

Aktivitas Antimikroba Kefir Susu Sapi yang Diinkubasi pada Tempurung Kelapa Hijau Muda terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Antimicrobial Activity of Dairy Cow Milk Incubated Kefir in Coconut Shell Light Green Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

Muna Yuniarti^{1*}, Sri Anggreni Lindawati, I Gusti Agung Arta Putra

Program Studi Sarjana Peternakan, Fakultas Peternakan, Universitas Udayana, Badung, Bali, Indonesia

*Email: yuniarti@unud.ac.id

Abstract

This study is aimed to determine the antimicrobial activity of dairy cow's milk kefir incubated in a light-green coconut shell against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. This study designed according to a completely randomized design (CRD) with three treatments and five replications for each treatment. The three treatments were: incubated dairy cow's milk kefir in a jar as a control (P0), incubated cow's milk kefir in a light green coconut shell without coconut meat (P1), cow's milk kefir incubated in a light green coconut shell with coconut meat (P2). The variables observed were kefir antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* (ATCC 3351), *Escherichia coli* (ATCC 8739), the pH value, and total lactic acid bacteria. The results showed that the antimicrobial activity of kefir against *S. aureus* and *E. coli* in all treatments (P2, P1, and P0) showed no significant difference ($P>0,05$) with clear zone diameters of 10,50mm – 11,30 mm and 9,70mm – 11,03 mm, followed by the pH value in treatment P2 (3,95), P1 (4,11), and P0 (4,38) were statistically significantly different ($P<0,05$), and total lactic acid bacteria at P2, P1, and P0 respectively $14,3 \times 10^6$ CFU/g; $13,5 \times 10^6$ CFU/g and $8,1 \times 10^6$ CFU/g were not significantly different ($P>0,05$). The conclusion of this study is that incubated dairy cow's milk kefir in light-green coconut shells has antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 and *Escherichia coli* ATCC 8739.

Keyword: antimicrobial activity, kefir, light green coconut, staphylococcus aureus, escherichia coli

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan lima ulangan. Ketiga perlakuan yaitu: kefir susu sapi yang diinkubasi didalam wadah toples atau kontrol (P0), kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda tanpa daging (P1), kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda dengan daging (P2). Variabel yang diamati yakni aktivitas antimikroba kefir terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 3351, *Escherichia coli* ATCC 8739 dan nilai pH serta total bakteri asam laktat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba kefir terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 dan *Escherichia coli* ATCC 8739 pada semua perlakuan (P2, P1 dan P0) menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P>0,05$) dengan diameter zona bening 10,50 – 11,30 mm dan 9,70 – 11,03 mm, diikuti dengan nilai pH pada perlakuan P2 (3,95), P1 (4,11), dan P0 (4,38) secara statistika berbeda nyata ($P<0,05$), dan total bakteri asam laktat pada P2, P1 dan P0 masing-masing sebesar $14,3 \times 10^6$ CFU/g; $13,5 \times 10^6$ CFU/g dan $8,1 \times 10^6$ CFU/g berbeda tidak nyata ($P>0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini ialah kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 dan *Escherichia coli* ATCC 8739.

Kata kunci: aktivitas antimikroba, kefir, kelapa hijau muda, staphylococcus aureus, escherichia coli

PENDAHULUAN

Susu merupakan minuman yang bergizi tinggi dengan citarasa yang enak dan segar untuk pemenuhan gizi pada tubuh. Alaminya susu

memiliki komponen bioaktif yang didominasi oleh protein yaitu kasein yang bermanfaat bagi kesehatan salah satunya sebagai antimikroba yang berkaitan dengan manajemen mikroflora usus. Namun, susu belum bersifat sebagai pangan fungsional (pangan

yang secara alamiah mengandung satu atau lebih senyawa yang mempunyai fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan) (BPOM, 2011). Untuk dapat bersifat sebagai pangan fungsional upaya yang bisa dilakukan ialah dengan fermentasi. Fermentasi yang dilakukan yaitu fermentasi susu menjadi produk olahan kefir.

Kefir merupakan produk fermentasi susu yang menggunakan biji kefir (*kefir grain*) sebagai starter. Susu fermentasi kefir dapat menggunakan susu domba, susu kambing maupun susu sapi. Kefir mempunyai rasa yang asam, beralkohol, berbuih dan berkarbonat (Widodo, 2003). Susilorini & Sawitri (2006) menyatakan bahwa di dalam biji kefir terdapat bakteri *Lactobacillus lactis* dan *Lactobacillus kefirgranum* yang berperan dalam pembentukan asam, *Candida kefir* berperan dalam pembentukan etanol dan karbondioksida, *Leuconostoc* berperan dalam pembentukan diasetil dan *Lactobacillus kefiranofaciens* menyebabkan penggumpalan protein, serta senyawa antimikroba seperti asam laktat, asam asetat, bakteriosin dan hidrogen peroksida. Hal ini menyebabkan kefir memiliki aktivitas antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen (Bahar, 2008). Mikroorganisme patogen dalam penelitian ini ialah bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu jenis bakteri penyebab keracunan makanan dengan menghasilkan racun enteroksin (Argudin *et al.*, 2010). (Aларcon *et al.* (2006) melaporkan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan penyakit apabila jumlah sel $>1,0 \times 10^6$ CFU/g adapun pangan yang sering terkontaminasi oleh bakteri ini yaitu daging, ikan, susu dan hasil olahan lainnya. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang secara normal terdapat didalam saluran pencernaan tetapi apabila jumlah sel $>10^6$ CFU/ml maka akan berpotensi menyebabkan toksik (Standar Nasional Indonesia, 2009). Widodo (2003) menyatakan bahwa susu fermentasi terdapat bakteri asam laktat yang menghasilkan enzim β -galaktosidase yang mampu menekan pertumbuhan bakteri patogen. Lindawati *et al.* (2010) melaporkan kefir yang diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam mempunyai aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Salmonella* dengan zona hambat sebesar 1,00 mm, *Staphylococcus aureus* 1,12 mm dan bakteri *Escherichia coli* 0,98 mm. Pelczar & Chan (2008) menyatakan aktivitas antimikroba dapat bersifat bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan dapat bersifat bakterisidal (membunuh pertumbuhan bakteri) yang dapat merusak dinding sel mikroba, mengganggu permeabilitas sel, spesies mikroba, jumlah mikroba, konsentrasi zat antimikroba.

Kefir umumnya diinkubasi menggunakan wadah vakum (toples) namun penelitian ini menggunakan

tempurung kelapa hijau muda (*Cocos nucifera* L. *Var. viridis* Hassk). Kurniati (2010) menyatakan bahwa kelapa hijau mengandung tanin (anti racun) yang tinggi. Sui & Chandra (2007) menunjukkan bahwa buah kelapa mengandung enzim lipase yang bervariasi. Sana *et al.* (2004) melaporkan bahwa enzim lipase mampu menghidrolisis lemak yang dapat menghasilkan asam lemak. Asam lemak ini memiliki kemampuan antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus mutans*, *Candida albicans* (Sidabutar, 2017) dan sebagai antivirus (Tuminah, 2014). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui bahwa kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 dan *Escherichia coli* ATCC 8739.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Fakultas Peternakan Universitas Udayana Laboratorium Teknologi Hasil Ternak dan Mikrobiologi. Waktu pelaksanaan pada bulan Maret tahun 2020.

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan terdiri dari susu sapi segar 7500 ml, starter mikroba berupa biji kefir (*kefir grain*), bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 3351, bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739, kelapa hijau muda 10 buah, Media *Nutrient Agar*, Media *Nutrient Broth*, Media *deMan Rogosa Sharpe*, *Bacteriological Pepton Water* 0,1%, aquadestilata dan larutan buffer 4 dan 7.

Alat yang digunakan yakni rak tabung reaksi, tabung reaksi, pipet otomatis, cawan petri, gelas beker, pembakar bunsen, inkubator, pH meter, otoklaf, batang bengkok, kawat ose, magnetik stirrer, erlenmeyer, kerta aluminium foil, oven, timbangan analitik, *laminar flow cabinet*, vortex, toples, sendok, panci, parang, dan pisau stainless steel.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri atas tiga perlakuan dan lima ulangan. Adapun perlakuan pada penelitian ini ialah P0: Kefir susu sapi yang diinkubasi didalam wadah toples; P1: Kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda tanpa daging; P2: Kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda dengan daging.

Prosedur Penelitian

Peremajaan Bakteri uji

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara menginokulasi 100 µl kultur murni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 dan *Escherichia coli* ATCC 8739 dalam masing-masing 9 ml media Natrium Broth selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Persiapan Wadah Inkubasi

Persiapan wadah inkubasi dilakukan dengan cara membersihkan terlebih dahulu kelapa hijau muda (*Cocos nucifera* L. *Var. viridis* Hassk) kemudian dipotong ¼ bagian atas kelapa sehingga tersisa ¾ bagian kelapa. Selanjutnya air kelapa dibuang dan untuk perlakuan kefir susu sapi yang diinkubasi dengan tempurung kelapa hijau muda (*Cocos nucifera* L. *Var. viridis* Hassk) tanpa daging (P1) daging kelapa dikeluarkan menggunakan sendok.

Proses Pembuatan Kefir

Proses pembuatan kefir yaitu: susu sapi segar dipasteurisasi sebanyak 500 ml pada suhu 85 °C ± 30 menit dan diulangi sesuai perlakuan serta ulangan, kemudian didiamkan hingga suhunya menurun menjadi 27°C selanjutnya menginokulasi biji kefir sebanyak 3 % dan diaduk hingga homogen (Ot'es & Cagindi, 2003). Susu yang telah di pasteurisasi sebanyak 500 ml dimasukkan ke wadah inkubasi sesuai dengan masing-masing perlakuan dan ulangan kemudian wadah inkubasi ditutup dengan aluminium foil. Selanjutnya diinkubasi di suhu ruang selama 24 jam dalam keadaan anaerob.

Variabel yang Diamati

Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 dan *Escherichia coli* ATCC 8739 dengan metode difusi sumur (NCCLS, 2000) yakni sebanyak 20 ml media NA dituang ke dalam cawan petri dan tunggu hingga media menjadi padat. Media yang telah padat masing-masing diinokulasi sebanyak 100 µl bakteri uji (*Staphylococcus aureus* ATCC 3351 dan *Escherichia coli* ATCC 8739) secara terpisah kemudian diratakan menggunakan batang bengkok selanjutnya cawan petri yang sudah berisi media NA masing-masing di buat empat lubang sumur. Lubang sumur tersebut diisi 50 µl kefir. Inkubasi pada suhu 37°C ± 24 jam. Adanya aktivitas antimikroba ditandai dengan terbentuknya zona bening disekeliling sumur. Zona bening yang terbentuk di ukur menggunakan jangka sorong sebanyak tiga kali di tempat yang berbeda kemudian hasilnya dirata-ratakan.

Nilai pH

Pengujian Nilai pH dilakukan dengan cara: pH meter elektronik di kalibrasi dengan larutan buffer 4 dan 7 hingga skala pH meter stabil. Selanjutnya, sebanyak 20 ml kefir yang akan di ukur dituangkan ke dalam

gelas beker kemudian elektroda dicelupkan ke dalam gelas beker yang telah berisi sampel kefir, selanjutnya catat angka yang tertera pada pH meter.

Total Bakteri Asam Laktat

Total bakteri asam laktat menggunakan metode tuang (Fardiaz, 1992) dengan cara 5 ml sampel kefir dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi 45 ml larutan *Bacteriological Pepton Water* (BPW) 0,1% sehingga diperoleh pengenceran 10⁻¹. Pengenceran 10⁻¹ kemudian dihomogenkan, kemudian dipipet 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml larutan BPW 0,1% sehingga diperoleh pengenceran 10⁻² kemudian diulang dengan cara yang sama hingga sampai kepengenceran 10⁻⁵. Pemupukan bakteri asam laktat dilakukan dengan cara: kefir di pipet sebanyak 1 ml dari tingkat pengenceran 10⁻² – 10⁻⁵ ke dalam cawan petri yang steril dan sudah berisi label kemudian dituangi media MRS Agar sebanyak 20 ml dan tutup kembali cawan petri. Homogenkan cawan petri dengan cara menggerakkan cawan petri membentuk angka delapan secara hati-hati dan biarkan hingga media memadat. Inkubasi cawan petri di dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 – 48 jam dengan posisi terbalik dengan tujuan untuk menghindari kondensasi. Koloni bakteri asam laktat yang tumbuh dihitung menggunakan *colony counter*.

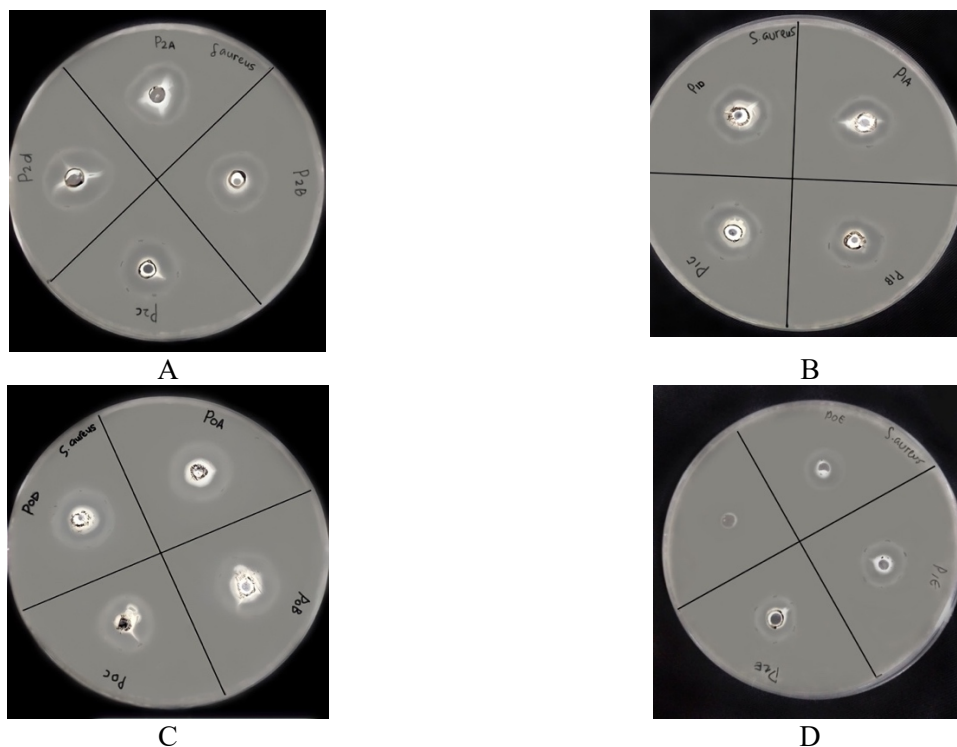
HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 3351

Hasil analisis statistik (Tabel 1.) menunjukkan bahwa kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda (*Cocos nucifera* L. *Var. viridis* Hassk) pada perlakuan P2, P1 dan P0 mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 tetapi tidak berpengaruh nyata. Hal ini disebabkan adanya senyawa komponen bioaktif yang dihasilkan pada saat proses fermentasi kefir dari bakteri asam laktat maupun khamir. Proses fermentasi diawali dengan terbentuknya asam laktat hasil dari biodegradasi laktosa menjadi glukosa dan galaktosa, kemudian asam-asam ini digunakan untuk mengkoagulasi protein menjadi asam-asam amino seperti lisin dan histidin, selanjutnya asam amino menstimulasi pertumbuhan *Streptococcus sp* sehingga suasana menjadi asam, asam yang dihasilkan yakni asam format, asam asetat, asam laktat, H₂O₂, diasetil dan bakteriosin. Pada saat ini juga terjadi pertumbuhan khamir yang akan membiodegradasi laktosa menghasilkan asam asetat, etanol dan CO₂ (Widodo, 2003). Sari *et al.* (2016) melaporkan bahwa bakteri asam laktat menghasilkan peptida antimikroba yaitu bakteriosin yang fungsinya

menghambat laju pertumbuhan bakteri patogen. Terhambatnya bakteri patogen oleh bakteriosin karena terdapat interaksi antara bakteriosin yang bermuatan positif dengan lipid membran sitoplasma bakteri yang bermuatan negatif. Usmiati & Richana (2011) melaporkan bahwa bakteriosin memiliki efek bakterisidal terhadap bakteri merugikan terutama bakteri dari kelompok Gram positif karena memiliki kekerabatan dekat secara filogenik. Bakteri yang tergolong Gram positif dalam penelitian ini ialah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 3351. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri dari golongan Gram positif yang paling tidak sensitif

terhadap antimikroba karena dinding selnya yang tebal serta memiliki pertahanan terhadap kondisi yang asam dan mampu menyeimbangkan pH dalam sel sehingga substrat antimikroba tidak dapat berpenetrasi ke dalam membran sitoplasma (Cotter & Hill, 2003) tetapi dalam penelitian ini aktivitas antimikroba kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda (*Cocos nucifera* L. *Var. viridis* Hassk) dapat merembes dinding sel bakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling sumuran dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diameter zona bening bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 pada perlakuan P2 ulangan a, b, c, dan d (A); pada perlakuan P1 ulangan a, b, c, dan d (B); pada perlakuan P0 ulangan a, b, c, dan d (C); dan perlakuan P2 ulangan e, perlakuan P1 ulangan e dan perlakuan P0 ulangan e (D).

Tabel 1. Diameter zona bening uji aktivitas antimikroba kefir susu sapi terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 3351

Perlakuan	Diameter zona bening <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 3351
P0	10,97 mm ^a
P1	10,50 mm ^a
P2	11,30 mm ^a

Dimana perlakuan P0 adalah Kefir susu sapi yang diinkubasi di dalam wadah toples (kontrol); P1 adalah Kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda tanpa daging; P2

adalah Kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda dengan daging. SEM merupakan *Standard error of the Treatment Means*, dimana notasi dengan huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata ($P > 0,05$)

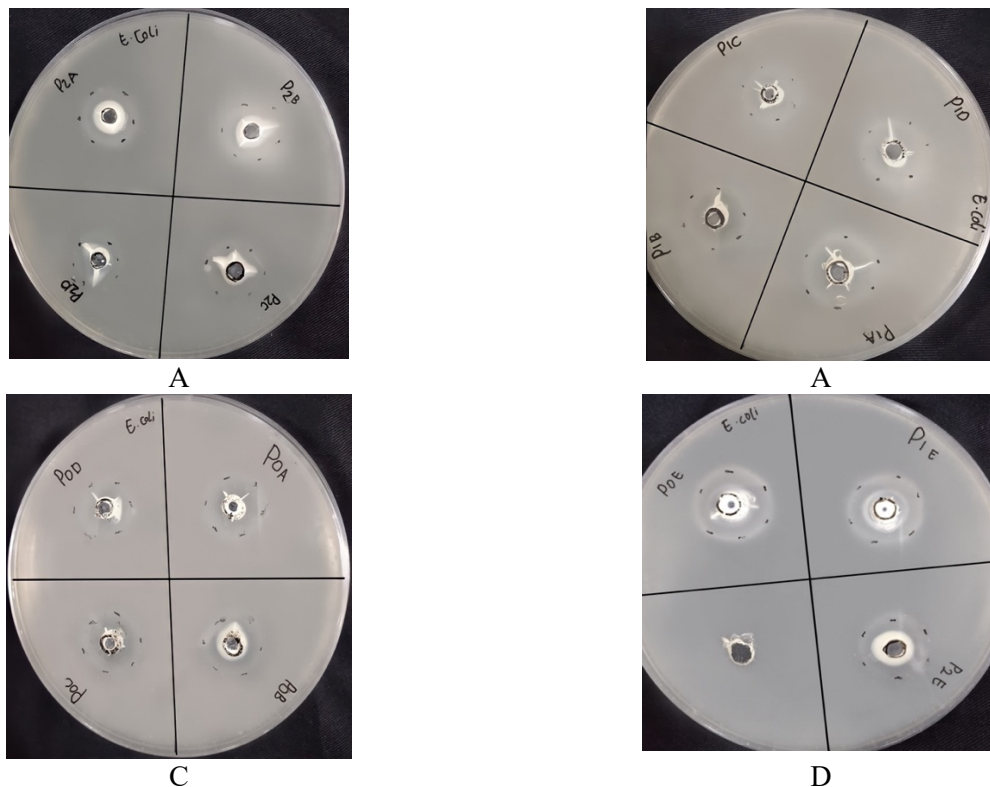
Dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 dapat dirembes oleh aktivitas antimikroba karena pada perlakuan P2 terdapat enzim lipase yang berfungsi sebagai antibakteri dari biodegradasi lemak menjadi asam-asam lemak. Akan tetapi penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 sama dengan P1 dan P0 hal ini diduga enzim lipase dalam suasana asam tidak

bekerja secara maksimal karena pH yang terlalu rendah pada perlakuan P2 (Tabel 1.). Hutasoit *et al.* (2017) melaporkan bahwa penurunan pH menjadi kondisi yang asam menyebabkan turunnya aktivitas dari enzim lipase, karena kondisi optimum enzim lipase berkisar antara pH 6-8 (Fojan *et al.*, 2000), sedangkan pada perlakuan P1 terdapat tanin pada tempurung kelapa yang berfungsi sebagai antimikroba juga terhambat aktivitasnya karena kondisi yang asam sehingga perlakuan P1 relatif sama dengan perlakuan P0. Fajriati (2006) melaporkan bahwa pH optimum tanin untuk mampu beraktivitas adalah 5,5. Mekanisme aktivitas antimikroba kefir dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 oleh komponen bioaktif yaitu bekerja dengan cara melekat pada bagian asam lipoteikoat, membuat pori-pori pada dinding sel bakteri Gram positif selanjutnya menimbulkan kebocoran pada sitoplasma sehingga bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 menjadi lisis (Kusumaningtyas, 2013).

Aktivitas Antimikroba terhadap *Escherichia coli* ATCC 8739

Hasil analisis statistik (Tabel 2.) bahwa kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau

muda (*Cocos nucifera* L. *Var. viridis* Hassk) pada perlakuan P2, P1 dan P0 mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli* ATCC 8739 namun tidak berbeda nyata karena pada proses fermentasi kefir terdapat komponen bioaktif yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dan khamir yang hasil akhirnya menyebabkan keasaman pada kefir. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri dari golongan Gram negatif yang mempunyai tiga lapis dinding sel yang terdiri dari membran sitoplasma, peptidoglikan yang tipis dan membran luar (lipoprotein, fosfolipid dan lipopolisakarida), mempunyai sifat yang tidak tahan terhadap tingkat keasaman yang rendah (Ray, 2003). Lindawati *et al.* (2015) melaporkan hal yang sama bahwa bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang tidak tahan terhadap kondisi yang asam, sehingga dinding sel bakteri *Escherichia coli* dapat dirembes oleh kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda (*Cocos nucifera* L. *Var. viridis* Hassk) yang ditandai dengan terbentuknya zona bening yang terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Diameter zona bening bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739 pada perlakuan P2 ulangan a, b, c, dan d (A); pada perlakuan P1 ulangan a, b, c, dan d (B); pada perlakuan P0 ulangan a, b, c, dan d (C); pada perlakuan P2 ulangan e, pada perlakuan P1 ulangan e, dan pada perlakuan P0 ulangan e (D).

Tabel 2. Diameter zona bening uji aktivitas antimikroba kefir susu sapi terhadap *Escherichia coli* ATCC 8739

Perlakuan	Diameter zona bening <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739
P0	10,57 mm ^a
P1	11,03 mm ^a
P2	9,70 mm ^a

Notasi dengan huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata nyata ($P>0,05$)

Mekanisme perembesan aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli* ATCC 8739 yaitu bakteri asam laktat yang terdapat pada kefir akan melemahkan permeabilitas bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739 dengan cara merusak membran luarnya, sehingga asam laktat yang merupakan molekul yang larut dalam air mampu menembus ke dalam periplasma bakteri *Escherichia coli* ATCC 8739. Rusaknya membran luar sel bakteri maka senyawa antimikroba yang lain seperti diasetil, H_2O_2 , dan bakteriosin akan masuk kedalam membran sitoplasma serta merusak aktivitas intraseluler bakteri patogen (Khikmah, 2015) sedangkan protein susu yang terdapat pada kefir berikatan dengan bagian luar lipopolisakarida, membentuk pori-pori pada membran luar sehingga terbentuk kondensasi sitoplasma yang pada akhirnya terjadi kematian sel (Kusumaningtyas, 2013).

Nilai pH

Nilai pH pada kefir adalah salah satu dari hasil pengolahan minuman yang difermentasi yang merupakan indikator keasaman yang umumnya berbanding terbalik dengan total asam, rendahnya nilai pH maka nilai total asam tertitrasi menjadi tinggi (Adesokan *et al.*, 2011). Nilai pH kefir yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda (*Cocos nucifera* L. *Var. viridis* Hassk) pada perlakuan P2, P1 dan P0 menunjukkan hasil yang signifikan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai pH

Perlakuan	Nilai pH
P0	4,38 ^a
P1	4,11 ^b
P2	3,95 ^c

Notasi dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama, berbeda nyata ($P<0,05$).

Rendahnya nilai pH pada perlakuan P2 diduga karena adanya aktivitas bakteri asam laktat pada susu yang mengganti laktosa menjadi asam laktat yang meningkatkan keasaman dan terbi-odegradasinya glukosa pada daging kelapa menjadi asam selain itu terdapat khamir pada proses fermentasi kefir yang

mempertajam rendahnya nilai pH. Anwar & Pato (2018) melaporkan asam laktat dari hasil metabolisme karbohidrat dapat menurunkan nilai pH dan menimbulkan rasa asam. Pada perlakuan P1 nilai pH lebih tinggi dibanding perlakuan P2 karena di dalam tempurung kelapa tidak terdapat nutrisi untuk pertumbuhan bakteri asam laktat yang menghasilkan keasaman pada kefir selain itu nilai pH pada perlakuan P1 lebih rendah dibanding P0 disebabkan oleh aktivitas bakteri asam laktat dan khamir pada fermentasi susu dan terurainya tempurung kelapa kemudian membentuk senyawa-senyawa kimia yang bersifat asam (Aziz *et al.* (2011), sedangkan pada perlakuan P0 nilai pH yang didapatkan lebih tinggi karena bakteri asam laktat dan khamir hanya membiodegradasi laktosa pada susu. Nilai pH kefir yang didapatkan pada penelitian ini serupa dengan hasil penelitian Haryadi *et al.* (2013) bahwa kefir dengan waktu inkubasi 12 jam hingga 24 jam berkisar antara 3,86 – 4,05. Rizky & Zubaidah (2015) melaporkan pH kefir berkisar antara 3,88 – 4,47. Tingkat keasaman pada kefir berbeda dengan tingkat keasaman pada yoghurt karena starter pada fermentasi kefir terdiri dari bakteri asam laktat yang bersifat bersifat homofermentatif (asam laktat 85% dari glukosa) dan heterofermentatif (asam laktat 50% dari glukosa).

Total Bakteri Asam Laktat

Hasil penelitian menunjukkan bahwa total bakteri asam laktat menunjukkan hasil yang tidak berpengaruh nyata. Namun, total bakteri asam laktat yang diperoleh cenderung lebih tinggi pada perlakuan P2 yaitu sebesar $14,3 \times 10^6$ CFU/g, diikuti perlakuan P1 dengan koloni sebesar $13,5 \times 10^6$ CFU/g dan perlakuan P0 sebesar $8,1 \times 10^6$ CFU/g (Tabel 4.).

Tabel 4. Total Bakteri Asam Laktat

Perlakuan	Total Bakteri Asam Laktat
P0	$8,1 \times 10^6$ CFU/g ^a
P1	$13,5 \times 10^6$ CFU/g ^a
P2	$14,3 \times 10^6$ CFU/g ^a

Notasi dengan huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata nyata ($P>0,05$)

Meningkatnya total bakteri asam laktat pada perlakuan P2 dan P1 diduga karena adanya nutrisi yang terkandung di dalam tempurung dan daging buah kelapa. Pernyataan ini didukung oleh Kumalasari *et al.* (2012) melaporkan bahwa sel-sel bakteri asam laktat mampu tumbuh dan membelah diri secara eksponensial hingga jumlah yang maksimum hal ini dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan nutrisi. Safitri *et al.* (2016) juga melaporkan hal yang sama bahwa perkembangan bakteri sangat dipengaruhi oleh perantara tempat

tumbuhnya seperti pH, nutrisi, suhu dan kelembaban. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini bahwa rendahnya nilai pH pada kefir yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda (*Cocos nucifera* L. *Var. viridis* Hassk) menunjukkan hasil jumlah total bakteri asam laktat mengalami peningkatan. Kadar asam laktat yang tinggi selain dipengaruhi oleh lingkungan, pH dan nutrisi juga dipengaruhi oleh jumlah bakteri *Lactobacillus* yang terdapat pada kefir. Bakteri *Lactobacillus* merupakan bakteri asam laktat yang mendegradasi protein pada susu yang menyebabkan terjadinya pertumbuhan *Streptococcus* sehingga suasana menjadi asam, kondisi yang asam menyebabkan bakteri *Lactobacillus* kembali tetapi secara bersamaan populasi *Streptococcus* mengalami penurunan (Widodo, 2003). Hardiningsih *et al.* (2006) melaporkan bahwa bakteri *Lactobacillus* dapat aktif pada pH yang rendah dan menghasilkan asam laktat dalam jumlah yang relatif banyak. Adanya peningkatan jumlah bakteri asam laktat pada kefir selain menurunkan pH juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Rostini, 2007) sehingga kefir menjadi awet dan aman untuk dikonsumsi yang memberikan efek kesehatan. Total bakteri asam laktat yang diperoleh pada penelitian ini sudah sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (2009) yaitu bakteri asam laktat pada kefir min 1×10^6 .

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kefir susu sapi yang diinkubasi pada tempurung kelapa hijau muda (*Cocos nucifera* L. *Var. viridis* Hassk) mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 3351 dan *Escherichia coli* ATCC 8739.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesokan, I. A., Odetoyinbo, B. B., Ekanola, Y. A., Avarenren, R. E., & Fakorede, S. (2011). Production of nigerian nono using lactic starter cultures. *Pakistan Journal Nutrition*, 10(3), 203–207. <https://doi.org/10.3923/pjn.2011.203.207>
- Alarcon, B., Vicedo, B., & Aznar, R. (2006). PCR based procedures for detection and quantification of stphylococcus aureus and theirapplication in food. *Journal of Applied Microbiology*, 100, 352–364.
- Anwar, M. Z., & Pato, U. (2018). -207. Anwar, M. Z., dan U. Pato. 2018. Pembuatan minuman probiotik air kelapa muda (*Cocos nucifera* L) dengan starter *Lactobacillus casei* subsp. *casei* R-68. *JOM Faperta*, 5(1), 1–12.
- Argudin, M. A., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Food poisoning and staphylococcus aureus enteroxins. *Toxins (Basel)*, 2(7), 1751–1773.
- Aziz, T., Indraman, M. F., & Alawiyah, U. (2011). Pemanfaatan tempurung kelapa dan tempurung sawit untuk pembuatan asap cair sebagai penghilang bau pada lateks dengan metode pirolisis. *Jurnal Teknik Kimia*, 17(8), 41–48.
- Bahar, B. (2008). *Kefir : Minuman Susu Fermentasi dengan Segudang Khasiat untuk Kesehatan* (Cet. 1). Gramedia Pustaka Utama.
- BPOM. (2011). *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor K.03.1.23.11.11.09909 Tahun 2011 tentang Pengawasan Klain dalam Label dan Iklan Pangan Olahan*.
- Cotter, P. D., & Hill, C. (2003). Surviving the Acid Test : Responses of Gram-Positive Bacteria to Low pH. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(3), 429–453. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.3.429>
- Fajriati, I. (2006). Optimasi metode penentuan tanin (Analisis tanin secara spektrofotometri dengan pereaksi orto-fenantrolin). *Kaunia Jurnal Sains Dan Teknologi*, 2(2), 108–120.
- Fardiaz, S. (1992). *Mikrobiologi Pangan I*. PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Fojan, P., Jonson, P. H., Petersen, M. T. N., & Petersen, S. B. (2000). What distinguishes an esterase from a lipase: A novel structural approach. *Journal Biochimie*, 82, 1033–1041.
- Hardiningsih, R., Nonta, R., Napitupulu, R., & Yulinery, T. (2006). Isolasi dan Uji Resistensi Beberapa Isolat *Lactobacillus* pada pH Rendah Isolation and resistance test of several isolates of *Lactobacillus* in low pH. *Jurnal Biodiversitas*, 7(1), 15–17. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d070105>
- Haryadi, Nurlina, & Sugito. (2013). Nilai pH dan jumlah bakteri asam laktat kefir susu kambing setelah difermentasi dengan penambahan gula dengan lama inkubasi yang berbeda. *Jurnal Media Veterinaria*, 7(1), 4–7.
- Hutasoit, N., Ina, P. T., Gede, I. D., & Permana, M. (2017). Optimasi pH dan suhu pada aktivitas enzim lipase dari biji kakao (*Theobroma cacao* L.) berkapang. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 5(2), 95–102.
- Khikmah, N. (2015). Uji bakteri susu fermentasi komersial pada bakteri patogen. *Jurnal*

- Kumalasari, K. E. D., Nurwantoro, & Mulyani, S. (2012). Pengaruh kombinasi susu dengan air kelapa terhadap total bakteri asam laktat (BAL), total gula dan keasaman Drink Yogurt. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(2), 48–53.
- Kurniati, Y. (2010). *Kajian Penambahan Sari Ubi Jalar Sebagai Sumber Prebiotik Pada Susu Kelapa yang Difermentasi oleh Lactobacillus casei Fnc 0090*. Universitas Lampung.
- Kusumaningtyas, E. (2013). Peran peptida susu sebagai antimikroba untuk meningkatkan kesehatan. *Journal Wartazoa*, 23(2), 63–75.
- Lindawati, S. A., Kartini, A. A. S., Hartawan, M., Miwada, I. N. S., Inggriati, N. W. T., Nuraini, K., Ariana, I. N. T., & Umiarti, A. T. (2010). Antimicrobial Activity of Mother Starter Kefir Towards Salmonella, Staphylococcus and E.Coli In Vitro. *Proceedings, 2nd International Conference On Bioscience And Biotechnology*.
- Lindawati, S. A., Sriyani, N. L. P., Hartawan, M., & Suranjaya, I. G. (2015). Study mikrobiologis kefir dengan waktu simpan berbeda. *Majalah Ilmiah Peternakan*, 18(3), 95–99.
- NCCLS. (2000). *Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing Salmonella Serotype Thyphi. Manual for Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing*. World Health Organization.
- Ot'es, S., & Cagindi, O. (2003). Kefir: a probiotic dairy-com-position nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal Nutrition*, 2(2), 54–59.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2008). *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1* (R. S. Hadioetomo, T. Imas, S. S. Tjitrosomo, & S. L. Angka (eds.)). Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).
- Ray, B. (2003). *Fundamental Food Microbiology* (Thrid Edit). CRC Press.
- Rizky, A. M., & Zubaidah, E. (2015). Pengaruh penambahan tepung ubi ungu jepang (*Ipomea batatas* L var. Ayamurasaki) terhadap sifat fisik, kimia, dan organoleptik kefir ubi ungu. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(4), 1393–1404.
- Rostini, I. (2007). *Kultur Fitoplankton (Chlorella sp. dan Tetraselmis chunii) pada Skala Laboratorium* (p. 33). Skripsi. Jatinagor: Universitas Padjajaran.
- Safitri, N., Sunarti, T. C., & Meryandini, A. (2016). Formula Media Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat *Pediococcus pentosaceus* Menggunakan Substrat Whey Tahu Formulation of Whey Tofu-based Media for the Cultivation of Lactic Acid Bacteria *Pediococcus pentosaceus*. *Jurnal Sumberdaya Hayati*, 2(2), 31–38.
- Sana, N. ., Hossin, I., Haque, E. ., & Shaha, R. . (2004). Identification, purification and characterization of lipase from germination oil seed (*Brassica napus* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(2), 246–252. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2004.246.252>
- Sari, R., Deslianri, L., & Apridamayanti, P. (2016). Skrining Aktivitas Antibakteri Bakteriosin dari Minuman Ce Hun Tiau. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(2), 88–96.
- Sidabutar, I. F. (2017). *Senyawa dan Aktivitas Antimikroba Asam Lemak dan Esternya dari Biji Durian (Durio zibethinus murr)*. Universitas Sumatera Utara.
- Standar Nasional Indonesia. (2009). *Minuman susu fermentasi berperisa* (Patent No. 7552:2009).
- Sui, M., & Chandra, W. (2007). *Aktivitas Lipase Kasar Dalam Buah Kelapa Yang Digerminasi (Ditunaskan)*.
- Susilorini, T. E., & Sawitri, M. E. (2006). *Produk Olahan Susu*. Penebar Swadaya.
- Tuminah, S. (2014). Efek Perbedaan Sumber dan Struktur Kimia Asam Lemak Jenuh Terhadap Kesehatan. *Buletin Penelitian Kesehatan*, 38(1), 1–5. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Usmiati, S., & Richana, N. (2011). Potensi bakteriosin dari *Lactobacillus* sp. galur SCG 1223 sebagai biopreservatif pada daging segar. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian*, 7(2), 65–77.
- Widodo. (2003). *Bioteknologi Industri Susu* (Ed. 1). Yogyakarta Lactisia.