Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati, Vol. 11(3): 277-294, Oktober 2026
p-ISSN 2527-3221, e-ISSN 2527-323X, https://ojs.uajy.ac.id/index.php/biota/issue/view/585
DOI: 10.24002/biota.v11i3.14790

Dinamika Fermentasi dan Bioaktivitas *Water Kefir* Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

Fermentation Dynamics and Bioactivity of Water Kefir with Butterfly Pea Flower (*Clitoria ternatea* L.)

Luthfia Kumala Dewi[1], Sari Darmasiwi[1*]

[1]Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada
Jl. Teknika Selatan, Sendowo, Sinduadi, Kec. Mlati, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia
Email: saridarma@ugm.ac.id **Penulis Korespondensi*

Abstract

Water kefir is a probiotic fermented beverage produced from water kefir grains that may provide benefits for digestive health. The addition of butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.), which is rich in phenolic compounds is expected to improve its fermentation characteristics, bioactivity, and sensory quality. This study aimed to evaluate the fermentation characteristics, antibacterial activity, and sensory quality of butterfly pea flower water kefir. It was made by brewing dried butterfly pea flowers for 10 minutes, followed by addition of honey and 15% (w/v) of water kefir grains, then fermented at room temperature for 48 hours. Parameters observed included microbiological quality, pH, titratable acidity, total phenolic content, sensory quality also antibacterial activities. The results showed that the fermented beverage had population of Lactic Acid Bacteria (LAB), Acetic Acid Bacteria (AAB), and yeast reaching 1.370 × 10^5 CFU/mL, 1.170 × 10^5 CFU/mL, and 1.120 × 10^5 CFU/mL, respectively. Optimum fermentation characteristics were obtained after 48 hours, with pH 2,93±0,04, titratable acidity of 1,19±0,025%, and total phenolics of 0,9795±0,0018 mgGAE/mL. Antibacterial activity was observed against *Salmonella typhi* with inhibition zone of 11,35±2,30 mm. Significant sensory differences were found only in the color attribute.

Keywords: Antibacterial, Butterfly pea flower, Water kefir, TPC, Sensory test

Abstrak

***Water kefir* merupakan minuman fermentasi probiotik yang dibuat menggunakan *water kefir grains* dan berpotensi memberikan manfaat bagi kesehatan sistem pencernaan. Penambahan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang kaya senyawa fenolik diperkirakan dapat meningkatkan karakteristik fermentasi, bioaktivitas, dan mutu sensori produk. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi karakteristik fermentasi, aktivitas antibakteri, dan kualitas sensori *water kefir* bunga telang. Minuman dibuat dengan menyeduh bunga telang kering selama 10 menit, kemudian ditambahkan madu dan 15% (b/v) *water kefir grains*, lalu difermentasi pada suhu ruang selama 48 jam. Parameter yang diamati meliputi kualitas mikrobiologis, pH, total asam tertitrasi, kandungan fenolik total, mutu sensori, serta aktivitas antibakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minuman hasil fermentasi memiliki populasi Bakteri Asam Laktat (BAL), Bakteri Asam Asetat (BAA), dan khamir berturut-turut sebesar 1.370 × 10^5 CFU/mL, 1.170 × 10^5 CFU/mL, dan 1.120 × 10^5 CFU/mL. Karakteristik fermentasi optimum diperoleh setelah 48 jam dengan nilai pH 2,93±0,04, total asam tertitrasi 1,19±0,025%, dan kandungan fenolik total 0,9795±0,0018 mgGAE/mL. Aktivitas antibakteri teramati terhadap *Salmonella typhi* dengan diameter zona hambat sebesar 11,35±2,30 mm. Perbedaan sensori yang signifikan hanya ditemukan pada atribut warna.**

Kata kunci: Antibakteri, Bunga telang, *Water kefir,* TPC, Uji sensori

Disubmit: 23 Mei 2026; Direvisi: 7 Oktober 2026; Diterima: 9 Oktober 2026

Copyright© 2026. Luthfia Kumala Dewi, Sari Darmasiwi

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

How to Cite: Dewi, L. K., & Darmasiwi, S.(2026). Dinamika Fermentasi dan Bioaktivitas Water Kefir Bunga Telang (Clitoria ternatea L.). Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati, 11(3),277-294.

Pendahuluan

Minuman fermentasi telah lama dimanfaatkan sebagai pangan fungsional karena mengandung mikroorganisme dan metabolit hasil fermentasi yang berpotensi memberikan efek positif bagi kesehatan. Salah satu minuman fermentasi yang terus berkembang ialah kefir, yaitu minuman probiotik yang dihasilkan melalui aktivitas fermentasi oleh *kefir grains*. *Grain* tersebut berupa matriks polisakarida yang menjadi habitat simbiotik bagi bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, dan khamir. Selama fermentasi berlangsung, mikroorganisme akan mengonversi substrat menjadi berbagai metabolit seperti asam organik, etanol, dan karbon dioksida yang mempengaruhi cita rasa, aroma, serta sifat fungsional kefir (Sawangrat *et al*., 2024; Setiawati & Kusnadi, 2021). Berdasarkan bahan fermentasinya, kefir dibedakan menjadi *milk kefir* dan *water kefir. Water kefir* menggunakan larutan gula atau bahan nabati sebagai medium fermentasi sehingga menghasilkan minuman yang lebih ringan, bebas laktosa, serta cocok dikonsumsi oleh individu dengan intoleransi laktosa maupun konsumen yang memilih produk berbasis nabati. Selain sebagai sumber probiotik, *water kefir* juga menghasilkan berbagai senyawa bioaktif seperti eksopolisakarida, peptida bioaktif, dan senyawa antimikroba yang berperan dalam menjaga keseimbangan mikrobiota usus serta mendukung sistem imun tubuh (Guzel-Seydim *et al.*, 2021; Lynch *et al.*, 2021).

Pemanfaatan bahan nabati pada fermentasi *water kefir* menjadi salah satu pendekatan inovatif untuk meningkatkan nilai fungsional produk. Salah satu tanaman yang berpotensi dikombinasikan dengan *water kefir* adalah bunga telang yang diketahui kaya akan senyawa bioaktif, terutama flavonoid, fenol, antosianin, dan alkaloid. Pigmen antosianin golongan ternatin pada bunga telang berperan sebagai antioksidan alami, sedangkan senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid diketahui memiliki aktivitas antimikroba melalui mekanisme kerusakan membran sel, gangguan sintesis peptidoglikan, hingga kebocoran komponen sel mikroba (Jeyaraj *et al.*, 2021; Suriyaprom *et al.*, 2025). Beberapa penelitian melaporkan bahwa bunga telang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus, Salmonella typhi,* dan *Escherichia coli* (Jeyaraj *et al.*, 2022; Siddham *et al.*, 2023). Selain itu, penambahan bunga telang pada berbagai produk fermentasi, termasuk *water kefir* dan kombucha, juga diketahui mampu meningkatkan kandungan fenolik, aktivitas antioksidan, serta kualitas sensori produk (Rezaldi *et al*., 2024; Sawangrat *et al*., 2024).

Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa penambahan bunga telang pada produk fermentasi dapat meningkatkan kualitas fungsionalnya. Sawangrat *et al.* (2024) melaporkan bahwa penambahan bunga telang pada *water kefir* berbasis jus longan meningkatkan total fenolik, aktivitas antioksidan, dan karakteristik sensori. Pada produk kombucha, penambahan bunga telang juga dilaporkan meningkatkan aktivitas antioksidan serta menunjukkan potensi antibakteri (Rezaldi *et al.,* 2024). Sementara itu, penelitian terdahulu oleh (Setiawati & Kusnadi, 2021) menunjukkan bahwa fermentasi *water kefir* bunga telang selama 36 jam dengan volume 250 mL dan konsentrasi *grain* 15% (b/v) menghasilkan aktivitas antioksidan yang tinggi disertai kandungan flavonoid dan antosianin yang signifikan. Di sisi lain, Kim *et al.* (2016) menunjukkan bahwa waktu fermentasi *water kefir* selama 48 jam menghasilkan aktivitas antibakteri tertinggi, khususnya terhadap *Staphylococcus aureus*, dibandingkan durasi inkubasi lainnya.

Sejauh ini, kajian komprehensif dan integratif mengenai dinamika pertumbuhan mikroba fermentatif, perubahan pH, total asam tertitrasi, kandungan total fenolik, sifat sensori, dan aktivitas antibakteri *water kefir* bunga telang masih relatif terbatas sehingga menjadi kebaruan penelitian ini. Dalam penelitian ini, fermentasi *water kefir* dilakukan selama 48 jam untuk mengevaluasi karakteristik fermentasi dan aktivitas antibakteri, dengan mengacu pada penelitian terdahulu yang melaporkan aktivitas antibakteri tertinggi pada durasi tersebut. Dengan mengetahui dinamika pertumbuhan mikroba fermentatif, penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah dalam pengembangan minuman fermentasi fungsional yang diperkaya dengan senyawa bioaktif alami dari bunga telang, dengan potensi bioaktivitas yang lebih baik.

Metode Penelitian

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada dan pengambilan bahan utama penelitian berupa bunga telang dilakukan di organisasi masyarakat KWT Jasmine daerah Nologaten, Ambarukmo, Desa Caturtunggal, Kabupaten Sleman, DIY.

Preparasi dan Fermentasi *Water Kefir* Bunga Telang

Pembuatan *water kefir* bunga telang diawali dengan sebanyak 250 mL air demineralisasi (merek Cleo) dipanaskan hingga mencapai suhu 100°C lalu dilakukan penyeduhan bunga telang kering dan madu multiflora murni (merek Safiya) saat air bersuhu ±80°C selama 10 menit. Filtrat hasil penyeduhan kemudian didinginkan hingga suhu ruang sebelum diinokulasikan dengan *water kefir grains* (merek Aracaki Grade A) sebanyak 15% (b/v). Fermentasi dilakukan dalam kondisi tertutup pada suhu ruang selama 48 jam. Sampel kontrol dibuat dengan prosedur yang sama tanpa penambahan bunga telang (Setiawati dan Kusnadi, 2021).

Parameter Mikrobiologi *Water Kefir* Bunga Telang

Parameter kualitas mikrobiologi dilakukan mengacu pada penelitian Chomphoosee *et al*., (2025). Analisis mikrobiologi dilakukan dengan sampel yang diinokulasikan pada media selektif, yaitu MRS (*de Man Rogosa Sharpe Agar*) untuk bakteri asam laktat, GYC (*Glucose Yeast Calcium Carbonate*) untuk bakteri asam asetat, YPD (*Yeast Peptone Dextrose*) untuk *yeast*. Metode *spread plate* digunakan pada media MRS, GYC, dan YPD. Media MRS dan GYC diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam, media YPD pada suhu 30°C selama 72 jam. Jumlah koloni dihitung dan dinyatakan dalam satuan CFU/mL dengan rumus:

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n1) + (0{,}1 \times n2)] \times (d)}$$

Keterangan:
N : jumlah koloni (CFU/mL)
ΣC : koloni pada semua cawan petri yang dihitung
n1 : jumlah cawan petri pada pengenceran pertama yang dihitung
n2 : jumlah cawan petri pada pengenceran kedua yang dihitung
d : pengenceran pertama yang digunakan (Suharman *et al.*, 2023)

pH *Water Kefir* Bunga Telang

Instrumen terlebih dahulu dikalibrasi menggunakan larutan buffer baku guna menjamin ketepatan dan keakuratan hasil pengukuran. Sampel minuman hasil fermentasi pada umumnya dilakukan pengenceran awal dengan akuades untuk memperoleh pembacaan yang lebih konsisten serta mencerminkan kondisi sampel secara representatif. Selanjutnya, elektroda pH meter dicelupkan ke dalam larutan sampel hingga angka pengukuran menunjukkan kondisi stabil, kemudian nilai tersebut dicatat sebagai nilai pH sampel. Tahapan ini umum diterapkan pada analisis produk fermentasi karena mampu memberikan informasi secara cepat terkait perubahan tingkat keasaman yang terjadi selama berlangsungnya proses fermentasi (Fatdillah et al., 2023).

Titratable Acidity Water Kefir Bunga Telang

Analisis total asam dilakukan menggunakan metode titrasi berdasarkan prosedur AOAC (*Association of Official Analytical Chemists International*). Sebanyak 10 mL sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan 100 mL akuades sebagai pelarut. Larutan selanjutnya diberi 2–3 tetes indikator fenolftalein 1%, lalu dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N sampai tercapai titik akhir titrasi yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah muda stabil selama kurang lebih 30 detik. Volume larutan NaOH yang terpakai selama proses titrasi dicatat dan digunakan sebagai dasar perhitungan kadar total asam yang dinyatakan dalam ekuivalen asam laktat. Seluruh pengujian dilakukan sebanyak tiga kali ulangan (triplo) untuk memperoleh hasil yang lebih teliti dan akurat (Yıkmış & Tuğgüm, 2019). Menurut (Mulyani *et al*., 2021), nilai total asam tertitrasi dihitung menggunakan persamaan berikut.

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{V1 \times N \times B}{V2 \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:
B = Berat molekul asam laktat (90)
N = Normalitas NaOH (0,1 N)
V1 = Volume NaOH yang digunakan (mL)
V2 = Volume sampel yang digunakan (mL)

Total Fenolik *Water Kefir* Bunga Telang

Analisis kandungan total fenolik dilakukan menggunakan metode Folin–Ciocalteu mengacu pada (Bella *et al*., 2021). Kurva standar dibuat menggunakan larutan asam galat dengan variasi konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Sebanyak 0,2 mL masing-masing larutan standar dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 mL reagen Folin–Ciocalteu 10% (v/v) dan dihomogenkan. Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 8 menit, lalu ditambahkan 3 mL larutan Na_2CO_3 7,5% (b/v) dan diinkubasi kembali selama 60 menit pada suhu ruang. Selanjutnya, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm dan hasil pengukuran digunakan untuk menyusun kurva kalibrasi. Penentuan total fenolik pada sampel dilakukan dengan mencampurkan 0,2 mL minuman fermentasi dengan 1 mL reagen Folin–Ciocalteu 10% (v/v), kemudian campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 8 menit pada suhu ruang. Setelah itu, ditambahkan 3 mL larutan Na_2CO_3 7,5% (b/v) dan campuran diinkubasi kembali selama 60 menit. Nilai absorbansi sampel kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm. Kandungan total fenolik dihitung berdasarkan persamaan regresi linear dari kurva standar asam galat dan dinyatakan dalam satuan mg GAE/mL sampel.

$$TPC = \frac{c.v.fp.fk}{g}$$

Keterangan:
TPC = *Total Phenolic Content* (mg GAE/g)
c = konsentrasi fenolik (%)
v = volume ekstrak yang digunakan (mL)
fp = faktor pengenceran
fk = faktor konversi (dari µg ke mg) = 0,001
g = berat sampel yang digunakan (mL)

Parameter Organoleptik *Water Kefir* Bunga Telang

Parameter organoleptik dilakukan menggunakan metode hedonik berdasarkan Setiawati dan Kusnadi (2021) dengan melibatkan 10 panelis tidak terlatih dari kalangan mahasiswa. Sampel yang diuji berupa *water kefir* bunga telang dan *water kefir* tanpa bunga telang pada fermentasi 48 jam dengan volume penyajian masing-masing 60 mL. Sebelum pengujian, panelis diberikan penjelasan mengenai prosedur penilaian dan disediakan air mineral untuk menetralkan rasa antar sampel (Lestari *et al*., 2018). Parameter sensori yang diamati mengacu pada Champhoosee (2025), meliputi warna, aroma, tekstur, rasa masam, rasa manis, sensasi bersoda, rasa keseluruhan, dan tingkat penerimaan keseluruhan. Penilaian dilakukan menggunakan skala hedonik 5 poin, mulai dari sangat tidak suka hingga sangat suka.

Parameter Antibakteri *Water Kefir* Bunga Telang

Parameter aktivitas antibakteri dilakukan berdasarkan (Jungjunan et al., 2023) menggunakan teknik difusi cakram (disk diffusion). Media Mueller Hinton Agar (MHA) dan Nutrient Agar Slant (NAS) terlebih dahulu disiapkan dengan melarutkan serbuk media dalam akuades, kemudian dipanaskan hingga homogen dan disterilisasi menggunakan autoklaf. Media NAS selanjutnya dimiringkan untuk membentuk agar slant sebagai media peremajaan bakteri. Suspensi bakteri disiapkan dari biakan murni Staphylococcus aureus, Salmonella typhi, dan Escherichia coli yang diinokulasikan ke dalam Nutrient Broth (NB) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi kemudian diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril hingga kekeruhannya setara dengan standar McFarland 0,5 (±1,5 × 10^8 CFU/mL) dan dikonfirmasi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600–630 nm dengan nilai absorbansi (OD) berkisar antara 0,1–1,0. Pengujian antibakteri dilakukan dengan mengusap suspensi bakteri secara merata pada permukaan media MHA, kemudian cakram kertas steril yang telah

diimpregnasi sampel sebanyak ±10 µL per disk dan diletakkan di atas media secara aseptik. Sampel yang digunakan berupa water kefir bunga telang dan kontrol water kefir tanpa penambahan bunga telang hasil fermentasi 48 jam. Cakram antibiotik kloramfenikol 30 µg per *disk* digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan akuades steril digunakan sebagai kontrol negatif. Seluruh media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian aktivitas antibakteri diamati berdasarkan terbentuknya zona bening di sekitar cakram dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter. Pengujian dilakukan secara duplo untuk meningkatkan ketelitian hasil. Berdasarkan (Gerung *et al*., 2021), diameter zona hambat dihitung menggunakan rumus berikut lalu kemudian dikategorikan menurut Davis dan Scout (1971) menjadi lemah (<5 mm), sedang (5–10 mm), kuat (10–20 mm), dan sangat kuat (>20 mm).

Diameter zona hambat = Diameter total zona – Diameter cakram

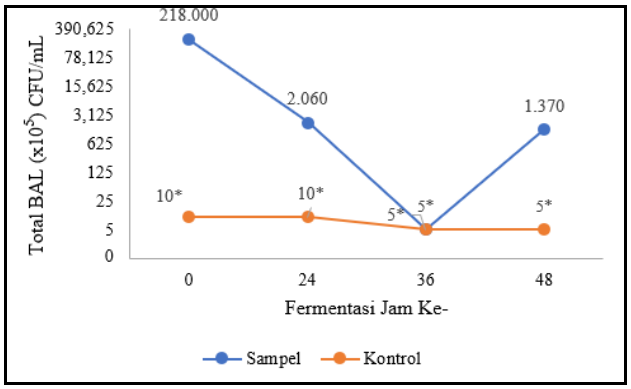
Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis untuk mengevaluasi karakteristik fermentasi serta aktivitas antibakteri minuman fermentasi *water kefir* bunga telang secara menyeluruh. Analisis pada parameter nilai pH, *titratable acidity*, aktivitas antibakteri, dan total fenolik dilakukan menggunakan software SPSS dengan metode *two-way* ANOVA, kemudian dilanjutkan menggunakan uji lanjut *Tukey's HSD* apabila data berdistribusi normal, sedangkan data yang tidak memenuhi asumsi normalitas dianalisis menggunakan uji nonparametrik *Mann–Whitney U Test*. Analisis sensori dilakukan menggunakan uji nonparametrik *Wilcoxon Signed-Rank Test* dengan taraf signifikansi $p<0,05$ untuk menentukan adanya perbedaan nyata antar perlakuan. Sementara itu, data mikrobiologi berupa total BAA, BAL, dan *yeast* dihitung dalam satuan CFU/mL, kemudian dibandingkan dengan standar *Food and Agriculture Organization/World Health Organization* untuk kategori minuman probiotik.

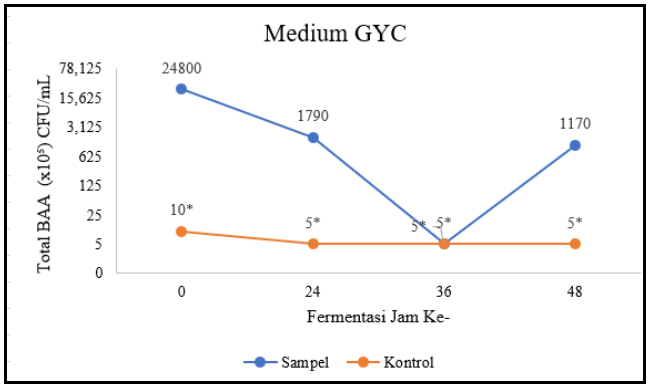
Hasil dan Pembahasan

Parameter Mikrobiologi Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Total jumlah mikroba pada media MRSA mengalami perubahan selama proses fermentasi. Pada sampel *water kefir* bunga telang, jumlah bakteri tertinggi ditemukan pada jam ke-0 sebesar 218.000 × 10^5 CFU/mL, kemudian mengalami penurunan menjadi 2.060 × 10^5 CFU/mL pada jam ke-24 dan kembali menurun hingga mencapai 5 × 10^5 CFU/mL* pada jam ke-36. Selanjutnya, jumlah BAL meningkat kembali pada jam ke-48 menjadi 1.370 × 10^5 CFU/mL. Sementara itu, pada kontrol tanpa penambahan bunga telang, jumlah mikroba cenderung stabil selama fermentasi pada kisaran 5 × 10^5 hingga 10 × 10^5 CFU/mL* (Gambar 1). Stabilitas total BAL selama fermentasi kefir ini juga pernah dilaporkan sebelumnya oleh Laureys & De Vuyst (2017), yang melaporkan *viable microbial counts* pada kefir relatif stabil selama waktu fermentasi. Hal ini dipengaruhi oleh tipe inokulum dan sumber karbon, dimana subtitusi sukrosa dengan glukosa atau fruktosa dapat menurunkan pertumbuhan mikroba pada *water kefir* (Laureys *et al.*, 2021). Dalam penelitian ini, sukrosa diganti dengan madu sehingga kemungkinan kestabilan kontrol dipengaruhi oleh sumber karbon. Namun demikian, kestabilan *viable microbial counts* pada kontrol kefir tanpa penambahan telang, tidak selalu menunjukkan terhentinya aktivitas fermentasi, namun menunjukkan bahwa mikroorganisme tetap aktif memanfaatkan sumber karbon dan menghasilkan metabolit fermentasi.



Gambar 1. Dinamika total bakteri asam laktat (BAL) selama fermentasi *water kefir* bunga telang selama 48 jam. Tanda (*) menunjukkan *estimated counts* dengan nilai berada di bawah batas kuantifikasi (<LOQ, *Limit of Quantification*)



Gambar 2. Dinamika total bakteri asam asetat (BAA) selama fermentasi *water kefir* bunga telang selama 48 jam. Tanda (*) menunjukkan *estimated counts* dengan nilai berada di bawah batas kuantifikasi (<LOQ, *Limit of Quantification*)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total BAL pada *water kefir* bunga telang di akhir fermentasi mencapai 1,37 × 10^8 CFU/mL, yang telah memenuhi batas minimum jumlah BAL pada produk fermentasi berdasarkan SNI 7552:2009, yaitu ≥10^6 CFU/mL. Dengan demikian, *water kefir* bunga telang memiliki jumlah BAL yang memadai untuk mendukung karakteristik produk fermentasi. Penurunan jumlah BAL pada jam ke-36 diduga berkaitan dengan akumulasi asam organik selama fermentasi yang menyebabkan penurunan pH dan menciptakan kondisi yang kurang optimal bagi pertumbuhan BAL. Kondisi tersebut sejalan dengan penelitian Iraporda *et al*. (2017) dan Bilac *et al.* (2023), yang melaporkan bahwa peningkatan produksi asam laktat dan asam asetat selama fermentasi kefir berkontribusi terhadap penurunan pH dan dapat memberikan tekanan asam terhadap BAL.

Peningkatan kembali jumlah BAL pada jam ke-48 mengindikasikan adanya kemampuan adaptasi mikroorganisme terhadap kondisi asam, kemungkinan melalui mekanisme *acid stress response* dan terjadinya *population shift* menuju *strain* yang lebih toleran terhadap lingkungan asam. Beberapa strain BAL pada *kefir grains*, seperti *Lactobacillus kefiranofaciens,* diketahui memiliki toleransi asam tinggi melalui mekanisme homeostasis pH dan produksi protein respons stres seperti AtpA, AtpB, DnaK, dan GroEL (Chen *et al.*, 2021; Gao *et al.*, 2022). Tingginya populasi awal BAL *water kefir* bunga telang juga diduga berkaitan dengan keberadaan mikroflora alami serta kandungan sumber karbon yang digunakan oleh BAL selama tahap awal fermentasi. Penelitian Ma'ruf *et al.* (2021) menunjukkan bahwa ekstrak metanol bunga telang mengandung mannosamine sebagai sumber karbon yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme fermentatif. Sebaliknya, pada kontrol tanpa penambahan bunga telang, jumlah BAL selama fermentasi berada di bawah batas kuantifikasi sehingga tidak dapat dihitung secara akurat. Kondisi ini diduga

disebabkan oleh *kefir grains* masih berada pada tahap aktivasi awal sehingga komunitas mikroorganismenya belum stabil dan aktivitas metaboliknya belum optimal (Andreson *et al.*, 2023; Liao *et al.*, 2024). Selain itu, pada tahap awal fermentasi sebagian besar mikroorganisme masih terikat pada matriks kefiran sehingga jumlah sel yang terdispersi dalam medium cair relatif rendah. Berbeda dengan kontrol, *kefir grains* pada sampel bunga telang telah melalui beberapa siklus fermentasi sebelumnya sehingga komunitas mikrobanya lebih matang, stabil, dan memiliki aktivitas fermentatif yang lebih tinggi (Daval *et al.*, 2024; Kumalawati *et al.*, 2025; Thibodeau *et al.*, 2025).

Parameter Mikrobiologi Total Bakteri Asam Asetat (BAA)

Total jumlah mikroba pada media GYC menunjukkan kecenderungan menurun selama fermentasi hingga jam ke-36, kemudian kembali meningkat pada jam ke-48 (Gambar 2). Pada sampel *water kefir* bunga telang, jumlah bakteri tertinggi ditemukan pada awal fermentasi sebesar 24.800 × 10^5 CFU/mL, lalu menurun menjadi 1.790 × 10^5 CFU/mL pada jam ke-24 dan mencapai 5 × 10^5 CFU/mL* pada jam ke-36. Selanjutnya, jumlah mikroba meningkat kembali pada jam ke-48 menjadi 1.170 × 10^5 CFU/mL. Sementara itu, kontrol tanpa penambahan bunga telang menunjukkan jumlah mikroba yang relatif stabil selama fermentasi pada kisaran 5 × 10^5 hingga 10 × 10^5 CFU/mL*. Tanda bintang (*) menunjukkan bahwa nilai tersebut termasuk *estimated counts* yang berada di bawah batas kuantifikasi (<LOQ). Tingginya populasi awal bakteri asam asetat (BAA) pada sampel bunga telang dibandingkan kontrol diduga dipengaruhi oleh ketersediaan substrat yang lebih tinggi dari seduhan bunga telang dan madu, sehingga mendukung pertumbuhan BAA pada tahap awal fermentasi. BAA memanfaatkan etanol hasil metabolisme khamir untuk menghasilkan asam asetat, sehingga peningkatan ketersediaan substrat turut mempercepat pertumbuhan bakteri tersebut (Laureys & De Vuyst, 2014).

Pola perubahan jumlah BAA yang cenderung serupa dengan BAL menunjukkan adanya hubungan sinergis antar mikroorganisme dalam ekosistem fermentasi kefir. Pada kontrol tanpa penambahan bunga telang, jumlah BAA selama fermentasi berada di bawah batas kuantifikasi sehingga tidak dapat dihitung secara akurat. Kondisi tersebut diduga berkaitan dengan *kefir grains* yang masih berada pada tahap adaptasi awal sehingga komunitas mikroorganismenya belum stabil dan aktivitas metaboliknya belum optimal (Andreson *et al*., 2023; Liao *et al.*, 2024). Pada penelitian ini, BAA ditemukan lebih rendah daripada BAL (Gambar 2), hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Laureys *et al.* (2021), yang melaporkan BAA ditemukan dalam jumlah rendah pada *water kefir* dikarenakan fermentasi terjadi pada kondisi anaerob, sementara BAA lebih memiliki preferensi tumbuh pada kondisi aerob.

Selain itu, rendahnya jumlah BAL dan BAA mengindikasikan bahwa komunitas mikroba pada *water kefir grains* kemungkinan lebih didominasi oleh *yeast* dibandingkan bakteri fermentatif. Hal ini sejalan dengan penelitian (Tzavaras *et al.*, 2022) yang melaporkan bahwa populasi *yeast* pada fermentasi *water kefir* berbasis gula dapat lebih tinggi atau setara dengan BAL selama fermentasi berlangsung. Dominansi *yeast* juga dipengaruhi oleh penggunaan sukrosa sebagai sumber karbon utama, karena khamir memiliki kemampuan menghidrolisis sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa melalui aktivitas enzim invertase sehingga gula sederhana tersebut dapat dimanfaatkan lebih lanjut oleh komunitas mikroba fermentasi. Aktivitas hidrolisis sukrosa oleh yeast menyebabkan pertumbuhan khamir lebih aktif pada tahap awal fermentasi sehingga populasinya menjadi lebih dominan dibandingkan BAL maupun BAA (Manoochehri *et al.*, 2020; Potrich & Amaral, 2018).

Parameter Mikrobiologi Total *Yeast*

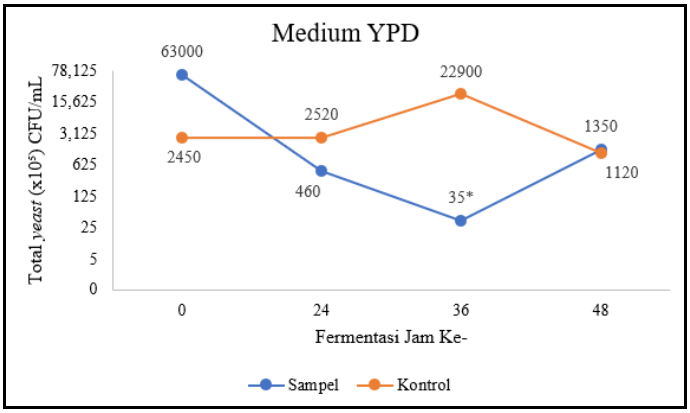
Total jumlah *yeast* pada media YPD menunjukkan pola pertumbuhan yang fluktuatif selama fermentasi (Gambar 3). Pada sampel *water kefir* bunga telang, jumlah khamir tertinggi ditemukan pada jam ke-0 sebesar 63.000 × 10^5 CFU/mL, kemudian menurun menjadi 460 × 10^5 CFU/mL pada jam ke-24 dan kembali menurun hingga mencapai 35 × 10^5 CFU/mL* pada jam ke-36. Selanjutnya, jumlah mikroba meningkat kembali pada jam ke-48 menjadi 1.120 × 10^5 CFU/mL. Sementara itu, kontrol tanpa

penambahan bunga telang menunjukkan peningkatan jumlah khamir dari 2.450 × 10^5 CFU/mL pada jam ke-0 menjadi 2.520 × 10^5 CFU/mL pada jam ke-24 dan mencapai 22.900 × 10^5 CFU/mL pada jam ke-36, sebelum akhirnya menurun menjadi 1.350 × 10^5 CFU/mL pada jam ke-48. Tanda bintang (*) menunjukkan bahwa nilai tersebut termasuk *estimated counts* yang berada di bawah batas kuantifikasi (<LOQ).

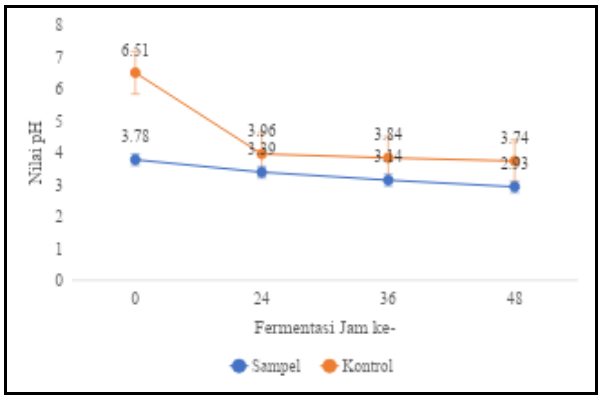
Secara umum, populasi khamir pada kedua perlakuan relatif stabil selama fermentasi, sesuai dengan penelitian (Laureys & De Vuyst, 2014) yang menyatakan bahwa khamir memiliki toleransi lebih tinggi terhadap kondisi asam dan perubahan pH dibandingkan bakteri. Beberapa khamir pada *kefir grains*, seperti *Saccharomyces cerevisiae* dan *Kluyveromyces marxianus*, diketahui mampu bertahan pada lingkungan asam sehingga tetap aktif selama proses fermentasi berlangsung (Diosma et al., 2014). Namun, populasi khamir pada sampel bunga telang cenderung lebih rendah dibandingkan kontrol dan bahkan mengalami penurunan hingga di bawah batas hitung pada jam ke-36, yang mengindikasikan adanya efek penghambatan dari bunga telang terhadap pertumbuhan khamir. Senyawa antosianin dan polifenol pada bunga telang diketahui memiliki aktivitas antimikroba terhadap berbagai mikroorganisme, termasuk fungi dan bakteri (Vidana Gamage *et al.*, 2021). Ekstrak antosianin bunga telang juga dilaporkan memiliki aktivitas antijamur terhadap beberapa spesies fungi(Mahmad et al., 2018). Meskipun perbedaan jumlah khamir antara sampel dan kontrol tidak terlalu besar, pola penurunan yang konsisten menunjukkan bahwa penambahan bunga telang berpotensi memengaruhi keseimbangan ekosistem mikroba selama fermentasi *water kefir* berlangsung.

pH *water kefir* bunga telang

Nilai pH pada kedua perlakuan, yaitu *water kefir* bunga telang dan kontrol tanpa bunga telang, mengalami penurunan selama fermentasi 0–48 jam yang menunjukkan peningkatan keasaman akibat aktivitas mikroorganisme fermentatif. Nilai pH kontrol pada hari ke-0 tergolong cukup tinggi, karena merepresentasikan pH awal substrat water kefir yang belum mengalami fermentasi lebih lanjut dan tidak mendapat penambahan seduhan bunga telang, sehingga kondisi awalnya lebih mendekati netral. Pada penelitian ini, nilai pH kontrol mengalami penurunan dari 6,51 ± 0,07 (0 jam) menjadi 3,96 ± 0,08 (24 jam), 3,84 ± 0,02 (36 jam), dan 3,74 ± 0,03 (48 jam) (Gambar 4). Hal ini sesuai dengan penelitian Zannini et al., (2023) bahwa pH awal water kefir berada pada kisaran 6–7, lalu menurun menjadi 3,0–4,5 seiring terbentuknya asam organik oleh mikroba. Sementara itu, pada sampel perlakuan water kefir bunga telang, nilai pH menurun dari 3,78 ± 0,06 pada 0 jam menjadi 3,39 ± 0,07 pada 24 jam, turun menjadi 3,14 ± 0,03 pada 36 jam dan mencapai 2,93 ± 0,04 pada 48 jam.



Gambar 3. Dinamika total *yeast* selama fermentasi *water kefir* bunga telang selama 48 jam. Tanda (*) menunjukkan *estimated counts* dengan nilai berada di bawah batas kuantifikasi (<LOQ, *Limit of Quantification*).



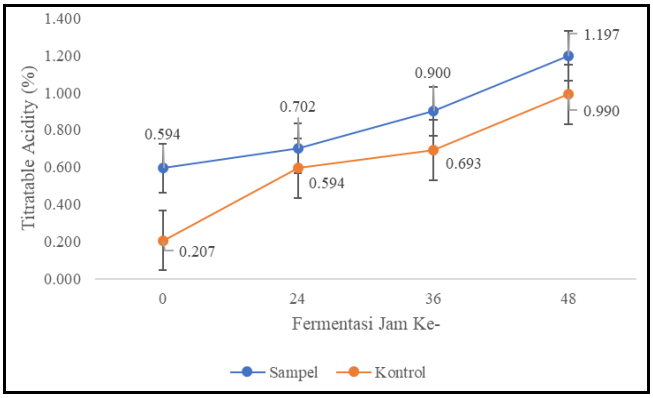
Gambar 4. Dinamika pH *water kefir* bunga telang selama 48 jam

Penurunan pH selama fermentasi *water kefir* bunga telang berkaitan dengan produksi asam organik, terutama asam laktat dan asam asetat, yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, khamir, dan bakteri asam asetat selama metabolisme substrat fermentasi (Cai *et al.*, 2020). Nilai pH awal *water kefir* bunga telang yang lebih rendah dibandingkan kontrol menunjukkan bahwa penambahan seduhan bunga telang dan madu telah menghasilkan kondisi awal yang lebih asam. Hal ini sesuai dengan penelitian Nur'Aini *et al.*, (2024) yang menunjukkan bahwa penambahan bubuk bunga telang menurunkan pH pada kefir susu kambing dari 4,755 ± 0,0589 menjadi sekitar 4,281 ± 0,0380, disebabkan karena sifat asam alami pada bunga telang. Hingga saat ini, belum terdapat SNI khusus yang menetapkan kisaran pH untuk *water kefir* (Sagala *et al.*, 2026). Nilai pH 2,93 ± 0,04 pada 48 jam menunjukkan tingkat keasaman yang tinggi dan masih berada dalam kisaran yang telah dilaporkan pada literatur untuk *water kefir* (Hastrawirid *et al.*, 2024).

Secara umum, pola penurunan pH pada penelitian ini sejalan dengan karakteristik fermentasi *water kefir* yang menghasilkan produk dengan kondisi semakin asam seiring bertambahnya waktu fermentasi, meskipun nilai pH akhir pada sampel bunga telang berada di bawah kisaran umum yang dilaporkan Cai *et al.* (2020) dengan fermentasi *water kefir* pada kondisi 25–30°C secara anaerob menghasilkan minuman asam dengan pH akhir sekitar 3,5–4,5, meskipun pada sampel penelitian ini pH akhir dapat turun lebih rendah dari rentang umum tersebut.

Titratable Acidity water kefir bunga telang

Nilai *titratable acidity* (TA) pada *water kefir* bunga telang mengalami peningkatan selama fermentasi, yaitu dari 0,594 ± 0,010^{a}% pada 0 jam menjadi 0,702 ± 0,047^{b}% pada 24 jam, kemudian meningkat menjadi 0,900 ± 0,006^{b}% pada 36 jam dan mencapai 1,197 ± 0,025^{c}% pada 48 jam. Pola serupa juga terlihat pada kontrol, dengan nilai TA meningkat dari 0,207 ± 0,021^{a}% pada 0 jam menjadi 0,594 ± 0,015^{b}% pada 24 jam, kemudian 0,693 ± 0,021^{b}% pada 36 jam, dan mencapai 0,990 ± 0,100^{c}% pada 48 jam (Gambar 5).



Gambar 5. Dinamika *titratable acidity* selama fermentasi *water kefir* bunga telang selama 48 jam

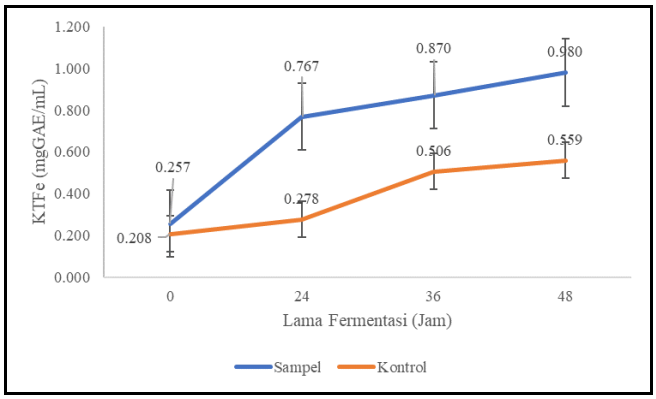
Secara umum, nilai TA pada sampel *water kefir* bunga telang lebih tinggi dibandingkan kontrol pada seluruh waktu fermentasi. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap nilai TA ($p \leq 0,05$). Uji *Kruskal–Wallis* menunjukkan adanya peningkatan nilai *mean rank* seiring bertambahnya waktu fermentasi, yang mengindikasikan terjadinya akumulasi asam organik selama fermentasi berlangsung. Uji lanjut *Mann–Whitney* menunjukkan bahwa nilai TA pada 0 jam berbeda nyata dibandingkan 24, 36, dan 48 jam, sedangkan antara 24 jam dan 36 jam tidak menunjukkan perbedaan nyata. Selain itu, perbandingan antar perlakuan menunjukkan bahwa sampel bunga telang memiliki nilai TA yang secara konsisten lebih tinggi dibandingkan kontrol pada setiap waktu fermentasi.

Peningkatan nilai TA selama fermentasi berkaitan dengan produksi asam organik, terutama asam laktat dan asam asetat, yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat selama metabolisme sukrosa pada proses fermentasi *water kefir* (Cufaoglu & Erdinc, 2023; Guzel-Seydim *et al.*, 2021). Nilai TA yang lebih tinggi pada sampel bunga telang diduga dipengaruhi oleh kandungan polifenol dan antosianin, khususnya ternatin, yang bersifat asam dan berkontribusi terhadap peningkatan total keasaman tertitrasi. Senyawa bioaktif tersebut juga diduga mendukung aktivitas metabolisme mikroorganisme fermentatif sehingga produksi asam organik menjadi lebih tinggi dibandingkan kontrol (Melia *et al*., 2024; Vidana Gamage *et al.,* 2021).

Total Fenolik pada *water kefir* bunga telang

Kadar total fenolik (KTFe) *water kefir* bunga telang mengalami peningkatan seiring bertambahnya waktu fermentasi. Pada sampel bunga telang, nilai KTFe meningkat dari $0,2573 \pm 0,0018^{a}$ mgGAE/g pada 0 jam menjadi $0,7674 \pm 0,0054^{b}$ mgGAE/g pada 24 jam, kemudian meningkat menjadi $0,8697 \pm 0,0000^{b}$ mgGAE/g pada 36 jam dan mencapai $0,9795 \pm 0,0018^{b}$ mgGAE/g pada 48 jam. Pola serupa juga terlihat pada kontrol tanpa penambahan bunga telang, yaitu dari $0,2081 \pm 0,0000^{a}$ mgGAE/g pada 0 jam menjadi $0,2775 \pm 0,0018^{a}$ mgGAE/g pada 24 jam, meningkat menjadi $0,5061 \pm 0,0000^{ab}$ mgGAE/g pada 36 jam, dan mencapai $0,5591 \pm 0,0000^{a}$ mgGAE/g pada 48 jam (Gambar 6).

Secara umum, nilai KTFe pada sampel bunga telang lebih tinggi dibandingkan kontrol pada seluruh waktu fermentasi, yang menunjukkan bahwa penambahan bunga telang berkontribusi terhadap peningkatan kandungan senyawa fenolik dalam *water kefir.* Hasil uji statistik menunjukkan bahwa waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap nilai KTFe berdasarkan uji *Kruskal–Wallis* ($H=9,941$; $p=0,019$). Uji lanjut *Mann–Whitney* menunjukkan bahwa fermentasi 0 jam berbeda nyata dibandingkan 24, 36, dan 48 jam, sedangkan antara 24, 36, dan 48 jam tidak menunjukkan perbedaan signifikan. Selain itu, hasil uji *Mann–Whitney* antar perlakuan menunjukkan bahwa penambahan bunga telang memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan KTFe ($p=0,038$), dengan nilai *mean rank* sampel telang lebih tinggi dibandingkan kontrol.



Gambar 6. Dinamika total fenolik selama fermentasi *water kefir* bunga telang selama 48 jam

Tingginya kandungan fenolik pada sampel bunga telang diduga berkaitan dengan keberadaan senyawa polifenol seperti antosianin, flavonoid, dan tanin yang larut selama proses fermentasi (Oguis *et al*., 2019). Peningkatan KTFe selama fermentasi juga dipengaruhi oleh aktivitas metabolik mikroorganisme pada *kefir grains*, terutama bakteri asam laktat dan khamir, yang menghasilkan enzim seperti tannase, ferulic acid esterase, dan β-glukosidase untuk menghidrolisis senyawa fenolik terikat menjadi bentuk bebas yang lebih mudah terdeteksi menggunakan metode *Folin–Ciocalteu* (Dueñas *et al.*, 2015).

Meskipun nilai KTFe tertinggi diperoleh pada fermentasi 48 jam, peningkatan setelah 24 jam cenderung melambat dan tidak berbeda nyata secara statistik. Hal tersebut diduga disebabkan oleh menurunnya aktivitas enzimatik mikroorganisme akibat akumulasi asam organik, penurunan pH, serta berkurangnya ketersediaan substrat fermentasi. Dengan demikian, fermentasi 24 jam dapat dipertimbangkan sebagai waktu fermentasi yang paling efisien dalam meningkatkan KTFe karena menghasilkan nilai yang tidak berbeda nyata dibandingkan fermentasi lebih lama, namun memerlukan waktu yang lebih singkat dan lebih efisien dari segi proses maupun risiko kontaminasi (Prado *et al.,* 2015). Peningkatan KTFe yang tetap terjadi pada fermentasi 36 jam meskipun jumlah BAL mengalami penurunan menunjukkan bahwa senyawa fenolik yang telah dilepaskan sebelumnya tetap terakumulasi dalam medium fermentasi. Penurunan populasi BAL pada waktu tersebut diduga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang semakin asam akibat akumulasi metabolit fermentasi sehingga sebagian sel mengalami stres fisiologis atau kematian (Bilac *et al.,* 2023).

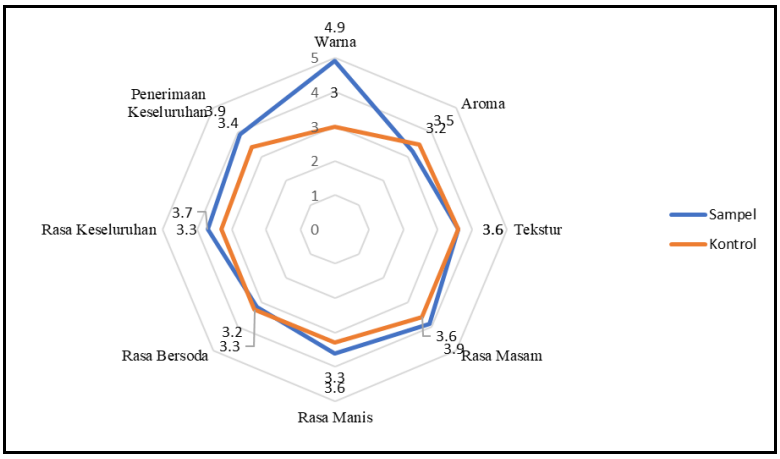
Parameter Organoleptik *Water Kefir* Bunga Telang

Sampel *water kefir* bunga telang secara umum menunjukkan nilai organoleptik yang lebih tinggi dibandingkan kontrol pada sebagian besar atribut sensori. Perbedaan paling menonjol terlihat pada atribut warna, dimana sampel memperoleh skor sekitar 4,5 sedangkan kontrol sekitar 2,8, yang menunjukkan bahwa penambahan bunga telang meningkatkan daya tarik visual produk (Gambar 7).

Warna khas tersebut diduga berasal dari kandungan antosianin, terutama ternatin, yang menghasilkan pigmen biru–ungu pada minuman fermentasi. Sementara itu, atribut aroma, tekstur, rasa masam, rasa manis, dan rasa bersoda menunjukkan nilai yang relatif serupa antara sampel dan kontrol, sehingga penambahan bunga telang tidak memberikan perubahan sensori yang berarti pada parameter tersebut. Nilai rasa keseluruhan dan penerimaan keseluruhan pada sampel bunga telang cenderung lebih tinggi dibandingkan kontrol, meskipun perbedaannya tidak terlalu besar.

Hasil analisis statistik menggunakan uji *Wilcoxon Signed-Rank Test* menunjukkan bahwa dari delapan atribut yang diuji, hanya atribut warna yang berbeda nyata antara sampel dan kontrol ($p=0{,}007$), sedangkan aroma ($p=0{,}334$), tekstur ($p=1{,}000$), rasa masam ($p=0{,}334$), rasa manis ($p=0{,}317$), rasa bersoda ($p=0{,}739$), rasa keseluruhan ($p=0{,}102$), dan penerimaan keseluruhan ($p=0{,}059$) tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p>0{,}05$).

Perbedaan nyata pada warna berkaitan dengan stabilitas pigmen antosianin bunga telang pada kondisi fermentasi yang tetap mampu mempertahankan warna menarik pada produk (Escher *et al.*, 2020; Fu *et al.*, 2021). Hasil ini juga sejalan dengan penelitian (Yuliasari *et al.*, 2023) yang melaporkan bahwa penambahan bunga telang berpengaruh nyata terhadap warna, tetapi tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap aroma dan rasa. Tidak adanya perbedaan signifikan pada atribut aroma diduga karena profil aroma produk masih didominasi oleh metabolit fermentasi seperti asam organik, alkohol, dan ester yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat, khamir, dan bakteri asam asetat (Wang *et al.*, 2015). Demikian pula, atribut tekstur dan rasa bersoda lebih dipengaruhi oleh proses fermentasi, karbonasi alami, serta produksi eksopolisakarida dibandingkan penambahan bahan herbal atau bahan nabati (Cai *et al.*, 2020; Tireki, 2025).



Gambar 7. Analisis sensori *water kefir* bunga telang selama 48 jam

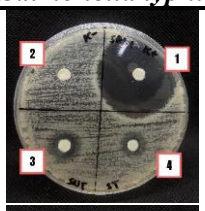
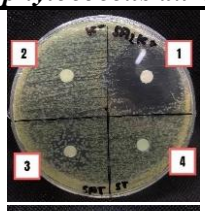
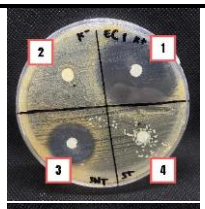
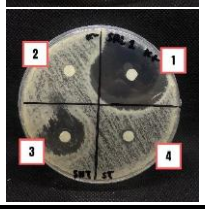
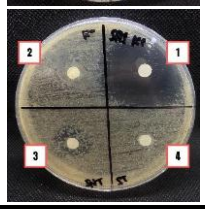
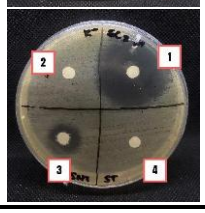
Pada atribut rasa masam dan manis, tidak adanya perbedaan nyata menunjukkan bahwa penambahan bunga telang tidak banyak memengaruhi keseimbangan asam maupun kadar gula sisa fermentasi. Meskipun nilai rasa keseluruhan dan penerimaan keseluruhan sampel bunga telang cenderung lebih tinggi, perbedaannya tidak signifikan secara statistik, yang kemungkinan berkaitan dengan adanya sensasi sedikit astringen atau pahit dari senyawa fenolik bunga telang sehingga peningkatan daya tarik visual tidak selalu diikuti oleh peningkatan penerimaan sensori secara menyeluruh (Hutabarat & Irene, 2021; Singh *et al.*, 2016).

Parameter Aktivitas Antibakteri *Water Kefir* Bunga Telang

Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram *Kirby–Bauer* terhadap tiga bakteri uji yaitu *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Ketiga bakteri tersebut dipilih karena memiliki karakteristik dinding sel yang berbeda sehingga sensitivitasnya terhadap senyawa antibakteri juga dapat berbeda. *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri Gram positif dengan lapisan peptidoglikan tebal, sedangkan *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki membran luar mengandung lipopolisakarida sehingga umumnya lebih resisten terhadap agen antimikroba. *Salmonella typhi* dipilih karena erat kaitannya dengan yaitu bakteri pencemar produk pangan dan sebagai dan penyebab demam tifoid (Naz *et al.*, 2022).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa *water kefir* bunga telang menghasilkan zona hambat terhadap *Salmonella typhi* sebesar 11,35 ± 2,30 mm, sedangkan kontrol *water kefir* tanpa bunga telang menghasilkan zona hambat lebih besar yaitu 21,35 ± 4,95 mm. Berdasarkan klasifikasi Davis dan Stout (1971), zona hambat sampel telang termasuk kategori kuat (10–20 mm), sementara kontrol termasuk kategori sangat kuat (>20 mm). Pada pengujian terhadap *Staphylococcus aureus*, baik sampel maupun kontrol tidak menunjukkan pembentukan zona hambat (0,0 mm), sedangkan terhadap *Escherichia coli*, sampel telang juga tidak membentuk zona hambat, sementara kontrol menghasilkan daya hambat sebesar 20,90 ± 3,90 mm. Kontrol positif berupa *Chloramphenicol* 30 µg menunjukkan zona hambat tertinggi pada seluruh bakteri uji, masing-masing sebesar 37,15 ± 0,35 mm terhadap *Salmonella typhi*, 37,55 ± 1,45 mm terhadap *Staphylococcus aureus*, dan 38,10 ± 2,90 mm terhadap *Escherichia coli*, sedangkan kontrol negatif berupa akuades steril tidak menunjukkan zona hambat pada seluruh pengujian.

Tabel 1. Zona bening pada parameter aktivitas antibakteri *water kefir* bunga telang fermentasi 48 jam

Ulangan	*Salmonella typhi*	*Staphylococcus aureus*	*Escherichia coli*
1			
2			

Keterangan: 1 = K+ *Chloramphenicol*; 2 = K- Akuades steril; 3 = Sampel kontrol *water kefir*; 4 = Sampel *water kefir* + bunga telang.

Tidak terbentuknya zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* mengindikasikan bahwa senyawa antimikroba yang dihasilkan selama fermentasi kurang efektif terhadap bakteri Gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal, sehingga penetrasi asam organik menjadi kurang optimal (Londero *et al.*, 2011). Sementara itu, kemampuan kontrol tanpa bunga telang dalam menghambat *Escherichia coli* diduga berasal dari aktivitas asam organik seperti asam laktat dan asam asetat dalam bentuk tidak terdisosiasi yang mampu menembus membran sel bakteri dan menurunkan pH intraseluler (Garrote *et al.*, 2000; Iraporda *et al.*, 2017). Akuades steril sebagai kontrol negatif digunakan karena tidak mengandung senyawa antimikroba sehingga tidak membentuk zona hambat, sedangkan *Chloramphenicol* digunakan sebagai kontrol positif karena bersifat antibiotik spektrum luas yang bekerja dengan menghambat sintesis protein bakteri melalui pengikatan pada subunit 50S ribosom (Dinos *et al.*, 2016).

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian, penambahan bunga telang pada fermentasi *water kefir* mampu meningkatkan kualitas mikrobiologi dan karakteristik fermentasi produk. Jumlah bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, dan yeast tertinggi diperoleh pada awal fermentasi (0 jam), sedangkan kualitas fermentasi terbaik dicapai pada 48 jam yang ditandai dengan pH terendah, nilai *titratable acidity* tertinggi, serta kandungan total fenolik tertinggi. Penambahan bunga telang juga mampu menekan pertumbuhan Enterobacteriaceae hingga berada di bawah batas keamanan pangan pada akhir fermentasi. Pada analisis sensori, perbedaan nyata hanya ditemukan pada atribut warna, sementara atribut sensori lainnya tidak berbeda signifikan. Aktivitas antibakteri *water kefir* bunga telang paling efektif terhadap *Salmonella typhi* dengan kategori daya hambat kuat, namun tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli.*

Beberapa hal yang dapat dikembangkan pada penelitian selanjutnya adalah optimasi konsentrasi stater *kefir grains* dan lama fermentasi. Selain itu, perlu dilakukan identifikasi dan kuantifikasi senyawa bioaktif spesifik, seperti kelompok fenolik atau antosianin, yang berkontribusi terhadap kadar fenolik total dan aktivitas antibakteri agar mekanisme kerjanya dapat dipahami secara lebih mendalam. Modifikasi formulasi, seperti penambahan pemanis alami atau flavoring serta penyesuaian tingkat karbonasi, juga dapat dipertimbangkan untuk meningkatkan penerimaan sensori, terutama pada atribut selain warna yang belum menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Daftar Pustaka

Andreson, M., Kazantseva, J., Malv, E., Kuldjärv, R., Priidik, R., & Kütt, M.-L. (2023). Evaluation of microbial dynamics of kombucha consortia upon continuous backslopping in coffee and orange juice.

Foods, *12*(19). https://doi.org/10.3390/foods12193545

Ansari, J. A., Naz, S., Tarar, O. M., Siddiqi, R., Haider, M. S., & Jamil, K. (2015). Binding effect of proline-rich-proteins (PRPs) on *in vitro* antimicrobial activity of the flavonoids. *Brazilian Journal of Microbiology*, *46*, 183–188. https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S1517-838246120130280

Bella, P. O., Dr. Ir. Sukardi, & Claudia Gadizza Perdani. (2021). Analisis kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dengan teknik ekstraksi ultrasonik (kajian jenis pelarut dan waktu ekstraksi) [Sarjana, Universitas Brawijaya]. https://repository.ub.ac.id/id/eprint/187726/

Bilac, C. A., Rodrigues, L. F. S., Araújo, M. O. de, Gomes, K. O., Silva, C. M. de S., Silva, I. C. R. da, & Orsi, D. C. (2023). Physicochemical characterization and antibacterial activity of Brazilian artisanal milk kefir. *Scientia Plena*, *19*(9). https://doi.org/10.14808/sci.plena.2023.091501

Cai, Y., Sounderrajan, A., & Serventi, L. (2020). Water kefir: a review of its microbiological profile, antioxidant potential and sensory quality. *Acta Scientifci Nutritional Health*, *4*(6), 10–17. https://doi.org/10.31080/ASNH.2020.04.0706

Chen, J., Chen, X., & Ho, C. L. (2021). Recent development of probiotic *Bifidobacteria* for treating human diseases. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *9*, 1371.

Chomphoosee, T., Seesuriyachan, P., Wattanutchariya, W., Tipbunjong, C., Therdtatha, P., techapun, C., Insomphun, C., Panti, N., & Moukamnerd, C. (2025). A novel beverage of coffee cherry (cascara) water kefir rich in antioxidants, bioactive compounds, and exhibiting promising antibacterial and sensory qualities. *LWT*, *219*, 117539. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117539

Cufaoglu, G., & Erdinc, A. N. (2023). Comparative analyses of milk and water kefir: fermentation temperature, physicochemical properties, sensory qualities, and metagenomic composition. *Food Bioscience*, *55*, 103079. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103079

Daval, C., Tran, T., Verdier, F., Martin, A., Alexandre, H., Grandvalet, C., & Tourdot-Maréchal, R. (2024). Identification of key parameters inducing microbial modulation during backslopped kombucha fermentation. *Foods*, *13*(8). https://doi.org/10.3390/foods13081181

Davis, W. W., & Stout, T. R. (1971). Disc plate method of microbiological antibiotic assay. *Applied Microbiology*, *22*(4), 659–665. https://doi.org/10.1128/am.22.4.659-665.1971

Dinos, G. P., Athanassopoulos, C. M., Missiri, D. A., Giannopoulou, P. C., Vlachogiannis, I. A., Papadopoulos, G. E., Papaioannou, D., & Kalpaxis, D. L. (2016). Chloramphenicol derivatives as antibacterial and anticancer agents: historic problems and current solutions. *Antibiotics*, *5*(2). https://doi.org/10.3390/antibiotics5020020

Diosma, G., Romanin, D. E., Rey-Burusco, M. F., Londero, A., & Garrote, G. L. (2014). Yeasts from kefir grains: isolation, identification, and probiotic characterization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *30*(1), 43–53. https://doi.org/10.1007/s11274-013-1419-9

Dueñas, M., Cueva, C., Muñoz-González, I., Jiménez-Girón, A., Sánchez-Patán, F., Santos-Buelga, C., Moreno-Arribas, M. V., & Bartolomé, B. (2015). Studies on modulation of gut microbiota by wine polyphenols: from isolated cultures to omic approaches. *Antioxidants*, *4*(1), 1–21. https://doi.org/10.3390/antiox4010001

Escher, G. B., Wen, M., Zhang, L., Rosso, N. D., & Granato, D. (2020). Phenolic composition by UHPLC-Q-TOF-MS/MS and stability of anthocyanins from *Clitoria ternatea* L. (butterfly pea) blue petals. *Food Chemistry*, *331*, 127341. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127341

Fatdillah, H., Febrianti, F., & Sari, D. R. (2023). Pengaruh fermentasi spontan dan *back-slopping* terhadap kualitas dadih bedasarkan total bakteri asam laktat, pH dan total titratable acidity. *Jurnal Riset Rumpun Ilmu Hewani*, *2*(2), 69–81. https://doi.org/10.55606/jurrih.v2i2.2670

Fu, X., Wu, Q., Wang, J., Chen, Y., Zhu, G., & Zhu, Z. (2021). Spectral characteristic, storage stability and antioxidant properties of anthocyanin extracts from flowers of butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.). *Molecules*, *26*(22). https://doi.org/10.3390/molecules26227000

Gao, X., Kong, J., Zhu, H., Mao, B., Cui, S., & Zhao, J. (2022). Lactobacillus, Bifidobacterium and Lactococcus response to environmental stress: mechanisms and application of cross-protection to improve resistance against freeze-drying. *Journal of Applied Microbiology*, *132*(2), 802–821. https://doi.org/10.1111/jam.15251

Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (2000). Inhibitory power of kefir: the role of organic acids. *Journal of Food Protection*, *63*(3), 364–369. https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.3.364

Gerung, W. H. P., Fatimawali, F., & Antasionasti, I. (2021). Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing botol (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pertumbuhan bakteri propionibacterium acne penyebab jerawat. *Pharmacon*, *10*(4), 1087–1093. https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.37403

Guzel-Seydim, Z. B., Gökırmaklı, Ç., & Greene, A. K. (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

Hastrawirid, R. W., Dwiloka, B., & Rizqiati, H. (2024). Effect of sucrose addition on viscosity, ph, total yeast, and hedonic quality of water kefir roselle. *Journal of Applied Food Technology*, *11*(2), 61–65. https://doi.org/10.17728/jaft.22719

Hutabarat, D. J. C. & Irene. (2021). Chemical and physical characteristics of fermented beverages from plant-based milk with the addition of butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.) extracts. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *794*(1), 012140. https://doi.org/10.1088/1755-1315/794/1/012140

Iraporda, C., Júnior, M. A., Neumann, E., Nunes, Á. C., Nicoli, J. R., Abraham, A. G., & Garrote, G. L. (2017). Biological activity of the non-microbial fraction of kefir: Antagonism against intestinal pathogens. *Journal of Dairy Research*, *84*(3), 339–345. https://doi.org/10.1017/S0022029917000358

Jeyaraj, E. J., Lim, Y. Y., & Choo, W. S. (2021). Extraction methods of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower and biological activities of its phytochemicals. *Journal of Food Science and Technology*, *58*(6), 2054–2067. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04745-3

Jeyaraj, E. J., Lim, Y. Y., & Choo, W. S. (2022). Antioxidant, cytotoxic, and antibacterial activities of Clitoria ternatea flower extracts and anthocyanin-rich fraction. *Scientific Reports*, *12*(1), 14890. https://doi.org/10.1038/s41598-022-19146-z

Jungjunan, R. A., Rahayu, P., Yulyuswarni, Y., & Ardini, D. (2023). Uji aktivitas dan efektivitas antibakteri ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Analis Farmasi*, *8*(1). https://doi.org/10.33024/jaf.v8i1.9269

Kim, D.H., Jeong, D., Kim, H., Kang, I.B., Chon, J.W., Song, K.Y., & Seo, K.H. (2016). Antimicrobial activity of kefir against various food pathogens and spoilage bacteria. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, *36*(6), 787–790. https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.6.787

Kumalawati, D. A., Dewi, R. S., Fitriani, N. R., Muchtar, S. Z., Leonardo, J., Taslim, N. A., Romano, R., Santini, A., & Nurkolis, F. (2025). Sea Grape (*Caulerpa racemosa*) kombucha: a comprehensive study of metagenomic and metabolomic profiling, its molecular mechanism of action as an antioxidative agent, and the impact of fermentation time. *Beverages*, *11*(5). https://doi.org/10.3390/beverages11050134

Laureys, D., & De Vuyst, L. (2014). Microbial species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of water kefir fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*(8), 2564–2572. https://doi.org/10.1128/AEM.03978-13

Laureys, D., & De Vuyst, L. (2017). The water kefir grain inoculum determines the

characteristics of the resulting water kefir fermentation process. *Journal of Applied Microbiology*, *122*(3), 719–732. https://doi.org/10.1111/jam.13370

Laureys, D., Leroy, F., Hauffman, T., Raes, M., Aerts, M., Vandamme, P., & De Vuyst, L. (2021). The type and concentration of inoculum and substrate as well as the presence of oxygen impact the water kefir fermentation process. *Frontiers in Microbiology*, *12*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628599

Lestari, M. W., Bintoro, V. P., & Rizqiati, H. (2018). Pengaruh lama fermentasi terhadap tingkat keasaman, viskositas, kadar alkohol, dan mutu hedonik kefir air kelapa. *Jurnal Teknologi Pangan*, *2*(1). https://doi.org/10.14710/jtp.2018.20750

Liao, T., Li, X.-R., Fan, L., Zhang, B., Zheng, W.-M., Hua, J.-J., Li, L., Mahror, N., & Cheng, L.-H. (2024). Nature of back slopping kombucha fermentation process: Insights from the microbial succession, metabolites composition changes and their correlations. *Frontiers in Microbiology*, *15*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1433127

Londero, A., Quinta, R., Abraham, A. G., Sereno, R., De Antoni, G., & Garrote, G. L. (2011). Inhibitory activity of cheese whey fermented with kefir grains. *Journal of Food Protection*, *74*(1), 94–100. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-121

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

Mahmad, N., Taha, R. M., Othman, R., Abdullah, S., Anuar, N., Elias, H., & Rawi, N. (2018). Anthocyanin as potential source for antimicrobial activity in *Clitoria ternatea* L. and *Dioscorea alata* L. *Pigment & Resin Technology*, *47*(6), 490–495. https://doi.org/10.1108/PRT-11-2016-0109

Manoochehri, H., Hosseini, N. F., Saidijam, M., Taheri, M., Rezaee, H., & Nouri, F. (2020). A review on invertase: Its potentials and applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *25*, 101599. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101599

Ma'ruf, N. Q., Antasionasti, I., Fatimawali, F., & Tallei, T. (2021). Analisis GC-MS ekstrak metanol dan n-heksan dari bunga telang (*Clitoria ternatea* L.). *Pharmacon*, *10*(2), 857–862. https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.34035

Melia, S., Juliyarsi, I., Oktania, M., & Deavy, D. D. P. (2024). Physicochemical characteristics, microbiology, and antioxidants of goat milk kefir supplemented with *Clitoria ternatea* L. extract. *Current Nutrition & Food Science*, *20*(3), 369–373. https://doi.org/10.2174/1573401319666230518153436

Mulyani, S., Sunarko, K. M. F., & Setiani, B. E. (2021). Pengaruh lama fermentasi terhadap total asam, total bakteri asam laktat dan warna kefir belimbing manis (*Averrhoa carambola*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 113–118. https://doi.org/10.35799/jis.21.2.2021.31416

Nassarawa, S. S., Nayik, G. A., Gupta, S. D., Areche, F. O., Jagdale, Y. D., Ansari, M. J., Hemeg, H. A., AL-Farga, A., & Alotaibi, S. S. (2023). Chemical aspects of polyphenol-protein interactions and their antibacterial activity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *63*(28), 9482–9505. https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2067830

Naz, F., Kumar, M., Koley, T., Sharma, P., Haque, M. A., Kapil, A., Kumar, M., Kaur, P., & Ethayathulla, A. S. (2022). Screening of plant-based natural compounds as an inhibitor of FtsZ from *Salmonella Typhi* using the computational, biochemical and *in vitro* cell-based studies. *International Journal of Biological Macromolecules*, *219*, 428–437. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.07.241

Nur'Aini, K., Prabaningtyas, S., Febrisiantosa, A., & Trinugraha, A. C. (2024). Evaluation of butterfly pea powder addition to cow's milk kefir on the antibacterial activity against bacteria causing foodborne disease. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *1377*(1), 012047. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1377/1/012047

Oguis, G. K., Gilding, E. K., Jackson, M. A., & Craik, D. J. (2019). Butterfly Pea (Clitoria ternatea), a cyclotide-bearing plant with applications in agriculture and medicine. *Frontiers in Plant Science*, *10*. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00645

Potrich, E., & Amaral, L. S. (2018). Activation energy, half-life and yield of the hydrolysis reaction of sucrose catalyzed by the enzyme invertase produced by yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *7*(2), 806–816. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.702.102

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

Rezaldi, F., Utami, A. W., Wijayanti, F. E. R., Purbanova, R., Wati, D. R., Suminar, E., Kusumiyati, K., Muajijah, M., Faizah, N. R., Cahyono, A. T., Setyaji, D. Y., Fadillah, M. F., & Yenny, R. F. (2024). Aktivitas antioksidan pada sediaan kombucha bunga telang yang diracik dari formulasi gula aren dan madu sr12 sebagai produk bioteknologi pangan dan farmasi. *Agribios*, *22*(2), 165–175. https://doi.org/10.36841/agribios.v22i2.5209

Sagala, A. S. M., Pratiwi, C., Emilia, E., Rosmiati, R., & Firmansyah, H. (2026). Identifikasi karakteristik sensori dan fisikokimia kefir air kelapa tua (*Cocos nucifera* L.). *Jurnal Al Ulum LPPM Universitas Al Washliyah Medan*, *14*(1), 84–91. https://doi.org/10.47662/alulum.v14i1.1193

Sawangrat, K., Therdtatha, P., Pundee, A., Seesuriyachan, P., & Panti, N. (2024). Development of new functional beverage: longan kefir supplemented with herbs. *Current applied science and technology*, e0259608–e0259608. https://doi.org/10.55003/cast.2024.259608

Setiawati, A. E., & Kusnadi, J. (2021). Optimization of fermentation time and grain concentration for water kefir production from butterfly pea flower (*Clitoria ternatea*). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *924*(1), 012081. https://doi.org/10.1088/1755-1315/924/1/012081

Siddham, P., Sonali, R., & MN, J. (2023). Phytochemical analysis and antimicrobial screening of *Clitoria ternatea* L. *Acta Scientific Microbiology*, *6*, 04–08. https://doi.org/10.31080/ASMI.2023.06.1223

Singh, J. P., Kaur, A., Singh, N., Nim, L., Shevkani, K., Kaur, H., & Arora, D. S. (2016). *In vitro* antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. *LWT*, *65*, 1025–1030. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.038

Suharman, S., Izzati, N. K., & Himelda, T. A. N. (2023). Analisis cemaran mikroba dalam produk minuman sari kedelai dengan metode *total plate count*. *Journal of Innovative Food Technology and Agricultural Product*, 9–13. https://doi.org/10.31316/jitap.vi.5748

Suriyaprom, S., Cheepchirasuk, N., Ngamsaard, P., Intachaisri, V., Inta, A., & Tragoolpua, Y. (2025). Thai medicinal flowers as natural antioxidants and antibacterial agents against pathogenic enteric bacteria: a comparative study of *Mesua ferrea, Mammea siamensis*, and *Clitoria ternatea*. *Antibiotics*, *14*(10). https://doi.org/10.3390/antibiotics14101038

Thibodeau, A., Reardon, P., Bartlett, B., & Curtin, C. (2025). Changes in microbial community structure during adaptation of kombucha symbiotic culture of bacteria and yeast to fermentation of sweet and acid whey. *Journal of Dairy Science*, *108*(5), 4761–4784. https://doi.org/10.3168/jds.2024-25859

Tireki, S. (2025). Influence of water properties on the physicochemical and sensorial parameters of water kefir. *Journal of Culinary Science & Technology*, *23*(3), 579–599. https://doi.org/10.1080/15428052.2024.2303002

Tzavaras, D., Papadelli, M., & Ntaikou, I. (2022). From milk kefir to water kefir: assessment of fermentation processes, microbial changes and evaluation of the produced beverages. *Fermentation*, *8*(3). https://doi.org/10.3390/fermentation8030135

Vidana Gamage, G. C., Lim, Y. Y., & Choo, W. S. (2021). Anthocyanins from clitoria ternatea flower: biosynthesis, extraction, stability, antioxidant activity, and applications. *Frontiers in Plant Science*, *12*. https://doi.org/10.3389/fpls.2021.792303

Wang, C., Chang, T., Yang, H., & Cui, M. (2015). Antibacterial mechanism of lactic acid on physiological and morphological properties of *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, *47*, 231–236.

Yıkmış, S., & Tuğgüm, S. (2019). Evaluation of microbiological, physicochemical and sensorial properties of purple basil kombucha beverage. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, *7*(9), 1321–1327. https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i9.1321-1327.2550

Yuliasari, H., Ayuningtyas, L. P., & Erminawati, E. (2023). Identifikasi senyawa bioaktif dan evaluasi kapasitas antioksidan seduhan simplisia bunga telang (*Clitoria ternatea* L.). *Jurnal Teknologi Pangan Dan Hasil Pertanian*, *18*(1), 1–9. https://doi.org/10.26623/jtphp.v18i1.6104

Zannini, E., Lynch, K. M., Nyhan, L., Sahin, A. W., O' Riordan, P., Luk, D., & Arendt, E. K. (2023). Influence of substrate on the fermentation characteristics and culture-dependent microbial composition of water kefir. *Fermentation*, *9*(1), 28. https://doi.org/10.3390/fermentation9010028