

# Karakteristik Mikrobiologis dan Kimia dari Sari Kacang Koro Pedang (*Canavalia ensiformis*) yang Difermentasi Menggunakan Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (SCOBY)

*Microbiological, Chemical Characteristics and Amino Acid Profile of Jack Bean Juice (*Canavalia ensiformis*) Fermented Using Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (SCOBY)*

Farah Amalia Azizah<sup>1</sup>, Arina Tri Lunggani<sup>2</sup>, Noer Laily<sup>3</sup>, Iim Sukarti<sup>4</sup>

<sup>1,2</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang

<sup>3,4</sup>Pusat Riset Teknologi dan Proses Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional, D.I. Yogyakarta

\*Korespondensi dengan penulis (farahazizah4285@gmail.com)

Artikel ini dikirim pada tanggal 20 Mei 2024 dan dinyatakan diterima tanggal 19 April 2025. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui <https://ejournal3.undip.ac.id/index.php/tekpangan>. eISSN 2597-9892. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

## Abstrak

Sari kacang koro pedang (*Canavalia ensiformis*) yang difermentasi menggunakan *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY). Proses fermentasi dapat mempengaruhi aspek mikrobiologis dan kimiawi dari sari kacang koro pedang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama waktu fermentasi terhadap total bakteri, total khamir, dan kadar protein terlarut dalam produk fermentasi sari kacang koro pedang serta untuk mengetahui pengaruh aktivitas bakteri dan khamir terhadap kadar alkohol, derajat proteolisis dan kadar gula reduksi dalam produk fermentasi sari kacang koro pedang. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu kadar gula yang ditambahkan dan lama waktu fermentasi. Kadar gula yang ditambahkan terdiri dari dua taraf yaitu gula 6% dan gula 10%. Lama waktu fermentasi yang digunakan terdiri dari tujuh taraf yaitu 0 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari, 7 hari, 8 hari, dan 10 hari. Setiap taraf dilakukan dua kali pengulangan. Analisis data dilakukan menggunakan analisis varian (ANOVA) two way. Apabila hasil menunjukkan perbedaan nyata, maka dilakukan uji lanjut DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama waktu fermentasi berpengaruh nyata ( $p<0.05$ ) terhadap total bakteri, total khamir dan kadar protein terlarut. Aktivitas bakteri dan khamir juga menunjukkan pengaruh nyata ( $p<0.05$ ) terhadap kadar alkohol, derajat proteolisis dan kadar gula reduksi. Derajat keasaman terendah berada di angka 4.01. Total bakteri mengalami peningkatan  $2.6 \times 10^6$  cfu/mL -  $43.9 \times 10^6$  cfu/mL. Total khamir meningkat dari  $11.5 \times 10^6$  koloni/g -  $66.63 \times 10^6$  koloni/g. Kadar protein terlarut mencapai 9.26  $\mu$ g/mL. Kadar alkohol mengalami kenaikan hingga mencapai 5.14%. Kadar gula reduksi meningkat hingga 11.91 mg/mL pada hari ke 10 fermentasi. Derajat proteolisis meningkat dari 33.75% menjadi 76.5% pada fermentasi hari ke-8.

Kata kunci: fermentasi, minuman fungsional, sari kacang koro pedang, SCOBY.

## Abstract

*Jack bean juice (*Canavalia ensiformis*) fermented using Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (SCOBY). The fermentation process can affect the microbiological and chemical aspects of jack bean juice. The aim of this research was to determine the effect of fermentation time on total bacteria, total yeast and dissolved protein content in the fermented product of jack bean juice and to determine the effect of bacterial and yeast activity on alcohol content, degree of proteolysis and reduced sugar content in fermented jack bean juice product. This research used a factorial completely randomized design (CRD) consisting of two factors, namely the added sugar content and the length of fermentation time. The added sugar content consists of two levels, namely 6% sugar and 10% sugar. The length of fermentation time used consisted of seven levels, namely 0 days, 2 days, 3 days, 4 days, 7 days, 8 days and 10 days. Each level was repeated twice. Data analysis was carried out using two way analysis of variance (ANOVA). If the results show a real difference, then a further DMRT test is carried out. The results showed that the length of fermentation time had a significant effect ( $p<0.05$ ) on total bacteria, total yeast and soluble protein levels. Bacterial and yeast activity also showed a significant influence ( $p<0.05$ ) on alcohol content, degree of proteolysis and reducing sugar content. The lowest degree of acidity is 4.01. Total bacteria increased by  $2.6 \times 10^6$  cfu/mL -  $43.9 \times 10^6$  cfu/mL. Total yeast increased from  $11.5 \times 10^6$  colonies/g -  $66.63 \times 10^6$  colonies/g. Dissolved protein levels reached 9.26  $\mu$ g/mL. Alcohol levels increased to 5.14%. The reducing sugar content increased to 11.91 mg/mL on the 10th day of fermentation. The degree of proteolysis increased from 33.75% to 76.5% on the 8th day of fermentation.*

Keywords : fermentasi, functional beverage, jack bean juice, SCOBY.

## Pendahuluan

Kacang koro pedang (*Canavalia ensiformis*) merupakan jenis kacang-kacangan yang masih cukup jarang dimanfaatkan. Produktivitas kacang koro pedang di Indonesia memiliki angka yang cukup tinggi yaitu  $\pm 1$  - 4.5 ton per hektar. Kacang koro pedang memiliki harga jual yang lebih rendah dibandingkan dengan kedelai. Kandungan protein kacang koro pedang memiliki nilai yang hampir setara dengan kandungan protein kacang kedelai (Susanti dkk., 2013). Kandungan protein yang dimiliki oleh kacang koro pedang sebesar 27,4%, lemak sebesar 2,9% dan kandungan karbohidrat sebesar 66,1% (Suryaningrum & Kusuma, 2013). Selain itu kacang koro pedang memiliki nilai gizi (20 – 25 g/100g), vitamin B (thiamin, riboflavin, niacin, asam folat), mineral (Ca, Fe, P, K, Zn, Mg, dan lain-lain), serta serat yang tinggi (Susanti dkk., 2013).

Diversifikasi olahan pangan menggunakan kacang-kacangan terutama kacang koro pedang sebagai bahan dasarnya masih terbatas. Kacang koro pedang hingga saat ini kebanyakan hanya dimanfaatkan sebagai bahan baku

dalam pembuatan tempe (Alimanha dkk., 2023). Namun, layaknya kacang kedelai dan kacang hijau yang telah umum diolah menjadi minuman, kacang koro pedang juga dapat dimanfaatkan menjadi minuman sari kacang koro pedang. Sari kacang koro pedang merupakan minuman yang berasal dari ekstrak kacang koro pedang (Melyani et al., 2013). Namun sari kacang yang dihasilkan seringnya masih beraroma langu khas kacang-kacangan (beany flavor) yang kurang diminati (Ramalingam dkk., 2010). Proses fermentasi dapat dijadikan solusi untuk mengurangi aroma langu dari sari kacang yang dihasilkan (Tao et al., 2022). Selain itu fermentasi juga dapat meningkatkan nutrisi dari bahan yang digunakan sehingga dapat bermanfaat bagi kesehatan individu yang mengonsumsinya (Nabilah dkk., 2022).

*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY) dapat dijadikan kultur mikroorganisme yang dapat memfermentasi sari kacang koro pedang. Pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Kruk et al. (2019) telah berhasil membuat olahan susu fermentasi dengan menggunakan SCOBY. Namun, pada penelitian tersebut objek yang digunakan merupakan susu sapi. Oleh karena itu melalui penelitian ini dilakukan percobaan pengaplikasian SCOBY sebagai starter dalam pengolahan produk fermentasi berbahan dasar sari kacang-kacangan. SCOBY merupakan kultur simbiosis yang berasal dari bakteri dan khamir. Mikroflora yang terkandung di dalam SCOBY diantaranya adalah bakteri asam asetat (BAA), bakteri asam laktat (BAL) dan khamir (Antolak et al., 2021).

Mikroorganisme menggunakan glukosa yang terdapat dalam sari kacang koro pedang untuk metabolisme dan pertumbuhannya, namun kadar glukosa yang terkandung dalam sari kacang koro pedang tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan dari mikroorganisme. Perlu dilakukan penambahan gula untuk memenuhi kebutuhan dari mikroorganisme yang digunakan. Sukrosa dipilih karena memiliki bentuk yang sederhana sehingga dapat langsung digunakan mikroorganisme untuk metabolisme dan pertumbuhannya. Penambahan sukrosa pada penelitian ini mengacu pada Alimanaha dkk. (2023) yakni sebesar 6% dan 10%.

Proses fermentasi dapat mempengaruhi aspek mikrobiologis dan kimiawi dari sari kacang koro pedang. Perubahan karakteristik mikrobiologis dan kimiawi yang terjadi dapat mempengaruhi kualitas dan meningkatkan nutrisi dari produk fermentasi sari kacang koro pedang. Selama proses fermentasi berlangsung terjadi kenaikan total bakteri dan penurunan nilai pH (Haryadi & Sugito, 2013). Selain itu selama proses fermentasi berlangsung protein akan mengalami degradasi sehingga akan meningkatkan kadar protein terlarut dan asam amino (Martono dkk., 2016). Proses fermentasi juga secara langsung dapat meningkatkan kadar metabolit primer berupa senyawa asam dan alkohol (Yusriyah, 2014).

Berdasarkan informasi-informasi yang telah disebutkan diatas, maka perlu dilakukan penelitian pembuatan sari kacang koro pedang (*Canavalia ensiformis*) yang difermentasi menggunakan *Symbiotic Culture and Bacteria and Yeast* (SCOBY). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi dan aktivitas bakteri dan khamir terhadap karakteristik mikrobiologis, kimiawi dan profil asam amino dari fermentasi sari kacang koro pedang. Karakteristik mikrobiologis yang diamati adalah total bakteri dan khamir. Karakteristik kimiawi yang diamati adalah derajat keasaman, kadar protein terlarut, kadar alkohol, kadar gula reduksi dan derajat proteolisis dari fermentasi sari kacang koro pedang.

## Materi dan Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pengembangan Teknologi Industri Agro dan Biomedika (LAPTIAB) Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Tangerang Selatan, Banten. Penelitian dilakukan dari September 2023 – Maret 2024.

## Materi

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender, kompor, kain saring, beaker glass, gelas ukur, gelas corong, tabung *Erlenmeyer*, timbangan analitik, *vortex*, *hot plate*, tabung reaksi, labu ukur, rak tabung reaksi, cawan petri, duran, jarum ose, oven, *waterbath*, *refrigerator*, Bunsen, korek api, bolpoin permanen, gunting, jar kaca, penggaris, *cutter*, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF), inkubator, *microplate*, mikropipet, *microtube* 2 mL, *microtube* 1.5 mL, *object glass*, *cover glass*, *syringe*, *syringe filter* 0.22 mm, *syringe filter* 0.45 mm, *blue tip*, *yellow tip*, *white tip*, concentrator, *High Performance Liquid Chromatography*, dan *ELISA reader*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah starter SCOBY, kacang koro, teh, gula, media *Plate Count Agar* (PCA), media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Nutrient Agar* (NA), media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), sodium chloride, standar protein *Bovine Serum Albumine* (BSA), *Bradford reagent dye*, kristal violet, iodin, safranin, etanol 90%, sodium asetat, *acetonitrile*, aseton, asam asetat, *methanol*, air deionisasi, sodium thiosulfate, sodium carbonat, Trisma HCl, aquades, alkohol 70% sebagai desinfektan, *methanol* for HPLC, *miliqi water*, *alumunium foil*, plastik tahan panas, plastik wrap.

## Metode

### Proses Pembuatan Sari Kacang Koro Pedang dan Inokulasi SCOBY

Proses pembuatan sari kacang koro pedang mengacu pada Battistini et al. (2017) dengan sedikit modifikasi. Proses pembuatan diawali dengan merendam kacang koro pedang menggunakan air selama 24 jam pada suhu 25-29°C dengan rasio perbandingan kacang koro pedang : air sebesar 1:3 (b/v). Kemudian dilakukan penirisan pada kacang koro pedang yang telah dilakukan perendaman. Selanjutnya kulit dari kacang koro pedang dikupas hingga bersih. Kacang koro pedang yang telah dikupas kemudian dicuci pada air mengalir untuk menghilangkan kulit yang tertinggal dari proses pengupasan. Selanjutnya kacang koro pedang direbus selama ± 1 jam pada suhu 100°C hingga lunak. Kemudian kacang koro pedang ditiriskan untuk menghilangkan air bekas perebusan. Kacang koro pedang yang telah direbus kemudian dilakukan proses penggilingan dengan penambahan air, perbandingan kacang

koro pedang : air adalah 1:2. Kacang koro pedang yang telah halus kemudian disaring menggunakan kain saring dengan tujuan untuk memisahkan sari kacang koro pedang dengan ampas. Sari kacang koro pedang yang didapatkan kemudian dilakukan proses pasteurisasi pada suhu 90°C selama  $\pm$  20 menit, pada saat ini dilakukan penambahan gula pasir sebesar 6% dan 10% dari jumlah sari kacang yang dipanaskan. Sari kacang koro pedang yang telah dipasteurisasi kemudian didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Sari kacang koro pedang kemudian diinokulasikan menggunakan kultur SCOBY sebanyak 10% kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 25-29°C dengan lama waktu 0 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari, 7 hari, 8 hari, 10 hari.

#### Pengukuran dan analisis uji

Analisis dilakukan untuk mengetahui karakteristik mikrobiologis dan kimiawi serta profil asam amino dari fermentasi sari kacang koro pedang. Proses analisis meliputi analisis derajat keasaman (Evangelista et al., 2012), total bakteri (Adine dkk., 2023), total khamir (Adine dkk., 2023), kadar gula reduksi (Bulal dkk., 2021), kadar protein terlarut (Bradford, 1976), derajat proteolisis (Hasnaliza et al., 2010) dan kadar alkohol (Skocińska et al., 2017).

#### Pengolahan dan Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan analisis varian (ANOVA) two way. Apabila hasil menunjukkan perbedaan nyata, maka dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT)

#### Hasil dan Pembahasan

##### Derajat Keasaman

Salah satu parameter penting dalam penentuan akhir dari proses fermentasi adalah perubahan nilai pH atau derajat keasaman. Pengukuran nilai pH dilakukan untuk mengetahui perubahan yang terjadi selama proses fermentasi. Hasil pengukuran nilai derajat keasaman dari hasil fermentasi sari kacang koro pedang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Derajat Keasaman dari Hasil Fermentasi Sari Kacang Koro Pedang dengan Perbedaan Lama Waktu Fermentasi dan Pemberian Gula

Kadar Gula	Lama Waktu Fermentasi							Rerata
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	
G1	6.52 <sup>g</sup>	5.05 <sup>ef</sup>	4.66 <sup>cdef</sup>	4.64 <sup>cde</sup>	3.65 <sup>a</sup>	3.69 <sup>a</sup>	4 <sup>ab</sup>	4.6
G2	6.42 <sup>g</sup>	5.07 <sup>f</sup>	4.69 <sup>cde</sup>	4.49 <sup>cd</sup>	4.38 <sup>bcd</sup>	4.33 <sup>bcd</sup>	4.23 <sup>bc</sup>	4.8
Rerata	6.47	5.06	4.68	4.57	4.02	4.01	4.12	(+)

Ket: \*Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95%

\*Data yang ditampilkan merupakan rerata dari 2 ulangan

\*L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7 = Lama fermentasi: 0 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari, 7 hari, 8 hari, 10 hari

\*G1, G2 = Kadar gula: 6%, 10%

Hasil analisis uji ANOVA ( $P < 0.05$ ) menunjukkan bahwa pemberian gula serta lama waktu fermentasi berpengaruh terhadap perubahan pH dari fermentasi sari kacang koro pedang. Selanjutnya dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada masing-masing perlakuan untuk mengetahui perbedaan nyata. Hasil uji *Duncan* menunjukkan angka signifikansi  $\alpha = 0.05$ . Semakin lama waktu fermentasi berlangsung semakin meningkatkan aktivitas bakteri dalam memproduksi senyawa asam. Produksi senyawa asam yang terus berlangsung selama proses fermentasi berlangsung dapat menyebabkan penumpukan metabolit dan berakibat pada penurunan nilai pH produk. Bertsch et al. (2021) menjelaskan bahwa penurunan pH terjadi disebabkan oleh yeast dalam SCOBY memetabolis sukrosa menjadi etanol dan karbodioksida. Selanjutnya bakteri asam asetat akan memetabolis etanol menjadi asam asetat yang akan membuat keadaan medium menjadi asam.

##### Total Bakteri

Penetuan total bakteri dilakukan menggunakan metode *total plate count* (TPC). Metode TPC merupakan metode yang umum digunakan untuk mengetahui total bakteri dalam suatu produk. Hasil uji total bakteri terhadap hasil fermentasi sari kacang koro pedang dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Total Bakteri ( $\times 106$  CFU/mL) dari Hasil Fermentasi Sari Kacang Koro Pedang dengan Perbedaan Lama Waktu Fermentasi dan Pemberian Gula

Kadar Gula	Lama Waktu Fermentasi							Rerata
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	
G1	0 <sup>a</sup>	2.7 <sup>b</sup>	4.3 <sup>d</sup>	8.75 <sup>e</sup>	21.45 <sup>f</sup>	68.4 <sup>g</sup>	0 <sup>a</sup>	15.08
G2	0 <sup>a</sup>	2.5 <sup>b</sup>	2.7 <sup>b</sup>	3.5 <sup>c</sup>	3.8 <sup>c</sup>	19.4 <sup>f</sup>	0 <sup>a</sup>	4.55
Rerata	0	2.6	3.5	6.13	12.63	43.9	0	(+)

Ket: \*Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95%

\*Data yang ditampilkan merupakan rerata dari 2 ulangan

\*L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7 = Lama fermentasi: 0 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari, 7 hari, 8 hari, 10 hari

\*G1, G2 = Kadar gula: 6%, 10%

Hasil analisis uji ANOVA ( $P < 0.05$ ) yang dilakukan menunjukkan bahwa lama waktu fermentasi dan pemberian gula memberikan pengaruh terhadap total bakteri dari fermentasi sari kacang koro pedang. Selanjutnya dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada masing-masing perlakuan untuk mengetahui perbedaan nyata. Hasil uji Duncan menunjukkan angka signifikansi  $\alpha = 0.05$ . Total bakteri semakin meningkat seiring dengan lamanya waktu fermentasi. Selama proses fermentasi berlangsung bakteri akan menghidrolisis gula menjadi asam, proses ini sejalan dengan proses pembentukan energi yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri, yang berakibat pada kenaikan total bakteri seiring dengan berjalannya waktu fermentasi. Sama halnya dengan yang dikemukakan oleh Muizuddin & Zubaidah (2015) bahwa peningkatan total bakteri disebabkan oleh proses hidrolisis gula menjadi asam dan energi yang ditujukan untuk pertumbuhan dari bakteri, sehingga total bakteri menjadi meningkat seiring berjalannya waktu fermentasi. Rerata total bakteri pada perlakuan pemberian gula 6% lebih besar dibandingkan dengan total bakteri pada perlakuan pemberian gula 10%. Hal ini disebabkan oleh pemberian gula dengan kadar yang cukup tinggi dapat memicu terjadinya plasmolisis pada bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri. Pendapat yang sama juga dikemukakan oleh Galai dkk. (2023) konsentrasi gula yang terlalu tinggi dapat memicu mikroorganisme melakukan plasmolisis, yang mengakibatkan cairan dalam sel mikroorganisme keluar. Hal ini dapat menghambat pertumbuhannya dan akhirnya menyebabkan kematian.

#### Total Khamir

Hasil pengukuran total bakteri dari hasil fermentasi sari kacang koro pedang dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 3. Total Khamir ( $\times 10^6$  koloni/g) dari Hasil Fermentasi Sari Kacang Koro Pedang dengan Perbedaan Lama Waktu Fermentasi dan Pemberian Gula

Kadar Gula	Lama Waktu Fermentasi							Rerata
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	
G1	0 <sup>a</sup>	20 <sup>b</sup>	30 <sup>c</sup>	30 <sup>c</sup>	59.75 <sup>e</sup>	75 <sup>f</sup>	23 <sup>b</sup>	33.96
G2	0 <sup>a</sup>	30.5 <sup>c</sup>	42 <sup>d</sup>	60.75 <sup>e</sup>	73.5 <sup>f</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	29.53
Rerata	0	25.25	36	45.37	66.63	37.5	11.5	(+)

Ket: \*Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95%

\*Data yang ditampilkan merupakan rerata dari 2 ulangan

\*L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7 = Lama fermentasi: 0 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari, 7 hari, 8 hari, 10 hari

\*G1, G2 = Kadar gula: 6%, 10%

Hasil analisis uji ANOVA ( $P < 0.05$ ) yang dilakukan menunjukkan bahwa pemberian gula dan lama waktu fermentasi memberikan pengaruh terhadap total khamir dari fermentasi sari kacang koro pedang. Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dilakukan sebagai uji lanjut untuk mengetahui perbedaan nyata pada masing-masing perlakuan dilakukan. Hasil uji Duncan menunjukkan angka signifikansi  $\alpha = 0.05$ . Tabel 4.3 memperlihatkan pertumbuhan khamir pada proses fermentasi selama 10 hari. Perbedaan jumlah koloni pada dua perlakuan pemberian gula berbeda terlihat cukup signifikan. Pada hari ke-0 sampai hari ke-7 fermentasi terlihat bahwa pertumbuhan koloni pada perlakuan pemberian gula 10% memiliki angka yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan pemberian gula 6%. Hal ini disebabkan oleh penambahan gula yang cukup tinggi dapat mempercepat pertumbuhan dari khamir. Sama halnya dengan yang dikemukakan oleh Hartati dkk. (2018) bahwa peningkatan pertumbuhan dan kemampuan antagonisme khamir disebabkan oleh faktor penambahan gula pada medium pertumbuhan. Keterkaitan Antar Parameter

Perlakuan antar pemberian ekstrak terhadap dodol susu memberi pengaruh terhadap sifat mikroorganisme, kadar air dan aktivitas air. Hasil analisis varian (ANOVA) dari kadar air dan aktivitas air memberi pengaruh nyata dari pemberian ekstrak Gotu kola yang seharusnya tidak dipengaruhi oleh perlakuan ekstrak. Pengaruh nyata tersebut seharusnya dipengaruhi oleh suhu pemasakan serta lamanya pemasakan dan pengeringan selama proses pengolahan dodol susu. Hubungan antar parameter telah diketahui dengan dilakukan uji korelasi *Pearson* pada Tabel 3.

#### Kadar Gula Reduksi

Sukrosa merupakan gula yang berasal dari golongan disakarida yang terbentuk dari glukosa dan fruktosa. Koeseomawardani dkk. (2013) mengatakan bahwa D-glukosa dan D-fruktosa merupakan hasil dari hidrolisis ikatan dengan penggabungan dua unit monosakarida yang selanjutnya membentuk sukrosa. Proses fermentasi dapat menyebabkan terjadinya hidrolisis glukosa. Hasil hidrolisis tersebut disebut sebagai gula invert atau gula reduksi. Hasil Pengukuran kadar gula reduksi dari hasil fermentasi sari kacang koro pedang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kadar Gula Reduksi (mg/mL) dari Hasil Fermentasi Sari Kacang Koro Pedang dengan Perbedaan Lama Waktu Fermentasi dan Pemberian Gula

Kadar Gula	Lama Waktu Fermentasi							Rerata
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	
G1	2.33 <sup>a</sup>	3.44 <sup>ab</sup>	4.62 <sup>abc</sup>	4.69 <sup>a</sup>	5.77 <sup>bc</sup>	8.34 <sup>de</sup>	8.73 <sup>def</sup>	5.41
G2	6.68 <sup>cd</sup>	8.95 <sup>def</sup>	9.00 <sup>def</sup>	10.18 <sup>ef</sup>	11.1 <sup>fg</sup>	13.28 <sup>gh</sup>	15.48 <sup>h</sup>	10.66
Rerata	5.68	5.64	6.22	7.4	8.43	10.81	12.11	(+)

Ket: \*Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95%

\*Data yang ditampilkan merupakan rerata dari 2 ulangan

\*L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7 = Lama fermentasi: 0 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari, 7 hari, 8 hari, 10 hari

\*G1, G2 = Kadar gula: 6%, 10%

Hasil analisis uji ANOVA ( $P < 0.05$ ) menunjukkan bahwa aktivitas mikroba, lama waktu fermentasi dan pemberian gula memberikan pengaruh terhadap kadar gula reduksi dari fermentasi sari kacang koro pedang. Untuk mengetahui perbedaan nyata pada masing-masing perlakuan dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Hasil uji *Duncan* menunjukkan angka signifikansi  $\alpha = 0.05$ . Kadar gula reduksi terus mengalami peningkatan selama berlangsungnya proses fermentasi. Peningkatan ini terjadi sejalan dengan peningkatan total khamir selama proses fermentasi berlangsung. Khamir memiliki kemampuan menghasilkan enzim invertase yang dapat melakukan proses hidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Aktivitas khamir dalam memproduksi enzim invertase akan meningkat sejalan dengan lama proses fermentasi yang berlangsung. Peningkatan produksi enzim invertase ini akan meningkatkan aktivitas hidrolisis sukrosa sehingga berakibat pada kenaikan kadar gula reduksinya. Sama halnya yang dikemukakan oleh Putri dkk. (2016) gula-gula yang ditambahkan dalam medium akan dirombak menjadi bentuk yang lebih sederhana oleh khamir melalui enzim invertase. Enzim ini memiliki kemampuan untuk mengonversi gula baik dari golongan monosakarida ataupun golongan disakarida.

#### Derajat Proteolisis

Penentuan derajat proteolisis dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya proses proteolisis dan hasilnya. Metode pengukuran yang umum digunakan adalah metode *soluble TCA*. Hasil pengukuran derajat proteolisis dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Derajat Proteolisis (%) dari Hasil Fermentasi Sari Kacang Koro Pedang dengan Perbedaan Lama Waktu Fermentasi dan Pemberian Gula

Kadar Gula	Lama Waktu Fermentasi							Rerata
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	
G1	36 <sup>a</sup>	52 <sup>bc</sup>	56 <sup>cd</sup>	68 <sup>ef</sup>	71.5 <sup>f</sup>	82 <sup>g</sup>	81.5 <sup>g</sup>	63.85
G2	31.5 <sup>a</sup>	47 <sup>b</sup>	58.5 <sup>cd</sup>	62.5 <sup>de</sup>	68 <sup>ef</sup>	71 <sup>f</sup>	68 <sup>ef</sup>	58.07
Rerata	33.75	49.5	57.25	65.25	69.75	76.5	74.5	(+)

Ket: \*Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95%

\*Data yang ditampilkan merupakan rerata dari 2 ulangan

\*L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7 = Lama fermentasi: 0 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari, 7 hari, 8 hari, 10 hari

\*G1, G2 = Kadar gula: 6%, 10%

Hasil analisis uji ANOVA ( $P < 0.05$ ) menunjukkan bahwa lama waktu fermentasi dan aktivitas mikroba memberikan pengaruh derajat proteolisis dari fermentasi sari kacang koro pedang. Untuk mengetahui perbedaan nyata pada masing-masing perlakuan dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Hasil uji *Duncan* menunjukkan angka signifikansi  $\alpha = 0.05$ . Berdasarkan data pada Tabel 5 memperlihatkan bahwa aktivitas bakteri memberikan pengaruh nyata terhadap derajat proteolisis yang dihasilkan. Peningkatan total bakteri sejalan dengan peningkatan aktivitas metabolismenya salah satunya aktivitas produksi enzim proteolitik. Enzim proteolitik memiliki kemampuan untuk memutus ikatan peptida pada protein. Produksi enzim proteolitik yang meningkat menyebabkan proses pemutusan ikatan peptida protein menjadi semakin meningkat dan berakibat pada kenaikan derajat proteolisisnya. Menurut Baihaki dkk. (2015) proses proteolisis memungkinkan terjadinya pemutusan ikatan peptida pada protein. Ikatan peptida yang terurai selama proses proteolisis dapat dinyatakan dalam bentuk persentase. Persentase ikatan peptida yang terputus selama proses proteolisis kemudian dinyatakan dengan derajat proteolisis.

### Kadar Protein Terlarut

Hasil pengukuran kadar protein terlarut dari hasil fermentasi sari kacang koro pedang dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Kadar Protein Terlarut ( $\mu\text{g/mL}$ ) dari Hasil Fermentasi Sari Kacang Koro Pedang dengan Perbedaan Lama Waktu Fermentasi dan Pemberian Gula

Kadar Gula	Lama Waktu Fermentasi							Rerata
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	
G1	3.17 <sup>a</sup>	3.74 <sup>a</sup>	6.27 <sup>abc</sup>	4.01 <sup>ab</sup>	6.66 <sup>abc</sup>	9.74 <sup>d</sup>	8.98 <sup>d</sup>	6.08
G2	4.95 <sup>ab</sup>	6.25 <sup>abc</sup>	6.33 <sup>abc</sup>	5.78 <sup>abc</sup>	7.44 <sup>bcd</sup>	9.55 <sup>d</sup>	8.58 <sup>d</sup>	6.98
Rerata	4.06	4.99	6.3	4.89	7.05	9.64	8.78	(+)

Ket: \*Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95%

\*Data yang ditampilkan merupakan rerata dari 2 ulangan

\*L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7 = Lama fermentasi: 0 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari, 7 hari, 8 hari, 10 hari

\*G1, G2 = Kadar gula: 6%, 10%

Hasil analisis uji ANOVA ( $P < 0.05$ ) menunjukkan bahwa lama waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap kadar protein terlarut fermentasi sari kacang koro pedang. Selanjutnya dilakukan uji lanjutan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan nyata pada masing-masing perlakuan. Hasil uji Duncan menunjukkan angka signifikansi  $\alpha = 0.05$ . Semakin lama proses fermentasi berlangsung, kadar protein terlarut juga akan mengalami peningkatan. Peningkatan kadar protein terlarut diduga terjadi karena adanya peningkatan aktivitas dari bakteri yang meningkat seiring lamanya proses fermentasi. Bakteri dengan enzim proteasenya akan mengubah protein menjadi senyawa yang lebih sederhana. Seperti yang dikemukakan oleh Nurhayati dkk. (2020) bahwa mikroba penghasil enzim protease memiliki kemampuan untuk merombak protein. Protein akan diubah menjadi polipeptida, selanjutnya diubah ke dalam bentuk peptida sederhana, dan mengalami proses perubahan menjadi asam amino. Selain itu rerata kadar protein terlarut pada perlakuan pemberian gula 10% menunjukkan angka yang lebih besar dibandingkan dengan rerata kadar protein terlarut pada perlakuan pemberian gula 6%. Hal ini dikarenakan kelarutan protein meningkat pada kondisi lingkungan dengan konsentrasi gula yang tinggi. Menurut Kutzli et al. (2021) konsentrasi gula yang tinggi dapat meningkatkan kemampuan larutan untuk melarutkan protein.

### Kadar Alkohol

Hasil pengukuran kadar alkohol dari hasil fermentasi sari kacang koro pedang dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Kadar Alkohol (%) dari Hasil Fermentasi Sari Kacang Koro Pedang dengan Perbedaan Lama Waktu Fermentasi

Lama Waktu Fermentasi						
L1 (0 hari)	L2 (2 hari)	L3 (3 hari)	L4 (4 hari)	L5 (7 hari)	L6 (8 hari)	L7 (10 hari)
0.81 <sup>a</sup>	0.82 <sup>a</sup>	4.2 <sup>c</sup>	4.9 <sup>cd</sup>	5.14 <sup>d</sup>	4.67 <sup>c</sup>	2.63 <sup>b</sup>

Ket: \*Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata pada tingkat kepercayaan 95%

\*Data yang ditampilkan merupakan rerata dari 2 ulangan

\*L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7 = Lama fermentasi: 0 hari, 2 hari, 3 hari, 4 hari, 7 hari, 8 hari, 10 hari

\*G1, G2 = Kadar gula: 6%, 10%

Berdasarkan analisis uji ANOVA ( $P < 0.05$ ) yang telah dilakukan menunjukkan bahwa lama waktu fermentasi dan aktivitas mikroba memberikan pengaruh nyata terhadap kadar alkohol dari fermentasi sari kacang koro pedang. Uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dilakukan untuk mengetahui perbedaan nyata pada masing-masing perlakuan yang dilakukan. Hasil uji Duncan menunjukkan angka signifikansi  $\alpha = 0.05$ . Semakin lama fermentasi dilakukan maka kadar alkohol akan semakin meningkat pula. Sama halnya dengan yang dikemukakan oleh Lestari dkk. (2018) bahwa peningkatan kadar alkohol dapat terjadi sejalan dengan lama waktu fermentasi yang dilakukan. Alkohol merupakan hasil dari perombakan glukosa yang dilakukan oleh khamir. Khamir akan merombak glukosa menjadi alkohol dan karbodioksida. Hal ini juga dikemukakan oleh Azizah dkk. (2012) yang mengatakan bahwa gula jenis monosakarida maupun disakarida dapat dirombak menjadi alkohol dan karbodioksida oleh enzim invertase dan zymase yang dihasilkan oleh khamir. Semakin lama fermentasi dilakukan akan meningkatkan jumlah khamir yang berkembang biak. Peningkatan jumlah khamir yang berkembang biak sejalan dengan kemampuan merombak sukrosa atau substrat yang akan semakin meningkat pula. Sama halnya yang dikemukakan oleh Setiawati dkk. (2019) bahwa waktu fermentasi yang lebih lama dapat menyediakan waktu yang lebih lama bagi mikroba untuk merombak nutrisi dalam substrat, hal ini dapat meningkatkan produksi metabolit primer seperti alkohol.

### Kesimpulan

Lama waktu fermentasi dan aktivitas bakteri serta khamir berpengaruh nyata terhadap derajat keasaman, total bakteri, total khamir, kadar gula reduksi, derajat proteolisis, kadar protein terlarut, dan kadar alkohol dari fermentasi sari kacang koro pedang. Semakin lama waktu fermentasi yang dilakukan dapat meningkatkan

pertumbuhan bakteri dan khamir serta dapat meningkatkan kadar protein terlarut dari fermentasi sari kacang koro pedang. Peningkatan aktivitas bakteri menghasilkan enzim proteolitik selama proses fermentasi berlangsung berakibat pada peningkatan derajat proteolisis dari fermentasi sari kacang koro pedang. Aktivitas khamir dalam menghidrolisis sukrosa dengan menggunakan enzim invertase yang dihasilkannya berakibat pada peningkatan kadar gula reduksi dari fermentasi sari kacang koro pedang.

### Acknowledgment

Penulis menyampaikan penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) atas inisiasi dan pendanaan penuh terhadap penelitian ini. Dukungan pendanaan, penyediaan fasilitas, serta lingkungan ilmiah yang kondusif dari BRIN sangat berperan dalam keberhasilan pelaksanaan penelitian ini.

### Daftar Pustaka

Adine, A.A., Wulandari, Eka., Utama, D.T. 2023. Karakteristik Mikrobiologis (Total Bakteri, Total Yeast) dan pH Produk Susu Kurma selama Penyimpanan Suhu Rendah (4-6°C). *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 4(1):31-40.

Alimahana, Fajarika., Kartika, Indah., Utami, A.W., Cahyanto, M.N., & Utami, Tyas. 2023. Fermentasi Sari Koro Pedang Putih (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.) dengan Penambahan Sukrosa dan Susu Skim. *AgriTECH*, 43(2):116-126.

Antolak, H., Piechota, D., Kucharska, A. 2021. Kombucha Tea – A Double Power of Bioactive Compounds from Tea and Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (SCOBY). *Antioxidants*, 10(10):1-20.

Azizah, N., A.N. Al-Baari dan S. Mulyani. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Kadar Alkohol, pH, dan Produksi Gas pada Proses Fermentasi Bioethanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nanas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1 (2): 72-77.

Baehaki, Ace., Lestari, S.D., Romadholi, A.R. 2015. Hidrolisis Protein Ikan Patin Menggunakan Enzim Papain dan Aktivitas Antioksidan Hidrosilatnya. *JHPI*, 18(3):230-239.

Bertsch, Pascal., Etter, Danai., Fischer, Peter. 2021. Transient In Situ Measurement of Kombucha Biofilm Growth and Mechanical Properties. *Food and Function*, 12(11).

Bradford, M.M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-dye Binding. *Anal Biochem*, 72:284-254.

Bujang, Aishah., Taib, N.A. 2014. Changes on Amino Acid Content in Soybean, Garbanzo Bean and Groundnut during Pre-treatments and Tempe Making. *Sains Malaysiana*, 43(4):551-557.

Bulal, Ipan., Mandik, Y.I., Maryuni, A.E. 2021. Produksi Gula Pereduksi dari Ampas Sagu (*Metroxylon* sp.) menggunakan Metode Hidrolisis Asam selama 30 Menit. *AVOGRADO Jurnal Kimia*, 5(2):71-79.

Evangelista, S.R., Ghiselli, Gislaine., Filho, F.M. 2012. Development of a Soy-Based Synbiotic Beverage. *Food and Nutrition Sciences*, 3:1128-1135.

Galai, A.Z., Bait, Yoyanda., Ahmad, Lisna. 2023. Mutu Mikrobiologis Kecap Ikan Teri (*Stolepherus* spp) dengan Konsentrasi Gula Aren selama Penyimpanan di UMKM Wanwun. *Jambura Journal of Food Technology*, 5(1):87-96.

Hasnaliza, H., Maskat, M.Y., Wan, A.W.N., Mamot, S. 2010. The effect of enzyme concentration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Andara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal*, 17:147-152.

Koesoemawardani, Dyah., Rizal, Samsul., Tauhid, Moralita. 2013. Perubahan Sifat Mikrobiologi dan Kimia Rusip Selama Fermentasi. *Agritech*, 33(3):265-271.

Kruk, Marcin., Trzakowska, Monika., Scibisz, Iwona., Pokorski, Patryk. 2021. Application of The “SCOBY” and Kombucha Tea for the Production of Fermented Milk Drinks. *Microorganisms*, 9(1):123.

Kutzli, Ines., Weiss, Jochen., Gibis, Monika. 2021. Glycation of Plant Proteins Via Maillard Reaction: Reaction Chemistry, Technofunctional Properties, and Potential Food Application. *Foods*, 10, 376.

Lestari, M.W., V.P. Bintoro dan H. Rizqiat. 2018. Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Tingkat Keasaman, Viskositas, Kadar Alkohol, dan Mutu Hedonik Kefir Air Kelapa. *Jurnal Teknologi Pangan*. 2 (1): 8-13.

Martono, Yohanes., Danriani, L.D., Hartini, Sri. 2016. Pengaruh Fermentasi terhadap Kandungan Protein dan Asam Amino pada Tepung Gapplek yang Difortifikasi Tepung Kedelai (*Glycine max* (L)). *AGRITECH*, 36(1):56-63.

Melyani, L., Tantan, W., Yusep, I. 2013. Kajian Perbandingan Ekstraksi dan Konsentrasi Inulin pada Pembuatan Minuman Sari Kacang Koro Pedang (*Canavalia ensiformis*). *Jurnal Teknologi Pangan Universitas Pasundan*.

Muizuddin, M dan E. Zubaidah. 2015. Studi Aktivitas Antibakteri Kefir Teh Daun Sirsak (*Annona muricata* linn.) dari Berbagai Merk Teh Daun Sirsak Dipasaran. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(4):1662-1672.

Mulia, D.S., Husin, Arief., Wuliandari, J.R. 2021. Kandungan Asam Amino Tepung Bulu Ayam yang Difermentasi dengan *Bacillus licheniformis* B2560 dan *Bacillus subtilis* sebagai Bahan Baku Pakan Ikan. *SAINTEKS*, 18(2):155-167.

Nabilah, F.N., Listiyowati, Sri., Astuti, R.I. 2022. Diversitas Pangan Fermentasi Berbasis-Susu di Indonesia dan Kandungan Giziinya. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIP)*, 27(4):552-561.

Neffe-Skocińska, K., Sioneck, Barbara., Ścibisz, Iwona & Krajewska, D.K. 2017. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *Journal of Food*, 15(4):601-607.

Nurhayati, Berliana & Nelwida. 2020. Kandungan nutrisi ampas tahu yang difermentasi dengan *Trichoderma viride*, *Saccharomyces cerevisiae* dan kombinasinya. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, 23(12): 104-113.

Puspitojati, Endah., Cahyanto, M.N., Marsono, Yustinus., Indrati, Retno. 2019. Changes in Amino Acid Composition During Fermentation and Its Effect on The Inhibitory Activity of Angiotensin-I-Converting Enzyme of Jack Bean Tempe Following in Vitro Gastrointestinal Digestion. *Journal of Food and Nutrition Research*, 58(4):319-327.

Putri, S.A., Restuhadi, Fajar., Rahmayuni. 2016. Hubungan Antara Kadar Gula Reduksi, Jumlah Sel Mikrob dan Etanol dalam Produksi Bioetanol dari Fermentasi Air Kelapa dengan Penambahan Urea. *Jom FAPERTA*, 3(2):1-8.

Ramalingam, R.S.N., Sadasivam., S. 2010. Degradation of flatulence-causing oligosaccharides in soymilk by a-galactosidase – A novel thermotolerant from *Penicillium purpurogeneum*. *Indian Journal of Biotechnology*, 9(2):160-165.

Sanjukta, Samurailatpam., Rai, A.K. 2016. Production of Bioactive Peptides During Soybean Fermentation and Their Potential Health Benefits. *Trends in Food Science & Technology*, 50:1-10.

Setiawati, Lila., Rizqiat, Heni., Susanti, Siti. 2019. Analisis Rendemen, Kadar Alkohol, Nilai pH dan Total BAL pada Kefir Whey Susu Kambing dengan Lama Fermentasi yang Berbeda. *Jurnal Teknologi Pangan*, 3(1):142-146.

Shivakumar, N., Kashyap, S., Kishore, S., Thomas, T., Varkey, A., Devi, S., Preston, T., Jahoor, F., Sheshshayee, M.S., Kurpad, A.V. 2019. Protein Quality Evaluation of Complementary Foods in Indian Childern. *Am. J. Clin. Nutr*, 109:1319-1327.

Suryaningrum, R., Kusuma, P.S.W. 2013. Optimasi Takaran Kacang Koro Pedang Putih (*Canavalia ensiformis* (L)) sebagai Bahan Baku Pembuatan Yoghurt. *Stigma*, 6(2):7-12.

Susanti, Irma., Hasanah, Fitri., Siregar, N.C., Supriatna, Dadang. 2013. Potensi Kacang Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* DC) sebagai Sumber Protein Produk Pangan. *Jurnal Riset Industri*, 7(1):1-13.

Tao, A., Zhang, H., Duan, J., Xiao, Y., Liu, Y., Li, J., Huang, J., Zhong, T., Yu, X. 2022. Mechanism and Application of Fermentation to Remove Beany Flavor from Plant – Based Meat Analogs: A Mini Review. *Front. Microbiol*, 13:1-11.

Yarlina, V.P., Djali, Mohammad., Andoyo, Robi., Lani, M.N., Rifqi, Muhammad. 2023. Effect of Soaking and Proteolytic Microorganisms Growth on the Protein and Amino Acid Content of Jack Bean Tempe (*Canavalia ensiformis*). *Processes*, 11:1-14.

Yusriyah, N. H. dan R. Agustini. 2014. Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Bibit Kefir Terhadap Mutu Kefir Susu Sapi. *Journal of Chemistry Unesa*, 3(2):53-57.