

**KARAKTERISTIK KEFIR SUSU SAPI DENGAN INOKULUM
RAGI TAPE**

(Skripsi)

Oleh

Rosmaida La Sinurat



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2018**

ABSTRACT

CHARACTERISTICS OF MILK KEFIR WITH INOCULUM RAGI TAPE

By
Rosmaida La Sinurat

Kefir is a fermented milk product that has the typical flavours (acids and alcohol). Kefir is a fermented milk product that is processed by a number of microbes which include lactic acid bacteria (LAB) and yeasts. The aim at this study is to know the character of the population of lactic acid bacteria (LAB), a population of yeasts, and chemical characters among others total acid, pH and alcohol levels in kefir milk with inoculum ragi tape. The population of LAB and the population of yeast is calculated with the method of calculation of Total Plate Count, the levels of total acid titration method are determined by the acid, acidity is measured using a pH meter and alcohol levels is determined by the method of Conway Micro Diffusion. The results showed the number of LAB has increased to 24 hour fermentations of 9.01 log cells/ml ($1,1 \times 10^9$ cells/ml), then the number of cells does not change much until the fermentation time is 48 hours and 72 hours of fermentation on the decline of 8.07 log cells /ml ($1,2 \times 10^8$ cells/ml) while the yeast experiences increased from 6 hours to 24 hours, then the amount of yeast is not much changed from the 24 to 72 hours of the highest number of yeasts during fermentation 48 hours an amount of 6.12 log cells /ml ($1,3 \times 10^6$ cells/ml) and the amount of yeasts did not decline at the time of 72 hours. Total acid increased by 1.24%, pH decreased 4.27, alcohol content increased by 0.38% w / v.

Key Words: Kefir Milk, Lactic Acid Bacteria, Ragi Tape, Yeast

ABSTRAK

KARAKTERISTIK KEFIR SUSU DENGAN INOKULUM RAGI TAPE

Oleh
Rosmaida La Sinurat

Kefir adalah produk fermentasi susu yang mempunyai rasa khas (asam dan beralkohol). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter populasi bakteri asam laktat (BAL), populasi khamir, dan karakter kimiawi yaitu total asam, pH pada kefir susu sapi dengan inokulum ragi tape. Populasi BAL dan populasi *yeast* dihitung dengan metode perhitungan cawan (*Total Plate Count*), kadar total asam ditentukan dengan metode titrasi asam, tingkat keasaman diukur menggunakan pH meter dan kadar alkohol ditentukan dengan metode cawan *Micro Conway Diffusion*. Hasil penelitian menunjukkan karakter kefir selama 72 jam fermentasi yakni sebagai berikut: jumlah BAL mengalami peningkatan hingga pada fermentasi 24 jam sebesar 9,01 log sel/ml ($1,1 \times 10^9$ sel/ml), sampai 48 jam inkubasi tidak banyak mengalami perubahan. Selanjutnya populasinya menurun pada 72 jam fermentasi dengan jumlah sel sebesar 8,07 log sel/ml ($1,2 \times 10^8$ sel/ml). Jumlah khamir mengalami peningkatan hingga pada fermentasi 24 jam sebesar 5,88 log sel/ml ($8,9 \times 10^5$ sel/ml), sampai 72 jam inkubasi tidak mengalami perubahan. Total asam mengalami peningkatan dengan jumlah 1,24%, pH mengalami penurunan 4,27, kadar alkohol mengalami peningkatan jumlah 0,38% b/v.

Kata Kunci : Bakteri Asam Laktat, Kefir Susu Sapi, Khamir, Ragi Tape

**KARAKTERISTIK KEFIR SUSU SAPI DENGAN INOKULUM
RAGI TAPE**

Oleh

Rosmaida La Sinurat

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2018**

Judul Skripsi : **KARAKTERISTIK KEFIR SUSU SAPI
DENGAN INOKULUM RAGI TAPE**

Nama Mahasiswa : **Rosmaida La Sinurat**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1417021105

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

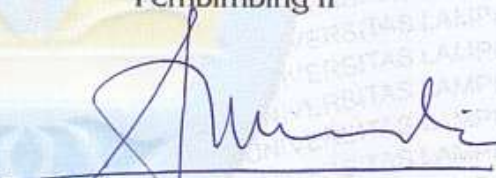
1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

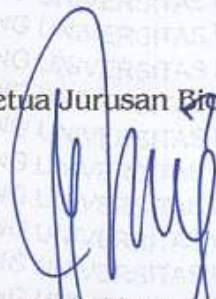


Dra. C.N. Ekowati, M.Si.
NIP 19580818 198503 2 001



Dr. Sumardi, M.Si.
NIP 19650325 199103 1 003

2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA



Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP 19660305 199103 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

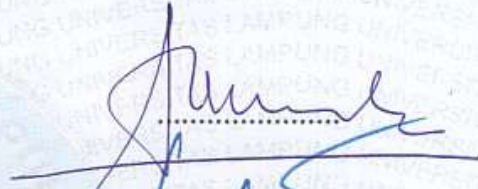
Ketua

: Dra. C.N. Ekowati, M.Si.



Sekretaris

: Dr. Sumardi, M.Si.



Penguji

Bukan Pembimbing **: Ir. Salman Farisi, M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.

NIP 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 25 Juni 2018

RIWAYAT HIDUP



Rosmaida La Sinurat, lahir pada tanggal 29 April 1996, di Natar, Lampung Selatan Provinsi Lampung. Penulis merupakan anak pertama dari pasangan Wasinton Sinurat dan Senna Sihombing.

Penulis pertama kali masuk pendidikan formal di SD Negeri 1 Merak Batin pada tahun 2002 dan tamat pada tahun 2008. Pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan ke SMP Negeri 1 Natar dan tamat pada tahun 2011. Setelah tamat SMP penulis melanjutkan pendidikan ke SMA Negeri 1 Natar dan tamat tahun 2014. Pada tahun yang sama penulis terdaftar sebagai mahasiswi di Universitas Lampung Jurusan Biologi melalui Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi (SBMPTN).

Selama di perguruan tinggi penulis aktif dalam organisasi kemahasiswaan. Pada tahun 2015 penulis menjadi Koordinator Olimpiade Biologi se-Lampung yang diselenggarakan HIMBIO pada acara PKSDA. Pada tahun 2015-2016 aktif sebagai anggota Bidang Sains dan Teknologi HIMBIO. Tahun 2016 penulis terpilih sebagai Kepala Bidang Sains dan Teknologi HIMBIO. Selama di

perguruan tinggi penulis juga aktif menjadi asisten praktikum yaitu praktikum Mikrobiologi Umum, Mikrobiologi Tanah dan Mikrobiologi Lingkungan.

Penulis menjalani Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Joharan Kecamatan Putra Rumbia Kabupaten Lampung Tengah pada tahun 2017. Kemudian pada tahun yang sama penulis melakukan kerja praktik di Laboratorium Fitopatologi SEAMEO BIOTROP (Southeast Asian Regional Centre for Tropical Biology).

PERSEMBAHAN

Puji Syukur Penulis ucapkan kepada Tuhan Yesus Kristus

Saya Persembahkan karya ini untuk orang-orang tercinta dalam hidup saya

*Kepada Orang tua dan adik-adikku tercinta yang selalu memberi-ku kasih sayang tulus,
dukungan, semangat, dan doa yang tiada henti.*

Bapak-Ibu Dosen atas ilmu pengetahuan dan bimbingannya yang tak ternilai

Saudara dan Sahabat atas dukungan, semangat, dan doa

dan Almamaterku tercinta.

MOTTO

Bersyukurlah kepada Tuhan, sebab Ia baik!
(Mazmur 106:1a)

Semoga Allah, sumber pengharapan, memenuhi kamu dengan segala sukacita dan damai sejahtera dalam iman kamu, supaya oleh kekuatan Roh Kudus kamu berlimpah-limpah dalam pengharapan.
(Roma 15:13)

Hidup harus berjalan, meskipun kamu gagal, bangkit dan ambil kesempatan lain lalu bersinarlah.
(Kim Jong Hyun NU'EST)

*There's no shortcut to perfection.
All it takes is hard work. And more hard work.*
(Kim Jong Hyun SHINee)

SANWACANA

Puji Syukur Penulis hanturkan kepada Tuhan Yesus Kristus, karena kasih dan karunia-Nya skripsi ini dapat diselesaikan. Skripsi dengan judul “**Karakteristik Kefir Susu Sapi dengan Inokulum Ragi Tape**”.

Penulis menyadari bahwa banyak bantuan yang penulis dapatkan selama mengerjakan skripsi. Dengan terselesaikan skripsi ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih kepada :

1. Bapak, Mama, Lidya Septaria Sinurat dan Edward Febryan Sinurat yang selalu memberikan doa dan motivasi baik materi dan moral selama penulis melaksanakan penelitian.
2. Ibu Dra. C. N. Ekowati, M.Si., selaku Pembimbing I yang telah dengan memberi saran, masukan, kritik serta membimbing penulis selama proses pembuatan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Sumardi, M. Si., selaku Pembimbing II yang telah dengan sabar membimbing, memberi motivasi dan berbagi ilmu serta membantu penulis selama proses menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si., selaku Pembahas yang telah dengan sabar memberi saran, masukan, kritik serta membimbing penulis selama proses pembuatan skripsi ini.

5. Ibu Dra. Yuliyanti, M.Si selaku Pembimbing Akademik yang selalu mendampingi dan memberi masukan.
6. Bapak Prof. Dr. Ir. Hasriadi Mat Akin, M. P. Selaku Rektor Universitas Lampung.
7. Bapak Prof. Warsito, D.E.A., Ph.D., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
8. Ibu Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
9. Agung Setia Ningsih, Diana Ismawati, Benny Hartanto, Ketut Mahendri (Team Banana) atas kerjasama dan bantuan yang diberikan selama penulis melaksanakan penelitian dan pembuatan skripsi.
10. Lelucu (Rany, Ndut, Depu, Ibong, Aa), Nameless (Agung, Ketut, Komang, Benny, Theo), Kance (Mian, Erwin, Raju, Kelvin), Marginal (Rizka, Jashinda, Diana, Nandia, Indri, Titin) yang telah memberikan dukungan, motivasi dan bantuan selama penulis melaksanakan penelitian dan pembuatan skripsi.
11. Bang Daniel, Andry, Kak Iyan, Sinta, Mas Ryan dan Mba Uus yang telah memberikan dukungan, motivasi dan bantuan selama penulis melaksanakan penelitian dan pembuatan skripsi.
12. Teman–teman *Microholic* 14 yang telah memberikan dukungan, motivasi dan bantuan yang diberikan selama penulis melaksanakan penelitian dan pembuatan skripsi.

13. Teman-teman yang sudah banyak mengajari dan berbagi ilmu Noe, Juple, Nabil, Intan dan Mizan yang membantu selama menuntut ilmu dan pembuatan skripsi.
14. Teman-teman Biologi A dan Biologi angkatan 2014 terima kasih banyak atas kebersamaannya.
15. Kakak dan Adik Tingkat dan seluruh Wadya Ballad HIMBIO yang telah membagi kebersamaan dan pelajaran yang sangat berarti.
16. Keluarga besar SEAMEO BIOTROP (Southeast Asian Regional Centre for Tropical Biology) yang telah memberikan pembelajaran dan pengalaman.
17. Keluarga Besar KKN Desa Joharan dan Desa Mranggi, Kecamatan Putra Rumbia, Kabupaten Lampung Tengah untuk pengalaman, pembelajaran dan kebersamaannya.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan di dalam penyusunan skripsi ini dan jauh dari kesempurnaan, akan tetapi harapan dari penulis semoga skripsi yang sederhana ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, 1 Agustus 2018
Penulis,

Rosmaida La Sinurat

DAFTAR ISI

	Halaman
SAMPUL DEPAN	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
ABSTRAK	iii
HALAMAN JUDUL DALAM	iv
HALAMAN PERSETUJUAN	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
HALAMAN PERSEMBAHAN	ix
MOTTO	x
SANWACANA	xi
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
I. PENDAHULUAN	
A. LatarBelakang	1
B. TujuanPenelitian	2
C. ManfaatPenelitian	3
D. KerangkaPemikiran	3
E. Hipotesis.....	5

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kefir	6
B. Sususapi	8
C. FermentasidenganRagi Tape.....	10
D. BakteriAsamLaktat (BAL)	11
D. Khamir	13

III. METODE PENELITIAN

A. TempatdanWaktuPenelitian.....	15
B. AlatdanBahan.....	15
C. RancanganPercobaan	16
D. PelaksanaanPenelitian.....	16
1. Fernentasi Kefir	16
2. Penentuan Total BAL	17
3. PenentuanTotal Khamir	17
4. Penentuan Total Asam	18
5. Pengukuran pH.....	18
6. Analisis KadarAlkoholdenganMetode Conway	19
E. Diagram Alir	20

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HasilPenelitian.....	21
1. Populasi BALdanKhamir.....	21
2. Total Asam, pH dan Kadar Alkohol	22
B. Pembahasan.....	24

V. KESIMPULAN..... 29

DAFTAR PUSTAKA 30

LAMPIRAN 34

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.Komposisi Gizi Susu Sapi Tiap 100 Gram.....	9
Tabel 2.Jumlah Populasi BAL (sel/ml)	35
Tabel 3.Jumlah Populasi BAL (log sel/ml).....	35
Tabel 4.Jumlah Populasi Khamir (sel/ml)	35
Tabel 5.Jumlah Populasi Khamir (log sel/ml)	35
Tabel 6.Persentase Asam	36
Tabel 7.Kadar Ph	36
Tabel 8. Kadar Alkohol	36
Tabel 9.Data Statistik Dasar larutan Standar	38
Tabel 10.Data Hasil Perhitungan Kadar Alkohol dan Rerata Kadar Alkohol	39

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Fermentasi Asam Laktat (Campbell, 2010).....	13
Gambar 2. Fermentasi Alkohol (Campbell, 2010).....	14
Gambar 3. Diagram Alir Proses Pengerjaan Penelitian	20
Gambar 4. Kurva Pertumbuhan BAL dan Khamir Kefir Susu Sapi.....	21
Gambar 5. Total Asam dan pH pada Kefir Susu Sapi	23
Gambar 6. Kadar Alkohol pada Kefir Susu Sapi	23
Gambar 7. Hubungan Absorbansi dengan Konsentrasi Larutan Standar.....	37

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Produk susu fermentasi yang dikenal masyarakat diantaranya *yoghurt*, keju dan kefir. Kefir merupakan produk olahan susu yang difermentasi oleh sejumlah mikroba yang meliputi bakteri penghasil asam laktat (BAL), bakteri penghasil asam asetat, dan khamir (Aristya dkk., 2013).

Spesies mikroorganisme dalam bibit kefir di antaranya *Lactococcus lactis*, *Lactobasillus acidophilus*, *Lactobasillus kefir*, *Lactobasilluskefir granum*, dan *Lactobasillus parakefir* yang berfungsi dalam pembentukan asam laktat dari laktosa. *Lactobasillus kefiranofaciens* sebagai pembentuk lendir (matriks butiran kefir), *Leuconostoc sp.* membentuk diasetil dari sitrat, dan *Candida kefir* pembentuk etanol dan karbondioksida dari laktosa. Selain itu juga ditemukan *Lactobasillus brevis*, dan khamir (*Torulopsis holmii* dan *Saccharomyces*) (Ide, 2008).

Menurut penelitian Sujaya dkk. (2002) pada ragi tape terdapat bakteri asam laktat (BAL) antara lain *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus curvatus*, *Weissella confusa*, dan *Weissella paramesenteroides* yang berfungsi dalam pembentukan asam laktat dari laktosa. Selain itu juga terdapat khamir *Saccharomyces*.

Khamir pada kefir belum banyak dipelajari dibanding dengan bakteri pada kefir, meskipun cukup jelas bahwa khamir pada kefir menyediakan lingkungan yang baik untuk pertumbuhan bakteri, menghasilkan metabolit yang memberi kontribusi terhadap flavor dan *mouthfeel* kefir (Farnworth, 2005). Keanekaragaman mikroorganisme pada ragi tape memenuhi syarat untuk pembuatan kefir dikarenakan adanya bakteri asam laktat dan khamir yang dapat mengubah susu sapi menjadi kefir. Hal ini didukung penelitian sebelumnya oleh Ernawati (1996), menunjukkan bahwa penggunaan ragi tape sebanyak 1 % menghasilkan curd yang lebih lembut dan aroma yang lebih baik pada pembuatan kefir.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai karakter populasi bakteri asam laktat (BAL), karakter populasi khamir, dan karakter kimiawi yaitu total asam, pH dan kadar alkohol pada kefir susu sapi dengan inokulum ragi tape.

B. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui karakter populasi bakteri asam laktat (BAL) pada kefir susu sapi dengan inokulum ragi tape.
2. Mengetahui karakter populasi khamir pada kefir susu sapi dengan inokulum ragi tape.
3. Mengetahui karakter kimiawi yaitu total asam, pH dan kadar alkohol pada kefir susu sapi dengan inokulum ragi tape.

C. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai :

1. Karakter populasi bakteri asam laktat (BAL) pada kefir susu sapi dengan inokulum ragi tape.
2. Karakter populasi khamir pada kefir susu sapi dengan inokulum ragi tape.
3. Karakter kimiawi yaitu total asam, pH dan kadar alkohol pada kefir susu sapi dengan inokulum ragi tape.

D. Kerangka Pemikiran

Hasil akhir fermentasi tergantung pada berbagai faktor, yaitu jenis substrat, macam mikroba dan kondisi di sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut. Substrat utama pada susu sapi adalah laktosa. Berdasarkan mikroba yang bekerja dalam fermentasi, fermentasi dibagi menjadi dua yaitu fermentasi spontan dan fermentasi dengan inokulum. Fermentasi susu secara spontan adalah susu segar pada umumnya akan terkontaminasi dengan beberapa macam mikroba dan yang dominan yaitu *Streptococcus lactis*, sehingga dapat menghasilkan asam laktat (Kunaepah, 2008).

Salah satu contoh fermentasi susu dengan inokulum adalah kefir. Kefir dibuat dengan inokulum yang disebut dengan biji kefir. Biji kefir merupakan kumpulan berbagai jenis mikroba. Bakteri penghasil asam laktat yang ditemukan pada biji kefir umumnya adalah *Lactobacillus kefiranofaciens*,

Lactobacillus paracasei, *Lactobacillus kefir*, *Lactococcus lactis*; bakteri penghasil asam cuka *Acetobacter sp.*; serta ragi *Torula*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Candida kefir* dan dua bakteri yogurt *L.bulgaricus* dan *S. thermophilus* dalam jumlah relatif sedikit(Widodo, 2002).

Menurut penelitian Sujaya dkk. (2002) pada ragi tape terdapat bakteri asam laktat (BAL) antara lain *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus curvatus*, *Weissella confusa*, dan *Weissella paramesenteroides* yang berfungsi dalam pembentukan asam laktat dari laktosa. Ragi tape merupakan campuran dari berbagai genus *Aspergillus*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenulla* dan bakteri *Acetobacter*. *Aspergillus* menyederhanakan tepung menjadi glukosa serta memproduksi *glukoamilase* yang akan memecah pati dengan mengeluarkan unit unit glukosa, sedangkan *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenulla* dapat menguraikan gula menjadi alkohol. Sementara *Acetobacter* dapat merombak alkohol menjadi asam.

Mikroorganisme pada ragi tape mampu memanfaatkan laktosa pada susu sapi. Laktosa berperan sebagai sumber nutrisi utama yang digunakan BAL.

Laktosa akan dihidrolisis menjadi glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim laktase (Nelson dkk., 2008). Kemudian gula diubah oleh bakteri asam laktat menjadi piruvat lalu piruvat akan diubah menjadi laktat dan diikuti dengan proses transfer elektron dengan hanya sedikit atau sama sekali tidak menghasilkan CO₂ (Belitz, 2009). Menurut Winarno dan Fernandez (2007), asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi dapat meningkatkan

keasaman atau menurunkan pHnya. Akibat terbentuknya asam laktat dan hasil metabolit BAL pada proses fermentasi akan berpengaruh pada cita rasa.

Menurut Wijaningsih (2008), pada proses fermentasi anaerob, khamir memecah glukosa menjadi alkohol dan karbondioksida. Perubahan lingkungan dapat mengakibatkan perubahan sifat morfologi dan fisiologi mikroba. Mikroorganisme pada ragi tape dapat digunakan sebagai inokulum untuk pembuatan kefir.

E.Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Adanya perbedaan karakter populasi bakteri asam laktat (BAL) pada kefir susu sapi dengan inokulum ragi tape.
2. Adanya perbedaan karakter populasi khamir pada kefir susu sapi dengan inokulum ragi tape.
3. Adanya perbedaan karakter kimiawi yaitu total asam, pH dan kadar alkohol pada kefir susu sapi dengan inokulum ragi tape.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kefir

Kefir adalah produk susu fermentasi yang mempunyai rasa yang spesifik sebagai hasil fermentasi bakteri asam laktat dan khamir (ragi) yang hidup bersama-sama dan saling menguntungkan. Kefir sangat bermanfaat bagi tubuh selain memperoleh nilai nutrisi yang baik, kefir juga memberikan manfaat kesehatan yaitu bermanfaat bagi pencernaan karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Suhu untuk fermentasi kefir berkisar 23–30°C, sehingga pembuatan kefir di Indonesia dapat menggunakan suhu ruang dan lebih ekonomis. Rasa susu fermentasi (kefir) didominasi oleh asam laktat yang timbul pada proses fermentasi laktosa oleh starter. Selama proses fermentasi berlangsung akan terjadi perubahan pada karbohidrat, protein, lemak dan bahan organik lain melalui enzim yang dikeluarkan oleh mikroorganisme tertentu. Manfaat, mutu dan cita rasa susu fermentasi (kefir) dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis susu, proses fermentasi dan jenis mikroorganisme yang digunakan (Zakaria,2009).

Kefir juga dikenal sebagai minuman probiotik, umumnya dibuat dengan jalan melakukan pasteurisasi susu kemudian diinokulasikan dengan *kefir grains* (bibit kefir) yang berisi kumpulan Bakteri Asam Laktat, khamir dan bakteri

asam asetat. Kefir berperan sebagai probiotik yang dapat menekan pertumbuhan bakteri penyebab penyakit saluran pencernaan, disamping itu juga bermanfaat bagi kesehatan karena kefir diduga dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah serta meningkatkan High Density Lipoprotein (HDL) (Farnworth,2006).

Kefir merupakan salah satu contoh bentuk pangan fermentasi yang mempunyai banyak manfaat. Berdasarkan penelitian kefir dalam dunia kesehatan yang dilakukan sebelumnya, kefir dapat menghambat pertumbuhan tumor lebih efektif daripada yoghurt, mampu menjaga pencernaan dari serangan bakteri patogen, menjaga metabolisme dan fungsi imun manusia, serta menjaga kadar kolesterol dalam darah (Farnworth, 2005).

Kefir memiliki khasiat yang baik bagi kesehatan. Banyak penelitian telah dilakukan untuk menemukan apa sebenarnya yang membuat kandungan kefir memiliki khasiat yang luar biasa. Menurut Ide (2008), berdasarkan riset dan pengalaman, kefir dapat membantu menyembuhkan keluhan-keluhan seperti:

- Alergi, asma, bronchitis
- Asam urat, encok, arthritis
- Batu ginjal, gangguan fungsi ginjal
- Diabetes, jantung, hipertensi
- Gangguan fungsi usus, maag
- Herpes, lupus, jerawat, eksim, borok
- Kanker, tumor
- Kolestrol

- Memperlambat menopause
- Mengembalikan stamina penderita setelah sakit keras
- Menghaluskan dan mengencangkan kulit
- Menghindari efek kemoterapi dan radiasi
- Migrain
- Obesitas, diet (mendukung penurunan berat badan)
- Osteoporosis/keropos tulang

B. Susu Sapi

Susu adalah sekresi yang dihasilkan *mammae* atau ambing hewan mamalia termasuk manusia dan merupakan makanan pertama bagi bayi manusia dan hewan sejak dilahirkan (Lukman dkk.,2009). Menurut SNI 01-3141-2011 definisi susu dibagi menjadi dua, yaitu susu murni dan susu segar. Susu murni adalah cairan yang berasal dari ambing sapi sehat dan bersih diperoleh dari cara pemerahan yang benar, yang kandungan alamiahnya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun. Susu segar adalah susu murni yang tidak mendapat perlakuan apapun kecuali proses pendinginan tanpa mempengaruhi kemurniannya.

Susu segar merupakan bahan makanan yang bergizi tinggi karena mengandung zat-zat makanan yang lengkap dan seimbang seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, dan vitamin yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Nilai gizinya yang tinggi juga menyebabkan susu merupakan medium yang sangat disukai oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan dan

perkembangannya sehingga dalam waktu yang sangat singkat susu menjadi tidak layak dikonsumsi bila tidak ditangani secara benar (Saleh, 2004).

Menurut Muryati dkk. (2005), komposisi gizi susu sapi tiap 100 gram dapat dilihat pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Komposisi Gizi Susu Sapi Tiap 100 gram

Komponen	Susu Sapi
Air (g)	88,33
Besi (g)	1,70
Fosfor (g)	60,00
Kalori (Kkal)	61,00
Kalsium (mg)	143,00
Karbohidrat (g)	4,30
Lemak (g)	3,50
Protein (g)	3,20
Vitamin B1 (Tiamin) (mg)	0,03
Vitamin C (mg)	1,00

Sumber lain menyatakan bahwa komposisi susu sapi terdiri atas air, lemak, dan bahan kering tanpa lemak. Bahan kering tanpa lemak terdiri atas protein, laktosa, mineral, asam, enzim, dan vitamin. Komposisi susu sapi, antara lain 3,6 % lemak, 3,2 % protein, 4,3 % laktosa, 0,8 % bahan mineral (Winarno dan Fernandes, 2007). Laktosa adalah suatu disakarida sehingga perlu dihidrolisis, hidrolisis laktosa menghasilkan D-galaktosa dan D-glukosa. Ikatan galaktosa dan glukosa terjadi antara atom karbon nomor 1 pada galaktosa dan atom karbon nomor 4 pada glukosa.

C. Fermentasi dengan Ragi Tape

Fermentasi mempunyai pengertian aplikasi metabolisme mikroba untuk mengubah bahan baku menjadi produk yang bernilai lebih tinggi, seperti asam-asam organik, protein sel tunggal, antibiotika dan biopolimer (Muhidin dkk., 2001).

Menurut US.Wheat Associates (2008), ragi terdiri dari sejumlah kecil enzim, termasuk protease, lipase, invertase, maltase dan zymase. Enzim yang penting dalam ragi adalah invertase, maltase dan zymase. Enzim invertase dalam ragi bertanggung jawab terhadap awal aktivitas fermentasi. Enzim ini mengubah gula (sukrosa) yang terlarut dalam air menjadi gula sederhana yang terdiri atas glukosa dan fruktosa. Gula sederhana kemudian dipecah menjadi karbondioksida dan alkohol.

Pemilihan ragi tape dilakukan dengan pertimbangan: (1) di dalam ragi tape terdapat mikroba-mikroba baik kapang, khamir maupun bakteri yang mampu menghidrolisis pati, menciptakan keseimbangan mikroflora usus, meningkatkan kesehatan serta membantu penyerapan zat-zat makanan (CFNP Tap Review, 2002); (2) ragi tape tersebar luas di pasar-pasar tradisional di berbagai daerah di Indonesia, sehingga tidak sulit untuk mendapatkannya; (3) ragi tape sudah biasa dikonsumsi oleh manusia sehingga aman.

Aktivitas mikroba ragi tape terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu (1) produksi enzimhidrolitik seperti amilase, proteinase, pektinase dan lipase yang menyederhanakan polimer menjadi monomer yang lebih mudah diserap

di dalam saluran pencernaan, (2) sebagai sumber nutrisi seperti vitamin, protein, karbohidrat dan kofaktor penting lainnya, (3) sebagai prebiotik karena dinding sel khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) mengandung manan-oligosakarida yang berfungsi sebagai sumber makanan bagi bakteri alami (indigenous) yang bersifat menguntungkan bagi inangnya menyebabkan bakteri *indigenous* dapat berkembang lebih pesat dan lebih dominan sehingga dapat mengurangi bakteri patogen dalam saluran pencernaan, (4) MOS juga berperan mengikat patogen (seperti: *Salmonella* sp dan *Escherichia coli*) sehingga patogen tidak dapat berkembang biak dalam saluran pencernaan sehingga keseimbangan mikroba saluran pencernaan tetap terjaga.

D. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat mampu mengubah glukosa menjadi asam laktat. Bakteri tersebut adalah *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium*. Bakteri asam laktat memanfaatkan laktosa yang akan dihidrolisis menjadi glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim laktase (Nelson dkk., 2008). Kemudian gula diubah oleh bakteri asam laktat menjadi piruvat lalu piruvat akan diubah menjadi laktat dan diikuti dengan proses transfer elektron dengan hanya sedikit atau sama sekali tidak menghasilkan CO₂ sehingga habitat pertumbuhannya hanya terbatas pada lingkungan yang menyediakan cukup gula atau bisa disebut dengan lingkungan yang kaya nutrisi. Kemampuan mereka untuk menghasilkan senyawa (biosintesis) juga terbatas dan kebutuhan nutrisi kompleks bakteri

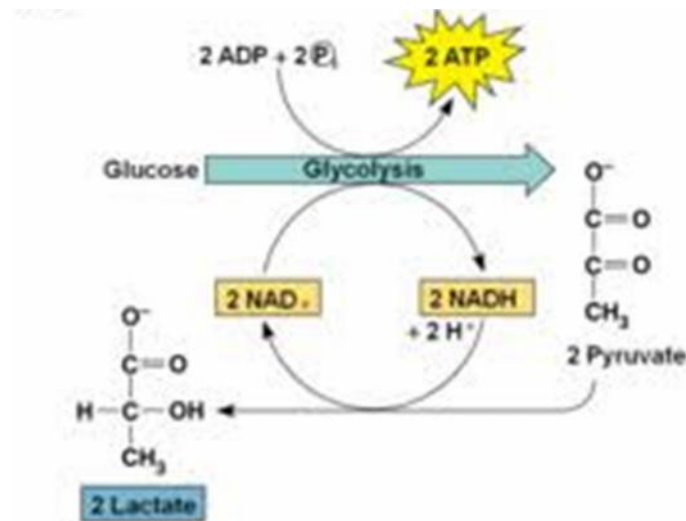
asam laktat meliputi asam amino, vitamin, purin, dan pirimidin (Madigan dan Matikno, 2006).

Menurut Moat dkk., (2002) pertumbuhan adalah proses kompleks yang melibatkan masuknya nutrisi dasar ke dalam sel, perubahan nutrisi menjadi energi dan pembentukan bagian vital sel, replikasi kromosom, peningkatan jumlah dan ukuran sel dan pembelahan sel menjadi dua sel anakan, masing - masing mengandung salinan genom dan komponen penting lainnya.

Hasil dari fermentasi tergantung pada berbagai faktor, yaitu jenis substrat, macam mikroba dan kondisi di sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut (Madigan dkk., 2013).

Perubahan lingkungan dapat mengakibatkan perubahan sifat morfologi dan fisiologi mikroba. Perubahan jumlah mikroorganisme, pH dan keasaman terjadi selama fermentasi. Selama proses fermentasi, laktosa diubah oleh bakteri asam laktat menjadi asam laktat.

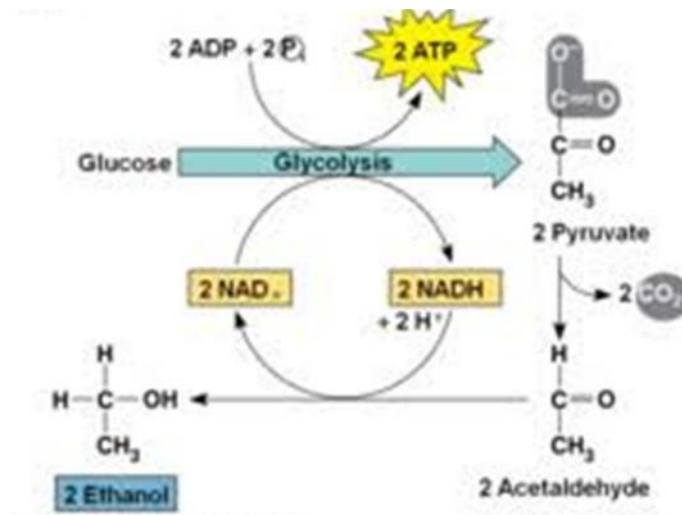
Dalam fermentasi asam laktat, piruvat direduksi langsung oleh NADH untuk membentuk laktat sebagai produk limbahnya, tanpa melepaskan CO₂. Akibat terbentuknya asam laktat dan hasil metabolit BAL pada proses fermentasi akan berpengaruh pada cita rasa (Jannah dkk., 2014). Menurut Winarno dan Fernandez (2007), asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi dapat meningkatkan keasaman atau menurunkan pHnya.



Gambar 1. Fermentasi Asam Laktat (Campbell dan Reece, 2010)

E. Khamir

Selain BAL, kelompok khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae* telah dimanfaatkan pula dalam pembuatan susu fermentasi. Khamir menggunakan glukosa untuk glikolisis, setelah tahapan glikolisis kondisi fermentasi dalam keadaan aerob, maka asam piruvat akan diubah dalam tahapan dekarboksilasi oksidatif dan dilanjutkan pada tahapan siklus krebs yang menghasilkan banyak energi yang digunakan untuk sistem kerja sel, sintesis organel sel dan untuk membentuk generasi baru (Kim dan Gadd, 2008). Pada proses fermentasi anaerob, khamir memecah glukosa menjadi alkohol dan karbondioksida melalui reaksi sebagai berikut:



Gambar 2. Fermentasi Alkohol (Campbell dan Reece, 2010)

Organisme yang berperan yaitu *Saccharomyces cerevisiae* (ragi). Dua tahap reaksi enzimnya adalah reaksi perubahan asam piruvat menjadi asetaldehida, dan reaksi reduksi asetaldehida menjadi alkohol. Dalam reaksi pertama piruvat didekarboksilasi diubah menjadi asetaldehida dan CO₂ oleh piruvat dekarboksilase, suatu enzim yang tidak terdapat dalam hewan. Dalam reaksi terakhir, asetaldehida direduksi oleh NADH dengan enzim alkohol dehidrogenase, menghasilkan etanol. Dengan demikian etanol dan CO₂ merupakan hasil akhir fermentasi alkohol, dan jumlah energi yang dihasilkan sama dengan glikolisis anaerob, yaitu 2 ATP (Jay dkk., 2005).

Adams dan Moss (2008) bahwa kandungan alkohol yang dimiliki kefir bervariasi antara 0,01 % dan 1 %. Berdasarkan penelitian Oh dkk. (2013) menyatakan bahwa kadar etanol dari kefir meningkat secara bertahap selama fermentasi.

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Penelitian ini dilakukan pada Desember 2017 sampai Februari 2018.

B. Bahan Dan Alat

Alat yang digunakan adalah cawan Petri, labu Erlenmeyer, labu ukur, rak tabung reaksi, tabung reaksi, pipet volumetri, pipet tetes, autoklaf, oven, *laminar air flow*, spektrofotometer, cawan *Micro Conway Diffusion*, *vortex*, timbangan analitik, penangas air, gelas ukur, inkubator, *orbital shaker*, lemari pendingin, buret, lampu spiritus, hot plate, kapas, korek api, *aluminium foil*, kertas label, gunting, spidol, tabel alkohol, dan *bulb*.

Bahan yang digunakan adalah isolat ragi, media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) dalam 1 liter media komposisinya adalah dekstrosa 20 gram, *beef extract* 8 gram, *yeast extract* 4 gram, ammonium sitrat 2 gram, magnesium sulfat 0,20 gram, *bacteriological agar* 10 gram, *bacteriological peptone* 10 gram, sodium asetat 5 gram, dipotasium pospat 2 gram, tween 80 1 gram dan manganese sulfat 0,05 gram. *Potato Dextrose Agar* (PDA) dalam

1 liter media komposisinya adalah *potato infuse water* 200 gram/1 liter akuades, dekstrosa 20 gram dan agar batang 15 gram, alkohol, aquades, susu sapi murni, NaOH, *phenolphthalein*, K_2CO_3 , $K_2Cr_2O_7$, kalium bikromat jenuh, kalium bikromat asam sulfat, dan *vaselin*.

C. Rancangan Percobaan

Penelitian disusun dalam percobaan dengan metode eksperimental dengan perlakuan lama fermentasi kefir, yaitu T1: lama fermentasi 0 jam, T2: lama fermentasi 6 jam, T3: lama fermentasi 12 jam, T4: lama fermentasi 24 jam, T5: lama fermentasi 48 jam dan T6: lama fermentasi 72 jam. Masing masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Populasi BAL dan populasi khamir dihitung dengan metode perhitungan cawan (*Total Plate Count*), kadar total asam laktat ditentukan dengan metode titrasi asam, tingkat keasaman diukur menggunakan pH meter dan kadar alkohol ditentukan dengan metode cawan *Micro Conway Diffusion*. Kelima parameter akan dianalisis secara deskriptif.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Fermentasi Kefir

Sebanyak 100 ml susu sapi dimasukkan ke Erlenmeyer 250 ml steril lalu ditambah ragi tape sebanyak 1 gram atau 1 % dari volume susu (Ernawati, 1996). Pengamatan dilakukan pada inkubasi 0 jam, 6 jam, 12 jam, 24 jam, 48 jam dan 72 jam. Pengocokan dilakukan selama 10 menit pada *orbital*

shaker dengan kecepatan 100 rpm pada inkubasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam.

2. Penentuan Total BAL (Hidayati,2011)

Penentuan total BAL dilakukan dengan menggunakan metode hitungan cawan (*Total Plate Count*). Sebanyak 1ml sampel (kefir) dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades steril sebanyak 9ml dan dihomogenisasi menggunakan *vorteks mixer*. Dari pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} masing-masing diambil sebanyak 1ml sampel kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri. Medium *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) steril yang ditambah CaCO_3 sebanyak 1 % dimasukkan ke cawan petri. Kemudian media dan suspensi diratakan dengan menggoyangkan cawan (metode *pour plate*). Lalu inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Kemudian dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah koloni.

3. Penentuan Total Khamir (Fardiaz, 1993)

Media yang digunakan adalah PDA (*Potato Dextrose Agar*) dengan antibiotik *streptomycin* sebanyak 1 %. Sebanyak 1 ml sampel (kefir) dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi aquades steril sebanyak 9 ml dan dihomogenisasi menggunakan *vorteks mixer*. Dari pengenceran 10^3 , 10^{-4} , 10^{-5} masing-masing diambil sebanyak 1 ml sampel kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri. Sebanyak 15 ml media PDA ditambahkan ke dalam cawan petri dan dihomogenkan. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 48 jam. Kemudian dilakukan pengamatan dengan menghitung jumlah koloni.

4. Penentuan Total Asam (Underwood, 1989)

Metode titrasi ini dilakukan dengan mengisi buret dengan NaOH 0,1N perlahan-lahan sehingga tidak ada gelembung udara didalamnya. Susu ditimbang dalam Erlenmeyer sebanyak 18 gram, lalu ditambahkan 0,5 (10 tetes) *phenolphthalein* 1 % sebagai indikator. Kemudian dilakukan titrasi dengan NaOH 0,1 N sambil dikocok sampai terbentuk warna merah muda yang stabil. Setelah itu pemakaian titer dicatat dan asiditas susu dihitung sebagai persen asam laktat.

$$\text{Total Asam} = \frac{A \times B \times 0.009}{C} \times 100 \%$$

Keterangan:

A = Volume NaOH terpakai (ml)

B = Konsentrasi NaOH (N)

C = Volume sampel yang dianalisis (ml)

0,009 = BE

5. Pengukuran pH (Sudarmadji, 1997)

Pengukuran pH dengan menggunakan pH meter. PH meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan buffer untuk pH 4, pH 7, dan pH 9 sesuai kisaran pH. Kemudian dilakukan pengukuran dengan mencelupkan elektroda pH meter kedalam 10 ml sampel. Hasil akan langsung diketahui dengan membaca angka yang ditunjukkan oleh alat.

6. Analisis Kadar Alkohol dengan Metode Conway (Yuwono dan Susanto, 1998)

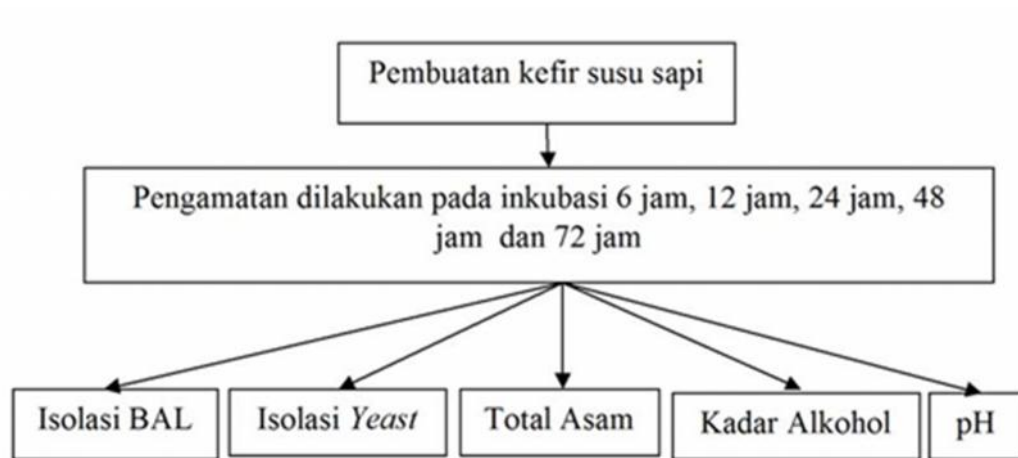
Persiapan Sampel

- a. 1 ml larutan kalium bikromat asam sulfat dimasukkan pada bagian tengah cawan.
- b. 1 ml sampel dan 1ml kalium bikromat jenuh dimasukan secara terpisah pada bagian tepi cawan.
- c. Cawan ditutup dengan hati-hati dan dirapatkan dengan *vaselin*.
- d. Cawan digoyangkan dengan perlahan sehingga sampel dan larutan kalium karbonat jenuh tercampur dengan baik.
- e. Setelah tercampur biarkan selama 1–2 jam dan amati perubahan warna pada larutan kalium bikromat asam sulfat pada bagian tengah cawan.
- f. Perubahan warna kalium bikromat asam sulfat dari warna kuning menjadi hijau menunjukkan adanya etanol dalam sampel yang diuji.

Penentuan Kadar Alkohol

- a. Larutan kalium bikarbonat diambil dengan mikropipet, diusahakan semua larutan terambil.
- b. Larutan dimasukan ke dalam labu takar 10 ml dan diencerkan sampai tanda batas.
- c. Absorbansinya diamati menggunakan spektrofotometer pada $\lambda = 480\text{nm}$.
- d. Konsentrasi alkohol dapat diketahui dengan cara menggunakan perbandingan kurva standart. Pembuatan kurva standart dengan cara membuat sampel dengan kadar alkohol 0.025 % ; 0.055 % ; 0.075 % dan 1 % kemudian diamati absorbansinya dengan $\lambda = 480 \text{ nm}$

E. Diagram Alir



Gambar 3.Diagram Alir Proses Pengerjaan Penelitian

V. KESIMPULAN

Karakter kefir selama 72 jam fermentasi yakni sebagai berikut:

1. Jumlah BAL mengalami peningkatan hingga pada fermentasi 24 jam sebesar 9,01 log sel/ml ($1,1 \times 10^9$ sel/ml), sampai 48 jam inkubasi tidak banyak mengalami perubahan. Selanjutnya populasinya menurun pada 72 jam fermentasi dengan jumlah sel sebesar 8,07 log sel/ml ($1,2 \times 10^8$ sel/ml).
2. Jumlah khamir mengalami peningkatan hingga pada fermentasi 24 jam sebesar 5,88 log sel/ml ($8,9 \times 10^5$ sel/ml), sampai 72 jam inkubasi tidak mengalami perubahan.
3. Total asam mengalami peningkatan dengan jumlah 1,24 %, pH mengalami penurunan 4,27, kadar alkohol mengalami peningkatan jumlah 0,38 %b/v.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M.R. dan M.O. Moss. 2008. *Food Microbiology*. 3rd Edn. The Royal Society of Chemistry Publishing. UK.
- Afriani, Suryono dan H. Lukman. 2011. Karakteristik Dadih Susu Sapi Hasil Fermentasi Beberapa *Starter* Bakteri Asam Laktat Yang Diisolasi Dari Dadih Asal Kabupaten Kerinci. *Agrinak*. Vol . 01 No. 1.
- Aristya, A.L., A.M. Legowo dan Ahmad. 2013. Karakteristik Fisik, Kimia, Dan Mikrobiologis Kefir Susu Kambing Dengan Penambahan Jenis Dan Konsentrasi Gula Yang Berbeda. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. Vol. 2 No. 3.
- Badan Standar Nasional. 2011. *Susu Segar Bag. 1 Sapi*. SNI No. 01-3141-2011.
- Ballows, A., H.G. Truper, M. Dworkin, W. Harder dan K.H. Schleifer. 1991. *The Prokaryotes. 2nd. Edition, A handbook on the Biology of Bacteria*. Chapter 70.
- Belitz, H.D., W. Grosch, dan P. Schieberle. 2009. *Food Chemistry. Edisi 4 Revisi*. Springer Berlin. Berlin.
- Campbell, N.A. dan J.B. Reece. 2010. *Biologi, Edisi Kedelapan Jilid 1*. Erlangga. Jakarta.
- Center for Food and Nutrition Policy (CFNP) Technical Advisory Panel (TAP) Review. 2002. *Cell Wall Carbohydrates: Livestock*. CFNP. Virginia.
- Codex. 2003. *Codex Standard for Fermented Milks: Codex STAN 243*. FAO/WHO Food Standards. Codex Alimentarius Commission.
- Delcour, J., T. Ferain, M. Deghorain, E. Palumbo dan P. Hols. 1999. *The biosynthesis and functionality of the cell-wall of lactic acid bacteria*. *Antonie van Leeuwenhoek* 76: 159–184.
- Draphco, C.M., N.P. Nhuan., dan T.H. Walker. 2008. *Biofuels Engineering Process Technology*. The McGrawHill Companies, Inc. USA.

- Ernawati. 1996. *Fermentasi Susu Menggunakan Ragi Tape dan Biji Kefir Kering*. Ilmu Produksi Ternak. Institut Pertanian Bogor.
- Fadiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fardiaz, S. 1993. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan*. Jurusan Tekonologi Pangan dan Gizi, FATETA, IPB. Bogor.
- Farnworth, E.R. 2005. Kefir–A Complex Probiotic. Food Research and Development Centre, Agriculture and Agri-food Canada. St. Hyacinthe, Quebec, Canada J2S 8E3. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods 2* (1) 1-17.
- Farnworth, E.R. 2006. Kefir –A Complex Probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Funtional Foods*. Vol 2, Issue 1.
- Hidayati, D. 2011. Pola Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Selama Fermentasi Susu Kedelai. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, Vol. III, No. 2, Agustus 2010. 72-76.
- Ide, P. 2008. *Health Secret of Kefir, Mengungkap Keajaiban Susu Asam untuk Penyembuhan Berbagai Penyakit*. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Jannah, S.N., A. Dinoto, K.G. Wiryawan dan I. Rusmana. 2014. Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Gastrointestinal Tract of Cemani Chicken and Their Potential Use as Probiotics. *Media Peternakan 37*, 143-214.
- Jay, J.M, M.J. Loessner dan G. A. Golden. 2005. *Modern Food Microbiology*. 7th ed. Springer. New York.
- Kim, B.H. dan G.M. Gadd, 2008. *Bacterial Physiology and Metabolism*. Cambridge University Press. Cambridge, hal 220.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. *Tesis*. Semarang. Universitas Diponegoro.
- Lukman, D.W., M. Sudarwanto, A.W Sanjaya, T. Purnawarman, H. Latif, dan R.R. Soejoedono. 2009. *Pemerahan dan Penanganan*. Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Madigan, M.T. dan J.M.Martinko. 2006. *Brock: Biology of Microorganism*. Pearson Education International. Page.375-377.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, dan J. Parker. 2013. *Biology of Microorganisms*. 12 th ed. New York: Prentice Hall International.

- Magalhães, K.T., G.V.M. Pereira, C.R. Campos, G. Dragone dan R.F. Schwan. 2011. Brazilian Kefir: Structure, Microbial Communities and Chemical Composition. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42: 693-702.
- Moat G., Albert, Foster, W. Jhon, Spector, dan Michael. 2002. *Microbial Physiology, Fourth Edition*. Willey-Liss Inc. New York.
- Muhidin, N.H., N. Juli dan I. N. P. Aryantha. 2001. Peningkatan Kandungan Protein Kulit Umbi Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi. *JMS*. Vol. 6. No.1.
- Muryati, S., W. Sugiyo, Jumaeri, dan W. Astuti. 2005. *Keterampilan Hidup Berbasis Kimia Hijau Life Skill*. UPT UNNES Press. Semarang.
- Nelson, D.L. dan M.M Cox, 2008. *Lehning Principles of Biochemistry. 5th Edition*. W.H. Freeman and Company. New York.
- Oh, N.S., H.A. Lee, J.H. Myung, J.Y. Lee dan J.Y. Joung. 2013. Effect of Different Commercial Oligosaccharides on The Fermentation Properties in Kefir During Fermentation. *Korean Journal for Food Science of Animal Resource* 33: 325-330.
- Rahman, A., S. Fardiaz, W.P. Rahayu, Suliantari dan C.C. Nurwitri. 1992. *Teknologi Fermentasi Susu*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Rahmawati, E. 2015. Kadar Protein, Ph dan Jumlah Bakteri Asam Laktat Yoghurt Susu Sapi dengan Variasi Penambahan Sari Daun Kelor dan Lama Fermentasi yang Berbeda. *Skripsi*. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sadler, G.D. dan P.A. Murphy. 2003. *pH and Titratable Acidity. Food Analysis Third Edition: Purdue University*. West Lafayette. Indiana.
- Saleh, E. 2004. *Teknologi Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Sudarmadji, S., Bambang, dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Sujaya, I.N., S. Amachi, K. Saito, A. Yokota, K. Asano dan F. Tomita. 2002. Specific Enumeration of Lactic Acid Bacteria in Ragi Tape by Colony Hybridization with Specific Oligonucleotide Probes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. No.18: 263-270.
- Sunarlim, R. 2009. *Potensi Lactobacillus sp. Asal Dadih sebagai Starter pada Pembuatan Susu Fermentasi Khas Indonesia*. Balai Teknologi Pascapanen Pertanian 5:69-76.

- Tiska, F.B., A. Sustiyah dan A.N. Al-Baarri. 2011. *Total Bakteri Asam Laktat, Nilai Ph, dan Adhesiveness Susu Bifidus Berbahan Baku Susu dari Peternakan yang Berbeda dengan Penambahan Ekstrak Buah-Buahan Lokal*. Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro. Semarang.
- U.S Wheat Associates. 2008. *Pedoman Penggunaan Ragi dan Enzim*. Djambatan. Jakarta.
- Underwood, A.L. 1989. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Edisi ke-5. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Widodo, W. 2002. *Bioteknologi dan Fermentasi Susu*. Pusat Pengembangan Bioteknologi. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Wijaningsih, W. 2008. Aktivitas AntiBakteri In Vitro dan Sifat Kimia Kefir Susu Kacang Hijau (*Vigna radiata*) oleh Pengaruh Jumlah Starter dan Lama Fermentasi. *Tesis*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Winarno, F.G. dan I.E. Fernandez. 2007. *Susu dan Produk Fermentasinya*. Mbrion Press. Bogor.
- Yusriah, N. H. dan R. Agustini. 2014. Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Bibit Kefir terhadap Mutu Kefir Susu Sapi. UNESA. *Jurnal of Chemistry* Vol. 3, No. 2.
- Yuwono, S. dan T. Susanto. 1998. *Pengujian Fisik Pangan*. UNESA University Press. Surabaya.
- Zakaria, Y. 2009. Pengaruh Jenis Susu dan Persentase Starter yang Berbeda terhadap Kualitas Kefir. Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh. *Jurnal Agripet*. Vol (9) No. 1: 26-30.