



PENGARUH WAKTU INOKULASI BAKTERI *Lactobacillus plantarum* DAD-13 SEBAGAI STARTER PADA PEMBUATAN PRODUK KEFIR PROBIOTIK

Zulkarnaen¹, Husnita Komalasarini^{1*}, Ine Karni², Kartika Gemma Pravatri¹, Muhammad Nizhar Naufali¹, Destiana Adinda Putri¹, Endang Sutriswati Rahayu³

¹Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Bumigora, Indonesia

²Program Studi Peternakan, Universitas Mataram, Indonesia

³Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Indonesia

2101070004@universitasbumigora.ac.id¹, husnita@universitasbumigora.ac.id^{1*}, inekarni@unram.ac.id², kartika@universitasbumigora.ac.id¹, Nizhar@universitasbumigora.ac.id¹, destiana_adindap@universitasbumigora.ac.id¹, endangsrhayu@ugm.ac.id³

Article Info	
<p>Article History Received : 01 June 2024 Accepted : 01 June 2024 Online : 01 June 2024</p> <p>Kata kunci: Bakteri Asam Laktat; Indigenous; Kefir; Probiotik;</p>	<p>Abstrak: Kefir merupakan produk pangan olahan susu yang dihasilkan dari proses fermentasi oleh bakteri asam laktat tertentu. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana pengaruh waktu inokulasi bakteri probiotik indigenous <i>Lactobacillus plantarum</i> DAD-13 sebagai starter pada pembuatan produk kefir probiotik. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan acak lengkap faktor tunggal yaitu 2 perlakuan, 1 kontrol dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang dilakukan adalah inokulasi bakteri secara bertahap dan bersama dengan grain kefir. Sedangkan perlakuan kontrol yaitu tanpa penambahan bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i> DAD-13. Data di analisis menggunakan analisis keragaman dan uji lanjut dunnet pada taraf signifikansi 5% menggunakan software SPSS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pengaruh penggunaan bakteri indigenous yang signifikan terhadap parameter warna L* dan viskositas. Perbedaan waktu inokulasi bakteri memberikan hasil yang signifikan terhadap warna a*, b* dan °Hue. Pada pengujian total mikroba terdapat perbedaan jumlah total mikroba yang semakin meningkat, kecuali jamur yang tidak tumbuh pada kefir yang diberi perlakuan. Perlakuan terbaik pada penelitian ini yaitu dengan penggunaan bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i> DAD-13 sebagai starter dengan waktu inokulasi bersama dengan nilai rendemen grain kefir (12,35 gram), TPT (10°brix), warna L* (83,29), a* (-0,12), b* (11,10), °Hue (-89,38), viskositas (19,73 mPa.s), pH (4,64), total khamir (8x10⁸ CFU/ml), dan total bakteri asam laktat (4,2x10⁸ CFU/ml).</p>
<p>Keywords Lactic Acid Bacteria; Indigenous; Kefir; Probiotics;</p>	<p>Abstract: Kefir is a dairy food product produced from a fermentation process by certain lactic acid bacteria. The aimed of this research is to find out how the inoculation time of the indigenous probiotic bacteria as a starter influences the production of probiotic kefir products. This research used an experimental method with a single factor completely randomized design, with 2 treatments, 1 control and 3 replication. The treatment was bacterial inoculation in gradual and joint-inoculation with kefir grains. Meanwhile, the control treatment was without the addition of indigenous bacteria. Data were analyzed using diversity analysis and Dunnet's advanced test at a significance level of 5% using SPSS software. The results showed that there was a significant effect of using the bacteria <i>Lactobacillus plantarum</i> DAD-13 on the color parameters L* and viscosity. The difference in bacterial inoculation time gave significant results on the colors a*, b* and °Hue. In the total microbial test, there were differences in the total number of microbes which increased, except for fungi which did</p>

not grow on the treated kefir. The best treatment in this study was the used of *Lactobacillus plantarum* DAD-13 bacteria as a starter with joint-inoculation who had grain yield (12.35 grams), TDS (10°brix), color *L (83.29), *a (-0, 12), *b (11.10), °Hue (-89.38), viscosity (19.73 mPa.s), pH (4.64), total yeast (8×10^8 CFU/ml), and total lactic acid bacteria (4.2×10^8 CFU/ml).

Support by:



This is an open access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license

A. PENDAHULUAN

Kefir merupakan salah satu produk pangan hasil pengolahan secara fermentasi dengan bibit atau grain kefir tertentu. Menurut Aryanta, (2021) kefir berasal dari wilayah pegunungan Kaukasus utara, Rusia. Kata kefir berasal dari bahasa turki yaitu “Keif” yang memiliki arti perasaan senang. Kefir dibagi menjadi beberapa jenis berdasarkan bahan bakunya yaitu kefir susu, kefir air, kefir krim dan kefir santan. Kefir susu merupakan kefir yang menggunakan susu sebagai bahan baku. Jenis susu yang umumnya digunakan adalah susu hewani dan nabati meliputi susu sapi, kambing, domba, kedelai dan almond.

Kefir susu diproduksi menggunakan bahan yang sederhana yaitu susu dan bibit atau *grain* kefir. Adapun cara pembuatan kefir susu yaitu dengan menambahkan *grain* kefir ke dalam susu untuk selanjutnya di fermentasi pada suhu ruang selama 24 jam. Grain kefir terdiri dari bakteri asam laktat ragi dan matriks polisakarida. Selama proses fermentasi, mikroorganisme tersebut akan mengubah laktosa menjadi asam laktat sehingga akan menghasilkan rasa asam dan berkarbonasi ringan. Karakteristik kefir mirip dengan produk yoghurt yaitu memiliki rasa dan aroma yang asam, warna putih susu, dan tekstur yang agak kental (Komalasari & Wahyu Krisna Yoga, 2022; Sadewi, 2019).

Bibit atau *grain* kefir memiliki warna kekuningan pucat mendekati warna putih. Mikroorganisme yang terdapat pada bibit kefir meliputi *Streptococcus*, Sp; *Lactobacillus*, sp; *Bifidobacterium*; *Acetobacter* serta beberapa jenis jamur dan khamir non-patogen seperti *Saccharomyces cereviceae* (Sadewi, 2019). Masing-masing mikroorganisme memiliki perannya masing-masing seperti bakteri asam laktat yang berperan dalam mengubah laktosa menjadi asam laktat dan menentukan komponen flavournya, sedangkan khamir berperan dalam menghasilkan gas karbondioksida dan sedikit alkohol.

Pengolahan dengan fermentasi melibatkan makhluk hidup sehingga keberhasilan dari pengolahan ini dipengaruhi oleh berbagai faktor meliputi strain mikroorganisme, oksigen, suhu, kelembaban, pH dan lama fermentasi (Rahmawati et al., 2024). Seiring dengan perkembangan teknologi yang semakin maju, penelitian dengan tujuan untuk meningkatkan kualitas produk kefir telah banyak dilakukan. Salah satunya dengan mengidentifikasi mikroorganisme probiotik yang terkandung pada produk kefir. Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup, dapat memberikan efek kesehatan pada inangnya (Komalasari et al., 2024). Adapun beberapa jenis mikroorganisme yang memiliki potensi sebagai probiotik yang berhasil di isolasi dari produk kefir yaitu *Lactobacillus* (Golowczyk et al., 2011; John & Deeseenthum, 2015; Sabir et al., 2010; Zheng et al., 2013), *Lactobacillus paracasei* (Plessas et al., 2020; Romero-Luna et al., 2020), *Lactobacillus rhamnosus* (You et al., 2005), *Kluyveromyces lactis* dan *Saccharomyces unisporus* (Gut et al., 2019), *Kluyveromyces marxianus* dan *Saccharomyces cereviceae* (Diosma et al., 2014), *Lactococcus* spp. dan *Pediococcus* spp. (Sabir et al., 2010).

Salah satu strain bakteri probiotik lokal yaitu *Lactobacillus plantarum* DAD-13 telah beberapa kali diteliti perannya dalam pembuatan berbagai produk hasil fermentasi. Adapun produk yang telah diteliti dan dikembangkan yaitu cokelat, keju dan yoghurt.

Penggunaan bakteri tersebut dapat menghasilkan produk dengan karakteristik mutu yang baik dan memiliki manfaat bagi kesehatan seperti memperbaiki keragaman *gut microbiota* (Komalasari et al., 2024). Dalam penelitian ini bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 akan ditambahkan sebagai starter pada pembuatan kefir susu. Namun menurut Komalasari et al., (2024) waktu inokulasi dapat mempengaruhi kualitas produk fermentasi, yaitu fermentasi bersama antara starter utama yoghurt dan *Lactobacillus plantarum* DAD-13 menghasilkan produk yoghurt dengan kualitas yang lebih baik dibandingkan inokulasi bertahap. Hal ini didukung oleh (Tari et al., 2016) yaitu pada pembuatan yoghurt, bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 ditambahkan di awal proses pembuatan atau sebelum yoghurt terbentuk. Namun menurut Putro et al., (2020) bakteri probiotik *Lactobacillus casei* diinokulasikan setelah produk yoghurt terbentuk. Oleh karena itu penelitian ini perlu untuk dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh penggunaan dan waktu inokulasi bakteri probiotik indigenous *Lactobacillus plantarum* DAD-13 sebagai starter pada pembuatan produk kefir probiotik.

B. METODE PELAKSANAAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol kaca, tisu, karet, viscometer NDJ-5S, refractometer, colorimeter MSEZ user manual, pH meter, batang pengaduk, cawan petri, mikropipet, gelas ukur, plastik, pipet, inkubator, timbangan analitik, susu UHT *full cream*, grain kefir, *Lactobacillus plantarum* DAD-13, media *potato dextrose agar* (PDA), media *de man rogosa sharpe agar* (MRSA), larutan buffer, kapas, kain gelap dan saringan.

Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan yaitu eksperimental yang dilaksanakan di laboratorium Rekayasa Proses dan Pengolahan Pangan, Universitas Bumigora pada bulan Mei tahun 2024. Adapun rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap faktor tunggal yang terdiri dari 1 kontrol, 2 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu waktu inokulasi bakteri probiotik *Lactobacillus plantarum* DAD-13. Sampel kontrol merupakan produk kefir susu tanpa penambahan bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 yang diberi kode K. sedangkan sampel lainnya diberikan tambahan bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 yang diinokulasi pada waktu yang berbeda yaitu di tengah proses fermentasi yang diberikan kode BTP (fermentasi bertahap) dan di awal proses fermentasi yang diberikan kode BSA (fermentasi bersama). Data di analisis menggunakan ANOVA dan uji lanjut dunnet pada taraf 5% dengan menggunakan software SPSS.

Pelaksanaan penelitian

Penelitian ini dilaksanakan melalui beberapa tahap yaitu persiapan alat dan bahan, pembuatan kefir susu sesuai perlakuan dan analisis hasil pengamatan. Tahap pertama yaitu persiapan alat dan bahan, semua alat yang digunakan berasal dari laboratorium Rekayasa dan Pengolahan Pangan, Universitas Bumigora. Adapun bahan yang digunakan yaitu susu UHT *full cream* dengan merek INDOMILK, bibit kefir dari rumah kefir Indisa, dan bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 dengan viabilitas sel 3×10^9 CFU/g dari Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada.

Kode K atau kontrol merupakan kefir susu yang diproduksi dengan cara mencampurkan 200 ml susu dan 5% bibit kefir kemudian di inkubasi pada suhu 30°C selama 15 jam, selanjutnya di aduk serta diinkubasi Kembali selama 9 jam dan sampel siap untuk di analisis. Kode sampel BTP atau fermentasi bertahap merupakan kefir yang diproduksi dengan cara mencampurkan 200 ml susu dan 5% bibit kefir kemudian di

inkubasi pada suhu 30°C selama 15 jam, selanjutnya di tambahkan 2 gram bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 kemudian di aduk serta di inkubasi Kembali selama 9 jam dan sampel siap untuk di analisis. Kode sampel BSA atau fermentasi bersama merupakan kefir yang diproduksi dengan cara mencampurkan 200 ml susu, 5% bibit kefir dan 2 gram bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13, kemudian di inkubasi pada suhu 30°C selama 15 jam, selanjutnya di aduk serta diinkubasi kembali selama 9 jam dan sampel siap untuk di analisis.

Analisis karakteristik mutu yang dilakukan yaitu analisis rendemen bibit kefir dengan cara menghitung berat bibit kefir sebelum dan setelah fermentasi. Total padatan terlarut di analisis dengan cara membersihkan refractometer menggunakan alcohol dan melakukan percobaan pengujian menggunakan akuades, apabila menunjukkan nilai TPT 0°brix, selanjutnya dibersihkan dan dilakukan pengujian dengan sampel uji (Bayu et al., 2017). Pengujian warna dilakukan menggunakan alat colorimeter (Komalasari et al., 2024), viskositas diukur menggunakan alat *viscometer* NDJ-5S menggunakan rotor nomer 2 dengan kecepatan 60 rpm (Wibawanti & Rinawidiastuti, 2018), pH menggunakan pH meter (Komalasari et al., 2024). Pengujian total mikroba khususnya jamur dan khamir dilakukan dengan cara menumbuhkan sampel yang sudah diencerkan dengan buffer fosfat hingga 10^7 . 3 pengenceran terakhir yaitu 10^5 sampai 10^7 yang ditumbuhkan pada media PDA menggunakan metode tuang dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Pengujian total mikroba khususnya bakteri asam laktat dilakukan dengan cara menumbuhkan sampel yang sudah diencerkan dengan buffer fosfat hingga 10^7 . 3 pengenceran terakhir yaitu 10^5 sampai 10^7 yang ditumbuhkan pada media MRSA menggunakan metode sebar dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam.

C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis karakteristik mutu yang dilakukan pada penelitian ini meliputi karakteristik mutu atau sifat fisikokimia dan mikrobiologis produk kefir. Adapun hasil pengamatan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan pengaruh waktu inokulasi bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 terhadap karakteristik mutu produk kefir probiotik

Parameter	K	BTP	BSA
Rendemen bibit (g)	11,25	12,23	12,35
Total Padatan Terlarut (°brix)	10	10	10
Warna			
L*	82,64 ^{bB}	83,27 ^a	83,29 ^A
a*	-0,48 ^B	-0,3	-0,12 ^A
b*	10,84 ^B	10,86	11,10 ^A
°Hue	-87,46 ^B	-88,42	-89,38 ^A
Viskositas (mPa.s)	16,03 ^{bB}	29,27 ^a	19,73 ^A
pH	4,71	4,68	4,64
Total mikroba (CFU/ml)			
Media PDA			
Jamur	$2,4 \times 10^7$	$3,8 \times 10^8$	8×10^8
Khamir`	5×10^6	0	0
Media MRSA	$8,7 \times 10^8$	$9,6 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada taraf nyata 5%

Rendemen bibit kefir

Rendemen bibit kefir merupakan jumlah bibit kefir yang dihasilkan setelah proses fermentasi dibandingkan dengan jumlah awal bibit kefir yang digunakan sebelum fermentasi. Rendemen ini perlu untuk di analisis untuk memberikan gambaran tentang produktivitas dan efisiensi proses fermentasi. Berdasarkan data pada Tabel 1 diketahui bahwa perlakuan waktu inokulasi memberikan pengaruh yang tidak signifikan terhadap parameter rendemen bibit. Jumlah bibit yang digunakan di awal fermentasi adalah 5% atau 10 gram, dan setelah fermentasi meningkat 12,5% menjadi 11,25 gram pada sampel K, meningkat 22,3% menjadi 12,23 gram pada sampel BTP dan meningkat 23,5% menjadi 12,35 gram pada sampel BSA. Diketahui bahwa penambahan bakteri probiotik mampu meningkatkan rendemen bibit kefir yang dihasilkan setelah proses fermentasi walaupun peningkatan tersebut tidak signifikan secara statistik. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Sulmiyati et al., (2018) yang melaporkan bahwa biji kefir yang ditumbuhkan pada media susu segar selama 20 jam mengalami kenaikan massa biji kefir hingga 25%. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Lengkey & Balia, (2014) bahwa bibit kefir mengalami peningkatan berat setelah proses fermentasi. Peningkatan rendemen bibit atau *grain* kefir setelah fermentasi ini dapat disebabkan karena adanya pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme pada *grain* kefir yaitu bakteri, khamir dan kapang. Proses tersebut merupakan proses pertumbuhan sel karena mikroorganisme menggunakan susu sebagai medium fermentasi untuk berkembang biak dan memperbanyak diri. Seiring berjalannya waktu, jumlah mikroorganisme dalam biji kefir akan meningkat yang selanjutnya menyebabkan peningkatan ukuran dan volume biji. Selain itu selama fermentasi, mikroorganisme akan menghasilkan eksopolisakarida (EPS) yang merupakan matriks polisakarida yaitu salah satu komponen pada grain kefir selain bakteri, kapang dan khamir. EPS memberikan kerangka fisik yang menyatukan berbagai mikroorganisme yang terdapat dalam grain kefir, serta menciptakan ekosistem yang stabil dan memungkinkan fermentasi yang efektif.

Total padatan terlarut

Total padatan terlarut (TPT) merupakan padatan-padatan yang memiliki ukuran lebih kecil dari padatan tersuspensi. TPT terdiri atas zat organik, garam anorganik dan gas terlarut yang terdapat dalam suatu larutan (Komalasari et al., 2024). Berdasarkan data pada Tabel 1 diketahui bahwa perlakuan waktu inokulasi memberikan pengaruh yang tidak signifikan terhadap parameter total padatan terlarut. Diketahui bahwa nilai TPT dari produk kefir yaitu 10°brix. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian lainnya oleh Bayu et al., (2017) sebesar 4,8-8,9°brix dan (Pratiwi et al., 2022) sebesar 1,80 -10,09°brix. Sampai saat ini belum terdapat aturan terkait SNI dari total padatan terlarut dari kefir susu, namun merujuk dari produk sejenis yaitu produk yoghurt yang memiliki standar SNI total padatan terlarut minimal 8,2%, sehingga jumlah TPT pada penelitian ini sudah sesuai SNI. TPT merupakan angka yang memberikan informasi tentang jumlah gula, vitamin, protein, asam-asam organik dan pigmen terutama kandungan laktosa. Menurut Rizqiati et al., (2023) dan Sholicah et al., (2019) peningkatan jumlah starter dan mikroorganisme akan berpengaruh terhadap semakin rendahnya TPT karena laktosa dan protein akan dipecah menjadi asam laktat dan asam amino selama fermentasi.

Warna

Warna merupakan salah satu atribut pangan yang penting dan krusial yang dapat menjadi salah satu indikator kualitas produk. Warna dapat menjadi salah satu pilihan yang digunakan konsumen untuk menentukan produk yang akan dibeli. Berdasarkan

data pada Tabel 1 diketahui bahwa penggunaan bakteri probiotik memberikan pengaruh yang signifikan terhadap parameter L^* . Selain itu perbedaan waktu inokulasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap parameter L^* , a^* , b^* dan $^{\circ}\text{Hue}$.

Nilai L^* merupakan parameter yang menunjukkan tingkat kecerahan warna produk. Nilai L^* berada pada rentang 0-100, dengan nilai 0 menunjukkan warna hitam dan nilai 100 menunjukkan warna putih. Semakin tinggi nilai L^* maka semakin cerah warna yang dihasilkan (Desy et al., 2020). Data pada tabel 1 menunjukkan nilai L^* pada sampel kontrol yaitu 82,64, sedangkan pada sampel sampel BTP dan BSA masing-masing adalah 83,27 dan 83,29. Nilai L^* pada penelitian ini mendekati 100 yang menunjukkan warna produk kefir menuju ke warna putih. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Isty et al., (2023) yang melaporkan bahwa nilai L^* kefir susu sapi sebesar 65,24. Diketahui bahwa penggunaan bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 mampu meningkatkan nilai L^* produk kefir probiotik. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Komalasari et al., (2024) yang memproduksi yoghurt dari bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 dengan peningkatan warna L^* dari kontrol 88,67 menjadi 89,57.

Nilai a^* merupakan parameter yang menunjukkan warna koordinasi antara merah dan hijau. Nilai a^* rentang positif menunjukkan warna merah dan negatif warna hijau. Data pada tabel 1 menunjukkan nilai a^* pada sampel kontrol yaitu -0,48, sedangkan pada sampel sampel BTP dan BSA masing-masing adalah -0,3 dan -0,12. Nilai a^* pada penelitian ini negatif yang menunjukkan warna produk kefir menuju ke warna hijau. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Isty et al., (2023) yang melaporkan bahwa nilai a^* kefir susu sapi sebesar -2,08. Diketahui bahwa penggunaan bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 khususnya BSA mampu meningkatkan nilai a^* produk kefir probiotik secara signifikan. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Komalasari et al., (2024) yang memproduksi yoghurt dari bakteri probiotik *Lactobacillus plantarum* DAD-13 dengan peningkatan warna a^* dari kontrol sebesar 2,52 menjadi 3,89.

Nilai b^* merupakan parameter yang menunjukkan warna kormatik campuran kuning dan biru. Nilai b^* rentang positif menunjukkan warna biru dan rentang negatif menunjukkan warna kuning. Data pada tabel 1 menunjukkan nilai b^* pada sampel kontrol yaitu 10,84, sedangkan pada sampel sampel BTP dan BSA masing-masing adalah 10,86 dan 11,10. Nilai b^* pada penelitian ini positif yang menunjukkan warna produk kefir menuju ke warna biru. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Isty et al., (2023) yang melaporkan bahwa nilai b^* kefir susu sapi sebesar 8,40. Diketahui bahwa penggunaan bakteri probiotik mampu meningkatkan nilai b^* produk kefir probiotik, khususnya sampel BSA yang meningkat secara signifikan.

Nilai $^{\circ}\text{Hue}$ merupakan parameter yang menunjukkan warna sebenarnya dari suatu bahan atau produk pangan. Data pada tabel 1 menunjukkan nilai $^{\circ}\text{Hue}$ pada sampel kontrol yaitu -87,46, sedangkan pada sampel sampel BTP dan BSA masing-masing adalah -88,42 dan -89,38. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Isty et al., (2023) yang melaporkan bahwa nilai $^{\circ}\text{Hue}$ kefir susu sapi sebesar -71,57. Diketahui bahwa penggunaan bakteri probiotik mampu menurunkan nilai $^{\circ}\text{Hue}$ produk kefir probiotik, khususnya sampel BSA yang menurun secara signifikan. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Komalasari et al., (2024) yang memproduksi yoghurt dari bakteri probiotik *Lactobacillus plantarum* DAD-13 dengan penurunan warna $^{\circ}\text{Hue}$ dari kontrol sebesar 33,59 menjadi 19,59.

Tingginya nilai L^* pada sampel kefir yang ditambahkan *Lactobacillus plantarum* DAD-13 menunjukkan warna yang lebih cerah atau menuju putih. Menurut (Burton et al., 2014) inokulasi bakteri probiotik pada produk dapat meningkatkan derajat keputihan. Tari et al., (2016) juga menyatakan bahwa *Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* dapat menghasilkan yoghurt yang lebih cerah. Adapun faktor yang menyebabkan

bakteri memiliki pengaruh terhadap warna produk yaitu karena adanya aktivitas enzimatik, pengaruh mikrobiologis, dan kombinasi kultur. Penggunaan bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 dapat meningkatkan aktivitas beberapa enzim seperti lipase dan protease yang mempengaruhi sifat fisikokimia produk termasuk warna (Komalasari et al., 2024).

Viskositas

Viskositas merupakan ukuran kekentalan atau ketebalan suatu cairan atau fluida. Semakin kental tekstur suatu fluida maka semakin tinggi nilai viskositasnya (Komalasari et al., 2024). Berdasarkan data pada Tabel 1 diketahui bahwa perlakuan waktu inokulasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap parameter viskositas. Jumlah viskositas pada sampel kontrol yaitu 16,03 mPa.s, sedangkan pada sampel BTP dan BSA masing-masing sebesar 29,27 mPa.s dan 19,73 mPa.s. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Tarihoran et al., (2022) dengan viskositas kefir susu kerbau sebesar 8,30-15,08 cp. Rotor atau spindel yang digunakan adalah nomer 2, karena dengan spindel nomer 1 tidak terdeteksi.

Diketahui bahwa penggunaan bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 mampu meningkatkan nilai viskositas produk kefir probiotik. Hal ini didukung oleh pernyataan (Komalasari et al., 2024) bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* dapat menghasilkan eksopolisakarida atau EPS. EPS merupakan makromolekul yang tersusun atas residu monosakarida dan turunannya yang memiliki fungsi sebagai penstabil dan konsentrat alami yang menjadi faktor penting terhadap sifat fisikokimia produk. Pada produk kefir, EPS mempengaruhi tekstur dan viskositas yaitu semakin meningkat karena EPS dapat membantu pembentukan matriks gel yang memberikan konsistensi kental pada produk kefir. Selain itu EPS juga mempengaruhi stabilitas kefir dengan mencegah terjadinya sineresis yaitu pemisahan serum dari gel. Faktornya yaitu lebih rendahnya pH pada sampel kefir dengan tambahan *Lactobacillus plantarum* DAD-13 dibandingkan sampel control. Hal ini juga mampu mempengaruhi viskositas kefir yang semakin meningkat.

pH

Derajat keasman (pH) merupakan ukuran keasman atau kebasan suatu bahan atau produk pangan. pH merupakan konsentrasi ion H⁺ yang mengindikasikan jumlah asam terdisosiasi. Semakin besar jumlah asam maka semakin besar konsentrasi ion H⁺ yang menyebabkan nilai pH lebih rendah. Berdasarkan data pada Tabel 1 diketahui bahwa perlakuan waktu inokulasi memberikan pengaruh yang tidak signifikan terhadap parameter pH. Jumlah pH pada sampel kontrol yaitu 4,71, sedangkan pada sampel BTP dan BSA masing-masing sebesar 4,68 mPa.s dan 4,64 mPa.s. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian (Rizqiati et al., 2023) yang melaporkan bahwa nilai pH kefir whey dari susu kambing sebesar 4,52-4,71, serta penelitian (Tarihoran et al., 2022) dengan nilai pH kefir susu kerbau sebesar 3,95-4,73.

Dari tabel 1 diketahui bahwa penggunaan bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 cenderung menurunkan nilai pH produk kefir. Teori ini didukung oleh (Rofidah et al., 2020; Sutedjo & Nisa, 2015) yang menyatakan bahwa selama fermentasi, BAL akan melakukan pemecahan terhadap gula dari susu atau laktosa menjadi asam-asam organik yang menyebabkan terakumulasinya asam sehingga akan meningkatkan jumlah ion H⁺ yang menyebabkan nilai pH turun. Nilai pH yang rendah dapat mempengaruhi viskositas produk karena pada pH rendah kasein akan larut yang menyebabkan adanya interaksi hidrofobik antar misel kasein sehingga membentuk struktur dan meningkatkan viskositas. Selain itu karena pH rendah maka akan terjadi agregasi, agregat dengan ukuran besar yang terbentuk akan saling berikatan hingga membentuk jaringan yang dapat meningkatkan konsistensi produk.

Total mikroba

Total plate count merupakan metode pengujian mikrobiologis yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroorganisme yang terdapat pada suatu sampel. Pada penelitian ini dilakukan pengujian total mikroba menggunakan metode TPC untuk mengetahui jumlah mikroba yang terdapat pada sampel kefir probiotik. Adapun media yang digunakan adalah PDA untuk kapang dan khamir serta MRSA untuk bakteri asam laktat. Berdasarkan data pada Tabel 1 diketahui bahwa perlakuan waktu inokulasi memiliki jumlah khamir yang lebih tinggi dibandingkan sampel kontrol. Adapun jumlah koloni khamir sebesar $2,4 \times 10^7$ CFU/ml pada sampel kontrol dan masing-masing $3,8 \times 10^8$ CFU/ml dan 8×10^8 CFU/ml pada sampel BTP dan BSA. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian Merla et al., (2018) yang melaporkan bahwa total khamir kefir susu sebesar $6,78 \times 10^6$ CFU/ml atau 6,83 log CFU/ml. Total khamir pada penelitian ini sudah sesuai dengan CODEX 2003 yaitu minimal 10^4 CFU/ml (Rohmah & Estiasih, 2018). Dari Tabel 1 diketahui bahwa total khamir lebih rendah dibandingkan dengan total BAL. Hal ini dapat disebabkan karena khamir hanya mampu menggunakan glukosa hasil pemecahan laktosa susu sebagai nutrisi untuk tumbuh dan berkembang. Sedangkan bakteri dapat menggunakan laktosa sebagai sumber energi untuk pertumbuhannya. Selain itu BAL dari kelompok bakteri gram-positif yang tidak membentuk spora dapat memfermentasi karbohidrat untuk menghasilkan asam laktat.

Berdasarkan data pada Tabel 1 diketahui bahwa penggunaan bakteri probiotik berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur pada media PDA yaitu tidak adanya jamur yang tumbuh. Adapun jumlah jamur yang tumbuh pada media kontrol sebesar 5×10^6 CFU/ml. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu komposisi awal mikroba yaitu kefir mengandung kultur starter yang dominan terdiri atas bakteri asam laktat dan tidak termasuk khamir dan kapang. Selain itu kondisi lingkungan seperti pH yang asam dengan rentang 4,2-4,6, sehingga menciptakan lingkungan yang kurang mendukung untuk pertumbuhan jamur.

Berdasarkan data pada Tabel 1 diketahui bahwa perlakuan BTP memiliki jumlah BAL yang lebih tinggi dibandingkan sampel kontrol dan BSA. Adapun jumlah koloni BAL pada sampel kontrol sebesar $8,7 \times 10^8$ CFU/ml atau 8,94 log CFU /ml dan pada sampel BTP dan BSA masing-masing $9,6 \times 10^8$ CFU/ml atau 8,98 log CFU /ml dan $4,2 \times 10^8$ CFU/ml atau 8,62 log CFU/ml. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian (Lindawati, 2018) yang melaporkan bahwa total BAL kefir susu sebesar $2,81 \times 10^7$ CFU/ml atau 7,45 log CFU/ml. Tingginya jumlah BAL yang tumbuh pada kefir dapat disebabkan karena *Lactobacillus plantarum* DAD-13 yang ditambahkan juga termasuk bakteri asam laktat dengan viabilitas sel 3×10^9 CFU/gram. Faktor lainnya yaitu kondisi nutrisi yang mendukung, lingkungan fermentasi yang optimal, serta simbiosis dengan mikroorganisme lain.

D. SIMPULAN DAN SARAN

Kefir merupakan salah satu minuman olahan susu yang bermanfaat bagi kesehatan. Diketahui bahwa penambahan probiotik dan waktu inokulasi bakteri *Lactobacillus plantarum* DAD-13 dapat mempengaruhi karakteristik mutu produk kefir susu. Adapun karakteristik mutu tersebut meliputi warna L*, a*, b*, °hue, viskositas dan total jamur. Adapun perlakuan terbaik pada penelitian ini yaitu sampel BSA atau fermentasi bersama dengan nilai rendemen bibit kefir (12,35 gram), TPT (10°brix), warna L* (83,29), a* (-0,12), b* (11,10), °Hue (-89,38), viskositas (19,73 mPa.s), pH (4,64), total khamir (8×10^8 CFU/ml), dan total bakteri asam laktat ($4,2 \times 10^8$ CFU/ml).

DAFTAR RUJUKAN

- Aryanta, I. W. R. (2021). Kefir dan Manfaatnya Bagi Kesehatan. *Widya Kesehatan*, 3(1). <https://doi.org/10.32795/widyakesehatan.v3i1.1657>
- Bayu, M. K., Rizqiati, H., & Nurwantoro, N. (2017). Analisis Total Padatan Terlarut, Keasaman, Kadar Lemak, dan Tingkat Viskositas pada Kefir Optima dengan Lama Fermentasi yang Berbeda. *Jurnal Teknologi Pangan*, 1(2). <https://doi.org/10.14710/jtp.2017.17468>
- Burton, E., Arief, I. I., & Taufik, E. (2014). FORMULASI YOGHURT PROBIOTIK KARBONASI DAN POTENSI SIFAT FUNGSIONALNYA Functional propertties of carbonated probiotic yogurt. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, 2(1), 213–218.
- Desy, I., Siagian, N., & Bintoro, V. P. (2020). Karakteristik Fisik, Kimia dan Organoleptik Teh Celup Daun Tin dengan Penambahan Daun Stevia (Stevia Rbaudiana Bertoni) sebagai Pemanis. *Jurnal Teknologi Pangan*, 4(1).
- Diosma, G., Romanin, D. E., Rey-Burusco, M. F., Londero, A., & Garrote, G. L. (2014). Yeasts from kefir grains: Isolation, identification, and probiotic characterization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(1). <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1419-9>
- Isty, G. M. N., Setyawardani, T., & Sumarmono, J. (2023). Karakteristik Fisik dan Sensori Kefir Susu Sapi yang Diperkaya dengan Ekstrak Beras Hitam. *JURNAL TRITON*, 14(2). <https://doi.org/10.47687/jt.v14i2.447>
- Golowczyc, M. A., Silva, J., Teixeira, P., De Antoni, G. L., & Abraham, A. G. (2011). Cellular injuries of spray-dried Lactobacillus spp. isolated from kefir and their impact on probiotic properties. *International Journal of Food Microbiology*, 144(3). <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.11.005>
- Gut, A. M., Vasiljevic, T., Yeager, T., & Donkor, O. N. (2019). Characterization of yeasts isolated from traditional kefir grains for potential probiotic properties. *Journal of Functional Foods*, 58. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.04.046>
- John, S. M., & Deeseenthum, S. (2015). Properties and benefits of kefir - A review. In *Songklanakarin Journal of Science and Technology* (Vol. 37, Issue 3).
- Komalasari, H., Karni, I., Heldiyanti, R., Arianto, A. R., & Rahayu, E. S. (2024). Pengaruh Waktu Inokulasi Bakteri Probiotik Indigenous Lactobacillus plantarum DAD-13 terhadap Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Yoghurt Drink. *JITIPARI*, 9(1), 67–78. <https://doi.org/10.33061/jitipari.v9i1.10121>
- Komalasari, H., & Wahyu Krisna Yoga. (2022). Potensi Bakteri Probiotik Indigenous Lactobacillus Plantarum Dad-13 Sebagai Starter Pada Pembuatan Yoghurt Fungsional: Kajian Pustaka. *Food Scientia: Journal of Food Science and Technology*, 2(2), 199–217. <https://doi.org/10.33830/fsj.v2i2.3694.2022>
- Lengkey, H. A. W., & Balia, R. L. (2014). The effect of starter dosage and fermentation time on pH and lactic acid production. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 30(2). <https://doi.org/10.2298/bah1402339l>
- Lindawati, S. A. (2018). Inhibition activities of angiotensin converting enzyme and amino acid kefir whey profile of skim milk fermented by kefir grains. *International Research Journal of Engineering, IT & Scientific Research*. <https://doi.org/10.21744/irjeis.v4n5.287>
- Merla, P., Periadnadi, & Nurmiati. (2018). Keberadaan Mikroba Pemfermentasi pada Minuman Kefir Air Susu Kambing Etawa Existence of Fermentation Microbe in Kefir Etawa Goat Milk. *The Journal of Ecology*, 5(2).
- Plessas, S., Kiouisi, D. E., Rathosi, M., Alexopoulos, A., Kourkoutas, Y., Mantzourani, I., Galanis, A., & Bezirtzoglou, E. (2020). Isolation of a lactobacillus paracasei strain with probiotic attributes from kefir grains. *Biomedicines*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/biomedicines8120594>
- Pratiwi, E. F., Rizqiati, H., & Nurwantoro, N. (2022). Total Padatan Terlarut, Total Asam, CO2, Total Bakteri Asam Laktat, dan Organoleptik Water Kefir Semangka dengan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda. *Jurnal Teknologi Pangan*, 6(2). <https://doi.org/10.14710/jtp.2022.24161>
- Putro, H. S., Rara, F. L., Abharina, R., & Refdinal, N. (2020). Pengaruh Penambahan Bakteri Lactobacillus casei dan Bakteri Zymomonas mobilis terhadap Aktivitas Antioksidan pada Yogurt. *Akta Kimindo*, 5(1), 22–32.
- Rahmawati, Kuliahsari, D. E., Rusliana, E., Saleh, M., Putri, D. A., Pamujiati, A. D., Nurhayati, Puspitojati, E., Kurniawati, E., Komalasari, H., Chaniago, R., Fadhila, P. T., Subaktilah, Y., Nurhasanah, S., & Budaraga, I. K. (2024). *Teknologi Pengolahan dan Hasil Pertanian* (M. Afridon, Ed.). CV HEI PUBLISHING INDONESIA.

- Rizqiati, H., Nurwantoro, Prayitno, E., & Angelina, V. (2023). The Effect of Various Concentrations of Kefir Grains on Buffalo Colostrum Kefir's Microbiological, Physicochemical and Sensory Properties. *International Journal of Agriculture and Biology*, 30(1). <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.2054>
- Rofidah, E., Rohajati, U., & Wibowomoto, B. (2020). Minuman Fermentasi Whey Dangke Dengan Penambahan Sari Apel, Analisis Karakteristik Keasaman, Total Bakteri Asam Laktat, dan Mutu Organoleptik. *FT UNY*, 15(1).
- Rohmah, F., & Estiasih, T. (2018). Perubahan Karakteristik Kefir Selama Penyimpanan : Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 6(3), 30–36. <https://doi.org/10.21776/ub.jpa.2018.006.03.4>
- Romero-Luna, H. E., Peredo-Lovillo, A., Hernández-Mendoza, A., Hernández-Sánchez, H., Cauich-Sánchez, P. I., Ribas-Aparicio, R. M., & Dávila-Ortiz, G. (2020). Probiotic Potential of *Lactobacillus paracasei* CT12 Isolated from Water Kefir Grains (Tibicos). *Current Microbiology*, 77(10). <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02016-0>
- Sabir, F., Beyatli, Y., Cokmus, C., & Onal-Darilmaz, D. (2010). Assessment of Potential Probiotic Properties of *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., and *Pediococcus* spp. Strains Isolated from Kefir. *Journal of Food Science*, 75(9). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01855.x>
- Sadewi, S. M. (2019). Optimasi Produksi Minuman Probiotik Kefir Berbahan Baku Kolostrum Sapi. In *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Sholicah, K., Bintoro, V. P., & Rizqiati, H. (2019). Analisis karakteristik kefir optima dengan menggunakan bibit praktis terhadap nilai ph, total bal, total padatan terlarut dan organoleptik. *Teknologi Pangan*, 3(2).
- Sulmiyati, S., Said, N. S., Fahrodi, D. U., Malaka, R., & Fatma, F. (2018). Perbandingan Kualitas Fisiokimia Kefir Susu Kambing dengan Kefir Susu Sapi (COMPARISON OF PHYSIOCHEMICAL QUALITY OF GOAT MILK KEFIR WITH COW MILK KEFIR). *Jurnal Veteriner*, 19(2). <https://doi.org/10.19087/jveteriner.2018.19.2.263>
- Sutedjo, K. S. D., & Nisa, F. C. (2015). Konsentrasi Sari Belimbing (*Averrhoa carambola* L) dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Fisiko-Kimia dan Mikrobiologi Yoghurt. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(2).
- Tari, N., Intan, A., Handayani, C. B., & Sudarmi, S. (2016). POTENSI PROBIOTIK INDIGENUS *Lactobacillus plantarum* Dad 13 PADA YOGURT DENGAN SUPLEMENTASI EKSTRAK UBI JALAR UNGU UNTUK PENURUN DIARE DAN RADIKAL BEBAS. *Jurnal Agritech*, 36(01). <https://doi.org/10.22146/agritech.10677>
- Tarihoran, W. C., Hintono, A., & Rizqiati, H. (2022). Total BAL, Viskositas, pH dan Padatan Terlarut Kefir Susu Kerbau Dengan Pemberian Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 10(4), 187–193. <https://doi.org/10.21776/ub.jpa.2022.010.04.1>
- Wibawanti, J. M. W., & Rinawidiastuti, R. (2018). Sifat Fisik dan Organoleptik Yogurt Drink Susu Kambing dengan Penambahan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Hasil Ternak*, 13(1), 27–37. <https://doi.org/10.21776/ub.jitek.2018.013.01.3>
- You, S., Cho, J.-K., Hwang, S., & Heo, K. (2005). Probiotic Characteristics of *Lactobacillus rhamnosus* Isolated from Kefir. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.*, 25(3), 357–364.
- Zheng, Y., Lu, Y., Wang, J., Yang, L., Pan, C., & Huang, Y. (2013). Probiotic Properties of *Lactobacillus* Strains Isolated from Tibetan Kefir Grains. *PLoS ONE*, 8(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069868>