

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Kefir sebagai Minuman Fermentasi

Fermentasi adalah cara tradisional yang dapat dikembangkan menjadi proses yang lebih besar, contohnya adalah produksi kefir (Dobson dkk., 2011). Kefir adalah minuman tradisional cair terfermentasi menggunakan campuran bakteri asam laktat, *yeast*, dan jamur untuk fermentasi susu (Guzel-Seydim dkk., 2011 dalam Pramashinta dkk., 2014). Kefir lebih encer dibandingkan *yoghurt*, tetapi gumpalan susunya lebih lembut dan mengandung gas CO₂ (Rahman dkk., 1992).

Kefir pada umumnya digunakan dalam pengolahan produk peternakan tradisional berupa susu sebagai substrat. Perkembangan terbaru adalah menggunakan kultur kefir untuk fermentasi substrat lain seperti jus buah, produknya dikenal sebagai kefir buah (Dufresne dan Farnworth, 2000). Ada 2 macam jenis fermentasi kefir, yaitu kefir susu (Rahman dkk., 1992) dan kefir air/*water kefir* (Gulitz dkk., 2011). Kefir susu dibuat dari susu sapi, susu kambing atau domba yang ditambahkan starter kefir berupa granula/biji kefir (Farnworth, 2008), sedangkan kefir air dibuat dari campuran biji kefir dengan air, buah-buahan kering seperti kismis, potongan kecil dari lemon, dan gula pasir (Gulitz dkk., 2011). Menurut Alsayadi dkk. (2013), kefir air adalah minuman fermentasi buatan pada medium berupa larutan sukrosa dengan tambahan berbagai buah-buahan kering dan segar.

Granula / biji kefir umumnya berwarna putih kekuningan dalam substrat susu dan tidak dapat larut dalam air maupun beberapa pelarut lainnya. Biji kefir air (Gambar 1) memiliki tekstur bening, berbentuk butiran-butiran seperti gel, umumnya tidak berwarna/transparan, dan memiliki tekstur yang rapuh (mudah pecah apabila diberi sedikit penekanan). Sifat unik kefir dihasilkan oleh *Lactobacillus casei*, yang diyakini mampu mensintesis polisakarida ke dalam bentuk tak-larut (Farnworth, 2005).



Gambar 1. Butiran Kefir (Michael, 2015)

Biji kefir mengandung 24% polisakarida yang bersifat lengket (antara lain mengandung amilopektin) serta mikroba simbiotik yaitu khamir (*Saccharomyces kefir* dan *Torula kefir*), Lactobacilli (*Lactobacillus caucasicus*), Leuconostoc serta *Streptokoki laktat* (Rahman dkk., 1992). Standar CODEX No. 243 (CODEX, 2003) menyatakan bahwa pada biji kefir mengandung *Lactobacillus kefiri*, spesies dari genus Leuconostoc, Lactococcus dan Acetobacter yang tumbuh dalam hubungan yang spesifik dan kuat. Biji kefir juga mengandung khamir yang dapat memfermentasi laktosa (*Kluyveromyces marxianus*) maupun yang tidak dapat memfermentasi laktosa

(*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Saccharomyces exiguus*).

Menurut Gulitz dkk. (2011), butiran biji kefir terbentuk dari kultur berbagai jenis strain bakteri sehat dan khamir yang terdapat bersama-sama dalam matriks polisakarida yang dibuat oleh bakteri. Bakteri kefir menghasilkan asam laktat yang merangsang pertumbuhan khamir, sementara khamir menghasilkan faktor pendukung pertumbuhan bakteri kefir sehingga hubungan simbiosis mikrobial tersebut menghasilkan kultur pertumbuhan yang stabil. Mikrobial dalam biji kefir mengubah gula selama fermentasi menjadi asam laktat, alkohol (etanol), dan karbon dioksida yang akan menghasilkan minuman fermentasi berkarbonasi. Maka dari itu, air kefir dapat mengandung alkohol berkisar 0,5–1% dengan pH sebesar 4,6 dan kadar asam laktat berkisar 0,8-1,1% (Gulitz dkk., 2011; Usmiati, 2007). Nilai kadar asam laktat tertitrasi selalu berbanding terbalik dengan nilai pH, semakin tinggi nilai pH maka semakin rendah kandungan asam dalam kefir (Rohim, 2001).

Dalam memproduksi kefir sebagai minuman fermentasi, diperlukan syarat mutu sebagai acuan hasil akhir produk yang baik. Syarat mutu di Indonesia mengacu pada dokumen Standarisasi Nasional Indonesia yang dipublikasikan oleh Badan Standarisasi Nasional. Saat ini, kefir sebagai minuman fermentasi secara khusus belum memiliki syarat mutu tersebut. Maka dari itu, kefir sebagai minuman fermentasi akan mengacu pada syarat mutu produk sejenis *yoghurt* dengan fokus melihat pada mutu *yoghurt* tanpa perlakuan panas setelah fermentasi yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Syarat Mutu SNI *Yoghurt*

No	Kriteria Uji	Satuan	<i>Yoghurt</i> Tanpa Perlakuan Panas Setelah Fermentasi
1	Keadaan		
1.1	Penampakan	-	Cairan kental-padat
1.2	Bau	-	Normal/khas
1.3	Rasa	-	Asam/khas
1.4	Konsistensi	-	Homogen
2	Kadar lemak (b/b)	%	Min 3,0
3	Total padatan susu bukan lemak (b/b)	%	Min. 8,2
4	Protein (Nx6,38) (b/b)	%	Min. 2,7
5	Kadar abu (b/b)	%	Maks. 1,0
6	Keasaman (dihitung sebagai asam laktat) (b/b)	%	0,5-2,0
7	Cemaran logam		
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 0,3
7.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks. 20,0
7.3	Timah (Sn)	mg/kg	Maks. 40,0
7.4	Raksa (Hg)	mg/kg	Maks. 0,03
8	Arsen	mg/kg	Maks. 0,1
9	Cemaran mikroba		
9.1	Bakteri <i>coliform</i>	APM/g atau koloni/g	Maks. 10
9.2	<i>Salmonella</i>	-	Negatif/25g
9.3	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	Negatif/25g
10	Jumlah bakteri starter*	Koloni/g	Min. 10 ⁷

*sesuai dengan Pasal 2 (istilah dan definisi)

(Badan Standarisasi Nasional, 2009)

B. Kandungan yang terdapat dalam Kefir

Menurut Cousens (2003), butir kefir berkualitas tinggi mengandung:

1. *Streptococcus lactis*, yang menghasilkan asam laktat, membantu pencernaan, menghambat mikroorganisme berbahaya, dan menghasilkan *bacteriolysis*.
2. *Streptococcus cremoris*, yang memiliki sifat yang mirip *S. lactis*.

3. *Lactobacillus plantarum*, yang membuat asam laktat, perkelahian melawan *Listeria monocytogenes* dan membuat plantaricin yang menghambat mikroorganisme yang menyebabkan pembusukan.
4. *Lactobacillus casei*, yang menghasilkan sejumlah besar L (+) asam laktat, berkolonisasi dengan baik di saluran pencernaan, menciptakan media yang menguntungkan bagi bakteri lain untuk tumbuh, menghambat pembusukan, meningkatkan fungsi kekebalan tubuh, dan menghambat bakteri patogen serta membantu melindungi terhadap infeksi bakteri.
5. *Streptococcus diacetylactis*, menghasilkan CO₂ dalam kefir, membuat *diacetyl*, yang memberikan kefir bau khas, dan memiliki sifat umum mirip dengan *S. lactis*.
6. *Saccharomyces florentinus* dan *Leuconostoc cremoris*, yang tidak menyebabkan penyakit seperti *Candida albicans*.

Spesies bakteri lain yang penting dalam kefir air diantaranya *Lactobacillus harbinensis*, *Lactobacillus hilgardii*, *Bifidobacterium psychraerophilum/crudilactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Dekkera bruxellensis* (Laureys dan Vuyst, 2014). Air dari kefir dapat meningkatkan pembentukan sistem imun dalam tubuh karena kandungan antimikrobia yang terdapat di dalamnya. Antimikrobia yang dapat dijumpai pada kefir adalah asam organik (asam laktat, asam asetat), kombinasinya dengan hidrogen peroksida, serta bakteriosin. Senyawa yang bersifat antimikrobia tersebut berasal dari hasil metabolisme mikroflora kefir yang dapat menghambat bakteri

patogen spesifik seperti *Staphylococcus aureus*, *Leuconostoc* sp., *Listeria monocytogenes*, *Pediococcus* sp., dan *Escherichia coli* (Farnworth, 2008).

Beberapa jenis mikroflora yang disebutkan di atas merupakan kelompok bakteri asam laktat atau yang umumnya disebut BAL. Aplikasi BAL dalam produk makanan dan minuman sudah cukup banyak dilakukan, terutama pada produk-produk pangan fungsional. Tujuan penggunaan BAL tersebut adalah untuk menambah nilai fungsional produk, dimana terjadi perlawanan terhadap bakteri patogen dalam saluran pencernaan (Maryana, 2014). Selain kandungan mikroba dalam kefir yang menguntungkan, kefir juga mengandung nutrisi dan secara kimia kaya akan gizi. Komposisi nutrisi dan kimia dari kefir susu dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Kimia Kefir Susu

Komponen	100 g	Komponen	100 g
Energi	65 kcal	Triptofan	0,05 g
Lemak	3,5 %	Fenilalanin+ Tirosin	0,35 g
Protein	3,3 %	Leusin	0,34 g
Laktosa	4,0 %	Isoleusin	0,21 g
Air	87,5 %	Threonin	0,17 g
Etil alkohol	0,9 g	Metionin+cystin	0,12 g
Asam laktat	1 g	Lisin	0,27 g
Kolesterol	13 mg	Valin	0,22 g
Fosfat	40 mg	Kalsium	0,12 g
Vitamin A	0,06 mg	Fosfor	0,10 g
Karoten	0,02 mg	Magnesium	12 g
Vitamin B1	0,04 mg	Potassium	0,15 g
Vitamin B2	0,17 mg	Natrium	0,05 g
Vitamin B6	0,05 mg	Klorida	0,10 g
Vitamin B12	0,5 mg	Besi	0,05 mg
Niasin	0,09 mg	Tembaga	12 µg
Vitamin C	1 mg	Molydenum	5,5 µg
Vitamin D	0,08 mg	Mangan	5 µg
Vitamin E	0,11 mg	Seng	0,36 mg

(Otles dan Cagindi, 2003)

C. Sari Buah Stroberi sebagai Bahan Baku Kefir

Stroberi merupakan tanaman herba asal Chili, Amerika yang termasuk dalam genus *Fragaria* dan famili Rosaceae dengan kaya manfaat. Vitamin C yang tinggi baik berperan dalam menjaga stamina tubuh dan memperlancar aliran darah. Selain kaya akan kandungan vitamin C, stroberi juga merupakan sumber vitamin B5, B6, K, mangan, asam folat, kalium, riboflavin, tembaga, magnesium, dan omega-3 asam lemak. Stroberi (Gambar 2 kiri) juga kaya akan kandungan fenol, seperti antosianin dan elagitanin. Antosianin dalam stroberi memberi warna merah menyala pada buah sebagai antioksidan pelindung struktur sel tubuh dan mencegah kerusakan oksigen pada organ (Harianingsih, 2010). Menurut Harianingsih (2010), kedudukan taksonomi stroberi (Gambar 2 kanan) adalah sebagai berikut:

Divisi	: Spermathophyta
Subdivisi	: Angiosperma
Kelas	: Dicotyledone
Famili	: Rosaceae
Genus	: <i>Fragaria</i>
Spesies	: <i>Fragaria vesca</i> L.



Gambar 2. Buah Stroberi (Rukmana, 1998) dan Tumbuhan Stroberi (Susanto dkk., 2010)

Buah stroberi biasa dikonsumsi dalam keadaan segar ataupun produk olahannya seperti sirup, sari buah, selai dan untuk campuran es krim (Shamaila dkk., 1992 dalam Susanto dkk., 2010). Buah stroberi mempunyai nilai

ekonomis yang tinggi, disertai dengan permintaan yang terus meningkat, sehingga budidaya tanaman stroberi mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan di Indonesia (Susanto dkk., 2010). Namun, buah stroberi dapat mengalami kerusakan bahkan sejak buah dipanen. Kerusakan tersebut diantaranya *browning* (pencoklatan), penyusutan massa, laju respirasi dan produksi etilen tinggi, serta laju transpirasi yang tinggi (Harianingsih, 2010).

Kerusakan yang mudah terjadi pada stroberi sangat tidak menguntungkan dan membuat buahnya tidak tahan simpan. Bahkan, buah stroberi mudah rusak saat penyimpanan dan transportasi. Oleh karena itu, diperlukan pengolahan lanjut sebagai alternatif penanganan masalah dari buah stroberi tersebut. Salah satu cara yang dapat dilakukan sehingga buah stroberi dapat disimpan jangka panjang adalah pembekuan/pengolahan buah stroberi menjadi beberapa bentuk olahan (Pertiwi dan Susanto, 2014).

Sari buah merupakan salah satu bentuk olahan dari buah berupa cairan jernih/agak jernih, tidak difermentasi, diperoleh dari hasil pengepresan buah-buahan yang telah matang dan masih segar, bertujuan untuk meningkatkan daya simpan serta nilai tambah dari buah-buahan (Pertiwi dan Susanto, 2014). Sari buah stroberi diharapkan dapat menjadi alternatif pemecah masalah kerusakan buah yang sering terjadi sehingga manfaat dari buahnya tetap dapat dinikmati konsumen. Masalah lain yang terjadi di Indonesia akibat perubahan pola konsumsi pangan adalah kurangnya konsumsi buah dan sayur yang menurunkan asupan serat pangan bagi masyarakat (Santoso, 2011).

Serat pangan adalah bagian dari tumbuhan yang dapat dikonsumsi dan tersusun dari karbohidrat yang memiliki sifat resisten terhadap proses pencernaan dan penyerapan di usus halus manusia serta mengalami fermentasi sebagian atau keseluruhan di usus besar. Serat pangan dikenal sebagai serat diet (*dietary fiber*), merupakan bagian dari bahan pangan yang tidak dapat dihidrolisis oleh enzim-enzim pencernaan. Serat pangan terbagi menjadi serat pangan larut (*soluble dietary fiber*) dan serat tidak larut (*insoluble dietary fiber*). Serat pangan larut banyak terdapat pada buah dan sayur, termasuk dalam buah stroberi yang memiliki serat pangan sekitar 6,5 gram/100 gram buah (Santoso, 2011). Selain serat pangannya yang cukup tinggi, kandungan gizi dalam buah stroberi juga melimpah dan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan Gizi dalam 144 Gram Buah Stroberi

Nutrisi	Kandungan
Air	132 g
Protein	0,88 g
Lemak	0,53 g
Karbohidrat/Energi	10, 1 g/43 kkal
Kalium	240 mg
Fosfor	27 mg
Zat besi	0,55 mg
Magnesium	14 mg
Potassium	27 mg
Selenium	0,7 mg
Kalsium	20 mg
Vitamin A	39 SI
Vitamin C	82 mg
Asam folat	17,7 mcg asam folat
Serat total	3,3 g
Folate	25 µg

(Harianingsih, 2010)

D. Pembuatan Kefir

Selama puluhan tahun, rahasia pembuatan kefir hanya diketahui secara turun-temurun oleh penduduk asli Pegunungan Kaukasus. Baru pada tahun 1908, untuk pertama kalinya bibit kefir berhasil dibawa keluar dari Pegunungan Kaukasus menuju kota Moscow dan menyebar ke seluruh dunia. Rakyat Kaukasus awalnya membuat kefir secara tidak sengaja, yaitu menempatkan susu yang telah ditambah bibit kefir pada kantong yang terbuat dari kulit domba. Kantong itu digantung di pintu rumah sehingga setiap orang yang melewati pintu secara otomatis akan menyentuh kantong sehingga bergoyang. Hal itu ternyata memberikan efek pengadukan terhadap susu sehingga membantu kelancaran proses fermentasi oleh mikroba (Ide, 2008 dalam Riawati, 2014).

Citarasa dan penampakan kefir bervariasi disebabkan komposisi bakteri dalam bibit kefir yang digunakan (Ide, 2008 dalam Riawati, 2014). Bibit kefir dapat dipakai ulang beberapa kali dan diperoleh dengan cara pemisahan melalui penyaringan, kemudian biji kefir dicuci dan direndam dalam air dingin dan disimpan pada suhu 40°C, tetapi penyimpanan dengan cara basah ini hanya tahan satu minggu. Bila akan disimpan dalam jangka waktu yang lama, biji kefir harus dikeringkan dengan cara dibungkus kain bersih selama 36 - 48 jam pada suhu kamar, lalu disimpan pada suhu 40°C sehingga biji kefir dapat dipertahankan aktivitasnya lebih dari satu tahun. Hasil fermentasi kefir umumnya menimbulkan cita rasa yang segar, asam, dan beralkohol (Rahman dkk., 1992).

Menurut Irigoyen dkk. (2005), jumlah bakteri asam laktat, *yeast*, laktosa, dan pH dalam kefir susu UHT yang disimpan selama 7 hingga 14 hari pada suhu $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ memiliki nilai yang konstan. Namun, sensorik kefir susu UHT berada pada tingkat penerimaan maksimum dalam 2 hari pertama penyimpanan. Beberapa temuan tentang kefir air difokuskan pada mikroflora dan struktur kimia minuman kefir gula, kefir Brasil *sugary*, kefir gula merah, kefir *grain sugary* (tanaman *gingerbeer*) di Perancis, *tibicos* (kefir manis) dan kefir air di Jerman. Kefir air dengan warna yang keruh dan rasa asam beralkohol ini adalah minuman yang diproduksi rumahan dengan menambahkan biji-biji kefir dalam larutan air gula, lalu menginkubasinya pada suhu $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$ selama paling sedikit 12 jam dan memisahkan biji-biji kefirnya untuk diproduksi kembali (Alsayadi dkk., 2013).

E. Kefir sebagai Makanan Fungsional

Makanan fungsional adalah salah satu bagian dalam makanan yang dikonsumsi dan memiliki keuntungan fisiologi untuk mereduksi resiko penyakit kronis berdasarkan nutrisi yang terkandung didalamnya (Health Canada, 2004 dalam Farnworth, 2005). Makanan probiotik termasuk sebagai makanan fungsional karena merupakan sumber bahan bioaktif seperti mikroorganisme yang terkandung, metabolit hasil fermentasi atau produk pemecahan lain yang mampu memberi efek kesehatan. Kefir sudah melegenda

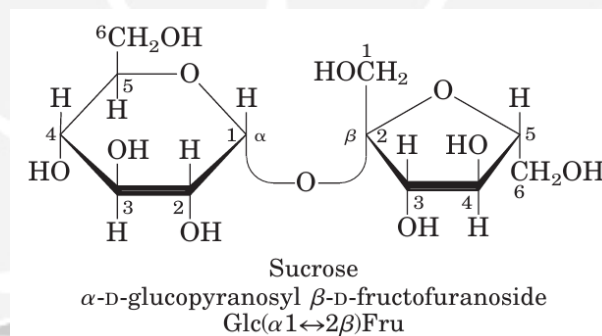
karena keuntungannya bagi kesehatan karena beberapa komponen didalamnya yang bersifat bioaktif, khususnya di Eropa Timur (Farnworth, 2005).

Menurut Farnworth (2005), efek antitumor pertama disampaikan Shiomi dkk. (1982) bahwa polisakarida larut air yang diisolasi dari biji kefir dan diberikan pada tikus dapat menghambat pertumbuhan *Ehrlich carcinoma* atau *Sarcoma* 180. Mekanisme secara lengkap selama ini belum jelas, tetapi 2 sel kanker yang diinkubasi secara *in vitro* dengan polisakarida selama 42 jam menunjukkan sitotoksisitas yang rendah. Diduga bahwa polisakarida larut air menekan pertumbuhan tumor dengan mengaktifkan makrofag limfokin (Mf) melalui jaringan limfoid usus terkait, sedangkan fraksi mikroorganisme tak larut air bertindak meningkatkan aktivitas sel NK.

Murofushi dkk. tahun 1986 (Farnworth, 2008) juga meneliti respon antibodi pada tikus yang diberi polisakarida dalam kefir atau yang lebih dikenal dengan kefiran. Hasil menunjukkan bahwa polisakarida larut air terabsorpsi ke dalam tubuh tikus dalam waktu 3 jam setelah diinjeksi secara oral dan sampai pada limpa untuk mengaktifkan sistem imun. Beberapa mekanisme biokimia bahkan memprediksi konsumsi susu fermentasi akan menurunkan level kolesterol darah. Bakteri probiotik dapat menyebabkan peningkatan produksi asam lemak rantai pendek dan menurunkan level sirkulasi kolesterol dengan menghambat sintesis kolesterol hati atau redistribusi kolesterol dari plasma ke hati (Farnwoth, 2008).

F. Sukrosa sebagai Sumber Energi Kefir

Sukrosa adalah oligosakarida yang mempunyai peran penting dalam pengolahan makanan yang banyak terdapat pada tebu, bit, siwalan, dan kelapa kopyor. Sukrosa dikenal sehari-hari dalam rumah tangga maupun industri makanan dalam bentuk kristal halus atau kasar dan dalam jumlah yang banyak biasanya dipergunakan dalam bentuk cairan sukrosa (sirup). Secara kimiawi, sukrosa (Gambar 3) tidak mempunyai gugus OH bebas yang reaktif karena keduanya sudah saling terikat. Sukrosa dapat diuraikan menjadi glukosa dan fruktosa yang disebut gula *invert* (Winarno, 2004).



Gambar 3. Struktur Sukrosa (Nelson dan Cox, 2004)

Sukrosa dalam pengolahan industri pangan sangat berpotensi menambah cita rasa dan sebagai bahan pengawet. Contohnya dalam pembuatan fermentasi air dadih digunakan sukrosa sebagai sumber energi bagi bakteri asam laktat dan meningkatkan antibakteri dalam minuman fermentasi tersebut. Penambahan sukrosa secara khusus akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri probiotik yang ada dalam minuman dan aktivitasnya dalam memanfaatkan komponen karbohidrat yang ada di dalam susunan bahan baku produk minuman fermentasi tersebut. Selama proses fermentasi, senyawa karbon dalam gula akan dirombak dan dimanfaatkan oleh bakteri asam laktat sebagai

sumber energi untuk pertumbuhan dan pada akhir fermentasi akan menghasilkan metabolit berupa asam laktat. Hal ini terjadi karena mikroba membutuhkan gula untuk aktivitas metabolisme dan perkembangbiakan sel sehingga semakin banyak sel bakteri yang ada, maka sukrosa akan semakin banyak digunakan untuk metabolisme sel (Maryana, 2014).

Selama proses fermentasi berlangsung, glukosa dalam sukrosa dan sari buah stroberi akan dikatabolisasi oleh bakteri asam laktat dalam kefir menjadi asam laktat dan etanol. Asam laktat dibentuk dalam metabolisme gula secara homofermentatif melalui *Emden-Meyerhof pathway*. Sedangkan, etanol bersama CO₂ dan laktat lain dihasilkan secara heterofermentatif melalui *pentose phosphate pathway* (Stadie, 2013).

F. Hipotesis

1. Penambahan sukrosa menyebabkan perbedaan pengaruh terhadap kualitas (sifat kimia, mikrobiologi, dan organoleptik) kefir sari buah stroberi (*Fragaria vesca*).
2. Penambahan sukrosa 10% menghasilkan kualitas kefir sari buah stroberi (*Fragaria vesca*) terbaik.