

**KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA, ORGANOLEPTIK,
MIKROBIOLOGI DAN UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI PADA
MINUMAN PROBIOTIK KEFIR BERBAHAN BAKU SUSU SAPI
MURNI DAN SUSU KEDELAI**

(Skripsi)

Oleh

YOANDA WIDIADITA



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA, MIKROBIOLOGI, ORGANOLEPTIK, DAN UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI PADA MINUMAN PROBIOTIK KEFIR BERBAHAN BAKU SUSU SAPI MURNI DAN SUSU KEDELAI

Oleh

YOANDA WIDIADITA

Kefir dikenal sebagai minuman probiotik andalan karena mengandung berbagai jenis bakteri baik. Kefir dapat dibuat dari berbagai jenis susu, seperti susu sapi dan susu kedelai. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis karakteristik minuman probiotik berupa kefir *curd* dan *whey* asal susu sapi murni dan kedelai yang difermentasi selama 24, 36 dan 72 jam dengan menganalisis sifat fisikokimia, mikrobiologi, organoleptik dan antibakteri sesuai dengan standar Codex Stan 243-2003. Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi pembuatan susu kedelai, pasteurisasi susu sapi dan kedelai, pembuatan kefir, pengujian nilai pH, viskositas, total asam laktat, analisis kadar protein, total padatan, kadar alkohol, total bakteri asam laktat dan khamir serta uji aktivitas antibakteri. Hasil penelitian dengan kondisi optimum pada kefir asal susu sapi jenis *curd* yaitu CS.3 dengan nilai pH 3,47; viskositas 2,08; total asam laktat 0,83 %; kadar lemak total 2,89%; kadar protein 17,12%; total padatan 3%, kadar alkohol 0,97%; total bakteri asam laktat 305×10^5 cfu/mL; total khamir 148×10^5 cfu/mL; aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* 1,50 cm dan terhadap *S.aureus* sebesar 1,23 cm. Sementara itu kondisi optimum pada kefir asal susu sapi jenis *whey* yaitu WS.3 dengan nilai pH 3,71; viskositas 1,57; total asam laktat 1,13 %; kadar lemak total 2,57%; kadar protein 17,30%; total padatan 4,43%, kadar alkohol 0,96%; total bakteri asam laktat 249×10^5 cfu/mL; total khamir 390×10^5 cfu/mL; aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* 0,80 cm dan terhadap *S.aureus* sebesar 1,01 cm. Sedangkan kondisi optimum pada kefir asal susu kedelai jenis *curd* yaitu CK.3 dengan nilai pH 3,38; viskositas 1,83; total asam laktat 1,03 %; kadar lemak total 2,57%; kadar protein 16,91%; total padatan 2,66%, kadar alkohol 0,97%; total bakteri asam laktat 289×10^5 cfu/mL; total khamir 167×10^5 cfu/mL; aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* 0,90 cm dan terhadap *S.aureus* sebesar 1,21 cm. Kondisi optimum pada kefir asal susu kedelai jenis *whey* yaitu WK.3 dengan nilai pH 3,56; viskositas 1,32; total asam laktat 1,09%; kadar lemak total 2,57%; kadar protein 17,74%; total padatan 3,36%, kadar alkohol 0,97%; total bakteri asam laktat 371×10^5 cfu/mL; total khamir 291×10^5 cfu/mL; aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* 0,65 cm dan terhadap *S.aureus* sebesar 1,33 cm.

Kata kunci : kefir, susu sapi, susu kedelai, *whey*, *curd*, antibakteri.

ABSTRACT

PHYSICOCHEMICAL, MICROBIOLOGICAL, ORGANOLEPTICAL CHARACTERISTICS, AND ANTI-BACTERIAL ACTIVITY TESTS OF KEFIR PROBIOTIC DRINK FROM PURE COW'S MILK AND SOY MILK

By

YOANDA WIDIADITA

Kefir is known as a mainstay probiotic drink because it contains various types of good bacteria. Kefir can be made from various types of milk, such as cow's milk and soy milk. This study aims to analyze the characteristics of probiotic drinks in the form of kefir curd and whey from pure cow's milk and soybeans which were fermented for 24, 36 and 72 hours by analyzing the physicochemical, microbiological, organoleptic and antibacterial properties according to Codex Stan 243-2003 standards. The methods used in this study included making soy milk, pasteurizing cow's milk and soybeans, making kefir, testing the pH value, viscosity, total lactic acid, analysis of protein content, total solids, alcohol content, total lactic acid bacteria and yeast and antibacterial analysis. The results of the study with the optimum conditions on kefir from cow's milk curd type were CS.3 with a pH value of 3.47; viscosity 2.08; total lactic acid 0.83%; total fat content 2.89%; protein content 17.12%; total solids 3%, alcohol content 0.97%; total lactic acid bacteria 305 x 10⁵ cfu/mL; total yeast 148 x 10⁵ cfu/mL; antibacterial activity against *E.coli* 1.50 cm and 1.23 cm against *S.aureus*. Meanwhile, the optimum conditions for kefir from whey were cow's milk, namely WS.3 with a pH value of 3.71; viscosity 1.57; total lactic acid 1.13%; total fat content 2.57%; protein content 17.30%; total solids 4.43%, alcohol content 0.96%; total lactic acid bacteria 249 x 10⁵ cfu/mL; total yeast 390 x 10⁵ cfu/mL; antibacterial activity against *E.coli* 0.80 cm and 1.01 cm against *S.aureus*. While the optimum conditions for kefir from soy milk are curd types, namely CK.3 with a pH value of 3.38; viscosity 1.83; total lactic acid 1.03%; total fat content 2.57%; protein content 16.91%; total solids 2.66%, alcohol content 0.97%; total lactic acid bacteria 289 x 10⁵ cfu/mL; total yeast 167 x 10⁵ cfu/mL; antibacterial activity against *E.coli* 0.90 cm and 1.21 cm against *S.aureus*. The optimum conditions for kefir from whey-type soy milk are WK.3 with a pH value of 3.56; viscosity 1.32; total lactic acid 1.09%; total fat content 2.57%; protein content 17.74%; total solids 3.36%, alcohol content 0.97%; total lactic acid bacteria 371 x 10⁵ cfu/mL; total yeast 291 x 10⁵ cfu/mL; antibacterial activity against *E.coli* 0.65 cm and 1.33 cm against *S.aureus*.

Keywords: kefir, cow's milk, soy milk, whey, curd, antibacterial.

**KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA, MIKROBIOLOGI,
ORGANOLEPTIK, DAN UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI PADA
MINUMAN PROBIOTIK KEFIR BERBAHAN BAKU SUSU SAPI
MURNI DAN SUSU KEDELAI**

Oleh

YOANDA WIDIADITA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

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



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Skripsi

**: KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA,
MIKROBIOLOGI, ORGANOLEPTIK,
DAN UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI
MINUMAN PROBIOTIK KEFIR
BERBAHAN BAKU SUSU SAPI MURNI
DAN SUSU KEDELAI**

Nama Mahasiswa

: Yoanda Widiadita

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1617011008

Jurusan

: Kimia

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.
NIP. 197412111998022001

Dr. Mita Rilyanti, M.Si.
NIP. 197205302000032001

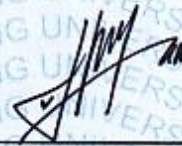
2. Ketua jurusan Kimia FMIPA

Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP. 197406112000031002

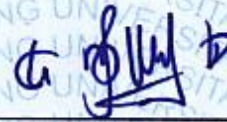
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Nurhasanah, M.Si.



Sekretaris : Dr. Mita Rilyanti, M.Si.



Anggota : Dra. Aspita Laila, M.S.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Ing. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 11 November 2022

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Yoanda Widiadita
Npm : 1617011008
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "Karakteristik Fisikokimia, Mikrobiologi, Organoleptik dan Uji Aktivitas Anti Bakteri Pada Minuman Probiotik Kefir Berbahan Baku Susu Sapi Murni dan Susu Kedelai" adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Saya tidak keberatan jika Sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya sehingga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 24 Mei 2023

Yang Menyatakan



Yoanda Widiadita

1617011008

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Tanjung Karang, 10 Maret 1998, sebagai anak sulung dari empat bersaudara pasangan Bapak Adi Yasman dan Ibu Elis Romlah. Penulis menempuh jenjang Pendidikan dari SD Negeri 5 Marang Pesisir Barat pada tahun 2005-2010. Kemudian melanjutkan jenjang Pendidikan SMP Negeri 1 Ngambur Pesisir Barat hingga tahun 2013. Penulis melanjutkan sekolah di SMA Negeri 5 Bandar Lampung hingga tahun 2016. Pada tahun 2016 penulis diterima sebagai mahasiswa jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN (Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi) dengan status sebagai penerima beasiswa Bidikmisi.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah bergabung di Lembaga kemahasiswaan Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) Universitas Lampung sebagai anggota Biro Penerbitan. Penulis juga aktif dalam Unit Kegiatan Mahasiswa Penelitian (UKM-P) Universitas Lampung dan Unit Kegiatan Mahasiswa Pers Teknokra (UKMP). Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum kimia dasar untuk jurusan kimia pada tahun 2019 dan asisten praktikum biokimia untuk jurusan kimia pada tahun 2021. Pada tahun 2019 penulis menyelesaikan hasil PKL di laboratoriu Biokimia Jurusan Kimia Universitas Lampung dengan judul “Analisis Total Asam Laktat, Nilai pH, Kadar Lemak, Total Bakteri dan Konsentrasi Protein Kefir Optima Asal Kolostrum Sapi *Frisian holstein* Pemerahan Pertama” kemudian pada bulan Juli-Agustus 2019 penulis melakukan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Negeri Agung, Kecamatan Gunung Pelindung, Kabupaten Lampung Timur.

KATA INSPIRASI

"Banyak hal yang bisa menjatuhkanmu. Tapi satu-satunya hal yang benar-benar dapat menjatuhkanmu adalah sikapmu sendiri."

(R.A Kartini)

"Pada akhirnya, hanya tiga hal yang berarti: Seberapa banyak kau mencintai, Seberapa lembut kau menjalani hidup, dan seberapa ikhlas kau melepaskan sesuatu yang tidak dimaksudkan untukmu"

(Siddhartha Gautama)

PERSEMBAHAN

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat-Nya, dengan penuh rasa syukur dan dengan segala kerendahan hati penulis persembahkan skripsi ini kepada :

Orangtua Tercinta

Terima kasih atas segala cinta, kasih sayang, dan doa yang tak pernah putus mengiringi setiap langkah perjalanan panjang ini.

Dosen Jurusan Kimia

Atas segala ilmu dan pelajaran berharga yang telah diberikan selama menempuh pendidikan di kampus.

Sahabat-sahabat Terbaik

Menjadi pengingat dalam kebaikan, doa juga semangatnya yang menjadikan hari-hari semakin berwarna.

Almamater Tercinta, Universitas Lampung

SANWACANA

Puji syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Karakteristik Fisikokimia, Organoleptik, Mikrobiologi dan Uji Aktivitas Anti Bakteri Pada Minuman Probiotik Kefir Berbahan Baku Susu Sapi Murni dan Susu Kedelai”**.

Skripsi ini adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya bimbingan, dorongan, nasihat, serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Ayah Adi Yasman dan Bunda Elis Romlah selaku kedua orang tua atas kasih sayang yang telah diberikan selama ini serta segala doa, dukungan, nasihat, dan motivasinya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Bapak Dr.Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si , selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
3. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
4. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
5. Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si. selaku pembimbing atas segala bimbingan, dukungan, dan motivasi serta saran yang selalu diberikan kepada penulis sehingga pnulis dapat menjalani dan menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
6. Bapak Drs. R. Supriyanto, M.Si. selaku pembimbing II penelitian atas bimbingan, kritik, dan arahnya kepada penulis Sehingga Penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan baik.

7. Ibu Dra. Aspita Laila, M.S. selaku pembahas pada penelitian yang telah memberikan kritik dan sarannya kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
8. Bapak prof. Wasinton Simanjuntak, Ph.D. selaku pembimbing akademik penulis yang telah banyak memberikan saran dan motivasi kepada penulis sehinggalapenulis dapat menyelesaikan perkuliahan dengan baik.
9. Seluruh dosen dan staf administrasi di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuan dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
10. Teman seperjuangan, Fadhillah Rachmawati yang selama ini menemani dan mendukung penulis dalam segala hal tentang penelitian.
11. Sahabat dalam berbagi suka dan duka kehidupan, Rizky Nur Fitriyani S.Si yang telah memberi banyak motivasi dan membantu penulis selama masa perkuliahan hingga akhir.
12. Adik-adik tercinta Devina Elni Zahra, Admiral Geri Geraldi dan Adrianov Bintang Alfarizhi yang menjadi penyemangat penulis dalam menabung dan bekerja. Terimakasih untuk setiap canda tawa penghilang penat.
13. Kelas A Kimia 2016 atas solidaritasnya selama ini serta dukungan dan motivasi yang diberikan kepada penulis selama perkuliahan.
14. Kakak-kakak, teman-teman, dan adik-adik seperjuangan di laboratorium Biokimia yang selama ini membantu penulis jika ada kesulitan di lab.
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah mendukung dan memotivasi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini dan menyelesaikan studi sebagai mahasiswi S1 Kimia.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi yang sederhana ini dapat berguna dan bermanfaat bagi kita semua.

Bandar Lampung, Mei 2023

Penulis

Yoanda Widiadita

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kefir.....	4
2.1.1 Proses Pembuatan Kefir	7
2.1.2 Starter Bibit Kefir dan Mutu Kimia.....	8
2.1.3 Manfaat Kefir.....	10
2.2 Definisi Susu dan Kandungan Gizi Susu.....	11
2.2.1 Susu Sapi.....	12
2.2.2 Susu Kedelai.....	13
2.3 Antibakteri.....	15
2.4 Mikroba Uji.....	15
2.4.1 <i>Escherichia coli</i>	15
2.4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	17
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	19

3.2	Alat dan Bahan	19
3.3	Prosedur Penelitian	20
3.3.1	Sterilisasi Alat.....	i
3.3.2	Pasteurisasi Susu Murni.....	20
3.3.3	Pembuatan Susu Kedelai.....	20
3.3.4	Pembuatan Kefir.....	21
3.3.5	Analisis fisikokimia	21
a.	Uji Nilai pH	21
b.	Uji Viskositas	22
c.	Uji Total Asam Laktat.....	22
d.	Uji Kadar Lemak Total	23
e.	Analisis Kadar Protein	23
f.	Penentuan Total Padatan	24
g.	Penentuan Kadar Alkohol.....	24
3.3.6	Sifat Mikrobiologi	25
3.3.7	Uji Organoleptik	26
3.3.8	Aktivitas Antibakteri	26
3.4	Diagram Alir Penelitian	27
3.5	Rancangan Penelitian.....	28

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Fisikokimia Kefir.....	29
4.1.1	Nilai pH.....	29
4.1.2	Viskositas	31
4.1.3	Total Asam Laktat	34
4.1.4	Kadar Lemak Total	36
4.1.5	Kadar Protein.....	39
4.1.6	Total padatan	41
4.1.7	Kadar Alkohol	44
4.2	Sifat Mikrobiologi.....	46
4.3.1	Bakteri Asam Laktat.....	46
4.3.2	Khamir.....	48
4.3	Uji Organoleptik	ii

4.4 Aktivitas Antibakteri.....	51
V. SIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan.....	55
5.2 Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA.....	56
LAMPIRAN	62

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Gizi Susu Sapi per 100 Gram.....	12
2. Komponen Gizi Susu Kedelai	14
3. Rancangan Penelitian	28
4. Nilai pH Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi	29
5. Viskositas Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi	32
6. Total Asam Laktat Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi	34
7. Kadar Lemak Total Kefir <i>curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi	37
8. Kadar Protein Kefir <i>Curd</i> & <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi	39
9. Total Padatan Kefir <i>Curd dan Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi	41
10. Kadar Alkohol <i>curd</i> dan <i>whey</i> asal susu sapi dan kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi	44
11. Total Bakteri Asam Laktat <i>Curd dan Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	46
12. Total Khamir Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi	48
13. Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Eschericia coli</i> dengan Variasi Waktu Fermentasi	51
14. Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dengan Variasi Waktu Fermentasi	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i>	5
2. <i>Starter</i> Kefir.....	9
3. Diagram Aliran Penelitian.....	27
4. Nilai pH Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Usul Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	30
5. Viskositas Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	33
6. Total Asam Laktat Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	35
7. Kadar Lemak Total Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	38
8. Kadar Protein Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	40
9. Total Padatan Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	42
10. Kadar Alkohol Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	45
11. Total Bakteri Asam Laktat Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	47
12. Total Khamir Kefir <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Asal Susu Sapi dan Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	49
13. Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Escherichia coli</i> dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	52
14. Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dengan Variasi Waktu Fermentasi.....	55

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kefir merupakan jenis susu fermentasi asal Pegunungan Kaukasus yang memiliki rasa asam beralkohol, konsistensi seperti krim dan sedikit berbuih. Hasil peternakan dan pertanian berupa susu seperti susu sapi dan susu kedelai sangat mungkin diolah sebagai produk fungsional, salah satunya adalah susu fermentasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa susu fermentasi mengandung nutrisi yang baik serta memiliki khasiat bagi kesehatan manusia (Zakaria *et al.*, 2010). Susu fermentasi lebih dikenal sebagai salah satu minuman probiotik andalan karena mengandung beberapa jenis bakteri menguntungkan bagi manusia seperti bakteri asam laktat non patogen (Andrianto 2008).

Kefir dapat dibuat dari berbagai jenis susu, termasuk susu sapi dan susu kedelai. Susu sapi merupakan sumber protein yang mengandung nilai biologis yang tinggi yang dicirikan dengan keseimbangan profil asam amino. Salah satu nilai nutrisi yang tinggi adalah protein susu dan hasil degradasinya yang berupa peptida yang mempunyai fungsi biologis yang luas (Szajkowska *et al.*, 2011). Kefir susu sapi pada saat fermentasi menghasilkan asam laktat yang berperan sebagai penghambat bakteri patogen. Selain itu kefir susu sapi juga mengandung karbondioksida, diasetal dehidra dan hidrogen peroksida serta bakteriosin yaitu senyawa protein yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri lain (Suhartanti dkk, 2014). Selain susu sapi, susu kedelai juga dapat diolah menjadi kefir. Susu kedelai adalah salah satu hasil pengolahan pangan nabati yang merupakan hasil ekstraksi dari kedelai. Protein susu kedelai memiliki susunan asam amino yang hampir sama dengan susu sapi sehingga susu kedelai seringkali digunakan sebagai pengganti susu sapi bagi mereka yang alergi terhadap protein hewani. Susu kedelai

merupakan minuman yang bergizi tinggi, terutama kandungan proteinnya (Kunaepah, 2008). Selain itu susu kedelai juga mengandung lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, provitamin A, vitamin B kompleks (kecuali B12), dan air. Susu kedelai menjadi salah satu solusi bagi penderita intoleransi laktosa untuk tetap dapat mengonsumsi susu dengan kandungan gizi yang hampir sama dengan susu sapi, hal ini dikarenakan diantara berbagai macam biji-bijian kedelai merupakan jenis biji yang memiliki kandungan protein paling tinggi (Rizatullah, 2010). Kefir lebih mudah dicerna oleh individu yang alergi terhadap laktosa karena laktosa telah dicerna menjadi glukosa dan galaktosa oleh enzim laktase dari mikroba *starter* (Usmiati, 2007).

Kefir dapat dikelompokkan menjadi kefir optima, kefir prima, kefir *curd* dan kefir *whey*. Kefir optima adalah kefir yang dibuat menggunakan kefir prima sebagai *starter* dan tidak dipisahkan antara *whey* dan *curd* nya. Sementara itu kefir prima adalah kefir yang difermentasi sebagai turunan pertama (*mother culture*) yang telah dipisahkan bagian *whey*-nya. Kefir *curd* adalah bagian padat kental pada setiap kefir yang telah disaring dari *whey*-nya (bagian beningnya).

Menurut standar Codex untuk susu fermentasi (CODEX STAN 243-2003), komposisi yang dapat dijadikan standar untuk kefir, yaitu kadar lemak (b/b) kurang dari 10%, protein (b/b) minimal 2,7%; total asam laktat (b/b) minimal 0,6%; total bakteri minimal 10⁷ cfu/gram. Komponen dan komposisi kimia kefir sangat bervariasi, dipengaruhi oleh jenis mikroba *starter*, suhu dan lama fermentasi, serta bahan baku yang digunakan (Sudono dkk, 2014). Untuk memastikan kefir *curd* dan kefir *whey* yang digunakan dalam penelitian ini memenuhi standar codex, maka diperlukan analisis terkait fisikokimia kefir *curd* dan kefir *whey* asal susu sapi dan susu kedelai.

Beberapa penelitian terkait aktivitas antibakteri dari kefir telah dilaporkan seperti kefir susu sapi yang difermentasi selama 24 jam terhadap bakteri patogen *Shigella dysenteriae* berada dalam rentang 6-7 mm; pada *Pseudomonas aeruginosa* berada dalam rentang 6-8 mm dengan pembanding antibiotik siprofloksasin 0,32 mg/mL

(Hilyaturrufaedah, 2017). Sementara itu dalam menghambat aktivitas antibakteri *Propinimum acnes* sebesar 18,3 mm dalam bentuk butiran kefir dan 25,7 mm dalam bentuk air kefir dengan pembanding antibiotik penisilin 0,01 mg/mL (Michael dkk, 2016).

Berdasarkan latar belakang tersebut pada penelitian ini dilakukan analisis karakteristik fisikokimia, mikrobiologi, organoleptik dan aktivitas antibakteri pada kefir asal susu sapi dan susu kedelai dengan variasi waktu fermentasi 24, 36 dan 72 jam.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memperoleh kefir *curd* dan kefir *whey* asal susu sapi murni serta susu kedelai dengan kualitas mutu kimia sesuai standar Codex Stan 243-2003 untuk susu fermentasi.
2. Menentukan sifat fisikokimia, mikrobiologi dan organoleptik kefir *curd* dan *whey* asal susu sapi dan susu kedelai.
3. Menentukan aktivitas antibakteri dari kefir *curd* dan *whey* asal susu sapi dan kedelai.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu memperkuat peranan kefir sebagai produk pangan fungsional yang aman untuk dikonsumsi, aktivitas antibakteri yang dihasilkan dapat dijadikan dasar bagi penerapan produk kefir dibidang kesehatan dan memberi pemahaman masyarakat terhadap pemanfaatan kefir *curd* dan *whey* asal susu sapi dan kedelai, terkhusus kepada orang-orang yang memiliki intoleransi terhadap laktosa.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kefir

Kefir merupakan produk fermentasi susu yang mempunyai karakteristik yang khas yaitu campuran rasa asam, alkoholik, dan karbonat yang dihasilkan dari proses fermentasi bakteri dan khamir. Kefir adalah susu fermentasi yang memiliki rasa, warna dan konsistensi yang menyerupai yoghurt dan memiliki aroma khas *khamiry* (seperti tape). Kefir diperoleh melalui proses fermentasi susu pasteurisasi menggunakan *starter* berupa butir atau bibit kefir (kefir *grain*), berbentuk butiran-butiran putih atau krem dari kumpulan bakteri, antara lain *Streptococcus sp.*, *Lactobacilli* dan beberapa jenis khamir non-patogen (Usmiati, 2007). *Starter* kefir adalah campuran bakteri menguntungkan dan khamir dengan matriks polisakarida (Otlés, 2003). Hasil fermentasi asam laktat, CO₂, etil alkohol dan senyawa aromatik, membuat sifat organoleptik yang unik terbentuk. Bibit kefir berbentuk seperti kembang kol berwarna putih atau kekuningan dengan diameter antara 2-15 mm. Setelah fermentasi selesai, bibit kefir didapatkan kembali melalui penyaringan (Nihayah, 2015).

Pada prinsipnya proses pembuatan kefir sama dengan proses pembuatan *yogurt*. Penambahan bibit kefir sampai 5% dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 22°C akan dihasilkan produk minuman kefir dengan pH < 4,65; kandungan asam laktat 0,6-0,8% dan kadar alkohol antara 0,5-1% (Hidayat dkk., 2006).

Mikroorganisme yang ada dalam starter bibit kefir menghasilkan asam dan alkohol oleh bakteri asam laktat dan khamir yang hidup bersimbiosis dan tumbuh dalam bibit kefir. Bakteri berperan menghasilkan asam laktat dan komponen *flavor*, sedangkan khamir menghasilkan gas asam arang atau karbon dioksida dan sedikit alkohol. Itulah sebabnya rasa kefir di samping asam juga sedikit ada rasa

alkohol dan soda yang membuat rasa lebih segar. Kombinasi karbon dioksida dan alkohol menghasilkan buih yang menciptakan karakter mendesis pada produk.

Terdapat beberapa jenis kefir diantaranya adalah kefir *curd* dan kefir *whey*. Keduanya diperoleh dengan cara minimal fermentasi selama 24 jam. Selain itu jenis kefir ini dapat dipisahkan melalui penyaringan dua tahap menggunakan kain kasa dan saringan. Kefir *curd* adalah kefir yang berwarna putih susu, memiliki viskositas tinggi sehingga bertekstur kental seperti dadih. Sementara itu kefir *whey* merupakan kefir yang berwarna kekuningan dan memiliki tekstur encer seperti air. Berikut ini adalah gambar kefir *curd* dan *whey*.



Gambar 1. Kefir *Curd* dan *Whey*

Bahan pangan yang berasal dari fermentasi susu dikelompokkan menjadi dua golongan utama yaitu : (1) melalui fermentasi asam laktat, seperti yogurt dan susu fermentasi menggunakan starter bakteri asam laktat, dan (2) melalui fermentasi asam laktat dan alkohol, seperti kefir dan koumiss (Sudono dkk., 2004).

Penelitian tentang studi mikrobiologi kefir susu sapi dengan waktu simpan berbeda menunjukkan bahwa kefir dengan waktu simpan sampai 12 hari pada suhu 5°C memiliki kualitas mikrobiologi yang baik dengan bakteri asam laktat antara $2,81 \times 10^7$ – $5,98 \times 10^7$ cfu/g; pH 3,52-3,88; total asam 1,75-3,45%; dan tidak ditemukan adanya pertumbuhan *E. Coli* (Lindawati dkk, 2015). Hasil

jumlah bakteri asam laktat tertinggi pada waktu fermentasi 48 jam dengan konsentrasi bibit kefir 5% yaitu $2,4 \times 10^7$ log cfu/g dan total asam maksimal 2,178% serta kadar alkohol tertinggi yaitu 15,607% (Yusriyah dkk., 2014). Kajian konsentrasi kefir *grain* dan lama waktu simpan dalam *refrigerator* terhadap kualitas kimiawi kefir rendah lemak menunjukkan hasil bahwa penggunaan kefir *grain* sebanyak 1% dari volume susu bahan baku dan lama waktu simpan dalam *refrigerator* selama 21 hari masih memberikan kualitas yang sesuai dengan standar susu fermentasi (Sawitri, 2012).

Lindawati, dkk (2015) juga menjelaskan bahwa total bakteri asam laktat terendah terjadi pada waktu simpan 0 hari ($2,8 \times 10^7$ cfu/g), hal ini disebabkan karena bakteri asam laktat masih dalam fase adaptasi dari pola pertumbuhannya, akan tetapi dengan waktu inkubasi berjalan terus populasi bakteri asam laktat semakin meningkat pada hari ketiga karena kemampuannya beradaptasi, hal ini menyebabkan pH sediaan semakin menurun dan keasamannya meningkat, namun bakteri asam laktat yang tidak tahan asam terlalu tinggi akan mati dan mengalami penurunan seperti yang ditunjukkan pada hasil penelitian di hari keenam (Lindawati dkk, 2015). Pada saat bakteri asam laktat menurun, khamir mengambil kesempatan menghidrolisis laktosa, sehingga menghasilkan CO₂ dan alkohol. Senyawa OH⁻ dari alkohol akan bereaksi dengan senyawa H⁺ dari asam laktat, sehingga keasaman menurun dan pH meningkat (Farnworth dan Mainville, 2003). Kondisi ini menyebabkan bakteri asam laktat kembali meningkat pada hari kesembilan, sehingga keasaman meningkat kembali dan pH nya kembali menurun. Seperti yang terjadi pada hari keenam, juga terjadi dihari kedua belas. Hal ini dapat disimpulkan bahwa bakteri asam laktat yang terkandung dalam kefir mempunyai periode hidup enam hari dengan waktu puncak perkembangbiakan pada hari ketiga, sedangkan khamir memproduksi alkohol tertinggi di saat periode hidup bakteri asam laktat menurun yaitu hari keenam (Hilyaturrufaedah, 2017).

2.1.1 Proses Pembuatan Kefir

Ada beberapa metode dalam pembuatan kefir. Proses yang biasanya digunakan yaitu proses secara tradisional, dan proses industri yang digunakan sekarang ini dengan teknik modern untuk menghasilkan kefir dengan karakteristik sama ditemukan pada proses tradisional. Kefir dapat dibuat dari bermacam-macam tipe susu seperti susu kambing, sapi, domba, kelapa, beras, atau kedelai (Ogles *et al.*, 2003). Adapun macam-macam pilihan susu yang digunakan yaitu susu pasteurisasi, nonpasteurisasi, susu utuh, susu rendah lemak, susu skim dan susu tanpa lemak.

Secara tradisional proses pembuatan kefir dilakukan dengan penambahan *starter* bibit kefir ke dalam susu. Susu yang telah dipasteurisasi kemudian didinginkan sampai 20-25° C, kemudian *starter* bibit kefir ditambahkan 2-10% (biasanya 5%). Proses fermentasi berlangsung selama 18-24 jam pada suhu 20-25°C. Selama proses fermentasi dilakukan pengadukan 2-3 kali. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk memisahkan bibit kefir dari kefir yang sudah jadi. Bibit kefir disimpan pada temperatur dingin dan dapat digunakan untuk proses pembuatan kefir berikutnya. Menurut Ogles *et al.* (2003) ada beberapa metode dalam pembuatan kefir. Proses yang biasa digunakan yaitu proses secara tradisional, dan proses industri yang digunakan sekarang ini yaitu dengan teknik yang modern untuk menghasilkan kefir dengan karakteristik yang sama ditemukan pada proses tradisional. Langkah awal dengan memasukkan 8% bahan susu kering dan dilakukan pemanasan pada suhu 90-95° C selama 5-10 menit. Lalu didinginkan hingga suhu 18-24° C dan dimasukkan starter bibit kefir 2-8% ke dalam wadah penyimpanan. Proses fermentasi dirubah dari 18 jam menjadi 24 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk memisahkan bibit kefir dari kefir yang sudah jadi dengan bantuan pompa. Kefir yang sudah jadi didistribusikan ke dalam botol didiamkan pada suhu 12-14° C.

2.1.2 Starter Bibit Kefir dan Mutu Kimia

Kultur starter kefir mengandung mikroba yang terdiri dari bakteri dan khamir yang masing-masing berperan dalam pembentukan cita rasa dan struktur kefir. Bakteri menyebabkan terjadinya asam sedangkan khamir menghasilkan alkohol dan CO₂ pada proses fermentasi. Hal ini yang membedakan rasa *yogurt* dan kefir. Komposisi mikroba dalam *starter* kefir dapat bervariasi sehingga hasil akhir kefir kadang mempunyai aroma yang bervariasi. Spesies mikroorganisme dalam bibit kefir di antaranya *Lactococcus acidophilus*, *L. kefir*, *L. kefirgranum*, dan *L. parakefir* yang berfungsi dalam pembentukan asam laktat dari laktosa. *Lactobacillus kefiranofaciens* sebagai pembentuk lendir (matriks butiran kefir), *Leuconostoc sp* sebagai pembentuk diasetil dari sitrat, dan *Candida kefir* pembentuk etanol dan karbon dioksida dari laktosa. Selain itu juga ditemukan *L. brevis* dan khamir jenis *Torulopsis holmii* dan *Saccharomyces delbrueckii* (Hidayat dkk, 2006).

Codex standar untuk susu fermentasi (CODEX, STAN 243-2003) menyatakan bahwa kultur *starter* yang dibuat dari bibit kefir mengandung *Lactobacillus kefiri*, spesies dari genus *Leuconostoc*, *Lactococcus* dan *Acetobacter* yang tumbuh dengan hubungan yang spesifik dan kuat. Bibit kefir juga mengandung khamir yang dapat memfermentasi laktosa yaitu *Kluyveromyces marxianus* maupun yang tidak dapat memfermentasi laktosa yaitu *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Saccharomyces exiguus*. Spesies mikroorganisme dalam bibit kefir diantaranya *Lactobacillus acidophilus*, *L. kefir*, *L. kefirgranum* dan *L. parakefir* yang berfungsi dalam pembentukan asam laktat dari laktosa. *Lactobacillus kefiranofaciens* sebagai pembentuk lendir, *Leuconostoc sp* membentuk diasetil dari sitrat, dan *Candida kefir* pembentuk etanol dan karbondioksida dari laktosa, *L. brevis*, *Torulopsis holmii* dan *Saccharomyces delbrueckii* (Hidayat dkk, 2006)

Bakteri asam laktat dan khamir hidup bersimbiosis dan tumbuh di dalam bibit kefir berada dalam perbandingan yang seimbang. Bakteri asam laktat yang berbentuk batang akan menempati lapisan perifer (luar bibit), sedangkan khamir

ada di dalam intinya. Bibit kefir yang diinokulasikan ke dalam susu akan mengembang dan warnanya menjadi kecoklatan karena diselubungi partikel-partikel susu. Kefir yang dihasilkan juga dapat dijadikan sebagai *starter* untuk membuat kefir berikutnya dengan menambahkan 3-5% kefir ke dalam susu pasteurisasi. Aktivasi bibit kefir kering sebelum digunakan sebagai *starter* perlu dilakukan dengan cara merendam bibit kefir dalam susu steril selama beberapa jam dengan konsentrasi 10-12% (b/v) pada suhu ruang sampai mengembang, dilakukan tiga kali seminggu (Usmiati, 2007). Berikut ini adalah gambar dari *starter* bibit kefir.



Gambar 2. Starter Kefir

Starter kefir tidak dapat dikeringkan dengan pemanasan karena sebagian mikroorganisme di dalamnya akan mati. Bibit kefir masih aktif jika diawetkan dengan cara pengeringan beku (*freeze drying*). Tapi cara terbaik menyimpan bibit kefir adalah dengan memindahkan bibit kefir lama ke dalam susu yang dipasteurisasi secara berkala, diinkubasi semalaman dan disimpan dalam lemari es bersuhu $4^{\circ}\text{C} - 7^{\circ}\text{C}$. Pada kondisi seperti ini bibit kefir tetap aktif selama kurang lebih sebulan (Hidayat dkk, 2006). Menurut standar Codex untuk susu fermentasi (CODEX STAN 243- 2003) metode dan komposisi yang dapat dijadikan standar untuk pengujian kefir yaitu kadar lemak menggunakan metode gravimetri dengan standar kurang dari 10% (b/b); kadar protein menggunakan metode titrimetri (Kjeldahl) dengan standar minimal 2,7% (b/b); total asam laktat menggunakan metode potensiometri dan titrasi pada pH 8,30 dengan standar minimal 0,6% (b/b); total bakteri asam laktat standar minimal 10^7 cfu/gram dan khamir minimal

10^4 cfu/gram.

Indonesia belum memiliki standar tersendiri yang menjelaskan tentang kefir sebagai susu fermentasi. Maka peneliti merujuk pada Standar Nasional Indonesia tentang *yoghurt* (SNI 2981_2009) dengan standar kadar lemak minimal 3,0% (b/b); kadar protein minimal 2,7% (b/b); total asam laktat 0,5–0,2% (b/b) dan total bakteri minimal 10^7 cfu/gram. Komponen dan komposisi kimia kefir bervariasi, di antaranya dipengaruhi oleh jenis mikroba *starter*, suhu dan lama fermentasi, serta bahan baku yang digunakan

2.1.3 Manfaat Kefir

Kefir sebagai minuman yang bergizi tinggi dengan kandungan gula susu (laktosa) yang relatif rendah dibandingkan susu murni. Kefir sangat bermanfaat bagi penderita *lactose intolerant* atau tidak tahan terhadap laktosa, karena kandungan laktosa dalam kefir telah dicerna menjadi glukosa dan galaktosa oleh enzim laktase dari mikroba dalam bibit kefir. Kefir juga berpotensi menyembuhkan beberapa penyakit metabolisme seperti diabetes, asma, arteriosklerosis dan jenis tumor tertentu (Usmiati, 2007).

Manfaat mengonsumsi probiotik bagi kesehatan antara lain: menurunkan gejala malabsorpsi laktosa, meningkatkan ketahanan alami terhadap infeksi saluran pencernaan, menekan pertumbuhan sel kanker, menurunkan kolesterol dalam darah, memperbaiki sistem pencernaan dan menstimulasi imunitas dalam pencernaan. Bakteri probiotik harus bertahan hidup dalam saluran pencernaan setelah dikonsumsi. Bakteri ini tahan terhadap lisozim, enzim air liur, pemecah dinding sel bakteri, asam- asam empedu, untuk sampai di usus dalam keadaan hidup. Bakteri tersebut mampu melekat pada sel epitelium dan menjaga keharmonisan komposisi bakteri saluran pencernaan. Kefir juga membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa, mencegah diare, sembelit, kanker, hipertensi, menurunkan kolesterol, menormalkan bakteri saluran pencernaan

setelah pengobatan antibiotik, serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Winarti, 2010).

2.2 Definisi Susu dan Kandungan Gizi Susu

Susu merupakan hasil sekresi kelenjar susu hewan mamalia betina sebagai sumber gizi bagi anaknya. Susu mengandung karbohidrat (laktosa), protein, lemak, vitamin dan mineral yang dibutuhkan tubuh. Namun komposisi susu berbeda beda untuk spesies yang berbeda, karena kebutuhan neonatus setiap spesies juga berbeda (Safitri dan swarastuti, 2011).

Susu merupakan makanan alami yang hampir sempurna. Sebagian besar zat gizi esensial ada dalam susu, di antaranya yaitu protein, kalsium, fosfor, vitamin A, dan tiamin (vitamin B1). Susu merupakan sumber kalsium paling baik, karena di samping kadar kalsium yang tinggi, laktosa di dalam susu membantu absorpsi susu di dalam saluran cerna (Almatsier,2002).

2.2.1 Susu Sapi

Untuk keperluan komersial, sumber susu yang paling umum digunakan adalah sapi. Namun ada juga yang menggunakan ternak lain seperti domba, kambing, dan kerbau. Alat penghasil susu pada sapi biasanya disebut ambing. Ambing terdiri dari 4 kelenjar yang berlainan yang dikenal sebagai perempatan (*quarter*). Masing-masing perempatan dilengkapi dengan satu saluran ke bagian luar yang disebut puting. Susu sapi mengandung banyak zat gizi. Data kandungan gizi susu sapi per 100 gram disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Gizi Susu Sapi per 100 gram (Hidayat, 2006)

Kandungan Zat Gizi	Komposisi
Energi (kkal)	6,10
Protein (g)	3,20
Lemak (g)	3,50
Karbohidrat (g)	4,30
Kalsium (mg)	143,00
Fosfor (mg)	60,00
Besi (mg)	1,70
Vitamin A (μg)	39,00
Vitamin B1 (mg)	0,03
Vitamin C (mg)	1,00
Air (g)	88,30

Menurut Hidayat (2006), susu merupakan sumber protein dengan mutu sangat tinggi. Kadar protein susu sapi sekitar 3,5%. Protein susu pada umumnya dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu kasein dan protein *whey*. Kasein merupakan komponen protein yang terbesar dalam susu dan sisanya berupa protein *whey*. Kadar kasein pada protein susu mencapai 80% dari jumlah total protein yang terdapat dalam susu sapi, sedangkan protein *whey* sebanyak 20%. Kasein penting dikonsumsi karena mengandung komposisi asam amino yang dibutuhkan tubuh. Susu merupakan bahan makanan penting karena mengandung kasein yang merupakan protein berkualitas dan mudah dicerna oleh saluran pencernaan.

Karbohidrat utama yang terdapat di dalam susu adalah laktosa. Laktosa adalah disakarida yang terdiri dari glukosa dan galaktosa. Enzim laktase bertugas memecah laktosa menjadi gula-gula sederhana yaitu glukosa dan galaktosa. Pada usia bayi tubuh menghasilkan enzim laktase dalam jumlah cukup sehingga susu dapat dicerna dengan baik. Namun seiring dengan bertambahnya usia, keberadaan enzim laktase semakin menurun sehingga sebagian dari kita akan menderita diare bila mengonsumsi susu (Khomsan, 2004). Selain zat-zat gizi tersebut di atas, pada susu sapi juga terkandung unsur gizi yang mampu menjaga

kestabilan kualitas dan berat tubuh manusia. Hal ini disebabkan karena di dalam susu terdapat tiga kandungan gizi dan asam lemak susu yang cukup penting untuk tubuh manusia, yakni asam butirat, asam linoleat terkonjugasi (ALT), dan fosfolipid. Asam butirat berfungsi untuk meningkatkan daya cerna tubuh. Bahkan, asam butirat mampu mencegah bibit kanker usus besar karena asam tersebut berguna membantu pertumbuhan bakteri baik (bersifat prebiotik). Sementara ALT dan fosfolipid mampu menghindarkan tumor, menurunkan risiko kanker, hipertensi, dan diabetes. Dua asam lemak susu tersebut juga mampu mengontrol lemak dan perkembangan berat badan. Dengan demikian jumlah lemak yang masuk ke dalam tubuh akan tersaring oleh ALT dengan sendirinya (Siswono, 2005).

2.2.2 Susu Kedelai

Susu kedelai merupakan minuman yang bergizi tinggi, terutama karena kandungan proteinnya. Selain itu susu kedelai juga mengandung lemak, karbohidrat, kalsium, phosphor, zat besi, provitamin A, vitamin B kompleks (kecuali B12), dan air. Namun perhatian masyarakat terhadap jenis minuman ini pada umumnya masih kurang (Amrin, 2005).

Susu kedelai baik dikonsumsi oleh orang-orang yang alergi susu sapi, yaitu orang-orang yang tidak punya atau kekurangan enzim laktase (β -galaktosidase) dalam saluran pencernaannya, sehingga tidak mampu mencerna laktosa yang terkandung dalam susu sapi (Koswara, 2006). Ketahanan tubuh masing-masing orang terhadap susu hewani mengandung laktosa berbeda-beda. Hal ini sangat dipengaruhi oleh kandungan enzim laktase dalam mukosa usus. Enzim laktase ini berguna untuk menghidrolisis laktosa menjadi gula sederhana yaitu glukosa dan galaktosa agar dapat digunakan untuk metabolisme dalam tubuh manusia. Bila kekurangan enzim laktase maka laktosa tidak dapat dicerna dengan baik, sebagai akibatnya laktosa akan tertimbun dalam jaringan tubuh manusia sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan tubuh. Lebih dari 70% orang-orang dewasa.

Susu kedelai mengandung protein nabati yang kandungannya hampir setara dengan susu sapi. Komposisi gizi di dalam susu kedelai dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komponen Gizi Susu Kedelai (Santoso, 2009)

KOMPONEN	SATUAN	KADAR
Kalori	Kkal	41,00
Protein	Gram	3,50
Lemak	Gram	2,50
Karbohidrat	Gram	5,00
Kalsium	Mg	50,00
Fosfor	Gram	45,00
Besi	Gram	200,00
Vitamin A	SI	0,08
Vitamin B1 (tiamin)	Mg	2,00

Apabila seseorang tidak dapat mengonsumsi daging atau sumber protein hewani lainnya, kebutuhan protein sebesar 55 gram per hari dapat dipenuhi dengan makanan yang berasal dari 157,14 gram kedelai. Oleh karena itu orang mulai mencari alternative lain untuk mengganti susu dan akhirnya telah ditemukan susu nabati yang terbuat dari bahan baku kedelai (Santoso, 2009). Protein susu kedelai mempunyai susunan asam amino yang mirip susu sapi sehingga dapat dijadikan pengganti susu sapi bagi mereka yang alergi (*lactose intolerance*) atau bagi mereka yang tidak menyukai susu sapi.

Susu kedelai juga dikenal sebagai minuman kesehatan karena tidak mengandung kolesterol tetapi mengandung fitokimia, yaitu suatu senyawa dalam bahan pangan yang berkhasiat menyehatkan tubuh. Susu kedelai juga mengandung lesitin yang sangat tinggi. Lesitin digunakan sebagai pengemulsi pada margarin, pembuatan roti dan lainnya. Lesitin dari kacang kedelai mempunyai sifat lebih unggul sebagai peremaja sel tubuh, jika dibandingkan lesitin dari bahan-bahan lain. Kandungan lesitin bersama dengan zat-zat lain pada kacang kedelai merupakan

senyawa yang sangat berkhasiat sebagai obat awet muda, dan mempertinggi daya tahan tubuh (Cahyadi, 2007).

2.3 Antibakteri

Antibakteri didefinisikan sebagai zat aktif yang bersifat toksisitas selektif yaitu membunuh bakteri yang merugikan manusia tanpa menimbulkan toksisitas terhadap manusia. Zat semacam ini juga sering disebut zat kemoterapeutik yaitu zat kimia yang digunakan untuk mengobati penyakit menular (kemoterapi) atau mencegah penyakit (kemoprofilaksis) (Khairunnisa, 2015).

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. menyebutkan bahwa resistensi mikroba hingga saat ini mengalami peningkatan, sehingga kemampuannya dalam mengobati beberapa penyakit infeksi yang menyebabkan sebagian besar kematian semakin terancam (Okin, 2016).

2.4 Mikroorganisme Uji

2.4.1 Escherichia coli

Genus *Escherichia* merupakan bagian dari *Escherichiae* yang termasuk pada famili *Enterobacteriaceae* dan pertama kali diisolasi pada tahun 1885 oleh seorang bakteriologis asal Jerman bernama Theodor Escherich (Manning, 2010).

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dengan ukuran berkisar antara 1.0-1.5 μm x 2.0-6.0 μm , tidak motil atau motil dengan flagela serta dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, bersifat fakultatif anaerobik dan dapat tahan pada media yang miskin nutrisi. Karakteristik biokimia *E. coli* lainnya adalah kemampuannya untuk memproduksi indol, kurang mampu memfermentasi sitrat, bersifat negatif pada analisis urease (Anderson *et.al.*, 2005).

Bakteri *E. coli* umum hidup di dalam saluran pencernaan manusia atau hewan. Secara fisiologi, *E. coli* memiliki kemampuan untuk bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang sulit. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik di air tawar, air laut, atau di tanah. Pada kondisi tersebut *E. coli* terpapar lingkungan abiotik dan biotik (Anderson et al. 2005). Penyakit yang ditimbulkan oleh *E. coli* disebabkan karena kemampuannya untuk beradaptasi dan bertahan pada lingkungan yang berbeda. Ada beberapa jenis kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi *E. coli* untuk dapat tetap bertahan, misalnya lingkungan asam (pH rendah) seperti pada saluran pencernaan manusia, perubahan suhu, serta tekanan osmotik. Kemampuan *E. coli* untuk bertahan hidup selama pendinginan dan pembekuan telah terbukti menjadikan *E. coli* toleran terhadap kondisi kering (Anderson et al., 2005).

Escherichia coli adalah anggota flora normal usus. *E. coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. *E. coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂, H₂O, energi dan mineral.

Beberapa penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* yaitu :

1. Infeksi saluran kemih

E. coli merupakan penyebab infeksi saluran kemih pada kira-kira 90% wanita muda. Gejala dan tanda-tandanya antara lain sering kencing, dysuria, hematuria, dan piuria. Nyeri pinggang berhubungan dengan infeksi saluran kemih bagian atas.

2. Diare

E. coli yang menyebabkan diare banyak ditemukan di seluruh dunia. *E. coli* diklasifikasikan oleh ciri khas sifat-sifat virulensinya, dan setiap kelompok menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda.

Berikut ini adalah taksonomi dari *Escherichia coli*,

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Species	: <i>Escherichia coli</i>

2.4.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri berbentuk kokus dan bersifat gram positif, tersebar luas di alam dan ada yang hidup sebagai flora normal pada manusia yang terdapat di aksila, daerah inguinal dan perineal, dan lubang hidung bagian anterior. Sekitar 25-30 % manusia membawa *Staphylococcus aureus* didalam rongga hidung dan kulitnya (Soedarto, 2014).

Staphylococcus aureus dapat menimbulkan penyakit pada manusia atau bersifat patogen. Jaringan tubuh dapat diinfeksi dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Infeksi yang disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat berupa infeksi tenggorokan, pneumonia, meningitis, keracunan makanan, berbagai infeksi kulit, dan impetigo. Penyebaran penyakit ini cukup tinggi di daerah endemik (Soedarto, 2014). Berdasarkan (Syahrurahman *et al*, 2010).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut,

Domain : Bacteria
Kingdom : Eubacteria
Ordo : Eubacteriales
Famili : Micrococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies : *Staphylococcus aureus*

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Instrumentasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada bulan Januari 2022 – Juni 2022.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu alat-alat gelas, pembakar spiritus, mikropipet (DragonLab), neraca analitik (Lucky), spatula, batang pengaduk, sentrifuga, autoclave (S-90N), lemari pendingin, *waterbath* (gfl1092), *laminar air flow* (CURMA 9005-FL), pH meter, *shaker incubator* (Environ Shaker LabLine), spektrofotometer UV-Vis (Agilent Technologies), buret, statif dan klem, pipet tetes, *bulb*, toples plastik, saringan plastik, tisu, jar susu, termometer, botol semprot, *colony counter*, inkubator, spidol, pipa Ostwald, *tube vortex*, krus porselin, set alat soxhletasi, dan *refractometer abbe*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, NaOH 0,1N, phenolptalein, akuades, starter kefir 25 g, asam sulfat 97%, akuades, NaCl, Nutrient Agar (NA), susu sapi, susu kedelai, *Mann Rogosa de Sharpe Agar* (MRSA), *Plate Count Agar* (PCA), *Yeast Glucose Chloramphenicol Agar* (YGCA), NaH₂PO₄, NaHPO₄.7H₂O, ZnSO₄, BaOH, HNO₃, NH₄OH, buffer fosfat, NaOH, siprofloksasin, kloramfenikol, bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Sterilisasi Alat

Seluruh alat-alat yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih, dikeringkan dan dilakukan sterilisasi untuk menghindari adanya kontaminasi mikroba yang tidak diinginkan. Sterilisasi alat dilakukan menggunakan *autoclave* pada suhu 122°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Seluruh kegiatan dilakukan secara aseptik didalam *laminar air flow* kecuali proses inkubasi.

3.3.2 Pasteurisasi Susu Sapi Murni

Pada penelitian ini pasteurisasi dilakukan dengan cara *Low Temperature Long Time* (LTLT) menggunakan suhu 63°C selama 30 menit. Pasteurisasi dilakukan dengan memanaskan 1000 mL susu sapi murni pada *waterbath* dengan suhu 63°C selama 30 menit. Penyimpanan susu pasteurisasi dilanjutkan dengan metode pendinginan. Metode pendinginan pada almari es (refrigerator) pada suhu maksimal 4°C yang mampu memperpanjang daya simpan susu pasteurisasi. Mikroba pembusuk tidak dapat tumbuh dan berkembang pada suhu 3-100°C (Setya, 2012).

3.3.3 Pembuatan Susu Kedelai

Kedelai yang telah disortasi direndam dalam larutan NaHCO_3 atau soda kue 0,25-0,5% selama 30 menit. Setelah itu kedelai ditiriskan, ditambah air baru, lalu dididihkan selama 30 menit. Selanjutnya kedelai digiling dengan *blender*. Bubur yang diperoleh ditambah air mendidih sehingga jumlah air secara keseluruhan mencapai sepuluh kali bobot kedelai kering. Kemudian bubur encer disaring dengan kain kasa dan filtratnya merupakan susu kedelai mentah. Selanjutnya ditambahkan gula pasir sebanyak 10-15% dan dipanaskan sampai mendidih.

Setelah mendidih, api dikecilkan dan dibiarkan selama 20 menit lalu disimpan dalam suhu dingin sekitar 5°C (Amrin, 2005).

3.3.4 Pembuatan Kefir *Curd* dan *Whey* Asal Susu Sapi dan Kedelai

Susu sapi dan susu kedelai yang telah dipasteurisasikan ditambahkan 5% bibit kefir. Proses fermentasi dilakukan selama 24, 36 dan 72 jam dengan 2-3 kali pengadukan selama fermentasi. Kemudian dilakukan penyaringan antara *grains* kefir, kefir *curd* (bagian kental berwarna putih pekat) dan kefir *whey* (bagian bening) dengan saringan dan kain kasa. Sediaan kefir *curd* dan *whey* yang sudah jadi disimpan didalam pendingin dengan suhu 4°C untuk dilakukan analisis fisikokimia, mikrobiologi, organoleptik dan aktivitas antibakterinya.

3.3.5 Analisis Fisikokimia Kefir *curd* dan *whey* Susu Sapi dan Kedelai

a. Uji Nilai pH

Pengukuran pH kefir *curd* dan *whey* asal susu sapi murni dan susu kedelai dilakukan dengan menggunakan pH meter digital yang dicelupkan kedalam kefir *curd* maupun *whey*. Sebelum dilakukan pengukuran pH dilakukan kalibrasi pH meter dengan menggunakan buffer fosfat pH 3,5 dan 7. Pada saat pertama dicelupkan angka yang ditunjukkan layar masih berubah-ubah, ditunggu 2-3 menit sampai angka digital stabil (Nihayah, 2015).

b. Uji Viskositas

Pengujian kekentalan kefir *curd* dan *whey* asal susu sapi murni dan susu kedelai dengan langkah-langkah sebagai berikut : sampel dimasukkan dalam pipa Ostwald dan sampel dihisap meenggunakan pompa vakum sampai tanda tera

bagian atas dan dihitung waktu turun sampel sampai tanda tera bagian bawah. Viskositas dari cairan ditentukan dengan mengukur waktu yang dibutuhkan bagi cairan tersebut untuk lewat antara 2 tanda ketika mengalir karena gravitasi melalui viskometer Ostwald. Waktu alir dari cairan yang diuji dibandingkan dengan waktu yang dibutuhkan bagi suatu zat yang viskositasnya sudah diketahui (air) untuk melewati 2 tanda tersebut (Mochtar, 1990). Viskositas diukur dengan menggunakan rumus :

$$\text{viskositas} = \frac{\rho \text{ sampel} \times t \text{ sampel} \times \eta \text{ air}}{\rho \text{ air} \times t \text{ air}}$$

Keterangan :

ρ = berat jenis g/mL

η = massa jenis

t = waktu (s)

c. Uji Total Asam Laktat

Prinsip dalam pengukuran asam laktat yaitu menentukan jumlah asam sebagai asam laktat. Pengujian dilakukan berdasarkan uji keasaman menurut SNI 2981 tahun 2009 dengan titrimetri ditimbang sebanyak 20 gram sampel ditimbang (pipet 20 mL sampel) (berat basah) dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, lalu dilarutkan dengan aquades sebanyak 2 kali volume dan ditambahkan 2 mL indikator pp fenolftalein 1 % , kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda. Kadar asam laktat dapat ditentukan dengan menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ Asam Laktat} = \frac{\text{volume NaOH (ml)} \times \text{Normalitas NaOH (N)} \times 90}{\text{bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

d. Uji Kadar Lemak Total

Untuk menentukan kadar lemak total dilakukan analisis dengan metode Soxhlet. Prinsipnya adalah lemak diekstrak dengan pelarut etil asetat. kemudian pelarut dan sampel dipanaskan untuk menghilangkan kadar air sampel sehingga diperoleh lemak yang dapat ditimbang dan dihitung persentasenya. Sampel yang dianalisis menggunakan metode ini harus berbentuk padatan. Oleh sebab itu sampel yang berupa kefir *whey* harus dipisahkan menggunakan corong pisah terlebih dahulu, kemudian *supernatant* nya dianalisis dengan menggunakan metode soxhletasi.

Sampel diambil sebanyak 5 gram dan diletakkan dalam kertas saring yang diikat pada pelarut sebanyak 500 mL dalam proses soxhletasi. Kemudian refluksi selama kurang lebih 5 jam sampai pelarut turun kedalam labu lemak berwarna jernih. Setelah itu, labu lemak berisi sampel dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit, setelah kering labu lemak tersebut ditimbang (Tejasari, 2005).

Rumus hitung untuk menentukan kadar lemak total adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ Lemak} = \frac{W3-W2}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W1 = bobot sampel (g)

W2 = bobot labu lemak kosong (g)

W3 = bobot labu lemak + lemak hasil ekstraksi (g)

e. Analisis Kadar Protein

Kandungan protein dianalisis menggunakan metode Bradford. Larutan sampel diambil 0,1 mL dan masukkan kedalam *microtube* dan ditambahkan 1000 µl akuades kemudian divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 7 menit. Kemudian ambil *supernatant* sebanyak 20 µl dan ditempatkan pada

microtube yang baru. Tambahkan 1000 µl reagen Bradford, aduk menggunakan vortex. Inkubasi 10 menit pada suhu ruang. Baca dengan spektrofotometri dengan Panjang gelombang 595 nm (Tejasari, 2005).

f. Penentuan Total Padatan

Pengujian total kandungan padatan terlarut diawali dengan melakukan kalibrasi refraktometer abbe menggunakan akuades, kemudian sampel diteteskan sebanyak 1-2 ml pada prisma refraktometer pada 25°C kemudian dilakukan pengukuran derajat Brix. Derajat Brix yang diukur menunjukkan kandungan padatan terlarut dalam larutan (Ismawati *et al.*, 2016).

g. Pengukuran kadar alkohol

Pengukuran kadar etanol dilakukan secara manual menggunakan refraktometer abbe. Pengukuran kadar alkohol dilakukan dengan cara menteskan sampel secukupnya pada prisma. Kemudian untuk mengetahui seberapa besar kadar etanol yang terkandung dilakukan pengamatan pada *eyepiece*. Angka terukur akan terlihat berdasarkan perbedaan warna. Besarnya angka terukur akan berwarna putih pada angka skala prisma (Subrimobdi, 2016). Kadar alkohol dapat ditentukan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Alkohol} = \frac{\text{Indeks bias sampel}}{\text{Indeks bias akuades}} \times 96\%$$

3.3.6 Analisis Mikrobiologi

Analisis mikrobiologi dilakukan untuk menentukan total bakteri asam laktat dan total khamir. Pada pengujian total bakteri menurut SNI 2981_2009, larutan sampel diambil 1 mL kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi aquades sebanyak 9 mL kemudian dihomogenkan menggunakan vortex (pengenceran 10^{-1}). Pengenceran dilakukan hingga faktor 10^{-5} . Pada masing-masing pengenceran tersebut diambil 1 mL dari tingkat pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-5} dan dituangkan ke dalam cawan petri steril. Kemudian dituangkan 12 mL sampai dengan 15 mL media MRS yang masih cair ke dalam masing-masing cawan petri. Cawan petri digoyangkan dengan hati-hati hingga sampel dan media pembenihan tercampur merata dan memadat. Pemeriksaan blangko dengan mencampur air pengencer untuk setiap sampel yang diperiksa, lalu biarkan sampai campuran dalam cawan petri memadat. Selanjutnya semua cawan petri dimasukkan dengan posisi terbalik ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 3 hari. Pertumbuhan koloni pada setiap cawan petri yang mengandung 30 koloni sampai 300 koloni dicatat setelah 3 hari.

Proses pengujian total khamir dilakukan dengan pengambilan 1 mL sampel, lalu diencerkan dalam aquades dan dilakukan dengan metode *spread plated* diatas media YGC agar. Cawan petri diinkubasi pada 25°C selama 5 hari. Kemudian jumlah koloni yang tumbuh dihitung dengan metode total plate count dan dinyatakan dalam satuan cfu/ml (SNI 298, 2009).

Total bakteri asam laktat dan khamir yang dihitung dengan metode *total plate count* dapat ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Total koloni} = \frac{\text{Jumlah koloni per cawan}}{\text{Faktor pengenceran}}$$

3.3.7 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan di laboratorium biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung dengan panelis agak terlatih mahasiswa Universitas Lampung serta beberapa masyarakat sekitar Universitas Lampung dari berbagai rentang usia sebanyak 25 orang. Uji organoleptik dilakukan dengan memberikan sampel dan kertas penilaian sesuai yang berisi penilaian secara hedonik. Panelis akan diminta untuk mencoba produk dan kemudian memberi penilaian sesuai dengan individu masing-masing. Penilaian meliputi warna, aroma, rasa dan tekstur (Balai Pengkajian Teknologi, 2015).

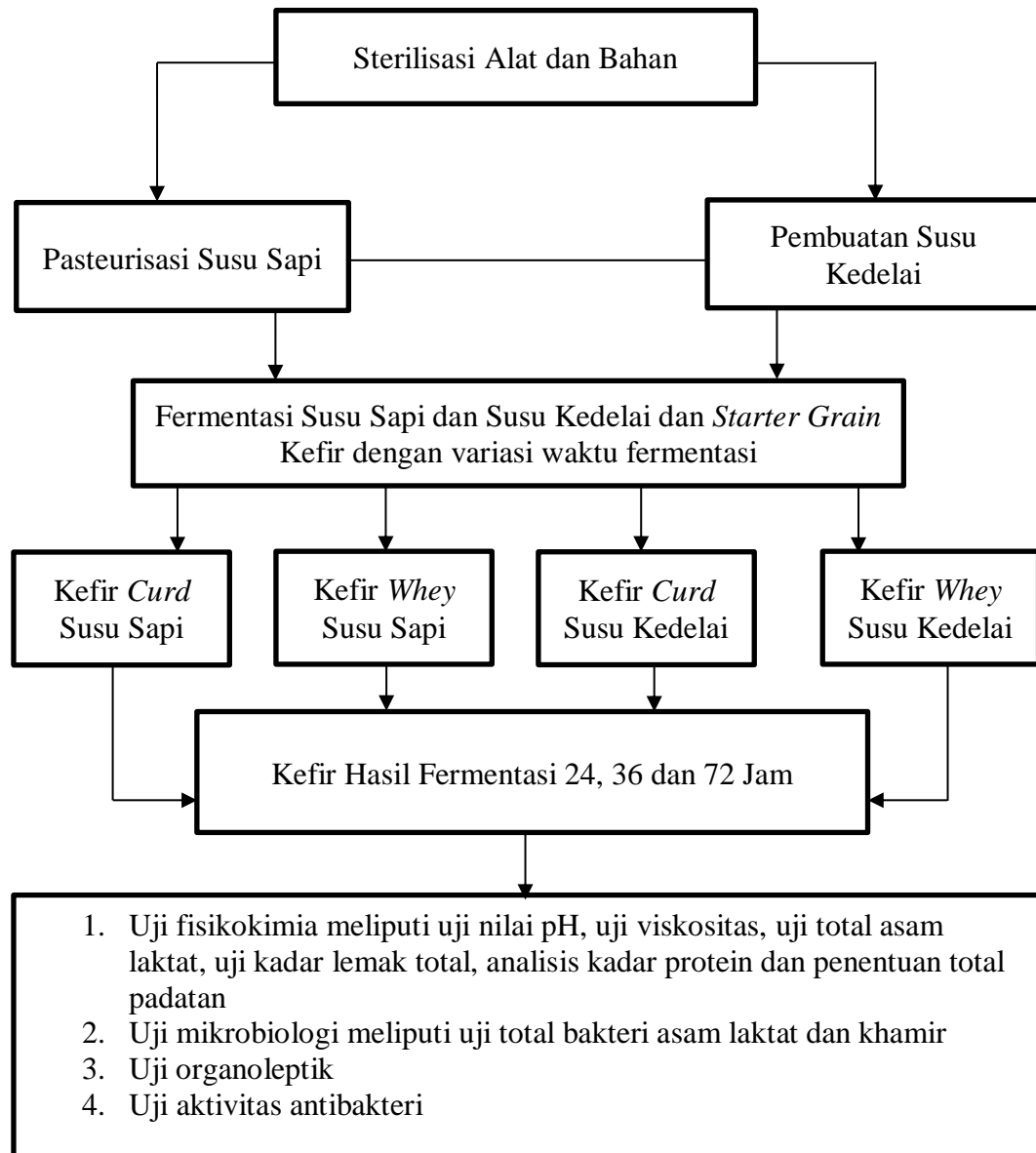
3.3.8 Aktivitas Antibakteri Kefir *Curd* dan *Whey* Asal Susu Sapi dan Kedelai

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara masing-masing bakteri hasil peremajaan dibuat menjadi suspensi mikroba 10^9 cfu/gram sesuai dengan kekeruhan Mc Farland III dengan cara satu ose biakan bakteri, dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi yang telah diisi NaCl 0,85% kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Suspensi bakteri 10^9 cfu/gram yang sudah dibuat kemudian diencerkan dengan pengenceran bertingkat sehingga diperoleh suspensi bakteri 10^6 cfu/gram (Okin, 2016).

Pengujian aktivitas antimikroba terhadap bakteri patogen dilakukan dengan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer Disk*). Kertas cakram direndam dalam kefir *curd* dan *whey* asal susu sapi dan kedelai selama 30 menit kemudian ditiriskan lalu ditempelkan ke permukaan agar dengan bantuan pinset kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Pengukuran zona hambat berupa zona bening menggunakan mikrometer sekrup. Kontrol positif sebagai pembanding digunakan antibiotik siprofloksasin untuk bakteri *Escherichia coli* dan kloramfenikol untuk bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diencerkan menjadi konsentrasi 0,02 mg/mL.

3.4 Diagram alir penelitian

Adapun diagram alir keseluruhan dari penelitian ini adalah seperti Gambar 3.



Gambar 3. Diagram Alir Penelitian

3.5 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah kefir *curd* dan *whey* asal susu sapi dan susu kedelai. Variasi yang digunakan adalah waktu fermentasi yang terdiri dari 24 jam, 36 jam dan 72 jam. Rancangan penelitian dari penelitian ini adalah seperti Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Rancangan Penelitian

	24 Jam (1)	36 jam (2)	72 jam (3)
CS	CS.1	CS.2	CS.3
CK	CK.1	CK.2	CK.3
WS	WS.1	WS.2	WS.3
WK	WK.1	WK.2	WK.3

Keterangan :

CS : kefir *curd* susu sapi

CK : kefir *curd* susu kedelai

WS : kefir *whey* susu sapi

WK : kefir *whey* susu kedelai

24 jam : variasi waktu 1

36 jam : variasi waktu 2

72 jam : variasi waktu 3

Seluruh analisis dan uji dalam penelitian ini dilakukan secara triplo (tiga kali pengulangan).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut,

- i. Kefir *curd* dan *whey* asal susu sapi dan kedelai memenuhi standar codex stan 243_2003 sehingga layak dikonsumsi sebagai minuman probiotik.
- ii. Sifat fisikokimia, organoleptik dan mikrobiologi serta aktivitas antibakteri kefir *curd* dan *whey* asal susu sapi dan kedelai yang paling optimum adalah hasil fermentasi selama 72 jam dimana total bakteri asam laktat juga mencapai jumlah optimum sebagai minuman probiotik yaitu CS.3 (305×10^5 CFU/mL).
- iii. Aktivitas antibakteri tertinggi terhadap *Escherichia coli* yaitu CS.3 (1,51 cm) atau pada kefir *curd* asal susu sapi yang difermentasi selama 72 jam. Sementara itu terhadap *Staphylococcus aureus* yaitu WK. 3 (1,37 cm) atau pada kefir *whey* asal susu kedelai yang difermentasi selama 72 jam.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan setelah dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut,

- i. Melakukan modifikasi produk minuman probiotik kefir dengan variasi rasa dan aroma dari bahan alam sehingga produk minuman probiotik kefir lebih diterima masyarakat.
- ii. Melakukan penelitian lebih lanjut terhadap peptida bioaktif kefir yang berfungsi sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, L. 2005. *Bakteri Probiotik Sebagai Starter Dan Implikasi Efeknya Terhadap Kualitas Yoghurt, Ekosistem Saluran Pencernaan Dan Biokimia Darah Mencit*. Disertasi Program Pasca Sarjana. Universitas Padjajaran: Bandung.
- Almatsier, S. 2002. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Amrin, T., (2005). *Susu Kedelai*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Andrianto, S. 2008. *Pembuatan Es Krim Probiotik dengan Substitusi Susu Fermentasi Lactobacillus casei subsp. rhamnosus dan Lactobacillus F1 terhadap Susu Skim*. Skripsi Sarjana Teknologi Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ariani. N. L. S. 2016. *Karakteristik Kimia Produk Susu Fermentasi Kefir Berantioksi dan Selama Penyimpanan*. Fakultas Peternakan Universitas Udayana Denpasar. Bali.
- Atasanova j, Ivanova I. 2010. *Antibacterial peptides from goat and sheep milk proteins*. Journal of Biotechnology Equipment. 24:1788-1803.
- Badan Standar Nasional. 2009. SNI.2981:2009. *Yoghurt*. Badan Standar Nasional Indonesia. Jakarta.
- Balai Pegkajian Teknologi Pertanian (BPTP). 2015. *Inovasi Teknologi Pertanian*. Kementrian Pertanian.
- Breed, R. S, Murry E. G. D dan Smith N. R. 1957. *Bergey's Manual of Determinate Bacteriology Seventh Edition*. Baltimore: The Wilkins Company.
- Buckle, K.A., Edwards, R.A. Fleet, G.H., dan Wootton, R. 1985. *Ilmu Pangan*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI Press).
- Cahyadi, W., 2007. *Kedelai, Kasiat dan Teknologi*. Bumi Aksara. Jakarta.

- Chairunnisa, H., R. L. Balia dan G. L. Utama. 2006. *Penggunaan starter bakteri asam laktat pada produk susu fermentasi "Lifihomi"*. *Jurnal Ilmu Ternak 6 (2): 102- 107 Codex Stan 24-2003*. Codex Standard For Fermented Milks. Milk And Milk Products (2nd Edition).
- Draphco, C.M.,N.P. Nhuan., dan T.H. Walker. 2008. *Biofuels Engineering Process Technology*. The Mc. Graw Hill Companies, Inc USA.
- Farnworth ER. 2008. *Kefir –a complex probiotic*. *Food SciTechnolBull:Functional Foods*. 2:1-17.DOI: 10.1616/1476- 2137.13938.
- Ganiswarna, S., 1995. *Farmakologi dan Terapi*. edisi IV, 271-288 dan 800-810. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Hidayat, but, padafa, masdiana C., Suhartini, Sri. 2006. *Mikrobiologi industri*. Yogyakarta : penerbit Andi.
- Hilyaturrufaedah, Anggi Indah. 2017. *Optimasi suhu Dalam pembuatan kefir Susu sapi Dan uji aktivitas antibakterinya sebagai minuman probiotik*. Skripsi. Univeristas Islam negeri syarif hidayatullah. Jakarta.
- Ismawati, Nur., Nurwantoro, Yoyok Budi Pramono. 2016. *Nilai pH, Total Padatan Terlarut, dan Sifat Sensoris Yoghurt dengan Penambahan Ekstrak Bit (Beta Vulgaris L)*. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 5*. Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro. Semarang.
- J. Atanasova & I. Ivanova. 2010. *Antibacterial Peptides from Goat and Sheep Milk Proteins, Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24:2, 1799-1803, DOI: 10.2478/ V10133-010-0049-8
- Jawetz E., J. L. Melnick, E.A.Adelberg, G.F. Brooks, J. S. Butel, L.N. Ornstorn, 1995. *Mikrobiologi Kedokteran* .20, university of California, San Francisco.
- Karagozlu, G. danYildiz, S. (2000). *Extraction of fructo-oligosaccaride components from banana peels*. *Gazi University Journal of Science* 24877-882.
- Khaerunisa, Ambar. 2015. *Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri dan Tanaman Leunca (Solanum nigrum)*. Skripsi. FKIK. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Khomsan, A. 2004. *Pangan Dan Gizi Untuk Kualitas Hidup*. PT. gramedia Widiasarana. Jakarta.
- Koswara, S. 2006. *Biodegradable Film Derived from Chitosan and Homogenized Cellulosa Ind. Eng : Chem Res*.

- Kunaepah, uun. 2008. *Pengaruh Lama Fermentasi Dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total Dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah*. Tesis. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Lindawati, S. A., N. L.P. Sriyani, M.Hartawab, Dan IG. Suranjaya. 2015. *Study mikrobiologis kefir dengan waktu simpan Berbeda*. Fakultas Peternakan universitas udayana Denpasar. Bali.
- Maitimu, C.V., A.M. Legowo, dan A.N. Al-Baarri. 2012. *Parameter kadar lemak dan kadar laktosa susu pasteurisasi dengan penambahan ekstrak daun aileru (Wrightia calycina) selama penyimpanan*. Ekosains 1(1): 28-34.
- Mal, Rup, Radiati, Lilik Eka dan Purwadi. 2013. *Pengaruh Lama Penyimpanan pada Suhu Refrigerator Terhadap Nilai pH, Viskositas, Total Asam Laktat dan Profil Protein Terlarut Kefir Susu Kambing*. Jurusan Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang.
- Magalhães, KT. (2011) . *Brazilian kefir: structure, microbial communities and chemical composition*. Braz J Microbiol 42(2):693-702.
- Maruddin, F., A. Ma'Shum, dan W. Hatta. 2018. *Aktivitas antibakteri, nilai pH dan kadar asam laktat kefir dengan penambahan konsentrasi sukrosa*. Jurnal Sains dan Teknologi, 18(1): 69-73.
- Michael, B.B.R Sidartha, dan L.M.E dan L.M.E Purwijatiningsih. 2016. *Potensi Kefir Sebagai Antibakteri Propioni bacterium acnes*. Jurnal Penelitian Fakultas Teknobiologi. Universitas Atma Jaya. Yogyakarta.
- Nelson, D.L., & Cox, M.M. 2008. *Lehninger Principles of Biochemistry*. W.H. Freeman.
- Nihayah, Ifratun. 2015. *Pengaruh Konsentrasi Stater Terhadap Kualitas Kefir Susu Sapi dan pemanfaatannya Sebagai Penurun Kadar Kolesterol Mencit (Mus musculus)*. Skripsi jurusan biologi. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Novick, R.P., Fischetti, A.V.J.J., Protnoy, P.A & Rood, J.J. 2000. *Gram Positif*. Washington DC : ASM Press.
- Okin. 2016. *Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Kapang Endofit dan Daun Tanaman Bakung Putih (Crnum asiaticum L) Terhadap Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis dan Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kedokteran. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

- Otles, Semih dan Ozem, Cagindi. 2003. Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. *Journal Of Nutrition* 2 (2): 54- 59,2003.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E. C. S., 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 1*. UI Press. Jakarta.
- Potter, Norman N. 1976. *Food Science* (2nd ed). United States of America : The Avi Publishing Company Inc.
- Putri, E. 2016. Kualitas Protein Susu Sapi Segar Berdasarkan Waktu Penyimpanan. *Chempublish Journal*. 1(2) : 14-20.
- Radji, Maksum. 2006. *Buku Ajar Mikrobiologi. Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. EGC. Jakarta.
- Rahayu, Novia dan Putri Dian Wulansari. 2019. Composition of Cow Milk Kefir Enriched With Ginger Extract. *Journal of Livestock Science and Production. Journal Untidar*. Vol 3 No. 2.
- Rukmana, H. R. (1997). *Kacang Hijau Budi Daya dan Pascapanen*. Kanisius. Yogyakarta.
- Santoso. 2009. *Susu dan Yoghurt Kedelai*. Laboratorium Kimia Pangan. Universitas Widya Gama. Tempat.
- Safitri, M. F dan A. Swarastuti. 2013. *Kualitas kefir berdasarkan konsentrasi kefir grain*. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 2(2): 87-92.
- Sawitri, Manik Eirry. 2012. *Kajian Konsentrasi Kefir Grain dan Lama Simpan dalam Refrigerator Terhadap Kualitas Kimiawi Kefir Rendah Lemak*. *Jurnal Ilmu- ilmu Peternakan*, 21 (1): 24-30.
- Seppo L, jauhianien T, poussa T, korpela R. 2003. *A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure-lowering effect in hypertensive subjects*. *Am J clin Nutr* 77:326-330.
- Sintasari, R. A., J. Kusnadi., dan D. W. Ningtyas. 2014. *Pengaruh penambahan konsentrasi susu skim dan sukrosa terhadap karakteristik minuman probiotik sari beras merah*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2 (3): 65-75.
- Siswono. *Kimia medisinal*. Surabaya. Airlangga university press. 1995.
- Smith-keary P.F., 1988. *Genetic Elements in Escherichia coli*. Macmillan molecular biology series, london p. 1-9, 49-54.
- Subrimobdi, B. W. (2016). *Studi Eksperimental Pengaruh Penggunaan Saccharomyces Cerevisiae Terhadap Tingkat Produksi Bioetanol Dengan*

Bahan Baku Nira Siwalan. (Skripsi) Program Studi Teknik Mesin. Fakultas Teknik. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

- Sudono, Adidan Usmiati, S. (2004). *Pengaruh Starter Kombinasi Bakteri dan Khamir Terhadap Sifat Fisikokimia dan Sensori Kefir*. Jurnal Pascapanen, Vol. 1, No. 1.
- Suhartanti, Dwi dan Iqbal, Muhammad. 2014. *Perbandingan Aktivitas Antibakteri Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kambing Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.
- Sukaesih, E., Prabawati, S., Hidayat, T. (2009). *Optimasi Kecukupan Panas pada Pasteurisasi Santan dan Pengaruhnya terhadap Mutu Santan yang Dihasilkan*. J. Pascapanen Volume 6(1), pp. 34- 42.
- Suhartanti D., Septian R. 2014. *Comparison Of The Antibacterial Activity Of Cow Milk Kefir And Goat Milk Kefir Against Bacteria Bacillus Cereus*. Kesmas, 8 (2),71-76.
- Sulistyo. 1971. *Farmakologi dan Terapi*. Yogyakarta. EKG.
- Suriasih, K. 2005. *Pengaruh Substitusi Starter Yoghurt dengan Cairan Tape Ketan Terhadap Karakteristik Yoghurt yang Dihasilkan*. Fakultas Peternakan Universitas Udayana. Bali.
- Susanti dan S. Utami. 2014. *Pengaruh lama fermentasi terhadap kandungan protein susu kefir sebagai bahan penyusun petunjuk praktikum mata kuliah biokimia*. Jurnal Florea 1(1): 41-46.
- Syahrurachman, dkk. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Binarupa Aksara Publishers. 2010.
- Szwajkowska m, wolanciuk A, barlowska j, krol j, zygmont l. 2011. *Bovine milk proteins as the source of bioactive peptides influencing the consumers immune system*. Animal Science Reproduction Journal. 29:268-280.
- Tejasari. 2005. *Nilai-Nilai Gizi Pangan*. Graha Ilmu. Jakarta.
- Trutnik, L., R. Bozanic, Z. Herceg, dan I. Drgalic. 2006. *The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk*. International Journal of Dairy Technology 59(1): 40-46.
- Usmiati, Sri. 2007. *Kefir Susu Fermentasi dengan Rasa Menyegarkan*. Warta Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Vol.29, No.2, 2007.
- World Health Organization. 2000. *Obesity: Preventing and managing the global epidemic*. Report of a WHO consultation on obesity June 3-5; Geneva.

- Wijaningsih, Wiwik. 2008. *Aktivitas Antibakteri In Vitro dan Sifat Kimia Kefir Susu Kacang Hijau (Vigna Radiata) Oleh Pengaruh Jumlah Starter dan Lama Fermentasi*. Tesis tidak diterbitkan. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Winarti, Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Winarno, F. G. 1993. *Pangan: Gizi, Teknologi, dan Konsumen*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Yusriyah, Nuril Hafidzoh dan Agustini Rudiana. 2014. *Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Konsentrasi Bibit Kefir Terhadap Mutu Kefir Susu Sapi*. UNESA Journal Of Chemistry Vol.3, No.2.
- Zakaria, Yusdar. 2009. *Pengaruh jenis Susu Dan persentase stater Yang Berbeda terhadap kualitas kefir*. Jurnal agripet, vol.9 no.1.