

**KEANEKARAGAMAN BAKTERI ASAM LAKTAT DAN KHAMIR PADA  
KEFIR SUSU SAPI DAN KEFIR SUSU KEDELAI**

**(Skripsi)**

**Oleh  
KETUT MAHENDRI**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

## ABSTRAK

### KEANEKARAGAMAN BAKTERI ASAM LAKTAT DAN KHAMIR PADA KEFIR SUSU SAPI DAN KEFIR SUSU KEDELAI

Oleh

**Ketut Mahendri**

Kefir merupakan salah satu produk fermentasi susu yang dibuat dengan bahan baku susu hewani dan susu nabati. Komposisi dari bahan baku pembuatan kefir akan menentukan keanekaragaman bakteri asam laktat (BAL) dan khamir yang membentuk kefir. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui keanekaragaman populasi BAL dan khamir pada kefir susu sapi dan kefir susu kedelai. Populasi BAL dan populasi khamir ditentukan dengan indeks kesamaan masing-masing koloni dengan rumus pendekatan klasifikasi numerik. Jumlah total BAL dihitung dengan metode perhitungan cawan (*total plate count*) dan keanekaragaman BAL dan khamir dihitung dengan rumus indeks keanekaragaman Shannon Wiener.

Hasil penelitian menunjukkan indeks keanekaragaman ( $H'$ ) BAL pada kefir susu sapi tergolong rendah ( $H' < 1$ ) yaitu sebesar 0,936, sedangkan  $H'$  BAL pada kefir susu kedelai tergolong sedang ( $1 < H' < 3$ ) yaitu sebesar 1,024. Indeks keanekaragaman ( $H'$ ) khamir pada kefir susu sapi dan kefir susu kedelai tergolong rendah, yaitu  $H'$  khamir pada kefir susu sapi sebesar 0,799, sedangkan  $H'$  khamir pada kefir susu kedelai sebesar 0,732.

**Kata Kunci:** kefir susu sapi, kefir susu kedelai, keanekaragaman ( $H'$ ), bakteri asam laktat, dan khamir

**KEANEKARAGAMAN BAKTERI ASAM LAKTAT DAN KHAMIR PADA  
KEFIR SUSU SAPI DAN KEFIR SUSU KEDELAI**

**Oleh**

**KETUT MAHENDRI**

**Skripsi**

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

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



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

**Judul Skripsi : KEANEKARAGAMAN BAKTERI ASAM  
LAKTAT DAN KHAMIR PADA KEFIR  
SUSU SAPI DAN KEFIR SUSU KEDELAI**

**Nama Mahasiswa : Ketut Mahendri**

**Nomor Pokok Mahasiswa : 1417021058**

**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**

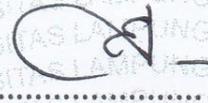
**Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.**  
NIP 19660305 199103 2 001

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

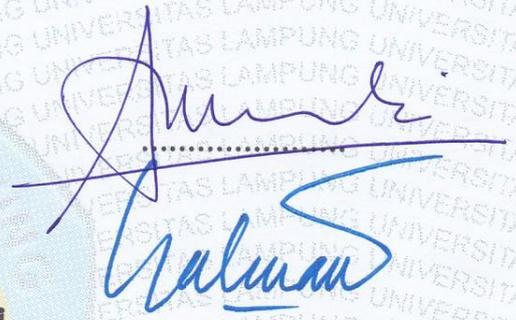
**Ketua**

**: 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 : 6 Juli 2018**

## RIWAYAT HIDUP



Ketut Mahendri adalah putri dari pasangan Wayan Tinut dan Wayan Lemes yang lahir di Balinuraga, Kecamatan Way Panji, Kabupaten Lampung Selatan pada tanggal 25 September 1995.

Penulis mengawali pendidikan di SD Negeri 3 Balinuraga pada tahun 2002, kemudian melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Kalianda pada tahun 2008. Setelah menamatkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama penulis selanjutnya meneruskan pendidikan di SMAN 1 Kalianda pada tahun 2011. Lulus dari Sekolah Menengah Atas penulis kemudian menempuh pendidikan di Perguruan Tinggi Negeri Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN pada tahun 2014 di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten Mikrobiologi Umum dan Mikrobiologi Tanah. Penulis juga aktif berorganisasi dan menjadi anggota Biro Kesekretariatan dan Logistik di HIMBIO (Himpunan Mahasiswa Biologi). Pada masa perkuliahan penulis pernah melaksanakan Karya Wisata

Ilmiah di Desa Sidokaton, Kecamatan Gisting, Kabupaten Tanggamus selama 7 hari. Penulis juga pernah melaksanakan penelitian dalam Program Kreatifitas Mahasiswa (PKM) dengan judul “Potensi Bakteri Asam Laktat Asal Tempoyak sebagai Pengawet Hayati Tahu”. Program Kuliah Kerja Nyata (KKN) penulis laksanakan pada tahun 2017 di Desa Cabang, Kecamatan Bandar Surabaya, Kabupaten Lampung Tengah selama 40 hari. Penulis juga melaksanakan Kerja Praktik di UPTD Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Provinsi Lampung pada 15 Juli 2017 sampai dengan 5 Agustus 2017 dengan judul “**Uji *Staphylococcus aureus* pada Produk Tuna Kaleng *in Oil* dengan Metode SNI 2332-9-2015 di Laboratorium Pengendalian dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan (LPPMHP) Provinsi Lampung**”.

## *PERSEMBAHAN*

*Om Awighnam Astu Namō Sidham  
Om Sidhirastu Tat Astu Swaha*

*Puji syukur Sang Hyang Widhi Wasa atas segala berkat-Mu,*

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

*Kepada Orang tua-ku 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

*“It is impossible to live without failing at something, unless you live so cautiously that you might as well not have lived at all, in which case, you fail by default.”*  
(J.K Rowling)

*“Keinginan membuat kita menembus berbagai hal untuk mengejar cita cita  
Dan dari keinginan ini, hiduplah cahaya pengetahuan.  
Saat keinginan tidak terpenuhi, kita akan hancur . Dari kehancuran, pengetahuan  
bangkit dari hati manusia”*  
(Candayoga Upanisad)

*“Keluarlah dari zona nyaman. Hal luar biasa akan terjadi”*  
(Anonymous)

## SANWACANA

Puji Syukur Penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Keanekaragaman Bakteri Asam Laktat dan Khamir pada Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kedelai”**.

Dengan terselesaikannya skripsi ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Warsito, D.E.A., Ph.D., selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
2. Ibu Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
3. Ibu Dra. C.N. Ekowati, M.Si. selaku Pembimbing utama atas bimbingan, bantuan saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi.
4. Bapak Dr. Sumardi, M.Si. selaku Pembimbing kedua atas bimbingan, bantuan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi.
5. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si. selaku Pembahas atas bimbingan, bantuan, saran dan kritik dalam proses penyelesaian skripsi.
6. Ibu Dra. Tundjung T. Handayani, M.S. selaku Pembimbing Akademik atas nasihat dan bimbingan selama ini.

7. Orang tua-ku tercinta, terimakasih atas doa, dukungan, semangat, dan nasehatnya selama ini.
8. Paman dan Bibi-ku ( Pak Nyoman dan Bi Dewi) terimakasih atas doa, nasehat, dan dukungannya selama ini.
9. Kakak-kakak dan adik-ku tercinta ( Mba Wayan, NDA, dan Putra), terimakasih atas doa, semangat, dan nasehatnya selama ini.
10. Teman terbaik-ku Riza dan Citra terimakasih untuk dukungan dan doa kalian.
11. Teman sejak awal berkuliah dan teman sepermainan Agung, Benny, Komang, Ros, dan Theo terimakasih sudah banyak meluangkan waktu bersama, berbagi keluh kesah, dan dukungannya.
12. Diana, Indri, Jessy, Nandia, Rizka, dan Titin terimakasih tak terhingga untuk kalian.
13. Teman-teman satu tim penelitian Benny, Diana, Agung, dan Rosma terimakasih sudah banyak membantu tenaga dan waktu dalam penelitian selama ini.
14. Teman-teman Microholic'14 terimakasih banyak atas kebersamaannya.
15. Keluarga Asrama Raflesia ( Kak Linda, Anggun, dan Riza) terimakasih atas bantuan, dukungan, doa, dan semangat yang kalian berikan.

16. Teman-teman Biologi A dan Biologi angkatan 2014 terimakasih banyak atas kebersamaannya.

Akhir kata, penulis menyadari masih banyak kesalahan dalam penulisan dan penyusunan skripsi ini, namun terlepas dari itu semua sedikit harapan penulis skripsi ini dapat memberi manfaat untuk kita semua.

Bandar Lampung, Agustus 2018

Penulis,

**Ketut Mahendri**

## DAFTAR ISI

|                                   | Halaman     |
|-----------------------------------|-------------|
| <b>SAMPUL DEPAN .....</b>         | <b>i</b>    |
| <b>ABSTRAK .....</b>              | <b>ii</b>   |
| <b>HALAMAN JUDUL DALAM .....</b>  | <b>iii</b>  |
| <b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>  | <b>iv</b>   |
| <b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>    | <b>v</b>    |
| <b>RIWAYAT HIDUP .....</b>        | <b>vi</b>   |
| <b>HALAMAN PERSEMBAHAN .....</b>  | <b>viii</b> |
| <b>MOTTO .....</b>                | <b>ix</b>   |
| <b>SANWACANA .....</b>            | <b>x</b>    |
| <b>DAFTAR ISI.....</b>            | <b>xiii</b> |
| <b>DAFTAR TABEL .....</b>         | <b>xv</b>   |
| <b>DATAR GAMBAR .....</b>         | <b>xvi</b>  |
| <b>I. PENDAHULUAN .....</b>       | <b>1</b>    |
| A. Latar Belakang.....            | 1           |
| B. Tujuan Penelitian .....        | 3           |
| C. Manfaat Penelitian .....       | 3           |
| D. Kerangka Pikir .....           | 4           |
| E. Hipotesis.....                 | 5           |
| <b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b> | <b>6</b>    |
| A. Kefir.....                     | 6           |
| B. Fermentasi Asam Laktat .....   | 10          |
| C. Bakteri Asam Laktat .....      | 10          |

|   |           |
|---|-----------|
| D. Khamir .....   | 12        |
| E. Ragi Tape .....  | 14        |
| F. Indeks Kesamaan.....   | 14        |
| G. Keanekaragaman Shannon Wiener .....  | 15        |
| <b>III. METODE PENELITIAN.....</b>  | <b>17</b> |
| A. Waktu dan Tempat Penelitian.....   | 17        |
| B. Alat dan Bahan.....  | 17        |
| C. Metode Penelitian .....  | 18        |
| D. Prosedur Kerja .....   | 18        |
| E. Diagram Alir .....   | 25        |
| <b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>  | <b>26</b> |
| A. Isolasi BAL dari Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kedelai .....                              | 26        |
| B. Isolasi Khamir dari Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kedelai .....                           | 28        |
| C. Jumlah Sel BAL dan Khamir pada Kefir Susu Sapi dan Kefir<br>Susu Kedelai .....             | 29        |
| D. Indeks Kesamaan Koloni Bal dan Khamir pada Kefir Susu Sapi<br>dan Kefir Susu Kedelai ..... | 31        |
| E. Indeks Keanekaragaman (H') BAL pada Kefir Susu Sapi dan<br>Kefir Susu Kedelai.....         | 33        |
| F. Indeks Keanekaragaman (H') Khamir pada Kefir Susu Sapi dan<br>Kefir Susu Kedelai.....      | 34        |
| <b>V. KESIMPULAN .....</b>  | <b>36</b> |
| A. Kesimpulan .....   | 36        |
| B. Saran.....   | 36        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>   | <b>37</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>  | <b>41</b> |

## DAFTAR TABEL

|  | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 1. Komposisi Gizi Susu Kedelai Cair dan Susu Sapi<br>Tiap 100 Gram.....                  | 9       |
| Tabel 2. Morfologi Koloni BAL pada Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu<br>Kedelai.....              | 26      |
| Tabel 3. Morfologi Koloni Khamir pada Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu<br>Kedelai.....           | 28      |
| Tabel 4. Jumlah Sel BAL dan Khamir pada Kefir Susu Sapi dan Kefir<br>Susu Kedelai.....         | 29      |
| Tabel 5. Indeks Kesamaan Populasi BAL pada Kefir Susu Sapi dan<br>Kefir Susu Kedelai .....     | 32      |
| Tabel 6. Indeks Kesamaan Populasi Khamir pada Kefir Susu Sapi dan<br>Kefir Susu Kedelai .....  | 32      |
| Tabel 7. Indeks Keanekaragaman (H') BAL pada Kefir Susu Sapi dan<br>Kefir Susu Kedelai.....    | 33      |
| Tabel 8. Indeks Keanekaragaman (H') Khamir pada Kefir Susu Sapi dan<br>Kefir Susu Kedelai..... | 34      |
| Tabel 9. Unit Karakter Isolat BAL pada Kefir Susu Sapi dan Susu<br>Kedelai.....                | 41      |
| Tabel 10. Tabel 10. Unit Karakter Isolat Khamir pada Kefir Susu Sapi<br>dan Susu Kedelai.....  | 42      |

## DAFTAR GAMBAR

|   | Halaman |
|---|---------|
| Gambar 1. Sel Khamir .....  | 12      |
| Gambar 2. Struktur Sel Khamir .....                               | 13      |
| Gambar 3. Koloni BAL pada media MRSA + CaCO <sub>3</sub> .....    | 26      |
| Gambar 4. Koloni Khamir pada Media PDA+ <i>Streptomycin</i> ..... | 28      |
| Gambar 5. Bentuk Sel Khamir Y1 .....                              | 43      |
| Gambar 6. Bentuk Sel Khamir Y2.....                               | 43      |
| Gambar 7. Bentuk Sel Khamir Y3.....                               | 43      |
| Gambar 8. Bentuk Sel BAL B1 .....                                 | 43      |
| Gambar 9. Bentuk Sel BAL B2 .....                                 | 43      |
| Gambar 10. Bentuk Sel BAL B3 .....                                | 43      |
| Gambar 11. Uji Motilitas BAL.....                                 | 44      |
| Gambar 12. Pertumbuhan Khamir pada Media Cair .....               | 44      |
| Gambar 13. Uji Protease BAL .....                                 | 44      |
| Gambar 14. Uji Hidrolisis Pati BAL.....                           | 44      |

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Susu memiliki nilai gizi yang sangat baik, namun susu segar sangat mudah rusak, karena kontaminasi susu oleh bakteri pembusuk dapat terjadi dengan sangat cepat, sehingga susu menjadi rusak dan tidak layak konsumsi. Upaya memperpanjang daya guna, masa simpan, dan nilai ekonomi susu, dilakukan teknik penanganan dan pengolahan. Salah satu upaya pengolahan susu yang sangat menunjang adalah fermentasi susu (Widodo, 2006).

Salah satu produk fermentasi susu yaitu kefir, proses fermentasi susu menggunakan starter bibit kefir (*kefir grains*) yaitu butiran-butiran putih yang terdiri dari biakan bakteri *Streptococcus* sp., *Lactobacillus* sp., dan khamir non patogen. Kefir belum begitu dikenal oleh masyarakat luas, berbeda dengan *yoghurt* yang telah populer di kalangan masyarakat dan banyak diproduksi. Kefir memiliki nama yang berbeda-beda seperti *kepi*, *kippe*, *kapov*, *kephir* dan *kiaphir* (Usmiati, 2007).

Komponen dan kandungan kimia kefir bervariasi bergantung: jenis starter, suhu inkubasi, lama fermentasi, dan jenis bahan baku susu yang digunakan. Adesokan *et al.* (2011) menyatakan, kefir memiliki karakteristik yang khas, yaitu terdapat rasa asam, alkoholik, dan karbonat yang dihasilkan dari proses

fermentasi bakteri asam laktat (BAL) dan khamir. Pada umumnya kefir mengandung: asam laktat 0,8-1 %, alkohol 0,5-0,25 %, CO<sub>2</sub>, kelompok vitamin B, air 85 %, protein 3,5 %, abu 0,6 %, laktosa 4,5 %, dan pH 4,6. Kadar lemak sangat bergantung dengan jenis susu yang digunakan. Bahan baku susu yang memiliki kadar lemak yang tinggi dapat menghasilkan kefir dengan kadar lemak yang tinggi (Usmiati, 2007).

Kefir memiliki kelebihan dibandingkan dengan susu segar. Kefir memiliki kandungan probiotik dan masa simpan yang lebih lama. BAL dan khamir fermentatif akan menghasilkan asam laktat, sehingga derajat keasaman kefir menjadi rendah dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk.

Jumlah populasi bakteri asam laktat (BAL) yang terkandung di dalam suatu produk susu fermentasi menjadi indikator kualitas mikrobiologis produk tersebut. Menurut Fuller (1992) bahwa jumlah bakteri asam laktat yang diperlukan untuk dikonsumsi dan baik untuk kesehatan adalah berkisar antara  $10^7$ - $10^9$  cfu/g. Jenis BAL yang sering ditemukan dalam berbagai produk pangan fermentasi yaitu: *Lactobacillus bulgaricus*, *L. casei*, *L. acidophilus*, dan *Streptococcus thermophilus*. Jenis BAL tersebut telah banyak digunakan sebagai probiotik dan yang paling umum ditemukan pada *yoghurt* (Yuliana, 2009).

Kefir pada umumnya dibuat dari susu hewani, namun seiring berkembangnya inovasi maka kefir juga dibuat dari susu nabati dari bahan baku kacang-kacangan, hal tersebut dilakukan untuk mengatasi keterbatasan ketersediaan susu hewani dan harganya yang relatif mahal. Susu kacang kedelai

mengandung asam amino yang sangat tinggi hampir setara dengan kandungan protein susu hewani. Susu nabati yang banyak diolah menjadi kefir yaitu susu kacang kedelai (Misgyarta *et al.*, 2003).

Sunarlim (2009) menyatakan, bahwa komponen yang paling berperan selama proses fermentasi BAL adalah laktosa. Laktosa digunakan oleh BAL sebagai sumber karbon dalam proses metabolismenya, sedangkan susu kedelai tidak mengandung laktosa, melainkan pati, sukrosa, fruktosa, dan glukosa.

Perbedaan kandungan karbohidrat ini dapat mempengaruhi keanekaragaman BAL dan khamir fermentatif yang tumbuh saat fermentasi kefir.

Berdasarkan uraian di atas maka, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui keanekaragaman populasi BAL dan khamir dalam kefir susu sapi dan kefir susu kedelai.

## **B. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui indeks keanekaragaman populasi BAL dan khamir pada kefir susu sapi dan kefir susu kedelai.

## **C. Manfaat Penelitian**

Tersedianya informasi mengenai keanekaragaman populasi BAL dan khamir pada kefir susu sapi dan kefir susu kedelai yang dapat menjadikan kefir sebagai sumber plasma nutfah BAL dan khamir untuk pengembangan produk pangan.

#### D. Kerangka Pemikiran

Keanekaragaman BAL pada kefir memiliki peranan yang sangat penting dalam proses fermentasi susu dan menentukan kualitas kefir baik kandungan gizi dan juga cita rasanya. Keanekaragaman BAL dan khamir pada kefir dipengaruhi oleh bahan baku susu yang digunakan, waktu fermentasi, suhu, dan jenis starter yang digunakan. Kandungan bahan baku susu sapi dan susu kedelai sebagai bahan baku pembuatan kefir hampir sama yaitu protein, air, fosfor, kalsium, kalori, karbohidrat serta kandungan lainnya namun, kandungan gizi tersebut berbeda konsentrasi. Kandungan karbohidrat pada susu kedelai terdiri dari sukrosa, stakiosa, dan rafinosa yang larut dalam air, (Koswara, 2006).

Kandungan asam lemak tak jenuh dan protein yang terdapat dalam susu kedelai memiliki komposisi asam amino lebih tinggi dibandingkan susu sapi. Namun, terdapat laktosa pada susu sapi murni. Laktosa merupakan sumber energi yang dibutuhkan oleh BAL untuk mendukung pertumbuhannya (Sopandi dan Wardah, 2014). Dasar fermentasi susu adalah komponen gula di dalam susu, terutama laktosa menjadi asam laktat dan asam-asam lainnya. Asam laktat yang dihasilkan dapat memperbaiki *flavor* dan menurunkan derajat keasaman susu sehingga membatasi jenis mikroba yang dapat bertahan hidup.

Kandungan bahan organik atau karbohidrat pada susu sapi dan susu kedelai berpengaruh terhadap hasil fermentasi, keasaman kefir dan komposisi kimia

kefir menjadi tidak sama, hal tersebut dapat menyebabkan mikroba yang dapat bertahan hidup pada ke dua jenis kefir tidak sama.

#### **E. Hipotesis**

Adapun hipotesis dalam penelitian ini yaitu keanekaragaman populasi BAL dan khamir pada kefir susu sapi dan kefir susu kedelai berbeda.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. Kefir

Kefir merupakan produk fermentasi susu pasteurisasi yang menggunakan starter bibit kefir (*kefir grains*) yaitu butiran-butiran putih yang terdiri dari biakan bakteri *Streptococcus* sp., *Lactobacillus* sp., dan khamir non patogen. BAL berperan menghasilkan asam laktat dan khamir membentuk: flavor, rasa, warna, dan konsistensi. Kefir memiliki rasa dengan sensasi asam dan beralkohol (Usmiati, 2007).

Jumlah asam laktat yang terbentuk selama proses fermentasi merupakan hasil pemecahan laktosa oleh bakteri asam laktat. Adanya asam di dalam susu terutama disebabkan oleh aktivitas bakteri-bakteri pembentuk asam. Bakteri tersebut dapat merubah laktosa menjadi asam laktat dan timbulnya asam laktat dapat menurunkan pH susu. Menurut Rahayu (1989) kadar asam fermentasi susu dipengaruhi oleh aktivitas bakteri yang merubah gula (laktosa) menjadi asam laktat, walaupun laktosa susu yang diubah menjadi asam laktat hanya sekitar 30 % sedangkan sisanya (70 %) masih dalam bentuk laktosa. Suasana asam diakibatkan oleh proses fermentasi susu yaitu: perubahan laktosa menjadi asam laktat oleh aktivitas enzim yang dihasilkan

oleh bakteri asam laktat serta senyawa-senyawa yang terkandung dalam susu seperti albumin, kasein sitrat, dan fosfat. BAL dan khamir di dalam kefir kaya akan manfaat diantaranya sebagai probiotik yang dapat menekan pertumbuhan bakteri penyebab gangguan pencernaan dengan memproduksi senyawa antimikroba seperti: bakteriosin, hidrogen peroksida, dan berbagai antibiotik.

Kandungan gizi yang terkandung di dalam kefir memiliki kesamaan dengan bahan baku susu yang digunakan dengan beberapa keunggulan. Kefir memiliki nilai lebih dibandingkan susu segar, diantaranya daya simpan yang lebih lama, peningkatan kandungan beberapa nutrisi seperti vitamin dan mineral, dan meningkatnya mutu sensori produk. Umumnya, kefir diproduksi dengan menggunakan susu hewani, seperti susu sapi, kambing, atau domba, namun saat ini susu nabati telah banyak digunakan sebagai upaya diversifikasi pangan dengan harapan kandungan gizi, sifat fisik, dan kimiawi dari susu nabati dapat melengkapi nutrisi yang terdapat pada susu sapi. Salah satu susu nabati yang berpotensi adalah susu kedelai. Kandungan asam lemak tak jenuh dan protein yang terdapat dalam susu kedelai memiliki komposisi asam amino lebih tinggi dibandingkan susu sapi. Selain itu, kandungan nutrisi yang terdapat dalam susu kedelai relatif lengkap meliputi: lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A, vitamin B1, vitamin B2 dan isoflavon, serta tidak mengandung kolesterol. Berbagai penelitian menyebutkan bahwa produk olahan dari kedelai, seperti: tempe, susu kedelai, *soyghurt*, dan lain-lain, memiliki efek yang sangat baik dan menguntungkan bagi kesehatan manusia sehingga kedelai digolongkan sebagai pangan

fungsional yang potensial karena mudah didapatkan dan harganya yang murah (Julianto, 2016).

Dalam rangka penganekaragaman pola konsumsi makanan, kedelai sebagai salah satu sumber protein nabati mendapat perhatian utama untuk dikembangkan. Hal ini disebabkan kandungan protein kedelai yang tinggi dengan pola asam amino esensial yang mendekati pola yang direkomendasikan oleh FAO. Makanan olahan kedelai yang sudah dikenal secara umum antara lain: tahu, tempe, dan kecap, sedangkan yang belum banyak dikenal adalah susu kedelai dan produk fermentasi susu kedelai atau kefir. Produk fermentasi susu kedelai mempunyai nilai nutrisi tinggi, kaya protein dan asam lemak tak jenuh, serta tidak mengandung kolesterol, selain itu proses fermentasi dapat mengubah dan memperbaiki bau yang tidak disukai (Aini *et al.*, 2003). Menurut Sparringa (1995) susu kedelai merupakan medium yang baik untuk pertumbuhan khamir dan bakteri asam laktat.

Susu sapi segar merupakan bahan pangan yang tinggi gizinya, sehingga bukan saja bermanfaat bagi manusia tetapi juga bagi mikrobia pembusuk. Kontaminasi bakteri mampu berkembang dengan cepat sekali sehingga susu menjadi rusak dan tidak layak untuk dikonsumsi. Untuk memperpanjang daya guna, daya tahan simpan, serta untuk meningkatkan nilai ekonomi susu, maka diperlukan teknik penanganan dan pengolahan. Salah satu upaya pengolahan susu yang sangat prospektif adalah dengan fermentasi susu. Kandungan air di dalam susu sapi sangat tinggi, yaitu sekitar 87,5 %, dengan kandungan gula susu (laktosa) sekitar 5 %, protein sekitar 3,5 %, dan lemak

sekitar 3-4 %. Susu sapi juga merupakan sumber kalsium, fosfor, dan vitamin A yang sangat baik. Mutu protein susu sepadan nilainya dengan protein daging dan telur, dan terutama sangat kaya akan lisin, yaitu salah satu asam amino esensial yang sangat dibutuhkan tubuh (Widodo, 2006).

Adapun kandungan dalam susu sapi dan susu kedelai sebagai berikut:

Tabel 1. Komposisi Gizi Susu Kedelai Cair dan Susu Sapi Tiap 100 Gram

| <b>Komponen</b>                 | <b>Susu Kedelai</b> | <b>Susu Sapi</b> |
|---------------------------------|---------------------|------------------|
| <b>Air (g)</b>                  | 87,00               | 88,33            |
| <b>Besi (g)</b>                 | 0,70                | 1,70             |
| <b>Fosfor (g)</b>               | 45,00               | 60,00            |
| <b>Kalori (Kkal)</b>            | 41,00               | 61,00            |
| <b>Kalsium (mg)</b>             | 50,00               | 143,00           |
| <b>Karbohidrat (g)</b>          | 5,00                | 4,30             |
| <b>Lemak (g)</b>                | 2,50                | 3,50             |
| <b>Protein (g)</b>              | 3,20                | 3,50             |
| <b>Vitamin B1 (tiamin) (mg)</b> | 0,08                | 0,03             |
| <b>Vitamin C (mg)</b>           | 2,00                | 1,00             |

(Muryati *et al.*, 2005).

Kandungan karbohidrat pada susu kedelai terdiri atas golongan oligosakarida dan polisakarida. Golongan oligosakarida terdiri dari sukrosa, stakiosa, dan rafinosa yang larut dalam air. Golongan polisakarida terdiri dari bahan-bahan selulosa yang tidak larut dalam air maupun alkohol dan tidak dapat dicerna (Koswara, 2006). Oleh karena itu, karbohidrat di dalam susu kedelai yang

dapat digunakan secara biologis hanya sekitar 12-14 % dari total kandungan karbohidrat (Santoso, 2009).

## **B. Fermentasi Asam Laktat**

Asam laktat dihasilkan dari hasil pemecahan laktosa dan sukrosa melalui proses metabolisme karbohidrat. Bakteri asam laktat yang terdapat pada biji kefir berperan utama dalam mengubah laktosa menjadi asam laktat (Magalhaes *et al.*, 2011).

Laktosa dan sukrosa dihidrolisis menjadi monosakarida yang sebagian akan digunakan sebagai sumber energi bagi BAL dan sebagian lagi difermentasi menjadi asam laktat. Laktosa dihidrolisis menjadi glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim laktase sedangkan sukrosa dihidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa dengan bantuan enzim sukrase. Setelah menjadi monosakarida selanjutnya diteruskan ke fase glikolisis yang produk akhirnya, akan menghasilkan asam laktat yang dibentuk secara anaerob (Nelson, 2008).

## **C. Bakteri Asam Laktat ( BAL )**

Bakteri asam laktat (BAL) pertama kali ditemukan oleh Pasteur, seorang profesor di Universitas Lille pada tahun 1878. Pada era tersebut, disebutkan bahwa BAL dapat ditemukan pada susu yang sudah tengik dan saluran pencernaan manusia dan hewan. Pada tahun 1989 seorang peneliti asal Perancis bernama Tissier, menemukan bakteri yang mendominasi bakteri pada usus bayi yang meminum ASI yang kemudian bakteri tersebut dikenal dengan *Bifidobacterium*. Dengan ditemukannya BAL dan manfaatnya bagi

kesehatan manusia maka sejak tahun 1908 BAL mulai diperhatikan dan dikembangkan untuk kesehatan manusia. Pada masa tersebut seorang ahli mikrobiologi Elli Metchnikoff dari Institute Pasteur Prancis menyarankan konsumsi BAL untuk kesehatan.

Menurut Holzapfel *et al.* (1995) BAL terdiri atas genus: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Microbacterium*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* dan *Weissella*. Karakter penting untuk membedakan genus BAL yaitu fermentasi glukosa di bawah kondisi standar dan terbebas oksigen. Berdasarkan kondisi ini, BAL dapat dibagi menjadi dua group yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri asam laktat homofermentatif mengubah hampir semua glukosa menjadi asam laktat, sedangkan BAL heterofermentatif memfermentasi glukosa menjadi asam laktat, etanol/asam asetat dan CO<sub>2</sub>. *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* dan sub group *Lactobacilli* termasuk dalam BAL heterofermentatif, sedangkan yang lain termasuk dalam BAL homofermentatif (Salminen dan Wright. 1998).

*Lactobacillus* merupakan golongan bakteri gram positif, tidak berspora, berbentuk batang atau *coccusbacilli*. Golongan bakteri ini dapat melakukan proses fermentasi, serta membutuhkan asupan nutrisi kompleks seperti karbohidrat, asam amino, peptida, asam lemak, garam, derivat asam nukleat, dan vitamin (Wood dan Holzapfel, 1995).

Menurut Fuller (1992) BAL memiliki sifat probiotik, yaitu merupakan suatu kumpulan mikroba hidup yang menguntungkan kesehatan inangnya meliputi: memperbaiki komposisi mikrobiota usus, antimikroba, aktivitas antikolestrol, efekstimulasi sistem imun, meningkatkan penyerapan laktosa oleh tubuh, mencegah diare, dan aktivitas antimutagenik sehingga dapat mencegah penyakit kanker usus. Ada beberapa syarat yang harus diperhatikan apakah suatu BAL memiliki sifat probiotik, antara lain: ketahanan terhadap asam dan garam empedu, dan aktivitas antagonistik terhadap bakteri patogen (Gilliland *et al.*, 1984).

#### D. Khamir

Khamir merupakan mikroorganisme yang termasuk dalam fungi uniseluler tidak membentuk miselium. Bentuk sel khamir pada umumnya berbentuk oval atau bulat dan berkembang biak dengan tunas.

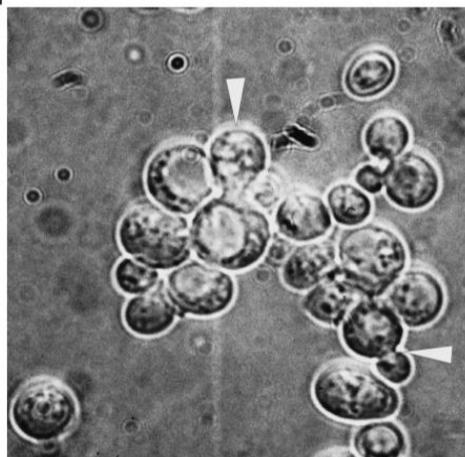


Fig. 2.1 Cells of *S. cerevisiae* under the microscope. The white arrows point to dividing cells.

Gambar 1. Sel Khamir (Dickinson dan Schweizer, 2004)

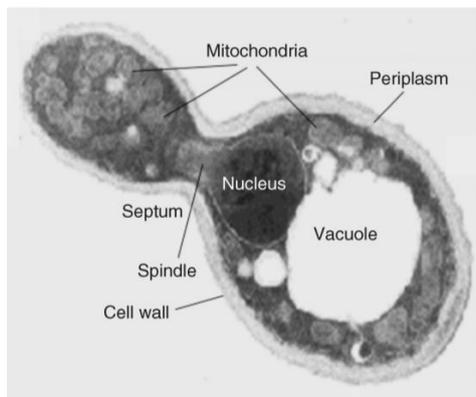


Fig. 2.2 Micrograph of a dividing yeast cell.

### Gambar 2. Struktur Sel Khamir (Dickinson dan Schweizer, 2004)

Khamir merupakan mikroorganisme kemoor-ganotrop karena menggunakan senyawa organik sebagai sumber energi dan tidak memerlukan sinar untuk pertumbuhannya. Khamir juga menyebar luas di alam serta sangat sering ditemukan pada produk pangan dengan kadar gula tinggi.

Menurut Frazier dan Westhoff (2003) ada enam faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan aktivitas khamir diantaranya: kelembaban, konsentrasi oksigen, suhu, nutrisi, pH, dan ada tidaknya senyawa penghambat.

Khamir mempunyai kisaran pH pertumbuhan 1.5-8.5, namun kebanyakan khamir lebih cocok tumbuh pada kondisi asam, yaitu pada pH 4-4.5. Suhu lingkungan yang optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 25-30 °C dan suhu maksimum 35-47 °C. Khamir tumbuh baik pada kondisi aerobik, tetapi khamir fermentatif dapat tumbuh secara anaerobik meskipun lambat.

Khamir hanya sedikit resisten terhadap pemanasan, dimana kebanyakan khamir dapat terbunuh pada suhu 60 °C ( Barnett dan pankhurst, 2000).

Mikroba ini umumnya digunakan dalam industri pangan untuk membuat makanan dan minuman fermentasi diantaranya: acar , roti, dan bir. Jenis khamir yang umum dalam minuman fermentasi yaitu: *Rhodotorula* sp., *Candida famata*, *C. diffluens*, *C. curvata*, *Kluyveromyces marxianus*, dan *Cryptococcus flavus*. Khamir mempunyai potensi yang besar selain sebagai agen fermentasi, dapat memberi perubahan yang sangat signifikan baik dalam rasa, aroma maupun tekstur dari pangan tersebut (Mudjajanto dan Yulianti, 2004).

#### **E. Ragi Tape**

Ragi merupakan starter/inokulum tradisional Indonesia untuk membuat berbagai macam makanan fermentasi seperti tape ketan/singkong, brem cair/padat. Mikroba yang terkandung dalam ragi umumnya berupa kultur campuran (*mixed culture*) terdiri dari kapang, khamir dan bakteri.

Secara fisiologi, ragi tape menghasilkan fermentasi atau enzim yang dapat mengubah substrat menjadi bahan lain dengan menggunakan energi..

Mikroorganisme yang terdapat di dalam ragi tape diantaranya: kapang *Amylomyces rouxii*, *Mucor* sp., dan *Rhizopus* sp.; khamir *Saccharomycopsis fibuligera*, *Saccharomycopsis malanga*, *Pichia burtonii*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Candida utilis*; serta bakteri *Pediococcus* sp. dan *Bacillus* sp. (Pagarra, 2010).

#### **F. Indeks Kesamaan**

Indeks kesamaan adalah nilai yang digunakan untuk membandingkan kesamaan spesies yang ditemukan antara dua komunitas. Nilai indeks

kesamaan yang relatif rendah menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang relatif besar antara spesies penyusun dari dua komunitas yang dibandingkan. Taksonomi numerik merupakan suatu kajian kekerabatan spesies melalui nilai kesamaan setiap karakter sehingga terdapat tingkatan kategori berdasarkan indeks kesamaan. Sistem taksonomi ini digunakan sebanyak-banyaknya sifat kemudian dicari indeks kesamaan dari mikroba yang akan dikelompokkan. Adapun dalam proses klasifikasi bakteri, kriteria yang digunakan antara lain adalah karakter morfologi yang meliputi: ukuran, bentuk, sifat pengecatan dan lain-lain. Karakter kultur dan karakter koloni, meliputi bentuk koloni, elevasi, dan warna. Karakteristik biokimia, meliputi fermentasi, hidrolisis, produksi indol, reduksi dan produksi enzim spesifik. Kesamaan dari tiap pasangan STO dihitung menggunakan rumus koefisien asosiasi seperti berikut (Martasari *et al.*, 2009).

$$S = \frac{N_s}{N_s + N_d} \times 100 \%$$

Keterangan:

S = koefisien asosiasi sepasang STO yang dibandingkan.

N<sub>s</sub> = jumlah ciri-ciri yang sama (+) pada sepasang STO yang dibandingkan.

N<sub>d</sub> = jumlah ciri-ciri yang sama (+ pada satu STO dan – pada STO yang lain) untuk sepasang STO yang dibandingkan.

## G. Keanekaragaman Shannon Wiener

Indeks keanekaragaman (H') menggambarkan keadaan populasi organisme secara matematis untuk mempermudah dalam menganalisis informasi-

informasi jumlah individu masing-masing jenis dalam suatu komunitas (Ardi, 2002).

Indeks keanekaragaman makhluk hidup dapat dihitung menggunakan formula indeks keanekaragaman Shannon Wiener (Ludwig dan Reynolds, 1988)

yaitu:  $H' = -\sum \{(pi) \ln (pi)\}$

Keterangan:

$H'$  = indeks keranekaragaman Jenis

$N_i$  = jumlah individu suatu jenis

$N$  = jumlah seluruh individu

$P_i$  =  $n_i/N$  sebagai proporsi jenis ke- $i$ .

Kriteria yang digunakan untuk menginterpretasikan keanekaragaman

Shannon Wiener dalam Ardi (2002) yaitu:

$H' < 1$ , keanekaragaman tergolong rendah

$H' 1-3$ , keanekaragaman tergolong sedang

$H' > 3$ , keanekaragaman tergolong tinggi.

### III. METODE PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penelitian ini telah dilaksanakan pada Bulan Januari 2018 sampai dengan Bulan Maret 2018.

#### B. Alat dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : *laminar air flow cabinet*, *autoclave*, neraca analitik, inkubator, low inkubator, oven, jarum ose, erlenmeyer, *vortex mixer*, *colony counter*, mikropipet, mikrotip, pipet tetes, *object glass*, cawan petri, gelas ukur, kapas, tabung reaksi, durham, *aluminium foil*, batang pengaduk, *bunsen*, *water bath*, *beaker glass*, pinset, *cutter* , mikroskop, spidol permanen, toples, sarung tangan, masker, plastik tahan panas, karet gelang, kapas, dan kain kasa.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: susu sapi murni, susu kedelai, ragi tape merek NKL, MRS agar (*De Man Rogosa and Sharpe Agar*), MRS *broth*, aquades, cat Gram, dan cat spora ( kristal violet, larutan. iodin, larutan safranin, *malachite green*), CaCO<sub>3</sub>, PDA (*Potato Dextrose Agar*),

*potato dextrose* cair, *phenol red*, glukosa, sukrosa, laktosa, galaktosa, pati, iodine, larutan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), larutan NaCl 0,9 %, alkohol 70 %, dan spirtus.

### C. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan dua tahapan. Tahapan pertama yaitu populasi BAL dan khamir pada kefir susu sapi dan kefir susu kedelai ditentukan berdasarkan indeks kesamaan yang dimiliki oleh koloni BAL dan khamir kefir susu sapi dan kefir susu kedelai. BAL ditumbuhkan pada media MRSA dan khamir pada media PDA. Indeks kesamaan ditentukan berdasarkan pendekatan klasifikasi numerik.

Tahapan kedua yaitu penentuan indeks keanekaragaman melalui pendekatan Shanon Wiener. Koloni yang dinyatakan berbeda spesies dihitung dengan metode perhitungan cawan (*Total Plate Count*), dan dianalisis dengan formula keanekaragaman Shanon Wiener.

### D. Prosedur Kerja

#### 1. Preparasi Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kedelai

Pembuatan kefir yaitu susu sapi 50 ml yang telah dipasteurisasi dengan suhu  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama kurang lebih 30 menit dengan *water bath* dalam erlenmeyer dan kemudian ditambahkan ragi tape sebanyak 1 % (Fardiaz dan Yasni, 1998). Pembuatan kefir susu kedelai menggunakan metode yang sama dengan mengganti bahan baku susu sapi dengan susu kedelai.

## 2. Isolasi BAL dari Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kedelai

Inokulasi dilakukan dengan cara mengencerkan masing-masing 1 ml sampel kefir susu sapi dan kefir susu kedelai ke dalam 9 ml garam fisiologis steril 0,85 %, kemudian suspensi diencerkan, untuk BAL pengenceran dilakukan hingga pengenceran  $10^{-7}$ , pengenceran yang diinokulasikan yaitu pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ , dan  $10^{-7}$ . Sebanyak 1 ml suspensi dari pengenceran tersebut diinokulasikan ke media MRS Agar +  $\text{CaCO}_3$  1 % menggunakan metode *pour plate* dengan masing-masing cawan duplo, selanjutnya dinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$ . Hasil positif teridentifikasi BAL adalah adanya zona bening di sekitar koloni bakteri tunggal. Koloni BAL yang tumbuh dikarakterisasi makroskopis, mikroskopis, dan sifat biokimianya untuk diuji indeks kesamaannya.

## 3. Isolasi Khamir dari Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kedelai

Kefir susu sapi dan kefir susu kedelai masing-masing 1 ml diinokulasikan ke dalam 9 ml garam fisiologis steril 0,85 %. Selanjutnya suspensi diencerkan hingga pengenceran  $10^{-5}$  baik untuk kefir susu sapi dan kefir susu kedelai, yang diinokulasikan yaitu suspensi  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , dan  $10^{-5}$ . Sebanyak 1 ml suspensi dari masing-masing pengenceran tersebut diinokulasikan pada media PDA + *streptomycin* 1 % menggunakan metode *pour plate*, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang ( $\pm 27^\circ\text{C}$ ). Populasi khamir yang tumbuh selanjutnya dikarakterisasi

secara makroskopis, mikroskopis, dan sifat biokimianya untuk diuji indeks kesamaannya.

#### **4. Karakterisasi BAL pada Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kedelai**

Identifikasi bakteri asam laktat dilakukan berdasarkan sifat fisiologis, morfologis maupun biokimia. Karakter bakteri diamati berdasarkan pengamatan morfologi koloni yang meliputi warna, bentuk, elevasi, tepi serta morfologi sel melalui pewarnaan sederhana, pewarnaan Gram, pengecatan spora, dan pengecatan tahan asam, pengamatan meliputi: bentuk sel, sifat gram, letak spora, dan ketahanan terhadap asam. fisiologis meliputi uji motilitas, dan uji aktivitas enzimatis, dan karakter biokimia meliputi: uji katalase dan uji fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, sukrosa, galaktosa).

##### 4.1 Morfologi Koloni BAL

Inokulum pada media MRS yang diinkubasi selama 24 jam dapat diamati morfologi koloni yang tumbuh, meliputi: bentuk koloni, warna koloni, ukuran koloni, tepian koloni, dan elevasi. Setiap koloni yang memiliki ciri morfologi yang berbeda dimurnikan pada media MRS miring dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam koloni akan tumbuh dan dapat dilakukan uji selanjutnya.

##### 4.2 Morfologi Sel BAL

Untuk mengetahui morfologi sel BAL pada kefir susu sapi dan kefir susu kedelai dilakukan pewarnaan sederhana, pewarnaan Gram, dan pewarnaan spora.

#### 4.3 Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan menambahkan 1-2 tetes hidrogen peroksida 3 % pada preparat yang telah diolesi oleh isolat BAL.

Gelembung udara yang terbentuk menunjukkan BAL positif terhadap uji katalase.

#### 4.4 Uji Motilitas

Pengujian ini dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat BAL pada media MRS tegak semi padat yang diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C. Bentuk koloni yang menyebar pada media tegak semi padat menunjukkan bakteri motil.

#### 4.5 Uji Aktivitas Enzim

Pengujian ini dilakukan dengan menginokulasikan isolat BAL dengan metode titik pada media padat MRS yang telah diperkaya susu bubuk skim sebanyak 1 % untuk uji aktivitas protease, pati tidak larut sebanyak 1 % untuk uji aktivitas amilase, BAL diinkubasi secara anaerob selama 2-4 hari dan diamati zona bening yang terbentuk.

#### 4.6 Uji Fermentasi Karbohidrat

Sebanyak 1 ose BAL diinokulasikan ke dalam media fermentasi karbohidrat atau media gula-gula steril yang terdiri dari MRS broth dan 1 % gula (glukosa, laktosa, sukrosa, dan galaktosa) dengan indikator *phenol red*, selanjutnya diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37 °C. Jika terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning, terdapat endapan, dan terbentuk gas, menunjukkan hasil positif bakteri memfermentasi karbohidrat.

## 5. Karakterisasi Khamir pada Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kedelai

Karakterisasi khamir kefir susu sapi dan kefir susu kedelai dilakukan dengan karakterisasi morfologi koloni, morfologi sel, karakter fisiologis, dan karakter biokimia.

### 5.1 Morfologi Koloni khamir

Inokulum pada media PDA yang diinkubasi selama 24 jam dapat diamati morfologi koloni yang tumbuh, meliputi: bentuk koloni, warna koloni, ukuran koloni, tepian koloni, dan elevasi. Setiap koloni yang memiliki ciri morfologi yang berbeda dimurnikan pada media PDA miring dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam koloni akan tumbuh dan dapat dilakukan uji selanjutnya.

### 5.2 Morfologi Sel Khamir

Morfologi sel khamir di tentukan dengan pewarnaan dengan *methylen blue* dan diamati di bawah mikroskop bentuk dan sel pertunasannya. Kapsul pada khamir diamati dengan pewarnaan sederhana yaitu dengan tinta cina dan cat safranin. Sel khamir akan berwarna merah dan kapsul akan berwarna bening.

## 6. Pertumbuhan Khamir pada Jenis Media

### 6.1 Media Padat

Koloni yang memiliki morfologi berbeda ditumbuhkan pada PDA + *streptomycin* 1 % dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah 24 jam koloni akan tumbuh dan diamati pertumbuhan koloninya di permukaan media, di tengah media, atau di dasar media.

## 6.2 Media Cair

Koloni murni di inokulasikan kedalam media *potato dextrose* dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah inkubasi pertumbuhan koloni khamir diamati endapan, pertumbuhan pada media, dan pelikelnya.

## 7. Uji Fermentasi Karbohidrat

Sebanyak 1 ose koloni murni khamir diinokulasikan ke dalam media fermentasi karbohidrat atau media gula-gula steril yang terdiri dari *potato dextrose*, 1 % antibiotik *streptomycin* dan 1 % gula (glukosa, laktosa, sukrosa, dan galaktosa) dengan indikator *phenol red*. Selanjutnya diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Jika terjadi perubahan warna media dari merah menjadi kuning, terdapat endapan, dan terbentuk gas, menunjukkan hasil positif khamir memfermentasi karbohidrat.

## 8. Analisis Indeks Kesamaan Koloni BAL dan Khamir dengan Pendekatan Klasifikasi Numerik

Unit karakter (STO) yang didapat, selanjutnya dianalisis indeks kesamaannya menggunakan pendekatan klasifikasi numerik. Indeks kesamaan dari tiap pasangan STO dihitung menggunakan rumus koefisien asosiasi seperti berikut (Martasari *et al.*,2009).

$$S = \frac{N_s}{N_s + N_d} \times 100 \%$$

Keterangan:

S = koefisien asosiasi sepasang STO yang dibandingkan.

$N_s$  = jumlah ciri-ciri yang sama (+) pada sepasang STO yang dibandingkan.

$N_d$  = jumlah ciri-ciri yang sama (+ pada satu STO dan – pada STO yang lain) untuk sepasang STO yang dibandingkan.

### 9. Analisis Indeks Keanekaragaman Shannon Wiener ( $H'$ ) Populasi BAL dan Khamir

Populasi BAL dan Khamir yang telah ditentukan berdasarkan indeks kesamaannya selanjutnya dianalisis indeks keanekaragamannya ( $H'$ ).

Koloni yang dinyatakan berbeda selanjutnya dihitung jumlah selnya dengan metode *Plate Count*, selanjutnya dianalisis dengan formula indeks keanekaragaman Shannon Wiener (Ludwig dan Reynolds, 1988).

Berikut adalah formula keanekaragaman Shannon Wiener:

$$H' = -\sum \{(pi) \ln (pi)\}$$

Keterangan :

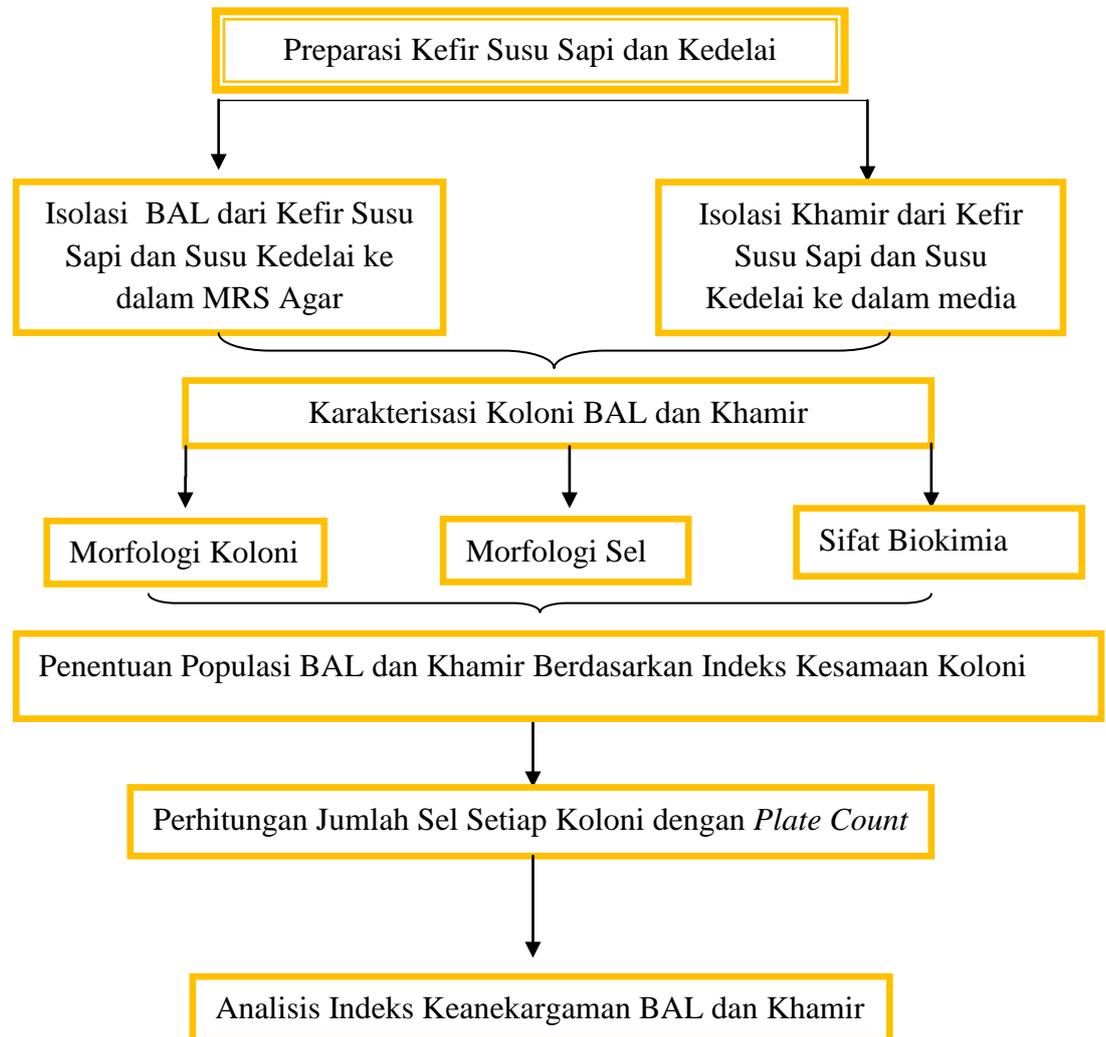
$H'$  = indeks keranekaragaman jenis

$n_i$  = nilai penting jenis ke  $i$

$N$  = jumlah nilai penting semua jenis

$P_i$  =  $n_i/N$  sebagai proporsi jenis ke- $i$ .

### E. Diagram Alir



## **V. KESIMPULAN**

### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian, dapat disimpulkan bahwa indeks keanekaragaman Shannon Wiener ( $H'$ ) bakteri asam laktat (BAL) pada kefir susu kedelai lebih tinggi dibandingkan dengan indeks keanekaragaman BAL pada kefir susu sapi,  $H'$  BAL pada kefir susu kedelai tergolong sedang ( $1,027 > 1$ ), sedangkan indeks keanekaragaman BAL pada susu sapi tergolong rendah ( $0,938 < 1$ ). Indeks keanekaragaman ( $H'$ ) khamir pada kefir susu sapi dan kefir susu kedelai sama rendah ( $< 1$ ).

### **B. Saran**

1. Kefir susu sapi dan kefir susu kedelai memenuhi syarat untuk dikonsumsi berdasarkan jumlah populasi BAL dan khamirnya.
2. Perlu dilakukan pengembangan kefir susu sapi dan kefir susu kedelai dengan inokulum ragi tape melalui kombinasi substrat dan kombinasi substrat dengan inokulum.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adesokan, I.A., B.B. Odetoyinbo, Y.A. Ekanola, R.E. Avanren, dan S. Fakorede. 2011. *Production of Nigerian nono using lactic starter cultures*. J. Nutrition. Pakistan.
- Aini, N., Suranto, Ratna, dan Setyaningsih. 2003. Pembuatan kefir susu kedelai (*glycine max* (l.) merr) dengan variasi kadar susu skim dan inokulum. *Bio smart*. 90: 5- 2.
- Ardi. 2002. *Pengamatan Makrozoobenthos Sebagai Indikator Kualitas Perairan Pesisir*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Barnett, J.A. dan R.J. Pankhurst. 2000. *A New Key to the Yeast*. American Elsevier Publishing Company, Inc. New York.
- Dickinson, J.R. dan M. Schweizer. 2004. *The Metabolism and Molecular Physiology of Saccharomyces Cerevisiae*. CRC Press. London.
- Fardiaz, S. dan S. Yasni. 1998. *Produksi mutakhir turunan kedelai*. Dalam (Eds.). *Prosiding Seminar Pengembangan Pengolahan dan Penggunaan Kedelai selain Tempe*. CFNS-IPB dan American Soybean Association. Bogor.
- Feliana, F., A.H. Laenggeng, dan F. Dhafir. 2014. Kandungan Gizi Dua Jenis Varietas Singkong (*Manihot Esculenta*) Berdasarkan Umur Panen di Desa Siney Kecamatan Tinombo Selatan Kabupaten Parigi Moutong. *Jurnal e-Jipbiol* (2): 3 14
- Frazier, W.C. dan Westhoff, D.C. 2000. *Food Microbiology* 4 th. Edition. Mc Graw-Hill Book. New York.

- Fuller, R. 1992. *History and Development of Probiotic in Probiotic the Scientific Basic*. Chapman and Hall. London.
- Gilliland, S.E., T.E. Stanley, dan L.J. Bush. 1984. Importance of Bile Tolerance of *L. acidophilus* Used as a Dietary Adjunct. *Journal of Dairy* . 67:3045-3051.
- Giraffa, G. 2004. Studying the Dynamics of Microbial Populations During Food Fermentation. *FEMS Microbiol Rev* 28: 251-260.
- Holzappel W.H., R. Geisen, U. Schillinger. 1995. *Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes*. *Int J Food Microbiol*.24: 343-362.
- Julianto, B. 2016. Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologi Kefir Susu Sapi dengan Penambahan Susu Kedelai. *Jom Faperta*. vol. 3 No. 1.
- Khachatourians G.G. dan D.K. Arora. 2001. *Applied Mycology and Biotechnology*. Elsevier Publ.
- Koswara, S. 2006. Isoflavon Senyawa Multi Manfaat dalam Kedelai. [www.ebookpangan.com](http://www.ebookpangan.com). Diakses pada 25 September 2017.
- Kristianingrum, D. 2003. Pengaruh Konsentrasi Garam pada Air Rendaman terhadap Jumlah Bakteri dan Nilai pH Petis Daging. *Skripsi*. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang.
- Ludwig, J.A. dan J.F Reynolds. 1988. *Statistical Ecology a Primer on Methods and Computing*. John Wiley and Sons. New York.
- Magalhaes, K.T., G.V.M. Pereira, C.R. Campos, dan R.F. Schwan. 2011. Brazilian Kefir: Tructure, Microbial Communities, and Chemical Composition. *Brazilian Journal Microbiol*. vol.42:693-702.
- Martasari, C., Sugiyatno, A., Yusuf, H.M., dan Rahayu, D.L. 2009. Pendekatan Fenetik Taksonomi dalam Identifikasi Kekerabatan Spesies Anthurium. *Jurnal Hortikultura*. 19(2) ; 155-163
- Misgyarta, M. Bintang, dan S. Widowati. 2003. *Isolasi, Identifikasi dan Efektifitas Bakteri Asam Laktat Lokal Untuk Fermentasi Susu Kacang-kacangan*. Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PIT-PERMI). Bandung.
- Mudjajanto E.S dan L.N. Yulianti. 2004. *Membuat Aneka Roti*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Muryati, S., Sugiyo, W., Jumaeri, Astuti, W., 2005. *Ketrampilan Hidup Berbasis Kimia Hijau Life Skill KBK SMA*. UPT UNNES Press. Semarang.

- Nelson, N. 2008. *The Production of Volatile Phenols by Wine Microorganism*. Stellenbosch University. Stellenbosch.
- Pagarra H. 2010. Pengaruh Lama Fermentasi dengan Ragi Tape terhadap Kadar Glukosa pada Umbi Gadung (*Disocorea hispida* DENNST). *Bionature*. ISSN: 1411-4720.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 2005. Penterjemah, Ratna Siri Hadioetomo *et al.* *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Priest, F. dan B. Austin. 1993. *Modern Bacterial Taxonomy*. Second edition. Chapman and hall. London.
- Rahardjo, F.L. 2013. Isolasi dan Identifikasi Mikroorganisme pada Tape Ketan yang Dibungkus Daun Buah Tropika dengan Difermentasi Ragi Lokal. *Other Thesis*. Prodi Teknologi Pertanian Unika Soegijapranata. Semarang.
- Rahayu K. 1989. *Mikrobiologi Pangan. Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi*. UGM. Yogyakarta.
- Refdi, C.W. dan P.Y. Fajri. 2017. Komposisi Gizi dan Pati Tepung Beras Rendang dari Beberapa Sentra Produksi di Kota Payakumbuh Sumatera Barat. *Jurnal Teknologi Pertanian Andalas* Vol. 21, No.1.
- Sujaya, I.N., Nocianitri, K.A., dan Asano, K. 2010. Diversity of Bacterial Flora of Indonesian Ragi Tape and Their Dynamics During The Tape Fermentation as Determined by PCR-DGGE. *International Food Research Journal*, 17:239-245.
- Salminen S., A.V. Wright. 1998. *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects. Second Edition*. Marcell Dekker Inc. New York.
- Santoso. 2009. *Susu dan Yoghurt Kedelai*. Laboratorium Kimia Pangan Faperta Universitas sumatera utara. Medan.
- Sopandi, T dan Wardah. 2014. *Mikrobiologi Pangan*. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Sparringa, R.A. 1995. Pertumbuhan dan Aktivitas Proteolitik Bakteri Asam Laktat dan Khamir dalam Susu Kedelai. *Seminar Biotek Biomassa BPPPT I*: 228-242.
- Sunarlim, R. 2009. Potensi *Lactobacillus* Sp. Asal dari Dadih Sebagai Starter pada Pembuatan Susu Fermentasi Khas Indonesia. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian. Jakarta.
- Suharyono dan M. Kurniadi. 2010. Efek Sinar Ultraviolet dan Lama Simpan Terhadap Karakteristik Sari Buah Tomat. *Agritech*. 30(1) : 25 - 31.

- Usmiati, S. 2007. *Kefir Susu fermentasi dengan Rasa Menyegarkan*. Warta Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Bogor.
- Widodo, W. 2006. *Bioteknologi Fermentasi Susu*. Pusat Pengembangan Bioteknologi. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Wood, B.J.B., W.H. Holzapfel. 1995. *Microbiology of Fermented Food*. Elsevier Applied Science Publisher. London and New York.
- Yuliana, L.N. 2009. Viabilitas inokulum Bakteri Asam Laktat (BAL) yang Dikeringkan Secara Kemoreaksi dengan Kalsium Oksida (CaO) dan Aplikasinya pada Tempoyak. *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian* Volume 14, No.1.