

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI KEFIR BERBAHAN BAKU SUSU
KEDELAI TERHADAP AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN
DAN ANTIFUNGI**

(Skripsi)

Oleh

**Cindi Pebrianti
1917011068**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI KEFIR BERBAHAN BAKU SUSU
KEDELAI TERHADAP AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN
DAN ANTIFUNGI**

Oleh

Cindi Pebrianti

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
2024**

ABSTRAK

PENGARUH WAKTU FERMENTASI KEFIR BERBAHAN BAKU SUSU KEDELAI TERHADAP AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI

Oleh

Cindi Pebrianti

Kefir merupakan salah satu produk fermentasi susu yang berfungsi sebagai minuman probiotik yang baik untuk kesehatan, diantaranya sebagai antifungal, antioksidan, dan baik untuk mengatasi intoleransi laktosa. Kefir dapat dibuat dari susu sapi, susu kambing, dan susu kedelai. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antifungi dari *whey* dan *curd* dalam kefir susu kedelai dengan variasi waktu fermentasi serta peptida bioaktif berdasarkan berat molekul dari *whey* dan *curd* kefir yang menunjukkan aktivitas antioksidan dan antifungi terbaik. Metode yang digunakan pada penelitian ini meliputi pembuatan susu kedelai, fermentasi susu kedelai dengan bibit kefir 5%, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, uji aktivitas antifungi dengan metode disk cakram dan penentuan peptida bioaktif berdasarkan berat molekul dengan SDS-PAGE. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan *whey* dan *curd* kefir susu kedelai meningkat selama waktu fermentasi dan tergolong antioksidan sedang - sangat kuat dengan IC_{50} tertinggi pada *curd* fermentasi 72 jam dengan IC_{50} 63,25 ppm dengan AAI 1,58. Aktivitas antifungi pada *whey* dan *curd* kefir susu kedelai juga meningkat selama waktu fermentasi dan tergolong antifungi sedang terhadap jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus fumigatus* dengan zona hambat irradikal terbesar terbentuk pada *whey* fermentasi 72 jam berkisar 8,74 mm dan 8,72 mm. Berat molekul peptida pada *whey* dan *curd* kefir susu kedelai fermentasi 48 jam dan 72 jam memiliki 6 pita berukuran 10 kDa, 13 kDa, 17 kDa, 37 kDa, 53 kDa, dan 75 kDa. Sedangkan susu kedelai yang tidak difermentasi memiliki 1 pita dengan berat molekul 17 kDa.

Kata Kunci : Kefir, *whey*, *curd*, antioksidan, antifungi, peptida.

ABSTRACT

THE EFFECT OF FERMENTATION TIME OF KEFIR MADE FROM SOY MILK ON ITS ACTIVITY AS AN ANTIOXIDANT AND ANTIFUNGAL

By

Cindi Pebrianti

Kefir is a fermented milk product known for its health benefits, including antioxidant properties, antifungal effects, and suitability for individuals with lactose intolerance. It can be produced from various sources such as cow's milk, goat's milk, and soy milk. This study aims to assess the antioxidant and antifungal activities of whey and curd in soy milk kefir, considering different fermentation times. Additionally, it explores bioactive peptides in kefir based on molecular weight to identify those with optimal antioxidant and antifungal properties. The methods employed encompass soy milk preparation, fermentation with 5% kefir seeds, antioxidant testing using the DPPH method, antifungal testing via the disc method, and identification of bioactive peptides through SDS-PAGE. The findings indicate that both whey and curd kefir exhibit increased antioxidant activity over fermentation time, with the highest IC_{50} observed in 72-hour fermented curd (63.25 ppm, AAI 1.58). Antifungal activity against *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus* also rises during fermentation, with the largest inhibition zones seen in 72-hour fermented whey (8.74 mm and 8.72 mm). Molecular weight analysis of peptides in 48-hour and 72-hour fermented soy milk kefir reveals bands at 10 kDa, 13 kDa, 17 kDa, 37 kDa, 53 kDa, and 75 kDa contrast, unfermented soy milk exhibits a single band at 17 kDa.

Key Word : Kefir, whey, curd, antioxidant, antifungal, peptide.

Judul Skripsi

**: PENGARUH WAKTU FERMENTASI KEFIR
BERBAHAN BAKU SUSU KEDELAI
TERHADAP AKTIVITASNYA SEBAGAI
ANTIOKSIDAN DAN ANTIFUNGI**

Nama Mahasiswa

: Cindi Pebrianti

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1917011068

Program Studi

: Kimia

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing 1



Dr. Nurhasanah, M.Si.
NIP. 197412111998022001

Pembimbing 2



Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, SU.
NIP. 196102031987031002

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung



Mulyono, Ph.D.
NIP. 197406112000031002

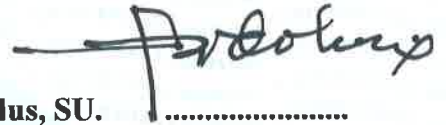
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.



Sekretaris : Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, SU.



Anggota : Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002**

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 2 Februari 2024

LEMBAR PENGESAHAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Cindi Pebrianti
NPM : 1917011068
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul **“Pengaruh Waktu Fermentasi Kefir Berbahan Baku Susu Kedelai Terhadap Aktivasnya Sebagai Antioksidan dan Antifungi”** adalah benar karya saya sendiri dan saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 2 Februari 2024
Yang menyatakan,



Cindi Pebrianti
NPM. 1917011068

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Cindi Pebrianti lahir di Bandar Lampung pada tanggal 1 Februari 2001. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara, putri dari Bapak Suali S dan Ibu Rosneli Darti. Penulis pertama kali menempuh pendidikan di Taman Kanak-kanak Nurul Fuad Panjang yang diselesaikan pada tahun 2006. Kemudian dilanjutkan ke Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Karang Maritim yang ditamatkan pada tahun 2013. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 23 Bandar Lampung yang ditamatkan pada tahun 2016. Lalu penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Kejuruan di bawah Kementerian Perindustrian di SMK SMTI Bandar Lampung Jurusan Kimia Industri hingga tahun 2019.

Pada tahun 2019, penulis diterima di Jurusan S1 Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif berpartisipasi dalam beberapa organisasi kemahasiswaan di tingkat Fakultas yang mana tergabung dalam anggota Biro Kesekretariatan Himpunan Mahasiswa Jurusan Kimia (HIMAKI) FMIPA Universitas Lampung pada tahun 2020, lalu Rohani Islam (ROIS) FMIPA Universitas Lampung sebagai Kepala Biro Kemuslimahan pada tahun 2021, serta pada tahun 2022 diamanahkan menjadi Ketua Komisi IV (Hubungan Luar dan Kemediaan) Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) FMIPA Universitas Lampung. Penulis juga pernah mengikuti Karya Wisata Ilmiah ke 30 yang diselenggarakan oleh BEM FMIPA Universitas Lampung tahun 2019. Penulis juga pernah berpartisipasi dalam Kegiatan Pengabdian Kepada Masyarakat “Pemberdayaan Ibu Balita dan Kader Dalam Pembuatan Susu Kefir Untuk Pencegahan Stunting di Desa Cipadang Kecamatan

Gedong Tataan Kabupaten Pesawaran” bersama dengan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Keteguhan, Kecamatan Teluk Betung Timur, selama 40 hari. Setelah melaksanakan kewajiban KKN, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Lampung dari bulan Juli tahun 2022 hingga bulan September tahun 2022 dengan judul “Pengaruh Penambahan Konsorsium Mikroba EM4 Pada Total *Chemical Oxygen Demand* (COD) Limbah Cair Industri Tahu”. Selama menjalani perkuliahan, penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Pengantar Kimia Analisis untuk mahasiswa jurusan Biologi Terapan pada tahun 2022, lalu asisten praktikum mata kuliah Biokimia untuk mahasiswa jurusan Biologi dan Biologi Terapan pada tahun 2023, serta pernah menjadi operator instrumen Spektrofotometri UV-Vis model *Agilent Cary* 100 di Laboratorium Biokimia Universitas Lampung.

MOTTO

Wahai orang-orang yang beriman! Jika kamu menolong (agama) Allah, niscaya
Dia akan menolongmu dan meneguhkan kedudukanmu.

(QS. Muhammad : 7)

Apa yang dikerjakan dengan sepenuh hati, hasilnya juga akan dirasakan oleh hati.

(Ust. Felix Siauw)

Tujuan dari ilmu adalah mengamalkannya, maka ilmu yang hakiki adalah yang
terefleksikan dalam kehidupannya, bukan yang bertengger di kepala.

(Imam Syafi'i)

*Think like a queen. A queen is not afraid to fail, failure is another steppingstone
to greatness.*

(Oprah Winfrey)

Setiap level pelajaran ada ujiannya, makin naik tahapnya maka makin berat pula
ujiannya serta makin sakit pula efek jatuhnya. Namun Allah tak pernah bertanya
tentang hasil yang didapatkan. Semua yang Allah hargai adalah usaha. Sebab

Allah mengetahui tak semua makhluk-Nya akan berhasil, tapi semua bisa
berusaha untuk berhasil.

(Penulis)

PERSEMBAHAN

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas Rahmat-Nya serta sholawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW.



Karya sederhana ini ku persembahkan sebagai wujud cinta, bakti, dan sayangku kepada:

**Kedua orang tua tercinta
Bapak Suali S dan Ibu Rosneli Darti.**

Yang senantiasa memberikan motivasi, nasihat, cinta dan kasih, doa, serta dukungan secara moril dan finansial kepada penulis selama ini.

**Adikku Tersayang
Arman Riski Fadli**

Terima kasih telah senantiasa memberikan doa dan dukungan kepada penulis

Rasa hormat saya kepada:

**Ibu Dr. Nurhasanah, M.Si. | Bapak Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus,
S.U. | Bapak Syaiful Bahri, M. Si.**
Serta seluruh dosen Jurusan Kimia

Terima kasih telah mendidik, membimbing, dan memberikan wawasan selama penulis menempuh pendidikan di kampus hingga mendapat gelar sarjana. Semoga Allah SWT membalas kebaikan bapak dan ibu kelak, Aamiin.

Keluarga besar dan sahabat-sahabat seperjuangan

dan

Almamater tercinta, Universitas Lampung

SAN WACANA

Assalammu'alaikum Warrahmatullahi Wabarakatuuh.

Alhamdulillah *rabbi'l'alaamiin*. Segala puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahuwata'aalaa, serta tak lupa pula salam cinta kepada Baginda Nabi Muhammad SAW, karena berkat Rahmat dan Hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul "Pengaruh Waktu Fermentasi Kefir Berbahan Baku Susu Kedelai Terhadap Aktivitasnya Sebagai Antioksidan dan Antifungi" sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Selain bersyukur kepada dzat pencipta bumi dan kekasihNya, penulis juga ingin berterima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis menyelesaikan tugas akhir ini. Adapun pihak-pihak tersebut, antara lain:

1. Kedua orang tuaku; Bapak Suali S dan Ibu Rosneli Darti untuk segala doa, nasihat, support, pengorbanan, perjuangan, kesabaran, dan kasih sayangnya. Terima kasih karena selalu mendukung pilihan penulis, terima kasih atas cinta dan kasih sayang yang selalu diberikan di setiap jalan penulis menempuh pendidikan, terima kasih atas doa yang selalu dipanjatkan kepada Allah SWT sehingga penulis selalu diberikan dan diberkahi kelancaran dalam setiap urusan dalam menyelesaikan pendidikan.
2. Adik ku satu-satunya; Arman Riski Fadli. Terima kasih sudah menjadi teman bicara dan selalu mendengarkan keluh kesah yang hampir setiap hari penulis katakan dan tiada hentinya menyemangati penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Nurhasanah S.Si., M.Si., sebagai pembimbing I penulis. Terima kasih atas bimbingan, arahan, dukungan, dan ilmu pengetahuan yang telah diberikan kepada penulis mulai dari saat penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan hingga melaksanakan penelitian untuk menuntaskan skripsi ini.

4. Bapak Prof. Dr. Drs. Hardoko Insan Qudus, SU., selaku Dosen Pembimbing II. Terima kasih atas segala saran, bimbingan, ilmu, semangat, kesabaran, dan waktunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si., selaku dosen pembahas. Terima kasih karena telah memberikan masukan-masukan yang membangun untuk kemudian dijadikan sebuah pembelajaran oleh penulis.
6. Ibu Prof. Noviany, S.Si., M.Si., Ph.D., selaku dosen pembimbing akademik, penulis mengucapkan terima kasih banyak atas bimbingan, nasihat, motivasi, dan kesabaran dalam membimbing penulis selama masa perkuliahan.
7. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung
8. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
9. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu baik dalam bidang akademik maupun non akademik.
10. Laboran laboratorium Biokimia, staff administrasi, satuan pengaman, dan seluruh pegawai di lingkungan Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
11. Nurhasanah's Research Group 2019 : Astin Vidyasani, Verinda Indah Sari, Putpita Sari dan Yori Pratiwi, terima kasih atas bahu, telinga, pengorbanan waktu istirahat, keringat, dan air mata yang telah dikorbankan selama menjalankan penelitian bersama penulis di laboratorium.
12. Kakak-kakak Nurhasanah's Research : Kak Aulia, mba Nurmayana, kak Salsa, mba Hanisa dan mba Siwi. Terima kasih telah membantu, serta memberikan dukungan kepada penulis. Semoga sukses selalu kakak- kakak.
13. Teman-teman serta adik-adik Lab Biokimia terima kasih telah memberikan semangat, dan dukungannya sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dengan baik.
14. Teman-teman DPM FMIPA Unila 2022 : Mahfud, Ali, Tri, Jensa, Alinil, Pri, Isro, Hikmah, dan Caca. Terima kasih telah banyak membantu, memberikan

dukungan, dan semangat, serta segala kenangan yang telah diukir bersama penulis.

15. Sahabat Komitmen Sampai Akhir : Alinil Masruroh, Astin Vidyasani, dan Lousanja Dira Sa'uddah. Terima kasih atas segala dukungan, bantuan, dan semangat selama masa perkuliahan dan selalu menjadi pengingat yang baik untuk penulis.
16. Sahabat SMTI ku: Oktalia Wulandari, Siti Aisyah, Mela Inka Putri yang selalu memberi motivasi, semangat, kepercayaan dan ruang hiburan bagi penulis. Sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
17. Teman-teman (khususnya Liqo), Kakak dan Mbak FKAR Bandar Lampung dan tim Dakwah Sekolah (TKS SMK SMTI Bandar Lampung). Terima kasih atas segala dukungan, bantuan, motivasi, semangat, doa dan pengertiannya terhadap keadaan penulis yang terkadang tidak banyak membantu karena terkendala waktu penelitian dan lainnya. Semoga Allah memudahkan segala sesuatunya baik di dunia maupun akhirat dan Allah gantikan menjadi pahala dan amal jariyah.
18. Teman-teman Kimia 2019 atas segala kenangan selama kuliah.
19. Seluruh pihak yang telah membantu dan mendukung penulis yang tidak dapat dituliskan satu per satu.
20. Kepada diri saya sendiri Cindi Pebrianti, terima kasih telah kuat berjuang dan bertahan sampai akhir.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat beberapa ketidaksempurnaan, tetapi penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan di masa depan.

Bandar Lampung, 2 Februari 2024
Penulis

Cindi Pebrianti

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kefir	5
2.2 Kefir Nabati.....	6
2.3 Susu Kedelai.....	8
2.4 Fermentasi Susu	10
2.5 Antioksidan	12
2.6 Metode DPPH	12
2.7 Antifungi	14
2.8 SDS-PAGE.....	15
III. METODOLOGI PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat	17
3.2 Bahan dan Alat	17
3.3 Metode Penelitian.....	18
3.3.1 Sterilisasi Alat.....	18
3.3.2 Pembuatan Susu Kedelai	18
3.3.3 Sterilisasi Susu Kedelai	19

3.3.4 Pembuatan Kefir Susu Kedelai	19
3.3.5 Uji Aktivitas Antioksidan	19
3.3.6 Uji Aktivitas Antifungi	20
3.3.7 Analisis Profil Peptida dengan SDS-PAGE.....	21
3.3.8 Diagram Alir Penelitian	22
3.4 Desain Eksperimen.....	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1 Kefir Susu Kedelai	24
4.2 Aktivitas Antioksidan.....	25
4.3 Aktivitas Antifungi.....	29
4.4 Profil Peptida Bioaktif dengan SDS-PAGE	33
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	36
5.1 Simpulan.....	36
5.2 Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	46

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia Kefir	6
2. Perbandingan Susu Kedelai dan Susu Sapi Per 100 Gram	9
3. Desain Eksperimen.....	23
4. Persentase Inhibisi, IC ₅₀ dan AAI Kefir Susu Kedelai	26
5. Zona Hambat Irradikal dari Kefir Susu Kedelai	30
6. Aktivitas Antioksidan Standar Vitamin C	47
7. Aktivitas Antioksidan Susu Kedelai	48
8. Aktivitas Antioksidan <i>Whey</i> Fermentasi 24 jam.....	49
9. Aktivitas Antioksidan <i>Curd</i> Fermentasi 24 jam	50
10. Aktivitas Antioksidan <i>Whey</i> Fermentasi 36 jam.....	51
11. Aktivitas Antioksidan <i>Curd</i> Fermentasi 36 jam	52
12. Aktivitas Antioksidan <i>Whey</i> Fermentasi 48 jam.....	53
13. Aktivitas Antioksidan <i>Curd</i> Fermentasi 48 jam	54
14. Aktivitas Antioksidan <i>Whey</i> Fermentasi 72 jam.....	55
15. Aktivitas Antioksidan <i>Curd</i> Fermentasi 72 jam	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Stater Kefir Grain.....	5
2. Reaksi DPPH dengan Antioksidan	13
3. Diagram Alir Penelitian	22
4. Hasil Pembuatan Kefir Susu Kedelai.....	25
5. Nilai Perubahan % Inhibisi Kefir Susu Kedelai Selama Fermentasi	26
6. Nilai Perubahan IC ₅₀ Kefir Susu Kedelai Selama Fermentasi	27
7. Diameter Zona Hambat Kefir Susu Kedelai Selama Fermentasi.....	31
8. Hasil Analisis Kefir Susu Kedelai dengan SDS-PAGE.....	34
9. Nilai % Inhibisi Vitamin C	47
10. Nilai % Inhibisi Susu Kedelai.....	48
11. Nilai % Inhibisi <i>Whey</i> Fermentasi 24 jam	49
12. Nilai % Inhibisi <i>Whey</i> Fermentasi 24 jam	50
13. Nilai % Inhibisi <i>Whey</i> Fermentasi 36 jam	51
14. Nilai % Inhibisi <i>Curd</i> Fermentasi 36 jam	52
15. Nilai % Inhibisi <i>Whey</i> Fermentasi 48 jam	53
16. Nilai % Inhibisi <i>Curd</i> Fermentasi 48 jam.....	54
17. Nilai % Inhibisi <i>Whey</i> Fermentasi 72 jam	55
18. Nilai % Inhibisi <i>Curd</i> Fermentasi 72 jam.....	56
19. Aktivitas Antifungi <i>Whey</i> Kefir pada <i>C. albicans</i>	57
20. Aktivitas Antifungi <i>Curd</i> Kefir pada <i>C. albicans</i>	57
21. Aktivitas Antifungi <i>Whey</i> Kefir pada <i>A. fumigatus</i>	57
22. Aktivitas Antifungi <i>Curd</i> Kefir pada <i>A. fumigatus</i>	58
23. <i>Scanning</i> Panjang Gelombang Maksimum DPPH.....	59

DAFTAR SINGKATAN

AAI	: <i>Antioxidant Activity Index</i>
APS	: <i>Ammonium Persulphate</i>
BAL	: <i>Bakteri Asam Laktat</i>
DPPH	: <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibition Concentration 50%</i>
PAGE	: <i>Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>
SDS	: <i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
SDS-PAGE	: <i>Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
TEMED	: <i>Tetramethylethylenediamine</i>

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kedelai merupakan salah satu tanaman budidaya yang banyak digunakan di Asia beberapa jenis kedelai telah dikenal memiliki beberapa agen penghasil antioksidan alami karena kaya akan senyawa fenolik (Scalbert *et al*, 2005).

Kacang kedelai merupakan salah satu produk pangan yang kaya akan isoflavon dan memiliki efek estrogenik yang menguntungkan dengan sifat antioksidan yang potensial dari senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya (Cornwell *et al*, 2004). Kedelai juga memiliki beberapa nutrisi penting termasuk protein dan peptida bioaktif (Huang *et al*, 2013). Menurut penelitian Park *et al* (2009) bahwa suatu antioksidan kuat dari hidrolisis protein kacang kedelai dengan massa molekul rendah ($MWCO < 3$ kDa) diperoleh melalui perlakuan hidrolisis alkalase. Beberapa penelitian lainnya menunjukkan bahwa peptida bioaktif kaya akan asam amino hidrofobik seperti fenilalanin, alanin, dan prolin (Elias *et al*, 2008).

Kedelai memiliki potensi yang sangat besar untuk dijadikan sebagai alternatif penghasil antioksidan alami. Namun demikian kacang kedelai memiliki beberapa keterbatasan seperti rasa langu yang tidak menyenangkan dan juga mengandung rafinosa dan stachyose yang tidak dapat dicerna oleh manusia sehingga dapat menyebabkan perut kembung (Thananunkul *et al*, 1975). Hal ini dapat dikurangi dengan cara mengolah kacang kedelai melalui proses fermentasi atau melalui pembuatan susu kedelai sehingga lebih mudah dicerna. (Im *et al*, 2006; Jinapong *et al*, 2008). Susu kedelai juga aman bagi orang dengan intoleransi laktosa atau alergi susu sapi dan aman untuk anak-anak dengan galaktosemia. Susu kedelai juga relatif lebih murah jika dibandingkan dengan

susu sapi sehingga secara ekonomis dapat dikonsumsi oleh sebagian besar orang (Subrota *et al*, 2013).

Susu merupakan salah satu bahan alami yang memiliki kandungan gizi yang tinggi karena mengandung unsur kimia yang dibutuhkan oleh tubuh, seperti kalsium, fosfor, vitamin A, vitamin B, dan riboflavin. Susu mengandung zat-zat yang penting meliputi karbohidrat (laktosa), protein, lemak, vitamin, dan mineral (Safitri dan Swarastuti, 2013). Susu juga dapat menjadi sumber peptida bioaktif dengan fungsi biologis yang luas (Szwajkowska *et al*, 2011). Susu kedelai mempunyai kandungan gizi hampir sama dengan susu sapi terutama proteinnya yaitu 1,3-4,0 %. Perbedaan utamanya adalah jenis asam amino, yaitu bahwa susu kedelai tidak mengandung kasein (Chang and Liu, 2012).

Teknologi pengolahan susu sendiri sangat beragam diantaranya pengeringan, sterilisasi, pasteurisasi, dan fermentasi. Pengembangan susu fermentasi relatif pesat karena perannya terhadap kesehatan (Bakar dan Usmiati, 2009). Jenis produk susu fermentasi beranekaragam diantaranya yogurt, keju, *buttermilk*, dan juga jenis kefir yang mengandung antioksidan (Suparta *dkk*, 2017) dan diperkuat dengan sifat fungsional yang lain yaitu bahwa adanya kandungan bakteri asam laktat dan menghasilkan produk fungsional (Miwada *et al*, 2011; Suparta, 2018).

Kefir merupakan salah satu produk fermentasi susu, hidrolisis laktosa terjadi selama proses fermentasi oleh bakteri yang terkandung dalam bibit kefir (kefir grain). Kefir memiliki fungsi sebagai minuman probiotik yang baik untuk kesehatan manusia, karena pada saat proses fermentasi berlangsung terbentuk beberapa mikroba seperti bakteri asam laktat, bakteri eksopolisakarida, dan peptida (Pogačić *et al*, 2013). Kefir bersifat probiotik karena memiliki mikroorganisme menguntungkan, yang terdiri dari sejumlah bakteri asam laktat dan khamir. Proses metabolisme mikroorganisme kefir pada fermentasi susu akan menghasilkan senyawa metabolit yang bersifat antioksidan dan juga menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Primurdia, 2014). Maka dari itu produk susu fermentasi sangat dibutuhkan masyarakat untuk kesehatan tubuh.

Kefir memiliki warna dan rasa yang hampir sama dengan yogurt, yang dibuat menggunakan susu pasteurisasi dengan starter berupa butir kefir yaitu butiran-butiran putih atau krem yang berasal dari gabungan bakteri dan beberapa jenis khamir (Mandang dkk., 2016). Konsumsi kefir telah banyak dikaitkan dengan berbagai macam keuntungan bagi kesehatan, diantaranya sebagai antitumor, antifungal, antibakteri, imunomodulator atau proteksi epitel, anti inflamasi, membantu proses penyembuhan, serta memiliki aktivitas antioksidan (Syafrina *et al*, 2021).

Kefir susu kambing diketahui memiliki aktivitas antioksidan berkisar 19,05% hingga 42,10% (Hardiansyah dan Hamdan, 2022). Menurut Pratiwi dkk (2018) yang melakukan penelitian terkait pengaruh substitusi buah naga merah terhadap aktivitas antioksidan kefir sari kedelai menunjukkan aktivitas antioksidan sebesar 18% tanpa penambahan ekstrak buah naga merah serta dengan penambahan ekstrak sebesar 24-30%. Gamba *et al* (2016) menemukan bahwa susu yang difermentasi dengan butiran kefir dapat menghambat pertumbuhan *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, dan *Penicillium sumatrense* secara *in vitro*. Penulis lain juga mempelajari kapasitas antijamur susu fermentasi kefir terhadap *Fusarium sp.* dan *Aspergillus spp.*, menemukan hambatan yang tinggi (Ismail *et al*, 2011; Ben *et al*, 2020). Berdasarkan hasil tersebut dapat terlihat bahwa kefir susu kedelai memiliki potensi sebagai antioksidan dan antifungal yang cukup baik.

Berdasarkan uraian, maka pada penelitian ini dilakukan analisis aktivitas antioksidan dan antifungi dari minuman probiotik kefir berbahan baku susu kedelai pada bagian *whey* dan *curd* kefir yang diperoleh dari hasil fermentasi dengan variasi waktu fermentasi 24 jam, 36 jam, 48 jam, dan 72 jam. Adanya variasi waktu fermentasi ini diduga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan dan antifungi pada kefir susu kedelai.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui aktivitas antioksidan dari *whey* dan *curd* dalam kefir berbahan baku susu kedelai dengan variasi waktu fermentasi.
2. Mengetahui aktivitas antifungi dari *whey* dan *curd* kefir berbahan baku susu kedelai dengan variasi waktu fermentasi
3. Mengetahui profil peptida bioaktif berdasarkan berat molekul dengan SDS-PAGE dari *whey* dan *curd* kefir yang menunjukkan aktivitas antioksidan dan antifungi terbaik.

1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi terkait aktivitas antioksidan dan antifungi dari *whey* dan *curd* kefir susu kedelai serta manfaat dalam kefir susu kedelai.
2. Memberikan informasi tentang alternatif produk olahan pangan fungsional berbahan baku susu kedelai yang baik untuk kesehatan.
3. Mengembangkan variasi minuman susu probiotik berbahan baku susu kedelai.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kefir

Kefir adalah minuman susu fermentasi dengan rasa asam, khamiry flavor dan tekstur kental (Miguel *et al*, 2010). Kefir mengandung banyak jenis bakteri dan beberapa jenis khamir yang mampu memfermentasi susu menjadi asam-asam organik dan turunannya. Kehadiran khamir menambah kualitas organoleptik dari kefir, membuat aroma khamir menyengat dan menyegarkan (Magalhães *et al*, 2011). Kefir tradisional dibuat dengan disimpan di tas kulit kambing dan digantung di dekat pintu, kantong tersebut akan terguncang apabila seseorang lewat yang akan membantu proses kefir grain tercampur rata (Prescott and Klein, 2008).



Gambar 1. Stater Kefir Grain

Kefir adalah produk minuman yang diolah melalui proses fermentasi susu dengan berbagai jenis mikroba yaitu bakteri penghasil asam laktat (BAL), bakteri penghasil asam asetat, dan khamir (Aristya *et al*, 2013). Kefir dibuat melalui proses fermentasi dengan menggunakan starter granula kefir (Safitri dan Swarastuti, 2013). Kefir tergolong dalam kelompok pangan fungsional simbiotik (Suhartanti dan Muhammad, 2014). Istilah pangan fungsional yaitu pangan yang memiliki khasiat lebih dari nutrisi yang dikandungnya. Sementara itu, simbiotik

adalah perpaduan antara probiotik atau mikroflora yang bermanfaat dan prebiotik yang merupakan bahan yang menyediakan nutrisi bagi mikroflora tersebut. Kefir mengandung alkohol sebanyak 0,5-1,0% dan asam laktat 0,9-1,11%. Kefir juga mengandung CO₂, diasetil, asetaldehid dan hidrogen peroksida serta bakteriosin yaitu senyawa protein yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri sejenis (Suroño, 2004). Komponen kimia kefir dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia Kefir (La Sinurat et al, 2011).

Komponen	Jumlah
Protein	4 – 6 (%)
Lemak	0,1 – 10 (%)
Laktosa	2 – 3 (%)
Karbohidrat	5 – 25 (%)
pH	3,5 – 4,6
Keasaman	0,5 – 1,6 (%)
Alkohol	0,5 – 2

2.2 Kefir Nabati

Menurut Cahyadi (2006) susu kedelai adalah cairan hasil ekstraksi protein biji kedelai dengan menggunakan air panas. Susu kedelai diproduksi dengan menggiling biji kedelai yang telah direndam dalam air. Hasilnya disaring hingga diperoleh cairan susu kedelai kemudian dimasak dan diberi gula dan cita rasa untuk meningkatkan rasanya.

Kelebihan susu kedelai adalah ketiadaan laktosa, sehingga susu kedelai sangat cocok untuk dikonsumsi bagi orang yang alergi susu sapi yaitu mereka yang tidak punya atau kurang enzim laktase dalam saluran pencernaannya, sehingga tidak mampu mencerna laktosa dalam susu sapi. Orang yang tidak toleran laktosa (*lactose intolerant*) ini pada umumnya adalah orang dewasa yang tidak banyak minum susu pada waktu masih kecil (Santoso, 2009). Selain itu susu kedelai juga mengandung karbohidrat, lemak, kalsium, fosfor, zat besi, vitamin A, vitamin B1, vitamin B4, dan isoflavon (Koswara, 2006).

Karbohidrat dalam ekstrak susu kedelai berasal dari golongan oligosakarida dan polisakarida, merupakan probiotik yang terdapat dalam kedelai dan digunakan lebih lanjut oleh mikroorganisme probiotik yang hidup dalam saluran cerna sebagai sumber energi. Susu kedelai mempunyai gizi yang hampir setara dengan susu sapi, umumnya digunakan sebagai pengganti susu sapi bagi penderita *lactose intolerance* dan penderita alergi terhadap protein susu sapi (Koswara, 2006). Kandungan asam lemak susu kedelai sebagian besar adalah asam lemak tidak jenuh dengan kadar asam linolenat 5-10 %, asam linoleat 43-56 %, asam oleat 15-33 % dan asam lemak jenuh 26 % (Estiasih, 2005).

Minuman fermentasi juga dapat dibuat dari susu nabati yaitu kacang-kacangan seperti kacang hijau dan kacang kedelai. Kedelai mengandung isoflavon sehingga konsumsi produk-produk kedelai dapat menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif karena adanya isoflavon dalam kedelai. Isoflavon yang terdapat dalam susu kedelai dapat menurunkan resiko penyakit jantung koroner karena berfungsi sebagai antioksidan dan dapat menghambat oksidasi *Low Density Lipoprotein* (Utari *et al*, 2010).

Susu kedelai merupakan produk olahan ekstrak kedelai yang menyerupai susu sapi. Kandungan protein yang tinggi menjadikan susu kedelai sebagai susu nabati yang bergizi tinggi. Susu kedelai mampu menggantikan susu sapi karena memiliki susunan asam amino yang hampir mirip dengan susu sapi. Proteinnya bahkan lebih tinggi dan asam lemak jenuhnya lebih rendah, selain itu susu kedelai tidak mengandung kolesterol karena merupakan produk nabati (Muryati dkk., 2005).

Salah satu cara untuk meningkatkan mutu susu kedelai yaitu dengan mengolahnya menjadi minuman probiotik. Pembuatan minuman probiotik dilakukan melalui proses fermentasi yang bertujuan untuk mengawetkan produk, memberi cita rasa atau flavor terhadap produk pangan tertentu. Proses fermentasi yang dilakukan oleh mikroba tertentu diharapkan akan meningkatkan nilai gizi yang ada pada produk fermentasi. Produk fermentasi yang mulai disukai masyarakat adalah minuman probiotik kefir (Mandang dkk., 2016).

2.3 Susu Kedelai

Susu kedelai merupakan minuman yang bergizi tinggi, terutama karena kandungan proteinnya yang setara dengan susu sapi yaitu sekitar 3,5 g/100 g, memiliki kandungan vitamin dan mineral yang lebih rendah daripada susu sapi. Selain itu susu kedelai bebas laktosa dengan kandungan lemak yang lebih rendah (2,5 g/100 g), sehingga susu kedelai baik digunakan bagi mereka yang menjalani diet rendah lemak. Susu kedelai sedikit mengandung kalsium dan fosfor yang berperan dalam pembentukan tulang dan gigi (Koswara, 2006).

Susu kedelai merupakan minuman hasil olahan kedelai yang telah lama populer sebagai pengganti susu sapi segar. Susu kedelai tergolong jenis susu imitasi karena bahan bakunya yang berasal dari bahan nabati. Susu kedelai memiliki kandungan nutrisi yang tinggi dan sangat baik bagi tubuh terutama dalam hal asupan protein. Susu kedelai adalah hasil ekstraksi kedelai oleh air, komposisinya sangat mendekati susu sapi (Liu, 1997).

Susu kedelai memiliki kandungan nutrisi yang sangat baik karena mendekati kandungan nutrisi pada susu sapi. Kandungan protein yang terdapat pada susu kedelai umumnya lebih tinggi dibanding kadar protein pada susu sapi yaitu sekitar 3,2 sampai 3,6% (Haytowitz and Matthews, 1989). Jenis karbohidrat pada kedelai sebagian besar terdiri dari disakarida dan oligosakarida. Oligosakarida penyebab flatulensi pada susu kedelai dapat dikurangi melalui proses pengolahan yang sesuai yakni dengan perendaman dan pemblansiran (Shurtleff dan Aoyagi, 1984).

Kadar lemak pada susu kedelai lebih rendah dibanding susu sapi karena susu kedelai berasal dari tanaman, sedangkan susu sapi berasal dari binatang mamalia yang memiliki kelenjar susu. Lemak pada susu kedelai merupakan lemak nabati yang biasa disebut fitosterol. Perbandingan komponen dalam susu kedelai dan susu sapi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan Susu Kedelai dan Susu Sapi Per 100 Gram (Koswara, 2006)

Komponen	Susu Kedelai	Susu Sapi
Air (%)	88,60	88,60
Kalori (kal)	52,99	58,00
Karbohidrat (%)	4,40	0,14
Lemak (%)	0,18	4,50
Protein (%)	2,50	0,30
Vit B1 (%)	0,04	0,04
Vit B2 (%)	0,02	0,15
Vit A (%)	0,02	0,02
Kalsium (mg)	15,00	100
Fosfor (mg)	49,00	90
Natrium (mg)	2,00	16
Besi (mg)	1,02	0,01
Asam Lemak Jenuh (%)	40-48	60-70
Asam Lemak Tidak Jenuh (%)	52-60	30-40
Kolesterol (mg)	0	9,2-9,90
Abu (gr)	0,02	0,07

Sumber antioksidan terbesar dalam kedelai adalah isoflavon dan tokoferol (Vitamin E). Total kandungan isoflavon pada kedelai adalah sebesar 580-3800 $\mu\text{g/g}$ dan 1,5-10 kali lipat lebih tinggi dari kandungan tokoferol. Sementara itu β -karoten (Vitamin A) dan asam askorbat (vitamin C) lebih rendah dibandingkan kandungan tokoferol sehingga hasil olahan kedelai bukan merupakan sumber Vitamin A dan Vitamin C untuk manusia (Borodin *et al*, 2011). Kandungan antioksidan terbesar dalam susu kedelai adalah isoflavon. Menurut USDA *Iowa State University Database on the Isoflavone Content of Food* (2002), susu kedelai memiliki kandungan total isoflavon yang cukup besar yaitu 9,56 mg/100 gr sedangkan menurut Borodin *et al*, (2011), susu kedelai memiliki kandungan total isoflavon sebesar 30-175 $\mu\text{g/g}$.

Pada kedelai yang mengalami proses fermentasi, bentuk glikosida isoflavon didegradasi menjadi senyawa aglikon (isoflavon dalam bentuk bebas). Proses degradasi glikon mejadi aglikon dikatalis oleh enzim glukosidase yang menyebabkan pelepasan glukosa dari glikosida. Isoflavon dalam bentuk aglikon tersebut lebih mudah dicerna dalam tubuh (Astuti, 2008). Proses fermentasi akan mengakibatkan kedelai mengalami berbagai perubahan baik secara fisik maupun enzimatik karena adanya aktivitas mikroorganisme. Isoflavon aglikon yang

biasanya ditemukan pada kedelai adalah daidzein, genistein, dan glisitein (Araujo *et al*, 2003).

2.4 Fermentasi Susu

Salah satu cara untuk mengurangi adanya kontaminasi dan untuk memperpanjang daya simpan susu adalah dengan cara pengawetan, salah satunya adalah pengawetan secara biologis. Fermentasi adalah perubahan karbohidrat menjadi alkohol dan karbon dioksida atau asam amino organik menggunakan ragi, bakteri, fungi atau campuran dari ketiganya. Fermentasi laktat dengan memanfaatkan bakteri asam laktat, yaitu bakteri *Lactobacillus bulgaricus* yang dapat menguraikan karbohidrat menjadi asam laktat (Hidayat, 2017).

Fermentasi pada awalnya hanya menunjukkan pada suatu peristiwa alami pada pembuatan anggur yang menghasilkan buih. Beberapa ahli mendefinisikan kata fermentasi dengan pengertian yang berbeda. Fardiaz (1992) mendefinisikan fermentasi sebagai proses pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anerobik, yaitu tanpa memerlukan oksigen. Senyawa yang dapat dipecah dalam proses fermentasi terutama karbohidrat, sedangkan asam amino hanya dapat difermentasi oleh beberapa jenis bakteri tertentu.

Ada 2 macam jenis fermentasi kefir, yaitu kefir susu dan kefir air / *water kefir*. Kefir susu dibuat dari susu sapi, susu kambing atau susu domba yang ditambahkan starter kefir berupa granula kefir atau biji kefir (Kosikowski dan Mistry, 1992). Kefir lebih encer dibandingkan yoghurt, namun gumpalan susunya lebih lembut dan mengandung gas CO₂ (Gulitz, 2011).

Bakteri kefir menghasilkan asam laktat yang merangsang pertumbuhan khamir, sementara khamir menghasilkan faktor pendukung pertumbuhan bakteri kefir. Air kefir dapat meningkatkan pembentukan sistem imun dalam tubuh. Kefir merupakan hubungan simbiosis antara berbagai jenis organisme untuk mensintesis asam organik dalam kefir. Dekstran dari kefir diproduksi melalui hubungan yang

sama antara bakteri asam laktat dan khamir, tertanam dalam butiran kefir (Farnworth, 2005).

Fermentasi BAL juga mengakibatkan protein kedelai mengalami hidrolisis menjadi peptida-peptida pendek diantaranya Phe-Asp-His-Val-Glu dan Phe-Asn-His-Leu-Asp-His yang mampu meredam radikal bebas DPPH. Fermentasi menyebabkan senyawa isoflavon dalam kedelai mengalami transformasi sehingga diperoleh senyawa isoflavon bebas yaitu aglikon berupa genistein, glisitein dan daidzein yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi daripada bentuk terikatnya (Issoufou *et al*, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian Widiadita (2022) mengemukakan bahwa diketahui semakin lama waktu fermentasi, maka total bakteri asam laktat akan semakin meningkat. Dengan kefir *curd* asal susu kedelai total bakteri asam laktat terendah adalah *curd* kedelai 24 jam ($123 \text{ CFU/mL} \times 10^5$) dan tertinggi adalah *curd* kedelai 72 jam ($289 \text{ CFU/mL} \times 10^5$). Adapun dari kefir *whey* asal susu kedelai yang memiliki total bakteri asam laktat terendah adalah *whey* kedelai 24 jam ($90 \text{ CFU/mL} \times 10^5$) dan tertinggi yaitu *whey* kedelai 72 jam ($371 \text{ CFU/mL} \times 10^5$).

Kefir memiliki tekstur bening, berbentuk butiran-butiran seperti gel, umumnya tidak berwarna/transparan, dan memiliki tekstur yang rapuh (mudah pecah apabila diberi sedikit penekanan). Sifat unik kefir dihasilkan oleh *Lactobacillus casei*, yang diyakini mampu mensintesis polisakarida ke dalam bentuk tak-larut (Farnworth, 2005).

Asam laktat yang dihasilkan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen, khususnya mikroorganisme yang tumbuh pada kisaran pH 6-7 (mesofilik) misalnya mikroba yang tidak dapat tumbuh pada pH dibawah 4,6 yaitu *Shigela sp.* dan *Clostridium botulinum* (Machmud, 2011).

Menurut Fuller (1992) jumlah bakteri asam laktat yang diperlukan untuk dikonsumsi dan baik untuk kesehatan adalah berkisar antara 10^7 - 10^9 sehingga jumlah populasi bakteri asam laktat menjadi indikator kualitas mikrobiologis dalam suatu produk susu fermentasi. Proses fermentasi, juga ditemukan reaksi

fermentasi alkohol, adalah proses biologi seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa diubah menjadi energi seluler dan juga menghasilkan etanol dan karbon dioksida sebagai produk sampingan. Karena proses ini tidak membutuhkan oksigen, melainkan khamir yang melakukannya, maka fermentasi etanol digolongkan sebagai respirasi anaerob.

2.5 Antioksidan

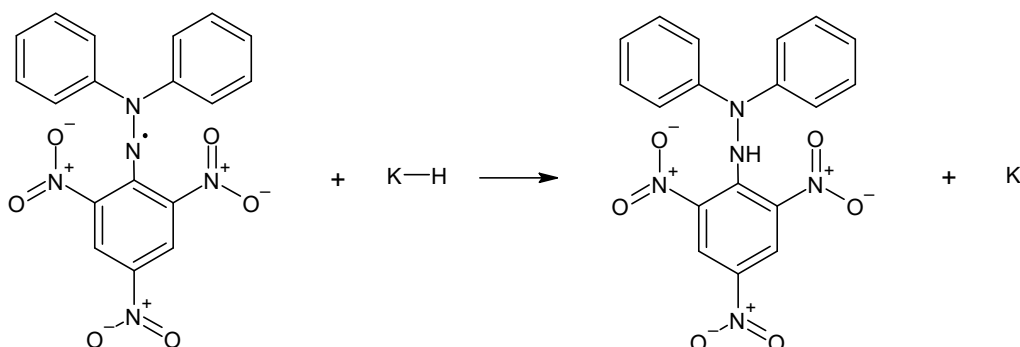
Antioksidan merupakan suatu senyawa pendonor elektron atau reduktan. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat proses oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007). Senyawa antioksidan yang terdapat di dalam tubuh dapat menetralkan radikal bebas, contohnya enzim SOD (*superoxide dismutase*), *glutathione*, dan katalase. Antioksidan juga dapat diperoleh dari makanan yang mengandung vitamin C, vitamin E, beta karoten, dan senyawa fenolik (Prakash *et al*, 2001).

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil. Reaksi oksidasi lemak yang terjadi pada makanan atau bahan makanan dalam lemak dapat dihambat dengan pemberian zat antioksidan. Pada umumnya zat antioksidan yang digunakan adalah zat antioksidan sintetik seperti BHA, BHT, PG, dan EDTA (Gordon, 1990).

2.6 Metode DPPH

Senyawa yang biasa digunakan untuk mengukur radikal bebas sebagai model dalam pengukuran aktivitas antioksidan adalah DPPH (*2,2-diphenyl-1-*

picrylhydrazyl) yang merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan. Senyawa ini jika disimpan dalam keadaan kering dan kondisi penyimpanan yang baik akan stabil selama bertahun-tahun (Winarsi, 2007). Radikal bebas DPPH dapat menangkap atom hidrogen dari komponen aktif ekstrak yang dicampurkan kemudian bereaksi menjadi bentuk tereduksinya.



Gambar 2. Reaksi DPPH dengan Antioksidan (Yuhernita dan Juniarti, 2011)

Berdasarkan gambar 3, senyawa antioksidan (KH) melepas atom hidrogen menjadi radikal senyawa antioksidan (K'). DPPH yang merupakan radikal bebas direaksikan dengan senyawa antioksidan dan menjadi DPPH bentuk tereduksi (DPPH₂) (Molyneux, 2004).

Metode DPPH secara umum digunakan untuk memindai beberapa sampel dalam penentuan aktivitas antioksidan. Pengukuran serapan DPPH pada panjang gelombang maksimum (λ maks) yaitu 512 sampai 520 nm. Perhitungan yang digunakan dalam penentuan aktivitas penangkap radikal adalah nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration 50%*). Nilai tersebut menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Penentuan IC₅₀ diperlukan persamaan kurva standar dari % inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi fraksi antioksidan sebagai sumbu x. IC₅₀ dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% ke dalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC₅₀. Semakin kecil nilai IC₅₀ menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux, 2004).

2.7 Antifungi

Jamur merupakan suatu mikroorganisme eukariotik yang mempunyai ciri-ciri spesifik yaitu mempunyai inti sel, memproduksi spora, tidak mempunyai klorofil, dapat berkembang biak secara aseksual dan beberapa jamur mempunyai bagian tubuh berbentuk filament-filamen dan sebagian lagi bersifat uniseluler. Antijamur mempunyai dua pengertian yaitu fungisidal dan fungistatik. Fungisidal didefinisikan sebagai suatu senyawa yang dapat membunuh jamur, sedangkan fungistatik dapat menghambat pertumbuhan jamur tanpa mematikannya. Tujuan utama pengobatan infeksi jamur adalah membunuh organisme yang patogen dan memulihkan kembali flora normal kulit dengan cara memperbaiki membran mukosa yang merupakan tempat berkembangnya koloni jamur (Menaldi dkk., 2018).

Untuk mekanisme antifungi dapat dikelompokkan menjadi beberapa bagian (Istya, 2009) yaitu :

- a. Gangguan pada membran sel
- b. Penghambat biosintesis ergosterol dalam sel jamur
- c. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein jamur
- d. Penghambatan mitosis jamur

Ada beberapa hal yang harus dipenuhi oleh suatu bahan antifungi, seperti mampu mematikan mikroorganisme, mudah larut dan bersifat stabil, tidak bersifat racun bagi manusia, hewan dan tumbuhan, efektif pada suhu kamar dan suhu tubuh, tidak menimbulkan karat dan warna (Hasan, 2015).

Uji senyawa antifungi bertujuan untuk mengetahui apakah suatu senyawa uji dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan mengukur respon pertumbuhan populasi jamur terhadap agen antifungi (Pratiwi, 2008). Pengujian antifungi terbagi atas dua metode, yaitu metode difusi dan metode dilusi. Untuk metode difusi, merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam pengujian antifungi. Pada metode difusi cakram, menempatkan kertas cakram yang sudah mengandung bahan antimikroba tertentu pada medium lempeng padat yang telah dicampurkan dengan jamur yang akan diuji. Kemudian diinkubasi pada suhu

37°C selama 18 – 24 jam, selanjutnya mengamati adanya area (zona) bening disekitar cakram. Daerah yang nampak disekitar kertas cakram akan menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Jamur yang sensitif terhadap bahan antimikroba ditandai dengan adanya daerah hambatan disekitar cakram, sedangkan jamur yang resisten terlihat tetap tumbuh pada tepi atas cakram (Afifah, 2015).

Menurut Kusmiyati dan Agustini (2007), metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu :

1. *Disc diffusion*, yaitu agen antimikroba yang dijenuhkan pada disk (kertas saring) kemudian disk tersebut diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji. Pengukuran zona hambat diamati pada daerah sekitar disk.
2. Metode sumuran, yaitu agen antimikroba diteteskan pada sumuran dengan diameter tertentu yang dibuat pada media agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Untuk pengukuran zona hambat, dapat diamati pada skala sumuran.
3. *Pour plate*, hampir mirip dengan *disc diffusion*, yang membedakan hanyalah pada media agar yang telah dicampurkan dengan suspensi mikroba uji. Untuk pengujian dilakukan dengan mengukur zona hambatan yang berwarna bening pada media. Bila diameter daerah hambatan 5 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah, jika 5-10 mm dikategorikan sedang, jika 10- 20 mm dikategorikan kuat dan 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat (Davis and Stout, 1971).

2.8 SDS-PAGE

Elektroforesis adalah suatu teknik pemisahan yang memisahkan analit berdasarkan kemampuannya bergerak dalam medium konduksi yang biasanya berupa larutan basa dan akan memberikan respon setelah ditambahkan medan listrik (Harvey, 2000). Jika suatu zat bermuatan di bawah potensial, maka zat tersebut akan berpindah sepanjang medium yang kontinyu ke arah katoda atau

anoda sesuai dengan muatan yang dibawanya. Elektroforesis SDS-PAGE termasuk ke dalam kelompok elektroforesis zona atau wilayah, yaitu kelompok elektroforesis yang dibedakan berdasarkan medium penyangganya. Elektroforesis SDS-PAGE menggunakan gel buatan sebagai medium penyangga gel yang digunakan terbentuk dari polimerisasi akrilamida N, N'-metilena bisakrilamida sehingga terbentuk ikatan silang karena polimerisasi *akrilamide* sendiri hanya menghasilkan ikatan linear yang tidak membentuk gel kaku (Girindra, 2013).

Salah satu metode PAGE (*Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) yang umumnya digunakan untuk analisis campuran protein secara kuantitatif adalah SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). Prinsip penggunaan metode ini adalah migrasi komponen akril amida dengan N, N' bis akrilamida. Kisi-kisi tersebut berfungsi sebagai saringan molekul sehingga konsentrasi atau rasio akrilamid dengan bisakrilamid dapat diatur untuk mengoptimalkan kondisi migrasi komponen protein. Metode ini sering digunakan untuk menentukan bahan molekul suatu protein di samping untuk memonitor pemurnian protein (Wilson and Walker, 2000). SDS PAGE dilakukan terhadap protein tak larut dengan kekuatan ion rendah dan dapat menentukan apakah suatu protein termasuk monomerik atau oligomerik menetapkan berat molekul dan jumlah rantai polipeptida sebagai subunit atau monomer.

Penggunaan SDS PAGE bertujuan untuk memberikan muatan negatif pada protein yang akan dianalisis. Protein yang terdenaturasi sempurna akan mengikat SDS dalam jumlah yang setara dengan berat molekul protein tersebut. Denaturasi protein dilakukan dengan merebus sampel dalam buffer yang mengandung β -merkaptioetanol (berfungsi untuk mereduksi ikatan disulfide), gliserol dan SDS (Wilson and Walker, 2000). Muatan asli protein akan digantikan oleh muatan negatif dari anion yang terikat sehingga kompleks protein-SDS memiliki rasio muatan per berat molekul yang konstan. Pergerakan partikel di dalam medium bergantung pada ukuran partikel dan ukuran medium penunjang. Bobot molekul protein dapat ditentukan dengan kalibrasi menggunakan standar protein yang sudah diketahui bobot molekulnya (Girindra, 2013).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada bulan Maret - Agustus 2023. Serta pengujian SDS-PAGE dilakukan di Laboratorium Sentral, Universitas Padjajaran.

3.2 Bahan dan Alat

Peralatan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis model *Agilent Cary 100*, kuvet, seperangkat SDS-PAGE, tabung sentrifus, *beaker glass*, pipet tetes, gelas ukur, labu ukur, kertas saring, batang pengaduk, spatula, mikropipet model *Dragon Lab*, neraca analitik model DJ-V220A *Lucky*, *autoclave* model S-90N, oven model T60 *Heraus*, inkubator model *Precistern P'selecta*, *Laminar Air Flow* (LAF) model *Curma 9005-FL*, hotplate stirrer model Stuart 162, sentrifuga model 225 *Fisher Scientific*, *blue tip's plastic*, *digital thermometer* model WT1, blender, panci, botol, wadah kaca, wadah plastik, saringan, lemari pendingin, penjepit, *aluminium foil*, kertas cakram/disk, kain hitam dan *plastic wrap*.

Adapun bahan-bahan yang digunakan meliputi biji kedelai, air, bibit kefir, *aquadest*, *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), metanol, vitamin C, alkohol 70%, *Sabouraud Dextrose Agar*, *Penicillin streptomycin*, NaCl, akrilamid (48%), bisakrilamid (1,5%), *stacking buffer* (Tris-Cl 0,5M, pH 6.8), *resolving buffer* (Tris

HCl 1,5M, pH 8.8), 10% SDS, APS, TEMED, *Coomasie Brilliant Blue R-250*, serta mikroba uji berupa jamur *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Sterilisasi Alat

Setiap pengujian akan diawali dengan proses sterilisasi alat dan tempat pengujian. Sterilisasi alat dilakukan dengan cara membungkus alat-alat kaca menggunakan kertas lalu dimasukkan ke dalam autoklaf selama 30 menit pada suhu 120°C dengan tekanan 1 atm. Kemudian alat-alat di oven dengan suhu 100°C. Ruang kerja dan meja harus dibersihkan sebelum bekerja dengan menggunakan alkohol. Hal ini dilakukan untuk menghindari adanya kontaminan dari lingkungan sekitar (Safitri dan Swarastuti, 2013).

3.3.2 Pembuatan Susu Kedelai

Susu kedelai yang digunakan untuk membuat kefir adalah susu kedelai yang dihasilkan dari proses basah. Kedelai disortasi, direndam dalam larutan NaHCO_3 0,25-0,5% selama 30 menit, lalu dibilas dan ditiriskan. Selanjutnya ditambah air lalu diblansing ± 30 menit. Kemudian kedelai digiling dengan penambahan air panas sebanyak 10 kali bobot kedelai kering. Bubur kedelai disaring dengan kain saring. Selanjutnya susu kedelai ditambahkan gula pasir sebanyak 10-15% dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk agar tidak mengumpal. Setelah mendidih, api dikecilkan dan dibiarkan selama 20 menit lalu disimpan pada suhu 5°C. Susu kedelai yang dihasilkan digunakan untuk membuat kefir (Widiadita, 2022).

3.3.3 Sterilisasi Susu Kedelai

Sterilisasi susu kedelai bertujuan agar susu kedelai tidak terkontaminasi oleh mikroba pencemar. Sterilisasi ini dilakukan dengan cara pasteurisasi pada suhu 70°C selama 15 detik (Bayu dkk., 2017). Sebanyak 1 L susu kedelai dipasteurisasi, kemudian susu kedelai dibiarkan pada suhu ruang hingga suhunya mencapai $\pm 27^{\circ}\text{C}$ (Usmiati, 2007). Selanjutnya diambil 0,25 L susu kedelai digunakan langsung untuk pengujian aktivitas antioksidan tanpa fermentasi.

3.3.4 Pembuatan Kefir Susu Kedelai

Pembuatan kefir susu kedelai dilakukan dengan cara 500 mL susu kedelai yang telah di pasteurisasi dimasukkan ke dalam botol kaca kemudian ditambahkan dengan 5% bibit kefir. Susu kefir yang dibuat difermentasi pada suhu ruang selama 24 jam, begitu juga untuk waktu fermentasi 36 jam, 48 jam dan 72 jam. Kemudian dipisahkan masing-masing *whey* dan *curd* dari tiap waktu fermentasi pada wadah simpan berupa botol kaca. *Whey* dan *curd* kefir susu kedelai yang telah dipisahkan tadi disimpan pada suhu 4°C untuk menghambat laju pertumbuhan bakteri asam laktat dan digunakan untuk pengujian lebih lanjut (Widiadita, 2022).

3.3.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) (Dallas *et al*, 2016). Sampel sebanyak 5 ml dilarutkan dalam 5 ml metanol yang digunakan sebagai larutan induk 100 ppm. Larutan sampel masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml DPPH 100 ppm. Larutan selanjutnya dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Kemudian diukur nilai absorbansi larutan sampel dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 512-520 nm.

Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Blanko yang digunakan adalah metanol dan DPPH . Aktivitas antioksidan sampel oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH dapat diketahui melalui perhitungan persentase aktivitas antioksidan/inhibisi menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs.Blanko} - \text{Abs.Sampel}}{\text{Abs.Blanko}} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

Abs. Blanko = Absorbansi DPPH 100 ppm

Abs. Sampel = Absorbansi Sampel Uji

Sampel dibuat seri konsentrasi 0; 20; 40; 60; 80 dan 100 ppm untuk mendapatkan persamaan regresi linear. Vitamin C digunakan sebagai standar antioksidan dengan seri konsentrasi yang sama. Regresi linear yang diperoleh dalam bentuk persamaan $y = bx + a$ digunakan untuk mencari nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration* 50%). Caranya dengan menyatakan nilai y sebesar 50. Nilai x yang diperoleh dinyatakan sebagai IC_{50} . Langkah selanjutnya adalah penentuan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) untuk mengetahui indeks aktivitas antioksidan. Nilai AAI ditentukan dengan persamaan:

$$AAI = \frac{\text{Konsentrasi DPPH (ppm)}}{IC_{50} \text{ sampel (ppm)}} \dots\dots\dots (2)$$

Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai AAI dikatakan lemah jika nilai $AAI < 0,5$; aktivitas antioksidan sedang jika $0,5 < AAI < 1,0$; aktivitas antioksidan kuat jika $1,0 < AAI < 2,0$; dan aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai $AAI > 2,0$ (Lestari dan Suyata, 2020).

3.3.6 Uji Aktivitas Antifungi

Aktivitas antifungal kefir susu kedelai menggunakan metode pour plate difusi disk. Suspensi jamur *C. albicans* dan *A. fumigatus* dibuat dalam NaCl steril. 150 μ L suspensi jamur diambil lalu dimasukkan ke dalam cawan petri, selanjutnya

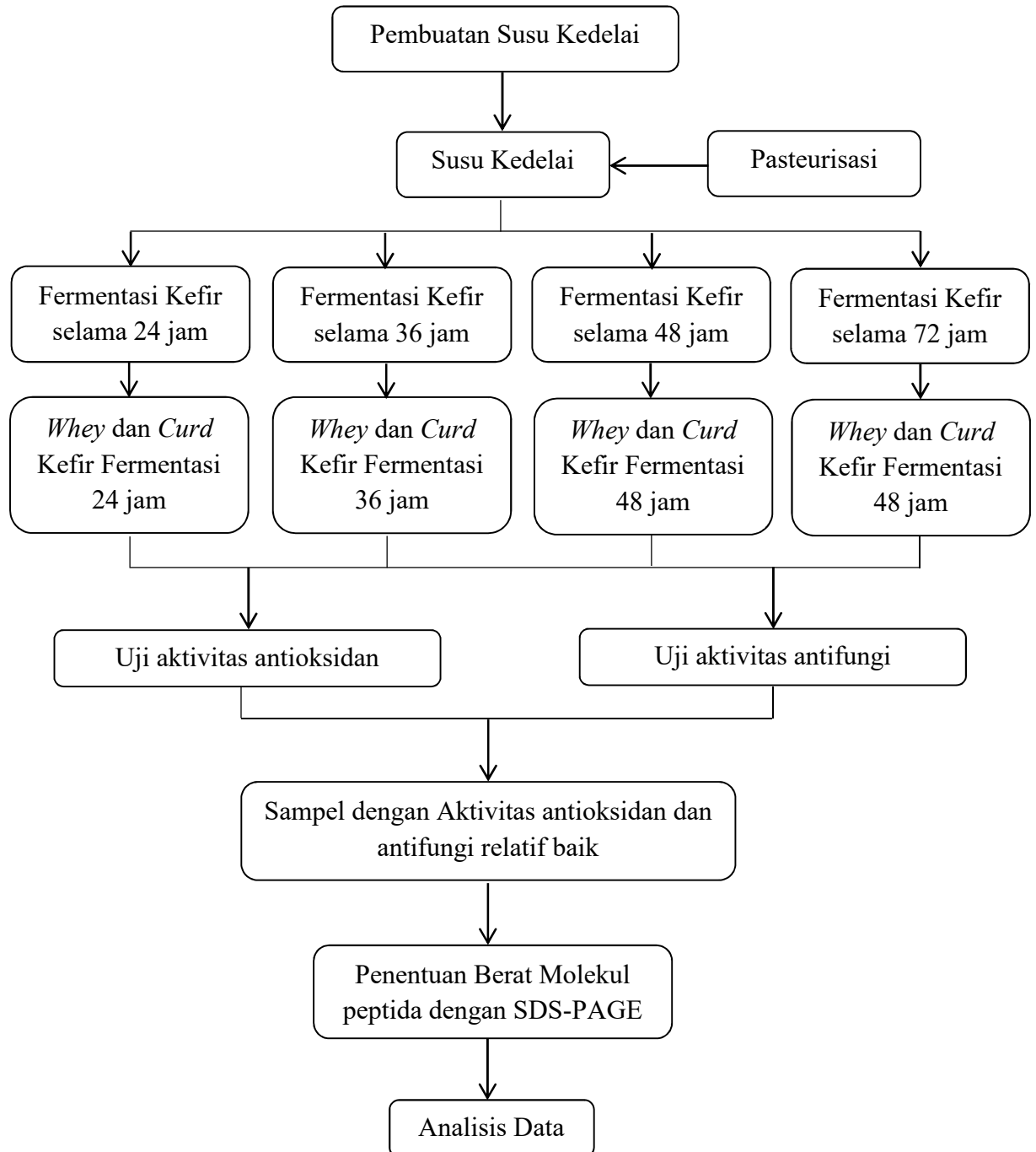
media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) yang sudah diberi *Penicillin streptomycin* dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi suspensi jamur kemudian dihomogenkan. Kertas cakram berukuran 6,75 mm dicelupkan ke dalam larutan uji masing-masing variasi waktu fermentasi, kemudian diletakkan diatas media agar. Cawan yang diinokulasi diinkubasi pada 37°C selama 24 jam dan zona hambat diukur menggunakan mikrometer sekrup digital (Santoso dkk., 2020).

3.3.7 Analisis Profil Peptida dengan SDS-PAGE

Sodium Dodecyl Sulphate Poliacrilimide Gel Electrophoresis (SDS PAGE) adalah teknik elektroforesis gel yang menggunakan poliakrilamida untuk memisahkan protein berdasarkan berat molekulnya. SDS-PAGE dapat digunakan untuk menentukan berat molekul dari peptida yang akan dianalisis (Mahdi *et al*, 2017). Sampel protein hasil fermentasi didenaturasi dengan buffer (Tris-HCl 1 M pH 6.8, SDS 20 %, NO₃) dengan perbandingan protein dan *buffer* 2:1, dan dididihkan pada suhu 90°C selama 10 menit serta disentrifugasi selama 5 menit. Alat elektroforesis disiapkan, gel poliakrilamid dibuat dari larutan akrilamid (48 %) dan bisakrilamid (1,5 %), *stacking buffer* (Tris-HCl 0,5 M pH 6.8), *resolving buffer* (Tris-HCl 1,5 M pH 8.8), 10 % SDS, APS dan TEMED sebagai katalis. Setelah gel bagian bawah (*resolving gel*) terbentuk, *stacking gel* dimasukkan di bagian atasnya dan dibuat cetakan untuk menempatkan protein sampel. Elektroforesis sampel dilakukan pada tegangan 150 volt selama 60 menit. *Staining* protein digunakan *coomassie blue*. Hasil *staining* dicuci dalam larutan *destaining* (Sadewi, 2023).

3.3.8 Diagram Alir Penelitian

Adapun diagram alir keseluruhan dari penelitian ini disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram Alir Penelitian

3.4 Desain Eksperimen

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi terhadap aktivitas antioksidan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan dua kali pengulangan dan 4 variasi waktu fermentasi yaitu 24 jam, 36 jam, 48 jam, dan 72 jam, serta aktifitas antifungi pada *whey* dan *curd* kefir susu kedelai. Adapun rancangan penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Desain Eksperimen

Kode Sampel	U1	U2
CT1	CT1U1	CT1U2
CT2	CT2U1	CT2U2
CT3	CT3U1	CT3U2
CT4	CT4U1	CT4U2
WT1	WT1U1	WT1U2
WT2	WT2U1	WT2U2
WT3	WT3U1	WT3U2
WT4	WT4U1	WT4U2

Keterangan : (C) Sampel *Curd* (W) Sampel *Whey* (T1) Waktu Fermentasi 24 jam (T2) Waktu Fermentasi 36 jam (T3) Waktu Fermentasi 48 jam (T4) Waktu Fermentasi 72 jam (U1) Ulangan 1 (U2) Ulangan 2

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat diperoleh simpulan sebagai berikut :

1. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada *curd* kefir susu kedelai variasi waktu fermentasi 72 jam dengan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*) yaitu 63,25 ppm dengan indeks aktivitas antioksidan (AAI) sebesar 1,58 yang digolongkan sebagai antioksidan kuat.
2. Aktivitas antifungi tertinggi terdapat pada *whey* dan *curd* kefir susu kedelai variasi waktu fermentasi 48 dan 72 jam dengan terbentuknya zona irradikal berkisar 8,32 – 8,74 mm pada jamur *Candida albicans* dan pada jamur *Aspergillus fumigatus* berkisar 8,21-8,72 mm yang digolongkan sebagai antifungi sedang.
3. Hasil penentuan peptida bioaktif dari *whey* dan *curd* kefir susu kedelai berdasarkan berat molekulnya menunjukkan profil peptida *whey* dan *curd* kefir susu kedelai fermentasi 48 jam dan 72 jam terlihat memiliki 4 pita dengan intensitas lemah dengan berat molekul 13 kDa; 37 kDa, 53 kDa, dan 75 kDa, 1 pita intensitas sedang pada 10 kDa serta 1 pita dengan intensitas kuat pada 17 kDa.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka untuk penelitian selanjutnya disarankan sebagai berikut :

1. Pada penelitian selanjutnya diperlukan fraksinasi atau pemisahan pada peptida agar diketahui peptida dan asam amino penyusunnya.
2. Kefir susu kedelai dapat dilakukan pengujian bioaktivitas lainnya seperti anti inflamasi, antitumor, antikanker, dan antidiabetes.
3. Pada penelitian selanjutnya dapat dibuat variasi produk dari kefir dan pengujian bioaktivitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adeniyi, B.A., Ayeni, F.A. and Ogunbawo, S.T. 2006. Antagonistic Activities of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Dairy Food Against Organisms Implicated in UTI. *J. Biotechnol.* 5(2), 183-188.
- Afifah, Y.M. 2015. Potensi Antioksidan dan Antifungi Estrak Etanol Kombinasi *Acorus calamus (L)*., *Cucurma Mangga Val.* dan *Allium sativum (Linn.)* secara In Vitro. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Anggraeni, S. T., Jayus, J., Ratnadewi, A. A. I., dan Nurhayati. 2022. Edamame Protein Hydrolysis Using *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus paracasei* Produce Short Peptides with Higher Antioxidant Potential. *Biodiversitas.* 23(7), 3603-3612.
- Ariani, N., Miwada, I., dan Lindawati, S. 2016. Kimia Produk Susu Fermentasi “Kefir” Berantioksidan Selama Penyimpanan. *Peternakan Tropika.* 4(2), 321-336.
- Aristya, A., Legowo, A., dan Al-Baarri, A. 2013. Total Asam, Total Yeast, Dan Profil Protein Kefir Susu Kambing Dengan Penambahan Jenis Dan Konsentrasi Gula Yang Berbeda. *Jurnal Pangan Dan Gizi.* 4(7).
- Araujo, M. M., Gustavo, B. F., and Anna, L. C. H. V. 2013. *Soybean and Isoflavones – From Farm to Fork*. InTech. London.
- Astuti, S. 2008. Isoflavon Kedelai dan Potensinya sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi dan Hasil Pertanian.* 13(2).
- Azizkhania, M., Per Erik, J. S., Mehdi, B. 2020. Inhibitory Effect of Different Type of Fermented Milk on *Candida albicans*. *Int. Journal of Enteric Pathogens.* 8(3), 94-100.
- Bakar, A., dan Usmiati, S. 2009. Teknologi Pengolahan Susu. *Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian.* 4(2).
- Bayu, M. K., Rizqiati, H., dan Nurwantoro. 2017. Analisis Total Padatan Terlarut, Keasaman, Kadar Lemak, dan Tingkat Viskositas pada Kefir Optima dengan Lama Fermentasi yang Berbeda. *Jurnal Teknolohi Pangan.* 1(2), 33-38.

- Ben, T. F., Mansour, C., and Chaieb, K. 2020. Inhibitory Effect of Kefir on *Aspergillus* Growth and Mycotoxin Production. *Euro-Mediterranean J Environ Integr.* 5, 1–8.
- Borodin, E. A., Iraida, G., Menshikova., Vladimir, A., Dorovskikh., Natalya, A., Feoktistova., Mikhail, A., Shtarberg., Tatyana, V., Aksenova., Takashi, Y., Kiyoharu, T., Hiroyuki, M., and Shigeru, Y. 2011. *Antioxidant and Hypocholesterolemic Effects of Soy Foods and Cardiovascular Disease, Soybean and Health.* InTech. London.
- Cahyadi, S. 2006. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Cetakan Pertama .* PT. Bumi Aksara. Jakarta.
- Chang, S., and Liu, Z. S. 2012. Nutritional Profile And Physicochemical Properties of Soymilk. *Journal of Food Processing and Preservation.* 1(11).
- Cornwell, T., Cohick, W., and Raskin, I. 2004. Dietary Phytoestrogens and Health. *Phytochemistry.* 6(5), 995–1016.
- Dallas, D. C., Citerne, F., Tian, T., Silva, V. I. M., Kalanetra, K. M., Frese, S. A., Robinson, R. C., Mills, D. A., and Barile, D. 2016. Peptidomic Analysis Reveals Proteolytic Activity of Kefir Microorganisms on Bovine Milk Protein. *Food Chem.* 197, 273-284.
- Davis, W. W., and Stout, T. R. 1971. Disc Plate Methode of Microbiological Antibiotic Assay. *APPL. Microbiol.* 22.
- Drumm, T. D., Gray, J. I., and Hosfieldb, G. L. 1990. Variability in the Saccharide , Protein , Phenolic Acid and Saponin Contents of Four Market Classes of Edible Dry Beans. *Journal Science Food Agric.* 12997, 285–297.
- Elias, R. J., Kellerby, S. S., Decker, E. A., Elias, R. J., Kellerby, S. S., and Decker, E. A. 2008. Antioxidant Activity of Proteins and Peptides. *Critical Review in Food Science and Nutrition.* 48, 430-441.
- Ernawati., dan Hasmila, I. 2015. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Mangrove (*Rhizophora mucronata*). *Jurnal Bionature.* 16(2).
- Estiasih, T. 2005. *Kimia dan Teknologi Pengolahan Kacang-kacangan.* Fakultas Teknologi Hasil Pertanian UB. Malang.
- Eva, D., dan Utami, C. 2014. Potensi Susu Kedelai Asam (Soygurt) Kaya Bioaktif Peptida Sebagai Antimikroba. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan.* 14(3), 158–166.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I.* PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

- Farnworth, E. R. 2005. Kefir – a Complex Probiotic. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*. 2(1), 1–17.
- Fuller, R. 1992. *History and Development of Probiotics*. Springer. Netherlands.
- Gamba, R. R., Caro, C. A., Martínez, O. L., Moretti, A. F., Giannuzzi, L., De Antoni, G. L., and León, P. A. 2016. Antifungal Effect of Kefir Fermented Milk and Shelf Life Improvement of Corn Arepas. *Int J Food Microbiol*. 235, 85–92.
- Girindra, A. 1993. *Biokimia 1*. PT. Gramedia. Pustaka Utama. Jakarta.
- Gordon, M. 1990. *Measuring Antioxidant Activity*. CRC Press. New York.
- Gulitz, A., Stadie, J., Wenning, M., Ehrmann, M.A., and Vogel, R.F. 2011. The Microbial Diversity of Water Kefir. *International Journal of Food Microbiology*. 151(3), 284-288.
- Hardiansyah, A., dan Hamdan, H. K. 2022. Optimalisasi Kualitas Organoleptik dan Aktivitas Antioksidan Kefir Susu Kambing dengan Penambahan Madu Lokal Bunga Randu. *Journal of Nutrition College*. 11(4), 278-284.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical*. McGraw-Hill Comp. New York.
- Hasan, M. 2015. Pengaruh ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L*) dalam Beberapa Pelarut Organik Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antifungi Secara In Vitro”. (Skripsi). UIN Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Haytowizh, D. B., and Matthews, R. H. 1989. *Nutrient Content of Other Legume Product*. Legumes Inc. New York.
- Hidayat, M. N. 2017. Meningkatkan Nilai Manfaat Susu dengan Penambahan Mikroba Probiotik. *Jurnal Teknosains*. 11(1), 71-88.
- Huang, W., Davidge, S. T., and Wu, J. 2013. Bioactive Natural Constituents from Food Sources-Potential Use in Hypertension Prevention and Treatment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 53, 615-630.
- Issoufou, A., Olasunkanmi S. G., Yong Hui, S., Mohamed T. K., Sun, J., and Guo-Wei, L.L. 2010. Identification of Antioxidative Peptides from *Lactobacillus plantarum* Lp6 Fermented Soybean Protein Meal. *Research Journal of Microbiology*. 5(5), 372-380.
- Im, S, Erhow, M., Im, J., Hi, H., Ee, S., and Hung, I. 2006. Evaluation of Soyasaponin , Isoflavone , Protein , Lipid , and Free Sugar Accumulation in Developing Soybean Seeds. *Journal Agric. Food Chemistry*. 54, 10003–10010.

- Ismail, A. A., Ghaly, M. F., and El-Naggar, A. K. 2011. Milk Kefir: Ultrastructure, Antimicrobial Activity and Efficacy on Aflatoxin B1 Production by *Aspergillus flavus*. *Curr Microbiol.* 62, 1602–1609.
- Istya, R. A. 2009. Isolasi *Streptomyces* dari *Rizofor* Familia *Poaceae* yang Berpotensi Menghasilkan Antijamur Terhadap *Candida albicans*”. (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Jinapong, N., Suphantharika, M., and Jamnong, P. 2008. Production of Instant Soymilk Powders by Ultrafiltration, Spray Drying and Fluidized Bed Agglomeration. *Journal of Food Engineering.* 84, 194–205.
- Koswara, S. 2006. *Isoflavon Senyawa Multi Manfaat dalam Kedelai*. www.ebookpangan.com. Diakses pada tanggal 4 November 2022.
- Kusmiyati., dan Agustini, N.W.S. 2007. Uji. Aktivitas Senyawa Antibakteri dari Mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Jurnal. Biodiversitas*, 8(1):48-53.
- La Sinurat, R., Ekowati, N.C., Farisi, S., Sawitri, M. E., Aulia, S., Rizqiyati, H., Nurwantoro, N., Abyyudha, D., Widyastuti, N., and Anjani, G. 2011. On Quality Of Goat Milk Kefir. *Jurnal Ternak Tropika.* 12(1), 15–21.
- Lertcanawanichakul, M. 2005. Isolation and Selection of Anti-*Candida albicans* Producing Lactic Acid Bacteria. *Walailak J Sci & Tech.* 2 (2): 179-187.
- Lestari, P., dan Suyata. 2020. Aktivitas Antioksidan Protein Hidrolisat Dari Kasein Susu Kambing Etawa Hasil Hidrolisis Bromelin Dari Daun Nanas Madu. *Jurnal Gipas.* 4(1).
- Liu, K. 1997. *Soybean : Chemistry, Technology, and Utilization*. Chapman and Hall. New York.
- Long, X., Li, Q., Zhao, X. 2021. Free Radical Scavenging Ability of Soybean Milk Fermented by *Lactobacillus plantarum* YS4 Isolated From Yak Yoghurt In Vitro. *IOP Conf Ser: Earth Environ.* 792.
- Machmud, A., Retnowati, N., Yuliana, U., dan Wirnangsi, D. 2011. *Aktivitas Lactobacillus Bulgaricus Pada Fermentasi Susu Jagung (Zea mays) Dengan Penambahan Sukrosa Dan Laktosa*. Biologi FMIPA UNG. Gorontalo.
- Magalhães, K. T., de Melo Pereira, G. V., Campos, C. R., Dragone, G., and Schwan, R. F. 2011. Brazilian Kefir: Structure, Microbial Communities and Chemical Composition. *Brazilian Journal of Microbiology.* 42(2), 693–702.
- Mahdi, C., Untari, H., and Padaga, M. C. 2017. Identification and Characterization of Bioactive Peptides of Fermented Goat Milk as a Sources of Antioxidant as a Therapeutic Natural Product. *Int. Conf. Chem. Material Sci.* 299, 1-7.

- Mandang, F.O., Henny, D., dan Afriza, Y. 2016. Aplikasi Penambahan Konsentrasi Susu Skim Terhadap Kefir Susu Kedelai (*Glycine Max Semen*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*. 4(1), 9–17.
- Menaldi, S. L., Bramono, K., dan Indriatmi, W. 2018. *Dermatomikosis : Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin Edisi Ketujuh*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Miguel, M. G. da C. P., Cardoso, P. G., Lago, L. de A., and Schwan, R. F. 2010. Diversity of Bacteria Present in Milk Kefir Grains Using Culture-Dependent and Culture-Independent Methods. *Food Research International*. 43(5), 1523–1528.
- Miwada, I. N. S., Lindawati, S. A., Hartawan, M., Utama, I. N. S., Ariana, I. N. T., and Tegik, I. P. 2011. Evaluation of the Capabilities of Various Local Bamboo as the Places of Milk Fermentation Without Inoculant of Lactic Acid Bacteria. *Journal of Animal Production*. 13(3), 180–184.
- Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2), 211-219.
- Muryati, S., Sugiyo, W., Jumaeri., dan Astuti, W. 2005. *Ketrampilan Hidup Berbasis Kimia Hijau Life Skill KBK SMA*. UPT UNNES Press. Semarang.
- Ngazizah, F. N., Nuraeni, E., dan Aisyah, T. S. 2016. Potensi Daun Trembilungan (*Begonia hirtella* Link) Sebagai Antibakteri dan Antifungi. *Jurnal Biosfera*. 33(3), 126-133.
- Nitsche, R. 2011. Milk Protein Analysis with the Agilent 2100 Bioanalyzer and the Agilent Protein 80 kit. *Agilent Technologies Inc*. Germany.
- Parada, J.L., Caron, C.R., Medeiros, A.D.P. and Soccol, C.R. 2007. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria : Purification, Properties and Use as Biopreservatives. *Braz Arch Biol. Tech*. 50, 521-524.
- Park, S. Y., Lee, J., Baek, H., and Lee, H. 2009. Purification and Characterization of Antioxidant Peptides from Soy Protein Hydrolysate. *Journal of Food Biochemistry*. 34, 120–132.
- Pogačić, T., Šinko, S., Zamberlin, Š., and Samaržija, D. 2013. Microbiota of Kefir Grains. *Mljekarstvo*. 63(1), 3–14.
- Prakash, A., Rigelhof, F., and Miller, E. 2001. Antioxidant Activity. *Medalliaon Laboratories Analytical Progress*. 10(2).
- Pratiwi. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta.

- Pratiwi, B. M., Heni, R., dan Yoga, P. 2018. Pengaruh Substitusi Buah Naga Merah terhadap Aktivitas Antioksidan, pH, Total Bakteri Asam Laktat dan Organoleptik Kefir Sari Kedelai. *Jurnal Teknologi Pangan*. 2(2), 98-104.
- Prescott, H., and Klein. 2008. *Microbiology 7th*. McGraw–Hill. London.
- Primurdia, E. 2014. Penanganan Pasca Panen pada Kurma Segar dengan pengaturan, Berbagai Macam Suhu dan Kelembaban RH. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(3), 98–109.
- Rani, V. U., and Pradeep, B. V. 2015. Antioxidant Properties of Soy Milk Fermented with *Lactobacillus paracasei* KUMBB005. *Intl J Pharm SciRev Res*. 30(1), 39-42.
- Renkema, J.M.S., Lakemond, C.M.M., De Jongh, H.H.J., Gruppen, H., and Van Vliet, T. 2000. The Effect of pH on Heat Denaturation and Gel Forming Properties of Soy Proteins. *J. Biotechn.* 79, 223-230
- Rodrigues, K. L., Caputo, L. R. G., Carvalho, J. C. T., Evangelista, J., Schneedorf, J. M. 2005. Antimicrobial and Healing Activity of Kefir and Kefiran Extract. *Int. Journal of Antimicrobial Agents*. 25(5), 404-408.
- Sadewi, S. M. 2023. Analisis Kimia dan Identifikasi Peptida Bioaktif Kefir Susu Kambing Etawa Serta Uji Bioaktivitasnya. (*Tesis*). Universitas Lampung.
- Safitri, M. F., dan Swarastuti, A. 2013. Kualitas kefir berdasarkan konsentrasi kefir grain. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2(2), 87–92.
- Santoso. 2009. *Susu dan Yoghurt Kedelai*. Laboratorium Kimia Pangan Faperta Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Santoso, U., Medriana, U., dan Mauritz, P. M. 2020. Aktivitas Antibakter dan Antijamur Ekstrak Batang Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers) Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada : Jurnal Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*. 20(2), 194-208.
- Scalbert, A., Johnson, I. T., and Saltmarsh, M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond 1–3. *Journal Clinic Nutrition*. 81, 215–217.
- Schmidt, R.H., and Morris, H.A. 1984. Gelation Properties of Milk Proteins, Soy Proteins, and Blended Protein Systems. *Food Technol*. 38(5), 85-96.
- Segun, A.A. 2015. Antimicrobial Activity of Bacteriocin Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from Yogurts Against *Candida albicans*. *Int. Journal of Microbiology and Application*. 2(5), 84.

- Septiana, A. 2019. Karakteristik Peptida Bioaktif Antioksidan dari Hidrolisat Susu Kedelai. (*Skripsi*). UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Shurtleff, W., and Aoyagi, A. 1984. *Tofu and Soymilk Production. The Book of Tofu Vol. II*. The Soyfoods Center. California.
- Subrota, H., Shilpa, V., Brij, S., Vandna, K. and Surajit, M. 2013. Antioxidative Activity and Polyphenol Content in Fermented Soy Milk Supplemented With WPC-70 by Probiotic *Lactobacilli*. *International Food Research Journal*. 20(5), 2125–2131.
- Suhartanti, D., dan Muhammad, I. 2014. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kambing Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Ecosains*. 6(1), 2.
- Suparta, I. N. 2018. Introduksi Produk Kefir Multi Fungsional Kepada Para Peternak Kambing Perah Di Desa Bongan Cina Singaraja. *Buletin Udayana Mengabdi*. 17(2), 79.
- Suparta, I. N., Lindawati, S. A., dan Sukanata, I. W. 2017. Sosialisasi Potensi Susu Fermentasi bagi Masyarakat di Desa Pempatan Karangasem dan Upaya Pengembangannya Berbasis Potensi Lokal. *Buletin Udayana*. 16(2), 16–20.
- Surono, I.S. 2004. The effect of freezing methods on binding properties towards Trp-P1 and α -galactosidase activity of *dadih* lactic bacteria. *Jurnal Microbiology Indonesia*. 8(1), 8-12.
- Suskovic, J., Kos, B., Beganovic, J., Pavunc, A.L., Habjanic, K. and Matosic, S. 2010. Antimicrobial Activity-The Most Important Property of Probiotic and Starter lactic Acid Bacteria. *Food Technol. Biotechnol*. 48 (3): 296-3017.
- Szwajkowska, M., Anna, W., Joanna, B., Jolanta, K., and Zygmunt L. 2011. Bovine Milk Proteins as the Source of Bioactive Peptides Influencing the Consumers Immune System. *Animal Science Papers and Reports*. 29(4), 269-280.
- Syafrina, Q., Rasyid, R., dan Linosefpepto, L. 2021. Perbedaan Daya Hambat Kefir Susu Kambing dengan Kefir Susu Sapi Terhadap *Escherichia coli* secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*. 1(3), 321–328.
- Syah, D., Sitanggang, A. B., Faradilla, R. F., Trisna, V., Karsono, Y., dan Septianita, D. A. 2015. The Influences of Coagulation Conditions and Storage Proteins on the Textural Properties of Soy-Curd (Tofu). *CYTA-J Food*. 13, 259-263.
- Tang, H., Ren, J., Yuan, J., Zeng, B. and Wei, H. 2010. An In-Vitro Assessment of Inhibitory Effect of 16 Strains of Probiotics on The Germination of *Candida albicans*. *African Journal of Microbiology Research*. 4 (12), 1251-

1256.

- Thananunkul, D., Tanaka, M. R., Kingston, T., and Lee, R. I. 1975. Degranation of Raffinose and Stachyose in Soybean Milk by α -Galactosidase From *Mortierella vinacea*. Entrapment of α -galactosidase within polyacrylamide gel. *Journal of Food Science*. 41, 173–175.
- U.S Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2002. *USDA-Iowa State University Database on Isoflavone Content of Foods* Release 1.3.
- Urbiene, S., and Leskauskaite, D. 2006. Formation of Some Organic Acids During Fermentation of Milk. *J. Food Nutr. Sci.* 15(3), 277-281.
- Usmiati, S. 2007. Kefir, Susu Fermentasi dengan Rasa menyegarkan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 29(2).
- Utari, D. M., Riyadi, H., Rimbawan., Muhilaf., dan Purwastyastuti. 2010. Pengaruh Pengolahan Kedelai Menjadi Tempe dan Pemasakan Tempe terhadap Kadar Isoflavon. *Journal Clinic Nutrition*. 33(2), 148-153.
- Widiadita, Y. 2022. Karakteristik Fisikokimia, Mikrobiologi, dan Sifat Organoleptik Minuman Probiotik Kefir Berbahan Baku Susu Sapi Murni dan Susu Kedelai Serta Uji Aktivitas Antibakteri. (*Skripsi*). Universitas Lampung. Lampung.
- Wilson, K., and Walker, J. 2000. *Principle and Technique of Practical Biochemistry Edisi Kelima*. Cambridge University Press. London.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Kanisius. Yogyakarta.
- Wolf, W.J. 1972. What is Soy Protein. *Food Technol.* 26(5), 44-54.
- Yuhernita., dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*. 15(1), 48-52.
- Yurliasni, H. Z., dan Hikmawan, R. 2019. Potensi Madu Meningkatkan Kualitas Kefir. *JITEK*. 14(1), 50-59.