

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI PADA *CURD* DAN *WHEY* KEFIR
HASIL FERMENTASI SUSU KEDELAI DAN AKTIVITASNYA
DALAM PENURUNAN KADAR KOLESTEROL**

(Skripsi)

Oleh

**PUTPITA SARI
1917011045**



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

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI PADA *CURD* DAN *WHEY* KEFIR
HASIL FERMENTASI SUSU KEDELAI DAN AKTIVITASNYA
DALAM PENURUNAN KADAR KOLESTEROL**

Oleh

PUTPITA SARI

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 PADA *CURD* DAN *WHEY* KEFIR HASIL FERMENTASI SUSU KEDELAI DAN AKTIVITASNYA DALAM PENURUNAN KADAR KOLESTEROL

Oleh

Putpita Sari

Kefir merupakan minuman fermentasi yang dibuat dari susu dengan penambahan bibit kefir menjadi minuman probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan seperti antibakteri, antikolesterol, antidiabetes, antioksidan, serta mengandung nutrisi tinggi. Pembuatan kefir dapat menggunakan bahan dasar dari susu kambing, susu sapi maupun susu nabati seperti susu kedelai dan susu kacang hijau. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi dan jenis kefir (*curd* dan *whey*) asal susu kedelai yang difermentasi selama 24, 36, dan 72 jam terhadap nilai pH, total asam laktat, total bakteri asam laktat, dan aktivitasnya dalam menurunkan kadar kolesterol. Metode yang digunakan pada penelitian ini meliputi fermentasi susu kedelai dengan bibit kefir 5%, pengujian nilai pH dengan pH meter, analisis total asam laktat dengan metode titrasi, analisis bakteri asam laktat dengan metode TPC (*Total Plate Count*), serta uji aktivitas penurunan kadar kolesterol dengan metode Rudel-Morris dan Zak yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai pH, total asam laktat dan total bakteri asam laktat relatif lebih baik pada *curd* kefir susu kedelai fermentasi 72 jam yaitu 3,97, 0,96%, dan $15,55 \times 10^7$ CFU/mL. Variasi waktu fermentasi dan jenis kefir yang digunakan memberikan pengaruh yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap penurunan nilai pH serta peningkatan total asam laktat dan total bakteri asam laktat. Pada *whey* fermentasi 24 jam dan *curd* fermentasi 36 jam memiliki kemampuan tertinggi dalam menurunkan kolesterol sebesar 44,03% dan 44,05%. Hasil ini membuktikan bahwa *whey* dan *curd* kefir susu kedelai memiliki potensi sebagai penurun kolesterol.

Kata kunci: fermentasi, kefir, susu kedelai, *curd* dan *whey*, penurunan kolesterol

ABSTRACT

EFFECT OF FERMENTATION TIME ON CURD AND WHEY KEFIR FERMENTED SOY MILK AND ITS ACTIVITY IN REDUCING CHOLESTEROL LEVELS

By

Putpita Sari

Kefir is a fermented beverage made from milk with the addition of kefir seeds, a probiotic drink that has health benefits such as antibacterial, anticholesterol, antidiabetic, antioxidant, and contains high nutrients. Kefir can be made from goat's milk, cow's milk or vegetable milk such as soy milk and mung bean milk. This study aims to determine the effect of fermentation time and type of kefir (curd and whey) from soy milk fermented for 24, 36 and 72 hours on pH value, total lactic acid, total lactic acid bacteria, and its activity in reducing cholesterol levels. The methods used in this study include fermentation of soy milk with 5% kefir seeds, testing the pH value with a pH meter, analyzing total lactic acid with the titration method, analyzing lactic acid bacteria with the TPC (Total Plate Count) method, and cholesterol-lowering activity test using Rudel-Morris and Zak methods measured using *UV-Vis* spectrophotometer. The results showed that the pH value, total lactic acid and total lactic acid bacteria were relatively better in 72-hour fermented soy milk kefir curd, namely 3.97, 0.96%, and 15.55×10^7 CFU/mL. The variation of fermentation time and type of kefir used gave a significant effect ($p < 0.05$) on the decrease of pH value as well as the increase of total lactic acid and total lactic acid bacteria. The 24-hour fermented whey and 36-hour fermented curd had the highest ability to reduce cholesterol by 44.03% and 44.05%. These results prove that whey and curd kefir soy milk have the potential as cholesterol-lowering.

Keywords: fermentation, kefir, soy milk, curd and whey, lowering cholesterol

Judul Skripsi

: **PENGARUH WAKTU FERMENTASI
PADA *CURD* DAN *WHEY* KEFIR HASIL
FERMENTASI SUSU KEDELAI DAN
AKTIVITASNYA DALAM PENURUNAN
KADAR KOLESTEROL**

Nama Mahasiswa

: **Putpita Sari**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1917011045

Program Studi

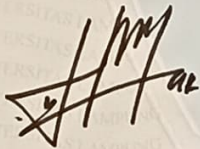
: Kimia

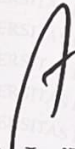
Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

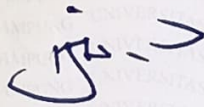
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


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


Dra. Aspita Laila, M.S.
NIP. 196009091988112001

2. Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Lampung


Mulyono, Ph.D.
NIP. 197406112000031002

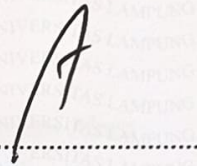
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

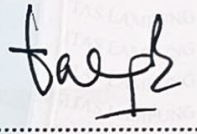
Ketua : **Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.**



Sekretaris : **Dra. Aspita Laila, M.S.**



Anggota : **Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **19 April 2024**

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putpita Sari
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011045
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul
**“Pengaruh Waktu Fermentasi pada *Curd* dan *Whey* Kefir Hasil Fermentasi
Susu Kedelai dan Aktivitasnya dalam Penurunan Kadar Kolesterol”** adalah
benar karya saya sendiri. Saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data
dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk
kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya untuk digunakan
sebagaimana mestinya. Terima kasih.

Bandar Lampung, 19 April 2024
Menyatakan



Putpita Sari
NPM. 1917011045

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Putpita Sari dilahirkan di Way Kanan pada tanggal 28 Desember 2001. Penulis merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara pasangan Bapak Rasman dan Ibu Rumini. Penulis menyelesaikan pendidikan di SDN 3 Negara Jaya yang diselesaikan pada tahun 2013. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan di SMPN 1 Negeri Besar dan lulus pada tahun 2016. Pendidikan berlanjut di SMAN 2 Negeri Besar hingga tahun 2019. Pada tahun 2019, penulis melanjutkan pendidikan di Perguruan Tinggi Negeri (PTN) Universitas Lampung melalui jalur seleksi SBMPTN dan dinyatakan lulus pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama menjalankan perkuliahan penulis aktif di beberapa kegiatan baik akademik maupun non-akademik. Penulis mengikuti beberapa organisasi selama di perguruan tinggi, seperti BIROHMAH Universitas Lampung (2019-2020) sebagai staf Departemen Hubungan Masyarakat, Rois FMIPA Universitas Lampung (2020-2021) sebagai anggota Biro Kesekretariatan dan Rumah Tangga, dan BEM FMIPA Unila (2020-2021) sebagai staf Departemen Pergerakan dan Pemberdayaan Wanita. Penulis pernah menjadi Asisten Praktikum Pengantar Kimia Analisis dan Praktikum Biokimia. Penulis merupakan penerima hibah Program Pembinaan Mahasiswa Wirausaha Universitas Lampung yang diselenggarakan oleh Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi tahun 2022 dan penulis pernah mengikuti program Riset dalam program Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) selama satu semester.

Tahun 2022 penulis melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Pakuan Baru, Kecamatan Pakuan Ratu, Kabupaten Way Kanan. Penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Biokimia Jurusan

Kimia FMIPA Universitas Lampung dengan topik penelitian “Uji Efektivitas Dekomposer M-21 terhadap Penurunan Kadar *Chemical Oxygen Demand* (COD) pada Limbah Cair Industri Tahu”.

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”
(Q.S Al Baqarah: 286)

“Without action, you aren't going anywhere”
(Mahatma Gandhi)

“I am the master of my fate: I am the captain of my soul”
(Nelson Mandela)

“Nothing is impossible”
(Penulis)

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Atas segala izin dan kebesaran Allah SWT
Saya dedikasikan karya sederhana ini untuk:

Orang tua tercinta
Ibu dan Bapak yang senantiasa mendoakan, menyemangati, mendukung dan percaya kepada putrinya.

Kakak-kakakku yang selalu memberi dukungan dan membantu dalam kesulitan.

Hormat setinggi-tingginya kepada
Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si., Ibu Dra. Aspita Laila, M.S., Ibu Prof. Dr. Tati
Suhartati, M.S., serta seluruh Dosen Pengajar
Terima kasih atas ilmu, nasihat dan kesabaran dalam membimbing selama ini.

Sahabat dan teman-teman yang telah kebersamai, mendukung, mengingatkan,
memotivasi dan memberikan semangat.

Almamater Universitas Lampung

Diriku yang tetap sehat dengan pikiran yang tenang, tetap mempunyai harapan,
dan semangat berjuang.

SANWACANA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang selalu melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya kepada penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan studi dengan skripsi berjudul **“Pengaruh Waktu Fermentasi pada *Curd* dan *Whey* Kefir Hasil Fermentasi Susu Kedelai dan Aktivitasnya dalam Penurunan Kadar Kolesterol”** sebagai salah satu syarat dalam meraih gelar Sarjana Sains pada program studi Kimia FMIPA Universitas Lampung. Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis menyadari bahwa tidak dapat terlepas dari bimbingan serta bantuan berbagai pihak. Dengan hati yang tulus dan penuh rasa syukur, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua, Ibu dan Bapak yang selalu mendukung, mendoakan, memberi kebebasan berpendapat dan memilih. Semoga Allah selalu memberikan keberkahan, nikmat sehat dan semoga bisa tetap menemani penulis hingga akhir bahagia nanti.
2. Kakak-kakakku yang penulis sayangi, terima kasih telah mendukung dan membersamai, tetap sehat dan semoga Allah selalu limpahkan kebahagiaan dan keberkahan.
3. Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si. selaku Pembimbing I yang telah memberikan banyak ilmu, pemahaman, saran, kritik, dan waktu selama penulis menyelesaikan tugas akhir ini. Semoga Allah senantiasa membalas semua kebaikan Ibu dengan keberkahan dan kebaikan yang lebih berlimpah. Dengan penuh kerendahan hati, saya memohon maaf atas segala kata maupun tindakan yang mungkin dianggap kurang baik dan kurang pantas dihadapan Ibu.

4. Ibu Dra. Aspita Laila, M.S. selaku Pembimbing II terima kasih banyak untuk kebaikan, nasihat, ilmu, serta masukan yang diberikan. Semoga Allah senantiasa memberikan kesehatan dan keberkahan untuk Ibu.
5. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. selaku Dosen pembahas penulis yang begitu sabar dalam membimbing dan menyempatkan waktunya untuk memberikan saran perbaikan kepada penulis selama menyelesaikan tugas akhir ini. Semoga kebaikan dan keberkahan Allah berikan pada Ibu.
6. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si. selaku Pembimbing Akademik terima kasih banyak atas ilmu, bimbingan, serta saran dan kebaikan yang diberikan selama menempuh pendidikan ini.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
9. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas seluruh ilmu, bimbingan, dan nasihat yang diberikan selama penulis menjalani perkuliahan. Semoga Allah membalas kebaikan Bapak dan Ibu.
10. Bapak Suparman, S.Si. terima kasih atas segala kebaikan, berbagai bantuan, dan kesempatan luar biasa yang Bapak berikan sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan ini. Semoga Tuhan selalu memberikan rahmat, kedamaian, kebahagiaan, berkah yang melimpah, dan diberikan lebih dari yang pernah Bapak panjatkan dalam doa.
11. Ibu Nurul Islamiyah, S.Pd. terima kasih atas bantuan dalam mengurus pendaftaran Bidikmisi, SNMPTN, dan SBMPTN hingga penulis bisa melanjutkan studi ke jenjang perkuliahan. Terima kasih sudah mau mendengar keluh kesah, memberi saran dan masukan layaknya seorang ibu dan teman, serta pelajaran hidup yang sangat berharga. Semoga Allah selalu melimpahkan keberkahan dan kebaikan untuk Ibu.
12. Bapak Sahid Raharjo terima kasih telah membuat konten tentang tutorial uji ANOVA yang lengkap dan mudah dipahami, itu sangat membantu penulis dalam melakukan pengolahan data penelitian ini.

13. Rekan-rekan penelitian seperbimbingan “BNH 2019” : Yori Pratiwi, Astin Vidyasani, Verinda Indah Sari dan Cindi Pebrianti. Terima kasih sudah menemani hari-hari di Laboratorium Biokimia dan mau direpotkan dalam berbagai hal. Terima kasih sudah menjadi tempat *sharing* dan berkeluh kesah selama penelitian ini.
14. Kakak-kakak yang penulis sayangi (Kak Hanisa, Kak Aca, Kak Yoanda, dan Kak Siwi) yang mau memberikan saran dan masukan kepada penulis selama menyelesaikan penelitian ini.
15. Teman-teman *Peer Group* Biokimia 2019. Terima kasih telah membantu, memberikan semangat, dan dukungan kepada penulis.
16. Rekan-rekan “*Chemistry ‘19*” terkhusus kelas B yang telah menyertai penulis selama perkuliahan.
17. Teman-teman kosan Anis, Lathifah, Jj, dan Iftika terima kasih telah menjadi teman curhat, berbagi keluh kesah, dan mengisi kehidupan penulis dengan banyak keseruan. Semoga kalian selalu dalam lindungan Allah dan dilancarkan segala persoalan dalam mengerjakan penelitian dan penulisan tesis/skripsi.
18. Almamater tercinta Universitas Lampung.
19. Seluruh pihak yang terlibat dalam penyusunan skripsi dan tidak bisa disebutkan satu persatu.
20. *Last but not least*, terima kasih untuk diri sendiri yang selalu percaya bahwa akan berada di tahap ini dengan kerja keras serta mampu melawan rasa takut dan sakit. Terima kasih karena masih bisa menjaga mental ini serta terlihat baik dan bahagia dalam menghadapi berbagai hal. Saya bangga menjadi diri saya, mari seterusnya tetap sehat dengan pikiran yang tenang.

Bandar Lampung, 19 April 2024

Penulis

Putpita Sari

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	xvii
---------------------------	-------------

DAFTAR GAMBAR.....	xviii
---------------------------	--------------

I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	3
1.3. Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Kefir.....	5
2.2. <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Kefir.....	7
2.3. Bakteri Asam Laktat.....	9
2.4. Susu Kedelai.....	9
2.5. Kolesterol	11
2.6. Uji Penurunan Kadar Kolesterol	12
2.7. Spektrofotometer UV-Vis.....	13
III. METODE PENELITIAN.....	14
3.1. Waktu dan Tempat	14
3.2. Alat dan Bahan	14
3.3. Metode Penelitian.....	15
3.3.1. Sterilisasi Alat	15
3.3.2. Pembuatan Susu Kedelai.....	15
3.3.3. Preparasi Susu Kedelai.....	15
3.3.4. Pembuatan Kefir Susu Kedelai	16
3.3.5. Standarisasi Larutan Standar NaOH	16
3.3.6. Uji Nilai pH.....	17
3.3.7. Analisis Total Asam Laktat.....	18
3.3.8. Analisis Total Bakteri Asam Laktat	18
3.3.9. Pengujian Penurunan Kolesterol secara <i>In Vitro</i>	19

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1. Kefir Susu Kedelai	23
4.2. Nilai pH	24
4.3. Kadar Total Asam Laktat	27
4.4. Total Bakteri Asam Laktat (BAL).....	30
4.5. Aktivitas Penurunan Kadar Kolesterol.....	32
 V. SIMPULAN DAN SARAN.....	 38
5.1. Simpulan.....	38
5.2. Saran.....	38
 DAFTAR PUSTAKA	 40
 LAMPIRAN.....	 47
1. Hasil Analisis Data Nilai pH.....	48
2. Hasil Perhitungan dan Analisis Data Total Asam Laktat	50
3. Analisis ANOVA Kadar BAL	53
4. Kurva Standar Kolesterol.....	55
5. Penurunan Kadar Kolesterol <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Kefir Susu Kedelai.....	57
6. Kurva Persen Penurunan Kadar Kolesterol Sampel	60
7. Gambar Uji Total Bakteri Asam Laktat	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia Kefir (La Sinurat <i>et al.</i> , 2011).....	6
2. Perbandingan Susu Sapi dan Susu Kedelai per 100 g (Koswara, 2006).....	10
3. Spesifikasi Kadar Kolesterol dalam Darah (NCEP ATP, 2002).....	12
4. Nilai pH <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Kefir Susu Kedelai	25
5. Kadar Total Asam Laktat <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Kefir Susu Kedelai	27
6. Kadar Bakteri Asam Laktat <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Kefir Susu Kedelai	30
7. Hasil Pengukuran Absorbansi Standar Kolesterol	56
8. Data Absorbansi dan Penurunan Kadar Kolesterol.....	57

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bibit Kefir (Femina, 2021).....	5
2. Struktur Kimia Kolesterol (Botham <i>and</i> Mayes, 2003).....	11
3. Diagram Alir Penelitian	22
4. a) <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> sebelum dipisahkan; b) <i>Curd</i> , dan c) <i>Whey</i>	24
5. Nilai pH <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Kefir Susu Kedelai	25
6. Kadar Total Asam Laktat <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Kefir Susu Kedelai	28
7. Kadar Total BAL <i>Curd</i> dan <i>Whey</i> Kefir Susu Kedelai	31
8. Kurva Standar Kolesterol.....	33
9. Reaksi Kolesterol dengan Metode Zak (Burke <i>et al.</i> dalam Anggoro dkk., 2022)	34
10. Penurunan Kadar Kolesterol	35

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kolesterol merupakan salah satu dari komponen lemak yang sebagian besar dihasilkan oleh tubuh manusia, terutama oleh hati sekitar 80% dan sisanya sekitar 20% berasal dari sumber eksternal (Kurniadi dan Nurrahmi, 2014). Sejumlah gangguan dapat muncul ketika kadar kolesterol dalam tubuh tinggi. Peningkatan kadar kolesterol dapat menyebabkan penyakit kardiovaskular, termasuk aterosklerosis, stroke, diabetes, dan penyakit jantung koroner (Xie *et al.*, 2011). Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), 17,9 juta kematian pada tahun 2019 terkait dengan penyakit kardiovaskular atau mewakili hampir 32% dari semua kematian. Serangan jantung dan stroke menyumbang sekitar 85% dari kematian tersebut (WHO, 2021).

Ada beberapa metode yang dapat diterapkan untuk mengurangi tingkat kolesterol di dalam tubuh, di antaranya melalui penggunaan obat penurun kolesterol, seperti statin (Ebrahim *et al.*, 2014). Namun, penggunaan statin memiliki efek samping jika dikonsumsi dalam dosis besar, maka diperlukan alternatif lain yaitu dengan melibatkan pemanfaatan makanan atau minuman probiotik. Hal ini didasarkan keberadaan bakteri dalam makanan atau minuman probiotik yang terbukti pada penelitian terhadap manusia dan hewan telah menunjukkan kemampuan dalam menurunkan kolesterol. Sebagai contoh, kefir telah diidentifikasi sebagai minuman probiotik yang terbukti menurunkan kolesterol (Miao *et al.*, 2014).

Kefir didefinisikan sebagai produk susu yang melalui fermentasi dengan penambahan bibit kefir. Bakteri asam laktat (BAL), ragi, dan bakteri

asetat adalah beberapa di antara 50 jenis bakteri probiotik yang berlimpah di dalam butiran kefir (Slattery *et al.*, 2019). Kemampuan kefir dalam penurunan kadar kolesterol darah berhubungan dengan adanya aktivitas BAL. BAL diketahui memberikan efek menguntungkan bagi kesehatan manusia karena sifat probiotik dan kemampuannya menghasilkan komponen bioaktif (Yusuf *et al.*, 2019). Proses fermentasi laktosa pada kefir juga berkaitan dengan produksi asam laktat serta enzim proteolitik dan lipolitik oleh BAL. Enzim tersebut memiliki peran penting dalam memecah kolesterol (Ahmed *et al.*, 2013).

Pembuatan kefir umumnya menggunakan bahan dasar susu, baik susu nabati maupun hewani. Susu nabati dapat diperoleh dari sumber kacang-kacangan seperti kacang hijau dan kedelai, sedangkan susu hewani dapat berasal dari susu sapi dan susu kambing (Triwibowo *et al.*, 2020). Salah satu bahan dasar untuk membuat kefir yang juga dapat menurunkan kadar kolesterol adalah susu kedelai (Liu *et al.*, 2006). Kedelai adalah salah satu komoditas pangan yang kaya akan protein nabati, sumber lemak, vitamin, serat, tidak mengandung kolesterol serta murah dan mudah didapat. Selain itu, diketahui bahwa kedelai mengandung isoflavon seperti daidzein dan genistein. Protein kedelai juga dapat mengurangi risiko penyakit kardiovaskular dengan mengikat profil lemak dalam darah. Khususnya, protein kedelai secara signifikan menurunkan kolesterol total (Takahashi *et al.*, 2005). Selain itu, kefir susu kedelai dapat digunakan untuk menggantikan kefir susu sapi dan menjadi solusi bagi penderita laktosa intoleran yang tidak bisa mengonsumsi susu sapi (Susilorini, 2007).

Berdasarkan hasil penelitian, Andika (2019) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh konsumsi susu kedelai terhadap penurunan kolesterol total darah sebesar 6,3 mg/dL pada penderita hiperkolesterolemia. Shahibu (2002) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa sari kedelai dari hasil fermentasi *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-35 dan *Streptococcus thermophilus* dengan variasi lama inkubasi 0, 30, 60, 120, dan 240 menit mampu menurunkan kolesterol secara *in vitro*. Penurunan tersebut disebabkan oleh kacang kedelai serta BAL yang ada di dalamnya. Di sisi lain, penelitian kefir susu kedelai oleh Liu *et al.* (2006) menambahkan bahwa diet mengandung kefir susu kedelai dapat signifikan

menurunkan kadar trigliserida dan kolesterol total pada hamster daripada kelompok yang tidak diberikan diet kefir. Selain itu, penelitian terhadap hewan uji dilaporkan bahwa tikus dengan kondisi hiperkolesterolemia yang diberi kefir susu sapi selama 15 hari mengalami penurunan kadar kolesterol LDL yang cukup besar pada pemberian 2 ml/hari, kadarnya 80,18% dan pada pemberian 3 ml/hari, kadarnya 73,12% (Pratama dan Probosari, 2012).

Pemanfaatan kefir yang berasal dari susu kedelai mampu menurunkan kadar kolesterol. Namun, dalam pembuatannya belum banyak yang memisahkan antara *curd* dan *whey* untuk melihat pengaruhnya terhadap penurunan kadar kolesterol. Pada penelitian sebelumnya, Widiadita (2023) telah melakukan pengujian sifat fisikokimia dan mikrobiologi dari *curd* dan *whey* kefir susu kedelai yang difermentasi menggunakan variasi waktu. Temuan penelitian menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, kandungan protein meningkat dan kandungan lemak menurun. Selain itu, pada pengujian total BAL akan semakin meningkat seiring bertambahnya waktu fermentasi. *Curd* dan *whey* kefir susu kedelai menghasilkan total BAL yang lebih besar daripada yang terkandung dalam *curd* dan *whey* kefir susu sapi. Semakin banyak mikroorganisme di dalam kefir, semakin baik pula kualitas kefir. Hal ini dibuktikan dengan BAL yang terkandung di dalam kefir dapat menurunkan kadar kolesterol (Nihayah, 2015). Namun, pada penelitian tersebut belum dipelajari pengaruh waktu fermentasi terhadap penurunan kadar kolesterol. Berdasarkan dari latar belakang di atas, pada penelitian ini dipelajari pengaruh waktu fermentasi pada *curd* dan *whey* kefir hasil fermentasi susu kedelai dan aktivitasnya dalam penurunan kadar kolesterol dengan menggunakan tiga variasi waktu fermentasi yaitu 24, 36 dan 72 jam.

1.2. Tujuan Penelitian

Berikut adalah tujuan dari penelitian ini:

1. Mengetahui pengaruh perbedaan waktu fermentasi pada *curd* dan *whey* yang dihasilkan terhadap nilai pH, total asam laktat, dan total bakteri asam laktat .

2. Mengetahui pengaruh waktu fermentasi pada *curd* dan *whey* kefir susu kedelai terhadap penurunan kadar kolesterol.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah untuk memberi informasi mengenai manfaat *curd* dan *whey* kefir susu kedelai dalam menurunkan kadar kolesterol serta jenis dan waktu fermentasi kefir susu kedelai yang baik untuk dikonsumsi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kefir

Kefir merupakan hasil proses fermentasi susu yang melibatkan sejumlah mikroorganisme, termasuk bakteri penghasil asam laktat (BAL) dan khamir yang menghasilkan perubahan kimia tertentu dalam substrat susu tersebut (Aristya dkk., 2013). Pada proses fermentasinya, pembuatan kefir menggunakan granula kefir (Safitri dan Swarastuti, 2013). Gulitz *et al.* (2011) mengklasifikasikan kefir menjadi kefir susu dan kefir air, bergantung pada media yang digunakan untuk fermentasi. Menurut Gulitz *et al.* (2011) pembuatan kefir air dilakukan dengan mencampurkan air dengan gula pasir, potongan kecil lemon, kismis atau buah kering lainnya, sedangkan beberapa jenis susu seperti susu sapi, susu kambing, dan susu kedelai digunakan untuk membuat kefir susu dengan penambahan starter berupa biji kefir (Triwibowo *et al.*, 2020).



Gambar 1. Bibit Kefir (Femina, 2021).

Proses fermentasi kefir menghasilkan lapisan cairan bening yang disebut *whey* dan lapisan padat atau *curd*. *Whey* kefir merupakan bagian cair dari kefir,

sedangkan lapisan padat (*curd*) dikenal sebagai kefir prima. Sementara itu, kefir yang dihasilkan dengan mencampurkan baik lapisan padat maupun cair setelah keduanya dipisahkan dari kultur inokulumnya dikenal sebagai kefir optima (Julianto dkk., 2016). Sebagai produk fermentasi, kefir menampilkan profil sensoris yang mencakup warna, rasa, dan konsistensi serupa *yoghurt* dengan aroma khas berupa aroma *yeasty* yang mirip dengan tape. Kefir dihasilkan melalui fermentasi susu yang telah dipasteurisasi dengan penambahan inokulum dalam bentuk butir atau biji kefir yang dikenal sebagai kefir *grains* atau kefir *granule*. Biji kefir ini berwarna putih atau krem dari kumpulan bakteri seperti *Streptococcus* sp., *Lactobacilli*, dan beberapa jenis ragi atau khamir non-patogen. Asam laktat dan komponen flavor dihasilkan oleh bakteri, sedangkan sejumlah kecil alkohol dan gas arang atau karbon dioksida dihasilkan oleh ragi. Hal inilah yang membuat kefir memiliki rasa asam serta rasa soda dan alkohol yang membuatnya terasa lebih menyegarkan. Alkohol dan karbon dioksida bereaksi menghasilkan busa yang memberikan sensasi mendesis pada minuman (Usmiati, 2007). Adapun Tabel 1 berikut ini menunjukkan komposisi kimia kefir.

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

Komponen	Jumlah (%)
Protein (%)	4-6
Karbohidrat (%)	5-25
Lemak (%)	0,1-10
Laktosa (%)	2-3
Asam laktat	0,8-1,1
pH	3,5-4,6
Keasaman (%)	0,5-1,6
Alkohol (%)	0,5-2

Kefir memberikan manfaat bagi kesehatan karena BAL yang terdapat di dalamnya, seperti susu fermentasi pada umumnya berperan sebagai probiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen di dalam tubuh manusia,

khususnya dalam saluran pencernaan. Penelitian menunjukkan bahwa kefir memberikan manfaat kesehatan, termasuk menurunkan kolesterol serum, meningkatkan kadar HDL (*High Density Lipoprotein*) serta menurunkan LDL (Low Density Lipoprotein) dan trigliserida (Susilorini, 2007). Selama proses fermentasi kefir, BAL akan mengubah laktosa menjadi asam laktat. Rasa asam dan penurunan pH dihasilkan oleh asam laktat pada kefir. Penurunan pH juga dapat dipengaruhi oleh asam amino. Dengan demikian, rasa asam pada kefir sebanding dengan lamanya waktu yang dibutuhkan hingga fermentasi selesai. (Bahar, 2008).

Hubungan antara komposisi mikrobiota kefir yang kompleks dan beragam serta senyawa metabolit yang dihasilkan oleh fermentasi susu kefir secara luas dikaitkan dengan kemampuannya dalam mengurangi kadar kolesterol (Bourrie *et al.*, 2016). Beberapa penelitian secara in-vivo menunjukkan bahwa isolat *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus acidophilus*, dan *Lactobacillus plantarum* yang berasal dari kefir memiliki efek positif dalam menurunkan kadar kolesterol yang beredar dalam darah, serta mengurangi kandungan kolesterol di hati dengan cara menghambat penyerapan kolesterol dari usus halus. Diperkirakan bahwa kemampuan BAL yang diisolasi dari kefir dalam menurunkan kadar kolesterol terkait dengan kemampuannya untuk mengasimilasi kolesterol di dalam usus halus serta untuk mengdekonjugasi garam empedu. Selain itu, *Lactobacillus* menghasilkan asam lemak rantai pendek yang dapat menurunkan jumlah kolesterol yang dihasilkan di hati dan distribusinya di darah dan hati (Nuraida dkk., 2011).

2.2. Curd dan Whey Kefir

Julianto dkk. (2016) menyatakan bahwa kefir difermentasi untuk memisahkan *curd* (bagian padat) dari *whey* (bagian cair). *Curd* mengandung beberapa protein dan lemak susu, berukuran kecil dan mudah dicerna karena mengandung enzim laktase serta kaya akan vitamin dan mineral, seperti kalsium, magnesium, fosfor, B2, B12, vitamin A dan vitamin K. Sementara itu, kefir *whey* adalah cairan

kuning bening yang dihasilkan saat susu dipisahkan setelah ditambahkan butiran kefir ke dalamnya selama fermentasi. *Whey* ini juga bermanfaat bagi kesehatan sebagai antibakteri, antikarsinogenik, antimikroba, probiotik, dan prebiotik (Liu *et al.*, 2006).

Penelitian *curd* dan *whey* kefir telah dilakukan oleh Widiadita (2023) menggunakan bahan baku susu kedelai untuk dianalisis sifat fisikokimia dan mikrobiologi. Pada pengukuran nilai pH, *curd* dan *whey* terendah yaitu 3,38 dan 3,56 dengan fermentasi 72 jam. Perubahan dalam pH terjadi sebagai hasil dari aktivitas mikrobial di dalam butiran kefir yang mengubah karbohidrat susu terutama laktosa menjadi asam laktat. Selain itu, tingkat akumulasi asam laktat meningkat seiring dengan lamanya masa penyimpanan. Adriani (2005) menyatakan bahwa kisaran pH 3,8-4,6 merupakan kondisi optimal untuk kualitas susu fermentasi dan jika pengasaman yang disebabkan oleh aktivitas BAL cukup, pH susu akan turun.

Kadar lemak total yang diperoleh menurun dengan bertambahnya waktu fermentasi. Kadar lemak total dari *curd* dan *whey* kefir susu kedelai terendah adalah 2,57% dengan fermentasi 72 jam. Enzim lipase yang dihasilkan oleh mikroba dalam biji kefir menjadi penyebab atas penurunan ini. Pada pengujian kadar protein, diperoleh *curd* dan *whey* dengan kadar tertinggi adalah 16,91% dan 17,74%. Kadar protein bertambah seiring bertambahnya waktu fermentasi. Hal ini disebabkan karena *grains* kefir itu sendiri mengandung 40-60% protein sehingga meningkatkan jumlah mikroorganisme selama masa inkubasi akan meningkatkan jumlah protein kefir (Susanti dan Utami, 2014). Sementara itu, untuk menganalisis total BAL pada *curd* dan *whey* kefir susu kedelai digunakan metode TPC. Total BAL tertinggi terdapat pada *curd* dan *whey* kefir fermentasi 72 jam sebesar $289 \text{ CFU/mL} \times 10^5$ dan $371 \text{ CFU/mL} \times 10^5$. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, jumlah bakteri asam laktat secara keseluruhan akan meningkat seiring dengan semakin lamanya waktu fermentasi (Widiadita, 2023).

2.3. Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) ditemukan dalam berbagai makanan yang telah mengalami fermentasi. BAL sebagai starter fermentasi termasuk bakteri gram-positif. BAL menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir dari proses fermentasi yang mengakibatkan penurunan pH sehingga menghambat pertumbuhan beberapa mikroorganisme (Schnurer *and* Magnusson, 2005). Teknik *Total Plate Count* (TPC) dapat digunakan untuk menentukan total kandungan BAL dalam sampel. Metode TPC yang dijelaskan dalam SNI 2897: 2008 merupakan suatu metode untuk mengetahui berapa banyak mikroorganisme dalam suatu produk yang dapat tumbuh dalam media agar pada suhu dan lama inkubasi tertentu. Nilai TPC diperoleh dengan menghitung koloni bakteri yang berkembang pada media agar. Nilai-nilai ini menunjukkan jumlah total mikroorganisme yang ada dalam suatu produk.

2.4. Susu Kedelai

Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) memiliki konsentrasi protein terbesar dibandingkan komoditas kacang-kacangan yaitu 40%. Makanan dan minuman merupakan bagian terbesar dari proses akhir komoditas ini. Susu kedelai merupakan salah satu produk minuman probiotik yang paling populer. Biji kedelai olahan menghasilkan cairan putih yang menyerupai dan berfungsi serupa dengan susu sapi, ini dikenal sebagai susu kedelai (Adebayo *et al.*, 2009). Adanya kandungan protein yang sangat mirip, produk susu kedelai sering dijadikan alternatif susu sapi. Bagi mereka yang tidak toleran laktosa atau mempunyai masalah pencernaan, susu kedelai merupakan alternatif yang baik untuk susu sapi karena padat nutrisi dan tidak mengandung kolesterol atau laktosa (Susilorini, 2007). Susu kedelai merupakan alternatif yang lebih sehat dibandingkan susu sapi karena kandungan lemaknya lebih sedikit. Hal ini disebabkan karena susu sapi berasal dari hewan yang memiliki kelenjar susu,

sedangkan susu kedelai berasal dari tanaman. Berikut perbandingan antara susu kedelai dan susu sapi ditunjukkan pada Tabel 2.

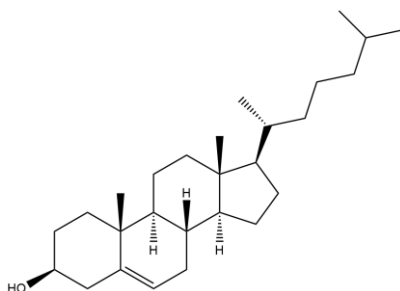
Tabel 2. Perbandingan Susu Sapi dan Susu Kedelai per 100 g (Koswara, 2006).

Komponen	Susu Sapi	Susu Kedelai
Air (%)	88,6	88,6
Kalori (kal)	58	52,99
Karbohidrat (%)	0,14	4,4
Lemak (%)	4,5	0,18
Protein (%)	0,3	2,5
Vitamin A (%)	0,2	0,02
Vitamin B1 (%)	0,04	0,04
Vitamin B2 (%)	0,15	0,02
Kalsium (mg)	100	15
Fosfor (mg)	90	49
Natrium (mg)	16	2
Besi (mg)	0,01	1,02
Asam lemak jenuh (%)	60-70	40-48
Asam lemak tak jenuh (%)	30-40	52-60
Kolesterol (mg)	9,2-9,9	0
Abu (mg)	0,07	0,02

Selain itu, kedelai memiliki banyak zat besi, kalsium, vitamin B, dan serat makanan. Antibiotik untuk mengobati infeksi dan antioksidan untuk mencegah penyakit degeneratif hanyalah dua contoh dari banyak zat yang dapat digunakan untuk tujuan terapeutik. Senyawa berikut mempunyai fungsi dalam menurunkan kadar kolesterol yaitu isoflavon, antosianin, asam lemak tak jenuh tunggal dan majemuk, serta protein. Kedelai mengandung isoflavon yang merupakan antioksidan. Salah satu jenis isoflavon adalah genistein, sedangkan jenis lainnya adalah daidzein (Swart *et al.*, 2019).

2.5. Kolesterol

Kolesterol ($C_{27}H_{45}OH$) adalah salah satu komponen lemak yang sebagian berasal dari hati dan sebagian kecil berasal dari makanan. Kadar kolesterol dapat meningkat dengan mengonsumsi makanan yang tinggi kolesterol. Sebagai komponen vital dalam asupan energi, kolesterol memainkan peran esensial dalam pembentukan membran sel tubuh (Kurniadi dan Nurrahmi, 2014). Meskipun kolesterol memiliki fungsi fisiologis yang penting, kolesterol dapat merusak jantung dan pembuluh darah jika kadarnya terlalu tinggi dalam darah (Cahyono dan Suharjo, 2008).



Gambar 2. Struktur Kimia Kolesterol (Botham *and* Mayes, 2003).

Tubuh mengangkut kolesterol ke seluruh sistemnya dan menghubungkannya dengan protein dalam darah. Kolesterol memiliki batas kadar normal dalam plasma darah adalah <200 mg/dL. Jika kondisi ini lebih tinggi dari biasanya maka disebut dengan hiperkolesterolemia. Klasifikasi kolesterol darah menurut *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Spesifikasi Kadar Kolesterol dalam Darah (NCEP ATP, 2002).

Kolesterol Total	Kategori Kolesterol
< 200 mg/dL	Optimal
200-239 mg/dL	Ambang batas atas
≥ 240 mg/dL	Tinggi
Kolesterol LDL	
< 100 mg/dL	Optimal
100-129 mg/dL	Mendekati optimal
130-159 mg/dL	Ambang batas atas
160-189 mg/dL	Tinggi
≥ 190 mg/dL	Sangat tinggi
Kolesterol HDL	
< 40 mg/dL	Rendah
≥ 60 mg/dL	Tinggi
Trigliserida	
< 150 mg/dL	Optimal
150-199 mg/dL	Ambang batas atas
200-499 mg/dL	Tinggi
≥ 500 mg/dL	Sangat tinggi

2.6. Uji Penurunan Kadar Kolesterol

Sampel uji atau sediaan ditambahkan ke dalam larutan etanol yang mengandung kolesterol sebagai bagian dari uji kemampuan pengikatan kolesterol. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C dengan menggunakan metode Rudel-Morris dan Zak yang menggunakan $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{p})$ sebagai katalis dan reaksi pewarnaan antara FeCl_3 dalam asam asetat glasial untuk menentukan konsentrasi kolesterol. Jumlah kolesterol bebas dapat ditentukan dengan mengukur serapannya. Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur serapan antara panjang gelombang 400-700 nm (Rudel and Morris dalam Sutioso, 2012).

Protonasi gugus -OH pada kolesterol terjadi pada reaksi antara pereaksi Zak dan kolesterol. Setelah itu melibatkan proses dehidrasi yang menghasilkan ion karbonium 3,5-kolestadiena. Langkah selanjutnya adalah menambahkan Fe^{3+} agar diperoleh senyawa berwarna dan akan menghasilkan larutan kation tetraenilik dengan warna jingga kemerahan. Untuk menghasilkan senyawa berwarna, reaksi pewarna FeCl_3 dalam asam asetat glasial membutuhkan $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{p})$ sebagai katalis (Maidin *et al.*, 2017).

2.7. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode instrumen untuk mendeteksi senyawa dalam bentuk padat maupun cair dengan mengukur serapan protonnya. Sampel harus diderivatisasi sedemikian rupa sehingga dapat menyerap foton pada panjang gelombang antara 200-700 nm. Salah satu contoh derivatisasi adalah dalam pembentukan garam kompleks dilakukan penambahan reagen (Irawan, 2019).

Prinsip utama spektrofotometri UV-Vis adalah penyerapan, refleksi, dan emisi cahaya monokromatik saat bergerak melalui media berbasis larutan. Spektrum unsur-unsur tertentu pada panjang gelombang tertentu memberikan dasar kualitatif untuk temuan yang diperoleh dari penyelidikan spektrofotometri UV-Vis. Nilai serapan spektral dan keberadaan zat pengompleks merupakan dasar temuan kuantitatif yang bervariasi menurut unsur yang diteliti. Dasar pengukuran spektrofotometri adalah hukum Lambert-Beer, yang menghubungkan sensitivitas dan ketebalan bahan transparan dengan intensitas cahaya yang melewatinya (Yanlinastuti dan Fatimah, 2016).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret sampai dengan Oktober 2023 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung dan Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, biuret 50 mL, klem dan statif, rak tabung reaksi, spatula, gunting, kapas, kasa, botol semprot, botol kaca, botol plastik, saringan, blender, plastik *wrap*, aluminium foil, kertas saring, mikrotip, tabung sentrifuga, neraca analitik model *Ainsworth* AA160, pemanas Bunsen, lemari pendingin, termometer, *vortex* model *Grant-Bio* PV-1, pH meter, autoklaf model S-90N, oven model T60 *Heraeus*, inkubator *Memmert*, *laminar air flow* model *Cruma* 9005-FL, mikropipet *Eppendorf* dan *DragonLab*, *colony counter*, *hot plate* model *Stuart* CB162, *waterbath* GFL 1092, sentrifuga model *Cole Parmer*, dan spektrofotometer UV-Vis *Optizen Alpha*.

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit kefir, susu kedelai, air, akuades, indikator fenolftalein, NaOH 0,1 N, NaCl, media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA), buffer fosfat, etanol 95%, H₂SO₄ pekat, baku kolesterol, FeCl₃.6H₂O dan asam asetat glasial.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Sterilisasi Alat

Sebelum dimulai pengujian, peralatan dan tempat pengujian disterilkan. Persiapan alat-alat kaca untuk sterilisasi meliputi pencucian, pengeringan, dan pembungkusan dengan kertas. Langkah selanjutnya adalah memasukkannya ke dalam autoklaf dan mengatur suhu 120°C serta tekanan 1 atm selama 15 menit. Kemudian, alat-alat di oven dengan suhu 100°C. Sebelum pekerjaan dimulai, meja kerja dibersihkan terlebih dahulu agar terhindar dari kontaminasi lingkungan sekitar dengan menggunakan alkohol (Safitri dan Swarastuti, 2013).

3.3.2. Pembuatan Susu Kedelai

Produksi susu kedelai dilakukan dengan memodifikasi prosedur yang telah dijelaskan dalam penelitian sebelumnya (Picauly dkk., 2015). Proses dimulai dengan penyortiran biji kedelai, lalu dicuci sampai bersih. Kemudian, biji kedelai dengan rasio air 1:3 direbus dalam waktu 15 menit. Setelah proses perebusan, biji kedelai disaring untuk memisahkan air rebusan menggunakan saringan. Selanjutnya, biji kedelai direndam dalam air dalam waktu 4-6 jam. Setelah masa perendaman, biji kedelai dibilas dan kulitnya dibuang. Biji kedelai dimasukkan dalam blender, ditambahkan air hangat rasio 1:10 dan dihaluskan. Lakukan penyaringan bubur kedelai encer, lalu ditambahkan gula pasir sebanyak 10% dan dipanaskan sambil diaduk. Susu kedelai yang diperoleh digunakan dalam pembuatan kefir (Widiadita, 2023).

3.3.3. Preparasi Susu Kedelai

Pada susu kedelai dilakukan preparasi yang bertujuan untuk mensterilisasi susu kedelai supaya terhindar dari kontaminasi. Proses preparasi dilakukan melalui

metode pasteurisasi selama 15 detik dengan suhu 70°C (Bayu dkk., 2017). Susu kedelai diambil sebanyak 600 mL untuk dipasteurisasi, lalu dibiarkan pada suhu ruang (Usmiati, 2007).

3.3.4. Pembuatan Kefir Susu Kedelai

Kefir susu kedelai dibuat dengan memasukkan masing-masing 100 mL susu kedelai yang sudah dipasteurisasi ke dalam botol kaca, lalu ditambahkan bibit kefir sebanyak 5%. Fermentasi susu kefir ini dilakukan dengan variasi waktu 24 jam, 36 jam dan 72 jam dalam suhu ruang, lalu dipisahkan antara *curd* dan *whey* kefirnya (Widiadita, 2023). Kemudian, simpan kefir yang sudah dibuat pada suhu 4°C untuk pengujian lebih lanjut (Otles and Cagindi, 2013).

3.3.5. Standarisasi Larutan Standar NaOH

3.3.5.1. Pembuatan Larutan Standar Asam Oksalat 0,1 N

Sedikit akuades digunakan untuk melarutkan 0,63 g asam oksalat ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Setelah itu, dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan akuades sampai tanda batas, lalu homogenkan (Permanasari dkk., 2008).

3.3.5.2. Pembuatan Larutan Standar NaOH 0,1 N

NaOH ditimbang sebanyak 0,4 g, masukkan dalam gelas kimia dan larutkan dengan sedikit akuades. Kemudian, masukkan dalam labu takar 100 mL dan tambahkan akuades sampai tanda batas, homogenkan (Permanasari dkk., 2008).

3.3.5.3. Standarisasi Larutan NaOH

Larutan asam oksalat dipipet sebanyak 10 mL, lalu masukkan dalam Erlenmeyer dan tambahkan 3 tetes indikator pp. Kemudian, ke dalam buret 50 mL diisi larutan NaOH dan lakukan titrasi. Titrasi dihentikan setelah ada perubahan warna menjadi merah muda membayang dan dicatat volume NaOH yang terpakai. Lakukan tiga kali pengulangan dan dihitung konsentrasi larutan NaOH yang sebenarnya (Permanasari dkk., 2008). Adapun persamaan untuk menentukan konsentrasi NaOH adalah:

$$N = \frac{\text{mg}}{\text{BE} \times \text{Fp} \times V}$$

Keterangan :

N = Normalitas larutan NaOH

mg = Berat asam oksalat yang ditimbang

BE = Berat ekivalen asam oksalat

V = Volume larutan NaOH yang digunakan

Faktor pengenceran = 10

3.3.6. Uji Nilai pH

pH dari *curd* dan *whey* kefir susu kedelai diukur menggunakan pH meter dengan mencelupkannya ke dalam *curd* dan *whey* kefir. Sebelum digunakan untuk mengukur, pH meter disesuaikan terlebih dahulu melalui proses kalibrasi menggunakan larutan buffer fosfat dengan pH 4 dan 7, lalu bilas elektrodanya menggunakan akuades dan bilas lagi dengan sampel. Selanjutnya elektroda dicelupkan ke dalam sampel *curd* dan *whey*, ditunggu hingga diperoleh pembacaan yang stabil (SNI 06-6989.11, 2004).

3.3.7. Analisis Total Asam Laktat

Kandungan total asam laktat dalam sampel *curd* dan *whey* kefir susu kedelai menjadi tujuan dari analisis ini. Metode analisis total asam mengacu pada SNI 2981: 2009. Masing-masing 5 gram sampel dilarutkan menggunakan akuades 100 mL. Kemudian, diambil 25 mL sampel yang telah diencerkan dan tambahkan 3 tetes indikator pp. Gunakan larutan NaOH 0,1 N untuk melakukan titrasi sampai diperoleh warna merah muda membayang. Berikut persamaan yang digunakan untuk menghitung total asam laktat:

$$\text{Total asam laktat (\%)} : \frac{V \times N \times 90 \times \text{faktor pengenceran}}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

W = Bobot sampel (mg)

V = Volume larutan NaOH (mL)

N = Normalitas dari larutan NaOH

90 = Bobot yang setara asam laktat

Faktor pengenceran = 4

3.3.8. Analisis Total Bakteri Asam Laktat

Tujuan dari pengujian ini adalah menentukan jumlah total BAL yang ada dalam sampel *curd* dan *whey* kefir susu kedelai. Metode analisis total BAL mengacu pada SNI 2981: 2009.

a. Pembuatan NaCl fisiologis

NaCl sebanyak 0,85 g dimasukkan ke Erlenmeyer berukuran 100 mL, kemudian diencerkan menggunakan akuades hingga tanda batas. Selanjutnya, tutup dengan penyumbat dan dilapisi dengan aluminium foil. Langkah berikutnya melibatkan homogenisasi larutan menggunakan alat *magnetic stirrer*, dan sterilisasi dalam autoklaf pada suhu 120°C dan tekanan 1 atm dalam waktu 15 menit.

b. Pembuatan media pertumbuhan MRSA

MRSA sebanyak 13,64 g dilarutkan ke dalam akuades 200 mL. Larutan kemudian dipanaskan hingga mendidih, kemudian sterilisasi dalam autoklaf pada suhu 120°C dalam waktu 15 menit.

c. Pengenceran sampel *curd* dan *whey* kefir susu kedelai

Sampel *curd* dan *whey* kefir susu kedelai masing-masing sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 9 mL larutan NaCl fisiologis (10^{-1}). Untuk mendapatkan pengenceran 10^{-7} , proses pengenceran diulangi dengan menggunakan pengenceran bertingkat.

d. Pembiakan bakteri (teknik tuang)

Proses ini dilakukan dalam *Laminar Air Flow* (LAF) untuk pembiakan bakteri. Sampel *curd* dan *whey* kefir susu kedelai sebanyak 1 mL (1000 μ L) dari masing-masing pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} dimasukkan ke cawan petri, lalu dituangkan sebanyak 12-15 mL media MRSA, diputar cawan petri membentuk angka 8. Cawan petri dibungkus dengan *wrap* dan diinkubasi dalam waktu 24 jam pada suhu 35°C setelah media agar memadat. Untuk menghindari tetesan air, cawan petri dibalik. Kemudian, digunakan *colony counter* untuk menghitung koloni BAL. Berikut persamaan yang digunakan dalam perhitungan jumlah bakteri:

Jumlah bakteri starter = $n \times F$

n : rata-rata koloni yang ada dalam cawan petri dari satu pengenceran (koloni/g)

F : faktor pengenceran rata-rata koloni yang digunakan.

3.3.9. Pengujian Penurunan Kolesterol secara *In Vitro*

3.3.9.1. Pembuatan Reagen FeCl_3

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 8,4 g ditimbang dan dilarutkan dengan asam asetat glasial sebanyak 100 mL dalam botol gelap (Rudel and Morris dalam Puspitasari, 2014).

3.3.9.2. Pembuatan Larutan Baku Kolesterol

Konsentrasi 1000 ppm larutan baku kolesterol dibuat menggunakan 100 mg serbuk kolesterol yang dilarutkan dalam etanol 95% sebanyak 100 mL di atas *waterbath* pada suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ (Puspitasari, 2014).

3.3.9.3. Pembuatan Kurva Standar

Larutan baku kolesterol 1000 ppm dibuat dalam 5 seri konsentrasi dengan masing-masing diambil sebanyak 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 mL dari larutan baku tersebut, lalu ditambahkan etanol 95% hingga volumenya 5 mL, sehingga konsentrasi yang dihasilkan adalah 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Kemudian, masing-masing ditambahkan dengan reagen 2 mL FeCl_3 , lalu dihomogenkan menggunakan vorteks dan diamkan 10 menit dengan bagian luar tabung ditutupi aluminium foil agar terlindung dari cahaya. Tambahkan 1 mL H_2SO_4 pada masing-masing larutan, lalu dihomogenkan dan diamkan sampai 30 menit, lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang 496 nm (Anggoro dkk., 2022).

3.3.9.4. Pengukuran Kadar Kolesterol

Konsentrasi dari larutan sampel *whey* dan *curd* masing-masing diambil sebanyak 5 mL, lalu ditambahkan 5 mL larutan kolesterol 200 ppm dan homogenkan. Selanjutnya, dilakukan inkubasi dengan suhu 37°C dalam waktu 60 menit, lalu disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Diambil 5 mL supernatan, tambahkan reagen 2 mL FeCl_3 , homogenkan, ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan 10 menit. Lakukan penambahan 1 mL H_2SO_4 , homogenkan dan didiamkan 30 menit. Setelah itu ukur absorbansinya pada panjang gelombang 496 nm. Untuk kontrol negatifnya berupa 5 mL larutan kolesterol konsentrasi 200 ppm ditambahkan dengan 2 mL FeCl_3 dan 1 mL H_2SO_4 (Anggoro dkk., 2022). Perhitungan persentase penurunan kolesterol dapat digunakan persamaan:

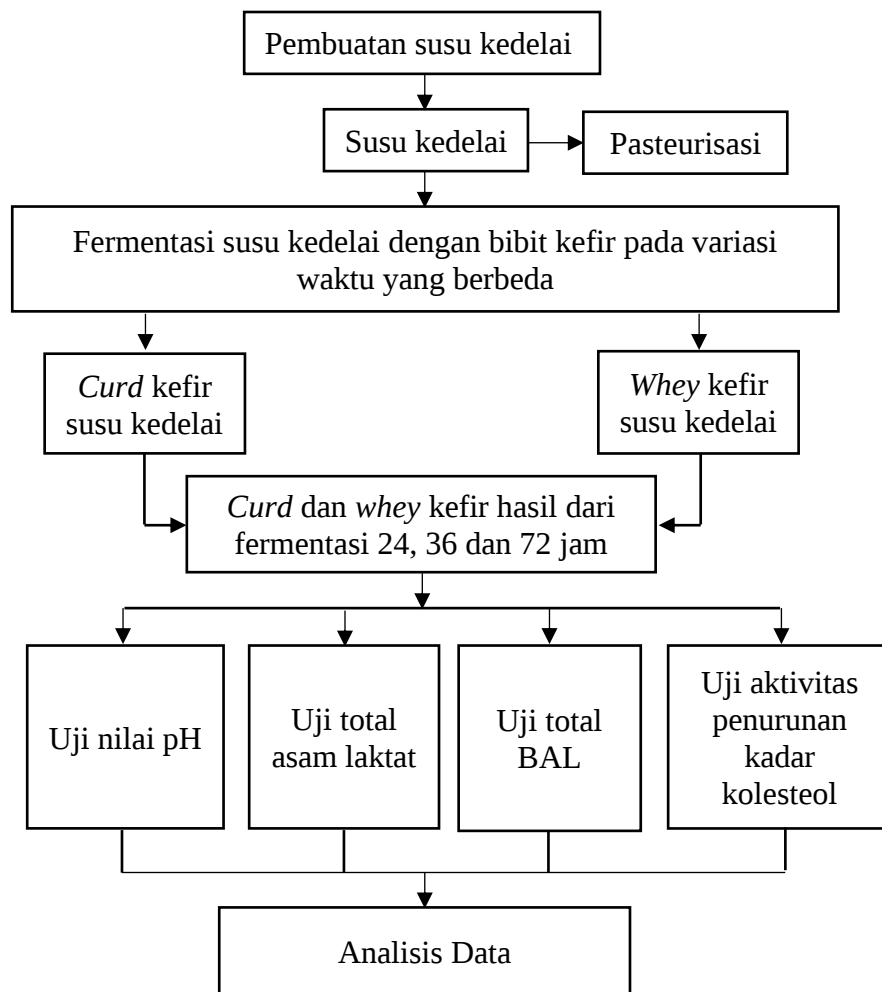
$$A = \frac{C - B}{C} \times 100\%$$

Keterangan:

A = % Penurunan kadar kolesterol

B = Kadar kolesterol akhir

C = Kadar kolesterol awal



Gambar 3. Diagram Alir Penelitian.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Simpulan yang diperoleh dari penelitian ini, sebagai berikut:

1. Variasi waktu fermentasi pada *curd* dan *whey* kefir susu kedelai dapat mempengaruhi nilai pH, total asam laktat dan total bakteri asam laktat. Semakin bertambahnya waktu fermentasi, maka pH akan semakin menurun sedangkan total asam laktat dan total bakteri asam laktat akan semakin meningkat. Hasil uji tersebut juga telah memenuhi standar CODEX STAN 243-2003 sehingga *curd* dan *whey* kefir asal susu kedelai layak untuk dikonsumsi sebagai minuman probiotik.
2. *Curd* dan *whey* kefir susu kedelai dengan waktu fermentasi berbeda yang diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis memiliki potensi dalam menurunkan kadar kolesterol dengan penurunan tertinggi terdapat pada *curd* fermentasi 36 jam dan *whey* fermentasi 24 jam konsentrasi 100 ppm dengan tingkat penurunan masing-masing sebesar 44,05% dan 44,03%.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian, maka disarankan untuk melakukan uji kandungan kadar flavonoid pada kedelai dan mencari metode lain yang dapat meningkatkan penurunan kadar kolesterol. Kemudian, dilanjutkan pengujian secara *in vivo* terhadap hewan coba dengan pemberian kefir susu kedelai, lalu dilakukan pengambilan darah untuk diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis

serta pada manusia sebagai uji klinis mengenai pengaruh konsumsi *curd* dan *whey* kefir susu kedelai dalam menurunkan kadar kolesterol.

DAFTAR PUSTAKA

- Adebayo, T. B., Adegoke, A. A., and Akinjogunla, O. J. 2009. Microbial and physico-chemical quality of powdered soymilk samples in Akwa Ibom, South Southern Nigeria. *Afr. J. Biotechnol.* **8**(13): 3066–3071.
- Adesokan, I. A., Odetoyinbo, B. B., Ekanola, Y. A., Avanrenren, R. E., and Fakorede, S. 2011. Production of nigerian nano using lactic starter cultures. *Pakistan J. Nutrit.* **10**(3): 203–207.
- Adriani, L. 2005. *Bakteri Probiotik Sebagai Starter dan Implikasi Efeknya terhadap Kualitas Yoghurt Ekosistem Saluran Pencernaan dan Biokimia Darah Mencit*. (Disertasi). Universitas Padjajaran. Bandung.
- Ahmed, Z., Wang, Y., Ahmad, A., Khan, S. T., Nisa, M., Ahmad, H., and Afreen, A. 2013. Kefir and health: a contemporary perspective. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **53**(5): 422–434.
- Andika, M. 2019. Pengaruh konsumsi susu kedelai terhadap kolesterol total pada penderita hiperkolesterolemia di wilayah kerja puskesmas lubuk buaya padang. *Menara Ilmu.* **13**(3): 99–105.
- Anggoro, A. B., Rizki, N. I., dan Sulistyowati, E. 2022. Uji aktivitas penurunan kadar kolesterol fraksi etil asetat dan senyawa kuersetin hasil kltp kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) in vitro. *Media Farm. Indones.* **17**(2): 69–74.
- Anggraini, D. I., and Nabillah, L. F. 2018. Activity test of suji leaf extract (*Dracaena angustifolia* Roxb.) on in vitro cholesterol lowering. *KSA.* **21**(2): 54–58.
- Apriliyanto, U., Ulfa, R., dan Harsanti, R. S. 2020. Pengaruh perbedaan konsentrasi gula dan lama waktu proses fermentasi pada karakteristik kefir susu kedelai (*Glycine max*). *JIPANG.* **2**(1): 1–9.
- Aristya, A. L., Legowo, A. M., dan Al-Baarri, A. N. 2013. Karakteristik fisik, kimia, dan mikrobiologis kefir susu kambing dengan penambahan jenis dan konsentrasi gula yang berbeda. *JATP.* **4**(7): 39–47.

- Azhari, B., Luliana, S., dan Robiyanto. 2017. Uji aktivitas antihiperkolesterolemia ekstrak air belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn.) pada pemodelan tikus jantan galung wistar antihiperkolesterolemia. *Trad. Med. J.* **22**(1): 57–62.
- Bahar, B. 2008. *Kefir Minuman Susu Fermentasi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 38-39.
- 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. *JTP.* **1**(2): 33–38.
- Botham, K. M., and Mayes, P. A. 2003. Cholesterol synthesis, transport, and excretion. In *Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P.J., Rodwell, V. W., Weil, P. A. harper's illustrated biochemistry* (30th ed.). The McGraw-Hill Education. New York.
- Bourrie, B. C. T., Benjamin, P. W., and Paul, D. C. 2016. The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir. *Front. Microbiol.* **7**(1): 647–664.
- Burke, R. W., Diamondstone, B. I., Velapoldi, R. A., and Menis, O. 1974. Mechanisms of the liebermann burchard and zak color reactions for cholesterol. *Clin. Chem.* **20**(7): 794–801.
- Cahyono, J. B., dan Suharjo, B. 2008. *Gaya Hidup dan Penyakit Modern* (5th ed.). Kanisius. Yogyakarta.
- Commission, C. A. 2003. *Codex Standard for Fermented Milk: Codex STAN 243*. FAO/WHO Food Standards. 2-3.
- Ebrahim, S., Taylor, F. C., and Brindle, P. 2014. Statins for the primary prevention of cardiovascular disease. *BMJ.* **348**: 1–6.
- Femina. 2021. *Dicari Karena Tingkatkan Imunitas, Apa Itu Minuman Probiotik Kefir?* <https://www.femina.co.id/food-trend/dicari-karena-tingkatkan-imunitas-apa-itu-minuman-probiotik-kefir->. Diakses pada 18 Desember 2022.
- Gulitz, A., Stadie, J., Wenning, M., Ehrmann, M. A., and Vogel, R. F. 2011. The microbial diversity of water kefir. *Int. J. Food Microbiol.* **151**(3): 284–288.
- Haryadi, Nurliana, dan Sugito. 2013. Nilai pH dan jumlah bakteri asam laktat kefir susu kambing setelah difermentasi dengan penambahan gula dengan lama inkubasi yang berbeda. *J. Med. Vet.* **7**(1): 1–4.
- Irawan, A. 2019. Kalibrasi spektrofotometer sebagai penjaminan mutu hasil pengukuran dalam kegiatan penelitian dan pengujian. *Indones. J. Lab.* **1**(2): 1–9.

- Julianto, B., Rossi, E., dan Yusmarini. 2016. Karakteristik kimiawi dan mikrobiologi kefir susu sapi dengan penambahan susu kedelai. *Jom Faperta*. **3**(1): 1–11.
- Koswara, S. 2006. *Teknologi Pengolahan Kedelai : Menjadikan Makanan Bermutu*. Pustaka Sinar Harapan. Bogor.
- Kurniadi, H., dan Nurrahmi, U. 2014. *Penyakit Jantung Koroner, Kolesterol Tinggi, Diabetes Melitus, Hipertensi*. Istana Media. Yogyakarta.
- La Sinurat, R., Ekowati, C. N., and Farisi, S. 2011. On quality of goat milk kefir. *Trop. Anim. Sci. J.* **12**(1): 15–21.
- Layadi, N., Sedyandini, P., Aylianawati, dan Soetaredjo, F. E. 2017. Pengaruh waktu simpan terhadap kualitas soyghurt dengan penambahan gula dan stabiliser. *J. Widya Tek.* **8**(1): 1–11.
- Lengkey, H. A. W., and Balia, R. L. 2014. The effect of starter dosage and fermentation time on pH and lactic acid production. *Biotechnology in Animal Husbandry*. **30**(2): 339–347.
- Lengkey, H. A. W., Siwi, J. A., and Balia, R. L. 2013. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity in commercial fermented products. formations of peptides under. *Agric. Food Chem.* **7**(5): 1505–1510.
- Lindawati, N. Y., dan Ningsih, D. W. 2020. Aktivitas antikolesterol ekstrak etanol buah kiwi hijau (*Actinidia deliciosa*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*. **6**(2): 183–191.
- Liu, J. R., Wang, S. Y., Chen, M. J., Chen, H. L., Yueh, P. Y., and Lin, C. W. 2006. Hypocholesterolaemic effects of milk-kefir and soyamilk-kefir in cholesterol-fed hamsters. *Brit. J. Nutr.* **95**(5): 939–946.
- Madureira, A. R., Tavares, T., and Gomes, A. M. 2010. Invited review: physiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins. *J. Dairy Sci.* **93**: 437–455.
- Magalhães, K. T., Pereira, G. V. d. M., Campos, C. R., Dragone, G., and Schwan, R. F. 2011. Brazilian kefir: structure, microbial communities and chemical composition. *Braz. J. Microbiol.* **42**(2): 693–702.
- Maidin, A. N., Natsir, H., and Dali, S. 2017. Enzymatic production of chitosan from waste of rajungan crab shell and it's application in cholesterol reduction by in vitro test. *Indonesia Chimica Acta*. **10**(1): 25–34.
- Miao, J., Guo, H., Ou, Y., Liu, G., Fang, X., Liao, Z., Ke, C., Chen, Y., Zhao, L., and Cao, Y. 2014. Purification and characterization of bacteriocin f1, a novel

- bacteriocin produced by *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* fx-6 from tibetan kefir, a traditional fermented milk from Tibet, China. *Food Control*. **42**: 48–53.
- Mijayani, P. C. 2008. *Pembuatan Kefir Susu Kacang Hijau (Phaseolus radiate L.) Kajian Pengaruh Konsentrasi Susu Skim dan Lama Fermentasi terhadap Parameter Fisik, Kimia dan Organoleptik*. (Skripsi). Universitas Brawijaya. Malang. 59.
- National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and T. of H. B. C. in A. (Adult T. P. I. III). 2002. Third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel iii) final report. *Circulation*. **106**(25): 3143–3421.
- Nihayah, I. 2015. *Pengaruh Konsentrasi Starter terhadap Kualitas Kefir Susu Sapi dan Pemanfaatannya Sebagai Penurun Kadar Kolesterol Darah Mencit (Mus musculus)*. (Skripsi). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. 60-62.
- Nur, H. 2003. *Uji In Vitro Penurunan Kadar Kolesterol oleh Sari Kedelai dari Beberapa Varietas Kedelai Putih (Glycine max (L) Merrill) Hasil Fermentasi Lactobacillus casei subsp casei R-35 dan Streptococcus thermophilus*. (Skripsi). Universitas Hasanuddin. Makassar. 45.
- Nuraida, L., Siti, W., Hana, dan Endang, P. 2011. Evaluasi in vitro terhadap kemampuan isolat bakteri asam laktat asal air susu ibu untuk mengasimilasi kolesterol dan mengdekonjugasi garam empedu. *JTIP*. **22**(1): 46–52.
- Otles, S., and Cagindi, O. 2013. Kefir a probiotics dairy composition nutritional therapeutic aspect. *Pak. J. Nutr.* **63**(1): 3–14.
- Permanasari, A., Suryatna, A., Dwiyantri, F. M. B., Supriyatun, T., dan Omay. 2008. *Praktikum Kimia 1 : Titrasi Volumetri*. Universitas Terbuka. Jakarta. 5-8.
- Picauly, P., Talahatu, J., dan Mailoa, M. 2015. Pengaruh penambahan air pada pengolahan susu kedelai. *J. Teknol. Pertan.* **4**(1): 8–13.
- Pratama, S. E., dan Probosari, E. 2012. Pengaruh pemberian kefir susu sapi terhadap kadar kolesterol LDL tikus jantan sprague dawley hiperkolesterolemia. *J. Nutr. Coll.* **1**(1): 358–364.
- Puniya, A. K. 2015. *Fermented Milk and Dairy Products*. CRC Press, Boca Raton FL. USA. 16-17.
- Puspitasari, M. 2014. *Efek Iradiasi Gamma terhadap Aktivitas Anti Inflamasi Kitosan Secara In Vitro*. (Skripsi). Uin Syarif Hidayatullah. Jakarta. 24.

- Rohman, A. R., Dwiloka, B., dan Rizqiati, H. 2019. Pengaruh lama fermentasi terhadap total asam, total bakteri asam laktat, total khamir dan mutu hedonik kefir air kelapa hijau (*Cocos nucifera*). *JTP*. **3**(1): 127–133.
- Rosiana, E., Nurliana, dan Armansyah, T. 2013. Kadar asam laktat dan derajat asam kefir susu kambing yang difermentasi dengan penambahan gula dan lama inkubasi yang berbeda. *J. Med. Vet.* **7**(2): 87-90.
- Rossi, E., Hamzah, F., dan Febriyani. 2016. Perbandingan susu kambing dan susu kedelai dalam pembuatan kefir. *JPI*. **18**(1): 13–20.
- Rudel, L. L., and Morris, M. D. 1973. Determination of cholesterol using o-phthalaldehyde. *J. Lipid Res.* **14**(3): 364–366.
- Rusdhi, A., Siswoyo, P., dan Adelia, T. 2023. Uji kualitas kimia kefir dari imbalanced susu kambing dan susu sapi dengan lama fermentasi yang berbeda. *J. Pharm. Sci.* **6**(4): 1626–1634.
- Safitri, M. F., dan Swarastuti, A. 2013. Kualitas kefir berdasarkan konsentrasi kefir grain. *JATP*. **2**(2): 87–92.
- Schnurer, J., and Magnusson, J. 2005. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends Food Sci. Technol.* **16**(1): 70–78.
- Setyawardani, T., and Sumarmono, J. 2015. Chemical microbiological characteristics of goat milk kefir during storage under different temperatures. *JITAA*. **40**(3): 183–188.
- Shahibu, M. 2002. *Uji In Vitro Penurunan Kadar Kolesterol Oleh Sari Kedelai Hasil Fermentasi Lactobacillus casei subsp. casei R-35 dan Streptococcus thermophilus (Soyghurt) pada Beberapa Waktu Inkubasi*. (Skripsi). Universitas Hasanuddin. Makassar. 40-41.
- Slattery, C., Cotter, P. D., and O'Toole, P. W. 2019. Analysis of health benefits conferred by lactobacillus species from kefir. *Nutrients*. **11**(6): 1–24.
- SNI 06-6989. 1. 2004. *Metode Uji Derajat Keasaman (pH)*. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta. 1-2.
- SNI 2897. 2008. *Metode Pengujian Cemaran Mikroba dalam Daging, Telur dan Susu, serta Hasil Olahannya*. Pusat Standarisasi Industri Departemen Perindustrian. Jakarta. 2-3.
- SNI 01-2981. 2009. *Yoghurt*. Pusat Standarisasi Industri Departemen Perindustrian. Jakarta. 18-49.

- Suharto, E. L. S., Kurnia, Y. F., dan Purwati, E. 2021. Total bakteri asam laktat, total plate count, dan total asam tertitrasi pada susu kambing fermentasi dengan penambahan sari wortel selama penyimpanan dingin. *JPI*. **23**(2): 102–107.
- Suriasih, K., Aryanta, W. R., Mahardika, G., and Astawa, N. M. 2012. Microbiological and chemical properties of kefir made of bali cattle milk. *J. Food Sci. and Quality Management*. **6**: 12–22.
- Susanti, dan Utami, S. 2014. Pengaruh lama fermentasi terhadap kandungan protein susu kefir sebagai bahan penyusun petunjuk praktikum mata kuliah biokimia. *JB&P*. **1**(1): 41–46.
- Susilorini, T. E. 2007. *Produk Olahan Susu*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sutioso, H. 2012. *Pemanfaatan Pektin yang Diisolasi dari Daun Jambu Biji (Psidium guajava) dalam Uji In Vitro dan In Vivo Penurunan Kadar Kolesterol*. (Skripsi). Universitas Indonesia. Depok. 39-40.
- Swart, A. C., Johannes, I. D., Sathyapalan, T., and Atkin, S. L. 2019. The effect of soy isoflavones on steroid metabolism. *Front. Endocrinol*. **10**: 1–29.
- Takahashi, R., Ohmori, R., Kiyose, C., Momiyama, Y., Ohsuzu, F., and Kondo, K. 2005. Antioxidant activities of black and yellow soybeans against low density lipoprotein oxidant. *J. Agr. Food Chem*. **53**(11): 4578–4582.
- Triana, A. N., Setyawardani, T., dan Sumarmono, J. 2022. Pengaruh jenis susu pada pH, total asam dan warna kefir tradisional. *JAST*. **4**(1): 15–25.
- Triwibowo, B., Wicaksono, R., Antika, Y., Ermi, S., Jarmiati, A., Setiadi¹, A. A., and Syahriar, R. 2020. The effect of kefir grain concentration and fermentation duration on characteristics of cow milk-based kefir. *J. Phys. Conf. Ser*. **1444**(8): 1–6.
- Usmiati, S. 2007. Kefir, susu fermentasi dengan rasa menyegarkan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. **29**(2): 12–14.
- WHO. 2021. *Cardiovascular Diseases (CVDs)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). Diakses pada 18 Desember 2022.
- Widiadita, Y. 2023. *Karakteristik Fisikokimia, Mikrobiologi dan Sifat Organoleptik Minuman Probiotik Kefir Berbahan Baku Susu Sapi dan Susu Kedelai serta Uji Aktivitas Antibakteri*. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung. 20-47.
- Widodo, H. S., Astuti, T. Y., dan Soedianto, P. 2019. Perbandingan Dampak Laktosa dan Mineral terhadap Berat Jenis Susu Sapi dan Kambing di

Kabupaten Banyumas. *Prosiding Seminar Nasional dan Call For Papers: Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan IX*. 75–80.

Wijaningsih, W. 2008. *Aktivitas Antibakteri In Vitro dan Sifat Kimia Kefir Susu Kacang Hijau (Vigna radiata) oleh Pengaruh Jumlah Starter dan Lama Fermentasi*. (Tesis). Universitas Diponogoro. Semarang. 92.

Wulandari, R. L., Susilowati, S., dan Asih, M. 2015. Pengaruh kombinasi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan simvastatin terhadap kadar kolesterol total dan low density lipoprotein (LDL) tikus yang diinduksi pakan tinggi lemak. *JFFK*. **12**: 24–32.

Xie, N., Cui, Y., Yin, Y. N., Zhao, X., Yang, J. W., Wang, Z. G., Fu, N., Tang, Y., Wang, X. H., Liu, X. W., Wang, C. L., and Lu, F. G. 2011. Effects of two lactobacillus strains on lipid metabolism and intestinal microflora in rats fed a high-cholesterol diet. *BMC Complement. Altern. Med.* **11**(53): 1–11.

Yanlinastuti, dan Fatimah, S. 2016. Pengaruh konsentrasi pelarut untuk menentukan paduan u-zr dengan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis. *JTBN*. **9**(17): 22–33.

Yusriah, N. H., dan Agustini, R. 2014. Pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi bibit kefir terhadap mutu kefir susu sapi. *J. Chem.* **2**(3): 53–57.

Yusuf, D., Nuraida, L., Hariyadi, R. D., and Hunaefi, D. 2019. In vitro characterization of lactic acid bacteria from indonesian kefir grains as probiotics with cholesterol-lowering effect. *J. Microbiol. Biotechnol.* **30**(5): 726–732.