

**KARAKTERISTIK FISIK DAN MUTU GIZI KEFIR SUSU
KAMBING DENGAN FORTIFIKASI VITAMIN D₃**

Proposal Penelitian

disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan
studi pada Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro



disusun oleh

FARAH FAUZIYYAH

22030113120028

**PROGRAM STUDI S1 ILMU GIZI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2017

HALAMAN PENGESAHAN

Proposal penelitian dengan judul "Karakteristik Fisik dan Mutu Gizi Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃" telah direvisi dan disahkan oleh pembimbing.

Mahasiswa yang mengajukan:

Nama : Farah Fauziyyah
NIM : 22030113120028
Fakultas : Kedokteran
Program Studi : Ilmu Gizi
Universitas : Diponegoro Semarang
Judul Proposal : Karakteristik Fisik dan Mutu Gizi Kefir Susu
Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Semarang, 10 Mei 2017

Pembimbing Pertama,

Pembimbing Kedua,

Gemala Anjani, SP, MSi, PhD

NIP. 198006182003122001

Binar Panunggal, S.Gz, MPH

NIP. 198505162014041001

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	6
B. Kerangka Konsep Penelitian	23
C. Hipotesis	23
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Ruang Lingkup Penelitian	24
B. Rancangan Penelitian	24
C. Subjek Penelitian	25
D. Tahap Penelitian	25
E. Variabel dan Definisi Operasional	27
F. Pengumpulan Data	29
G. Pengolahan dan Analisis Data	29
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi Kimiawi (%) dari susu kambing dan susu sapi	8
Tabel 2. Perbandingan Kandungan Mineral (mg/100 g susu) dari susu kambing dan susu sapi	10
Tabel 3. Karakteristik Kefir Berdasarkan Codex Alimentarius	18

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Sintesis dan Aktivasi Vitamin D	20
Gambar 2. Kerangka Konsep Penelitian	23
Gambar 3. Rancangan Penelitian	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Kerja	38
Lampiran 2. Prosedur Pembuatan Kefir Susu Kambing	39
Lampiran 3. Prosedur Fortifikasi	40
Lampiran 4. Prosedur Uji	41
Lampiran 5. Formulir Uji Hedonik	48

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Insulin adalah hormon anabolik yang dihasilkan oleh pankreas. Insulin berfungsi untuk meningkatkan transport glukosa menuju sel pada jaringan otot (termasuk sel myokardial), adiposa, hati, dan otak. Hormon insulin meningkatkan sintesis serta mengurangi degradasi glikogen, lipid, dan protein.¹

Resistensi insulin merupakan ketidakmampuan sel untuk menggunakan insulin sebagai akibat dari kurangnya reseptor insulin pada sel. Kondisi tersebut mengakibatkan hiperglikemia puasa, yaitu kondisi dimana meskipun kadar glukosa darah tinggi, namun sel tetap tidak bisa menggunakannya atau seperti dalam keadaan puasa.² Individu yang mengalami resistensi insulin memiliki nilai IMT, lingkar pinggang, dan trigliserida yang lebih tinggi, serta level kolesterol HDL yang lebih rendah.³

Sebagian dari individu obesitas dengan resistensi insulin berkembang menjadi diabetes melitus tipe 2.⁴ Proporsi kasus diabetes mellitus pada usia \geq 15 tahun di Indonesia adalah 6,9 %, dengan 90% dari kasus tersebut adalah diabetes tipe 2.⁵ Defisiensi vitamin D menjadi salah satu faktor risiko dalam patogenesis diabetes melitus tipe 2, karena vitamin D menstimulasi ekspresi dari reseptor insulin pada jaringan perifer sehingga transport glukosa meningkat.⁶ Selain itu, peningkatan sensitivitas insulin sebagai respon dari status vitamin D yang membaik dapat disebabkan oleh penekanan inflamasi kronis.⁷

Susu kambing, merupakan salah satu alternatif pilihan jenis susu yang ada di Indonesia. Susu kambing mengandung 4,5% lemak. Lemak yang terdapat pada susu kambing tergolong tinggi asam lemak rantai sedang (MCT) dan asam lemak rantai pendek. Jenis lemak tersebut memiliki keunggulan yaitu lebih mudah untuk diserap dan digunakan dalam metabolisme.⁸ Susu kambing memiliki kandungan protein, vitamin A, tiamin, riboflavin, niasin, pantotenat,

kalsium, fosfor, yang lebih tinggi dibandingkan dengan susu sapi. Namun, baik susu kambing maupun susu sapi memiliki kandungan vitamin B6, vitamin C, dan vitamin D yang rendah.⁹

Susu kambing memiliki karakteristik sensori yang khas. Beberapa orang kurang menyukai karakteristik aroma dan rasa dari susu kambing, oleh karena itu, produk fermentasi dapat menjadi pilihan untuk memperbaiki kualitas yang kurang disukai tersebut.¹⁰ Fermentasi merupakan proses kimiawi dimana enzim memecah komponen organik menjadi bentuk yang lebih kecil, sehingga lebih mudah dicerna, stabil, dan menambah rasa pada makanan.¹¹

Kefir merupakan produk fermentasi susu yang dibuat dengan cara menginokulasikan bibit kefir yang terdiri dari bakteri dan ragi. Bibit kefir sendiri memiliki potensi sebagai probiotik dan antioksidan.¹² Stres oksidatif dapat menyebabkan resistensi insulin, sedangkan kefir memiliki potensi antioksidan.¹³ Selain itu, kefir sebagai minuman probiotik dapat menurunkan gula darah puasa dan HbA1C pada pasien diabetes mellitus tipe 2.¹⁴

Bibit kefir memiliki peran penting dalam perubahan kimiawi yang terdapat di dalam kefir. Bakteri asam laktat yang terdapat di dalam kefir memiliki aktivitas proteolisis¹⁵ dan lipolisis⁸. Ragi di dalam kefir juga memiliki aktivitas lipolisis dan proteolisis.^{16,17} Proteolisis merupakan kegiatan degradasi protein susu menjadi peptida yang akan digunakan oleh bakteri asam laktat untuk pertumbuhannya.¹⁵ Kandungan MCT dan asam lemak rantai pendek seperti hexanoic, octanoic, dan nonanoic berkontribusi terhadap karakteristik rasa dari susu kambing. Pada pembuatan kefir, terdapat proses lipolisis. Proses lipolisis oleh lipoprotein lipase tersebut akan melepaskan asam lemak volatil yang terkandung dalam susu kambing.⁸

Kefir mengandung eksopolisakarida yaitu kefiran yang berpotensi untuk digunakan sebagai pengental, penstabil, pembentuk gel dan emulsifier.¹⁸ Kefiran di dalam kefir diproduksi oleh *Lactobacillus* dari laktosa.¹⁹ Aktivitas bakteri yang kemudian menghasilkan kefiran tersebut akan mempengaruhi viskositas dari produk fermentasi yang dihasilkan.²⁰ Kefiran dapat melindungi kerusakan oksidatif protein, serta dapat digunakan sebagai bahan untuk

enkapsulasi dan pelapis bahan pangan.^{18,21,22} Selain itu, kefir juga mengaktivasi PI 3-kinase sehingga membantu persinyalan insulin.²³

Kefir memiliki ciri yaitu pH berkisar 4,54 hingga 4,59.²⁴ Nilai pH tersebut diperoleh dari aktivitas bakteri asam laktat dan khamir yang terkandung didalamnya. Bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat selama proses fermentasi dan menyebabkan turunnya pH.²⁵ Ragi di dalam kefir sendiri juga dapat mempengaruhi nilai pH selama fermentasi untuk menciptakan suasana yang cocok untuk tumbuhnya bakteri.²⁶

Kandungan bakteri asam laktat di kefir minimal 10^7 , sedangkan ragi minimal 10^4 .^{26,27} Komposisi kimiawi dari susu dapat mendukung pertumbuhan ragi, yang kemudian membantu menciptakan suasana yang baik untuk tumbuhnya bakteri. Selain itu, ragi juga menyediakan faktor yang membantu pertumbuhan bakteri seperti vitamin, asam amino, dan lainnya.²⁸ Pertumbuhan BAL dapat didukung oleh nutrisi yang ada di lingkungan hidupnya.²⁰

Vitamin D₃ (*cholecalciferol* / *calciol*) merupakan jenis vitamin D yang didapatkan dari makanan hewani. Vitamin D₃ juga dapat dibentuk di kulit melalui iradiasi 7-dehidrokolesterol (prekursor yang terbuat dari kolesterol) oleh sinar UV cahaya matahari.²⁹ Sintesis vitamin D₃ oleh kulit akan menjadi kurang optimal apabila tubuh tertutup oleh pakaian. Selain itu, sintesis vitamin D₃ dipengaruhi oleh faktor lain seperti intensitas ultraviolet, ras, dan umur. Seluruh hal tersebut dapat menjadikan rendahnya produksi vitamin D₃ di dalam kulit. Susu merupakan salah satu makanan yang mengandung vitamin D tetapi susu hanya menyediakan vitamin D yang sedikit kecuali telah difortifikasi.³⁰

Fortifikasi merupakan upaya yang dilakukan untuk menambahkan zat gizi tertentu, seperti vitamin dan mineral, ke dalam makanan untuk meningkatkan kandungan gizi pada makanan dan untuk memberikan manfaat kesehatan bagi konsumen.³⁰ Produk susu dan turunannya merupakan bahan makanan yang menjadi pilihan untuk fortifikasi vitamin D₃.³¹ Vitamin D₂ dan vitamin D₃ merupakan jenis vitamin D yang sering digunakan untuk fortifikasi.³² Vitamin D₂ memiliki retensi sebesar 76,96% pada susu yang difortifikasi.³³ Sedangkan,

fortifikasi vitamin D₃ pada produk susu seperti keju, yogurt, dan es krim memiliki retensi yang lebih tinggi yaitu 95-97%, 96,6-97,8%, dan 99,8-99,3%. Jumlah retensi vitamin D₃ tersebut masih tinggi setelah melewati pembuatan yoghurt dan penyimpanan selama 4 bulan.³¹

Untuk mencapai tujuan dari fortifikasi, teknologi atau metode terkait fortifikasi pangan merupakan hal yang penting untuk diperhatikan. Hal yang perlu diperhatikan diantaranya adalah kadar atau kandungan zat gizi dalam jumlah yang sesuai, kestabilan fortifikan, sifat atau karakteristik fisik, dan daya terima dari konsumen.³⁰

Dalam penelitian ini akan dilakukan fortifikasi vitamin D₃ pada kefir susu kambing serta dilakukan pengujian terhadap karakteristik fisik dan mutu gizi pada produk yang dibuat. Fortifikasi akan dilakukan pada waktu yang berbeda, yaitu pada jam ke-0, 6, 12, 18, 24 fermentasi. Waktu fortifikasi dipilih berdasarkan kurva pertumbuhan mikroorganisme yang ada di dalam kefir. Waktu ke-0 adalah pada awal fermentasi, dimana mikroorganisme baru akan memulai proses fermentasi. Pada jam ke-6, bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, dan khamir mulai meningkat. Pada jam ke-12, peningkatan bakteri asam laktat meningkat dengan signifikan. Bakteri asam asetat mengalami peningkatan yang signifikan pada jam ke-12, demikian juga dengan khamir yang terus meningkat hingga jam ke-12. Pada jam ke-18, bakteri asam laktat mencapai jumlah maksimum sedangkan bakteri asam asetat sedikit meningkat. Pada jam ke-24, bakteri asam asetat mencapai jumlah maksimum. Jumlah khamir cenderung tetap setelah jam fermentasi ke-12.³⁴ Waktu fortifikasi vitamin D₃ pada tahapan fermentasi yang berbeda diduga dapat mempengaruhi parameter karakteristik fisik dan mutu gizi dari produk akhir kefir. Kefir susu kambing dengan fortifikasi vitamin D₃ yang dihasilkan diharapkan dapat memiliki karakteristik fisik dan mutu gizi yang baik serta dapat mencegah terjadinya defisiensi vitamin D₃ pada penderita resistensi insulin.

B. Rumusan Masalah

Bagaimana karakteristik fisik dan mutu gizi pada kefir susu kambing dengan waktu fortifikasi vitamin D₃ yang berbeda?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui karakteristik fisik dan mutu gizi pada kefir susu kambing dengan waktu fortifikasi vitamin D₃ yang berbeda.

2. Tujuan Khusus

- a. Mendeskripsikan karakteristik fisik yaitu nilai pH dan viskositas pada kefir susu kambing dengan waktu fortifikasi vitamin D₃ yang berbeda.
- b. Mendeskripsikan mutu gizi yaitu kadar vitamin D₃, protein, lemak, serat, dan total bakteri asam laktat (BAL) pada kefir susu kambing dengan waktu fortifikasi vitamin D₃ yang berbeda.
- c. Menganalisis perbedaan karakteristik fisik yaitu nilai pH dan viskositas pada kefir susu kambing dengan waktu fortifikasi vitamin D₃ yang berbeda.
- d. Menganalisis perbedaan mutu gizi yaitu kadar vitamin D₃, protein, lemak, serat, dan total bakteri asam laktat (BAL) pada kefir susu kambing dengan waktu fortifikasi vitamin D₃ yang berbeda.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan kefir susu kambing dengan karakteristik fisik dan mutu gizi yang baik guna mencukupi kebutuhan tubuh dan memiliki manfaat kesehatan bagi penderita resistensi insulin. Pembuatan produk ini juga dapat digunakan sebagai dasar dari penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Resistensi Insulin

Insulin merupakan hormon anabolik yang dihasilkan oleh pankreas yang berfungsi untuk meningkatkan transport glukosa menuju sel spesifik di tubuh, contohnya sel pada jaringan otot (termasuk sel myokardial), adiposa, hati, dan otak. Hormon insulin berfungsi untuk sintesis glikogen, lipid, dan protein dan mengurangi degradasi zat-zat tersebut.¹

Insulin distimulasi oleh glukosa, yaitu pada kondisi disaat kadar glukosa darah plasma meningkat seperti dalam kondisi setelah makan, sel- β pankreas akan terstimulasi untuk sintesis dan melepaskan insulin untuk menjaga homeostasis glukosa. Pada jaringan perifer seperti jaringan otot rangka dan jaringan adiposa, insulin yang telah disekresi akan terikat pada reseptor insulin yang kemudian menimbulkan respons intraseluler untuk meningkatkan pemasukan glukosa ke dalam sel dan meningkatkan utilisasi glukosa postprandial. Glukagon merupakan hormon kontra insulin karena berfungsi untuk meningkatkan glukoneogenesis dan glikogenolisis, seperti pada kondisi puasa.¹

Resistensi insulin adalah gagalnya jaringan target untuk merespon insulin secara normal. Kondisi ini menyebabkan penurunan masuknya glukosa pada otot, oksidasi asam lemak di hati, dan ketidakmampuan untuk menekan glukoneogenesis di hati.¹ Kegagalan insulin untuk menstimulasi penggunaan glukosa oleh otot dan jaringan lemak menyebabkan gagalnya penekanan lipolisis, sehingga asam lemak bebas beredar dalam sirkulasi. Kondisi tersebut meningkatkan sirkulasi asam lemak dan mengganggu transport glukosa menuju jaringan target dan mengganggu kerja insulin. Resistensi insulin menyebabkan peningkatan oksidasi asam lemak dan meningkatkan sintesis trigliserida dan pelepasan LDL-C ke serum.³

Resistensi insulin dapat disebabkan karena menurunnya kemampuan sel untuk sintesis glikogen dan terganggunya persinyalan insulin oleh asam lemak. Konsentrasi asam lemak berbanding terbalik dengan sensitivitas insulin. Peningkatan masukan asam lemak pada otot atau penurunan metabolisme asam lemak intraseluler akan menyebabkan bertumpuknya metabolit asam lemak di dalam sel (diasil gliserol, *fatty acil* CoA, dan ceramides). Metabolit tersebut bersama protein kinase C θ akan menginduksi aktivasi serine atau threonine kinase. Hal tersebut berujung pada fosforilasi situs serine atau threonine pada substrat reseptor insulin (IRS-1 dan IRS-2) yang akan menurunkan kemampuan substrat reseptor insulin dalam mengaktivasi PI 3-kinase. Sebagai akibatnya, terjadi gangguan persinyalan insulin.³⁵ Fosforilasi serine atau threonine pada molekul reseptor insulin juga terjadi ketika adanya peningkatan stres oksidatif.³⁶

Individu dengan berat IMT lebih tinggi memiliki indeks nilai HOMA-IR yang juga lebih tinggi. Keberadaan resistensi insulin pada orang obesitas terkait dengan adanya tanda gangguan metabolik lainnya, seperti lingkaran pinggang yang besar dan kadar HDL yang rendah.³

Resistensi insulin muncul 10-20 tahun sebelum onset penyakit diabetes melitus tipe 2 dan merupakan suatu kondisi yang ditemukan secara konsisten pada pasien dengan diabetes melitus tipe 2. Oleh karena itu insulin merupakan prediktor yang paling baik untuk seseorang terkena diabetes.³⁵

Pada resistensi insulin terjadi hilangnya respon insulin fase pertama, yaitu setelah mengasup makanan seharusnya konsentrasi insulin akan memuncak setelah 10 menit dan menghilang setelah 20 menit. Fase pertama ini bertujuan untuk menghambat produksi glukosa hati dan meningkatkan pemasukan glukosa. Selanjutnya, terjadi abnormalitas pada respons insulin fase kedua. Normalnya, fase kedua dimulai pada 15-20 menit dan memuncak pada 20-40 menit, namun yang terjadi justru terjadi respon fase dua yang berlebihan sehingga menyebabkan hiperinsulinemia. Pada resistensi insulin, kondisi hiperinsulinemia tersebut terjadi bersamaan dengan hiperglikemia karena insulin tidak mampu melakukan tugasnya. Pada kondisi hiperglikemia terjadi

juga peningkatan asam lemak bebas pada sirkulasi, kedua kondisi ini menyebabkan disfungsi sel β . Pada individu dengan resistensi insulin, terjadi gangguan umpan balik antara sel β dan hati, otot rangka, dan jaringan adiposa. Kegagalan umpan balik tersebut menyebabkan gangguan toleransi glukosa dan diabetes melitus tipe 2.⁴

Peningkatan sensitivitas insulin sebagai respon dari status vitamin D yang membaik dapat disebabkan oleh penekanan inflamasi kronis dan stimulasi ekspresi reseptor insulin dan atau protein yang terlibat dalam persinyalan insulin.⁷ Selain itu, sekresi insulin membutuhkan kalsium dalam prosesnya, oleh karena itu secara tidak langsung akan dipengaruhi oleh status vitamin D.⁶ Suplementasi vitamin D₃ 10.000 IU per hari selama 4 minggu dapat menurunkan respons insulin akut dan dapat memperbaiki sensitivitas insulin pada subjek dengan defisiensi vitamin D yang mengalami onset dan progresi diabetes tipe 2.³⁷

2. Susu Kambing

Susu adalah sekresi dari kelenjar susu mamalia, yang merupakan emulsi lemak di dalam air dan mengandung mineral, gula, dan protein. Warna dari susu adalah dari putih kebiruan hingga kuning keemasan, tergantung jenis hewan, pakan, serta jumlah lemak atau padatan dalam susu. Susu tampak keruh dalam jumlah yang banyak tetapi tampak transparan dalam jumlah sedikit atau lapisan yang tipis.³⁸

Susu Kambing memiliki mutu kimiawi yang mirip dengan susu sapi, namun susu kambing memiliki kandungan total padatan, protein, lemak, dan mineral yang lebih tinggi dibandingkan dengan susu sapi. Berikut tabel perbandingan kandungan mutu kimiawi dari susu kambing dan susu sapi.³⁹

Tabel 1. Komposisi Kimiawi (%) dari susu kambing dan susu sapi³⁹

Komposisi	Susu Kambing	Susu Sapi
Total Padatan	13,57	11,36
Protein	3,48	2,82
Lemak	5,23	3,42
Abu	0,75	0,65
Laktosa	4,11	4,47

Kandungan asam lemak kaproat, kaprilat, kaprat, laurat, linoleat, palmitoleat, eikosapentanoat, linolenat, nervonat, dan asam lemak tidak jenuh rantai panjang (jumlah total dan kandungan $n-6$ dan $n-3$) pada susu kambing lebih banyak dibandingkan dengan susu sapi. Sedangkan kandungan butirat, miristat, miristoleat, palmitat, palmitoleat, dan oleat C4:0, C14:0, C14:1, C15:0, C16:0, C16:1, C18:1 $n-9$, trans and C20:3 $n-6$, dan rasio asam lemak tidak jenuh rantai panjang $n-6:n-3$ pada susu kambing lebih rendah dibandingkan dengan susu sapi.

Secara keseluruhan susu kambing memiliki kandungan asam lemak rantai sedang 40% lebih banyak daripada susu sapi. Sedangkan, kandungan asam linoleat terkonjugasi pada susu kambing lebih besar 62% dibandingkan dengan susu sapi. Kandungan asam lemak jenuh dan asam lemak jenuh rantai tunggal pada susu kambing dan susu sapi hampir indentik, namun kandungan asam lemak tidak jenuh rantai panjang lebih banyak pada susu kambing. Asam lemak omega 6 dan omega 3, dua jenis asam lemak tidak jenuh rantai panjang, juga lebih tinggi pada susu kambing, dimana rasio omega 6 : omega 3 pada susu kambing lebih rendah daripada susu sapi.³⁹

Susu kambing mengandung tinggi trigliserida rantai sedang (MCT) dan asam lemak rantai pendek, yang mudah untuk diserap dan digunakan dalam metabolisme. Namun, tingginya kandungan MCT dan asam lemak rantai pendek seperti jenis hexanoic, octanoic, dan nonanoic berkontribusi terhadap karakteristik susu kambing.⁸ Selain itu, tingginya kandungan asam lemak volatil pada susu kambing seperti kaproat, kaprilat dan kaprat, menyebabkan susu kambing memiliki karakteristik rasa dan aroma yang khas di antara produk susu lainnya.⁴⁰

Kandungan asam amino esensial maupun non esensial per 100 g, yaitu Thr, Ileu, Leu, Lys, Met, Cys, Phe, Tyr, Val, Arg, His, Ala, His, Asp, Glu, Gly, dan Pro pada susu kambing lebih besar dibandingkan dengan susu sapi.³⁹ Susu kambing mengandung proporsi kasein terhadap serum protein yang lebih

tinggi dari susu sapi. Kualitas ini menyebabkan protein susu kambing lebih mudah dicerna daripada susu sapi.⁴¹

Secara umum, peran protein sebagai antioksidan ditempuh melalui beberapa cara, diantaranya menangkap spesies oksigen reaktif dan menonaktifkan radikal bebas di makanan dan di makhluk hidup. Aktivitas antioksidan dari protein akan meningkat melalui pemecahan struktur tersiernya sehingga meningkatkan jumlah residu asam amino penyumbang proton yang larut. Hidrolisis dari protein whey dan kasein dari susu kambing menunjukkan kemampuan yang baik dalam melawan radikal bebas, dimana peptida pada kasein memiliki kemampuan antioksidan yang lebih kuat dibandingkan peptida dari whey.⁴²

Kandungan mineral yaitu kalsium, fosfor, magnesium, besi, dan tembaga pada susu kambing lebih besar dibandingkan dengan susu sapi. Berikut tabel perbandingan kandungan mineral dalam susu kambing dengan susu sapi.³⁹

Tabel 2. Perbandingan Kandungan Mineral (mg/100 g susu) dari susu kambing dan susu sapi³⁹

Mineral	Susu Kambing	Susu Sapi
Ca	158,57	113,58
P	118,97	87,04
Mg	12,92	9,40
Fe	0,15	0,09
Cu	0,042	0,014

Susu kambing memiliki kandungan vitamin A yang lebih tinggi dibandingkan susu sapi, serta memiliki kandungan niasin, tiamin, riboflavin, dan pantotenat yang tinggi. Kandungan vitamin B dalam susu kambing berasal dari sintesis di dalam rumen hewan tersebut. Dibandingkan dengan susu sapi, susu kambing memiliki kandungan folat dan vitamin B12 yang lebih rendah daripada susu sapi. Selain itu, susu kambing rendah akan kandungan vitamin B6, vitamin C, dan vitamin D.⁹ Susu kambing tiap 100 g hanya mengandung 2,3 IU vitamin D, sedangkan susu sapi hanya mengandung 2,0 IU tiap 100 g.⁴³

3. Kefir

Nama kefir berasal dari kata "keyif" atau "kopur" dalam bahasa Turki memiliki arti minuman susu fermentasi yang dapat dibuat dengan cara menginokulasikan bibit kefir pada susu sapi, susu kambing, atau susu domba.⁴⁴ Kefir termasuk kategori probiotik, ia memiliki sifat yang kental dan mengandung sedikit alkohol.²⁶

Bibit kefir terdiri dari bakteri dan ragi. Bibit kefir mengandung protein, dan polisakarida, disamping mengandung bakteri asam laktat yang bersifat mesofilik, homofermentatif, dan heterofermentatif, mengandung bakteri laktobasilus yang bersifat termofilik dan mesofilik, serta mengandung bakteri asam asetat dan ragi.²⁶

Bibit kefir memiliki ukuran diameter 0,3 - 3,0 cm, berbentuk tidak beraturan dan memiliki permukaan multilobus, disatukan oleh satu bagian tengah utama, dan memiliki warna dari putih hingga putih kekuningan. Bibit kefir bersifat elastis.⁴⁵ Bakteri asam laktat yang diisolasi dalam kefir mencakup *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus kefiri*, *Lactobacillus parakefiri*, *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus*,²⁶ dan *Lactobacillus kefiranofaciens*.⁴⁶ *Lactobacillus* merupakan mikroba dengan jumlah terbanyak di dalam kefir, yaitu mencapai 65-80% dari populasi total mikroba. Ragi yang diisolasi dari bibit kefir mencakup *Kluyveromyces marxianus*, *Torula kefir*, *Saccharomyces exiguus* dan *Candida lambica*. Penyimpanan dengan suhu rendah merupakan cara terbaik untuk menjaga kondisi bibit kefir. Perbandingan optimum dari bibit kefir dengan susu adalah 1:30 sampai 1:50.²⁶

Kefir memiliki berbagai manfaat kesehatan. Kefir dapat menurunkan glukosa darah puasa dan HbA1c pada pasien dengan diabetes tipe 2. Probiotik di dalam kefir memicu bakteri di usus untuk memproduksi polipeptida insulinotropik sehingga memicu masuknya glukosa ke otot. Di samping itu, kefir juga menstimulasi pembentukan glikogen di hati dari glukosa darah. Selain itu, probiotik juga mengurangi absorpsi glukosa dari usus. Probiotik

menggunakan kolesterol untuk metabolismenya sendiri, yaitu dengan mengikat kolesterol dan memecahnya menjadi produk katabolik.¹⁴

Kefir sebagai minuman fermentasi memiliki manfaat sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan pada kefir disebabkan karena kemampuannya untuk mendonasi proton, melawan radikal superoksida, dan menghambat peroksidasi asam lemak linoleat, serta memiliki kemampuan mereduksi.¹³

a. Mutu Gizi

1.) Protein

Banyak organisme mampu menghasilkan enzim yang dapat menghidrolisa protein, contohnya proteinase dan peptidase. Kemampuan tersebut mendukung tumbuhnya organisme dengan cara membebaskan peptida dan asam amino. Bibit kefir memiliki aktivitas proteinase yang tinggi, sehingga pada saat proses fermentasi banyak dihasilkan peptida yang sebagian besar memiliki berat molekul ≤ 5000 kDa.²⁶ Ragi dan bakteri asam laktat di dalam kefir memiliki kemampuan proteolisis tersebut.¹⁶

Kandungan protein total pada kefir susu kambing dan kefir susu sapi berkisar antara 3,57-5,21%.²⁴ Kadar protein total pada susu kambing dengan sistem pakan bebas dari padang rumput meningkat setelah pembuatan kefir.²⁴

Konsentrasi bibit kefir dan pH fermentasi mempengaruhi kadar protein pada produk kefir. Kadar protein tertinggi (4,18%) diperoleh menggunakan 3% bibit kefir dan pH fermentasi 5,5.⁴⁷

2.) Lemak

Kandungan lemak pada kefir dipengaruhi oleh gen dan pemberian makan pada hewan.²⁴ Proses fermentasi pada kefir mempengaruhi kandungan lemak pada susu kambing. Setelah 24 jam pertama tidak terjadi penurunan pada kandungan lemak kefir susu kambing. Namun terjadi penurunan tajam pada kandungan lemak setelah 14 hari

penyimpanan. Hal ini disebabkan karena kandungan khamir pada kefir melakukan aktivitas lipolitik.¹⁹ Bakteri asam laktat memiliki lipase intraselular dan ekstraselular, yang menyebabkan adanya pemecahan lemak menjadi asam lemak dan gliserol.²⁰ Kandungan lemak mengalami penurunan 7,9% dan 3,3% pada setelah penyimpanan 28 hari oleh inokulasi bibit 1% dan 5%. Namun persen penggunaan bibit kefir tidak terbukti secara signifikan dalam memengaruhi kandungan lemak pada kefir. Penurunan lemak ini terjadi lebih tajam setelah penyimpanan 14 hari.¹⁹

Telah disebutkan sebelumnya bahwa susu kambing memiliki kandungan asam lemak volatil yang menyebabkan bau khas susu kambing. Pada proses fermentasi kefir terjadi lipolisis oleh lipoprotein lipase tersebut dan asam lemak volatil yang terkandung dalam susu kambing akan dilepaskan.⁸

Konsentrasi bibit kefir dan pH fermentasi mempengaruhi kadar lemak akhir. Kadar lemak tertinggi (6,82%) diperoleh menggunakan 3% bibit kefir dan pH fermentasi 5,0.⁴⁷

3.) Karbohidrat

Bibit kefir memiliki aktivitas α -galaktosidase, sehingga bibit kefir dapat menggunakan karbohidrat jenis galaktosa sebagai substratnya. Di dalam kefir, ditemukan karbohidrat jenis eksopolisakarida. Eksopolisakarida (EPS), bernama kefiran, yang diproduksi oleh bakteri asam laktat termasuk *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, dan *Leuconostoc*. Permukaan sel karbohidrat tersebut memberi perlindungan terhadap bakteri produsennya sehingga memudahkan untuk beradaptasi. Kandungan karbohidrat di dalam kefir menunjukkan jumlah lebih dari dua kali lipat kandungan karbohidrat pada susu, namun tidak diketahui jumlah kefiran yang terkandung di dalamnya.²⁶

Kefiran adalah EPS yang tergolong heteropolisakarida (terdiri dari glukosa dan galaktosa), serta tergolong sebagai glukogalaktan larut air.

EPS yang terdapat dalam kefir ini terdiri dari protein, polisakarida, dan campuran mikroba yang bersimbiosis.⁴⁸ Kefiran terdapat dalam bibit kefir dan pada produk fermentasi susu dan whey.²⁶ Terkandung D-glukosa dan D-galaktosa pada rasio 1:1 di dalam kefir. Kefiran bersifat larut air, dimana dapat larut perlahan dalam air dingin dan dapat larut dengan cepat pada air panas. Konsentrasi kefir sebanyak 2% dapat membentuk larutan yang kental.²⁶ Kefiran mampu menjaga sifat gel dan mencegah hilangnya air selama penyimpanan.⁴⁸

Kefiran diproduksi oleh *Lactobacillus* yang terdapat di bibit kefir. Laktosa di dalam kefir dihidrolisis, kemudian galaktosa yang dihasilkan dari hasil hidrolisa digunakan untuk membentuk polimer kefir.¹⁹ *Lactobacillus kefiranofaciens*⁴⁶ dan *Lactobacillus plantarum*⁴⁹ merupakan jenis spesies bakteri di dalam bibit kefir yang dapat memproduksi kefir. Jumlah EPS yang diproduksi oleh bibit kefir Tibetian mencapai nilai maksimum yaitu 223,3 mg/l setelah inkubasi selama 16 jam.²¹ Penambahan *Saccharomyces* sp. di dalam kultur meningkatkan jumlah kefir. Hal tersebut menggambarkan simbiosis antara bakteri dan ragi yang terdapat dalam kefir.⁴⁸

EPS yang diproduksi oleh bibit kefir Tibetian memiliki titik leleh 121,46°C. Hal ini menunjukkan kestabilan terhadap suhu panas yang lebih baik daripada EPS yang diproduksi oleh *L. kefiranofaciens* (97,38°C) dan *L. kefiranofaciens* (86,35°C). Selain itu EPS yang diproduksi menunjukkan potensi antioksidan dan efektif untuk melindungi protein dari kerusakan oksidatif.²¹ Selain itu, karakteristik kefir menjadikannya cocok sebagai bahan pengental, penstabil, pembentuk gel dan emulsifier. Polimer kefir dapat digunakan sebagai bahan untuk enkapsulasi, contohnya enkapsulasi platelet.¹⁸ Lapisan kefir juga berpotensi sebagai pelapis untuk bahan pangan.²²

Kefiran memiliki efek hipoglikemik dan memperbaiki defekasi pada tikus yang diinduksi diet rendah serat. Efek tersebut disebabkan karena kefir memiliki kemampuan untuk meretensi air dan viskositas

dari kefiran menurunkan waktu transit intestinal. Kefiran, seperti beberapa polisakarida lainnya, akan membengkak dan membentuk gel jika ada air. Kefiran juga dapat meningkatkan berat feses, hal ini berkaitan dengan struktur dan viskositasnya. Beberapa enzim seperti α -amilase, galaktanase, dan zimolase-20T gagal menghidrolisis kefiran, dan hanya selulase yang dapat mendegradasi kefiran pada inkubasi yang berlangsung lama.⁵⁰

Sebuah penelitian menyebutkan bahwa kadar laktosa pada 24 jam pertama fermentasi menurun sekitar 20-25% dibandingkan laktosa pada susu. Mikroflora pada kefir menghidrolisis laktosa, kemudian menggunakan galaktosa untuk membentuk polimer kefiran. Jumlah laktosa yang terkandung lebih banyak pada kefir yang diinokulasikan dengan 1% bibit kefir dibandingkan dengan inokulasi dengan 5% bibit kefir.¹⁹

4.) Vitamin dan Mineral

Spesies dan pola pemberian makanan pada hewan mamalia sangat mempengaruhi kandungan vitamin dan mineral pada hasil akhir kefir. Proses pembuatan kefir sendiri memiliki pengaruh terhadap kandungan vitamin dan mineral di dalamnya. Kefir memiliki kandungan vitamin B1 yang lebih tinggi daripada kandungan pada susu, tetapi memiliki kandungan vitamin B2 yang lebih rendah. Kefir susu kambing memiliki kandungan vitamin C yang lebih tinggi daripada kefir susu sapi. Selain itu, kefir susu kambing memiliki kandungan piridoksin yang lebih tinggi dibandingkan kefir susu sapi. Kefir susu kambing juga memiliki kandungan mineral yang lebih tinggi dibandingkan susu sapi, seperti kalsium, potasium, besi, tembaga, mangan, dan selenium.²⁴ Kandungan fosfor dan selenium menurun secara signifikan setelah proses fermentasi. Sedangkan, kandungan mangan meningkat setelah proses fermentasi.²⁴

Kandungan abu terendah pada kefir susu kambing (0,43%) diperoleh dengan menggunakan 5% bibit kefir dan pH fermentasi 5,5.

Sebaliknya, kandungan abu tertinggi (0,52%) diperoleh dengan menggunakan 3% bibit kefir dan pH fermentasi 5,5.⁴⁷

5.) Bakteri Asam Laktat dan Pertumbuhan Mikroorganisme lainnya saat Fermentasi

Fermentasi kefir dapat dilakukan selama 16 jam pada suhu 26°C.⁵¹ Fermentasi juga dapat dilakukan selama 24 jam, dimana pertumbuhan semua mikroorganisme dalam kefir telah optimum.⁵²

Pada jam ke-0 bibit kefir baru diinokulasikan dan mikroorganisme pada bibit kefir baru akan memulai proses fermentasi. Pada jam ke-6 fermentasi, bakteri asam laktat, bakteri asam asetat dan ragi mengalami peningkatan. Bakteri asam laktat meningkat sebanyak 4 log unit pada jam ke-12 fermentasi (media M17 agar) dan meningkat sebanyak 2 log unit (media MRS agar), kemudian mencapai jumlah maksimum (10 log unit) pada jam ke-18 fermentasi. Bakteri asam asetat meningkat secara signifikan pada jam ke-12 fermentasi, dan mencapai maksimum (7,8 log unit) pada jam ke-12, dan meningkat hingga mencapai jumlah maksimum pada jam ke-24 fermentasi. Jumlah ragi selalu meningkat hingga jam ke-12, dan kemudian cenderung tetap 6 log unit hingga proses fermentasi selesai.³⁴ Kandungan bakteri asam laktat di kefir minimal 10^7 , sedangkan ragi minimal 10^4 .^{26,27}

Pada waktu 24 jam pertama saat fermentasi, bakteri asam laktat streptokokus homofermentatif tumbuh dengan cepat dan menyebabkan turunnya pH. Penurunan pH ini mendukung tumbuhnya laktobasilus, namun menyebabkan jumlah streptokokus menurun. Kandungan ragi pada campuran, bersamaan dengan suhu fermentasi (21-23°C), mendukung tumbuhnya bakteri streptokokus heterofermentatif yang menghasilkan aroma. Seiring berjalannya fermentasi, pertumbuhan bakteri asam laktat diharapkan melebihi pertumbuhan ragi dan bakteri asam asetat.²⁶

Pada 24 jam pertama fermentasi, terjadi peningkatan yang berarti pada kandungan bakteri aerobik mesofilik dan bakteri *Lactococcus*. Setelah itu, jumlah bakteri aerobik mesofilik relatif konstan dan hanya mengalami sedikit peningkatan pada tahap akhir waktu fermentasi, sedangkan bakteri *Lactococcus* mengalami penurunan jumlah yang progresif hingga pada akhir fermentasi. Jumlah bakteri *Leuconostoc* meningkat secara progresif pada 48 jam pertama masa fermentasi, dan relatif konstan hingga akhir proses fermentasi. Di samping itu, jumlah ragi menurun pada periode 8 hingga 24 jam pertama fermentasi, lalu meningkat secara signifikan hingga 168 jam.⁵³

Terjadi penurunan pH secara signifikan pada 24 jam pertama fermentasi, yang kemudian selanjutnya tetap menurun. Rendahnya pH tersebut menyebabkan hilangnya *Lactococcus* dan adanya dominasi spesies *Lactobacillus* pada waktu di atas 48 jam.⁵³

c. Karakteristik Fisik

Kefir merupakan minuman yang memiliki karakteristik yaitu kental dan mengandung sedikit alkohol.²⁶ Bibit kefir mempengaruhi karakteristik kefir yang dihasilkan. Ukuran dari bibit kefir sebagai starter mempengaruhi pH, viskositas, dan profil mikrobiologi dari produk akhir.²⁶ Kefir susu sapi dan susu kambing memiliki pH sekitar 4,54 hingga 4,59.²⁴ Kefir yang diinokulasikan bibit sebanyak 1% memiliki pH yang lebih tinggi dibandingkan kefir yang diinokulasikan bibit sebanyak 5%.¹⁹

Bakteri asam laktat dan ragi yang terdapat di dalam kefir dapat mempengaruhi pH.²⁸ Bakteri asam laktat di dalam kefir mendegradasi laktosa dan menghasilkan asam laktat selama proses fermentasi yang kemudian menyebabkan penurunan pH susu.²⁵ Ragi membantu menciptakan suasana yang baik untuk tumbuhnya bakteri.²⁸

Kandungan eksopolisakarida yaitu kefiran yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat di dalam kefir dapat mempengaruhi reologi dari produk fermentasi.²⁰ Konsentrasi kefiran sebanyak 2% dapat membentuk larutan

yang kental.²⁶ Selain itu, kefir yang dibuat dengan bibit kefir yang lebih banyak akan memiliki viskositas yang lebih tinggi.¹⁹

Pada hari ke-2 penyimpanan, intensitas aroma dan viskositas pada kefir yang diinokulasikan 1% bibit kefir lebih tinggi dibandingkan dengan kefir yang diinokulasikan 5% bibit kefir. Selain itu, intensitas rasa juga meningkat selama rasa penyimpanan.¹⁹

Kandungan alkohol pada kefir dipengaruhi oleh jumlah bibit kefir dan pH fermentasi. Alkohol terendah (0,283) dihasilkan dengan menggunakan 1% bibit kefir dan pH fermentasi 4,5.⁴⁷ Berikut merupakan karakteristik kefir berdasarkan Codex Alimentarius.²⁶

Tabel 3. Karakteristik Kefir Berdasarkan Codex Alimentarius²⁶

Komposisi	Jumlah
Protein susu (% w/w)	min. 2,8
Lemak susu (% m/m)	<10
Asam tertitrasi, yaitu %asam laktat (% m/m)	min 0,6
Kandungan mikroorganisme (cfu/g, total)	min. 10 ⁷
Ragi (cfu/g)	min.10 ⁴

4. Fortifikasi

Fortifikasi pangan didefinisikan sebagai penambahan satu atau lebih zat gizi esensial ke dalam pangan untuk meningkatkan kualitas bahan makanan demi keuntungan kesehatan untuk masyarakat dengan risiko minimum bagi kesehatan. Fortifikasi makanan dilakukan pada bahan pangan yang dikonsumsi oleh masyarakat luas.³⁰

Fortifikasi makanan bertujuan untuk: 1) mencegah atau meminimalisir kejadian defisiensi pada populasi spesifik; 2) berkontribusi dalam perbaikan defisiensi mikronutrien pada populasi spesifik; 3) berpotensi dalam perbaikan status gizi dan asupan diet yang tidak optimal sebagai akibat dari gaya hidup; 4) memiliki efek menguntungkan untuk menjaga atau meningkatkan kesehatan, contohnya diet tinggi antioksidan untuk mencegah kanker dan penyakit lain.³⁰

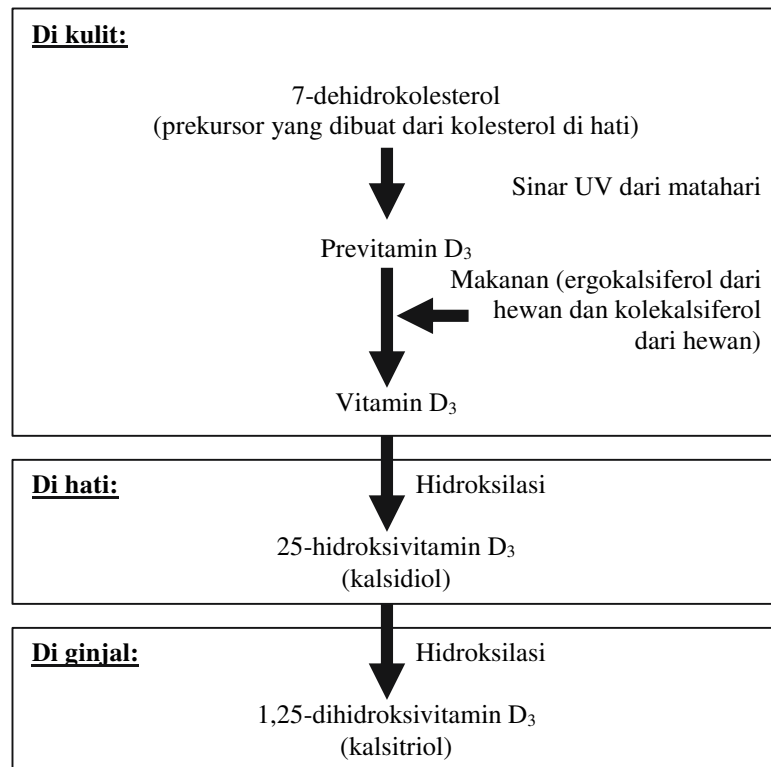
Fortifikasi vitamin D dilakukan untuk membantu memenuhi asupan vitamin D dengan tujuan mencukupi kebutuhan hingga 200 IU/ hari dari total diet. Fortifikan vitamin D yang dapat digunakan dapat berupa vitamin D₂ (ergokalsiferol) atau D₃ (kolekalsiferol). Vitamin D₃ dalam bentuk kering merupakan bentuk yang paling sering digunakan.³⁰ Menurut USDA, target fortifikasi vitamin D₃ sendiri adalah 400IU (10 mcg) per quart susu, atau 25% asupan harian (*Daily Values*) tiap penyajian 8 oz, atau 42 IU/100g.⁵⁴

Susu dan produk turunannya merupakan bahan makanan yang dipilih untuk fortifikasi vitamin D, baik vitamin D₃ maupun vitamin D₂.⁵⁵ Susu yang difortifikasi termasuk susu bubuk dan susu kental. Margarin juga menjadi pilihan makanan yang difortifikasi vitamin D.³⁰ Produk susu yang digunakan sebagai media fortifikasi vitamin D₃ contohnya keju cheddar, yogurt, dan eskrim.³¹

Kefir merupakan produk turunan susu yang dapat digunakan menjadi media fortifikasi. Penelitian mengenai fortifikasi kalsium pada kefir dilakukan dengan cara menambahkan kalsium bisilginat ke dalam susu yang telah dipasteurisasi. Dengan kata lain, fortifikasi dilakukan sebelum fermentasi selama 16 jam dimulai.⁵¹

5. Vitamin D₃

Vitamin D merupakan vitamin larut lemak yang berfungsi untuk membantu regulasi absorpsi kalsium dan fosfor untuk mineralisasi tulang, serta membantu pertumbuhan dan menjaga kekuatan tulang.^{56,57} Secara struktural, vitamin D diturunkan dari steroid.⁵⁷ Vitamin D₃ atau kolekalsiferol, merupakan bentuk dari vitamin D yang memiliki fungsi seperti hormon steroid, yang bersifat inert dan dapat diperoleh oleh tubuh melalui hasil sintesis dari 7-dehidrokolesterol ketika kulit terpapar oleh sinar UV B atau didapat dari diet.⁵⁶ Vitamin D₃ juga bisa diperoleh dari diet, yang kemudian diserap melalui usus secara difusi pasif dalam bentuk misel dibantu oleh lemak dan garam empedu.⁵⁷ Berikut merupakan bagan sintesis dan aktivasi vitamin D.⁵⁸



Gambar 1. Sintesis dan Aktivasi Vitamin D⁵⁸

Menurut AKG 2013, kebutuhan vitamin D per hari adalah 15 µg per hari. Sumber vitamin D di dalam diet adalah makanan yang berasal dari hewani, seperti hati, daging, telur (terutama kuning telur), susu dan produk turunannya, serta berbagai ikan laut seperti ikan salmon, tuna, dan sarden. Namun bahan makanan tersebut tergolong mengandung vitamin D yang masih jauh dari kebutuhan. Contohnya, mentega yang belum difortifikasi hanya mengandung 0,3-2,0 µg vitamin D tiap 100 g, susu dan keju yang belum difortifikasi mengandung kurang dari 1,0 µg/100 g, dan hati mengandung 0,5-4,0 µg/100 g.⁵⁷

Suplementasi vitamin D memang dapat menjadi solusi untuk pemenuhan kebutuhan vitamin D, namun suplementasi vitamin D masih belum mencakup populasi yang luas. Fortifikasi vitamin D merupakan alternatif untuk mengurangi defisiensi vitamin D yang memiliki potensi dapat mencakup

populasi yang lebih luas dan berpotensi meningkatkan asupan vitamin D. Bentuk vitamin D yang digunakan untuk fortifikasi adalah vitamin D₂ atau vitamin D₃.³² Penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat bioavailabilitas yang berbeda diantara orang yang mengonsumsi vitamin D₂ atau vitamin D₃ dengan dosis 1000 IU baik dalam bentuk kapsul (suplemen) atau jus jeruk terfortifikasi.⁵⁹

Vitamin D merupakan vitamin yang sensitif terhadap cahaya, panas, dan oksigen.⁶⁰ Karena sifatnya yang sensitif tersebut, dilakukan upaya untuk melapisi vitamin D₃ agar lebih tahan terhadap lingkungan salah satunya dengan menggunakan pati untuk menjebak vitamin D₃.⁶⁰ Juga dilakukan pelapisan dengan tujuan meningkatkan bioavailabilitasnya. Salah satu contohnya adalah mengenkapsulasi vitamin D₃ dalam nanoemulsi lemak dalam air, dimana nanoemulsi menggunakan trigliserida rantai panjang yang berasal dari jagung atau minyak ikan tergolong efektif.⁶¹

Vitamin D₃ tergolong sensitif, namun fortifikasi vitamin D₃ pada yogurt menunjukkan retensi jumlah vitamin D₃ yang baik setelah melewati pembuatan yoghurt dan penyimpanan yoghurt selama 4 minggu. Proses pembuatan yogurt hanya menyebabkan kehilangan vitamin D₃ yang sedikit yaitu ~3%. Retensi setelah penyimpanan 4 minggu masih baik, yaitu ~95-103%. Vitamin D₃ stabil pada yogurt dengan tipe set.³¹ Penggunaan vitamin D₃ dalam bentuk kristalin dan teremulsifikasi untuk fortifikasi yoghurt memiliki retensi sebesar 96,6±1% dan 97±1%, dimana tidak terdapat perbedaan signifikan mengenai perbedaan penggunaan kedua bentuk tersebut.³¹

Vitamin D sensitif terhadap udara dan cahaya, namun setelah pembuatan eskrim (>50% volume eskrim terdiri dari udara) vitamin D₃ masih tergolong stabil dan masih mengandung 98±0,1% dan 99,3±1,0% untuk fortifikasi vitamin D₃ dalam bentuk kristalin dan teremulsifikasi. Penyimpanan selama empat minggu dalam suhu -25°C pada *blast freezer* menunjukkan tidak terdapat degradasi pada vitamin D₃, dimana retensi 98-100%.³¹

Fortifikasi vitamin D₃ pada keju menunjukkan tidak terdapat penurunan yang signifikan akibat proses pembuatan keju, dengan retensi ~95-97%. Selama penyimpanan 3 bulan, tidak terjadi penurunan retensi vitamin D₃ pada keju fortifikasi vitamin D₃ bentuk emulsi tetapi terjadi deteriorasi ~7% pada keju fortifikasi vitamin D₃ bentuk kristalin.³¹ Selain itu, fortifikasi vitamin D₃ tidak mempengaruhi persepsi sensori pada keju cheddar.⁶²

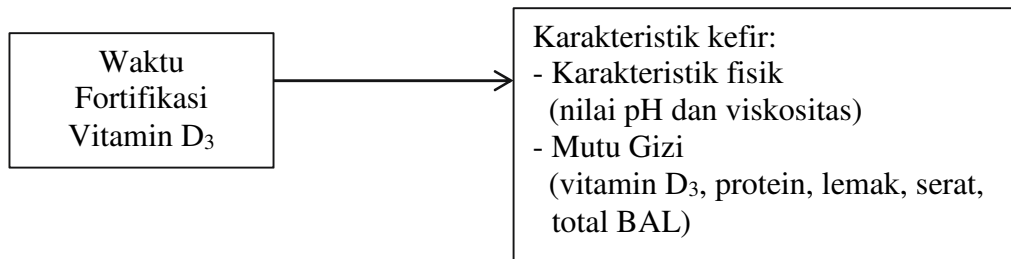
Asupan vitamin D berpengaruh terhadap resistensi insulin, dan berkorelasi positif dengan sekresi insulin pada dewasa yang menderita diabetes melitus tipe 2. Hal tersebut disebabkan karena peningkatan konsentrasi serum 25(OH)D₃ memiliki efek positif pada homeostasis insulin.⁶³ Sebuah penelitian pada tikus model diabetes tipe 2 menyatakan bahwa defisiensi vitamin D menyebabkan disregulasi dari metabolisme glukosa dengan cara mengganggu sekresi insulin yang distimulasi oleh glukosa pada fase hiperglikemik. Vitamin D dapat memodulasi persinyalan PPAR- γ (*peroxisome proliferator-activated - γ*) pada metabolisme glukosa dan inflamasi, serta dapat meningkatkan ekspresi PPAR- γ pada saat adipogenesis. Vitamin D juga mempengaruhi fungsi dan massa sel- β , yaitu dengan mengurangi proliferasi sel- β pankreas sehingga massa sel- β pankreas menurun.⁶⁴

Suplementasi kolekalsiferol dosis tinggi secara oral (10.000 IU perhari selama 4 minggu) sebagai dosis pengganti menunjukkan adanya peningkatan sensitivitas insulin sebesar 37% pada subjek dengan gangguan glukosa darah puasa.³⁷ Fortifikasi vitamin D pada yoghurt selama 12 minggu dapat memperbaiki sekresi dan sensitivitas insulin pada resistensi insulin.⁶⁵

Inflamasi sistemik merupakan salah satu penyebab dari diabetes melitus tipe 2, dimana resistensi insulin terjadi di dalamnya. Vitamin D sendiri bersifat protektif terhadap hal tersebut, karena memiliki efek anti inflamatori. Sel β pankreas memiliki reseptor spesifik untuk 1,25(OH)₂D yaitu bentuk aktif vitamin D, yang mengatur sekresi insulin. Vitamin D juga memiliki menstimulasi ekspresi dari reseptor insulin dan memicu respon insulin terhadap glukosa, serta menyediakan kalsium sitosol intraselular yang cukup untuk kepentingan sekresi insulin melalui regulasi fluks kalsium membran sel,

sehingga vitamin D dapat disimpulkan memiliki efek positif terhadap resistensi insulin.⁶⁵

B. Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep Penelitian

C. Hipotesis

1. Ada perbedaan karakteristik fisik (nilai pH dan viskositas) kefir susu kambing dengan waktu fortifikasi vitamin D₃ yang berbeda.
2. Ada perbedaan mutu gizi (vitamin D₃, protein, lemak, serat, total BAL) pada kefir susu kambing dengan waktu fortifikasi vitamin D₃ yang berbeda.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Ruang Lingkup Penelitian

1. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian yang dilakukan berada dalam lingkup bidang Ilmu Teknologi Pangan terkait *food production*.

2. Ruang Lingkup Tempat

Pembuatan kefir susu kambing, fortifikasi vitamin D₃, pengujian karakteristik fisik dan kandungan gizi kefir susu kambing akan dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang.

3. Ruang Lingkup Waktu

- | | |
|---------------------------|------------------|
| a. Pembuatan proposal | : Juni-Juli 2016 |
| b. Penelitian pendahuluan | : November 2016 |
| c. Penelitian utama | : November 2016 |
| d. Pengolahan data | : Desember 2016 |
| e. Penulisan KTI | : Januari 2017 |

B. Rancangan Penelitian

Variabel independen dari penelitian ini adalah waktu fortifikasi vitamin D₃, sedangkan variabel dependennya adalah karakteristik fisik dan mutu gizi kefir susu kambing.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental rancangan acak lengkap dengan fortifikasi vitamin D₃ pada jam ke-0, jam ke-6, jam ke-12, jam ke-18, jam ke-24, dan 1 kelompok kontrol (tanpa penambahan vitamin D₃) (t=6), yang disimbolkan dengan A1, A2, A3, A4, A5, dan A0. Berdasarkan rumus Gomez, yaitu $(r-1)(t-1) \geq 15$, didapatkan bahwa jumlah pengulangan (r) adalah $r \geq 4$, sehingga didapatkan 24 satuan percobaan. Namun karena beberapa keterbatasan, setiap kelompok hanya dilakukan 3 kali pengulangan. Sampel

tersebut akan dianalisis mutu gizi (kadar vitamin D₃, protein, lemak, serat, dan total BAL) dan karakteristik fisiknya (pH dan viskositas). Rancangan penelitian terangkum dalam Gambar 3.

C. Subjek Penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah kefir susu kambing yang difortifikasi dengan vitamin D₃. Fortifikasi dilakukan pada jam yang berbeda, yaitu pada jam ke-0, jam ke-6, jam ke-12, jam ke-18, dan jam ke-24. Bahan utama yang digunakan untuk pembuatan kefir susu kambing adalah bibit kefir dan susu kambing. Susu yang digunakan merupakan susu kambing peranakan Ettawah yang berasal dari peternak di Ungaran. Bibit kefir diperoleh dari sumber yang sama, namun dikembangbiakkan sendiri oleh peneliti hingga mencapai jumlah yang cukup untuk penelitian. Fortifikasi akan dilakukan dengan kadar vitamin D₃ 42IU/100 g.⁵⁴ Kelompok kontrol merupakan susu kambing yang dibuat menjadi kefir menggunakan bibit kefir yang sama, tetapi tanpa perlakuan fortifikasi apapun.

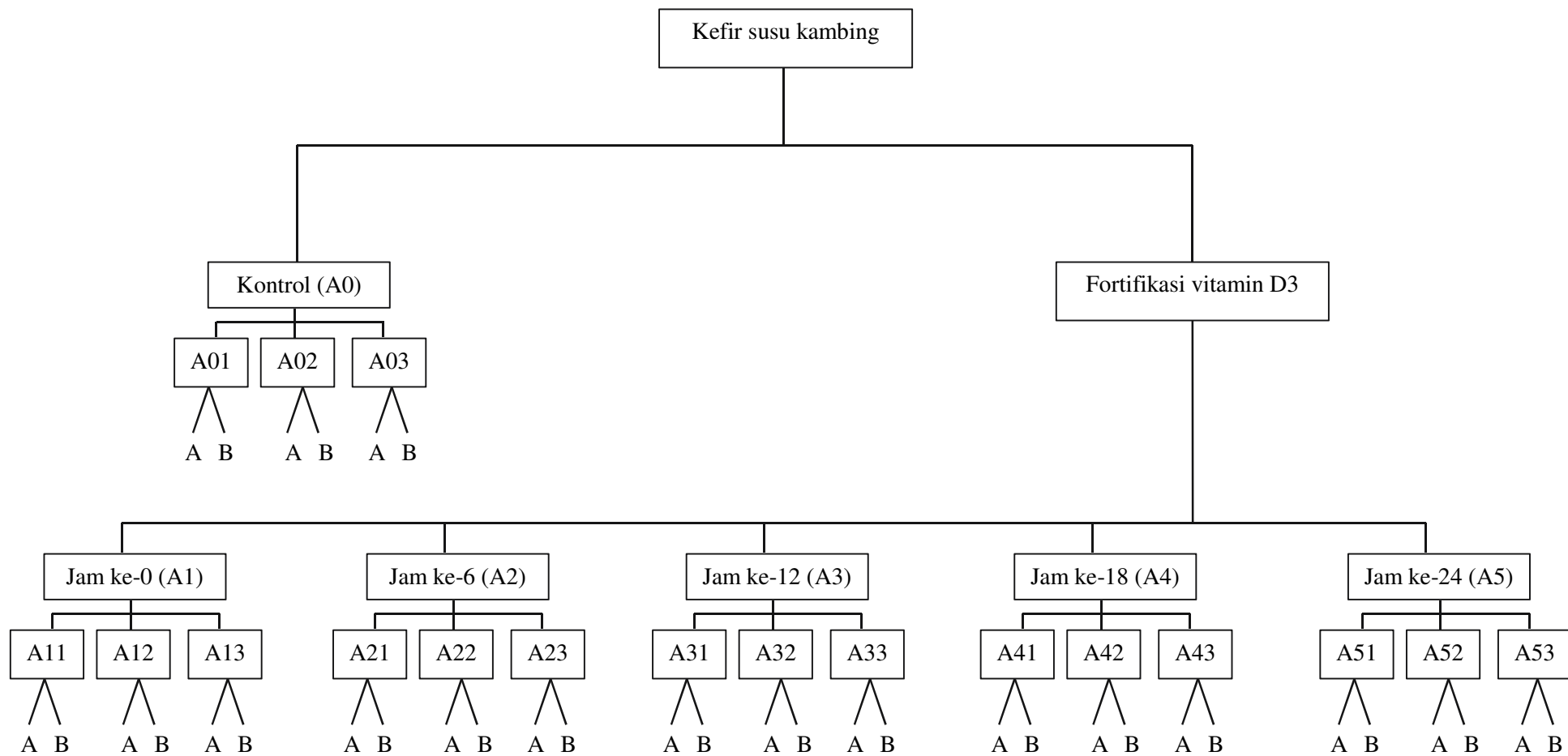
D. Tahap Penelitian

1. Penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan bertujuan untuk menentukan kandungan gizi awal pada susu kambing, yaitu kandungan vitamin D₃, kadar lemak, protein, karbohidrat.

2. Penelitian utama

Pada penelitian utama akan dilakukan pembuatan kefir susu kambing menggunakan bibit kefir serta akan dilakukan fortifikasi vitamin D₃. Setelah itu akan dilakukan analisis karakteristik fisik dan mutu gizi pada kefir. Karakteristik fisik yang akan dianalisis adalah viskositas dan pH. Mutu gizi yang akan dianalisis adalah kandungan vitamin D₃, kadar lemak, protein, serat, dan total BAL pada kefir susu kambing.



Gambar 3. Rancangan Penelitian

Keterangan:

Ax = Kelompok perlakuan

Axx = Pengujian tiap kelompok

A dan B = Pengujian secara duplo

E. Variabel dan Definisi Operasional

Variabel independen dari penelitian ini adalah waktu fortifikasi vitamin D₃, sedangkan variabel dependen dari penelitian ini adalah karakteristik fisik dan mutu gizi kefir susu kambing. Berikut adalah definisi operasional dari penelitian ini.

1. Waktu Fortifikasi

Waktu fortifikasi adalah waktu untuk dilakukan fortifikasi vitamin D₃ kepada kefir susu kambing pada kelompok perlakuan. Waktu dipilih berdasarkan kurva pertumbuhan mikroorganisme dalam kefir.³⁴

Hasil ukur : a. Jam ke-0
b. Jam ke-6
c. Jam ke-12
d. Jam ke-18
e. Jam ke-24

Skala : Interval

2. Mutu Gizi

a. Kadar Vitamin D₃

Kadar vitamin D₃ adalah hasil analisis vitamin D₃ yang terkandung dalam kefir susu kambing pada kelompok kontrol dan perlakuan, analisis dilakukan dengan metode spektrofotometri.

Hasil ukur : IU

Skala : ratio

b. Kadar protein

Kadar protein adalah hasil analisis jumlah protein yang terkandung dalam kefir susu kambing pada kelompok kontrol dan perlakuan, diukur dengan metode Bradford.

Hasil ukur : %

Skala : ratio

c. Kadar lemak

Kadar lemak adalah hasil analisis jumlah lemak yang terkandung dalam kefir susu kambing pada kelompok kontrol dan perlakuan, diukur dengan metode Babcock.

Hasil ukur : %

Skala : ratio

d. Kadar serat kasar

Kadar serat kasar adalah hasil analisis jumlah kandungan serat kasar yang terkandung dalam kefir susu kambing pada kelompok kontrol dan perlakuan, diukur dengan metode gravimetri.

Hasil ukur : %

Skala : ratio

e. Total bakteri asam laktat (BAL)

Total BAL adalah hasil analisis jumlah bakteri asam laktat yang terkandung dalam kefir susu kambing pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, diukur dengan metode *Standard Plate Count* (SPC).

Hasil ukur : CFU/ml

Skala : ratio

3. Karakteristik fisik

a. Viskositas

Merupakan hasil analisis viskositas dari kefir susu kambing pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, diukur dengan *viscometer*.

Hasil ukur : cm/s^2

Skala : ratio

b. Nilai pH

Nilai pH (derajat keasaman) merupakan hasil analisis kadar asam kefir susu kambing pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, diukur dengan pH meter.

Skala : Ratio

F. Pengumpulan Data

Data primer dari penelitian ini didapatkan dari hasil penelitian, sedangkan data sekunder diperoleh dari literatur dan jurnal ilmiah.

1. Data Primer: data yang diperoleh berasal dari hasil penelitian, mencakup kadar vitamin D₃, lemak, protein, serat, nilai pH, viskositas, dan total BAL pada kefir susu kambing.
2. Data Sekunder: Codex Alimentarius kefir.

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Analisis Univariat

Dilakukan dengan cara menghitung rata-rata dari hasil pengukuran karakteristik fisik (viskositas dan pH) dan kandungan gizi (vitamin D₃, lemak, protein, serat, total BAL). Kenormalan data diukur menggunakan *Shapiro-wilk*.

2. Analisis Bivariat

Dilakukan uji bivariat menggunakan uji statistik, yaitu uji *one way* ANOVA (jika data berdistribusi normal) atau menggunakan *Kruskal-Wallis* (jika data berdistribusi tidak normal) untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna dari karakteristik fisik (viskositas, pH) dan mutu gizi (vitamin D₃, lemak, protein, serat, dan total BAL) pada kefir susu kambing antara kelompok kontrol dan perlakuan. Uji dilakukan dengan derajat kepercayaan 95% dan $\alpha = 0.05$. Ho diterima jika nilai *p value* > 0.05, berarti tidak ada perbedaan yang bermakna dari karakteristik fisik dan

mutu gizi kefir susu kambing dengan waktu fortifikasi vitamin D₃ yang berbeda. Apabila p value < 0.05 maka Ho ditolak, berarti ada ada perbedaan yang bermakna dari karakteristik fisik dan mutu gizi kefir susu kambing dengan waktu fortifikasi vitamin D₃ yang berbeda.

Setelah itu, dilakukan uji lanjut (*posthoc test*) jika ditemukan analisis dengan *one way* ANOVA menyatakan adanya perbedaan yang bermakna. Untuk menentukan uji yang digunakan, perlu melihat koefisien keragaman yang didapat dengan rumus:

$$KK = \frac{\sqrt{RKD}}{\bar{Y}} \times 100\%$$

Keterangan:

KK = Koefisien keragaman

RKD = Rata-rata kuadrat dalam

\bar{Y} = Rata-rata keseluruhan

- a. Jika KK besar (minimal 10% pada kondisi homogen), digunakan uji Duncan.
- b. Jika KK sedang (minimal 5-10% pada kondisi homogen), digunakan uji LSD (*Least Significant Different* atau Beda Nyata Terkecil).
- c. Jika KK kecil (minimal 5% pada kondisi homogen), digunakan uji HSD (*Honest Significant Diffenence* atau Beda Nyata Jujur) atau Tukey.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kumar V, Abbas A, Aster J. Robbins basic pathology. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2013. p. 739-42.
2. Nelms M, Sucher KP, Lacey K, Roth SL. Nutrition therapy and pathophysiology. 2nd ed. Wadsworth: Cengage Learning; 2011. p. 199-200.
3. Cristina M, José F, Nóbrega D, Arlete M, Schimith M. Insulin resistance in obese children and. *J Pediatr. Sociedade Brasileira de Pediatria*; 2014;90(6):600–7.
4. Gallagher EJ, LeRoith D, Karnieli E. Insulin Resistance in Obesity as the Underlying Cause for Metabolic Syndrome. *Mt Sinai J Med*. 2010;77(2):511–23.
5. Kementrian Kesehatan RI. Situasi dan Analisis Diabetes. Jakarta; 2014.
6. Alissa EM, Alnahdi WA, Alama N, Ferns GA. Insulin resistance in Saudi postmenopausal women with and without metabolic syndrome and its association with vitamin D deficiency. *J Clin Transl Endocrinol. Elsevier Inc*. All rights reserved; 2015;2(1):42–7.
7. Kampmann U, Mosekilde L, Juhl C, Moller N, Christensen B, Rejnmark L, et al. Effects of 12 weeks high dose vitamin D3 treatment on insulin sensitivity, beta cell function, and metabolic markers in patients with type 2 diabetes and vitamin D insufficiency: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Metabolism*. 2014;63(9):1115–24.
8. Chen M, Liu J, Lin C, Yeh Y. Study of the microbial and chemical properties of goat milk kefir produced by inoculation with Taiwanese kefir grains. *J. Anim Sci*. 2005;18(5):711-5.
9. Park YW, Juarez MJ, C MR, Haenlein GFW. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rumin Res*. 2007;68:88–113.
10. Tratnik L, Bozanic R, Zoran H, Drgalic I. The quality of plain and supplemented kefir from goat' s and cow' s milk. *J Dairy Technology*. 2006;59(1):41-5.
11. Hashemi Gahruie H, Eskandari MH, Mesbahi G, Hanifpour MA. Scientific

- and technical aspects of yogurt fortification: A review. *Food Sci Hum Wellness*. 2015;4(1):1–8.
12. Leite AMO, Miguel MAL, Peixoto RS, Paschoalin VMF, Mayo B. Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains. *J Dairy Sci*. 2015;98(6):3622–32.
 13. Liu J, Lin Y, Chen M, Chen L, Lin C, Al LIU, et al. Antioxidative activities of kefir. *J Anim Sci*. 2005;18(4):567-73.
 14. Ostadrahimi A, Taghizadeh A, Mobasser M, Farrin N, Payahoo L, Beyramalipoor Gheshlaghi Z, et al. Effect of probiotic fermented milk (kefir) on glycemic control and lipid profile in type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Iran J Public Health*. 2015;44(2):228–37.
 15. Hafeez Z, Cakir-kiefer C, Roux E, Perrin C, Miclo L, Dary-mourot A. Strategies of producing bioactive peptides from milk proteins to functionalize fermented milk products. *FRIN*. 2014;63:71–80.
 16. Ferreira IMPLVO, Pinho O, Monteiro D, Faria S, Cruz S, Perreira A, et al. Short communication: Effect of kefir grains on proteolysis of major milk proteins. *J Dairy Sci*. 2010;93(1):27–31.
 17. Álvarez-Martín P, Flórez AB, Hernández-Barranco A, Mayo B. Interaction between dairy yeasts and lactic acid bacteria strains during milk fermentation. *Food Control*. 2008;19(1):62–70.
 18. Jenab A, Roghanian R, Emtiazi G. Encapsulation of platelet in kefir polymer and detection of bioavailability of immobilized platelet in probiotic kefir as a new drug for surface bleeding. *J Med Bacteriol*. 2015;4(3):55–66.
 19. Irigoyen A, Arana I, Castiella M, Torre P, Ibanez FC. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *J Food Chem*. 2005;90:613–20.
 20. Hayek SA, Ibrahim SA. Current Limitations and Challenges with Lactic Acid Bacteria : A Review. *Food Nutr Sci*. 2013;4:73–87.
 21. Chen Z, Shi J, Yang X, Nan B, Liu Y, Wang Z. Chemical and physical

- characteristics and antioxidant activities of the exopolysaccharide produced by Tibetan kefir grains during milk fermentation. *Int Dairy J.* 2015;43:15–21.
22. Ghasemlou M, Khodaiyan F, Oromiehie A, Saeid M. Development and characterisation of a new biodegradable edible film made from kefiran , an exopolysaccharide obtained from kefir grains. *J Food Chem.* 2011;127(4):1496–502.
 23. Teruya K, Yamashita M, Tominaga R, Nagira T, Shim SY, Katakura Y, et al. Fermented milk, kefir-kefir enhances glucose uptake into insulin-responsive muscle cells. *J Cytotechnology.* 2003;40(1-3):107–16.
 24. Satir G, Guzel-seydim ZB. How kefir fermentation can affect product composition?. *J Small Rum Res. Elsevier B.V.;* 2016;134:1–7.
 25. Haryadi, Nurliana, Sugito. Nilai pH dan jumlah bakteri asam laktat kefir susu kambing setelah difermentasi dengan penambahan gula dengan lama inkubasi yang berbeda. *J Medika Veterinaria.* 2013;7(1):1–4.
 26. Farnworth ER. Kefir – a complex probiotic. *Food Science Technology.* 2003;1–17.
 27. Martharini D, Indratiningsih I. Kualitas Mikrobiologis dan Kimiawi Kefir Susu Kambing dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan Tepung Kulit Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca*). *Agritech.* 2017;37(1):22–9.
 28. Viljoen BC. The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *Int J Food Microbiol.* 2001;69(1-2):37–44.
 29. Bender DA. *Introduction to nutrition and metabolism.* 4th ed. USA; 2008. p. 335-6.
 30. WHO, FAO. *Guidelines on food fortification with micronutrients.* 2006. p. 22, 24, 81-4, 130-1.
 31. Arif S, Vieth R. Vitamin D₃ fortification and quantification in processed dairy products. *Int Dairy J.* 2007;17:753–9.
 32. Cashman KD. Vitamin D: dietary requirements and food fortification as a means of helping achieve adequate vitamin D status. *J Steroid Biochem*

- Mol Biol. 2015;148:19–26.
33. Kaushik R, Sachdeva B, Arora S, Kapila S, Wadhwa BK. Bioavailability of vitamin D₂ and calcium from fortified milk. *J Food Chem.* 2014;147:307–11.
 34. Leite AMO, Leite D, Del Aguila E, Alvares T, Peixoto R, Miguel M, et al. Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. *J Dairy Sci. American Dairy Science Association*; 2013;96(7):4149–59.
 35. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000;106(2):171–6.
 36. Bonomini F, Rodella LF, Rezzani R. Metabolic syndrome, aging and involvement of oxidative stress. *Aging Dis.* 2015;6(2):109.
 37. Mariash CN. Vitamin D3 supplementation improves insulin sensitivity in subjects with impaired fasting glucose. *J Transl Res.* 2011;158(5):276–81.
 38. Muchtadi TR, Sugiyono, Ayustaningwarno F. Ilmu pengetahuan bahan pangan. Bogor: Alfabeta; 2010. p. 58, 74.
 39. Raynal-Ijutovac K, Lagriffoul G, Paccard P, Guillet I, Chilliard Y. Composition of goat and sheep milk products : An update. *J Small Rum Res.* 2008;79:57–72.
 40. Boycheva S, Dimitrov T, Naydenova N. Quality Characteristics of Yogurt from Goat' s Milk, Supplemented with Fruit Juice. *J Biochemistry.* 2011;29(1):24–30.
 41. Sanz L, Ramos E, De G, Adarve T, Castro DJ, Martinez LP, et al. Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology. *J Food Composition Analysis* 2009;22:322–9.
 42. Ahmed AS, El-Bassiony T, Elmalt LM, Ibrahim HR. Identification of potent antioxidant bioactive peptides from goat milk proteins. *Food Res Int.* 2015;74:80–8.
 43. Park YW, Haenlein GFW, editors. Handbook of milk of non-bovine mammals [Internet]. USA: Blackwell Publishing; 2006 [diakses pada 18

Agustus 2016]. p. 50. Tersedia pada:

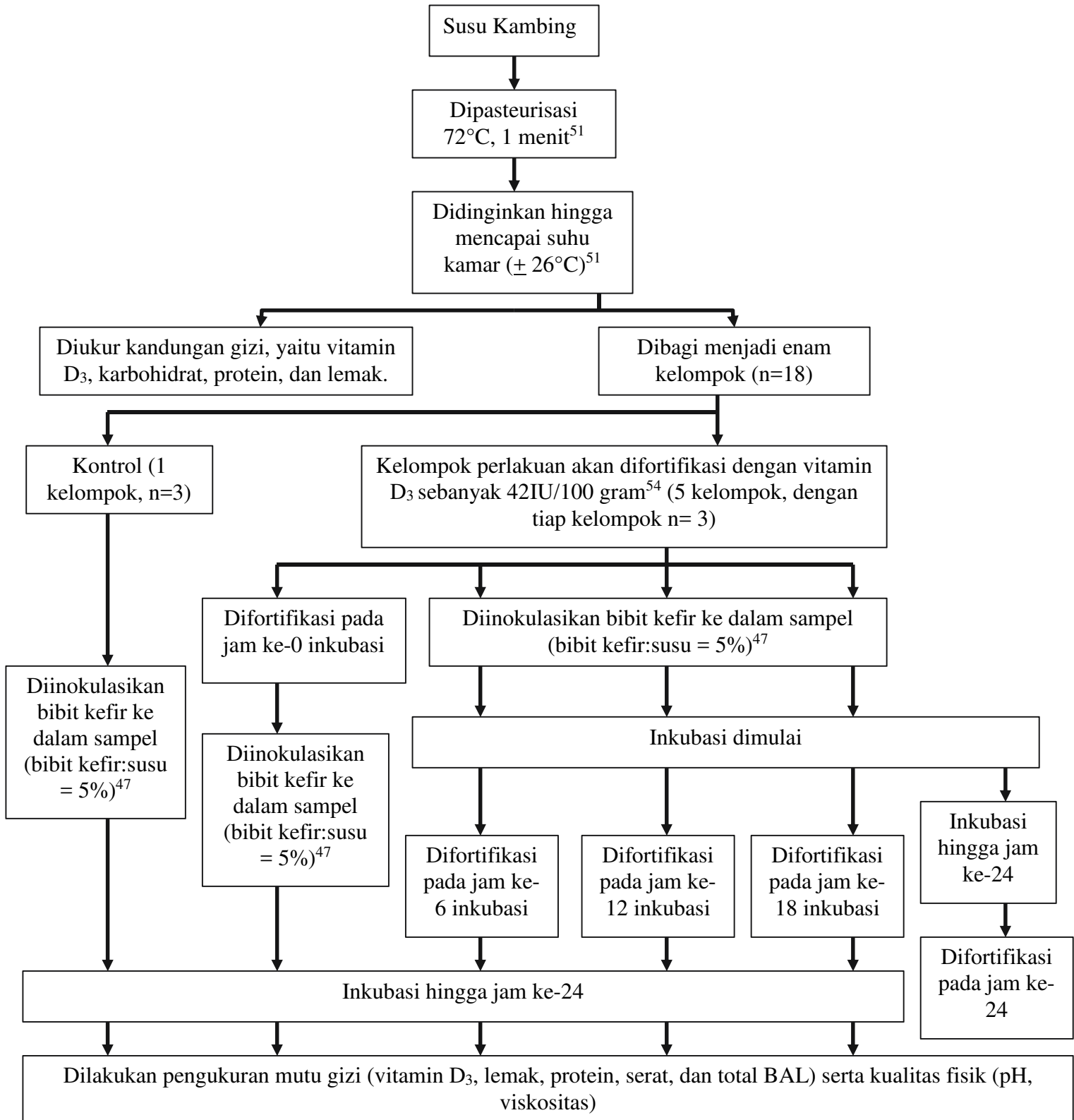
https://books.google.co.id/books?hl=en&lr=&id=_Z11Nm61qWwC&oi=fn&pg=PA34&dq=vitamin+d+in+goat+milk&ots=RKpA5O-bbd&sig=DOfWW4DyursIDn082sXQto3N6tI&redir_esc=y#v=onepage&q=vitamin+d+in+goat+milk&f=false

44. Gaware V, Kotade K, Dolas R, Dhamak K. ewnewsletter Gaware et al . The magic of kefir : a review. *J Pharamcologyonline*. 2011;386:376–86.
45. Machado A, Leite DO, Antonio M, Miguel L, Peixoto RS, Rosado AS, et al. Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir : a natural probiotic beverage. *J Brazilian Microbiology*. 2013;349:341–9.
46. Wang Y, Ahmed Z, Feng W, Li C, Song S. Physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir. *Int J Biol Macromol*. 2008;43(3):283–8.
47. Setyawardani T, Rahardjo AHD, Sulistyowati M, Wasito S. Physicochemical and organoleptic features of goat milk kefir made of different kefir grain concentration on controlled fermentation. *Animal Production*. 2014;16(1):48–54.
48. Prado MR, Blandón LM, Vandenberghe LPS, Rodrigues C, Castro GR, Thomaz-Soccol V, et al. Milk kefir: Composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Front Microbiol*. 2015;6(1177):1–10.
49. Wang Y, Li C, Liu P, Ahmed Z, Xiao P, Bai X. Physical characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* KF5 isolated from Tibet Kefir. *Carbohydr Polym*. 2010;82(3):895–903.
50. Maeda H, Zhu X, Mitsuoka T. Effects of an exopolysaccharide (kefiran) from *Lactobacillus kefiranofaciens* on blood glucose in KKAY Mice and constipation in SD rats induced by a low-fiber diet. *Bioscience and Microflora*. 2004;23(4):149–53.
51. Pawlos M, Znamirska A, Szajnar K, Kalicka D. The influence of the dose of calcium bisglycinate on physicochemical properties, sensory analysis and texture profile of kefir during 21 days of cold storage. *Acta*

- Sci Pol Technol Aliment. 2016;15(1):37–45.
52. Magalhães KT, de Melo Pereira GV, Campos CR, Dragone G, Schwan RF. Brazilian kefir: Structure, microbial communities and chemical composition. *Brazilian J Microbiol.* 2011;42(2):693–702.
 53. Maria C, Fontan G I, Martinez S, Franco I, Carballo J. Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. *J Int Dairy.* 2006;16:762–7.
 54. Patterson KY, Phillips KM, Horst RL, Byrdwell WC, Exler J, Harnly JM, et al. Variability in the vitamin D₃ content of 2 % milk from a nationwide United States Department of Agriculture (USDA) sampling. USDA, Bestville Human Nutrition Reseach Center. 2008.
 55. Calvo MS, Whiting SJ. Biology survey of current vitamin D food fortification practices in the United States and Canada. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;136:211–3.
 56. Maria KA, Agnieszka P. The new insight on the regulatory role of the vitamin D₃ in metabolic pathways characteristic for cancerogenesis and neurodegenerative diseases. *Ageing Res Rev. Elsevier B.V.;* 2015;24:126–37.
 57. Gropper SS, Smith JL, Groff JL. *Advanced nutrition and human metabolism.* 5th ed. Canada: Wadsworth Cengage Learning; 2009. p. 392–9.
 58. Whitney E, Rolfes SR. *Understanding nutrition.* 12th ed. Wadsworth: Cengage Learning; 2011. p. 363–6.
 59. Biancuzzo RM, Young A, Bibuld D, Cai MH, Winter MR, Klein EK, et al. Fortification of orange juice with vitamin D₂ or vitamin D₃ is as effective as an oral supplement in maintaining vitamin D status in adults 1 – 4. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(35):2–7.
 60. Hasanvand E, Fathi M, Bassiri A, Javanmard M. Food and Bioproducts Processing Novel starch based nanocarrier for vitamin D fortification of milk: Production and characterization. *Food Bioprod Process.* 2015;96:264–77.

61. Ozturk B, Argin S, Ozilgen M, McClements DJ. Nanoemulsion delivery systems for oil-soluble vitamins: Influence of carrier oil type on lipid digestion and vitamin D₃ bioaccessibility. *Food Chem.* 2015;187:499–506.
62. Ganesan B, Brothersen C, McMahon DJ. Fortification of Cheddar cheese with vitamin D does not alter cheese flavor perception. *J Dairy Sci.* 2011;94(7):3708–14.
63. Cardoso-sánchez LI, Gómez-díaz RA, Wachter NH. Vitamin D intake associates with insulin resistance in type 2 diabetes , but not in latent autoimmune diabetes in adults. *Nutr Res.* 2015;35(8):689–99.
64. Park S, Kim DS, Kang S. Vitamin D deficiency impairs glucose-stimulated insulin secretion and increases insulin resistance by reducing PPAR- γ expression in nonobese Type 2 diabetic rats. *J Nutritional Biochemistry.* 2016;27:257–65.
65. Jafari T, Faghihimani E, Feizi A, Iraj B, Javanmard SH, Esmailzadeh A, et al. Effects of vitamin D-fortified low fat yogurt on glycemic status, anthropometric indexes, inflammation, and bone turnover in diabetic postmenopausal women: A randomised controlled clinical trial. *Clin Nutr.* 2014;35(1):67–76.
66. Rajput KA and G. To Develop a Simple (UV-VIS Spectrometric) Method for the Estimation of Multivitamin with Special Reference to Capsules & Tablets. *Int J Pharmagenes.* 2011;2(June):43–8.

Lampiran 1. Alur Kerja



Lampiran 2. Prosedur Pembuatan Kefir Susu Kambing^{38,47}

1. Susu kambing segar dipasteurisasi pada 72°C selama 1 menit. Didinginkan hingga 26°C.
2. Diinokulasikan bibit kefir dengan rasio 5% dengan susu kambing. Dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 3 sampel (1 kelompok kontrol, 5 kelompok perlakuan).
3. Dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu kamar (26°C). Dilakukan fortifikasi (42 IU vitamin D₃ / 100 gram kefir) pada kelompok perlakuan selama masa inkubasi yaitu jam ke-0, 6, 12, 18, 24.
4. Bila susu sudah menggumpal dilakukan penyaringan dengan saringan plastik untuk mengambil bibit kefir. Telah didapatkan kefir susu kambing yang sudah difortifikasi.

Lampiran 3. Prosedur Fortifikasi

1. Menyiapkan lima kelompok perlakuan (n=18) sampel susu kambing yang telah dipasteurisasi.
2. Sampel kelompok A1 ditambah 42 IU vitamin D₃ setiap 100 mg kefir susu kambing, kemudian diaduk rata. Setelah itu, kefir kelompok A1 akan diinkubasi selama 24 jam.
3. Sampel kelompok A2 diinkubasi terlebih dahulu selama 6 jam, lalu akan ditambah 42 IU vitamin D₃ setiap 100 mg kefir susu kambing dan diaduk rata. Setelah itu, kefir kelompok A2 akan melanjutkan inkubasi hingga jam ke-24.
4. Sampel kelompok A3 diinkubasi terlebih dahulu selama 12 jam, lalu akan ditambah 42 IU vitamin D₃ setiap 100 mg kefir susu kambing dan diaduk rata. Setelah itu, kefir kelompok A3 akan melanjutkan inkubasi hingga jam ke-24.
5. Sampel kelompok A4 diinkubasi terlebih dahulu selama 18 jam, lalu akan ditambah 42 IU vitamin D₃ setiap 100 mg kefir susu kambing dan diaduk rata. Setelah itu, kefir kelompok A4 akan melanjutkan inkubasi hingga jam ke-24.
6. Sampel kelompok A4 diinkubasi selama 24 jam. Setelah inkubasi selesai, kefir akan ditambahkan dengan 42 IU vitamin D₃ setiap 100 mg kefir susu kambing dan diaduk rata.

Lampiran 4. Prosedur Uji

1. Prosedur Penetapan Kadar Protein (Metode Bradford)

a. Pembuatan Reagen Bradford

- 1.) Menimbang 10 mg CBB, lalu dilarutkan dalam 5 ml etanol 95%.
- 2.) Menambahkan 10 ml asam fosfat 85%.
- 3.) Larutan diencerkan dengan aquades sampai 100 ml.
- 4.) Larutan disaring dengan kertas saring.

b. Pembuatan Kurva Standar

- 1.) Menyiapkan 6 mikrotube bersih dan kering.
- 2.) Larutan di masing-masing mikrotube diaduk menggunakan *vortex* sampai tercampur.
- 3.) Menyiapkan 6 mikrotube yang bersih dan kering kembali.
- 4.) Sebanyak 20 mikroliter larutan di masing-masing mikrotube diambil dan dipindahkan ke mikrotube yang telah disiapkan kembali.
- 5.) Sebanyak 1000 mikroliter reagen Bradford ditambahkan ke dalam mikrotube, kemudian diaduk menggunakan *vortex*.
- 6.) Sampel diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruang.
- 7.) Baca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.
- 8.) Catat hasilnya lalu buat kurva regresi.

c. Pengujian Sampel

-Blanko standar

- 1.) Ambil 20 mikroliter pelarut yang digunakan.
- 2.) Sebanyak 1000 mikroliter reagen Bradford ditambahkan kemudian diaduk dengan *vortex*.
- 3.) Dilakukan inkubasi selama 1 jam pada suhu ruang.
- 4.) Baca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm, kemudian hasil dicatat.

-Sampel

- 1.) Ambil 20 mikroliter sampel cair.
- 2.) Sebanyak 1000 mikroliter reagen Bradford ditambahkan

kemudian diaduk dengan *vortex*.

3.) Dilakukan inkubasi selama 1 jam pada suhu ruang.

4.) Baca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm, kemudian hasil dicatat.

2. Prosedur Penetapan Kadar Lemak (Metode Babcock)

- a. Sebanyak 18 g sampel susu murni ditimbang lalu dimasukkan dalam botol Babcock, kemudian ditambahkan H₂SO₄ sebanyak 17,5 mL secara perlahan, kocok hingga sampel tercampur dengan H₂SO₄.
- b. Botol Babcock disentrifugasi selama 10-15 menit.
- c. Air panas ditambahkan sampai larutan dalam botol Babcock naik menyentuh leher botol Babcock.
- d. Dilakukan sentrifugasi selama 5 menit.
- e. Menambahkan lagi air panas hingga lemak cair terletak di bawah sampai miniskus atau menyentuh batas ukur kapiler.
- f. Memasukkan botol Babcock ke dalam air hangat (55-60°C) selama 3 menit atau lebih.
- g. Botol Babcock dikeringkan dan dilakukan pengukuran kolom lemak dari bawah sampai miniskus atau dengan batas pengukur kapiler atau lainnya.

Perhitungan:

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \square \frac{\text{skala} \times \text{massa sampel}}{\text{massa yang ditimbang}} \times 100\%$$

3. Prosedur Penetapan Serat Kasar dengan metode Gravimetri

- a. Menimbang dengan teliti kurang lebih 5 gram sampel dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL.
- b. Ditambahkan 100 mL H₂SO₄ 0,325 N ke dalam erlenmeyer dan dididihkan selama kurang lebih 30 menit.
- c. Ditambahkan NaOH 1,25 N sebanyak 50 mL dan dididihkan selama 30 menit.
- d. Setelah 30 menit kemudian dalam keadaan panas disaring dengan

kertas saring Whatman 40 yang sudah diketahui bobot keringnya.

- e. Endapan yang tersisa dicuci berturut-turut dengan air panas, 25 mL H₂SO₄ dan etanol 95%.
- f. Setelah itu, hasil endapan dikeringkan dalam oven dengan suhu 100-110°C sampai bobot konstan.
- g. Kertas saring didinginkan dalam desikator dan ditimbang,

Perhitungan:

$$\% \text{ Serat} = \frac{b}{a} \times 100\%$$

Keterangan:

a: berat endapan kering (g)

b: berat sampel (g)

4. Prosedur Pengukuran Kadar Vitamin D₃ (Metode Spektrofotometri)⁶⁶

- Preparasi Standard

- a. Timbang 25 mg Vitamin D₃, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml.
- b. Tambahkan larutan kloroform:metanol=1:9 hingga batas labu ukur.
- c. Campur hingga rata.
- d. Analisis dengan spektrofotometer dalam panjang gelombang 264 nm.
- e. Catat hasil dan buat kurva regresi dan persamaan garisnya.

- Preparasi sampel

- a. Timbang sampel setara dengan 40 IU Vitamin D₃, lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml.
- b. Tambahkan larutan kloroform:metanol=1:9 hingga batas labu ukur.
- c. Campur hingga rata.
- d. Analisis dengan spektrofotometer dalam panjang gelombang 264 nm.
- e. Catat hasil, kemudian masukkan absorbansi ke persamaan yang didapat dari standar untuk mendapatkan konsentrasi Vitamin D₃.

5. Prosedur Pengukuran Viskositas⁶³

a. □ Mengukur berat jenis menggunakan piknometer, dengan cara:

- 1) menimbang piknometer kosong (m), lalu 10 mL aquades dimasukkan ke dalam piknometer, kemudian menimbang piknometer yang sudah terisi,
- 2) memasukkan sampel ke dalam piknometer sebanyak 10 mL, kemudian menimbang piknometer yang telah terisi (m').

Perhitungan:

$$\rho \text{ kefir} = \frac{m' - m}{v}$$

Keterangan:

m : massa piknometer kosong (g)

m' : massa piknometer + kefir (g)

v : volume piknometer (mL)

b. Pengujian viskositas dengan Pipa Ostwald:

- 1) aquades sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam Pipa Ostwald dan dihisap sampai tanda merah tera di bagian atas,
- 2) mencatat waktu turun aquades sampai tanda tera di bagian bawah dihitung (t air),
- 3) sampel sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam Pipa Ostwald dan dihisap sampai tera di bagian atas,
- 4) mencatat waktu turun sampel sampai tanda tera di bagian bawah (t kefir).

Perhitungan:

$$\text{Viskositas} = \frac{\rho \text{ kefir} \times t \text{ kefir}}{\rho \text{ air} \times t \text{ air}} \times \eta \text{ air}$$

Keterangan:

ρ kefir: berat jenis kefir (g/mL)

t kefir : waktu alir kefir (detk)

ρ air : berat jenis air (1,0 g/mL)

t air : waktu alir air (detik)

η air : viskositas air (1,0 cP)

6. Prosedur Penetapan pH⁶⁴

- a. pH meter dikalibrasi dengan larutan buffer pH setiap akan melakukan pengukuran.
- b. Elektroda dibersihkan dengan air suling, kemudian dicelupkan ke dalam contoh yang akan diperiksa.
- c. Angka yang muncul pada pH meter dicatat.

7. Prosedur Pengujian Total BAL

- a. Sterilisasi semua alat dan media yang akan digunakan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 2 jam dan tekanan 1 atm.
- b. Pengenceran sampel
 - 1.) Menyiapkan 9 tabung reaksi steril yang sudah diisi dengan NaCl 0,85% steril sebanyak 9 mL.
 - 2.) Memasukkan sampel yang telah diaduk sebanyak 1 mL ke dalam tabung pertama (10^{-1}), homogenkan dengan pipet.
 - 3.) Mengambil 1 mL dari tabung pertama, lalu masukkan ke tabung kedua (10^{-2}), homogenkan dengan pipet.
 - 4.) Lakukan prosedur yang sama hingga didapat pengenceran 10^{-3} sampai 10^{-9} .
- c. Penanaman.
 - 1.) Menyiapkan cawan petri yang telah disterilisasi.
 - 2.) Cawan petri diberi tanda sesuai dengan tingkat pengenceran yang akan ditanam (10^{-5} hingga 10^{-9}).
 - 3.) Untuk cawan petri blanko tambahkan 1 mL NaCl 0,85%.
 - 4.) Masukkan 1 mL suspensi dari tabung 10^{-5} ke dalam cawan petri dengan label yang sama. Lakukan hal yang sama untuk pengenceran 10^{-5} hingga 10^{-9} .
 - 5.) Tuang media MRSA sebanyak 15-20 mL ke dalam masing-masing cawan petri.

- 6.) Cawan petri yang telah dituang media langsung digoyang atau diputar hingga suspensi tersebar merata.
- 7.) Tunggu hingga media memadat, kemudian cawan petri dibungkus dengan *plastic wrap*.
- 8.) Inkubasi dalam posisi terbalik pada suhu 35-37°C selama 24-48 jam.
- 9.) Jika masa inkubasi telah selesai, amati dan hitung pertumbuhan koloni yang ada.

- Perhitungan koloni

Perhitungan koloni dilakukan sesuai dengan perhitungan SPC, yaitu:

$$\text{Hitung bakteri} = A - B \times \frac{1}{C} \times P$$

Keterangan:

A = Jumlah koloni sampel

B = Jumlah koloni kontrol

C = Volume sampel yang ditanam (mL)

P = Tingkat pengenceran sampel

**ANALISIS MIKROBIOLOGI DAN MUTU GIZI KEFIR
SUSU KAMBING BERDASARKAN WAKTU FORTIFIKASI
VITAMIN D₃**

Artikel Penelitian

disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada
Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro



disusun oleh :

FARAH FAUZIYYAH

22030113120028

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI
DEPARTEMEN ILMU GIZI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2017

SURAT PERNYATAAN SIAP UJIAN AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini :

1. Nama : Gemala Anjani, SP, MSi, PhD
NIP : 198006182003122001
Jabatan / Gol : Asisten Ahli / III b
Sebagai : Pembimbing I
2. Nama : Binar Panunggal, S.Gz, MPH
NIP : 198505162014041001
Jabatan / Gol : Pengajar / III b
Sebagai : Pembimbing II

Menyatakan bahwa:

Nama : Farah Fauziyyah
NIM : 22030113120028
Angkatan : 2013
Judul Proposal : Analisis Mikrobiologi dan Mutu Gizi Kefir Susu
Kambing Berdasarkan Waktu Fortifikasi Vitamin D₃

Telah siap untuk melaksanakan Ujian Akhir

Demikian surat pernyataan ini dibuat untuk menerbitkan surat undangan **Ujian Akhir**.

Semarang, 6 Juni 2017

Pembimbing Pertama,

Pembimbing Kedua,

Gemala Anjani, SP, MSi, PhD

NIP. 198006182003122001

Binar Panunggal, S.Gz, MPH

NIP. 198505162014041001

Analisis Mikrobiologi dan Mutu Gizi Kefir Susu Kambing Berdasarkan Waktu Fortifikasi Vitamin D₃

Farah Fauziyyah¹, Gemala Anjani¹, Binar Panunggal¹

ABSTRAK

Latar Belakang : Fortifikasi vitamin D₃ dilakukan untuk meningkatkan kandungan vitamin D pada kefir susu kambing. Pada saat fermentasi, mikroorganisme di dalam kefir memiliki kurva pertumbuhan yang berbeda. Waktu fortifikasi vitamin D₃ yang berbeda diduga dapat mempengaruhi karakteristik mikrobiologi dan mutu gizi pada kefir susu kambing.

Tujuan : Menganalisis karakteristik mikrobiologi dan mutu gizi kefir susu kambing berdasarkan waktu fortifikasi vitamin D₃.

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap. Perlakuan dalam penelitian ini adalah waktu fortifikasi vitamin D₃ yaitu pada jam ke- 0, 6, 12, 18, dan 24 fermentasi kefir susu kambing. Total bakteri asam laktat diukur menggunakan metode *Total Plate Count*, kandungan Vitamin D₃ dengan metode spektrofotometri, protein dengan metode *Bradford*, lemak dengan metode *Babcock*, serat kasar dengan metode gravimetri, viskositas dengan metode *Ostwald*, dan derajat keasaman dengan pH meter.

Hasil : Waktu fortifikasi vitamin D₃ mempengaruhi kandungan vitamin D₃ pada kefir susu kambing ($p=0,021$). Kandungan vitamin D₃ tertinggi didapatkan pada kelompok fortifikasi jam ke-6 ($34,65 \pm 5,64$ IU). Waktu fortifikasi vitamin D₃ mempengaruhi kandungan lemak ($p=0,001$), serat kasar ($p=0,0001$), viskositas ($p=0,010$), dan total bakteri asam laktat ($p=0,048$) kefir susu kambing. Seluruh kelompok waktu fortifikasi mengandung lemak dan serat kasar lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Jumlah bakteri asam laktat pada seluruh kelompok memenuhi standar Codex ($\geq 10^7$ CFU/ml). Viskositas kelompok fortifikasi jam ke-0, 6, 12, dan 18 lebih rendah dibanding kelompok kontrol dan kelompok fortifikasi jam ke-24. Waktu fortifikasi vitamin D₃ tidak mempengaruhi kandungan protein ($p=0,262$) dan pH ($p=0,056$) kefir susu kambing, namun terdapat tren menurun nilai pH pada seluruh kelompok waktu fortifikasi.

Simpulan : Waktu fortifikasi vitamin D₃ mempengaruhi kandungan vitamin D₃, lemak, serat kasar, viskositas, dan total bakteri asam laktat pada kefir susu kambing. Kandungan protein dan pH kefir susu kambing tidak dipengaruhi oleh waktu fortifikasi vitamin D₃.

Kata kunci : kefir susu kambing, waktu fortifikasi, vitamin D₃, bakteri asam laktat, mutu gizi.

¹Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Microbiological Characteristic and Nutrition Quality of Goat Milk Kefir Based on Vitamin D₃ Fortification Time

Farah Fauziyyah¹, Gemala Anjani¹, Binar Panunggal¹

ABSTRACT

Background : Vitamin D₃ fortification aimed to increase vitamin D content in goat milk kefir. During fermentation, microorganisms in kefir have different growth curve. Different vitamin D₃ fortification time allegedly effect microbiological characteristic and nutrition quality of goat milk kefir.

Objective : This study aimed to analyze microbiological characteristics and nutrition quality of goat milk kefir based on vitamin D₃ fortification time.

Methods : This research was a true experimental, completely randomized design. Sample for this research was splited to 6 groups, namely fortified at 0, 6, 12, 18, or 24 hours of fermentation and a group of control. Total lactic acid bacteria was analyzed by Total Plate Count. Vitamin D₃, protein level, fat contain, crude fiber, and viscosity was determined by spectrophotometry, Bradford method, Babcock method, gravimetric analysis, and Ostwald method, respectively. Acidity was measured by pH meter.

Results : Time of vitamin D₃ fortification could vary the concentration of vitamin D₃ in goat milk kefir (p=0,021), with the highest concentration was found on the group fortified after 6 hours of fermentation. Time of vitamin D₃ fortification also significantly effect the fat content (p=0,001), the crude fiber (p=0,0001), viscosity (p=0,010), and total lactic acid bacteria. All group with various vitamin D₃ fortification time has lower fat content and crude fiber content than control group. Total lactic acid bacteria in all group meet the Codex standard ($\geq 10^7$ CFU/ml). Viscosity in group fortification at 0, 6, 12, and 18 hours of fermentation has lower viscosity than other groups. There was no significant difference found in goat milk kefir protein level (p=0,262) despite the difference of fortification time. Different fortification time also did not effect pH (p=0,056) of goat milk kefir, although there was a trend that pH would decreased due to fortification time.

Conclusion : Vitamin D₃ fortification time effect vitamin D₃ content, fat content, crude fiber, viscosity, and total lactic acid bacteria of goat milk kefir. Protein and pH does not effected by vitamin D₃ fortification time.

Keywords : goat milk kefir, fortification time, vitamin D₃, lactic acid bacteria, nutrition quality.

¹ Department of Nutrition Science Medical Faculty of Diponegoro University, Semarang

PENDAHULUAN

Hormon anabolik yang dihasilkan oleh pankreas yaitu insulin meningkatkan transport glukosa menuju sel pada jaringan otot (termasuk sel myokardial), adiposa, hati, dan otak, sehingga meningkatkan sintesis serta mengurangi degradasi glikogen, lipid, dan protein.¹ Resistensi insulin menyebabkan sel tidak mampu untuk menggunakan insulin sebagai akibat dari kurangnya reseptor insulin pada sel. Kondisi tersebut mengakibatkan hiperglikemia puasa, yaitu kondisi dimana meskipun kadar glukosa darah tinggi, namun sel tetap tidak bisa menggunakannya atau seperti dalam keadaan puasa.²

Sebagian dari individu obesitas dengan resistensi insulin berkembang menjadi diabetes melitus tipe 2.³ Proporsi kasus diabetes mellitus pada usia ≥ 15 tahun di Indonesia adalah 6,9 %, dengan 90% dari kasus tersebut adalah diabetes tipe 2.⁴ Defisiensi vitamin D menjadi salah satu faktor risiko dalam patogenesis diabetes melitus tipe 2. Vitamin D menstimulasi ekspresi dari reseptor insulin pada jaringan perifer sehingga transport glukosa meningkat.⁵ Selain itu, peningkatan sensitivitas insulin sebagai respon dari status vitamin D yang membaik dapat disebabkan oleh penekanan inflamasi kronis.^{6,7}

Susu kambing, merupakan salah satu alternatif jenis susu yang ada di Indonesia. Lemak yang terdapat pada susu kambing tergolong tinggi asam lemak rantai sedang dan asam lemak rantai pendek. Jenis lemak tersebut memiliki keunggulan yaitu lebih mudah untuk diserap dan digunakan dalam metabolisme. Susu kambing memiliki kandungan protein, vitamin A, tiamin, riboflavin, niasin, pantotenat, kalsium, fosfor, yang lebih tinggi dibandingkan dengan susu sapi. Namun, baik susu kambing maupun susu sapi memiliki kandungan vitamin B6, vitamin C, dan vitamin D yang rendah.⁸

Kefir merupakan produk fermentasi susu yang dibuat dengan cara menginokulasikan bibit kefir yang terdiri dari *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterococci* spp., *Leuconostoc* spp, *Acetobacter* spp., *Bacillus* spp., *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces* sp., *Torulaspora delbrueckii*, *Brettanomyces anomalus*, *Issatchenkia occidentalis*.^{9,10} Bibit kefir memiliki potensi sebagai probiotik dan antioksidan. Stres oksidatif dapat

menyebabkan resistensi insulin, sedangkan kefir memiliki potensi antioksidan.¹¹ Selain itu, kefir sebagai minuman probiotik dapat menurunkan gula darah puasa dan HbA1C pada pasien diabetes mellitus tipe 2.¹² Kefiran dalam kefir juga mengaktivasi PI 3-kinase sehingga membantu persinyalan insulin.¹³

Kandungan bakteri asam laktat di kefir minimal 10^7 (CFU/ml) sedangkan khamir minimal 10^4 (CFU/g).^{14,15,16} Komposisi kimiawi dari susu dapat mendukung pertumbuhan khamir. Selain itu, khamir juga menyediakan faktor yang membantu pertumbuhan bakteri seperti vitamin, asam amino, dan lainnya.¹⁷ Khamir di dalam kefir memiliki aktivitas lipolisis dan proteolisis.^{18,19} Bakteri asam laktat di dalam kefir juga memiliki aktivitas proteolisis²⁰ dan lipolisis²¹. *Lactobacillus* pada kefir memproduksi kefiran dari laktosa.²² Kefiran merupakan eksopolisakarida yang berpotensi sebagai pengental, penstabil, pembentuk gel dan emulsifier.²³ Aktivitas bakteri yang kemudian menghasilkan kefiran tersebut akan mempengaruhi viskositas dari produk fermentasi yang dihasilkan.²⁴ Nilai pH kefir dipengaruhi oleh aktivitas bakteri asam laktat dan khamir yang terkandung didalamnya.²⁵ Kefir memiliki ciri yaitu pH berkisar 4,2 hingga 4,6.²⁶

Vitamin D₃ (*cholecalciferol* / *calciol*) merupakan jenis vitamin D yang didapatkan dari makanan hewani dan dapat dibentuk di kulit melalui iradiasi 7-dehidrokolesterol oleh sinar UV cahaya matahari.²⁷ Sintesis vitamin D₃ oleh kulit akan menjadi kurang optimal apabila tubuh tertutup oleh pakaian. Selain itu, sintesis vitamin D₃ dipengaruhi oleh faktor lain seperti intensitas ultraviolet, ras, dan umur. Seluruh hal tersebut dapat menjadikan rendahnya produksi vitamin D₃ di dalam kulit. Susu merupakan salah satu makanan yang mengandung vitamin D tetapi susu hanya menyediakan vitamin D yang sedikit kecuali telah difortifikasi.²⁸

Fortifikasi dilakukan untuk meningkatkan kandungan gizi pada makanan dan untuk memberikan manfaat kesehatan bagi konsumen.²⁸ Produk susu dan turunannya digunakan untuk fortifikasi vitamin D₃.^{28,29} Vitamin D₂ dan vitamin D₃ merupakan jenis vitamin D yang digunakan untuk fortifikasi.^{28,30} Vitamin D₂ memiliki retensi sebesar 76,96% pada susu yang difortifikasi,³¹ sedangkan fortifikasi vitamin D₃ pada produk susu seperti keju, yogurt, dan es krim memiliki

retensi yang lebih tinggi yaitu 95-97%, 96,6-97,8%, dan 99,8-99,3%. Retensi vitamin D₃ tersebut masih tinggi setelah melewati pembuatan yoghurt dan penyimpanan selama 4 bulan.²⁹

Di dalam kefir, mikroorganismenya memiliki kurva pertumbuhannya masing-masing. Waktu ke-0 adalah pada awal fermentasi, dimana mikroorganismenya baru akan memulai proses fermentasi. Pada jam ke-6, bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, dan khamir mulai meningkat. Pada jam ke-12, peningkatan bakteri asam laktat meningkat dengan signifikan. Bakteri asam asetat mengalami peningkatan yang signifikan pada jam ke-12, demikian juga dengan khamir yang terus meningkat hingga jam ke-12. Pada jam ke-18, bakteri asam laktat mencapai jumlah maksimum sedangkan bakteri asam asetat sedikit meningkat. Pada jam ke-24, bakteri asam asetat mencapai jumlah maksimum. Jumlah khamir cenderung tetap setelah jam fermentasi ke-12.³² Waktu fortifikasi vitamin D₃ pada waktu fermentasi yang berbeda diduga dapat mempengaruhi parameter karakteristik mikrobiologi dan mutu gizi dari produk akhir kefir. Kefir susu kambing dengan fortifikasi vitamin D₃ yang dihasilkan diharapkan dapat memiliki karakteristik fisik dan mutu gizi yang baik serta dapat mencegah terjadinya defisiensi vitamin D₃ pada penderita resistensi insulin.

METODE PENELITIAN

Pembuatan kefir susu kambing, fortifikasi vitamin D₃, uji karakteristik mikrobiologi (total bakteri asam laktat), uji mutu gizi (vitamin D₃, protein, lemak, dan serat kasar), uji viskositas, dan uji derajat keasaman (pH) dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro. Dilakukan uji pendahuluan pada susu kambing yang digunakan untuk membuat kefir susu kambing. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2016 - Maret 2017.

Susu kambing berasal dari Oemah Kefir. Bibit kefir yang digunakan untuk penelitian didapatkan dari Oemah Kefir kemudian dikembangkan sendiri oleh peneliti. Vitamin D₃ yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari produsen *Health Care*.

Penelitian eksperimental ini menggunakan desain rancangan acak lengkap, dengan perlakuan waktu fortifikasi vitamin D₃ pada jam ke-0, 6, 12, 18, atau jam ke-24 fermentasi. Kandungan vitamin D₃ yang ditambahkan pada kelompok perlakuan adalah 42 IU/100 ml.³³ Jenis vitamin D₃ yang digunakan adalah dalam bentuk minyak emulsi. Kelompok kontrol adalah kefir susu kambing yang tidak difortifikasi vitamin D₃. Semua perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Kelompok perlakuan dan kelompok uji akan difermentasi selama 24 jam.³⁴

Pembuatan kefir susu kambing diawali dengan pasteurisasi susu kambing pada suhu 72°C selama 15 detik kemudian didinginkan hingga 25°C.³⁴ Susu dibagi menjadi 5 kelompok (1 kelompok kontrol, 5 kelompok perlakuan), kemudian masing-masing diinokulasikan dengan 5% bibit kefir. Sampel kemudian difermentasi selama 24 jam. Fortifikasi dilakukan pada saat proses fermentasi, yaitu pada jam ke-0, 6, 12, 18, dan 24. Setiap 6 jam, dilakukan pengadukan pada seluruh sampel. Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan penyaringan untuk memisahkan bibit kefir.

Uji vitamin D₃ dilakukan dengan metode spektrofotometri. Sampel dilarutkan dalam larutan kloroform:metanol= 1:9. Absorbansi yang digunakan pada gelombang 264 nm.³⁵ Protein diuji dengan metode Bradford. Hasil dibaca menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm. Uji lemak dilakukan dengan metode Babcock. Uji serat dilakukan menggunakan metode gravimetri. Uji viskositas dilakukan dengan metode Ostwald. Derajat keasaman diukur dengan pH meter. Uji total bakteri asam laktat (BAL) dilaksanakan dengan metode *Total Plate Count* (TPC).

Data penelitian ini diolah dengan *software* statistik. Kenormalan data diuji dengan *Saphiro Wilk*. Pengaruh waktu fortifikasi vitamin D₃ terhadap kandungan vitamin D₃, protein, lemak, serat, dan total BAL dianalisis dengan uji ANOVA *one way*. Pengaruh waktu fortifikasi vitamin D₃ terhadap viskositas dan pH diuji dengan *Kruskal-Walis*.

HASIL PENELITIAN

Karakteristik Susu Kambing

Tabel 1. Karakteristik Susu Kambing

Sampel	Vitamin D3 (IU)	Vitamin B12 (μg)	Protein (%)	Lemak (%)	Serat (%)	Total BAL (10^7)	Viskositas (cm/s^2)	Nilai pH
A1	69.7	735.3	1.4	14.8	3.2	4,2	0.0134	6.5
A2	72.5	805.0	2.4	14.6	3.4	3,4	0.0134	6.6
A3	70.4	918.7	2.6	14.6	2.4	3,9	0.01385	6.6
Rerata	$70,9 \pm 1,4$	$819,7 \pm 92,6$	$2,2 \pm 0,6$	$4,7 \pm 0,1$	$3 \pm 0,53$	$3,83 \pm 0,43$	$0,0135 \pm 0,0002$	$6,6 \pm 0,008$

Tabel 1 merupakan hasil uji pendahuluan pada susu kambing yang digunakan untuk membuat kefir susu kambing.

Vitamin D₃

Hasil analisis vitamin D₃ menunjukkan terdapat pengaruh waktu fortifikasi vitamin D₃ terhadap kandungan vitamin D₃ akhir pada kefir susu kambing ($p=0,021$). Konsentrasi vitamin D₃ tertinggi yaitu kelompok fortifikasi jam ke-6.

Tabel 2. Kandungan Vitamin D₃ Berdasarkan Waktu Fortifikasi

Waktu Fortifikasi	Rerata Konsentrasi vitamin D3 (IU)	Nilai p
Kontrol	$22,87 \pm 0,57^b$	0,021*
Jam ke-0	$28,19 \pm 5,34^{ab}$	
Jam ke-6	$34,65 \pm 5,63^a$	
Jam ke-12	$26,55 \pm 1,47^{ab}$	
Jam ke-18	$23,54 \pm 3,29^b$	
Jam ke-24	$25,59 \pm 2,58^{ab}$	

Keterangan: Angka yang diikuti notasi berbeda (a, b, c, d) menunjukkan beda

*Pengujian dengan *one way* ANOVA

Protein

Berdasarkan hasil analisis, waktu fortifikasi vitamin D₃ tidak berpengaruh terhadap kandungan protein di dalam kefir susu kambing ($p=0,262$).

Tabel 3. Kandungan Protein Berdasarkan Waktu Fortifikasi

Waktu Fortifikasi	Rerata Kandungan protein (%)	Nilai p
Kontrol	$0,62 \pm 0,07$	0,262*
Jam ke-0	$0,93 \pm 0,29$	
Jam ke-6	$0,63 \pm 0,18$	
Jam ke-12	$0,82 \pm 0,09$	
Jam ke-18	$0,78 \pm 0,14$	
Jam ke-24	$0,81 \pm 0,13$	

*Pengujian dengan *one way* ANOVA

Lemak

Kandungan lemak pada kefir susu kambing dipengaruhi oleh waktu fortifikasi vitamin D₃ (p=0,001). Kandungan lemak pada seluruh kelompok waktu fortifikasi vitamin D₃ lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Tabel 4. Kandungan Lemak Berdasarkan Waktu Fortifikasi

Waktu fortifikasi	Kandungan Lemak (%)	Nilai p
Kontrol	8,47 ± 0,39 ^a	0,001*
Jam ke-0	5,93 ± 0,73 ^b	
Jam ke-6	6,23 ± 0,59 ^b	
Jam ke-12	6,67 ± 0,54 ^b	
Jam ke-18	6,44 ± 0,52 ^b	
Jam ke-24	5,92 ± 0,38 ^b	

*Pengujian dengan ANOVA *one way*

Serat

Terdapat pengaruh waktu fortifikasi vitamin D₃ terhadap kandungan serat pada kefir susu kambing (p=0,000). Perbedaan bermakna ditemukan antara kelompok kontrol dengan seluruh kelompok waktu fortifikasi vitamin D₃.

Tabel 5. Kandungan Serat Berdasarkan Waktu Fortifikasi

Waktu Fortifikasi	Rerata Kandungan serat (%)	Nilai p
Kontrol	23,27 ± 1,504 ^a	0,000*
Jam ke-0	3,93 ± 1,83 ^b	
Jam ke-6	2,77 ± 0,50 ^b	
Jam ke-12	3,90 ± 1,31 ^b	
Jam ke-18	3,80 ± 0,95 ^b	
Jam ke-24	6,47 ± 2,44 ^b	

*Pengujian dengan *one way* ANOVA

Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Terdapat pengaruh waktu fortifikasi vitamin D₃ pada total BAL kefir susu kambing (p=0,048). Berdasarkan uji lanjut, didapatkan bahwa kelompok yang berbeda adalah kelompok kontrol dengan kelompok fortifikasi jam ke 0.

Tabel 6. Kandungan Total BAL Berdasarkan Waktu Fortifikasi

Waktu Fortifikasi	Rerata Total BAL (x 10 ⁹ CFU/mL)	Nilai p
Kontrol	13,4 ± 6,54 ^b	0,048*
Jam ke-0	70,0 ± 27,07 ^a	
Jam ke-6	27,0 ± 21,23 ^{ab}	
Jam ke-12	17,9 ± 15,47 ^{ab}	
Jam ke-18	37,1 ± 29,85 ^{ab}	
Jam ke-24	17,5 ± 13,81 ^{ab}	

*Pengujian dengan *one way* ANOVA

Viskositas

Analisis statistik menunjukkan terdapat pengaruh waktu fortifikasi vitamin D₃ terhadap viskositas kefir susu kambing ($p=0,010$). Viskositas pada kelompok fortifikasi jam ke 0, 6, 12, 18 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok fortifikasi jam ke 24.

Tabel 7. Viskositas Berdasarkan Waktu Fortifikasi

Waktu Fortifikasi	Median Viskositas (cm ² /s)	Nilai p
Kontrol	0,1384 ^b	0,010*
Jam ke-0	0,0563 ^d	
Jam ke-6	0,0532 ^d	
Jam ke-12	0,0710 ^c	
Jam ke-18	0,0576 ^d	
Jam ke-24	0,1652 ^a	

*Pengujian dengan *Kruskall Wallis*

Derajat Keasaman (pH)

Tidak terdapat perbedaan pada kefir susu kambing pada seluruh kelompok perlakuan ($p=0,056$), namun terdapat kecenderungan menurunnya pH pada kelompok yang difortifikasi dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Tabel 8. Derajat Keasaman Berdasarkan Waktu Fortifikasi

Waktu Fortifikasi	Median pH	Nilai p
Kontrol	4,70	0,056*
Jam ke-0	4,45	
Jam ke-6	4,55	
Jam ke-12	4,55	
Jam ke-18	4,55	
Jam ke-24	4,45	

*Pengujian dengan *Kruskall Wallis*

PEMBAHASAN

Vitamin D₃

Rerata kandungan vitamin D₃ pada kefir susu kambing pada penelitian ini adalah $70,9 \pm 1,4$ IU, sedangkan kefir pada kelompok kontrol adalah $22,87 \pm 0,57$ IU. Vitamin D₃ merupakan vitamin larut lemak, namun selama proses fermentasi kefir terjadi proses lipolisis.^{17,24} Dilakukan fortifikasi pada berbagai waktu yang berbeda untuk meningkatkan kandungan vitamin D₃. Fortifikasi vitamin D₃ pada jam ke-6 memiliki kandungan vitamin D₃ yang paling tinggi yaitu 34,65 IU. Apabila dibandingkan dengan jumlah yang difortifikasi (42 IU), terdapat vitamin D₃ yang hilang. Hal ini berbeda dengan penelitian lain yang menyatakan bahwa

fortifikasi vitamin D₃ pada yogurt memiliki retensi 97,8%.²⁹ Hal ini dapat disebabkan karena vitamin D merupakan vitamin yang sensitif terhadap cahaya, panas, dan oksidasi.^{36,29} Selain itu, keasaman juga dapat mempengaruhi kestabilan dari vitamin D₃.^{37,29}

Kandungan vitamin D₃ tertinggi didapatkan pada kelompok fortifikasi jam ke-6. Pada produk susu, jika tidak berada dalam matriks lemak pelindungnya, vitamin D₃ distabilkan oleh β -laktoglobulin A (β -LG A) dan β -kasein (β -CN).^{38,39} Keberadaan β -LG A dan β -CN tersebut mempengaruhi stabilitas dan availabilitas vitamin D₃ pada produk.³⁸ Selama fermentasi terjadi proteolisis.^{17,24} Pada produk susu fermentasi, vitamin D₃ terikat kuat dengan β -LG A.³⁹ Ketika fermentasi, β -LG tidak mudah dihidrolisis oleh bakteri asam laktat, sedangkan β -CN menurun secara signifikan. Pada jam ke 6, β -CN baru terhidrolisa sekitar 35%, dan terus meningkat hingga akhir inkubasi.¹⁸ Semakin meningkatnya β -CN yang terhidrolisa menyebabkan vitamin D₃ yang difortifikasi setelah jam ke-6 tidak mampu distabilkan oleh β -CN.

Fortifikasi pada jam ke-12 dan 18 bertepatan dengan jumlah bakteri asam laktat dan khamir yang mencapai puncak. Jumlah bakteri asam laktat pada saat fermentasi kefir mencapai puncak pada jam ke 12 fermentasi (*Lactococcus* spp.) dan jam ke 18 fermentasi (*Lactobacillus* spp.), sedangkan jumlah khamir mencapai puncak pada saat jam ke 12 fermentasi.³² Tambahan vitamin dapat mempengaruhi pertumbuhan dari bibit kefir⁴⁰, sehingga fortifikasi pada jam tersebut justru digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme. Pada jam ke-12, 18, dan 24 proses lipolisis dan proteolisis terus berlanjut. Proses lipolisis dan proteolisis yang terjadi saat fermentasi kefir dipengaruhi oleh aktivitas bakteri asam laktat dan khamir.^{17,24} Meningkatnya lipolisis dan proteolisis tersebut diduga dapat menurunkan kandungan lemak dan protein yang menstabilkan vitamin D₃.

Khamir di dalam kefir mampu memproduksi D₂ dari ergosterol dengan bantuan dari sinar UV.⁴¹ Kandungan vitamin D₃ diukur dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 264 nm.³⁵ Terdapat empat jenis metabolit vitamin D yaitu vitamin D₃, vitamin D₂, 25-hidroksivitamin D₃ dan 25-hidroksivitamin D₂ dapat diukur dalam satu gelombang yang sama, yaitu 254 nm.⁴² Perbedaan

panjang gelombang yang sedikit dapat menyebabkan pergeseran pembacaan *peak* oleh alat spektrofotometer sehingga vitamin D₂ ikut terdeteksi.

Protein

Bakteri asam laktat (BAL) di dalam kefir mendegradasi protein susu menjadi peptida dan asam amino selama proses fermentasi. Asam amino bebas dan peptida kecil digunakan oleh BAL sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan.²⁰ Khamir dalam kefir juga melakukan aktivitas proteolisis.¹⁹

Kasein tersusun dari α -, β -, dan κ -kasein, sedangkan whey tersusun dari α -laktalbumin dan β -laktoglobulin.¹⁸ Keberadaan β -LG A dan β -CN mempengaruhi stabilitas dan availabilitas vitamin D₃ pada produk.³⁸ Fortifikasi vitamin D₃ tertinggi didapatkan pada fortifikasi jam ke-6. Beta-kasein baru terhidrolisa sekitar 35% pada jam ke 6, dan terus meningkat hingga sekitar 85% setelah inkubasi 24 jam. β -laktoglobulin cenderung tidak mudah terdegradasi selama fermentasi.¹⁸ Semakin banyaknya protein yang terhidrolisis tersebut menyebabkan vitamin D₃ tidak mampu distabilkan oleh protein. Kandungan vitamin D₃ yang tinggi dan kandungan protein yang tampak rendah pada kelompok fortifikasi jam ke-6 disebabkan karena ikatan antara vitamin D₃ dengan β -laktoglobulin A atau β -kasein lebih kuat ketika interaksi antara protein dengan protein lainnya lebih rendah. Ikatan intermolekular yang rendah menyebabkan keberadaan monomer dalam larutan.³⁸ Sedangkan metode yang digunakan, yaitu Bradford memiliki sifat tidak mendeteksi monomer yang ada di dalam sampel.⁴³

Kandungan protein pada penelitian ini tidak berbeda signifikan di seluruh kelompok. Kandungan protein di dalam kefir dipengaruhi oleh susu yang digunakan. Kandungan protein tersebut dipengaruhi oleh jenis kambing dan pemberian pakan.⁴⁴ Selain itu, jumlah bibit kefir dan pH fermentasi juga mempengaruhi jumlah kandungan protein pada produk kefir.³⁴ Pada penelitian ini jumlah bibit kefir yang digunakan adalah sama, pH fermentasi sama, serta susu yang digunakan juga sama, oleh karena itu kandungan protein tidak berbeda secara signifikan.

Lemak

Kandungan lemak pada seluruh kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Selama proses fermentasi, lemak dipecah oleh mikroorganisme yang ada di dalam bibit kefir.²² Fortifikasi vitamin D₃ diberikan ketika BAL dan khamir yang ada di dalam kefir sedang tumbuh, yaitu pada jam ke-0, 6, 12, 18, atau 24. Tambahan vitamin dapat mempengaruhi pertumbuhan dari bibit kefir.⁴⁰ BAL memiliki lipase intraselular dan ekstraselular, yang menyebabkan adanya pemecahan lemak menjadi asam lemak dan gliserol.²⁴

Pada penelitian ini, didapatkan bahwa kandungan lemak pada seluruh kelompok fortifikasi lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini seiring dengan hasil uji total BAL, dimana jumlah total BAL pada seluruh kelompok perlakuan memiliki tren lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol. Jumlah BAL yang meningkat dapat menyebabkan semakin banyaknya enzim lipase yang dihasilkan, sehingga lemak yang terhidrolisis akan semakin banyak dan menyebabkan terjadinya penurunan kadar lemak.¹⁴ Jumlah total BAL pada kelompok fortifikasi jam ke-0 adalah yang tertinggi, sehingga kandungan lemak pada kelompok fortifikasi jam ke-0 tergolong rendah. Selain BAL, khamir yang ada di dalam kefir juga memiliki aktifitas lipolisis.¹⁹ *Saccharomyces cerevisiae* memiliki esterase yang mampu menghidrolisa asam lemak rantai pendek dan rantai sedang.⁴⁵

Kandungan lemak pada penelitian ini (5,93-8,47%) lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian lain, yang menyatakan kandungan lemak kefir dengan konsentrasi bibit kefir 5% dan pH fermentasi 4,5 adalah 5,55%.³⁴ Hal ini dapat dipengaruhi oleh jenis susu yang digunakan.⁴⁴ Kandungan lemak pada kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Kandungan lemak ini akan mempengaruhi viskositas kefir.⁴⁶

Serat

Eksopolisakarida (EPS) di dalam kefir, yaitu kefiran diproduksi oleh bakteri asam laktat yaitu *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, dan *Leuconostoc*.²² Bibit kefir memiliki aktivitas α -galaktosidase.¹⁵ Laktosa di dalam kefir dihidrolisis, kemudian galaktosa yang dihasilkan dari hasil hidrolisa

digunakan untuk membentuk polimer kefiran.²² Pada penelitian ini, terjadi penurunan kandungan serat pada seluruh kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Produksi kefiran dapat dipengaruhi oleh kondisi kultur, yaitu suhu, *agitation rate*, sumber karbon, vitamin, dan mineral yang ada di dalam kultur. Tambahan vitamin dapat mempengaruhi pertumbuhan dari bibit kefir,⁴⁰ sehingga tambahan vitamin pada jam fortifikasi yang berbeda akan digunakan oleh bakteri maupun khamir yang sedang tumbuh pada jam fortifikasinya. Bakteri asam laktat mencapai yaitu *Lactococcus* spp. mencapai puncak pada jam ke 12 fermentasi dan *Lactobacillus* spp. mencapai puncak pada jam ke 18 fermentasi, sedangkan jumlah khamir mencapai puncak pada saat jam ke 12 fermentasi.³²

Khamir mengandung ergosterol, yang sebagian besar berada pada membran plasma. Ergosterol berperan dalam perkembangbiakan khamir. Hal tersebut terjadi melalui dua jalur, yaitu persinyalan feromon dan fusi plasma membran.⁴⁷ Sebuah penelitian mempelajari dampak temperatur, pH, dan penambahan ekstrak khamir terhadap pertumbuhan dan produksi EPS dari bakteri penghasil EPS. Dari penelitian tersebut didapatkan jika jumlah khamir yang meningkat memang dapat meningkatkan produksi EPS oleh bakteri. Namun, jumlah ekstrak khamir yang terlalu tinggi juga memiliki dampak negatif terhadap produksi EPS, karena biosintesis EPS terganggu. Semakin tinggi jumlah ekstrak khamir maka akan semakin banyak pula laktosa yang dikonsumsi oleh khamir, sehingga lebih sedikit laktosa yang tersedia bagi bakteri untuk membentuk EPS.⁴⁸ Kandungan kefiran yang ada di dalam kefir dapat mempengaruhi viskositas.²⁴

Total Bakteri Asam Laktat

Dalam kefir terdapat bakteri asam laktat homofermentatif (*Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., *Streptococcus thermophilus*) dan heterofermentatif (*L. kefiri*, *L. parakefiri*, *L. fermentum*, *L. brevis*).¹⁵ Berdasarkan standar Codex untuk susu fermentasi, kefir minimal mengandung BAL yaitu 7 log CFU mL⁻¹. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian ini, dimana sampel kefir seluruhnya memenuhi kriteria jumlah BAL yang ditentukan. Total BAL pada seluruh kelompok fortifikasi lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Nutrisi yang ada di lingkungan hidup BAL akan dimanfaatkan untuk mendukung pertumbuhan BAL.²⁴ Total

BAL pada jam ke-0 memiliki jumlah yang paling tinggi. Hal ini dapat disebabkan karena fortifikasi vitamin D₃ digunakan oleh BAL. Berdasarkan sebuah penelitian, pada jam ke-0 jumlah bakteri asam laktat dan asam asetat berkisar 6 log unit, yaitu lebih banyak dari khamir.³² Kandungan BAL pada jam ke-0 menyebabkan lipolisis yang tinggi pada kelompok jam ke-0. Pada kelompok fortifikasi jam ke-6, 12, 18, dan 24, tambahan vitamin juga digunakan oleh khamir dan bakteri asam asetat. Jumlah bakteri asam laktat pada kelompok fortifikasi jam ke-6, 12, 18, dan 24, lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini disebabkan oleh simbiosis seluruh mikroorganisme yang tumbuh pada kefir, sehingga produk tetap stabil.^{49,17} Berdasarkan sebuah penelitian, pada jam ke 6 jumlah khamir dan *Lactobacillus* spp. meningkat secara signifikan. Pada jam ke 12 bakteri asam laktat dan bakteri asam asetat mengalami peningkatan jumlah yang signifikan, sedangkan khamir mencapai jumlah maksimum pada jam tersebut dan relatif stabil pada waktu fermentasi setelahnya. Pada jam ke 18 *Lactobacillus* spp. mencapai jumlah maksimum. Pada jam ke 24, bakteri asam asetat mencapai jumlah maksimum.³²

BAL memiliki hubungan simbiosis dengan khamir. *Lactococcus* menghidrolisa laktosa, kemudian memproduksi asam laktat sehingga menimbulkan suasana yang cocok untuk pertumbuhan khamir. Pertumbuhan bakteri yang meningkat akan mensekresi asam organik yang kemudian digunakan oleh khamir (difermentasi). Disamping itu, khamir menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan bakteri, seperti asam amino, vitamin, dan komponen lainnya. Kedua mikroorganisme tersebut dapat berkompetisi mendapatkan nutrisi untuk tumbuh, dapat juga memproduksi metabolit yang menghambat atau menstimulasi pertumbuhan satu sama lain. Simbiosis ini menciptakan stabilitas produk.^{49,17}

Viskositas

BAL yang terkandung di dalam kefir memproduksi eksopolisakarida (EPS) selama proses fermentasi. EPS yang dihasilkan tersebut akan mempengaruhi reologi dari produk fermentasi.²⁴ EPS yang diproduksi selama fermentasi kefir bernama kefiran.¹⁵ Pada penelitian ini kefir yang difortifikasi pada jam ke 0, 6, 12, dan 18 memiliki viskositas yang lebih rendah jika

dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok fortifikasi jam ke-24. Fortifikasi pada jam ke 0, 6, 12 atau 18 berarti vitamin ditambahkan ketika BAL tersebut masih berada dalam fase pertumbuhan.³² Turunnya viskositas terjadi karena sedikitnya EPS yang diproduksi oleh BAL. Jumlah EPS yang diproduksi dapat dipengaruhi oleh temperatur, pH, dan jumlah khamir yang terkandung. Jumlah khamir yang tinggi dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi EPS oleh BAL, namun juga dapat menurunkan keberadaan laktosa untuk biosintesis EPS.⁴⁸ Fortifikasi pada jam ke 24 berarti pertumbuhan BAL sudah mencapai jumlah optimum.³² Selain itu, kandungan lemak juga dapat berkontribusi pada viskositas, dimana dalam penelitian ini kandungan lemak pada kelompok perlakuan lebih rendah dari kelompok kontrol.⁴⁶

Derajat Keasaman (pH)

Derajat keasaman kefir pada penelitian ini berkisar antara 4,45-4,7. Kefir memiliki ciri pH 4,2-4,6.²⁶ Namun pada penelitian lain diperoleh pH 4,85 pada akhir fermentasi.³² Bakteri asam laktat di dalam kefir mendegradasi laktosa dan menghasilkan asam laktat selama proses fermentasi. Timbulnya asam laktat tersebut menurunkan pH susu.²⁵ Sebuah penelitian menyebutkan bahwa keberadaan khamir menyebabkan penurunan pH lebih rendah daripada kultur BAL tunggal.¹⁹ Khamir menggunakan zat gizi dalam susu seperti protein, lemak, laktosa, dan sitrat, kemudian melepaskan asam amino, vitamin, dan komponen lain untuk mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat.^{17,19} Khamir juga mampu memetabolisme asam laktat.¹⁹ Semakin tinggi jumlah bibit kefir yang ditambahkan, maka nilai pH akan semakin rendah.²² Pada penelitian ini, jumlah bibit kefir yang diinokulasikan adalah sama (5%), sehingga tidak terdapat perbedaan nilai pH yang bermakna pada seluruh kelompok.

KESIMPULAN

Waktu fortifikasi vitamin D₃ pada kefir susu kambing mempengaruhi kandungan vitamin D₃, lemak, serat, dan viskositas produk akhir kefir susu kambing setelah fermentasi. Kandungan vitamin D₃ tertinggi ditemukan pada kefir yang difortifikasi vitamin D₃ saat jam ke-6 fermentasi. Secara keseluruhan,

kandungan lemak dan serat pada kelompok yang difortifikasi lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Viskositas pada kelompok fortifikasi jam ke-0, 6, 12, dan 18 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok fortifikasi jam ke-24. Nilai pH kefir pada penelitian ini adalah 4,45-4,7. Jumlah total BAL pada kefir di penelitian ini sudah memenuhi standar Codex, yakni $\geq 10^7$ CFU/ml.

SARAN

Fortifikasi vitamin D₃ pada kefir susu kambing sebaiknya dilakukan pada jam ke 6 untuk mendapatkan kandungan vitamin D₃ yang paling tinggi di produk akhir. Selain itu, perlu dilakukan enkapsulasi untuk meningkatkan kestabilan vitamin D₃.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Riset Pengembangan dan Penerapan PNBPF Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro tahun anggaran 2016 atas didanainya penelitian ini. Penulis mengucapkan terimakasih atas bimbingan dan saran yang diberikan oleh Ibu Gemala Anjani, S.P., M.Si, Ph.D dan Bapak Binar Panuggal, S.Gz, MPH selaku pembimbing, serta Ibu Ninik Rustanti, S.TP., M.Si. selaku *reviewer*. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah mendukung pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kumar V, Abbas A, Aster J. Robbins basic pathology. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2013. p. 739-42.
2. Nelms M, Sucher KP, Lacey K, Roth SL. Nutrition therapy and pathophysiology. 2nd ed. Wadsworth: Cengage Learning; 2011. p. 199-200.
3. Gallagher EJ, LeRoith D, Karnieli E. Insulin Resistance in Obesity as the Underlying Cause for Metabolic Syndrome. *Mt Sinai J Med.* 2010;77(2):511–23.
4. Kementrian Kesehatan RI. Situasi dan Analisis Diabetes. Jakarta; 2014. p. 1-2.
5. Alissa EM, Alnahdi WA, Alama N, Ferns GA. Insulin resistance in Saudi postmenopausal women with and without metabolic syndrome and its association with vitamin D deficiency. *J Clin Transl Endocrinol.* Elsevier Inc. All rights reserved; 2015;2(1):42–7.
6. Von Hurst PR, Stonehouse W, Coad J. Vitamin D supplementation reduces insulin resistance in South Asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient – a randomised, placebo-controlled trial. *Br J Nutr.* 2010;103(4):549.
7. Kampmann U, Mosekilde L, Juhl C, Moller N, Christensen B, Rejnmark L, et al. Effects of 12 weeks high dose vitamin D3 treatment on insulin sensitivity, beta cell function, and metabolic markers in patients with type 2 diabetes and vitamin D insufficiency: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Metabolism.* 2014;63(9):1115–24.
8. Park YW, Juarez MJ, C MR, Haenlein GFW. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Rumin Res.* 2007;68:88–113.
9. Leite AMO, Miguel MAL, Peixoto RS, Paschoalin VMF, Mayo B. Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains. *J Dairy Sci.* 2015;98(6):3622–32.
10. Nielsen B, Gurakan GC, Unlu G. Kefir: A multifaceted fermented dairy

- product. *Probiotics & Antimicro Prot.* 2014;6(3-4):123–35.
11. Liu J, Lin Y, Chen M, Chen L, Lin C, Al LIU, et al. Antioxidative activities of kefir. *J Anim Sci.* 2005;18(4):567-73.
 12. Ostadrahimi A, Taghizadeh A, Mobasseri M, Farrin N, Payahoo L, Beyramalipoor Gheshlaghi Z, et al. Effect of probiotic fermented milk (kefir) on glycemic control and lipid profile in type 2 diabetic patients: a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Iran J Public Health.* 2015;44(2):228–37.
 13. Teruya K, Yamashita M, Tominaga R, Nagira T, Shim SY, Katakura Y, et al. Fermented milk, kefram-kefir enhances glucose uptake into insulin-responsive muscle cells. *J Cytotechnology.* 2003;40(1-3):107–16.
 14. Martharini D, Indratiningsih I. Kualitas Mikrobiologis dan Kimiawi Kefir Susu Kambing dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan Tepung Kulit Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca*). *Agritech.* 2017;37(1):22–9.
 15. Farnworth ER. Kefir – a complex probiotic. *Food Science Technology.* 2003;1–17.
 16. World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United States. Codex Standard for Fermented Milks 243-2003. *Codex Aliment.* 2011. p.7-8.
 17. Viljoen BC. The interaction between yeasts and bacteria in dairy environments. *Int J Food Microbiol.* 2001;69(1-2):37–44.
 18. Ferreira IMPLVO, Pinho O, Monteiro D, Faria S, Cruz S, Perreira A, et al. Short communication: Effect of kefir grains on proteolysis of major milk proteins. *J Dairy Sci.* 2010;93(1):27–31.
 19. Álvarez-Martín P, Flórez AB, Hernández-Barranco A, Mayo B. Interaction between dairy yeasts and lactic acid bacteria strains during milk fermentation. *Food Control.* 2008;19(1):62–70.
 20. Hafeez Z, Cakir-kiefer C, Roux E, Perrin C, Miclo L, Dary-mourot A. Strategies of producing bioactive peptides from milk proteins to functionalize fermented milk products. *J Foodres.* 2014;63:71–80.

21. Chen M, Liu J, Lin C, Yeh Y. Study of the microbial and chemical properties of goat milk kefir produced by inoculation with Taiwanese kefir grains. *J Anim Sci.* 2005;18(5):711-5.
22. Irigoyen A, Arana I, Castiella M, Torre P, Ibanez FC. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *J Food Chem.* 2005;90:613–20.
23. Jenab A, Roghanian R, Emtiazi G. Encapsulation of platelet in kefir polymer and detection of bioavailability of immobilized platelet in probiotic kefir as a new drug for surface bleeding. *J Med Bacteriol.* 2015;4(3):55–66.
24. Hayek SA, Ibrahim SA. Current Limitations and Challenges with Lactic Acid Bacteria : A Review. *Food Nutr Sci.* 2013;4:73–87.
25. Haryadi, Nurliana, Sugito. Nilai pH dan jumlah bakteri asam laktat kefir susu kambing setelah difermentasi dengan penambahan gula dengan lama inkubasi yang berbeda. *J Medika Veterinaria.* 2013;7(1):1–4.
26. Ayustanigwarno F. Ilmu dan Teknologi Pangan. Semarang: Logo Q-A Undip; 2013. p. 383.
27. Bender DA. Introduction to nutrition and metabolism. 4th ed. USA; 2008. p. 335-6.
28. WHO, FAO. Guidelines on food fortification with micronutrients. 2006. p. 22, 24, 81-4, 130-1.
29. Arif S, Vieth R. Vitamin D₃ fortification and quantification in processed dairy products. *International Dairy Journal.* 2007;17:753–9.
30. Cashman KD. Vitamin D: dietary requirements and food fortification as a means of helping achieve adequate vitamin D status. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2015;148:19–26.
31. Kaushik R, Sachdeva B, Arora S, Kapila S, Wadhwa BK. Bioavailability of vitamin D₂ and calcium from fortified milk. *J Food Chem.* 2014;147:307–11.
32. Leite AMO, Leite D, Del Aguila E, Alvares T, Peixoto R, Miguel M, et al. Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during

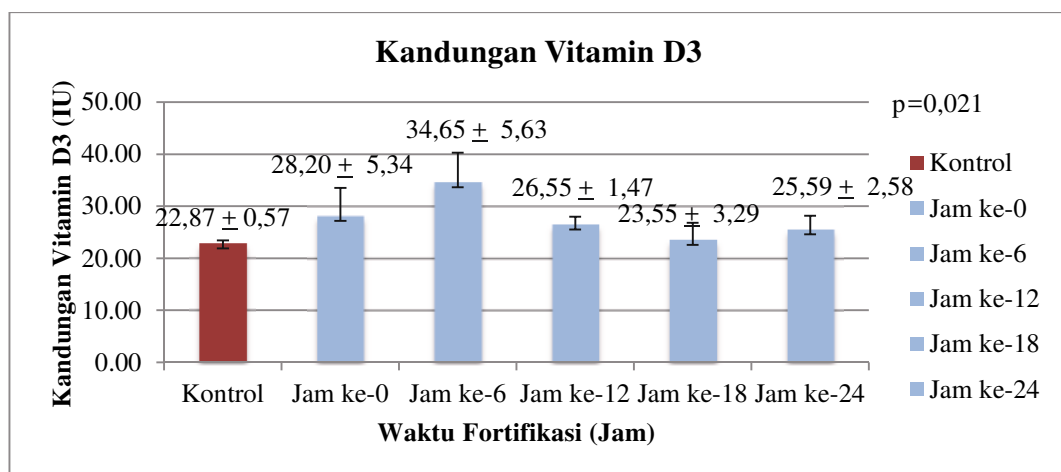
- fermentation and storage processes. *J Dairy Sci. American Dairy Science Association*; 2013;96(7):4149–59.
33. Patterson KY, Phillips KM, Horst RL, Byrdwell WC, Exler J, Harnly JM, et al. Variability in the Vitamin D₃ Content of 2 % Milk from a Nationwide United States Department of Agriculture (USDA) Sampling. 2008.
 34. Setyawardani T, Rahardjo AHD, Sulistyowati M, Wasito S. Physiochemical and organoleptic features of goat milk kefir made of different kefir grain concentration on controlled fermentation. *Animal Production*. 2014;16(1):48–54.
 35. Kumar ASHOK, Kumar RG. To Develop a Simple (UV-VIS Spectrometric) Method for the Estimation of Multivitamin with Special Reference to Capsules & Tablets. *Int J Pharmagenes*. 2011;2(1):43–8.
 36. Hasanvand E, Fathi M, Bassiri A, Javanmard M. Processing novel starch based nanocarrier for vitamin D fortification of milk: Production and characterization. *Food Bioprod Process*. 2015;96:264–77.
 37. Tangpricha V, Koutkia P, Rieke SM, Chen TC, Perez AA, Holick MF. Fortification of orange juice with vitamin D: a novel approach for enhancing vitamin D nutritional health. *Am J Clin Nutr*. 2003;77(6):1478–83.
 38. Forrest SA, Yada RY, Rousseau D. Interactions of vitamin D₃ with bovine β -lactoglobulin A and β -casein. *J Agric Food Chem*. 2005;53(20):8003–9.
 39. Bulgari O, Caroli AM, Chessa S, Rizzi R, Gigliotti C. Variation of vitamin D in cow's milk and interaction with β -lactoglobulin. *Molecules*. 2013;18(9):10122–31.
 40. Zajšek K, Goršek A, Kolar M. Cultivating conditions effects on kefir production by the mixed culture of lactic acid bacteria imbedded within kefir grains. *Food Chem. Elsevier Ltd*; 2013;139(1-4):970–7.
 41. Hohman EE, Martin BR, Lachcik PJ, Gordon DT, Fleet JC, Weaver CM. Bioavailability and efficacy of vitamin D₂ from UV-irradiated yeast in growing, vitamin D-deficient rats. *J Agric Food Chem*. 2011;59(6):2341–6.

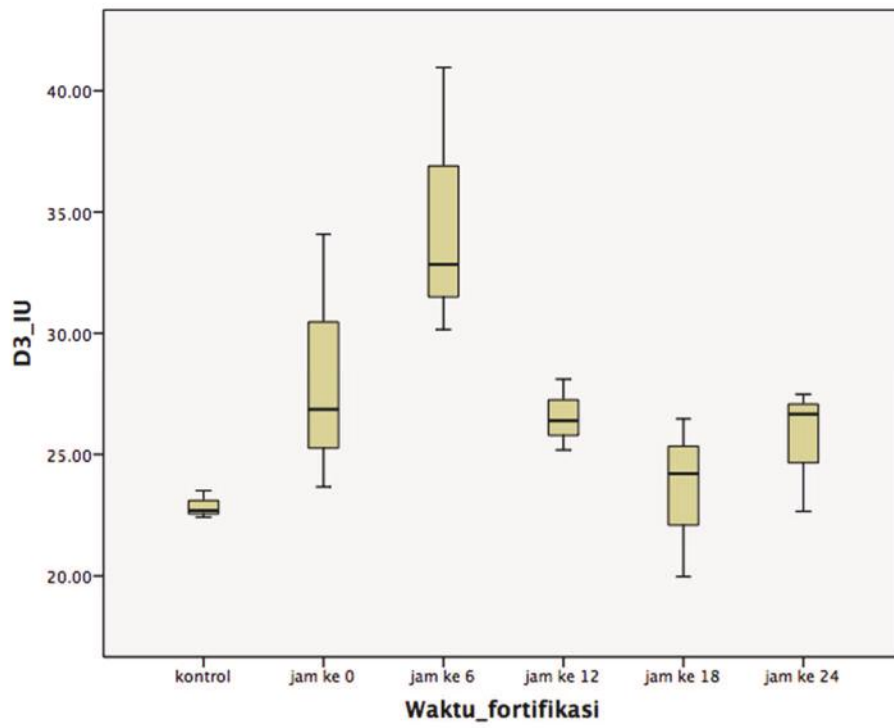
42. Jones G. Assay of vitamins D2 and D3, and 25-hydroxyvitamins D2 and D3 in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Clin Chem.* 1978;24(2):287–98.
43. Purwanto MGM. Perbandingan Analisa Kadar Protein Terlarut dengan Berbagai Metode Spektroskopi UV-Visible. *J Ilm Sains Teknol.* 2014;7(2):64–71.
44. Satir G, Guzel-seydim ZB. How kefir fermentation can affect product composition?. *J Small Rum Res.* 2016;134:1–7.
45. Bintsis T, Vafopoulou-Mastrojiannaki A, Litopoulou-Tzanetaki E, Robinson RK. Protease, peptidase and esterase activities by lactobacilli and yeast isolates from Feta cheese brine. *J Appl Microbiol.* 2003;95(1):68–77.
46. Antoniou KD, Topalidou S, Tsavalia G, Dimitreli G. Effect of Starter Culture , Milk Fat and Storage Time on the Rheological Behaviour of Kefir.
47. Jin H, McCaffery JM, Grote E. Ergosterol promotes pheromone signaling and plasma membrane fusion in mating yeast. *J Cell Biol.* 2008;180(4):813–26.
48. Gorret N, Maubois JL, Engasser JM, Ghoul M. Study of the effects of temperature , pH and yeast extract on growth and exopolysaccharides production by *Propionibacterium acidipropionici* on milk microfiltrate using a response surface methodology. *J Appl Microbiol.* 2001;90:788–96.
49. Machado A, Leite DO, Antonio M, Miguel L, Peixoto RS, Rosado AS, et al. Microbiological , technological and therapeutic properties of kefir : a natural probiotic beverage. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2013;44(2):341–9.

Lampiran 1. Hasil Uji Kandungan Vitamin D₃ Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Tabel 9. Hasil Uji Kandungan Vitamin D₃ Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Waktu Fortifikasi	Ulangan	Analisis VitaminD3 (IU)		
		Kandungan Vitamin D ₃	Rerata	Standar Deviasi
Kontrol	1	22,418	22,87	0,57
	2	22,690		
	3	23,507		
Jam ke-0	1	26,851	28,19	5,34
	2	23,663		
	3	34,082		
Jam ke-6	1	32,838	34,65	5,63
	2	30,156		
	3	40,964		
Jam ke-12	1	28,095	26,55	1,47
	2	25,179		
	3	26,384		
Jam ke-18	1	19,969	23,54	3,29
	2	26,462		
	3	24,207		
Jam ke-24	1	22,652	25,59	2,58
	2	27,473		
	3	26,656		

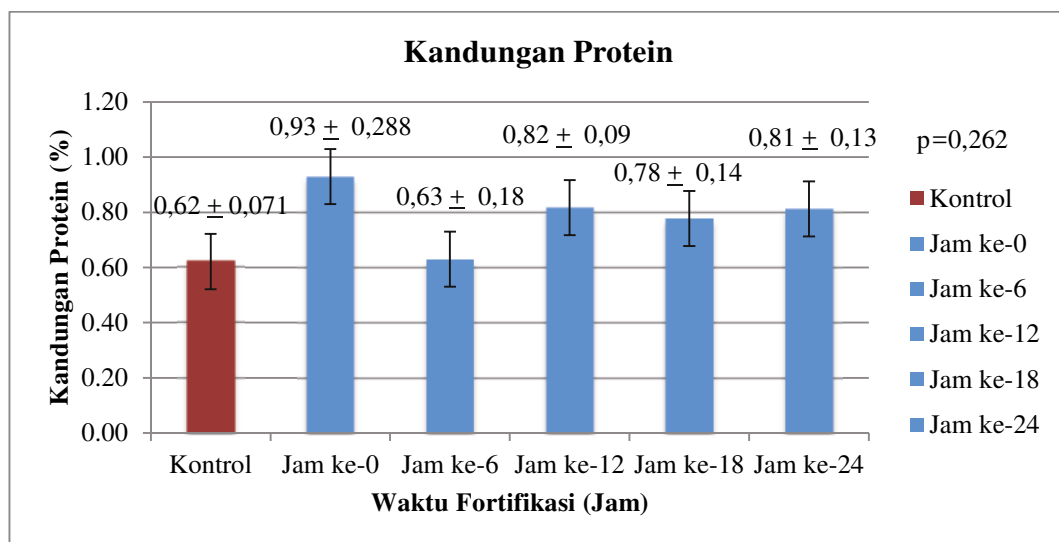


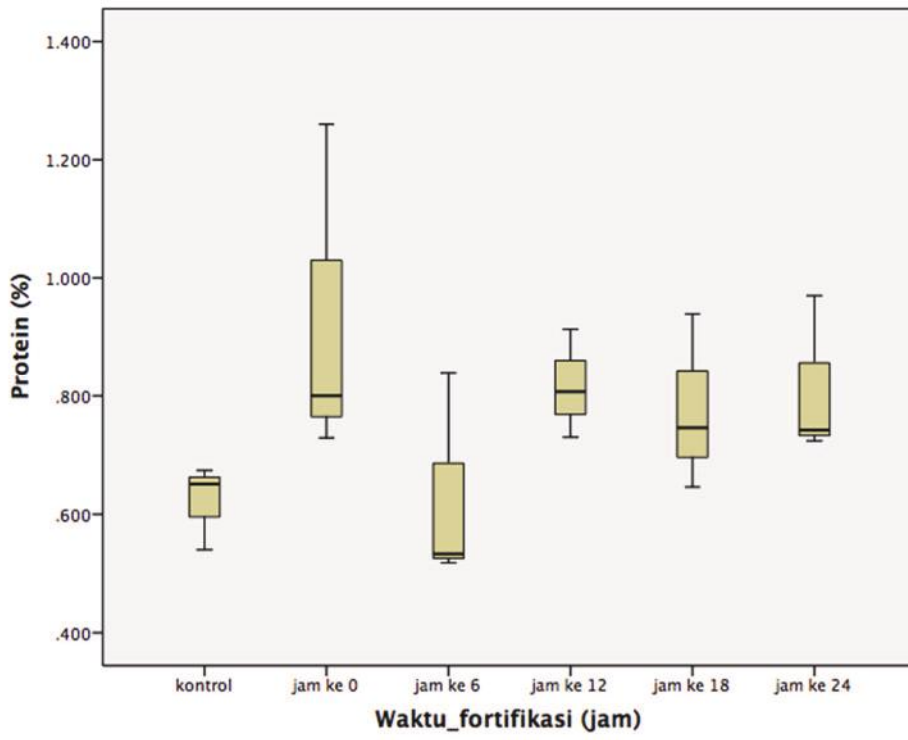


Lampiran 2. Hasil Uji Kandungan Protein Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Tabel 10. Hasil Uji Kandungan Protein Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Waktu Fortifikasi	Ulangan	Analisis Kandungan Protein (%berat)		
		Kandungan Protein	Rerata	Standar Deviasi
Kontrol	1	0,674	0,62	0,071
	2	0,540		
	3	0,651		
Jam ke-0	1	0,729	0,93	0,288
	2	1,260		
	3	0,800		
Jam ke-6	1	0,533	0,63	0,18
	2	0,839		
	3	0,518		
Jam ke-12	1	0,913	0,82	0,09
	2	0,807		
	3	0,730		
Jam ke-18	1	0,646	0,78	0,14
	2	0,746		
	3	0,939		
Jam ke-24	1	0,724	0,81	0,13
	2	0,742		
	3	0,970		

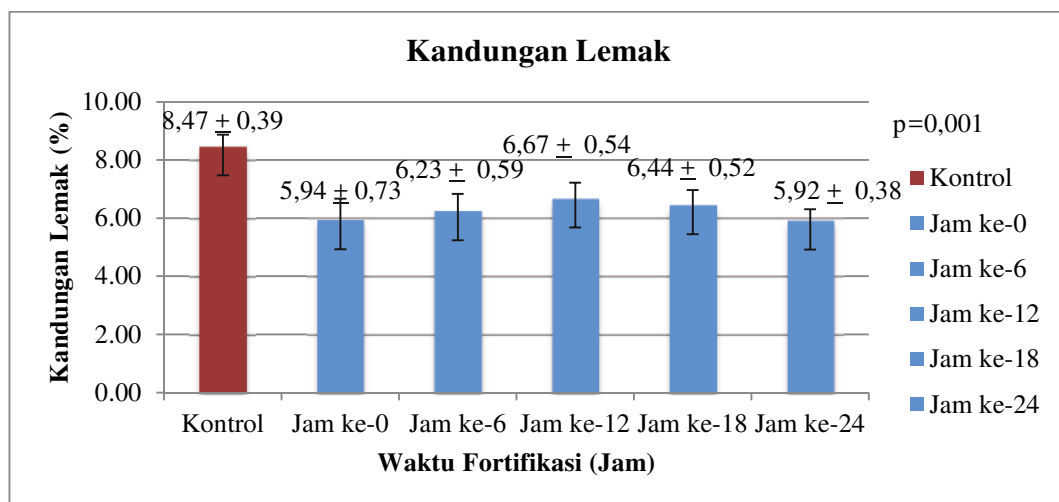


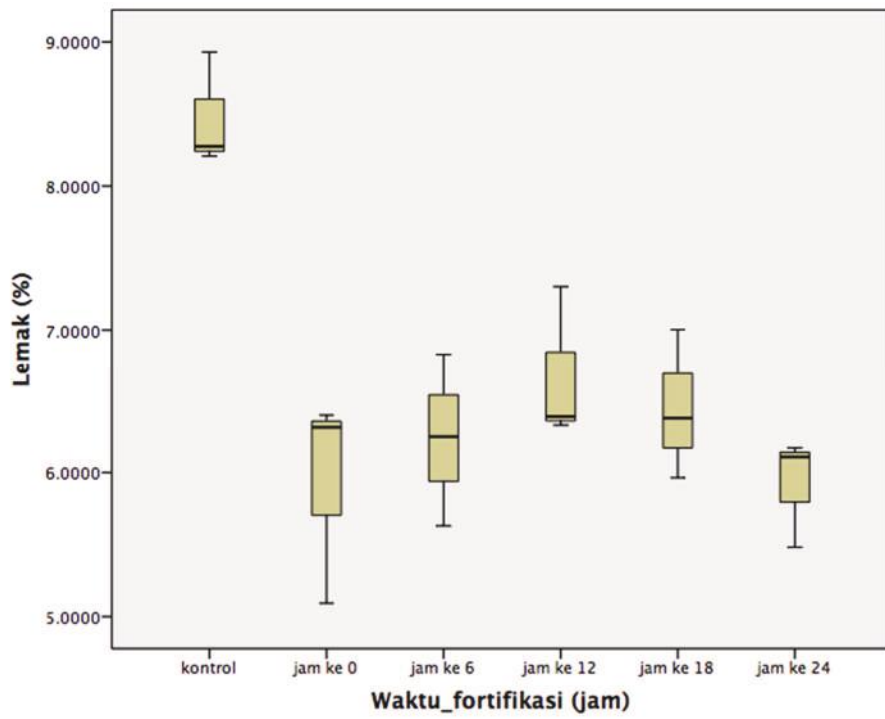


Lampiran 3. Hasil Uji Kandungan Lemak Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Tabel 11. Hasil Uji Kandungan Lemak Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Waktu Fortifikasi	Ulangan	Analisis Kandungan Lemak (%berat)		
		Kandungan Lemak	Rerata	Standar Deviasi
Kontrol	1	8,92995	8,47	0,39
	2	8,2072		
	3	8,27565		
Jam ke-0	1	6,39895	5,39	0,73
	2	6,3142		
	3	5,0927		
Jam ke-6	1	6,2494	6,23	0,59
	2	6,8296		
	3	5,6299		
Jam ke-12	1	6,389	6,67	0,54
	2	7,30155		
	3	6,3291		
Jam ke-18	1	5,96405	6,44	0,52
	2	7,0031		
	3	6,3776		
Jam ke-24	1	6,1721	5,92	0,38
	2	6,10895		
	3	5,48145		

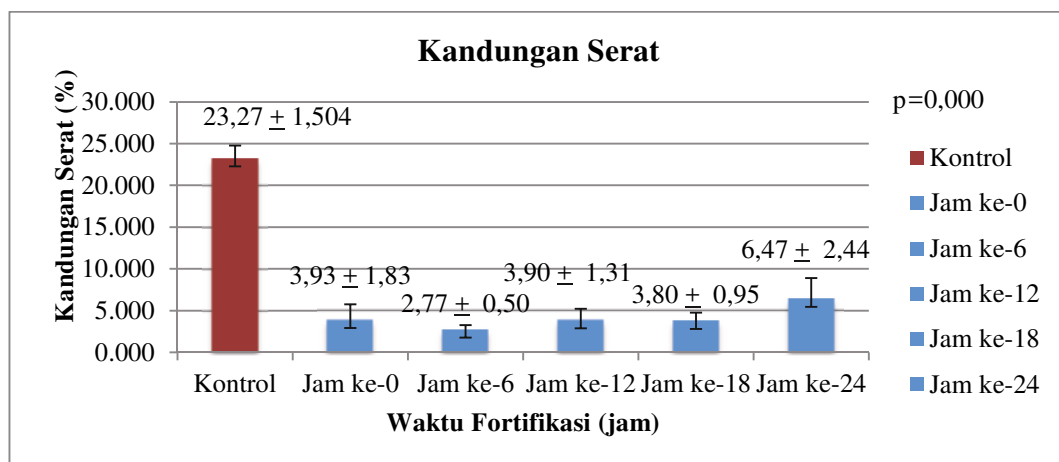


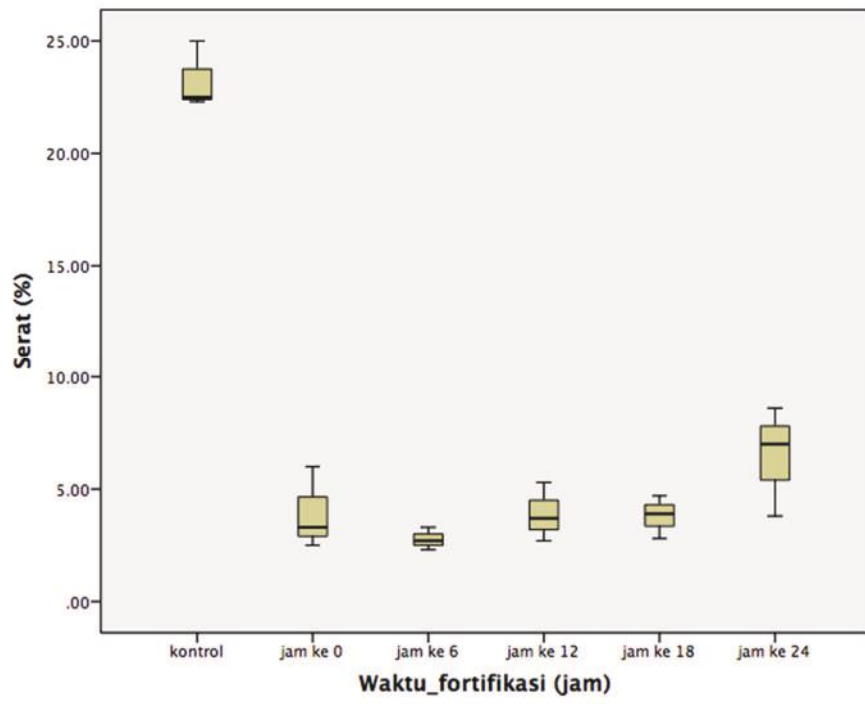


Lampiran 4. Hasil Uji Kandungan Serat Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Tabel 12. Hasil Uji Kandungan Serat Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Waktu Fortifikasi	Ulangan	Analisis Kandungan Serat (%berat)		
		Kandungan Serat	Rerata	Standar Deviasi
Kontrol	1	22,3	23,27	1,504
	2	22,5		
	3	25,0		
Jam ke-0	1	3,3	3,93	1,83
	2	6,0		
	3	2,5		
Jam ke-6	1	2,7	2,77	0,50
	2	2,3		
	3	3,3		
Jam ke-12	1	3,7	3,90	1,31
	2	2,7		
	3	5,3		
Jam ke-18	1	2,8	3,80	0,95
	2	4,7		
	3	3,9		
Jam ke-24	1	3,8	6,47	2,44
	2	8,6		
	3	7,0		

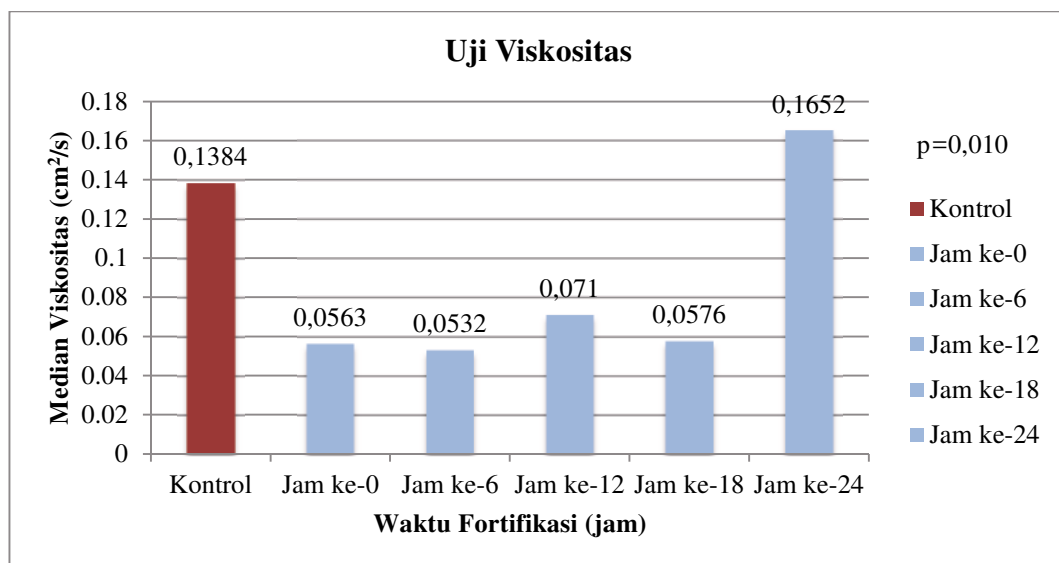


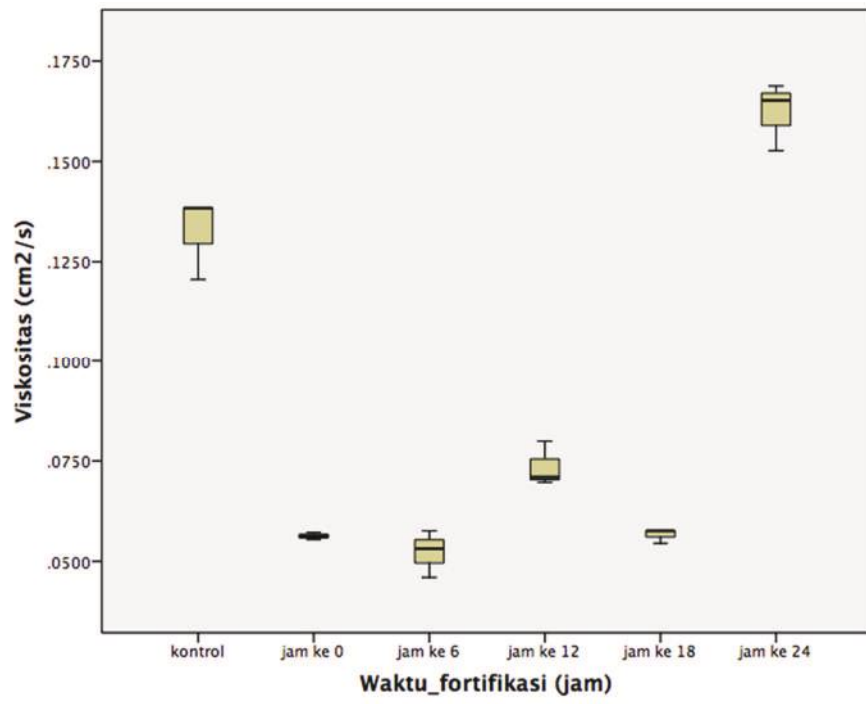


Lampiran 5. Hasil Uji Kandungan Viskositas Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Tabel 13. Hasil Uji Kandungan Viskositas Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Waktu Fortifikasi	Ulangan	Analisis Viskositas (cm/s ²)			
		Kandungan Viskositas	Median	Nilai Minimum	Nilai Maksimum
Kontrol	1	0,1206	0,1384	0,1206	0,1385
	2	0,1384			
	3	0,13845			
Jam ke-0	1	0,05715	0,0563	0,0554	0,0572
	2	0,0554			
	3	0,0563			
Jam ke-6	1	0,046	0,0532	0,0460	0,0576
	2	0,05315			
	3	0,0576			
Jam ke-12	1	0,071	0,071	0,0697	0,0800
	2	0,0697			
	3	0,07995			
Jam ke-18	1	0,0545	0,0576	0,0545	0,0576
	2	0,0576			
	3	0,0576			
Jam ke-24	1	0,1688	0,1652	0,1527	0,1688
	2	0,1527			
	3	0,1652			

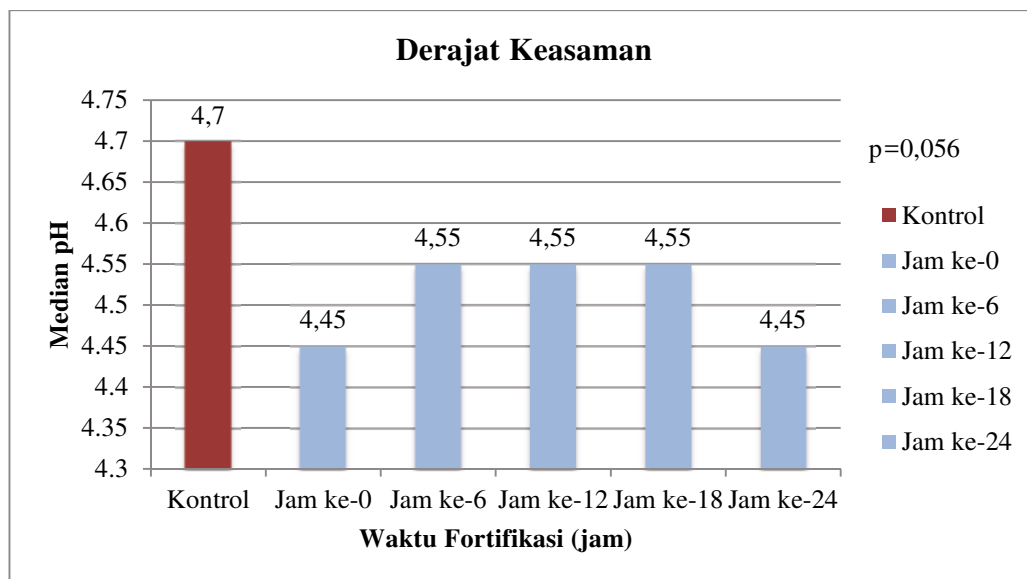


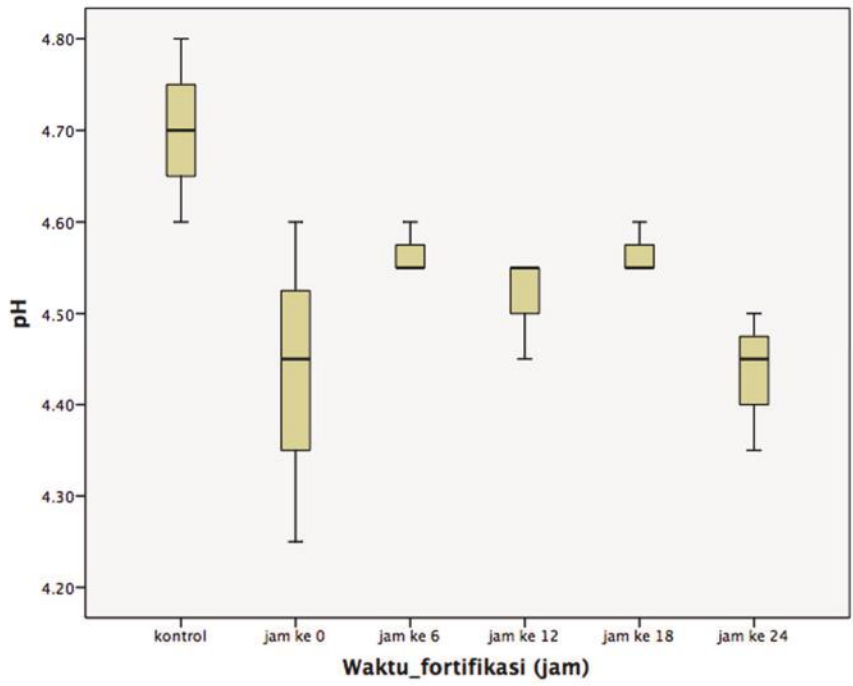


Lampiran 6. Hasil Uji Kandungan pH Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Tabel 14. Hasil Uji Kandungan pH Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Waktu Fortifikasi	Ulangan	Analisis PH				Syarat pH kefir
		Nilai pH	Median	Nilai Minimum	Nilai Maksimum	
Kontrol	1	4,6	4,7	4,6	4,8	Memenuhi
	2	4,8				Memenuhi
	3	4,7				Memenuhi
Jam ke-0	1	4,25	4,45	4,2	4,6	Memenuhi
	2	4,6				Memenuhi
	3	4,45				Memenuhi
Jam ke-6	1	4,6	4,55	4,5	4,6	Memenuhi
	2	4,55				Memenuhi
	3	4,55				Memenuhi
Jam ke-12	1	4,45	4,55	4,4	4,5	Memenuhi
	2	4,55				Memenuhi
	3	4,55				Memenuhi
Jam ke-18	1	4,55	4,55	4,5	4,6	Memenuhi
	2	4,55				Memenuhi
	3	4,6				Memenuhi
Jam ke-24	1	4,45	4,45	4,3	4,5	Memenuhi
	2	4,35				Memenuhi
	3	4,5				Memenuhi

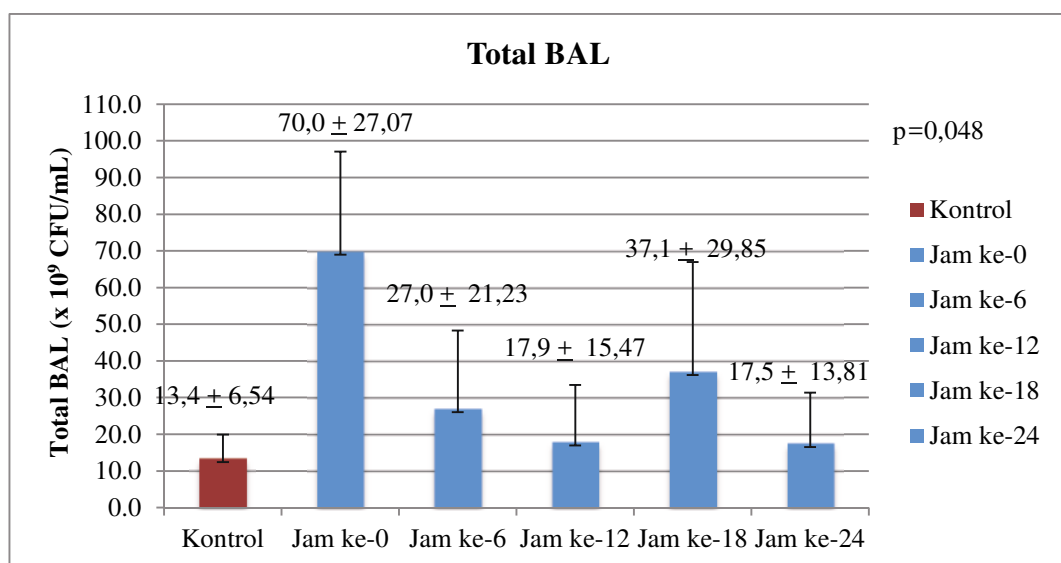


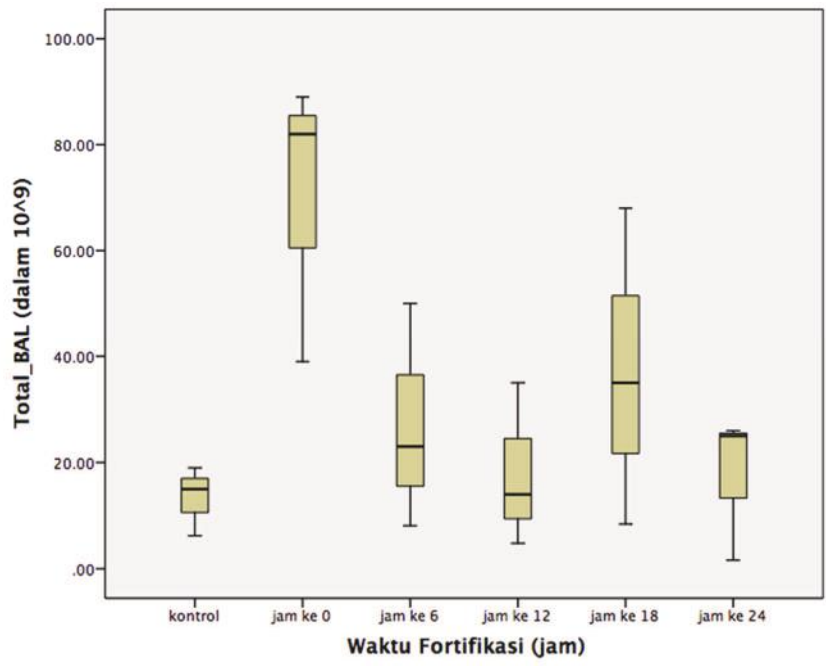


Lampiran 7. Hasil Uji Kandungan Total Bakteri Asam Laktat Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Tabel 15. Hasil Uji Kandungan Total Bakteri Asam Laktat Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

Waktu Fortifikasi	Ulangan	Analisis Total Bakteri Asam Laktat ($\times 10^9$ CFU/mL)			Pemenuhan BAL Codex
		Total Bakteri	Rerata	Standar Deviasi	
Kontrol	1	19	13,4	6,54	Memenuhi
	2	6,2			Memenuhi
	3	15			Memenuhi
Jam ke-0	1	82	70,0	27,07	Memenuhi
	2	89			Memenuhi
	3	39			Memenuhi
Jam ke-6	1	23	27,0	21,23	Memenuhi
	2	50			Memenuhi
	3	8,1			Memenuhi
Jam ke-12	1	35	17,9	15,47	Memenuhi
	2	14			Memenuhi
	3	4,8			Memenuhi
Jam ke-18	1	8,4	37,1	29,85	Memenuhi
	2	68			Memenuhi
	3	35			Memenuhi
Jam ke-24	1	1,6	17,5	13,81	Memenuhi
	2	25			Memenuhi
	3	26			Memenuhi





Lampiran 8. Hasil Uji Susu Kambing

1. Vitamin D₃

Tabel 16. Hasil Uji Vitamin D₃ pada Susu Kambing

Sampel	Vitamin D ₃ (IU)	Rerata Vitamin D ₃ (IU)
A1	69,697	70,86 ± 1,42
A2	72,457	
A3	70,435	

2. Vitamin B₁₂

Tabel 17. Hasil Uji Vitamin B₁₂ pada Susu Kambing

Sampel	Vitamin B ₁₂ (µg)	Rerata Vitamin B ₁₂ (µg)
A1	735,313	819,68 ± 92,59
A2	805,000	
A3	918,750	

3. Protein

Tabel 18. Hasil Uji Kandungan Protein pada Susu Kambing

Sampel	Protein (%)	Rerata Protein (%)
A1	1,414	2,16 ± 0,65
A2	2,451	
A3	2,624	

4. Lemak

Tabel 19. Hasil Uji Kandungan Lemak pada Susu Kambing

Sampel	Lemak (%)	Rerata Lemak (%)
A1	14,824	14,68 ± 0,12
A2	14,628	
A3	14,598	

5. Serat

Tabel 20. Hasil Uji Kandungan Serat pada Susu Kambing

Sampel	Serat (%)	Rerata Serat (%)
A1	3,2	3 ± 0,53
A2	3,4	
A3	2,4	

6. Total BAL

Tabel 21. Hasil Uji Kandungan Total BAL pada Susu Kambing

Serat	Total BAL (10^7 CFU/mL)	Rerata Total BAL (10^7)
A1	4,2	$3,83 \pm 0,43$
A2	3,4	
A3	3,9	

7. Viskositas

Tabel 22. Hasil Uji Viskositas pada Susu Kambing

Sampel	Viskositas (cm^2/s^2)	Rerata Viskositas (cm^2/s^2)
A1	0,0134	$0,0135 \pm 0,0002$
A2	0,0134	
A3	0,01385	

8. Derajat Keasaman

Tabel 23. Hasil Uji Derajat Keasaman pada Susu Kambing

Sampel	Nilai pH	Rerata Nilai pH
A1	6,56	$6,57 \pm 0,008$
A2	6,575	
A3	6,575	

Lampiran 9. Hasil Analisis Kandungan Vitamin D₃ Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

1. Uji Normalitas Data

		Uji Normalitas					
Variabel	Waktu_fortifikasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
D3 (IU)	kontrol	.292	3	.	.923	3	.463
	jam ke 0	.266	3	.	.952	3	.579
	jam ke 6	.293	3	.	.922	3	.459
	jam ke 12	.212	3	.	.990	3	.809
	jam ke 18	.246	3	.	.970	3	.667
	jam ke 24	.326	3	.	.873	3	.304

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan hasil uji normalitas, didapatkan bahwa data berdistribusi normal ($p > 0,05$).

2. Uji *one way* ANOVA

Berdasarkan *Levene test*, data tergolong homogen ($p.value$ 0,061, $p > 0,05$). Uji ANOVA menunjukkan angka 0,021 ($p < 0,05$), maka dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada nilai konsentrasi vitamin D3 dalam kelompok yang diuji.

Deskriptif Statistik								
Waktu Fortifikasi	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	3	22.8717	.56677	.32723	21.4637	24.2796	22.42	23.51
jam ke 0	3	28.1987	5.33864	3.08226	14.9368	41.4606	23.66	34.08
jam ke 6	3	34.6527	5.62788	3.24926	20.6723	48.6331	30.16	40.96
jam ke 12	3	26.5527	1.46530	.84599	22.9127	30.1927	25.18	28.10
jam ke 18	3	23.5460	3.29658	1.90328	15.3568	31.7352	19.97	26.46
jam ke 24	3	25.5937	2.58010	1.48962	19.1843	32.0030	22.65	27.47
Total	18	26.9026	5.05043	1.19040	24.3910	29.4141	19.97	40.96

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.886	5	12	.062

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	273.283	5	54.657	4.091	.021
Within Groups	160.333	12	13.361		
Total	433.616	17			

3. Uji *Post Hoc* (Tukey)

Dari uji lanjut, didapatkan perbedaan ($p < 0,05$) konsentrasi vitamin D₃ antara:

- a.) Kelompok kontrol dengan kelompok fortifikasi jam ke 6 ($p.value$ 0,019)
- b.) Kelompok fortifikasi jam ke 6 dan kelompok fortifikasi jam ke 18 ($p.value$ 0,027)

Multiple Comparisons

Tukey HSD

(I) Waktu_fortifikasi	(J) Waktu_fortifikasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	jam ke 0	-5.32700	2.98453	.508	-15.3518	4.6978
	jam ke 6	-11.78100*	2.98453	.019	-21.8058	-1.7562
	jam ke 12	-3.68100	2.98453	.813	-13.7058	6.3438
	jam ke 18	-.67433	2.98453	1.000	-10.6991	9.3505
	jam ke 24	-2.72200	2.98453	.936	-12.7468	7.3028
jam ke 0	kontrol	5.32700	2.98453	.508	-4.6978	15.3518

	jam ke 6	-6.45400	2.98453	.321	-16.4788	3.5708
	jam ke 12	1.64600	2.98453	.992	-8.3788	11.6708
	jam ke 18	4.65267	2.98453	.637	-5.3721	14.6775
	jam ke 24	2.60500	2.98453	.946	-7.4198	12.6298
jam ke 6	kontrol	11.78100*	2.98453	.019	1.7562	21.8058
	jam ke 0	6.45400	2.98453	.321	-3.5708	16.4788
	jam ke 12	8.10000	2.98453	.143	-1.9248	18.1248
	jam ke 18	11.10667*	2.98453	.027	1.0819	21.1315
	jam ke 24	9.05900	2.98453	.085	-.9658	19.0838
jam ke 12	kontrol	3.68100	2.98453	.813	-6.3438	13.7058
	jam ke 0	-1.64600	2.98453	.992	-11.6708	8.3788
	jam ke 6	-8.10000	2.98453	.143	-18.1248	1.9248
	jam ke 18	3.00667	2.98453	.907	-7.0181	13.0315
	jam ke 24	.95900	2.98453	.999	-9.0658	10.9838
jam ke 18	kontrol	.67433	2.98453	1.000	-9.3505	10.6991
	jam ke 0	-4.65267	2.98453	.637	-14.6775	5.3721
	jam ke 6	-11.10667*	2.98453	.027	-21.1315	-1.0819
	jam ke 12	-3.00667	2.98453	.907	-13.0315	7.0181
	jam ke 24	-2.04767	2.98453	.980	-12.0725	7.9771
jam ke 24	kontrol	2.72200	2.98453	.936	-7.3028	12.7468
	jam ke 0	-2.60500	2.98453	.946	-12.6298	7.4198
	jam ke 6	-9.05900	2.98453	.085	-19.0838	.9658
	jam ke 12	-.95900	2.98453	.999	-10.9838	9.0658
	jam ke 18	2.04767	2.98453	.980	-7.9771	12.0725

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

D3_IU

	Waktu_fortifikasi	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Tukey HSD ^a	kontrol	3	22.8717	
	jam ke 18	3	23.5460	
	jam ke 24	3	25.5937	25.5937
	jam ke 12	3	26.5527	26.5527
	jam ke 0	3	28.1987	28.1987
	jam ke 6	3		34.6527
	Sig.			.508

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 10. Hasil Analisis Kandungan Protein Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

1. Uji Normalitas

Variabel	Waktu_fortifikasi	Uji Normalitas			Uji Normalitas		
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Protein	kontrol	.326	3	.	.874	3	.308
	jam ke 0	.340	3	.	.848	3	.236
	jam ke 6	.370	3	.	.785	3	.079
	jam ke 12	.209	3	.	.992	3	.826
	jam ke 18	.249	3	.	.968	3	.654
	jam ke 24	.362	3	.	.805	3	.125

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan uji normalitas *Saphiro Wilk*, data pada seluruh kelompok tergolong berdistribusi normal ($p > 0,05$).

2. Uji *One Way* ANOVA

Berdasarkan *Levene test*, data tergolong homogen ($p.value$ 0,072, $p > 0,05$). Uji ANOVA menunjukkan angka 0,262 ($p > 0,05$), maka dapat ditarik kesimpulan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan pada nilai kandungan lemak dalam seluruh kelompok sampel yang diuji.

Deskriptif Statistik

	n	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	3	.62167	.071654	.041370	.44367	.79967	.540	.674
jam ke 0	3	.92967	.288271	.166434	.21356	1.64577	.729	1.260
jam ke 6	3	.63000	.181155	.104590	.17999	1.08001	.518	.839
jam ke 12	3	.81667	.091882	.053048	.58842	1.04491	.730	.913
jam ke 18	3	.77700	.148940	.085990	.40701	1.14699	.646	.939
jam ke 24	3	.81200	.137128	.079171	.47136	1.15264	.724	.970
Total	18	.76450	.180470	.042537	.67475	.85425	.518	1.260

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.726	5	12	.072

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.213	5	.043	1.497	.262
Within Groups	.341	12	.028		
Total	.554	17			

3. Uji Post Hoc (Tukey)

Multiple Comparisons

	(I) Waktu_fortifikasi	(J) Waktu_fortifikasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	kontrol	jam ke 0	-.308000	.137631	.289	-.77029	.15429
		jam ke 6	-.008333	.137631	1.000	-.47063	.45396
		jam ke 12	-.195000	.137631	.717	-.65729	.26729
		jam ke 18	-.155333	.137631	.860	-.61763	.30696
		jam ke 24	-.190333	.137631	.736	-.65263	.27196

	jam ke 0	kontrol	.308000	.137631	.289	-.15429	.77029
		jam ke 6	.299667	.137631	.314	-.16263	.76196
		jam ke 12	.113000	.137631	.958	-.34929	.57529
		jam ke 18	.152667	.137631	.869	-.30963	.61496
		jam ke 24	.117667	.137631	.950	-.34463	.57996
	jam ke 6	kontrol	.008333	.137631	1.000	-.45396	.47063
		jam ke 0	-.299667	.137631	.314	-.76196	.16263
		jam ke 12	-.186667	.137631	.750	-.64896	.27563
		jam ke 18	-.147000	.137631	.885	-.60929	.31529
		jam ke 24	-.182000	.137631	.768	-.64429	.28029
	jam ke 12	kontrol	.195000	.137631	.717	-.26729	.65729
		jam ke 0	-.113000	.137631	.958	-.57529	.34929
		jam ke 6	.186667	.137631	.750	-.27563	.64896
		jam ke 18	.039667	.137631	1.000	-.42263	.50196
		jam ke 24	.004667	.137631	1.000	-.45763	.46696
	jam ke 18	kontrol	.155333	.137631	.860	-.30696	.61763
		jam ke 0	-.152667	.137631	.869	-.61496	.30963
		jam ke 6	.147000	.137631	.885	-.31529	.60929
		jam ke 12	-.039667	.137631	1.000	-.50196	.42263
		jam ke 24	-.035000	.137631	1.000	-.49729	.42729
	jam ke 24	kontrol	.190333	.137631	.736	-.27196	.65263
		jam ke 0	-.117667	.137631	.950	-.57996	.34463
		jam ke 6	.182000	.137631	.768	-.28029	.64429
		jam ke 12	-.004667	.137631	1.000	-.46696	.45763
jam ke 18		.035000	.137631	1.000	-.42729	.49729	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Protein

	Waktu_fortifikasi	N	Subset for alpha = 0.05
			1
Tukey HSD ^a	kontrol	3	.62167
	jam ke 6	3	.63000
	jam ke 18	3	.77700
	jam ke 24	3	.81200
	jam ke 12	3	.81667
	jam ke 0	3	.92967
	Sig.		.289

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 11. Hasil Analisis Kandungan Lemak Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

1. Uji Normalitas

Uji Normalitas

Variabel	Waktu_fortifikasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Lemak	kontrol	.354	3	.	.820	3	.164
	jam ke 0	.365	3	.	.798	3	.111
	jam ke 6	.177	3	.	1.000	3	.964
	jam ke 12	.366	3	.	.796	3	.105
	jam ke 18	.220	3	.	.986	3	.776
	jam ke 24	.356	3	.	.818	3	.158

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan uji normalitas *Saphiro Wilk*, seluruh data tergolong berdistribusi normal ($p > 0,05$).

2. Uji *One Way* ANOVA

Berdasarkan *Levene test*, data tergolong homogen ($p.value$ 0,740, $p > 0,05$). Uji ANOVA menunjukkan angka 0,001 ($p < 0,05$), maka dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada nilai kandungan lemak dalam kelompok yang diuji.

Deskriptif Statistik

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	3	8.470933	.3989907	.2303574	7.479785	9.462081	8.2072	8.9300
jam ke 0	3	5.935283	.7309279	.4220014	4.119558	7.751009	5.0927	6.3990
jam ke 6	3	6.236300	.5999573	.3463855	4.745924	7.726676	5.6299	6.8296
jam ke 12	3	6.673217	.5449762	.3146422	5.319421	8.027013	6.3291	7.3016
jam ke 18	3	6.448250	.5231155	.3020209	5.148759	7.747741	5.9641	7.0031
jam ke 24	3	5.920833	.3818249	.2204467	4.972328	6.869339	5.4815	6.1721
Total	18	6.614136	1.0067010	.2372817	6.113515	7.114757	5.0927	8.9300

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.544	5	12	.740

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.689	5	2.738	9.281	.001
Within Groups	3.540	12	.295		
Total	17.229	17			

3. Uji *Post Hoc* (Tukey)

Multiple Comparisons

Tukey HSD

(I) Waktu_fortifikasi	(J) Waktu_fortifikasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	jam ke 0	2.5356500*	.4434507	.001	1.046134	4.025166
	jam ke 6	2.2346333*	.4434507	.003	.745117	3.724149
	jam ke 12	1.7977167*	.4434507	.015	.308201	3.287233
	jam ke 18	2.0226833*	.4434507	.007	.533167	3.512199
	jam ke 24	2.5501000*	.4434507	.001	1.060584	4.039616
jam ke 0	kontrol	-2.5356500*	.4434507	.001	-4.025166	-1.046134
	jam ke 6	-.3010167	.4434507	.981	-1.790533	1.188499
	jam ke 12	-.7379333	.4434507	.577	-2.227449	.751583
	jam ke 18	-.5129667	.4434507	.848	-2.002483	.976549
	jam ke 24	.0144500	.4434507	1.000	-1.475066	1.503966
jam ke 6	kontrol	-2.2346333*	.4434507	.003	-3.724149	-.745117
	jam ke 0	.3010167	.4434507	.981	-1.188499	1.790533
	jam ke 12	-.4369167	.4434507	.914	-1.926433	1.052599

jam ke 12	jam ke 18	-2.119500	.4434507	.996	-1.701466	1.277566
	jam ke 24	.3154667	.4434507	.977	-1.174049	1.804983
	kontrol	-1.7977167*	.4434507	.015	-3.287233	-.308201
	jam ke 0	.7379333	.4434507	.577	-.751583	2.227449
	jam ke 6	.4369167	.4434507	.914	-1.052599	1.926433
jam ke 18	jam ke 18	.2249667	.4434507	.995	-1.264549	1.714483
	jam ke 24	.7523833	.4434507	.558	-.737133	2.241899
	kontrol	-2.0226833*	.4434507	.007	-3.512199	-.533167
	jam ke 0	.5129667	.4434507	.848	-.976549	2.002483
	jam ke 6	.2119500	.4434507	.996	-1.277566	1.701466
jam ke 24	jam ke 12	-.2249667	.4434507	.995	-1.714483	1.264549
	jam ke 24	.5274167	.4434507	.834	-.962099	2.016933
	kontrol	-2.5501000*	.4434507	.001	-4.039616	-1.060584
	jam ke 0	-.0144500	.4434507	1.000	-1.503966	1.475066
	jam ke 6	-.3154667	.4434507	.977	-1.804983	1.174049
	jam ke 12	-.7523833	.4434507	.558	-2.241899	.737133
	jam ke 18	-.5274167	.4434507	.834	-2.016933	.962099

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lemak

	Waktu_fortifikasi	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Tukey HSD ^a	jam ke 24	3	5.920833	
	jam ke 0	3	5.935283	
	jam ke 6	3	6.236300	
	jam ke 18	3	6.448250	
	jam ke 12	3	6.673217	
	kontrol	3		8.470933
	Sig.			.558

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 12. Hasil Analisis Kandungan Serat Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

1. Uji Normalitas

		Uji Normalitas					
Variabel	Waktu_fortifikasi	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Serat	kontrol	.362	3	.	.805	3	.127
	jam ke 0	.302	3	.	.911	3	.420
	jam ke 6	.219	3	.	.987	3	.780
	jam ke 12	.227	3	.	.983	3	.747
	jam ke 18	.208	3	.	.992	3	.826
	jam ke 24	.253	3	.	.964	3	.637

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan uji normalitas *Saphiro Wilk*, data pada seluruh kelompok tergolong berdistribusi normal ($p>0,05$).

2. Uji *one way* ANOVA

Berdasarkan *Levene test*, data tergolong homogen ($p.value$ 0,208, $p>0,05$). Uji ANOVA menunjukkan angka 0,0001 ($p<0,05$), maka dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan nilai kandungan lemak pada sampel yang diuji.

Deskriptif Statistik								
	n	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol	3	23.2667	1.50444	.86859	19.5294	27.0039	22.30	25.00
jam ke 0	3	3.9333	1.83394	1.05883	-.6224	8.4891	2.50	6.00
jam ke 6	3	2.7667	.50332	.29059	1.5163	4.0170	2.30	3.30
jam ke 12	3	3.9000	1.31149	.75719	.6421	7.1579	2.70	5.30
jam ke 18	3	3.8000	.95394	.55076	1.4303	6.1697	2.80	4.70
jam ke 24	3	6.4667	2.44404	1.41107	.3953	12.5380	3.80	8.60
Total	18	7.3556	7.52597	1.77389	3.6130	11.0981	2.30	25.00

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.703	5	12	.208

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	933.918	5	186.784	77.379	.000
Within Groups	28.967	12	2.414		
Total	962.884	17			

3. Uji Post Hoc (Tukey)

Multiple Comparisons

Tukey HSD

(I) Waktu_fortifikasi	(J) Waktu_fortifikasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	jam ke 0	19.33333*	1.26857	.000	15.0723	23.5943
	jam ke 6	20.50000*	1.26857	.000	16.2390	24.7610
	jam ke 12	19.36667*	1.26857	.000	15.1057	23.6277
	jam ke 18	19.46667*	1.26857	.000	15.2057	23.7277
	jam ke 24	16.80000*	1.26857	.000	12.5390	21.0610
jam ke 0	kontrol	-19.33333*	1.26857	.000	-23.5943	-15.0723
	jam ke 6	1.16667	1.26857	.934	-3.0943	5.4277
	jam ke 12	.03333	1.26857	1.000	-4.2277	4.2943
	jam ke 18	.13333	1.26857	1.000	-4.1277	4.3943
	jam ke 24	-2.53333	1.26857	.397	-6.7943	1.7277
jam ke 6	kontrol	-20.50000*	1.26857	.000	-24.7610	-16.2390
	jam ke 0	-1.16667	1.26857	.934	-5.4277	3.0943
	jam ke 12	-1.13333	1.26857	.941	-5.3943	3.1277
	jam ke 18	-1.03333	1.26857	.959	-5.2943	3.2277
	jam ke 24	-3.70000	1.26857	.104	-7.9610	.5610

jam ke 12	kontrol	-19.36667*	1.26857	.000	-23.6277	-15.1057
	jam ke 0	-.03333	1.26857	1.000	-4.2943	4.2277
	jam ke 6	1.13333	1.26857	.941	-3.1277	5.3943
	jam ke 18	.10000	1.26857	1.000	-4.1610	4.3610
	jam ke 24	-2.56667	1.26857	.384	-6.8277	1.6943
jam ke 18	kontrol	-19.46667*	1.26857	.000	-23.7277	-15.2057
	jam ke 0	-.13333	1.26857	1.000	-4.3943	4.1277
	jam ke 6	1.03333	1.26857	.959	-3.2277	5.2943
	jam ke 12	-.10000	1.26857	1.000	-4.3610	4.1610
	jam ke 24	-2.66667	1.26857	.347	-6.9277	1.5943
jam ke 24	kontrol	-16.80000*	1.26857	.000	-21.0610	-12.5390
	jam ke 0	2.53333	1.26857	.397	-1.7277	6.7943
	jam ke 6	3.70000	1.26857	.104	-.5610	7.9610
	jam ke 12	2.56667	1.26857	.384	-1.6943	6.8277
	jam ke 18	2.66667	1.26857	.347	-1.5943	6.9277

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Serat

	Waktu_fortifikasi	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Tukey HSD ^a	jam ke 6	3	2.7667	
	jam ke 18	3	3.8000	
	jam ke 12	3	3.9000	
	jam ke 0	3	3.9333	
	jam ke 24	3	6.4667	
	kontrol	3		23.2667
	Sig.			.104

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 13. Hasil Analisis Kandungan Viskositas Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

1. Uji Normalitas

Variabel	Waktu_fortifikasi	Uji Normalitas			Shapiro-Wilk		
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Viskositas	kontrol	.384	3	.	.752	3	.005
	jam ke 0	.177	3	.	1.000	3	.968
	jam ke 6	.228	3	.	.982	3	.745
	jam ke 12	.343	3	.	.843	3	.223
	jam ke 18	.385	3	.	.750	3	.000
	jam ke 24	.304	3	.	.908	3	.410

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan uji normalitas *Saphiro Wilk*, didapatkan bahwa data tergolong berdistribusi tidak normal karena terdapat $p < 0,05$.

2. Uji *Kruskall-Wallis*

Berdasarkan Uji *Kruskall Wallis*, didapatkan bahwa hipotesis null ditolak ($p.value$ 0,010), artinya terdapat perbedaan pada kelompok yang diuji. Oleh karena itu dilakukan uji lanjut dengan *Mann Whitney*.

Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Viskositas is the same across categories of Waktu_fortifikasi.	Independent-Samples Kruskal-Wallis Test	.010	Reject the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is .05.

3. Uji *Mann Whitney*

Berdasarkan uji Mann Whitney, terdapat perbedaan $p < 0,05$) antara:

a.) Kelompok kontrol dengan seluruh kelompok perlakuan.

- Kelompok kontrol dengan kelompok fortifikasi jam ke 0 (*p.value* 0,050)
- Kelompok kontrol dengan kelompok fortifikasi jam ke 6 (*p.value* 0,050)
- Kelompok kontrol dengan kelompok fortifikasi jam ke 12 (*p.value* 0,050)
- Kelompok kontrol dengan kelompok fortifikasi jam ke 18 (*p.value* 0,046)
- Kelompok kontrol dengan kelompok fortifikasi jam ke 24 (*p.value* 0,050)

b.) Kelompok fortifikasi jam ke 0 dengan jam ke 12 (*p.value* 0,050)

c.) Kelompok fortifikasi jam ke 0 dengan jam ke 24 (*p.value* 0,050)

d.) Kelompok fortifikasi jam ke 6 dengan jam ke 12 (*p.value* 0,050)

e.) Kelompok fortifikasi jam ke 6 dengan jam ke 24 (*p.value* 0,050)

f.) Kelompok fortifikasi jam ke 12 dengan jam ke 18 (*p.value* 0,046)

g.) Kelompok fortifikasi jam ke 12 dengan jam ke 24 (*p.value* 0,050)

h.) Kelompok fortifikasi jam ke 18 dengan jam ke 24 (*p.value* 0,046)

a. Kontrol dengan jam ke 0

Ranks				
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	kontrol	3	5,00	15,00
	jam ke 0	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics ^b		Viskositas
Mann-Whitney U		,000
Wilcoxon W		6,000
Z		-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)		,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

b. Kontrol dengan jam ke 6

Ranks				
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	kontrol	3	5,00	15,00
	jam ke 6	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics ^b		Viskositas
Mann-Whitney U		,000
Wilcoxon W		6,000
Z		-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)		,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

c. Kontrol dengan jam ke 12

Ranks				
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	kontrol	3	5,00	15,00
	jam ke 12	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics ^b		Viskositas
Mann-Whitney U		,000
Wilcoxon W		6,000
Z		-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)		,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

d. Kontrol dengan jam ke 18

		Ranks		
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	kontrol	3	5,00	15,00
	jam ke 18	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics ^b		Viskositas
Mann-Whitney U		,000
Wilcoxon W		6,000
Z		-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)		,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

e. Kontrol dengan jam ke 24

		Ranks		
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	kontrol	3	2,00	6,00
	jam ke 24	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics ^b		Viskositas
Mann-Whitney U		,000
Wilcoxon W		6,000
Z		-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)		,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

f. Jam ke 0 dengan jam ke 6

		Ranks		
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	jam ke 0	3	4,00	12,00
	jam ke 6	3	3,00	9,00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Viskositas
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	9,000
Z	-,655
Asymp. Sig. (2-tailed)	,513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,700 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

g. Jam ke 0 dengan jam ke 12

Ranks

	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	jam ke 0	3	2,00	6,00
	jam ke 12	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Viskositas
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

h. Jam ke 0 dengan jam ke 18

Ranks

	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	jam ke 0	3	3,00	9,00
	jam ke 18	3	4,00	12,00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Viskositas
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	9,000
Z	-,664
Asymp. Sig. (2-tailed)	,507
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,700 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

i. Jam ke 0 dengan jam ke 24

		Ranks		
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	jam ke 0	3	2,00	6,00
	jam ke 24	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics ^b		Viskositas
Mann-Whitney U		,000
Wilcoxon W		6,000
Z		-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)		,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

j. Jam ke 6 dengan jam ke 12

		Ranks		
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	jam ke 6	3	2,00	6,00
	jam ke 12	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics ^b		Viskositas
Mann-Whitney U		,000
Wilcoxon W		6,000
Z		-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)		,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

k. Jam ke 6 dengan jam ke 18

		Ranks		
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	jam ke 6	3	2,67	8,00
	jam ke 18	3	4,33	13,00
	Total	6		

Test Statistics ^b		Viskositas
Mann-Whitney U		2,000
Wilcoxon W		8,000
Z		-1,159
Asymp. Sig. (2-tailed)		,246
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]		,400 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

l. Jam ke 6 dengan jam ke 24

Ranks				
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	jam ke 6	3	2,00	6,00
	jam ke 24	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics ^b	
	Viskositas
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

m. Jam ke 12 dengan jam ke 18

Ranks				
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	jam ke 12	3	5,00	15,00
	jam ke 18	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics ^b	
	Viskositas
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

n. Jam ke 12 dengan jam ke 24

Ranks				
	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	jam ke 12	3	2,00	6,00
	jam ke 24	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Viskositas
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

o. Jam ke 18 dengan jam ke 24

Ranks

	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Viskositas	jam ke 18	3	2,00	6,00
	jam ke 24	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Viskositas
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Waktu_fortifikasi

Lampiran 14. Hasil Analisis Kandungan pH Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

1. Uji Normalitas

Variabel	Waktu_fortifikasi	Uji Normalitas					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
pH	kontrol	.175	3	.	1.000	3	1.000
	jam ke 0	.204	3	.	.993	3	.843
	jam ke 6	.385	3	.	.750	3	.000
	jam ke 12	.385	3	.	.750	3	.000
	jam ke 18	.385	3	.	.750	3	.000
	jam ke 24	.253	3	.	.964	3	.637

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan uji normalitas *Saphiro Wilk*, didapatkan bahwa data tergolong berdistribusi tidak normal karena terdapat *p value* <0,05. Oleh karena itu uji ANOVA tidak dapat dilaksanakan.

2. Uji *Kruskall-Wallis*

Uji yang akan dilakukan adalah Kruskal Wallis. Berdasarkan Uji tersebut, didapatkan bahwa hipotesis null diterima, artinya tidak terdapat perbedaan signifikan pada seluruh kelompok yang diuji (*p.value* 0,056).

Ranks

	Waktu_fortifikasi	N	Mean Rank
pH	kontrol	3	16.50
	jam ke 0	3	6.50
	jam ke 6	3	11.17
	jam ke 12	3	7.67
	jam ke 18	3	11.17
	jam ke 24	3	4.00
	Total	18	

Test Statistics^{a,b}

	pH
Chi-Square	10.773
df	5
Asymp. Sig.	.056

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:

Waktu_fortifikasi

Lampiran 15. Hasil Analisis Kandungan Total Bakteri Asam Laktat Kefir Susu Kambing dengan Fortifikasi Vitamin D₃

1. Uji Normalitas

Variabel	Waktu_fortifikasi	Uji Normalitas			Uji Normalitas		
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Total_BAL	kontrol	.263	3	.	.955	3	.593
	jam ke 0	.338	3	.	.853	3	.248
	jam ke 6	.242	3	.	.973	3	.684
	jam ke 12	.267	3	.	.952	3	.576
	jam ke 18	.195	3	.	.996	3	.882
	jam ke 24	.372	3	.	.781	3	.069

a. Lilliefors Significance Correction

Berdasarkan hasil uji normalitas dengan *Saphiro-Wilk*, didapatkan bahwa data pada seluruh kelompok berdistribusi normal ($p.value > 0,05$). Dengan demikian, dilakukan ANOVA *one way*.

2. Uji *One Way* ANOVA

Berdasarkan *Levene test*, data tergolong homogen ($p.value$ 0,319). Berdasarkan uji ANOVA *one way*, didapatkan bahwa terdapat perbedaan pada total BAL yang diuji ($p.value$ 0,048, $p < 0,05$). Berdasarkan uji lanjut, didapatkan bahwa kelompok yang berbeda adalah kelompok kontrol dengan kelompok fortifikasi jam ke 0 ($p.value$ 0,050).

<i>Test of Homogeneity of Variances</i>			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.323	5	12	.319

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6704.203	5	1340.841	3.157	.048
Within Groups	5097.407	12	424.784		
Total	11801.609	17			

3. Uji Post Hoc (Tukey)

Multiple Comparisons (Tukey HSD)

(I) Waktu_fortifikasi	(J) Waktu_fortifikasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	jam ke 0	-56.60000*	16.82823	.050	-113.1247	-.0753
	jam ke 6	-13.63333	16.82823	.960	-70.1580	42.8914
	jam ke 12	-4.53333	16.82823	1.000	-61.0580	51.9914
	jam ke 18	-23.73333	16.82823	.721	-80.2580	32.7914
	jam ke 24	-4.13333	16.82823	1.000	-60.6580	52.3914
jam ke 0	kontrol	56.60000*	16.82823	.050	.0753	113.1247
	jam ke 6	42.96667	16.82823	.183	-13.5580	99.4914
	jam ke 12	52.06667	16.82823	.078	-4.4580	108.5914
	jam ke 18	32.86667	16.82823	.419	-23.6580	89.3914
	jam ke 24	52.46667	16.82823	.075	-4.0580	108.9914
jam ke 6	kontrol	13.63333	16.82823	.960	-42.8914	70.1580
	jam ke 0	-42.96667	16.82823	.183	-99.4914	13.5580
	jam ke 12	9.10000	16.82823	.993	-47.4247	65.6247
	jam ke 18	-10.10000	16.82823	.989	-66.6247	46.4247
	jam ke 24	9.50000	16.82823	.992	-47.0247	66.0247
jam ke 12	kontrol	4.53333	16.82823	1.000	-51.9914	61.0580
	jam ke 0	-52.06667	16.82823	.078	-108.5914	4.4580
	jam ke 6	-9.10000	16.82823	.993	-65.6247	47.4247
	jam ke 18	-19.20000	16.82823	.855	-75.7247	37.3247
	jam ke 24	.40000	16.82823	1.000	-56.1247	56.9247
jam ke 18	kontrol	23.73333	16.82823	.721	-32.7914	80.2580

jam ke 24	jam ke 0	-32.86667	16.82823	.419	-89.3914	23.6580
	jam ke 6	10.10000	16.82823	.989	-46.4247	66.6247
	jam ke 12	19.20000	16.82823	.855	-37.3247	75.7247
	jam ke 24	19.60000	16.82823	.845	-36.9247	76.1247
	kontrol	4.13333	16.82823	1.000	-52.3914	60.6580
	jam ke 0	-52.46667	16.82823	.075	-108.9914	4.0580
	jam ke 6	-9.50000	16.82823	.992	-66.0247	47.0247
	jam ke 12	-.40000	16.82823	1.000	-56.9247	56.1247
	jam ke 18	-19.60000	16.82823	.845	-76.1247	36.9247

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.1

Total_BAL

	Waktu_fortifikasi	N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Tukey HSD ^a	kontrol	3	13.4000	
	jam ke 24	3	17.5333	17.5333
	jam ke 12	3	17.9333	17.9333
	jam ke 6	3	27.0333	27.0333
	jam ke 18	3	37.1333	37.1333
	jam ke 0	3		70.0000
	Sig.			.721

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 16. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Fermentasi Kefir Susu Kambing



Gambar 2. Fortifikasi Vitamin D₃



Gambar 3. Uji pH



Gambar 4. Uji Protein



Gambar 5. Uji Serat



Gambar 6. Uji Vitamin D₃



Gambar 7. Uji Viskositas



Gambar 8. Uji Lemak



Gambar 9. Uji Total BAL