

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Susu

Susu adalah cairan yang berasal dari ambung sapi sehat dan bersih, yang diperoleh dengan cara pemerahan yang benar, yang kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun (Badan Standardisasi Nasional, 1998). Susu tersusun atas 3,7% lemak berbentuk globula lemak yang dikelilingi membran polar, 3,4% protein yang terdiri atas kasein dan *whey* protein, 4,8% laktosa sebagai karbohidrat spesifik dalam susu, 0,7% abu, dan memiliki pH sebesar 6,6 (Simpson *et al.*, 2012). Tingginya kandungan gizi ini menyebabkan susu menjadi bahan pangan yang mudah rusak sehingga untuk memperpanjang masa simpan serta meningkatkan nilai ekonominya, maka susu dapat diolah dengan cara fermentasi. Teknik fermentasi pada susu juga bermanfaat bagi sebagian orang yang menderita *lactose intolerance* dan *protein intolerance* sehingga memungkinkan mereka untuk mengonsumsi susu tanpa efek samping yang merugikan (Widodo, 2002).

#### 2.2. *Kefir Grains*

*Kefir grains* adalah bahan utama yang ditambahkan ke dalam susu agar proses fermentasi dapat terjadi dan terbentuklah kefir. *Kefir grains* adalah sekumpulan massa yang terdiri atas berbagai bakteri dan *yeast* yang beragam dan

tersusun di dalam suatu matriks protein-polisakarida. Berbagai macam mikroorganisme yang terdapat dalam *kefir grains* akan memfermentasi susu dan *grains* dapat diperoleh kembali melalui proses penyaringan di akhir tahapan fermentasi. *Kefir grains* dideskripsikan sebagai suatu benda kecil elastis, lengket, dan permukaannya kasar, menyerupai bunga kol dengan warna kuning atau putih dengan ukuran sekitar 20 hingga 30 mm dan berdasarkan analisis kasar, menunjukkan bahwa *grains* ini tersusun atas bakteri, *yeast*, polisakarida, dan protein dengan komposisi kimia meliputi 890 sampai 900 g/kg air, 2 g/kg lipid, 30 g/kg protein, 60 g/kg gula, dan 7 g/kg abu (Farnworth, 2008). Mikroflora dalam *kefir grains* sangatlah stabil dan dapat mempertahankan aktivitasnya sampai bertahun-tahun apabila disimpan dan diinkubasikan pada kultur dan kondisi fisiologis yang sesuai (Simova *et al.*, 2006).

Kandungan mikroflora yang terdapat dalam suatu *kefir grains* umumnya berbeda-beda tergantung pada asalnya, kondisi penyimpanan, serta pola penanganannya. Seperempat dari bobot kering *kefir grains* tersusun oleh kapsul larut air bernama kefiran, yang merupakan hasil metabolisme dari suatu bakteri kapsular seperti *Lactobacillus kefir*, bakteri homofermentatif dari golongan *Streptobacterium*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, dan sebagian *strain* BAL dan terdiri atas matriks polisakarida yang tersusun dari glukosa dan galaktosa (Pintado *et al.*, 1996). Mikroflora yang terdapat dalam *kefir grains* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Mikroflora dalam *kefir grains* (Pintado *et al.*, 1996)

Golongan	Spesies
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 spp.</i>
Bakteri	<i>Acetobacter aceti</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus kefir</i> <i>Lactobacillus kefirgranum</i> <i>Lactobacillus kefiranofaciens</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>

### 2.3. Kefir

Secara terminologis, kata “kefir” diturunkan dari bahasa turki “keif” yang berarti perasaan yang nyaman (Kaufmann, 1997). Minuman ini konon berasal dari Pegunungan Kaukasus di Rusia yang terletak diantara Laut Hitam dan Danau Kaspia dan telah dikonsumsi sejak ribuan tahun yang lalu. Dalam kajian sejarah, *kefir grains* dipercaya sebagai suatu hadiah dari Allah kepada seluruh umat muslim di pegunungan Kaukasus dan menjadi suatu simbol kesejahteraan keluarga (Roberts *et al.*, 2000). Kefir dapat dibuat dari berbagai jenis susu seperti susu sapi, kambing, dan domba bahkan dari kelapa, beras, maupun kedelai, serta dari berbagai pilihan susu segar, baik pasteurisasi, tanpa pasteurisasi, *whole fat*, *low fat*, skim, ataupun tanpa lemak (Semih dan Cagindi, 2003). Ada beberapa metode yang digunakan untuk memproduksi kefir baik secara tradisional maupun secara modern di industri. Di Rusia sendiri, kultur indukan untuk memproduksi

kefir dipersiapkan dengan melakukan proses fermentasi tradisional dan *grains* yang sudah digunakan kemudian disaring. Sekitar 1-3% dari kultur indukan ini kemudian ditambahkan dalam susu yang telah dipasteurisasi dan diinkubasi pada suhu 19-28°C selama 24 jam (Farnworth, 2008).

Kefir memiliki rasa, warna, dan konsistensi yang hampir menyerupai yoghurt dan memiliki aroma *yeasty* (seperti tape singkong), memiliki rasa asam dan sedikit ada rasa alkohol dan soda, serta mengandung kombinasi karbon dioksida dan alkohol menghasilkan buih yang menciptakan karakter mendesis pada kefir (Usmiati, 2007). Rasa khas susu fermentasi pada kefir didominasi oleh kandungan asam laktat yang menjadi hasil dari proses fermentasi laktosa oleh *starter*. Selama proses ini, akan terjadi perubahan pada karbohidrat, protein, lemak, dan bahan-bahan organik lainnya sebagai akibat dari aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu dalam *starter* (Zakaria, 2009). Mikroflora yang terdapat dalam kefir memproduksi suatu material eksopolisakarida yang disebut kefiran. Kefiran ini dapat mempengaruhi karakteristik reologis dari produk akhir seperti tekstur dan *mouth feel* (Batt dan Tortorello, 2014).

Berdasarkan CODEX STAN 243-2003, kefir harus memenuhi standar sebagai berikut : protein susu minimal 2,7%, lemak susu < 10%, asam laktat minimal 0,6%, jumlah mikroorganisme spesifik yang menunjukkan kultur *starter* minimal  $10^7$  cfu/g, dan *yeast* minimal  $10^4$  cfu/g (Semih dan Cagindi, 2003). Komposisi kimia dari kefir secara umum dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi kimia dalam 100 g kefir (Semih dan Cagindi, 2003)

Komponen	Kandungan dalam 100 g (g)	Komponen	Kandungan dalam 100 g
Lemak	3,5	Vitamin B <sub>2</sub>	$1,7 \times 10^{-3}$
Protein	3,3	Vitamin B <sub>6</sub>	$5,0 \times 10^{-4}$
Laktosa	4,0	Vitamin B <sub>12</sub>	$5,0 \times 10^{-3}$
Air	87,5	Niasin	$9,0 \times 10^{-4}$
Etil alkohol	0,9	Vitamin C	$1,0 \times 10^{-3}$
Asam laktat	1,0	Vitamin D	$8,0 \times 10^{-4}$
kolesterol	0,013	Vitamin E	$1,1 \times 10^{-3}$
Triptofan	0,05	Kalsium	0,12
Fenilalanin+tirosin	0,35	Fosfor	0,10
Leusin	0,34	Magnesium	12,0
Isoleusin	0,21	Kalium	0,15
Treonin	0,17	Iodium	0,05
Metionin+sistein	0,12	Klor	0,10
Lisin	0,27	Besi	$5,0 \times 10^{-4}$
Valin	0,22	Tembaga	$1,2 \times 10^{-5}$
Vitamin A	$6,0 \times 10^{-4}$	Molibdenum	$5,5 \times 10^{-5}$
Karoten	$2,0 \times 10^{-4}$	Mangan	$5,0 \times 10^{-5}$
Vitamin B <sub>1</sub>	$4,0 \times 10^{-4}$	Seng	$3,6 \times 10^{-3}$

Berdasarkan komposisinya, kefir dapat digolongkan sebagai sumber probiotik utama dan memiliki banyak manfaat khususnya bagi kesehatan manusia, seperti meningkatkan digestibilitas laktosa dalam saluran cerna, menurunkan serum kolesterol dalam darah, menghambat pertumbuhan mikroorganisme perusak dan patogenik karena mengandung asam laktat, antibiotik, serta bakterisida, dapat bertindak sebagai pengawet alami alternatif yang menawarkan perlindungan terhadap aflatoksin B1, serta dapat bertindak sebagai agen anti-tumor, anti-inflamasi, antimikroba, immunomodulator, anti-alergenik, penyembuhan luka, anti-diabetik, anti-mutagenik, anti-genotoksik, dan anti-kanker (Prado *et al.*, 2015).

#### 2.4. Fermentasi Kefir

Kefir merupakan produk pangan yang dibuat dengan cara memfermentasikan susu dengan *kefir grains* dan kultur indukan yang disiapkan dari *kefir grains* (*mother kefir*) sehingga menghasilkan minuman yang memiliki rasa dan aroma khas fermentasi. *Kefir grains* yang akan dibuat kefir harus terus dijaga agar tetap hidup saat penyimpanan dengan melakukan pemindahan secara rutin setiap hari antar susu segar dan membiarkannya untuk tumbuh selama kurang lebih 20 jam (Park, 2009). Dengan metode ini, *grains* akan bereplikasi untuk mempertahankan viabilitasnya, karena *grains* yang sudah lama dan kering memiliki sedikit atau tidak sama sekali kemampuan untuk bereplikasi. Park juga menjelaskan bahwa temperatur penyimpanan terbaik adalah temperatur rendah.

Menurut Hui *et al.* (2004), proses dasar dalam pembuatan kefir secara umum terbagi menjadi 2, yaitu preparasi *mother kefir* dan pembuatan kefir. Langkah-langkah preparasi *mother kefir* meliputi standardisasi susu, pasterurisasi susu pada suhu 90-95°C selama 15 menit dan penurunan suhu<sup>o</sup> sampai 18-22°C, menyebarkan *kefir grains* di dasar kontainer dan menambahkan susu yang telah dipasteurisasi sebanyak 20-30 kali jumlah *kefir grains*-nya, dan fermentasi selama 18-24 jam. *Kefir grains* nantinya akan mengapung di permukaan dan dapat disaring menggunakan ayakan halus, lalu *kefir grains* dicuci dengan air dan disimpan untuk proses fermentasi selanjutnya. Kemudian susu yang telah difermentasi disiapkan untuk inokulasi selanjutnya. Tahapan kedua yaitu pembuatan kefir, yang meliputi pencampuran susu yang telah terfermentasi dengan susu segar sejumlah 8-10 kalinya yang telah terpasteurisasi, fermentasi

dalam wadah tertutup selama 1-3 hari pada suhu 18-22°C, pendinginan dalam temperatur *refrigerator*, dan kemudian disimpan untuk selanjutnya dapat langsung dikonsumsi atau didistribusikan.

## **2.5. Jenis-Jenis Kefir**

Kefir dapat dibagi menjadi beberapa jenis, yaitu kefir optima (O), kefir prima (P), kefir whey (W), kefir prima super (PS), dan kefir kolostrum (Asosiasi Kefir Susu Indonesia, 2016).

### **2.5.1. Kefir Optima (O)**

Kefir jenis ini merupakan kefir yang paling umum ditemui dan dibuat sebagai konsumsi sehari-hari. Kefir optima berasal dari proses fermentasi yang normal dimana tidak dilakukan pemisahan antara *curd* (bagian yang putih / padatan yang tidak terlarut) dan *whey* (bagian bening). Kefir optima ini dapat dibuat dengan menggunakan kefir prima ataupun kefir optima dari proses sebelumnya sebagai *starter* (bibit praktis) (Asosiasi Kefir Susu Indonesia, 2016). Namun apabila diinginkan kualitas yang stabil, *starter* yang baik adalah kefir prima yang pembuatannya menggunakan *kefir grains*. Apabila menggunakan kefir prima, volume *kefir grains* yang diperlukan adalah 3-5% dengan waktu fermentasi berkisar antara 30 sampai 48 jam. Sedangkan apabila menggunakan bibit praktis (kefir prima F1), dibuat dengan perbandingan 1 : 7 dimana 1 bagian bibit praktis ditambahkan pada 7 bagian susu murni. Namun, penggunaan bibit praktis ini tidak

boleh sampai lebih dari 3 kali pengulangan karena kualitasnya sudah mengalami penurunan.

### **2.5.2. Kefir Prima (P)**

Kefir prima beraroma asam sedang sehingga baik disajikan sebagai minuman yang menyegarkan dan merupakan kefir yang memiliki gizi paling lengkap dengan probiotik yang maksimal (Suriasih dan Sucipta, 2014). Kefir ini dibuat dengan memisahkan dan mengambil *curd* dari *whey*-nya sampai sekitar 40%, bisa dilakukan baik dengan menggunakan selang kecil, atau bagian bawah dari wadah fermentasi dilubangi untuk mengeluarkan *whey* sampai seluruh volume *whey* terpisahkan (Asosiasi Kefir Susu Indonesia, 2016). Kebutuhan *kefir grains*-nya sama dengan saat pembuatan kefir optima ataupun dengan menggunakan bibit praktisnya (kefir prima itu sendiri). Semua khasiat kefir terdapat pada kefir ini, dengan fokus pada penanggulangan masalah pencernaan, menjaga fungsi hati, diet standar penderita diabetes, dan peningkatan kebugaran tubuh (Suriasih dan Sucipta, 2014).

### **2.5.3. Kefir Whey (W)**

Kefir whey atau yang biasa dikenal sebagai kefir bening berasal dari hasil pemisahan pada saat proses fermentasi dengan lama fermentasi antara 24 sampai 30 jam (Asosiasi Kefir Susu Indonesia, 2016). Kefir jenis ini merupakan minuman isotonik yang sangat baik karena paling sesuai dengan cairan tubuh manusia pada umumnya (Suriasih dan Sucipta, 2014). Kefir jenis ini juga digunakan sebagai

bahan dalam pembuatan *sauerkraut* dan pengganti cuka dapur yang aman bagi penderita iritasi lambung.

#### **2.5.4. Kefir Kolostrum (K)**

Kefir kolostrum dibuat dari kolostrum perahan 16 jam dari saat sapi / kambing melahirkan dan khasiatnya meningkat lebih baik dibandingkan dengan kolostrum biasa serta memiliki sifat yang lebih baik yaitu aroma kefir menjadi lebih harum atau lebih segar, bau anyir menghilang, dan cita rasa menjadi semakin lezat (Suriasih dan Sucipta, 2014). Pembuatannya terbagi menjadi 2 tahap yaitu tahapan fermentasi selama 2 x 24 jam pada suhu ruang dan tahapan pematangan (*ripening*) selama 3 x 24 jam di lemari pendingin bersuhu 8-12°C (Asosiasi Kefir Susu Indonesia, 2016). Kefir jenis ini memerlukan *kefir grains* 3 sampai 5 kali lebih banyak, yaitu kira-kira 200 gram *kefir grains* untuk setiap 1 liter kolostrum.

#### **2.5.5. Kefir Prima Super (SP)**

Kefir prima super pada dasarnya adalah kefir prima yang ditambahkan dengan 15% kefir kolostrum atau dengan pencampuran 1 liter susu murni ditambahkan dengan 150 ml kolostrum (Asosiasi Kefir Susu Indonesia, 2016). Hal ini membuat minum kefir menjadi lebih praktis karena tidak perlu mengonsumsi 2 jenis kefir sekaligus (kefir prima dan kefir kolostrum).

## 2.6. Parameter Kualitas Kefir Optima

Parameter kualitas kefir optima yang diamati adalah meliputi total padatan terlarut, keasaman, kadar lemak, dan tingkat kekentalan.

### 2.6.1. Total Padatan Terlarut

Sebagai sumber karbohidrat dalam susu, laktosa menjadi zat yang paling dominan dalam total padatan terlarut berdasarkan beratnya, mencapai 54% dari total padatan non lemak dalam keseluruhan berat susu (Newburg dan Neubauer, 1995). Bahan inilah yang nantinya akan difermentasi oleh aktivitas Bakteri Asam Laktat / BAL (*Lactobacillus acidophilus*) dalam kefir *grains* untuk menghasilkan asam laktat yang memberikan cita rasa asam khas kefir (Aristya *et al.*, 2013). Oleh karena itu, penentuan laktosa menjadi suatu hal yang penting dalam pengujian kefir.

Salah satu metode penentuan laktosa dalam kefir adalah estimasi total padatan terlarut secara instrumental menggunakan refraktometer. Refraktometer mengukur total padatan kering (*dry-substances / DS*) dalam suatu larutan sampel. Teknik yang digunakan oleh refraktometer disebut sebagai refraktometri, berdasarkan sudut pembiasan cahaya saat mengenai suatu medium yang berbeda. Sinar yang melewati suatu larutan akan mengalami pembelokan arah sehingga menciptakan sudut yang disebut sudut refraksi atau *refractive index* (RI). Karena terdapat hubungan langsung antara RI dan DS, maka refraktometer akan menampilkan hasilnya dalam bentuk DS atau yang biasa disebut sebagai Brix

(Asadi, 2007). Kefir yang berbahan dasar susu skim memiliki total padatan terlarut sebesar 8,92% (Febrisiantosa *et al.*, 2013).

### **2.6.2. Keasaman**

Dalam analisis pangan, terdapat 2 macam konsep yang saling berkorelasi mengenai keasaman, yaitu pH dan keasaman yang dapat dititrasi. Keasaman yang dapat dititrasi (*titratable acidity*) berkaitan dengan pengukuran konsentrasi total asam yang terdapat dalam bahan pangan dimana nilainya ditentukan oleh mekanisme titrasi yang menyeluruh dari asam yang terdapat dalam bahan dengan zat basa yang sudah dibakukan (Nielsen, 2010). Keasaman pada kefir disebabkan oleh degradasi laktosa dalam susu menjadi asam laktat seiring proses fermentasi, yang menyebabkan penurunan derajat pH dan perubahan reologis (Farnworth, 2008). Nilai keasaman standar dari kefir telah diatur dalam SNI susu fermentasi yaitu berkisar antara 0,5 - 2,0% (Badan Standardisasi Nasional, 1992).

### **2.6.3. Kadar Lemak**

Lipid atau yang biasa dikenal secara umum sebagai lemak merupakan ester dari asam lemak dan gliserol dan hanya tersusun atas karbon, hidrogen, dan oksigen (Lee, 1983). Sebuah studi menunjukkan bahwa konsentrasi asam lemak C<sub>16</sub> dan asam-asam lemak di bawahnya pada kefir memiliki kemiripan dengan susu yang tidak terfermentasi, sementara kadar C<sub>18:0</sub>, C<sub>18:1</sub>, C<sub>18:2</sub>, dan C<sub>18:3</sub> lebih tinggi dari susu tidak terfermentasi secara signifikan, seperti diketahui bahwa C<sub>18:3</sub> memiliki manfaat kesehatan bagi manusia, seperti sifat antikarsinogenik, pencegahan penyakit kardiovaskular dan hipertensi, serta peningkatan fungsi

indra penglihatan (Zhang *et al.*, 2006). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penambahan BAL seperti pada kefir di produk susu berkontribusi terhadap produksi asam lemak bebas lewat lipolisis lemak susu serta memiliki kemampuan untuk memproduksi *conjugated linoleic acid* (CLA) dari asam linoleat yang dapat mengurangi resiko karsinogenesis, aterosklerosis, obesitas, serta efek katabolik dari sistem imun (Park, 2009). Kadar lemak dalam kefir umumnya sebesar 2,57% (Sawitri, 2012).

Kadar lemak dapat diukur dengan berbagai metode, salah satunya adalah metode Gerber yang tepat digunakan untuk mengukur kadar lemak pada kefir. Prinsip dari metode Gerber adalah menggunakan asam sulfat dan isoamil alkohol untuk mendigesti protein dan karbohidrat, melepaskan kalor, dan menghasilkan lemak. Lemak inilah yang kemudian diukur secara volumetri yang hasilnya dituliskan sebagai persen lemak per berat sampel (Nielsen, 2010).

#### **2.6.4. Tingkat Viskositas**

Viskositas (kekentalan) merupakan sifat dari cairan atau fluida yang berhubungan dengan hambatan saat mengalir. Suatu bahan yang dapat mengalir dengan cepat dikatakan memiliki viskositas yang rendah, sedangkan yang mengalir dengan lambat dikatakan memiliki viskositas yang tinggi (Sutiah *et al.*, 2008). Kefir optima memiliki konsistensi yang kental karena tidak terjadi pemisahan antara fase padat (*curd*) dan fase cairnya (*whey*). Viskositas yang relatif tinggi pada kefir atau produk susu fermentasi yang lainnya disebabkan oleh penggumpalan protein oleh asam (Safitri dan Swarastuti, 2013). Viskositas dari

kefir yang terbuat dari susu skim adalah sebesar 1550 cP dan yang terbuat dari *whey* segar adalah sebesar 350 cP (Febrisiantosa *et al.*, 2013).

Salah satu metode pengukuran viskositas zat cair yang sederhana adalah menggunakan pipa Ostwald. Prinsip dari penggunaan pipa Ostwald adalah membandingkan waktu alir dari cairan karena gravitasi pada pipa Ostwald dengan waktu alir zat yang sudah diketahui viskositasnya (Safitri dan Swarastuti, 2013).