
STANDARDISASI MIKROBIOLOGI KEFIR DARI SUSU KAMBING DAN SUSU SAPI

Yola Desnera Putri, Nur Asni Setiani*, Yudyana Ayuningtyas, Ledianasari
Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Jl. Soekarno-Hatta No. 354, 40266, Bandung, Indonesia
*Email: nur.asni@stfi.ac.id

Received: 24 Juli 2020; Revised: 24 Juli 2020; Accepted: 28 Agustus 2020; Available online: 31 Agustus 2020

ABSTRACT

Kefir is a probiotic that has health benefit and widely used as a cosmetic ingredient. This study aims to standardize the microbiological parameters of goat milk and cow milk kefir. Fermentation was conducted by adding 5% kefir starter to pasteurized goat's milk and cow's milk then incubated at 25°C and 37°C for 24 hours. The parameters observed were macroscopic of colonies, gram staining, microscopic of cells, and the determination of the number of lactic acid bacteria (LAB) and yeast using a Total Plate Count method. Gram staining indicated gram-positive bacteria. The results of total plate count showed the number of LAB in goat milk in the amount of 1.96×10^7 and yeast 1.51×10^7 , whereas in cow's milk LAB obtained in the amount of 2.01×10^7 and yeast 2.21×10^7 . These results indicate the total BAL and yeast accordance with Codex Stan 234-2003 standards for fermented milk.

Keywords: Kefir, goat milk, cow milk, lactic acid bacteria, yeast

ABSTRAK

Kefir merupakan probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan dan banyak digunakan sebagai bahan kosmetik. Penelitian ini bertujuan melakukan standarisasi parameter mikrobiologi dari kefir susu kambing dan susu sapi. Fermentasi dilakukan dengan menambahkan 5% starter kefir pada susu kambing dan susu sapi yang telah dipasteurisasi kemudian diinkubasi pada suhu 25°C dan 37°C selama 24 jam. Pengamatan yang dilakukan berupa makroskopis koloni, pewarnaan gram, mikroskopis sel, serta penentuan jumlah bakteri asam laktat (BAL) dan khamir menggunakan Total Plate Count. Pewarnaan gram menunjukkan bakteri gram positif. Hasil perhitungan angka lempeng total menunjukkan jumlah BAL dalam susu kambing sebanyak $1,96 \times 10^7$ dan khamir $1,51 \times 10^7$, sedangkan dalam susu sapi didapat BAL sebanyak $2,01 \times 10^7$ dan khamir $2,21 \times 10^7$. Hasil tersebut menunjukkan total BAL dan khamir memenuhi standar Codex Stan 234-2003 untuk susu fermentasi.

Kata kunci: Kefir, susu kambing, susu sapi, BAL, khamir.

PENDAHULUAN

Fermentasi didefinisikan sebagai proses pembentukan produk dengan menguraikan substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan mikroorganisme [1]. Substrat yang banyak digunakan dalam fermentasi salah satunya adalah susu yang memiliki kandungan air, gula, protein, dan lemak. Selain itu, susu juga merupakan sumber kalsium, fosfor, dan vitamin A. Produk fermentasi susu sangat beragam tergantung pada jenis mikroorganisme yang digunakan.

Kefir merupakan produk fermentasi susu yang menggunakan campuran bakteri asam laktat dan khamir. Kefir memiliki kelebihan dibandingkan susu segar karena kandungan probiotik dan masa simpan yang lebih lama. Kandungan probiotik memiliki khasiat bagi kesehatan sedangkan asam yang dihasilkan mampu menghambat tumbuhnya mikroorganisme patogen [2]. Selain itu, asam laktat serta senyawa lain yang dihasilkan dari proses fermentasi dapat memberi aroma, rasa, dan tekstur yang khas [3].

Kefir dapat dibuat dari berbagai macam susu seperti susu sapi, susu kambing atau domba, santan, susu beras dan susu kedelai. Namun, yang sering digunakan dalam pembuatan kefir adalah susu sapi dan susu kambing [4]. Laktosa yang terkandung di dalam susu sapi dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk menghasilkan asam laktat [5], sedangkan pada susu kambing memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dengan kandungan laktosa yang lebih sedikit sehingga dapat dikonsumsi oleh penderita lactose intolerance. Lemak susu kambing juga lebih mudah dicerna karena globula berukuran kecil [6].

Indikator kualitas mikrobiologi kefir dan produk fermentasi susu dapat dilihat pada Codex Stan 243-2003 terkait jumlah total bakteri minimal 10^7 cfu/gram dan khamir minimal 10^4 cfu/gram. Penelitian ini dilakukan untuk membuat kefir dari susu sapi dan susu kambing yang memenuhi persyaratan mikrobiologi sesuai standar CODEX STAN 243-2003 sehingga dapat digunakan dalam pembuatan produk kosmetik.

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian antara lain *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf (*My Life*[®]), inkubator (*Memmert*[®]), *colony counter* (*Rocker*) neraca analitik (*Henherr*[®]), *micropipette* (*Dragonlab*), mikroskop, dan alat-alat gelas standar yang ada di laboratorium.

Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah susu sapi (KBPS Pangalengan), susu kambing (Manglayang Agrobisnis), dan kefir *grains*. Media yang digunakan MRS agar (*DeMan Rogosa Sharpe Agar*) (Oxoid) dan SDA (*Saboraud Dextrose Agar*) (Oxoid). Bahan lainnya berupa akuades, larutan fisiologis NaCl 0,9%, alkohol 70%, reagen pewarnaan gram dan metilen biru.

Pembuatan Kefir Susu Sapi dan Susu Kambing

Susu sapi dan susu kambing dipasteurisasi pada suhu 63°C selama 30 menit, kemudian didinginkan sampai mencapai suhu 30°C. Sebanyak 5% kefir *grains* ditambahkan pada susu yang telah dipasteurisasi, diaduk rata, dan dibagi ke dalam beberapa wadah. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 25°C selama 24 jam. Ketika sudah terbentuk koagulan, dilakukan penyaringan sehingga diperoleh kefir segar [4].

Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Asam Laktat dan Koloni Khamir

Diinokulasikan masing-masing satu ose dari sampel kefir ke media MRSa (*DeMan Rogosa Sharpe Agar*) dan media SDA (*Saboraud Dextrose Agar*) dengan metode gores, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, diamati morfologi koloni yang tumbuh, meliputi: bentuk koloni, ukuran koloni [7].

Pengamatan Morfologi Sel Bakteri Asam Laktat dan Sel Khamir

Kaca objek dibersihkan dengan alkohol, kemudian dibuat apusan bakteri dan khamir dari sampel kefir. Pada pengamatan sel bakteri, pada preparat yang sudah kering dilakukan pewarnaan gram dengan tahapan : ditetesi kristal violet dan diamkan selama 1 menit, dibilas dengan akuades, ditetesi lugol dan diamkan selama 1 menit, dibilas dengan alkohol 96% 1-5 tetes, dibilas dengan akuades, ditambahkan fuchsin dan diamkan selama 1 menit, dan dibilas dengan akuades. Pada pengamatan sel khamir, pada preparat yang sudah kering dilakukan pewarnaan metilen biru. Sel bakteri dan khamir hasil pewarnaan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 10, 40, dan 100 [8,9].

Penentuan Angka Lempeng Total Bakteri Asam Laktat dan Khamir

Penentuan angka lempeng total dilakukan dengan metode tuang (*pour plate*). Sebanyak 1 mL sampel kefir dipipet, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL larutan fisiologis (0,9% NaCl) sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} . Dilakukan hal yang sama hingga pengenceran 10^{-7} . Diambil tiga pengenceran terakhir (10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}) masing-masing 1 mL untuk dimasukkan ke dalam cawan petri, lalu ditambahkan media MRS (*DeMan Rogosa Sharpe Agar*) untuk perhitungan bakteri dan media SDA (*Saboraud Dextrose Agar*). Cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 24-48 jam pada suhu 37°C dalam keadaan terbalik. Koloni BAL dan khamir yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter* dan dimasukkan ke dalam persamaan 1 [10].

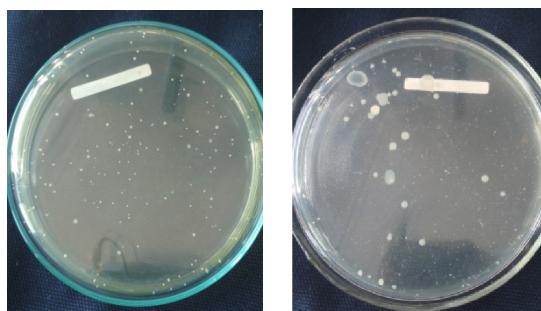
$$ALT = \frac{\sum c}{(n1 \times 1) + (n2 \times 0,1) + (n3 \times 0,01) \times d} \quad (1)$$

Keterangan : $\sum c$ = jumlah koloni, $n1$ = jumlah koloni cawan 1, $n2$ = jumlah koloni cawan 2, $n3$ = jumlah koloni cawan 3, d = faktor pengenceran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

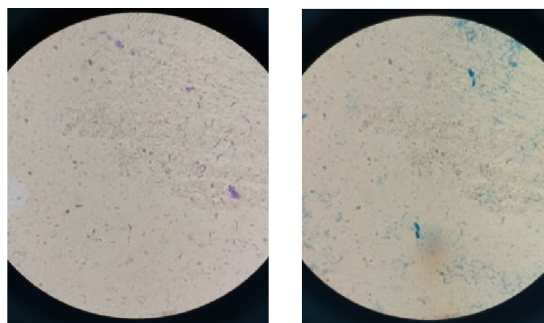
Kefir susu sapi dan susu kambing terbentuk setelah inkubasi 24jam. Pada saat inkubasi, terjadi fermentasi asam laktat oleh bakteri dan khamir yang terdapat dalam *starter*. Bakteri asam laktat (BAL) memproduksi asam laktat yang menurunkan pH lingkungan sehingga rasanya menjadi asam, sedangkan khamir berperan dalam membentuk rasa, aroma, dan konsistensi tekstur [7].

Berdasarkan pengamatan morfologi koloni bakteri asam laktat dan khamir secara makroskopik pada Gambar 1, terlihat bentuk koloni bakteri asam laktat berbeda dengan bentuk koloni khamir. Hasil pengamatan koloni bakteri asam laktat berbentuk bulat, berukuran kecil dan sedang, berwarna putih dan putih transparan. Hasil pengamatan koloni khamir berbentuk bulat dan bulat dengan tepian yang menyebar, berukuran sedang dan besar, berwarna krem dan putih transparan. Perbedaan secara makroskopik dapat terlihat dari ukurannya. Hasil membuktikan bahwa proses fermentasi kefir terjadi karena adanya kombinasi bakteri asam laktat dan khamir pada *grain*.



Gambar 1. Pengamatan koloni (makroskopik) bakteri asam laktat (a) dan khamir (b)

Hasil pengamatan mikroskopik pada Gambar 2 menunjukkan bakteri gram positif berwarna ungu dan berbentuk batang. Hasil tersebut tergolong bakteri asam laktat karena bakteri asam laktat merupakan gram positif berbentuk bulat atau batang. Pengamatan mikroskopik khamir menggunakan metilen biru bertujuan untuk membedakan antara sel khamir yang hidup dan yang mati dengan cara masuk kedalam membran sel khamir [9]. Hasil pengamatan mikroskopik ini positif adanya khamir ditandai dengan sel berwarna biru. Hasil ini mengindikasikan bahwa adanya khamir didalam sediaan kefir.



Gambar 2. Pengamatan sel (mikroskopik) perbesaran 100X bakteri asam laktat (a) dan khamir (b)

Pada penelitian ini, perhitungan jumlah mikroba dilakukan dengan menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT), menghitung jumlah koloni yang tumbuh dalam cawan petri. Cawan

yang dipilih untuk menghitung koloni adalah cawan yang mengandung antara 30 - 300 koloni [11]. Pentingnya pengujian ini dilakukan mengingat salah satu syarat bakteri probiotik adalah keberadaan bakteri dalam jumlah tertentu yang tahan terhadap keadaan lambung [12].

Hasil pengujian yang telah dilakukan dapat dilihat pada Tabel 1, pada kefir susu kambing diketahui hasil rata-rata bakteri asam laktat (BAL) sebanyak $1,96 \times 10^7$ dan khamir $1,51 \times 10^7$, sedangkan dalam susu sapi didapat BAL sebanyak $2,01 \times 10^7$ dan khamir $2,21 \times 10^7$. Berdasarkan hasil tersebut bahwa total bakteri asam laktat dan khamir dalam kefir susu kambing masuk ke dalam rentang CODEX yaitu untuk bakteri asam laktat minimal 10^7 dan khamir minimal 10^4 .

Tabel 1. Hasil Pengujian Angka Lempeng Total

Substrat	Bakteri Asam Laktat	Khamir
Susu sapi	$2,01 \times 10^7$	$2,25 \times 10^7$
Susu kambing	$1,96 \times 10^7$	$1,51 \times 10^7$

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian pewarnaan gram menunjukkan jenis gram positif berbentuk batang dan positif adanya khamir dengan ditunjukkannya sel berwarna biru. Hasil pengujian total bakteri dan khamir memenuhi standar Codex Stan 234-2003.

DAFTAR PUSTAKA

- Suprihatin. (2010) Teknologi Fermentasi, Surabaya, UNESA Press.
- Zakaria Y, Novita C.I, dan Delima, M. (2010) Keamanan Susu Fermentasi yang Beredar di Banda Aceh Berdasarkan Nilai Gizi Jumlah Bakteri Patogen. *Jurnal Agripet* 10(1): 32-33.
- Gianti, I., dan Evanuraini, H. (2011) Pengaruh Penambahan Gula dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Susu Fermentasi. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak* 6(1): 28-29.
- Otles Semih and Ozem Cagindi (2003) Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. *Pakistan Journal Of Nutrition* 2(2): 54- 59.
- Suhartanti, D., Iqbal, M. (2014) Perbandingan Aktivitas Antibakteri Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kambing Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal EKOSAINS*. 6(1): 1-2.
- Sawitri, Manik Eirry (2011) Kajian Konsentrasi Kefir Grain dan Lama Simpan dalam Refrigerator Terhadap Kualitas Kimiawi Kefir Rendah Lemak. *Jurnal Ilmu- ilmu Peternakan* 21(1): 23-28.
- Mahendri, K (2018) Keanekaragaman Bakteri Asam Laktat dan Khamir Pada Kefir Susu Sapi dan Kefir Susu Kedelai. *Skripsi*. Universitas Lampung, Jurusan Biologi.
- Zamilah, N (2012) Identifikasi dan Pencirian Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor, Jurusan Departemen Kimia.
- Suryaningsih, V., Ferniah, R.S. dan Kusdiyantini, E. (2018) Karakteristik Morfologi, Biokimia, dan Molekuler Isolat Khamir IK-2 Hasil Isolasi dari Jus Buah Sirsak (*Annona muricata L.*). *Jurnal Biologi* 7(1): 18-25.
- Atma, Y. (2016) Angka Lempeng Total (ALT), Angka Paling Mungkin (APM), dan Total Kapang Khamir Sebagai Metode Analisis Sederhana Untuk Menentukan Standar Mikrobiologi Pangan Olahan Posdaya. *Jurnal Teknologi* 8(2): 78-80.
- Trinanda, M.A. (2015) Studi Aktivitas Bakteri Asam Laktat Terhadap Kadar Protein Melalui Penambahan Tepung Kedelai Pada Bubur Instan Terfermentasi. *Skripsi*. Universitas Negeri Yogyakarta, Jurusan Pendidikan Kimia.
- Hilyaturrufaedah, A.I. (2017) Optimasi Suhu Dalam Pembuatan Kefir Susu Sapi dan Uji Aktivitas Antibakterinya Sebagai Minuman Probiotik. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah, Jurusan Farmasi.