

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Susu Kerbau

Susu kerbau merupakan susu yang sangat bagus untuk digunakan sebagai bahan baku olahan susu, karena kadar lemak yang tinggi terutama kerbau tipe sungai dan pada umumnya susu kerbau dimanfaatkan sebagai bahan makanan seperti dadih (Sepriadi *et al.*, 2012). Susu kerbau mengandung banyak nutrisi yang baik bagi manusia. Hasil penelitian Han *et al.* (2012) menunjukkan bahwa susu kerbau mengandung lemak berkisar antara 7-8%, protein 4,2-4,6% dan mineral seperti Ca 92%, Fe 38%, P 118% dan kandungan vitamin A lebih tinggi dari susu sapi serta kandungan kolesterol lebih rendah yaitu 0,65 mg/g dari susu sapi sedangkan susu sapi mengandung lemak 4%, protein 3,5% dan mineral 3,14 mg/g. Hal tersebut menunjukkan bahwa susu kerbau lebih baik daripada susu sapi. Susu kerbau merupakan makanan sehat karena mengandung berbagai protein protectors yang berfungsi sebagai zat bioprotektif. Protein-protein tersebut berfungsi sebagai pelindung dari berbagai penyakit dan untuk perbaikan sel yang rusak seperti imunoglobulin berperan sebagai pembunuh bakteri penyebab penyakit pada manusia dan laktoferin berfungsi sebagai antibakteri, antiinflamasi, mencegah infeksi pada usus, dan berperan dalam sekresi sistem kekebalan (Mantodang dan Talib, 2015).

Susu kerbau memiliki kandungan padatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan sapi. Susu kerbau lebih kental dibanding susu sapi yang disebabkan susu

kerbau mengandung 16% bahan padat sedangkan bahan padat pada susu sapi hanya 12% bahan padat (Mantodang dan Thalib, 2015). Susu kerbau banyak digunakan sebagai bahan makanan tradisional dan bahan pangan fungsional yang bermanfaat bagi manusia. Pengolahan susu kerbau dapat dimanfaatkan dalam pengolahan produk tradisional seperti dadih dan dapat dijadikan sebagai produk yogurt atau kefir (Putra *et al.*, 2011).

## 2.2. Kefir

Kefir merupakan salah satu pangan fungsional yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia. Kefir memiliki rasa dan warna yang menyerupai yoghurt yang mengandung bakteri asam laktat dan memiliki aroma alkohol sebab mengandung yeast yang mengakibatkan kefir sebagai pangan fungsional. Kefir adalah susu yang dibuat dan difermentasi oleh sejumlah mikroba yaitu bakteri penghasil asam laktat (BAL), bakteri penghasil asam asetat dan khamir (*yeast*) (Aristya *et al.*, 2013). Kualitas kefir dapat dipengaruhi oleh jenis dan jumlah *kefir grain* serta bahan utama yang digunakan pada pembuatan kefir. Kefir umumnya dibuat dari susu seperti susu sapi, domba maupun kambing, tetapi susu nabati seperti susu kedelai juga dapat dibuat menjadi kefir (Rossi *et al.*, 2016). Susu yang difermentasi akan menghasilkan dua lapisan yaitu lapisan padatan (*curd*) dan lapisan bening atau cairan (*whey*). Kedua lapisan yang bercampur menjadi satu disebut dengan kefir. Kefir merupakan hasil proses fermentasi normal dari *curd* dan *whey* nya tidak dipisahkan dan pada umumnya digunakan serta dibuat di rumah-rumah sebagai konsumsi sehari-hari (Asosiasi Kefir Susu Indonesia, 2016). Kefir

dibuat menggunakan *kefir grain* yang perlu dilakukan penyaringan setelah proses fermentasi agar memudahkan dalam memisahkan *kefir grain* dengan kefir sehingga *kefir grain* dapat digunakan sebagai starter. Kefir dihasilkan dari penurunan pH pada susu yang menyebabkan protein susu menjadi menggumpal sehingga terbentuk dua fraksi padatan dan cairan (Julianto *et al.*, 2016). Kefir dapat diperoleh melalui proses fermentasi menggunakan bibit *kefir grain* dan dapat diperoleh melalui fermentasi kefir prima atau menggunakan kefir optima kembali sebagai starternya.

Kefir memiliki beberapa jenis yaitu kefir optima (O), kefir prima (P), kefir bening/*whey* (W), kefir kolostrum (K) dan kefir prima super (Ps) (Asosiasi Kefir Susu Indonesia, 2016). Kefir optima merupakan jenis kefir yang pada umumnya dikonsumsi oleh masyarakat. Kefir optima adalah kefir yang dihasilkan melalui pengadukan antar lapisan padatan dan lapisan bening setelah proses fermentasi dengan *kefir grain* (Prastiwi *et al.*, 2018). Kefir *whey* pada umumnya dikenal oleh masyarakat dengan sebutan kefir bening. Kefir *whey* merupakan kefir yang berasal dari lapisan bening yang dihasilkan melalui proses fermentasi (Julianto *et al.*, 2016). Kefir kolostrum dibuat dengan menggunakan susu kolostrum yang diperoleh 16 jam setelah hewan ternak baru melahirkan (perahan pertama dan kedua), kefir jenis ini membutuhkan 3-5 kali *kefir grain* lebih banyak dan kefir prima super merupakan kefir prima yang ditambahkan 15% kefir kolostrum atau penambahan 150 ml kolostrum dalam 1 liter susu murni (Asosiasi Kefir Susu Indonesia, 2016). Berdasarkan standar yang ditetapkan oleh CODEX STAN 2003, kefir secara umum mengandung komposisi yang terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Standar Kefir Susu

Parameter	Jumlah
Kadar Protein (% m/m)	min. 2,7%
Kadar Lemak (% m/m)	< 10%
Total asam tertitrasi (asam laktat) (% m/m)	min. 0,6%
Total Mikroba (cfu/g)	min. 10 <sup>7</sup>
Khamir (cfu/g)	min. 10 <sup>4</sup>

Sumber : CODEX STAN 2003.

### 2.3. Kefir grain

Kefir dibuat melalui proses fermentasi menggunakan *kefir grain* atau biji kefir sebagai starter. *Kefir grain* merupakan biakan starter yang sangat penting dalam pembuatan kefir dan merupakan campuran dari bakteri asam laktat dan khamir (ragi) yang berbentuk butiran-butiran putih atau krem (Rumeen *et al.*, 2018). *Kefir grain* mampu menghasilkan nutrisi yang baik bagi tubuh. *Kefir grain* dapat memproduksi beberapa vitamin yang penting untuk tubuh seperti asam folat, asam pantotenat, asam nikotinat, biotin, vitamin B6 dan B12, serta memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar lemak dalam produk susu fermentasi (Sawitri, 2011).

Starter kefir atau *kefir grain* memiliki komposisi protein, polisakarida dan campuran beberapa jenis mikroba yang baik bagi kesehatan. *Kefir grain* terdiri dari berbagai kumpulan bakteri asam laktat seperti *Lactobacilli*, *Streptococcus* sp., *Lactococcus* dan beberapa jenis ragi atau khamir nonpatogen (Ningsih *et al.*, 2018). Menurut Codex (2003) *kefir grain* mengandung *Lactobacillus kefiri*, spesies dari genus *Leuconostoc*, *Lactococcus* dan *Acetobacter* yang tumbuh dengan hubungan yang kuat dan spesifik, selain mengandung bakteri tersebut, *kefir grains* juga mengandung khamir yang berperan memfermentasi laktosa yaitu *Kluyveromyces*

*marxianus* maupun khamir yang tidak dapat memfermentasi laktosa seperti *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Saccharomyces exiguus*.

Mikroba yang terdapat dalam *kefir grain* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Mikroba dalam *Kefir Grain*

Golongan	Species
Yeast	<i>Candida kefir</i>
	<i>Candida pseudotropicalis</i>
	<i>Kluveromyces marxianus</i> subsp. <i>Marxianus</i>
	<i>Saccharomyces kefir</i>
	<i>Saccharomyces turicensis</i>
	<i>Torula</i> spp.
Bakteri	<i>Acetobacter aceti</i>
	<i>Lactobacillus casei</i>
	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	<i>Lactobacillus kefir</i>
	<i>Lactobacillus kefirgranum</i>
	<i>Lactobacillus kefiranoferiens</i>
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>Dextranicum</i>
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>Cremoris</i>

Sumber : Pintado *et al.*, 1996.

Mikroba dalam *kefir grain* membantu proses pertumbuhan bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat dan kapang yang terdapat pada starter kefir hidup bersimbiosis sehingga saling menguntungkan dan berfungsi pada proses fermentasi asam laktat dan alkohol (Febrisiantosa *et al.*, 2013). *Kefir grain* memiliki ukuran yang sangat kecil dan berbentuk butiran (granula). Ukuran standar dari *kefir grains* ini adalah sebesar biji kacang hijau sampai sebesar biji jagung atau sedikit lebih besar dan berdiameter 2 mm sampai yang lebih dari 3 cm (Asosiasi Kefir Susu Indonesia, 2016).

#### 2.4. Biokimiawi Fermentasi Kefir

Proses fermentasi merupakan proses pemecahan atau perombakan senyawa organik menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan melibatkan mikroba baik satu jenis maupun beberapa jenis mikroba. Fermentasi dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif metode pengawetan pada bahan pangan yang efisien dan efektif. Mikroba yang pada umumnya dimanfaatkan pada fermentasi bahan pangan yaitu bakteri, kapang dan khamir (Jannah, 2010). Fermentasi terbagi menjadi dua yaitu spontan dan tidak spontan. Fermentasi spontan merupakan fermentasi yang dalam proses pembuatannya tidak dilakukan penambahan starter atau ragi dan fermentasi tidak spontan merupakan fermentasi yang dilakukan penambahan starter atau ragi (Sunarlim, 2009). Proses fermentasi spontan menghasilkan mutu dan cita rasa produk yang tidak seragam. Kefir dibuat melalui proses fermentasi tidak spontan sebab kefir dilakukan penambahan starter atau *kefir grain* pada proses pembuatannya. Faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain mikroba yang digunakan, nilai pH, suhu dan nutrisi atau substrat.

Proses fermentasi susu menghasilkan produk dengan cita rasa yang disukai serta tekstur lembut dan komponen susu yang paling berperan selama proses fermentasi adalah laktosa dan kasein. Laktosa digunakan oleh mikroba sebagai sumber karbon dan energi dengan hasil metabolismenya adalah asam laktat yang menyebabkan pH susu turun dan suasana asam (pH rendah) menyebabkan keseimbangan kasein terganggu dan pada titik isoelektrik sekitar pH 4.6 dan kasein akan menggumpal membentuk koagulan sehingga terbentuk susu semi padat (Sunarlim, 2009). Proses fermentasi yang terjadi saat pembuatan kefir

menghasilkan asam laktat, alkohol, CO<sub>2</sub> dan energi sebab khamir dapat tumbuh pada kondisi lingkungan asam dan memfermentasi gula sederhana pada substrat menjadi alkohol dan CO<sub>2</sub>. Kemampuan khamir yang sangat penting dalam proses fermentasi kefir sebab khamir dapat memetabolisme asam piruvat menjadi alkohol dan alkohol yang terbentuk selama proses fermentasi merupakan salah satu ciri khas kefir yang membedakan kefir dengan susu fermentasi lain (Julianto *et al.*, 2016).

Fermentasi pada kefir dibagi menjadi dua tahap yaitu tahap glikolisis dan tahap fermentasi alkohol. Tahap awal yaitu glikolisis, karbohidrat akan dipecah dahulu menjadi gula sederhana yaitu dengan hidrolisis pati menjadi unit-unit glukosa. Glikolisis merupakan rangkaian reaksi kimia penguraian glukosa (yang mempunyai 6 atom C) menjadi asam piruvat (yang mempunyai 3 atom C), Nikotinamida Adenina Dinukleotida Hidrogen (NADH) dan Adenosin Trifosfat (ATP) serta energi. NADH adalah koenzim yang mengikat elektron (H), sehingga disebut elektron berenergi tinggi, ATP merupakan senyawa berenergi tinggi. Pada proses glikolisis, setiap 1 molekul glukosa diubah menjadi 2 molekul asam piruvat, 2 NADH, dan 2 ATP (Handayani *et al.*, 2016) dan setiap pelepasan fosfat akan menghasilkan energi serta asam piruvat diperoleh dari proses glikolisis dengan merombak glukosa. Tahap kedua yaitu fermentasi alkohol pada kondisi fermentasi masih dalam keadaan aerob, maka asam piruvat akan diubah dalam tahapan dekarboksilasi oksidatif dan dilanjutkan pada tahapan siklus krebs yang menghasilkan banyak energi. Namun, jika kondisi fermentasi berubah menjadi anaerob maka asam piruvat tidak akan mengalami dekarboksilasi oksidatif,

melainkan dirubah menjadi CO<sub>2</sub> dan asetaldehid yang kemudian dirombak menjadi alkohol dan energi dalam jumlah yang lebih kecil (Julianto *et al.*, 2016).

## **2.5. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba Kefir**

Starter merupakan zat yang menyebabkan fermentasi. Mikroba yang digunakan di dalam starter pada umumnya terdiri atas berbagai bakteri dan fungi baik khamir maupun kapang. Starter pada susu fermentasi tersebut adalah bakteri penghasil asam laktat. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba meliputi faktor intrinsik, ekstrinsik dan implisit. Faktor intrinsik merupakan sifat-sifat fisik, kimia dan struktur yang dimiliki bahan pangan itu sendiri, faktor ekstrinsik yaitu kondisi lingkungan pada penanganan dan penyimpanan bahan pangan seperti suhu, kelembaban, susunan gas di atmosfer dan faktor implisit adalah sifat-sifat yang dimiliki oleh mikroba itu sendiri dan faktor pengolahan (Safitri dan Swarastuti, 2013). Suhu lingkungan dan waktu fermentasi yang tepat dapat mempercepat pertumbuhan bakteri asam laktat pada kefir (Rosiana *et al.*, 2013). Mikroba dalam kefir tumbuh pada suasana asam. Bakteri pada umumnya dapat tumbuh pada pH 4-8, khamir tumbuh optimum pada pH 3-6 dan kapang tumbuh pada pH 3-7 (Jannah, 2010).

Kefir dalam pembuatannya membutuhkan bantuan dari mikroba yang hidup dan tidak bersifat patogen. Beberapa jenis mikroba yang banyak digunakan dalam proses fermentasi diantaranya adalah khamir, kapang dan bakteri, tetapi tidak semua mikroba tersebut dapat digunakan secara langsung masih diperlukan seleksi untuk menjamin berlangsungnya proses fermentasi dan pada pemilihan mikroba



biasanya didasarkan pada jenis substrat (bahan) yang digunakan sebagai media dan semakin banyak konsentrasi starter atau *kefir grain* yang ditambahkan maka mikroba dalam kefir akan semakin berkembangbiak (Safitri dan Swarastuti, 2013). Ketersediaan oksigen harus diatur selama proses fermentasi sebab bakteri-bakteri penghasil asam tidak membutuhkan oksigen selama proses fermentasi berlangsung. Mikroba melakukan fermentasi tersebut untuk mendapatkan energi dan untuk tumbuh. Ketersediaan nutrisi atau bahan baku sebagai substrat yang baik untuk pertumbuhan mikroba dalam *kefir grain* yang diberikan sehingga mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik dan akan meningkat jumlahnya apabila ketersediaan nutrisi mikroba cukup (Jannah, 2010).

## **2.6. Parameter Kualitas Kefir Susu Kerbau**

Parameter kualitas kefir susu kerbau yang diamati adalah meliputi kadar alkohol, kadar lemak, total padatan terlarut dan total mikroba.

### **2.6.1. Kadar Alkohol**

Kadar alkohol yang terkandung dalam kefir dapat dihasilkan melalui perombakan asam piruvat pada kondisi anaerob menjadi alkohol oleh khamir. Asam piruvat dihasilkan dari proses glikosis (Julianto *et al.*, 2016). Alkohol merupakan produk akhir dari proses fermentasi pada kefir. Laktosa pada kefir akan dipecah oleh mikroba menjadi asam laktat dan gula sederhana seperti glukosa, galaktosa sedangkan yeast akan memecah glukosa menjadi alkohol dan karbondioksida (Prastujati *et al.*, 2018). Menurut Marthatini dan Indratiningsih (2017) kandungan

alkohol yang memiliki kefir bervariasi antara 0,01 % dan 1 % serta kadar alkohol pada kefir dipengaruhi oleh metabolisme khamir dan bakteri heterofermentatif yang menghasilkan etanol. Menurut Codex (2003) standar susu fermentasi memiliki kandungan alkohol sekitar 0,5%. Hasil Kesepakatan Majelis Ulama Indonesia menyatakan bahwa makanan dan minuman beralkohol tidak boleh melebihi 1% yang dikategorikan haram (Fatwa Majelis Ulama Indonesia UU Nomor 11 tahun 2009).

### **2.6.2. Kadar Lemak**

Lemak yang terkandung dalam kefir disebabkan adanya produksi enzim lipase oleh mikroba dalam *kefir grain*. Enzim lipase bertugas untuk memecah atau menguraikan lemak pada bahan pangan, khususnya lemak yang berasal dari hewan (Suranto, 2011). Lipolisis dari komponen lemak dalam susu akan membentuk asam lemak bebas, yang merupakan prekursor dari senyawa-senyawa flavor seperti metil keton, alkohol, lakton, dan ester (Bayu *et al.*, 2017). Menurut Codex Standar susu fermentasi (2003) kadar lemak kefir yaitu kurang dari 10%. Berdasarkan hasil penelitian Zakaria (2009) kandungan lemak pada kefir sekitar 2,7% - 3,2%.

### **2.6.3. Total Padatan Terlarut**

Total padatan terlarut dapat digunakan untuk menginterpretasikan jumlah gula yang terkandung pada bahan yaitu laktosa karena laktosa merupakan gula yang paling dominan terdapat pada susu yang merupakan hasil perombakan selama proses fermentasi kefir (Insani *et al.*, 2018). Proses perombakan laktosa menjadi

glukosa dan galaktosa dilakukan menggunakan bantuan enzim yang dihasilkan oleh *kefir grain*. Laktosa terdegradasi menjadi glukosa dan galaktosa serta pada akhirnya akan menjadi asam laktat. Perubahan tersebut akibat adanya aktivitas bakteri asam laktat. Menurut hasil penelitian Bayu *et al.* (2017) total padatan terlarut pada kefir sekitar 4,8-8,9°Brix.

#### **2.6.4. Total Mikroba**

Susu merupakan substrat yang baik untuk pertumbuhan mikroba baik bakteri maupun yeast sehingga dengan ketersediaan substrat yang cukup akan meningkatkan jumlah mikroba dalam kefir. Kecepatan dalam pertumbuhan mikroba pada proses fermentasi ditentukan oleh kesesuaian dan kandungan nutrisi yang terdapat pada media untuk proses fermentasi. Pertumbuhan mikroba meliputi fase lamban, pertumbuhan yang cepat (fase log), mendatar (fase statis) dan diakhiri dengan penurunan populasi sel-sel hidup (fase kematian). Faktor yang mempengaruhi jumlah mikroba yaitu kondisi fisik mikroba, suhu fermentasi, pH dan keasamaan kefir (Safitri dan Swarastuti, 2013). Menurut hasil penelitian Pamericar *et al.* (2018) menunjukkan bahwa total mikroba yang terdapat pada kefir susu kambing etawa sebanyak  $9,83 \times 10^7$  cfu/ml.