamurasaki) to the Changes of Physical , Chemical. Jurnal Pangan dan Agroindustri 3(4):1393–1404.

Rizqiati, H., S. Susanti, N. Nurwantoro, A. N. Albaari, and Y. B. Slamet. 2021. Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Sifat Fisiko Kimia Kefir Whey dari Susu Kambing. Warta Industri Hasil Pertanian 38(1):54. https://doi.org/10.32765/wartaihp.v38i1.6404

Rosa, D. D., M. M. S. Dias, Ł. M. Grześkowiak, S. A. Reis, L. L. Conceição, and M. D. C. G. Peluzio. 2017. Milk kefir: Nutritional, microbiological and health benefits. Nutrition Research Reviews 30(1):82–96. https://doi.org/10.1017/S0954422416000275

Rubak, Y. T., L. Nuraida, D. Iswantini, and E. Prangdimurti. 2020. Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides in milk fermented by indigenous lactic acid bacteria. Veterinary World 13(2):345–353. https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.345-353

Schwan, R. F., K. T. Magalhães-Guedes, and D. R. Dias. 2022. *Advances in Dairy Microbial Products*. (oginder Singh, Ashish Vyas, editor). woodhead publishing, united kingdom. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85793-2.00024-2

Setiarto, R. H. B., B. S. L. Jenie, D. N. Faridah, and I. Saskiawan. 2015. Study of development resistant starch contained in food ingredients as prebiotic source. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia 20(3):191–200. https://doi.org/10.18343/jipi.20.3.191

Setiarto, R. H. B., H. D. Kusumaningrum, B. S. L. Jenie, T. Khusniati, N. Widhyastuti, and Sulistiani. 2021. Changes of digestible starch composition and improvements of prebiotic properties in modified taro starch by heat treatment. Songklanakarin Journal of Science and Technology 43(4):969–975.

Spizzirri, U. G., M. R. Loizzo, F. Aiello, S. A. Prencipe, and D. Restuccia. 2023. Non-dairy kefir beverages: Formulation, composition, and main features. Journal of Food Composition and Analysis 117(January):105130. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2023.105130

Stryjecka, M., B. Krochmal-Marczak, T. Cebulak, and A. Kiełtyka-Dadasiewicz. 2023. Assessment of Phenolic Acid Content and Antioxidant Properties of the Pulp of Five Pumpkin Species Cultivated in Southeastern Poland. International Journal of Molecular Sciences 24(10). https://doi.org/10.3390/ijms24108621

Tedom Dzusuo, W., A. S. Agume Ntso, W. Ngaha Damndja, and R. Ejoh Aba. 2024. Formulation of complementary flours from pretreated pumpkin pulp, soybeans and spinach leaves: Nutritional, functional and sensory characterization. Heliyon 10(17). https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37604

Vicenssuto, G. M., and R. J. S. de Castro. 2020. Development of a novel probiotic milk product with enhanced antioxidant properties using mango peel as a fermentation substrate. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 24(March):101564. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101564

Wang, X., J. Tian, X. Zhang, N. Tang, X. Rui, Q. Zhang, M. Dong, and W. Li. 2022. Characterization and Immunological Activity of Exopolysaccharide from Lacticaseibacillus paracasei GL1 Isolated from Tibetan Kefir Grains. Foods 11(21):3330. https://doi.org/10.3390/foods11213330

Williams, B. A., D. Mikkelsen, B. M. Flanagan, and M. J. Gidley. 2019. "Dietary fibre": Moving beyond the "soluble/insoluble" classification for monogastric nutrition, with an emphasis on humans and pigs. Journal of Animal Science and Biotechnology 10(1):1–12. https://doi.org/10.1186/s40104-019-0350-9

Yilmaz, B., H. Sharma, E. Melekoglu, and F. Ozogul. 2022. Recent developments in dairy kefir-derived lactic acid bacteria and their health benefits. Food Bioscience 46(December 2021):101592. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101592

Yilmaz-Ersan, L., T. Ozcan, A. Akpinar-Bayizit, and S. Sahin. 2018. Comparison of antioxidant capacity of cow and ewe milk kefirs. Journal of Dairy Science 101(5):3788–3798. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13871

Yuan, T., F. Ye, T. Chen, M. Li, and G. Zhao. 2022. Structural characteristics and physicochemical properties of starches from winter squash (Cucurbita maxima Duch.) and pumpkin (Cucurbita moschata Duch. ex Poir.). Food Hydrocolloids 122:107115. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107115

Yusuf, D., L. Nuraida, R. D. Hariyadi, and D. Hunaefi. 2020. Lactic acid bacteria And yeasts from Indonesian kefir grains and their growth interaction. Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences 22(1):44–49.

Zajšek, K., A. Goršek, and M. Kolar. 2013. Cultivating conditions effects on kefiran production by the mixed culture of lactic acid bacteria imbedded within kefir grains. Food Chemistry 139(1–4):970–977. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.142

Zhang, W. H., J. Wu, L. Weng, H. Zhang, J. Zhang, and A. Wu. 2020. An improved phenol-sulfuric acid method for the determination of carbohydrates in the presence of persulfate. Carbohydrate Polymers 227(July 2019):115332. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115332