

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP SIFAT FISIKOKIMIA,  
MIKROBIOLOGIS, DAN HEDONIK *WATER KEFIR* BUAH NAGA  
MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**ATAR RAHMANI ABDA**



**PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN  
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2026**

PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP SIFAT FISIKOKIMIA,  
MIKROBIOLOGIS, DAN HEDONIK *WATER KEFIR* BUAH NAGA MERAH  
(*Hylocereus polyrhizus*)

Oleh

ATAR RAHMANI ABDA  
NIM : 23020122130095

Salah satu syarat untuk memperoleh  
gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan  
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN  
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2026

## LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Atar Rahmani Abda  
N I M : 23020122130095  
Program Studi : S1-Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut:

1. Skripsi yang berjudul: **Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Sifat Fisikokimia, Mikrobiologis, dan Hedonik *Water Kefir* Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.

2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.

3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu **Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si.** dan **Fariz Nurmita Aziz, S.T.P., M.Sc.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Juni 2026



(Atar Rahmani Abda)

Mengetahui :

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si.

Fariz Nurmita Aziz, S.T.P., M.Sc.

## LEMBAR PENGESAHAN

Judul Skripsi : PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP  
SIFAT FISIKOKIMIA, MIKROBIOLOGIS, DAN  
HEDONIK *WATER KEFIR* BUAH NAGA  
MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)

Nama Mahasiswa : ATAR RAHMANI ABDA

Nomor Induk Mahasiswa : 23020122130095

Program Studi/Departemen : S-1 TEKNOLOGI PANGAN / PERTANIAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji

dan dinyatakan lulus pada tanggal **30 JUN 2026**

Pembimbing Utama

Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si.

Pembimbing Anggota

Fariz Nurmita Aziz, S.T.P., M.Sc.

Ketua Program Studi

Ahmad Ni'matullah Al-Baari, S.Pt.,  
M.P., Ph.D.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program Studi

Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc.

Dekan



Prof. Sugilar, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Ketua Departemen Pertanian

Ahmad Ni'matullah Al-Baari, S.Pt.,  
M.P., Ph.D.

## RINGKASAN

**ATAR RAHMANI ABDA.** 23020122130095. 2026. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Sifat Fisikokimia, Mikrobiologis, dan Hedonik *Water Kefir* Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). (Pembimbing: **HENI RIZQIATI** dan **FARIZ NURMITA AZIZ**)

*Water kefir* merupakan minuman fungsional hasil dari proses fermentasi oleh bakteri asam laktat, khamir, dan bakteri asam asetat yang memiliki banyak manfaat. *Water kefir* dibuat dari inokulasi *water kefir grains* pada campuran air yang mengandung gula, seperti buah. Salah satu buah yang dapat digunakan sebagai bahan pembuatan *water kefir* adalah buah naga merah karena kandungan air, mineral, dan gula alamnya yang mencukupi untuk pertumbuhan mikroorganisme.

Penelitian dilaksanakan selama 3 bulan, yaitu dari Desember 2025 – Februari 2026 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh lama fermentasi terhadap sifat fisikokimia, mikrobiologis, dan hedonik *water kefir* buah naga merah.

Penelitian ini dilakukan dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan lama fermentasi *water kefir* (0 jam; 12 jam; 24 jam; 36 jam; 48 jam) dengan 4 kali pengulangan. *Water kefir* dibuat dengan larutan sari buah naga merah yang ditambahkan dengan 7% *water kefir grains* dan 3% sukrosa. Pengujian sifat fisikokimia meliputi uji total padatan terlarut, pH, total asam tertitiasi, karakteristik mikrobiologis meliputi uji total bakteri asam laktat, dan sensoris meliputi uji hedonik. Data parametrik dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikansi 5% dan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) apabila berpengaruh nyata. Analisis data hedonik dilakukan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dengan taraf signifikansi ( $P < 0,05$ ) dan apabila berpengaruh nyata, maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Seluruh data dihitung dengan bantuan *software* SPSS 26.0 for Windows.

Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa perbedaan lama fermentasi berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap sifat fisikokimia, mikrobiologis, dan atribut hedonik rasa serta *overall* dari *water kefir* buah naga merah. Seiring dengan bertambahnya lama fermentasi, nilai total padatan terlarut dan pH mengalami penurunan yang signifikan, sedangkan total asam tertitiasi dan total bakteri asam laktat mengalami peningkatan. *Water kefir* dengan lama fermentasi 36 jam menghasilkan total bakteri asam laktat tertinggi dan sifat fisikokimia lainnya yang memenuhi sesuai dengan rentang umum sehingga berpotensi sebagai produk dengan sifat fisikokimia, mikrobiologis, serta hedonik yang sesuai.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Swt. yang telah melimpahkan segala Rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Sifat Fisikokimia, Mikrobiologis, dan Hedonik *Water Kefir* Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)” tepat pada waktunya. Skripsi ini merupakan salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana dari Program Studi S-1 Teknologi, Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak dapat diselesaikan tanpa ada dukungan dan doa dari seluruh pihak yang terlibat di dalamnya. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si. dan Bapak Fariz Nurmita Aziz, S.T.P., M.Sc., selaku pembimbing utama dan pembimbing anggota yang telah memberikan bimbingan, arahan, dukungan, saran, dan motivasi mulai dari eksplorasi ide, pelaksanaan penelitian, hingga penyusunan skripsi.
2. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang yang telah memberikan izin dan kesempatan penulis untuk melakukan perkuliahan dan penelitian hingga memperoleh gelar sarjana.
3. Bapak Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D., selaku Ketua Departemen Pertanian dan Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan, arahan, bimbingan, dan motivasi hingga akhir masa studi.
4. Bapak Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D. dan Ibu drh. Siti Susanti, Ph.D., selaku Koordinator Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian serta Laboratorium Kimia dan Gizi yang telah memberikan kesempatan penulis untuk melaksanakan penelitian di laboratorium.

5. Bapak Yoga Pratama, S.TP., M.Sc., Ph.D. dan Ibu Ratih Paramastuti, S.Gz., M.Si., selaku dosen penguji dalam ujian sidang skripsi serta Ibu Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc. selaku dosen panitia yang telah memberikan saran dan arahan dalam proses penyusunan skripsi.
6. Dr. Sri Mulyani, S.Pt., M.P., selaku Dosen Wali penulis yang telah meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan dan perencanaan kegiatan selama masa studi perkuliahan hingga akhir.
7. Seluruh Dosen dan Staff Administrasi Program Studi S-1 Teknologi Pangan dan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah membantu penulis dalam proses belajar maupun pengurusan administrasi selama masa perkuliahan.
8. Bapak Indarto, S., A.Md. Pt. dan Mbak Nadya Annisa, selaku laboran Laboratorium Teknologi Pangan yang banyak membantu penulis dalam mengarahkan dan memenuhi kebutuhan penelitian penulis.
9. Bapak Sumarsono dan Ibu Ernani selaku orang tua penulis, serta adik penulis, Awwab dan Ahnaf, yang selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis.
10. Risma Intan Rahayu sosok yang selalu memberikan bantuan, semangat, dan dukungan penuh selama penelitian hingga penyusunan skripsi.
11. Semua teman-teman penulis, Daffa, David, Faizal, Jonathan, Marvel, Rangga, dan Surya yang telah membantu dan mendampingi penulis dari awal perkuliahan hingga saat ini.
12. Rekan-rekan mahasiswa Teknologi Pangan 2022 yang telah membantu, memberikan kesempatan, serta pengalaman untuk terus belajar dan berkembang selama menempuh masa studi perkuliahan.
13. Semua teman-teman penulis dan semua pihak yang berkontribusi yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu yang telah membantu dan memberikan semangat kepada penulis dalam proses pengerjaan skripsi dan pelaksanaan penelitian.

Penulis menyadari bahwa di dalam proses penyusunan skripsi ini memiliki kekurangan baik teknis penulisan maupun materi. Oleh karena itu, kritik dan saran dari pembaca sangat dibutuhkan sebagai bahan evaluasi dan perbaikan bagi penulis ke depannya. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak baik bagi penulis, pembaca, serta seluruh pihak yang membutuhkan.

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'A' followed by the name 'Alan' in a cursive script.

Semarang, Juni 2026

## DAFTAR ISI

|                                             | Halaman   |
|---------------------------------------------|-----------|
| KATA PENGANTAR.....                         | vi        |
| DAFTAR ISI .....                            | ix        |
| DAFTAR TABEL.....                           | xi        |
| DAFTAR ILUSTRASI .....                      | xii       |
| <b>BAB I      PENDAHULUAN .....</b>         | <b>1</b>  |
| 1.1. Latar Belakang .....                   | 1         |
| 1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian.....     | 4         |
| <b>BAB II      TINJAUAN PUSTAKA .....</b>   | <b>5</b>  |
| 2.1. <i>Water kefir</i> .....               | 5         |
| 2.2. Mutu <i>Water kefir</i> .....          | 7         |
| 2.3. Buah Naga Merah.....                   | 8         |
| 2.4. Fermentasi .....                       | 9         |
| 2.5. Parameter Pengujian.....               | 11        |
| <b>BAB III    MATERI DAN METODE.....</b>    | <b>15</b> |
| 3.1. Materi Penelitian .....                | 15        |
| 3.2. Metode Penelitian.....                 | 16        |
| <b>BAB IV    HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b> | <b>23</b> |
| 4.1. Total Bakteri Asam Laktat.....         | 23        |
| 4.2. Total Padatan Terlarut.....            | 26        |
| 4.3. Total Asam Titrasi .....               | 29        |
| 4.4. Nilai pH.....                          | 31        |

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 4.5. Hedonik .....                | 34 |
| BAB V    SIMPULAN DAN SARAN ..... | 40 |
| 5.1. Simpulan.....                | 40 |
| 5.2. Saran.....                   | 40 |
| DAFTAR PUSTAKA .....              | 41 |
| LAMPIRAN.....                     | 47 |
| RIWAYAT HIDUP .....               | 65 |

## DAFTAR TABEL

| Nomor                                                                | Halaman |
|----------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Syarat Mutu Minuman Susu Fermentasi.....                          | 7       |
| 2. Kandungan Gizi Buah Naga Merah per 100 gram.....                  | 8       |
| 3. Desain Percobaan Kombinasi Perlakuan dan Ulangan.....             | 16      |
| 4. Total Bakteri Asam Laktat <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah..... | 23      |
| 5. Total Padatan Terlarut <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....    | 26      |
| 6. Total Asam Tertitrasi <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....     | 29      |
| 7. Nilai pH <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....                  | 31      |
| 8. Hedonik <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....                   | 35      |

## DAFTAR ILUSTRASI

| Nomor |                                                                                             | Halaman |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1.    | Ilustrasi <i>Water Kefir Grains</i> .....                                                   | 6       |
| 2.    | Diagram Alir Fermentasi Alkohol, Asam Laktat, dan Asam Asetat pada <i>Water Kefir</i> ..... | 10      |
| 3.    | Diagram Alir Pembuatan <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....                              | 19      |
| 4.    | Grafik Total Bakteri Asam Laktat <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....                    | 23      |
| 5.    | Grafik Total Padatan Terlarut <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....                       | 27      |
| 6.    | Grafik Total Asam Tertitrasi <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah..                           | 29      |
| 7.    | Grafik Nilai pH <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....                                     | 32      |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor |                                                                               | Halaman |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1.    | Hasil Uji Total Bakteri Asam Laktat <i>Water Kefir</i> .....                  | 47      |
| 2.    | <i>Output</i> SPSS ANOVA Total Bakteri Asam Laktat <i>Water Kefir</i> .....   | 48      |
| 3.    | Hasil Uji Total Padatan Terlarut <i>Water Kefir</i> .....                     | 49      |
| 4.    | <i>Output</i> SPSS ANOVA Total Padatan Terlarut <i>Water Kefir</i> .....      | 50      |
| 5.    | Hasil Perhitungan Total Asam Titrasi <i>Water Kefir</i> .....                 | 51      |
| 6.    | <i>Output</i> SPSS ANOVA Total Asam Titrasi Terlarut <i>Water Kefir</i> ..... | 52      |
| 7.    | Hasil Uji Nilai pH Laktat <i>Water Kefir</i> .....                            | 53      |
| 8.    | <i>Output</i> SPSS ANOVA Nilai pH <i>Water Kefir</i> .....                    | 54      |
| 9.    | Formulir Uji Hedonik <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....                  | 55      |
| 10.   | Hasil Uji Hedonik Aroma <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....               | 56      |
| 11.   | Hasil Uji Hedonik Rasa <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....                | 57      |
| 12.   | Hasil Uji Hedonik Sensasi Soda <i>Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....        | 58      |
| 13.   | Hasil Uji Hedonik <i>Overall Water Kefir</i> Buah Naga Merah.....             | 59      |
| 14.   | <i>Output</i> SPSS Uji <i>Kruskal-Wallis Water Kefir</i> .....                | 60      |
| 15.   | <i>Output</i> SPSS Uji <i>Mann-Whitney Water Kefir</i> .....                  | 61      |
| 16.   | Dokumentasi Kegiatan Penelitian.....                                          | 63      |

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. Latar Belakang**

Kesadaran masyarakat terhadap pentingnya kesehatan yang terus meningkat pada masa kini mendorong terciptanya produk pangan yang tidak hanya memiliki cita rasa yang baik, tetapi juga bermanfaat bagi kesehatan. Salah satu kategori produk yang menjawab kebutuhan tersebut adalah minuman probiotik, yaitu produk pangan yang mengandung mikroorganisme hidup dalam jumlah yang cukup, yang apabila dikonsumsi secara teratur mampu memberikan dampak baik bagi kesehatan melalui perbaikan komposisi dan keseimbangan mikroflora di dalam saluran pencernaan. Kandungan bakteri asam laktat minimal menurut SNI 7552:2009 tentang syarat mutu minuman susu fermentasi adalah  $10^6$  CFU/mL. Minuman probiotik dapat meningkatkan sistem imun, membantu penyerapan nutrisi, serta menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Wulansari *et al.*, 2022). Seiring dengan tren tersebut, pemanfaatan bahan baku lokal dalam pengembangan minuman probiotik semakin banyak diperhatikan, mengingat potensinya sebagai pilihan minuman yang menyehatkan sekaligus mendukung prinsip keberlanjutan dengan memanfaatkan sumber daya yang tersedia di lingkungan sekitar.

Salah satu minuman kandidat probiotik yang sudah mulai banyak dikenal di Indonesia adalah kefir. Kefir merupakan minuman fermentasi yang terbuat dari *kefir grains* yang mengandung simbiosis mutualisme antara ragi dan bakteri, seperti bakteri asam laktat dan asam asetat (Rizqiati *et al.*, 2023). Jenis kefir yang

umumnya dikenal oleh masyarakat adalah kefir dengan media fermentasi susu. Akan tetapi, munculnya kekhawatiran terkait kondisi intoleransi laktosa yang dialami sebagian masyarakat, serta semakin bertambahnya jumlah individu yang menerapkan pola makan vegetarian, mendorong munculnya kebutuhan akan alternatif minuman probiotik yang tidak berbasis susu. Kondisi ini kemudian membuka peluang bagi pengembangan *water kefir* sebagai minuman fermentasi *non dairy*.

*Water kefir* merupakan salah satu jenis kefir yang dibuat dengan melakukan fermentasi pada larutan gula atau sari nabati menggunakan *water kefir grains*, memiliki rasa asam, serta mengandung karbon dioksida dan sedikit alkohol (Rizqianti *et al.*, 2023). Kandungan probiotik *water kefir* dapat meningkatkan kesehatan pencernaan dengan menjaga jumlah mikroflora pada usus. *Water kefir* mengandung probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan pencernaan dan membantu mempertahankan keseimbangan mikroorganisme dalam usus (Laureys dan Vuyst, 2017). Minuman ini memiliki keunggulan dapat dikonsumsi oleh vegetarian dan penderita *lactose intolerant* karena terbuat dari bahan dasar larutan yang mengandung gula, sehingga dapat menjadi solusi minuman fungsional yang lebih inklusif. *Water kefir* umumnya berbahan dasar larutan air dengan gula, tetapi seiring dengan meningkatnya tren kesadaran hidup sehat dan minuman fungsional, variasi substrat untuk fermentasi *water kefir* juga mulai bertambah macamnya. Buah-buahan merupakan salah satu substrat yang mulai banyak dikembangkan sebagai media fermentasi *water kefir*. Karakteristik *water kefir* dipengaruhi oleh substrat, konsentrasi starter, dan lama fermentasi (Effendi dan Parhusip, 2021).

Salah satu buah yang telah dibudidayakan di Indonesia dan memiliki potensi untuk pengembangan lebih lanjut merupakan buah naga merah. Buah ini berasal dari tanaman jenis kaktus yang dapat tumbuh di daerah iklim tropis. Buah naga merah merupakan sumber karbohidrat alami yang mengandung kadar gula dalam jumlah yang cukup memadai, sehingga berpotensi besar untuk dimanfaatkan sebagai substrat dalam proses fermentasi probiotik. Selain itu, buah naga juga mengandung berbagai vitamin dan mineral, seperti kalsium, natrium, kalium, magnesium, fosfor, zat besi, zinc, vitamin B1, B2, B3, vitamin C, serta vitamin E (Aryanta, 2022). Pemanfaatan buah naga merah dalam pembuatan pangan fungsional masih tergolong terbatas. Oleh karena itu, upaya pengembangan pangan fungsional yang berbasis bahan baku lokal dapat menjadi salah satu langkah strategis dalam mendukung diversifikasi produk pangan sekaligus meningkatkan nilai tambah dari komoditas lokal.

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Insani *et al.* (2018) mengenai total khamir, kadar alkohol, total padatan terlarut dan mutu hedonik *water kefir* buah naga merah dengan konsentrasi sukrosa yang berbeda menunjukkan hasil yang berpengaruh nyata. Namun, penelitian mengenai pengaruh perbedaan lama fermentasi terhadap *water kefir* buah naga merah hingga saat ini belum ditemukan. Lama fermentasi merupakan salah satu variabel proses yang sangat menentukan mutu akhir produk fermentasi karena berpengaruh langsung terhadap perubahan karakteristik (Effendi dan Parhusip, 2021). Waktu fermentasi yang terlalu singkat dapat menghasilkan produk yang belum mencapai karakteristik fisikokimia, mikrobiologis, dan sensori yang diinginkan. Sedangkan, fermentasi yang terlalu

lama dapat menyebabkan penurunan pada mutu produk serta penerimaan panelis. Penelitian mengenai pengaruh lama fermentasi terhadap total bakteri asam laktat, total padatan terlarut, total asam tertitrasi, pH, dan hedonik pada *water kefir* buah naga merah hingga saat ini belum ditemukan. Oleh karena itu, terdapat celah penelitian yang dapat dikaji lebih lanjut untuk mengetahui waktu fermentasi optimal dalam pembuatan water kefir buah naga merah dengan kualitas fisikokimia, mikrobiologis, dan sensoris yang baik sekaligus mendukung pemanfaatan buah naga merah bernilai ekonomi.

## **1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi yang berbeda terhadap total bakteri asam laktat, total padatan terlarut, total asam tertitrasi, pH, dan hedonik pada *water kefir* buah naga merah. Hasil penelitian diharapkan menjadi acuan dalam optimasi proses fermentasi untuk menghasilkan minuman fermentasi berbasis buah naga merah dengan kualitas fisikokimia, mikrobiologis, dan sensorik yang optimal, sekaligus dapat dijadikan sebagai bahan referensi dalam penelitian atau percobaan selanjutnya.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. *Water kefir*

*Water kefir* merupakan minuman fermentasi yang diperoleh dari hasil fermentasi *water kefir grains* dalam larutan yang mengandung gula. Minuman ini semakin populer karena kandungan mikroorganisme hidup dari berbagai spesies bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, dan ragi yang bermanfaat bagi kesehatan (Moretti *et al.*, 2022). *Water kefir* dapat dibuat dengan inokulasi *starter* dalam berbagai media karbon seperti larutan gula pasir, jus buah-buahan, atau cairan lain yang mengandung *fermentable sugar*. Media fermentasi *water kefir* dapat berupa larutan gula sederhana ditambah ekstrak buah sebagai nutrisi tambahan, dan durasi fermentasi biasanya antara 24-72 jam pada suhu kamar (Tamang dan Lama, 2022). Keunggulan *water kefir*, di antaranya kadar alkohol yang dihasilkan lebih rendah dan kandungan lemak yang lebih sedikit dibandingkan kefir berbahan dasar susu.

Karakteristik *water kefir* berbeda dengan kefir susu, yaitu sedikit lebih encer, berwarna putih keruh atau tergantung medianya, terdapat sensasi soda, sedikit beralkohol, dan rasa yang asam sedikit manis (Purba *et al.*, 2018). Bibit kefir susu berupa granula kecil dan berwarna putih susu, sedangkan bibit *water kefir* berbentuk granular, lebih padat, dan biasanya berwarna putih keruh atau tidak berwarna (Guzel-Seydim *et al.* 2021). *Water kefir grains* merupakan komunitas simbiotik bakteri dan ragi kompleks yang digunakan untuk memulai fermentasi pada larutan gula. Pendapat Pendón *et al.* (2022) menyebutkan populasi mikroba

pada *starter* meliputi bakteri asam laktat (7–8 log CFU/g *grain*), bakteri asam asetat (6–7 log CFU/g *grain*), serta ragi (6–7 log CFU/g *grain*). *Grains* utamanya terdiri dari polisakarida ekstraseluler dekstran, yang menyediakan keutuhan struktural dan memungkinkan perpindahan komunitas mikroba di dalamnya dari suatu fermentasi ke fermentasi berikutnya. *Grains* mampu beradaptasi dengan beragam bahan baku pangan, sehingga memungkinkan untuk memproduksinya menjadi berbagai jenis minuman fermentasi dengan karakteristik khas (Rocha-Gomes *et al.*, 2018).



Ilustrasi 1. *Water kefir grains*  
Sumber: Matejčková dan Valík (2025)

Jenis strain bakteri yang terkandung dalam *water kefir grains* dapat bervariasi. Dalam penelitian ini, *starter* yang digunakan mengandung beberapa bakteri dan ragi dominan, di antaranya *L. casei/paracasei*, *L. harbinensis*, *L. hilgardii*, *Bifidobacterium spp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Dekkera bruxellensis*. Pendapat Kaya *et al.* (2025) menyatakan mikroorganisme utama dalam proses fermentasi kefir air adalah *L. hilgardii*, *L. nagelii*, *Lacticaseibacillus paracasei*, dan *Saccharomyces cerevisiae* (ragi). Ragi akan menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa serta menjadi produsen utama etanol dan ester volatil (Matejčková dan Valík, 2025). BAL adalah penghasil utama asam laktat, sedangkan BAA menghasilkan berbagai asam organik, seperti asam asetat dan asam

glukonat, yang merupakan hasil dari metabolisme etanol. Proses fermentasi ini menghasilkan produk dengan kandungan asam laktat, asam asetat, etanol, CO<sub>2</sub> dan senyawa organik lainnya yang memberikan cita rasa khas fermentasi dan sensasi *sparkling* serta memperpanjang umur simpan minuman (Sin *et al.*, 2024).

## 2.2. Mutu *Water kefir*

*Water kefir* dapat disebut sebagai produk olahan probiotik berbasis *non dairy product* yang masih baru, sehingga belum ada standar mutu spesifik tersendiri yang mengatur syarat mutunya. Umumnya proses produksi *water kefir* masih mengacu pada syarat mutu produk minuman fermentasi lain yang berbasis *dairy product*, seperti yoghurt dan kefir. Syarat mutu minuman susu fermentasi yang bahan bakunya dari kefir dan kumys dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat Mutu Minuman Susu Fermentasi menurut SNI 7552-2018

| No. | Kriteria Uji       | Satuan          | Persyaratan                |
|-----|--------------------|-----------------|----------------------------|
| 1   | Keadaan            |                 |                            |
| 1.1 | Warna              | -               | normal                     |
| 1.2 | Bau                | -               | normal                     |
| 1.3 | Rasa               | -               | normal                     |
| 2   | Protein (N x 6,38) | fraksi massa, % | min.1,0                    |
| 3   | Kultur bakteri     | koloni/ml       | min. 1,0 x 10 <sup>6</sup> |
| 4   | Kultur khamir      | koloni/ml       | min. 1,0 x 10 <sup>4</sup> |
| 5   | Cemaran logam      |                 |                            |
| 5.1 | Timbal (Pb)        | mg/kg           | maks. 0,02                 |
| 5.2 | Kadmium (Cd)       | mg/kg           | maks. 0,05                 |
| 5.3 | Timah (Sn)         | mg/kg           | maks. 40                   |
| 5.4 | Merkuri (Hg)       | mg/kg           | maks. 0,02                 |
| 6   | Cemaran arsen (As) | mg/kg           | maks. 0,10                 |

Sumber: Badan Standar Nasional, 2018.

### 2.3. Buah Naga Merah

Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan buah yang dihasilkan oleh tanaman jenis kaktus yang biasa ditemukan di daerah tropis. Buah naga berasal dari Amerika Tengah dan Amerika Selatan bagian utara, tetapi telah lama dibudidayakan di Indonesia (Syarifudin *et al.*, 2023). Buah ini kaya akan kandungan gula alami, vitamin, dan senyawa bioaktif yang berpotensi memberikan manfaat kesehatan bagi manusia (Susanty dan Sampepana, 2017). Akan tetapi, pemanfaatan buah naga merah di Indonesia secara komersil masih terbatas. Salah satu pemanfaatan buah naga merah yang dapat dilakukan adalah dengan menjadikan buah naga merah sebagai media fermentasi *water kefir*. Sari buah naga merah yang diperoleh dengan cara memblender daging buah yang telah dikupas dan disaring mengandung berbagai monosakarida seperti glukosa dan fruktosa, juga sukrosa, yang menjadi sumber karbon penting dalam media fermentasi (Surja *et al.*, 2019). Kandungan gizi buah naga merah dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Gizi Buah Naga Merah per 100 gram

| No. | Kandungan Gizi | Berat | Satuan |
|-----|----------------|-------|--------|
| 1   | Karbohidrat    | 5,97  | g      |
| 2   | Glukosa        | 1,33  | g      |
| 3   | Fruktosa       | 2,00  | g      |
| 4   | Sukrosa        | 2,54  | g      |
| 5   | Protein        | 0,89  | g      |
| 6   | Lemak          | 0,57  | g      |
| 7   | Serat          | 1,01  | g      |
| 8   | Kalsium        | 31,20 | mg     |
| 9   | Fosfor         | 29,20 | mg     |
| 10  | Zat Besi       | 0,78  | mg     |
| 11  | Vitamin C      | 3,40  | mg     |
| 12  | Air            | 85,70 | ml     |
| 13  | Energi         | 71,00 | kkal   |

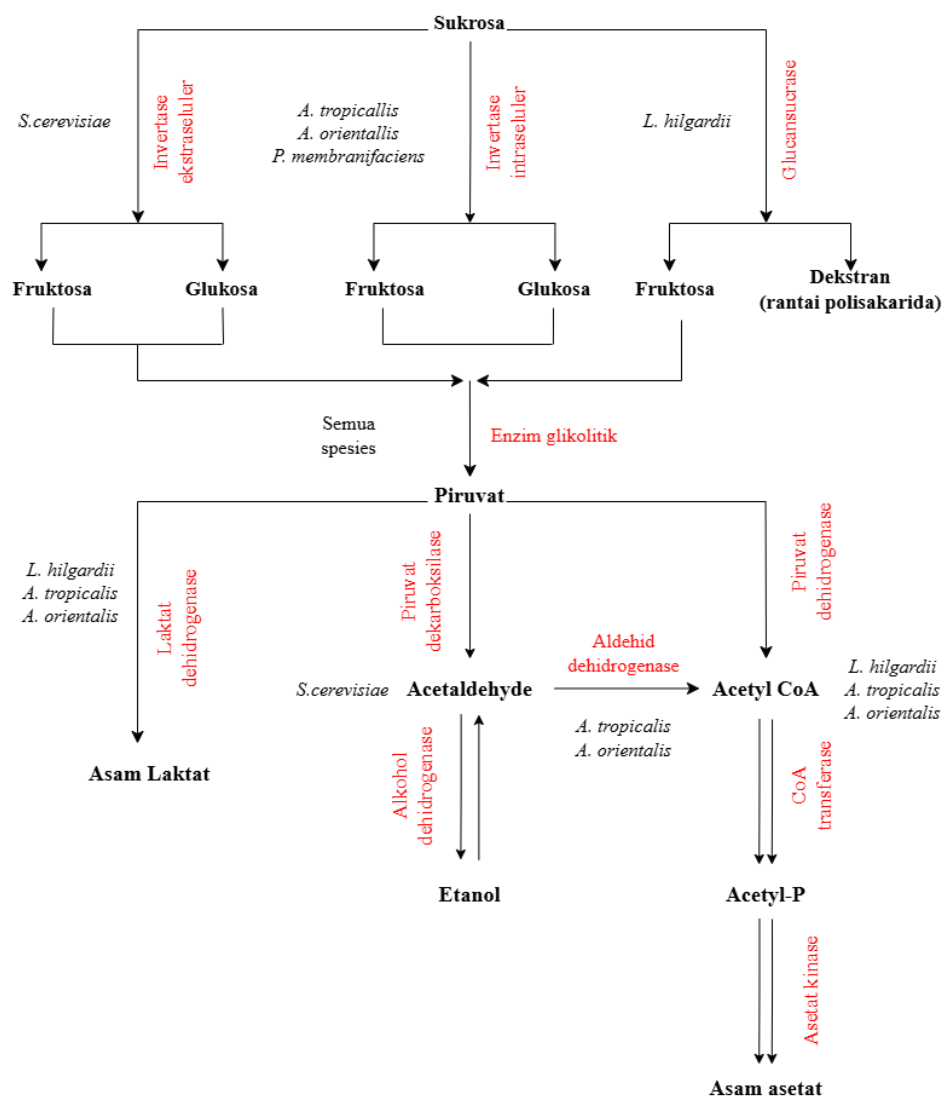
Sumber: Shah *et al.*, (2023)

## 2.4. Fermentasi

Fermentasi merupakan proses metabolisme anaerobik yang terjadi akibat mikroorganisme, seperti bakteri asam laktat (BAL), bakteri asam asetat (BAA) dan ragi, mengubah bahan organik menjadi produk hasil, seperti asam organik, gas, atau alkohol. Proses ini merupakan metode pengawetan makanan dan minuman yang telah diterapkan sejak lama sekaligus memberikan manfaat kesehatan melalui produksi mikroba probiotik (Rizqianti *et al.*, 2021). Fermentasi juga meningkatkan nilai gizi dan keamanan pangan dengan meningkatkan ketersediaan nutrisi dan menurunkan patogen (Cufaoglu dan Erdinc, 2023). Fermentasi dengan starter khusus seperti *kefir grains* mulai banyak diamati karena mampu menghasilkan produk dengan karakteristik sensori dan bioaktif yang unik. Fermentasi *water kefir* berlangsung dengan bakteri yang mengurai karbon dalam gula dan mengubahnya menjadi asam laktat, etanol, dan senyawa aromatik, menghasilkan minuman yang menyegarkan berwarna sedikit keruh dan bersoda alami (Köhler *et al.*, 2021).

Ragi termasuk salah satu mikroba yang krusial dalam fermentasi *water kefir*. Pertumbuhan mikroorganisme terjadi akibat reaksi enzimatik dari enzim invertase, yang dapat meningkatkan kadar gula reduksi dari perombakan gula non reduksi. Glukosa dan fruktosa hasil perombakan ragi dapat digunakan oleh BAL homofermentatif untuk dimetabolisme menjadi asam laktat melalui proses glikolisis. BAL heterofermentatif menggunakan enzim fosfoketolase dalam proses metabolismenya, sehingga menghasilkan asam asetat, etanol, dan CO<sub>2</sub> sebagai produk akhirnya. Selain itu, enzim glukanasukrase pada BAL secara enzimatik mengubah sukrosa menjadi eksopolisakarida (EPS) dekstran, yang meningkatkan

volume *grains* selama proses fermentasi (Adya *et al.*, 2025). Ragi juga melakukan fermentasi alkohol yang mengurai glukosa menjadi etanol dan CO<sub>2</sub>, yang kemudian etanol tersebut dapat dirombak oleh BAA menjadi asam asetat. Keseimbangan antara mikroba menentukan karakteristik akhir produk, sehingga kondisi lingkungan, seperti kadar substrat, pH, dan suhu perlu dikendalikan dengan baik.



Ilustrasi 2. Diagram Alir Fermentasi Alkohol, Asam Laktat, dan Asam Asetat pada *Water Kefir*  
Sumber: Martinez-Torres *et al.* (2017)

## 2.5. Parameter Pengujian

Parameter yang digunakan untuk menentukan mutu pada *water kefir* buah naga merah, yaitu total padatan terlarut, pH, total asam, total bakteri asam laktat (BAL), dan hedonik.

### 2.5.1. Total bakteri asam laktat

Perhitungan total bakteri asam laktat (BAL) dilakukan dengan mengisolasi BAL menggunakan media isolasi yang spesifik. Media selektif dirancang untuk mendukung pertumbuhan dan mempertahankan mikroba tertentu dengan karakter spesifiknya sehingga secara otomatis terisolasi (Putri dan Kusdiyantini, 2018). Isolasi dilakukan menggunakan media *de Mann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA), yaitu media selektif yang digunakan sebagai media isolasi BAL. Media MRSA diformulasikan untuk memfasilitasi pertumbuhan bakteri asam laktat, seperti genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, dan *Leuconostoc* (Putri dan Kusdiyantini, 2018). Bakteri yang terdapat pada media MRSA diinokulasi dengan cawan petri yang ditutup dan diinkubasi pada suhu sekitar 37°C selama 24 jam (Syabinar *et al.*, 2017). Karakteristik bakteri yang tumbuh akan diamati morfologinya melalui uji makroskopik dengan mengamati ciri koloni (bentuk, warna, tepian, dan elevasi). Jumlah koloni yang akan digunakan sebagai perhitungan total BAL yaitu koloni yang berjumlah antara 30-300 dan dengan satuan perhitungan CFU/mL.

### 2.5.2. Total padatan terlarut

Analisis pengujian total padatan terlarut merupakan ukuran dari jumlah material yang dilarutkan dalam air. Total padatan terlarut pada dasarnya meliputi gula reduksi, gula non reduksi, senyawa asam organik, pektin, dan protein yang terlarut pada suatu bahan (Basuki dan Nuraini, 2019). Semakin tinggi konsentrasi penstabil yang terkandung dalam produk, maka semakin tinggi total padatan terlarutnya. Total padatan terlarut dapat diukur dengan menggunakan alat *hand refractometer*. Refraktometer merupakan alat ukur yang digunakan untuk menentukan konsentrasi bahan atau zat terlarut yang diukur dalam satuan °Brix, merepresentasikan 1 g sukrosa dalam 100 g larutan. Refraktometer bekerja dengan metode memanfaatkan teori refraksi cahaya (Cahyadi *et al.* 2018). Refraktometer memiliki prinsip kerja sampel diteteskan 2-3 tetes di atas prisma kemudian menggunakan cahaya polikromatis dari sinar lampu untuk mengetahui hasil.

### 2.5.3. Total asam tertitrasi

Total asam tertitrasi menunjukkan jumlah konsentrasi asam yang terdapat pada suatu produk. Perhitungan total asam pada kefir didasarkan pada kandungan asam laktat, yang merupakan hasil metabolit primer fermentasi yang diproduksi dari pemecahan glukosa pada substrat oleh bakteri asam laktat. Parameter ini dapat menggambarkan perkembangan proses fermentasi produk. Metode titrasi asam merupakan salah satu metode perhitungan total asam yang menghitung total asam tertitrasi. Total asam tertitrasi dihitung sebagai total volume NaOH yang dibutuhkan dalam menetralkan asam dalam 100 g produk (Saputra *et al.*, 2022).

#### 2.5.4. pH

pH merupakan salah satu parameter krusial dalam proses fermentasi, termasuk fermentasi *water kefir* dari buah naga merah. Nilai pH mengukur tingkat keasaman atau kebasaan larutan, serta merupakan indikator utama kemajuan fermentasi. Dalam fermentasi *water kefir*, pH awal biasanya berkisar antara 5,0 hingga 6,0, kemudian mengalami penurunan signifikan seiring dengan berlangsungnya fermentasi menjadi kisaran 3,5 sampai 4,5 setelah 48 hingga 72 jam fermentasi (Lynch *et al.*, 2021). Penurunan pH menunjukkan aktivitas metabolik mikroba yang mengubah gula dalam sari buah menjadi asam laktat, asam asetat, dan alkohol sehingga proses fermentasi menghasilkan produk yang lebih asam dan stabil secara mikrobiologi. Variasi pH produk dipengaruhi oleh jenis buah, konsentrasi starter, suhu fermentasi, dan waktu fermentasi yang diterapkan.

#### 2.5.5. Mutu Hedonik

Mutu hedonik merupakan mutu sensori yang selalu diperhatikan dalam memproduksi suatu produk. Mutu ini ditentukan dengan uji hedonik, yaitu metode evaluasi sensori yang digunakan untuk mengukur tingkat kesukaan panelis terhadap suatu produk, khususnya dalam aspek sensorinya. Uji hedonik sangat penting dalam pengembangan produk baru untuk memahami bagaimana atribut sensoris produk diterima di pasar (Rizqianti *et al.*, 2021). Dalam konteks *water kefir*, uji hedonik digunakan untuk menilai profil sensori yang meliputi aroma, rasa, sensasi soda, serta penilaian keseluruhan yang mencerminkan kepuasan konsumen terhadap

produk fermentasi ini (Tamang dan Lama, 2022). Aroma *water kefir* biasanya dinilai berdasarkan intensitas dari aroma asam atau khas fermentasi produk, sementara rasa melibatkan tingkat kemanisan, keasaman, dan keunikan rasa fermentasi. Atribut aroma berperan krusial terhadap persepsi kesegaran dan kualitas produk kefir, yang dihasilkan oleh senyawa volatil selama fermentasi (Bozkir *et al.*, 2024). Sensasi soda merupakan atribut yang perlu diperhatikan karena dapat menjadi salah satu faktor penentu dari keberhasilan fermentasi. Penilaian keseluruhan menggabungkan aspek-aspek ini dan memberikan indikator penerimaan produk *water kefir* di pasar yang bisa digunakan untuk perbaikan produk selanjutnya (Sin *et al.*, 2024).

## BAB III

### MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2025 – Februari 2026 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan serta Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Uraian penelitian dimulai dari pembuatan dan preparasi sampel, pengujian total bakteri asam laktat, total padatan terlarut, total asam tertitrasi, nilai pH, dan uji hedonik.

#### 3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas buah naga merah, aquades, *water kefir grains* (Kefiree), gula pasir (Gulaku), media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA Merck), indikator fenolftalein, larutan NaOH 0,1 N dan larutan NaCl fisiologis 0,85%, , alkohol 70%, dan spirtus.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, di antaranya yaitu mikropipet, tip mikropipet, pipet tetes, refraktometer (Atago), pH meter (Ohaus), cawan petri *disposable* (OneMed), *centrifuge tube*, gelas ukur, labu erlenmeyer, gelas *beaker*, inkubator (B-One), *autoclave* (Hirayama), *laminar air flow* (Airtech), bunsen, *hotplate* (B-One) dan *magnetic stirrer*, kompor, baskom *stainless steel*, timbangan analitik (Shimadzu), *vortex mixer* (Thermolyne), buret, statif dan klem, pisau, sendok, panci, jar kaca hermetico, blender (Phillips), *colony counter* (J-2), siever

100 mesh, termometer, *heat gun*, serta kertas dan cup plastik 50 ml untuk uji hedonik.

### 3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian meliputi rancangan penelitian, prosedur penelitian, pengujian parameter, pengujian parameter, dan analisis data yang diperoleh dari penelitian. Metode penelitian tersebut diuraikan secara rinci sebagai berikut.

#### 3.2.1. Rancangan penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dengan 4 kali ulangan sehingga didapatkan 20 unit percobaan. Perlakuan yang diterapkan yaitu lama waktu fermentasi yang bervariasi, yaitu 0 jam ( $P_0$ ), 12 jam ( $P_1$ ), 24 jam ( $P_2$ ), 36 jam ( $P_3$ ), dan 48 jam ( $P_4$ ). Variasi perlakuan lama fermentasi dan ulangan disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Desain Percobaan Kombinasi Perlakuan dan Ulangan

| Ulangan<br>(U) | Perlakuan Lama Fermentasi |          |          |          |          |
|----------------|---------------------------|----------|----------|----------|----------|
|                | $P_0$                     | $P_1$    | $P_2$    | $P_3$    | $P_4$    |
| 1              | $P_0U_1$                  | $P_1U_1$ | $P_2U_1$ | $P_3U_1$ | $P_4U_1$ |
| 2              | $P_0U_2$                  | $P_1U_2$ | $P_2U_2$ | $P_3U_2$ | $P_4U_2$ |
| 3              | $P_0U_3$                  | $P_1U_3$ | $P_2U_3$ | $P_3U_3$ | $P_4U_3$ |
| 4              | $P_0U_4$                  | $P_1U_4$ | $P_2U_4$ | $P_3U_4$ | $P_4U_4$ |

Keterangan:

$P_0$ : Lama fermentasi 0 jam

$P_1$ : Lama fermentasi 12 jam

$P_2$ : Lama fermentasi 24 jam

$P_3$ : Lama fermentasi 36 jam

$P_4$ : Lama fermentasi 48 jam

Adapun susunan hipotesis yang digunakan pada pengujian ini adalah sebagai berikut:

$H_0$  : Tidak terdapat pengaruh perbedaan lama waktu fermentasi terhadap total padatan terlarut, pH, total asam tertitrasi, total bakteri asam laktat, dan hedonik.

$H_1$  : Sekurang-kurangnya terdapat satu pengaruh perbedaan lama waktu fermentasi terhadap total padatan terlarut, pH, total asam tertitrasi, total bakteri asam laktat, dan hedonik.

Model linear aditif rancangan percobaan yang diterapkan adalah:

$$Y_{mn} = \mu + \pi_m + \sum_{mn}$$

Keterangan:

$Y_{mn}$  : produksi *water kefir* dengan ulangan ke-n (1,2,3,4) yang memperoleh perlakuan lama fermentasi ke-m ( $P_0, P_1, P_2, P_3, P_4$ )

$\mu$  : nilai tengah produksi populasi *water kefir*

$\pi_m$  : pengaruh dari perlakuan ke-m

$\sum_{mn}$  : pengaruh galat lama fermentasi ke-m pada *water kefir* ke-n yang memperoleh perlakuan lama fermentasi

Secara statistik, hipotesis empirik di atas dapat dijabarkan sebagai berikut:

$H_0$  :  $\mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

$H_1$  :  $\mu_0 \neq \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$  atau setidaknya terdapat satu pengaruh perlakuan

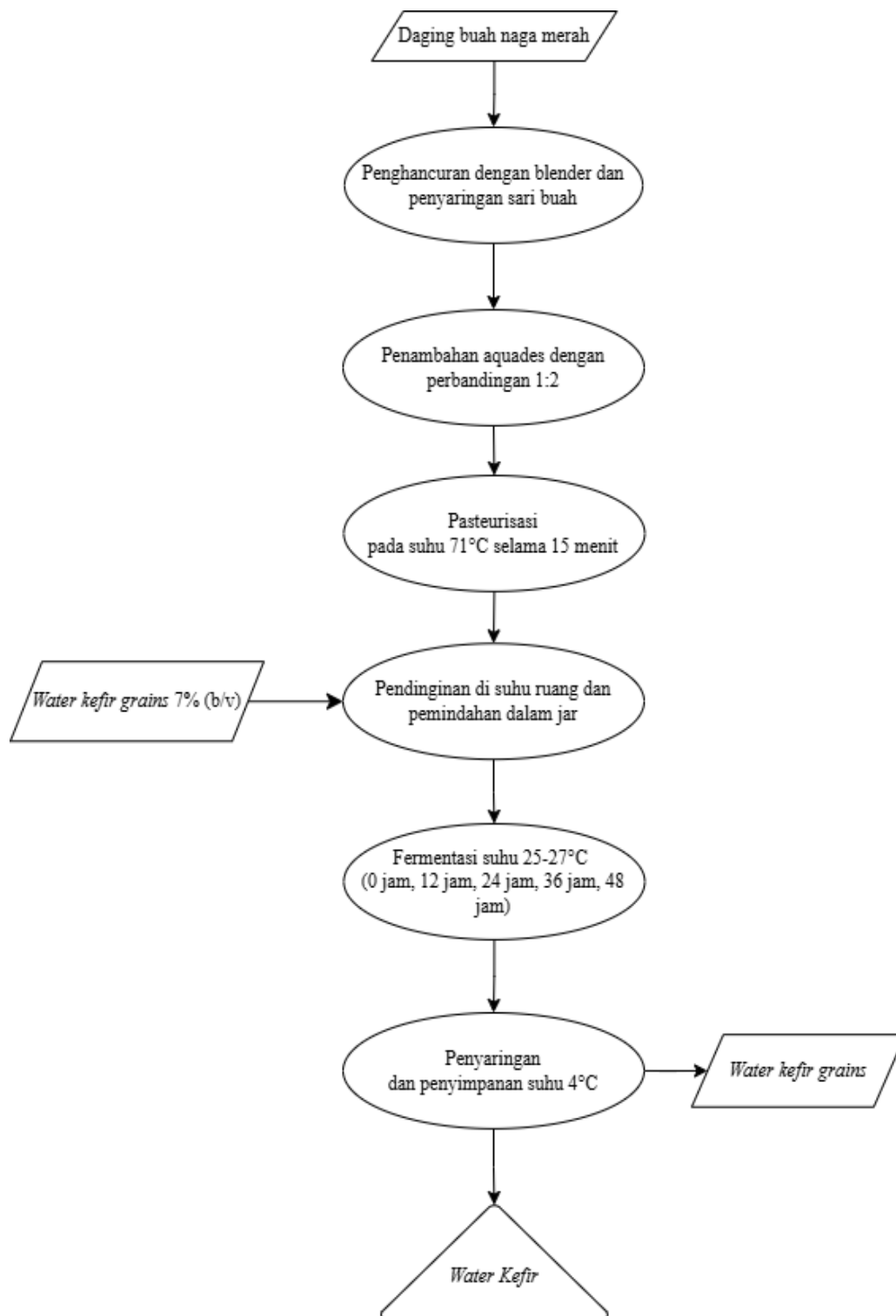
Kriteria pengujian analisis statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

$\text{Sig} \geq 0,05$ , maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak

$\text{Sig} < 0,05$ , maka  $H_1$  diterima dan  $H_0$  ditolak

### 3.2.2. Prosedur penelitian

Pembuatan *water kefir* dilakukan berdasarkan modifikasi metode penelitian oleh Mulyani *et al.* (2021). Pembuatan *water kefir* diawali dengan buah naga merah disortir untuk menyeleksi kualitas terbaik, lalu buah naga merah dicuci, dikupas kulitnya, dan dipotong. Kemudian daging buah naga merah dihancurkan menggunakan *blender*, sarinya disaring dengan saringan mesh 100, dan ditambahkan aquades dengan perbandingan 1:2, serta sukrosa 3%. Selanjutnya buah naga merah dipasteurisasi dengan metode *double boiling* pada suhu 71°C selama 15 menit dan didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Tahap selanjutnya adalah buah naga merah diinokulasi dengan penambahan *water kefir grains* sebanyak 7% dari total volume dan diaduk secara perlahan hingga merata. Kemudian dilakukan fermentasi dengan jar kaca ditutup sesuai perlakuan lama fermentasi, yaitu selama 0 jam (P0), 12 jam (P1), 24 jam (P2), 36 jam (P3), dan 48 jam (P4) dengan suhu yang sama, yaitu suhu ruang (25-27°C). Pemilihan interval waktu fermentasi 12 jam didasarkan dari mayoritas metode pada penelitian karena memungkinkan untuk menangkap dinamika perubahan produk secara lebih rinci dan menggambarkan tren dari pengaruh lama fermentasi terhadap parameter yang akan diamati. Suhu ruang merupakan rentang suhu yang cukup bagi seluruh jenis mikroorganisme dalam *grains* untuk tumbuh dan menghindari perubahan karakteristik fisikokimia dari substrat. *Water kefir* disaring dengan saringan untuk memisahkan *water kefir grains* dan produk siap untuk diuji.



Ilustrasi 3. Diagram alir pembuatan *water kefir* buah naga merah

### 3.2.3. Pengujian parameter

Pengujian parameter yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji total padatan terlarut, uji pH, uji total asam tertitrasi, uji total bakteri asam laktat, dan uji hedonik. Metode pengujian yang dilakukan terhadap tiap parameter diuraikan sebagai berikut.

#### a. Total bakteri asam laktat

Proses pengujian total bakteri asam laktat (BAL) mengacu pada Mulyani *et al.* (2021) yang dilakukan dengan metode *pour plate* dan perhitungan *selective count*. Prosedur dimulai dengan penambahan 1 ml sampel setiap perlakuan ke 9 ml larutan NaCl fisiologis 0,85% untuk pengenceran awal, lalu dilanjutkan hingga mencapai pengenceran  $10^{-5}$ . Tiga seri pengenceran terakhir masing-masing diambil 1 ml untuk *plating* secara duplo. Suspensi dituang ke dalam cawan petri dan ditambahkan dengan 15 ml MRS Agar, lalu diratakan dengan pemutar cawan membentuk angka delapan. Cawan dengan medium yang telah memadat diinkubasi dalam posisi terbalik pada inkubator dengan suhu 37°C selama 48 jam. Jumlah koloni dihitung pada cawan petri yang memiliki jumlah koloni sebanyak 30-300 koloni. Total BAL dinyatakan dalam log CFU/mL dan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah BAL} \frac{\text{CFU}}{\text{mL}} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{pengenceran}}$$

#### b. Total padatan terlarut

Proses pengujian total padatan terlarut (TPT) merujuk pada penelitian Insani *et al.* (2018) yang dilakukan dengan alat refraktometer digital. Proses pengujian

total padatan terlarut diawali dengan kalibrasi alat, yaitu dibilas dengan aquades hingga *display* menunjukkan angka 0,0 dan diseka dengan tisu. Selanjutnya sampel diambil dengan pipet tetes dan diteteskan pada prisma, lalu hasil dapat langsung dicatat. Jumlah kandungan padatan terlarut dinyatakan dalam satuan °Brix. Nilai indeks bias yang tinggi menunjukkan padatan terlarut yang tinggi pada larutan.

#### c. Total asam

Pengujian total asam dilakukan berdasarkan pada penelitian Rohman *et al.* (2019) dengan metode titrasi asam yang dinyatakan sebagai persentase asam laktat. Pengujian diawali dengan sampel *water kefir* buah naga merah diambil sebanyak 5 ml, diencerkan menjadi 25 ml, dan dituang ke dalam labu erlenmeyer. Indikator *phenolphthalein* (PP) 1% ditambahkan sebanyak 2 tetes, lalu dilakukan titrasi sampel dengan larutan NaOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna dari merah muda menjadi ungu pekat. Volume NaOH yang diperlukan hingga mencapai titik akhir dicatat. Total asam yang tertitrasi dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Total asam tertitrasi (\%)} = \frac{\text{mL NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{BM} \times \text{FP}}{\text{mL sampel} \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

N NaOH = 0,1 N

BM Asam Laktat = 90,08 g/mol

#### d. pH

Metode pengujian pH dilakukan berdasarkan penelitian Rizqianti *et al.* (2021) dengan alat pH meter. Proses pengujian pH diawali dengan kalibrasi elektroda pH meter dalam larutan buffer dengan pH 4. Kemudian elektroda dimasukkan ke dalam

sampel dan ditunggu hingga tampilan instrumen memberikan angka konstan dan nilai pH sampel dapat dibaca. Semakin kecil nilai pH maka semakin bersifat asam.

#### e. Uji hedonik

Pengujian hedonik sebagaimana dijelaskan oleh Cahyani *et al.* (2019) dilakukan dengan menggunakan skala kesukaan terhadap *water kefir* buah naga merah. Sebanyak 25 panelis tidak terlatih akan disajikan 25 ml sampel perlakuan P0, P1, P2, P3, dan P4 yang telah diberi label angka 3 digit acak. Kemudian panelis akan diminta untuk mencicipi dan menilai sampel pada kuesioner. Penilaian dilakukan berdasarkan tingkat kesukaannya terhadap setiap atribut sensoris sampel, yaitu aroma, rasa, sensasi soda dan *overall* dengan 5 skala hedonik. Kriteria panelis dapat dilihat pada lampiran 16.

#### 3.2.4. Analisis Data

Pengolahan data parametrik yang terdiri dari uji total padatan terlarut, nilai pH, total asam tertitrasi, dan total bakteri asam laktat *water kefir* buah naga merah dilakukan dengan analisis statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf signifikansi 5% untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan dan diteruskan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) apabila terdapat pengaruh signifikan. Pengolahan data non parametrik untuk hasil pengujian hedonik dianalisis dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis* dengan taraf signifikansi 5% dan hasil analisis yang terdapat pengaruh nyata terhadap perlakuan akan dilanjutkan pengujian dengan metode uji *Mann-Whitney*. Analisis data dilakukan dengan bantuan perangkat lunak SPSS 26.0 *for Windows*.