

ANALISIS KADAR LAKTOSA DAN ASAM LAKTAT DENGAN *HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPH (HPLC)* DAN KADAR ETANOL DENGAN *GAS CHROMATOGRAPH (GC)* PADA KRIM KEFIR

Ni Putu Rahayu Artini^{*}, I Wayan Tanjung Aryasa, Desak Putu Risky Vidika A.

PS Teknologi Laboratorium Medik, Institut Ilmu Kesehatan Medika Persada Bali-Indonesia

^{*}rahayu_artini@yahoo.co.id

ABSTRAK: Krim kefir memiliki rasa, warna, dan konsistensi yang menyerupai yoghurt namun tekstur krim kefir lebih encer. Gumpalan susunya lebih lembut, dan memiliki aroma khas *yeast*. Krim kefir mempunyai efek yang baik untuk kesehatan, seperti mengontrol metabolisme kolesterol, sebagai probiotik, antitumor, antibakteri, antijamur, dan lain-lain. Krim kefir pada penelitian ini dibuat dari proses fermentasi antara bakteri grain kefir dengan susu plain murni, dimana pada penelitian ini dilakukan proses variasi waktu fermentasi yaitu 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Berdasarkan hasil analisis variasi waktu fermentasi berpengaruh terhadap sifat kimia krim kefir, yaitu secara keseluruhan, baik FI, FII, dan FIII memiliki penampakan berupa cairan kental dan konsistensi homogen. Variasi waktu fermentasi berpengaruh terhadap sifat kimia krim kefir yaitu, penurunan kadar laktosa, kadar asam laktat, dan kadar alkohol. Pada penelitian ini waktu fermentasi terbaik adalah 24 jam (FI) sehingga menghasilkan krim kefir dengan kadar asam laktat 0,37%, kadar alkohol 0,05%, dan kadar laktosa 6,04%

Kata kunci : krim kefir, fermentasi, kadar asam laktat, kadar alkohol, dan kadar laktosa.

ABSTRACT: Cream kefir has a taste, color, and consistency that resembles yogurt but cream kefir texture is thinner. The lumps of the milk are softer and have a distinctive yeast scent. Cream kefir has good effects on human health, such as controlling cholesterol metabolism, as probiotics, antitumor, antibacterial, antifungal, and others. Cream of kefir in this research is made from fermentation process between grain kefir bacteria with pure plain milk, which in this research is processed variation of fermentation time is 24 hours, 48 hours, and 72 hours. Based on the result of analysis of fermentation time variation effect on physical properties of kefir cream, that is, overall, each FI, FII, and FIII has the appearance of thick fluid and homogeneous consistency. The variation of fermentation time affects the chemical properties of cream kefir cream, namely, decreasing lactose levels, lactic acid levels, and alcohol content. In this study, the best fermentation time was 24 hours (FI) to produce cream kefir with a 0.37% of lactic acid, 0.05% of alcohol content, and lactose content of 6.04%.

Keywords: Cream kefir, fermentation, lactic acid content, alcohol content, and lactose content.

1. PENDAHULUAN

Susu segar merupakan bahan pangan yang mempunyai nilai gizi tinggi sehingga bermanfaat bagi manusia dan jasad renik pembusuk. Kontaminasi bakteri mampu berkembang dengan cepat sehingga

susu menjadi rusak dan tidak layak konsumsi. Upaya memperpanjang daya guna, masa simpan, serta untuk meningkatkan nilai ekonomi susu maka diperlukan teknik penanganan dan pengolahan. Salah satu upaya pengolahan

susu yang sangat menunjang adalah fermentasi susu.

Susu sapi dapat diolah menjadi berbagai produk olahan susu seperti susu fermentasi, yoghurt, keju, susu bubuk, dodol, es krim, dan krim kefir. Krim kefir dibuat dari susu yang difermentasi dengan menggunakan *starter* kultur tertentu yang disebut dengan bibit kefir (*kefir grains*). Kefir berasal dari pegunungan Kaukasus sebelah utara atau sebelah timur laut Mongolia dan telah diproduksi selama ratusan tahun dalam skala rumah tangga secara tradisional dalam kantong kulit, atau dalam tembikar. Bahan yang umum dibuat krim kefir adalah susu sapi dan susu kambing. Krim kefir difermentasi oleh sejumlah mikroba, yaitu bakteri penghasil asam laktat (BAL), bakteri penghasil asam asetat, dan khamir [1].

Krim kefir memiliki rasa, warna, dan konsistensi yang menyerupai yoghurt namun tekstur krim kefir lebih encer, gumpalan susunya lebih lembut, dan memiliki aroma khas *yeast* [2]. Krim kefir mempunyai efek yang baik untuk kesehatan, seperti mengontrol metabolisme kolesterol, sebagai probiotik, antitumor, antibakteri, antijamur, dan lain-lain [3].

Fermentasi susu menjadi krim kefir menghasilkan senyawa metabolit yang bermanfaat bagi kesehatan, yaitu eksopolisakarida dan peptide bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan. Kedua senyawa tersebut akan menstimulasi sistem kekebalan tubuh. Polisakarida yang terbentuk juga berperan sebagai antitumor. Krim kefir mengandung 0,5-1,0% alkohol, 0,9-1,1% asam laktat, 0,65-1,33 g/L CO₂, 3,16-3,18% protein, 3,07-3,17% lemak, 1,8-3,8% laktosa, diasetil peptide (bakteriosin). Senyawa lain yang terdapat pada krim kefir adalah kandungan β -galaktosidase yang baik untuk penderita *lactose intoleran* [4]. Komponen-komponen tersebut tidak hanya berguna untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri pembusuk selama pengolahan dan penyimpanan makanan, tetapi dapat pula digunakan untuk

pengecahan beberapa gangguan pencernaan dan infeksi. Krim kefir memiliki antibiotika alami yang dapat dihasilkan mikroba (*human friendly/ beneficial microflora*) serta derajat keasaman tinggi yang akan menekan pertumbuhan bakteri patogen[3].

Krim kefir yang dibuat dengan menggunakan kefir grain sudah dapat disaring setelah 24 jam dilakukan fermentasi. Bila mengacu pada suhu ruang (tempat krim kefir dibuat) dimana krim kefir dimasukkan ke dalam kantong kulit kambing dan digantung dibelakang pintu dekat perapian, maka dapat diprediksi bahwa suhu tersebut berada di rentang 22-25⁰C.

Untuk mendapatkan hasil yang optimal dari krim kefir, sebaiknya waktu fermentasi tidak terlalu lama dan dapat dilakukan penyaringan setelah susu menjadi padat dan memiliki cita rasa asam[5]. Fermentasi yang terlalu panjang juga berpengaruh pada tekstur, sehingga kurang baik bila dikonsumsi, cita rasa yang dihasilkan juga akan berbeda. Semakin panjang waktu fermentasi dilakukan, laktosa akan semakin kecil bahkan hilang dan berubah menjadi asam laktat, asam amino esensial, dan lainnya.

Bila fermentasi dilakukan diatas 48 jam, pH krim kefir akan berada di rentang 3,6-3,8 yang bermanfaat untuk memperkecil ruang gerak mikroorganisme negatif di dalam saluran cerna. Namun, seiring dengan penurunan pH akan terjadi peningkatan aktivitas ragi yang berdampak terhadap peningkatan gas yang dihasilkan.

Tingkat keasaman, tekstur dan kekentalan dari krim kefir akan terus berubah seiring dengan lamanya fermentasi dengan menggunakan grain kefir[6]. Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan pembuatan krim kefir dengan variasi waktu fermentasi, yaitu 24 jam, 48 jam, dan 72 jam untuk mengetahui kualitas krim yang baik berdasarkan parameter kimia, yaitu kadar alkohol, laktosa, dan asam laktat.

2. PERCOBAAN

2.1 Alat dan Bahan Penelitian.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari peralatan gelas yaitu, beaker glass, spatula, pipet tetes, pipet volume, labu ukur, dan tabung sentrifugasi. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, *centrifuge*, seperangkat alat destilasi, *HPLC System Merk ICI Instruments*, dan *Gas Chromatograph Varian Type 3300*. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah krim kefir hasil fermentasi 24 jam (F1), 48 jam (F2), dan 72 jam (F3) yang telah dipisahkan dari grain kefir. Bahan kimia yang digunakan untuk uji laktosa, asam laktat, dan kadar alkohol antara lain: standar laktosa 1%, aquades, dan *methanol anhydrous*, standar asam-asam organik 100 mM, dan etanol 1%.

2.2 Metode penelitian.

Fermentasi

Sampel berupa susu *plain* murni disiapkan sebanyak 1,5 L dan 75 gram grain bibit kefir. Disiapkan tiga buah toples gelas, lalu ditimbang sebanyak 25 gram grain bibit kefir, dan dicampur dengan 500 mL susu, diaduk. Pada toples F1 difermentasi 24 jam, F2 difermentasi 48 jam, dan F3 difermentasi 72 jam. Setelah terfermentasi, akan terbentuk dua lapisan, lapisan putih kental (*curd*) dan lapisan bening (*whey*). Saring lapisan *curd* dan simpan pada wadah steril.

Penentuan kadar laktosa pada krim kefir

Sampel krim kefir ditimbang sebanyak 5,00 gram, kemudian dilarutkan dengan aquades dan dituangkan ke dalam labu ukur 25 mL, lalu diencerkan hingga mencapai tanda batas. Kemudian larutan dipindahkan ke tabung sentrifugasi dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Supernatannya diambil dan disaring dengan *membrane* 0,45 μ . Selanjutnya supernatan yang telah disaring, diencerkan 4 kali, lalu segera dipindahkan ke vial untuk siap diinjeksikan ke dalam HPLC *injection port*. Hasilnya

dibandingkan dengan standar laktosa 1% [7].

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Luas area sampel}}{\text{Luas area standar}} \times \text{Konsentrasi standar} \times F_p$$

Penentuan kadar asam laktat pada krim kefir

Larutan asam-asam organik dibuat dengan konsentrasi 100 mM, terdiri dari: larutan asam asetat, asam propionat, asam butirat dan asam laktat yang kemudian diencerkan menjadi 100mM dalam labu ukur 100 mL. Larutan asam asetat, asam propionat, asam butirat, dan asam laktat secara berurutan, yaitu: 0,5665 ml; 0,7483 ml; 0,9771 ml; 0,7444 ml. Keempat larutan tersebut diambil dan dituangkan ke dalam labu ukur 100 ml, kemudian ditambahkan aquades hingga tanda batas.

Sampel krim kefir ditimbang sebanyak 5,00 gram, kemudian dipindahkan ke tabung sentrifugasi dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Supernatannya diambil dan disaring dengan *membrane* 0,45 μ . Selanjutnya supernatant yang telah disaring dipindahkan ke vial untuk siap diinjeksikan ke dalam HPLC *injection port* [7].

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Luas area sampel}}{\text{Luas area standar}} \times \text{Konsentrasi standar} \times F_p$$

Penentuan kadar alkohol pada krim kefir

Etanol 50% diambil sebanyak 0,20 mL dan diencerkan ke dalam labu ukur 10 mL hingga tanda batas dengan menambahkan aquades untuk memperoleh larutan standar etanol 1%. Sampel krim kefir ditimbang sebanyak 5,00 gram, kemudian ditambahkan aquades hingga mencapai 10,00 gram. Krim kefir yang telah diencerkan selanjutnya didestilasi dengan seperangkat alat destilasi *Small Kit Standar Set* hingga diperoleh destilat sebanyak 70% dari berat awal. Destilat dipindahkan secara kuantitatif ke labu ukur 10 mL, lalu ditambahkan aquades hingga mencapai tanda batas. Selanjutnya sebagian dituangkan ke tabung *Evendoff* dan siap

Tabel 1 Kadar Laktosa pada Krim Kefir

No.	Larutan	Kromatogram		Konsentrasi (%)
		Retention time (Rt)	Luas area	
1.	Standar Laktosa 1%	4,6	57375	1
2.	FI	4,735	17315	6,04
3.	FII	4,633	15120	5,27
4.	FIII	4,615	12947	4,51

untuk diinjeksikan ke dalam *injector GC* dengan menggunakan *Micro syringe* [7].

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Luas area sampel}}{\text{Luas area standar}} \times \text{Konsentrasi standar} \times F_p$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar laktosa krim kefir

Penentuan kadar laktosa pada krim kefir dilakukan dengan menggunakan metode HPLC. Hasil *retention time* dan luas area dari kromatogram sampel krim kefir (dengan pengenceran 20 kali) beserta konsentrasi masing-masing larutan disajikan pada Tabel 1.

Hasil pemisahan dengan HPLC, krim kefir (FI, FII dan FIII) secara kualitatif mengandung laktosa. Hal ini dibuktikan dengan munculnya peak laktosa pada Rt berkisar 4,6 – 4,7 menit. Jika dibandingkan dengan standar laktosa, waktu retensi antara sampel dan standar cukup berdekatan sesuai dengan *library* yang tampak pada *database* hal ini menunjukkan bahwa krim kefir positif mengandung laktosa.

Berdasarkan SNI 01-2981-2009, kadar laktosa pada krim kefir antara 4 - 6%. Tabel 1 memperlihatkan kadar laktosa FI lebih besar dibandingkan FII, dan kadar laktosa FII lebih besar dibandingkan dengan FIII. Hal ini dapat terjadi karena sebagian besar laktosa pada FII dan FIII sudah terkonversi menjadi asam laktat saat fermentasi anaerob.

Krim kefir memiliki kadar laktosa yang rendah sehingga cocok untuk dikonsumsi oleh penderita *Lactose Intolerant*, yaitu orang-orang yang tidak

memiliki kemampuan untuk mencerna laktosa. Pada krim kefir, laktosa akan terurai menjadi glukosa dan galaktosa oleh enzim laktase dari bakteri asam laktat dari biji krim kefir. Glukosa yang dihasilkan akan termetabolisme secara anaerob menjadi asam laktat dan adenin trifosfat (ATP) sebagai energy [5].

Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar asam laktat krim kefir

Penentuan kadar asam laktat pada krim kefir dilakukan dengan menggunakan metode HPLC. Hasil *Retention time* dan luas area dari kromatogram sampel krim kefir (dengan pengenceran 1 kali) beserta konsentrasi masing-masing larutan disajikan pada Tabel 2.

Penentuan kadar asam-asam organik menggunakan HPLC dengan detektor *Ultraviolet-detector*. Data yang muncul pada kromatogram dengan injeksi campuran beberapa larutan standar asam organik, yakni larutan standar asam laktat 100 mM, larutan standar asam asetat 100 mM, larutan standar asam propionat 100 mM dan larutan standar asam butirat 100 mM dengan masing-masing konsentrasinya adalah 100 mM tanpa pengenceran.

Pada kromatogram masing-masing *peak* larutan standar muncul pada *retention time* yang berbeda. Untuk penentuan jenis asam organik, asam laktat muncul pada Rt 16,093 dengan luas area 46.514, data luas area inilah yang akan menjadi perbandingan untuk menghitung konsentrasi asam laktat dari masing-masing supernatan tiap sampel krim kefir (FI, FII, dan FIII). Dari data kromatogram, untuk supernatan FI menghasilkan peak asam laktat pada kisaran Rt 16,267 menit dengan

Tabel 2 Kadar Asam Laktat pada Krim Kefir

No.	Larutan	Kromatogram		Konsentrasi (mM)	Konsentrasi (%)
		Retention time (Rt)	Luas Area		
1.	Standar Asam Organik	16,098	46.514	100	100
2.	FI	16,267	19.237	41,36	0,37
3.	FII	16,272	14.533	31,24	0,28
4.	FIII	16,215	10,610	22,81	0,20

Tabel 3 Kadar Etanol pada Krim Kefir

No.	Larutan	Kromatogram		Konsentrasi (%)
		Retention time (Rt)	Luas Area	
1.	Standar Etanol	5,518	40.375	1
2.	FI	5,480	917	0,05
3.	FII	5,538	903	0,04
4.	FIII	5,558	296	0,01

luas area 19237 sehingga konsentrasinya menjadi 41,36 mM atau 0,37% (% b/v), nilai konsentrasi asam laktat untuk FII adalah 31,24 mM atau 0,28% (% b/v) dan FIII 22,81mM atau 0,20% (% b/v). Untuk sampel FI, FII, dan FIII dapat dikatakan jenis homofermentasi karena hasil akhirnya hanya asam laktat[5]. Diperkirakan konsentrasi asam laktat pada supernatant FI, FII, dan FIII sisanya menghasilkan CO₂ dengan kadar asam laktat yang terdeteksi pada HPLC berada dibawah 50%.

Sesuai SNI 01-2981-2009, produk fermentasi yang baik memiliki kadar asam laktat 0,5-2,0%. Dari hasil analisis keseluruhan kadar asam laktat krim kefir tidak sesuai dengan baku mutu. Krim kefir dengan kadar asam laktat minimal 0,5% dan maksimal 2,0% adalah susu fermentasi terbaik yang dapat dikonsumsi oleh penderita *lactose intolerance* karena telah terjadi penurunan kadar laktosa sampai 30%, sehingga sangat membantu penderita defisiensi enzim dan merangsang sekresi enzim laktase di dalam saluran pencernaan. Sehingga penderita *lactose intolerance* dapat mengkonsumsi produk olahan susu berupa kefir karena laktosa pada kefir telah dipecah menjadi glukosa dan galaktosa[8].

Pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar alkohol krim kefir

Penentuan kadar etanol pada krim kefir dilakukan dengan menggunakan

metode GC. Hasil *retention time* dan luas area dari kromatogram sampel krim kefir (dengan pengenceran 2 kali) beserta konsentrasi masing-masing larutan. Tabel kadar etanol pada krim kefir, disajikan pada Tabel 3.

Detektor yang digunakan pada penelitian ini adalah detektor FID (*Flame Ionization Detector*). Proses preparasi sampel dilakukan dengan melakukan destilasi pada ketiga krim kefir hingga diperoleh hasil destilat sebanyak 75% dari berat awal dan diinjeksikan ke dalam *injector GC* dengan menggunakan *micro syringe*. Untuk larutan standar pada GC digunakan larutan standar etanol 1% tanpa pengenceran.

Larutan standar etanol 1% digunakan karena dalam krim kefir umumnya memiliki kadar etanol dibawah 1%, maka diharapkan data yang diperoleh berkisar pada range tersebut. Setelah dianalisis dengan GC akan muncul hasil analisis secara kualitatif berupa kromatogram yang merupakan hasil berupa identitas senyawa dan secara kuantitatif berupa munculnya *peak* pada *retention time* dan luas area yang dihasilkan.

Pada kromatogram untuk larutan standar etanol 1% muncul *peak* pada *retention time* 5,518 menit dengan luas area 40.375. Luas area dari larutan standar etanol 1% ini yang akan dijadikan sebagai pembanding dalam penentuan persentase

kadar alkohol dalam krim kefir dengan pengenceran sebanyak 2 kali.

Untuk analisa kadar etanol pada sampel FI diperoleh hasil kromatogram dengan munculnya peak pada *retention time* di 5,48 menit dan luas area 917 sehingga diperoleh kadar etanol pada sampel krim kefir FI adalah 0,05%. Untuk sampel krim kefir FII muncul peak pada *retention time* 5,538 menit dan luas area 903, sehingga diperoleh kadar etanol pada sampel krim kefir FII adalah 0,04%. Sedangkan sampel terakhir FIII muncul pada peak 5,558 menit dengan luas area sebesar 296, sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 0,01%.

Secara teoritis kandungan alkohol dari krim kefir maksimal sebanyak 1%. Dari data kromatogram FI, FII, dan FIII diperoleh kadar alkohol yang makin kecil FI 0,05%, FII 0,04%, dan FIII 0,001%. Persentase kadar alkohol yang kecil disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya waktu fermentasi yang terlalu lama sehingga alkohol yang terdapat pada sampel telah teroksidasi menjadi asetaldehid dan kemudian menjadi asam asetat. Etanol teroksidasi lebih lanjut menjadi asetaldehida yang kemudian dapat teroksidasi lebih lanjut menjadi asam asetat, sesuai reaksi di bawah ini[5]:

4. SIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis variasi waktu fermentasi berpengaruh terhadap sifat kimia krim kefir, baik FI, FII, dan FIII memiliki penampakan berupa cairan kental dan konsistensi homogen. Variasi waktu fermentasi berpengaruh terhadap sifat kimia krim kefir yaitu, penurunan kadar laktosa, kadar asam laktat, dan kadar alkohol. Pada penelitian ini waktu fermentasi terbaik adalah 24 jam (FI) sehingga menghasilkan krim kefir dengan kadar asam laktat 0,37%, kadar alkohol 0,05%, dan kadar laktosa 6,04%

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat IIK Medika Persada Bali yang memberikan hibah dana internal Perguruan Tinggi kepada kami sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Winarno, F.G. dan I. E. Fernandez. 2007. Susu dan Produk Fermentasinya. M-BRIOPRESS, Bogor.
- [2] Siswanto, E. 2007. Pembuatan Minuman Kefir Dari Susu Kacang Merah dengan Menggunakan Kultur Starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Saccharomyces cereviceae*: Kajian Pengaruh Konsentrasi Starter dan Lama Inkubasi. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Untag. Semarang.
- [3] Farnworth, E.R. 2003. Handbook of Fermented Functional Foods. CRC Press. USA.
- [4] Ide, P.2008. Health Secret of Kefir, Menguak Keajaiban Susu Asam untuk Penyembuhan Berbagai Penyakit. PT.Elex Media Kompotindo, Jakarta.
- [5] Albaarri, AN dan Murti, T.W., 2003, *Analisa pH, Keasaman dan Kadar Laktosa pada Yakult, Yoghurt, Kefir dalam Proceeding*. Simposium Nasional Hasil-Hasil Penelitian di Unika Soegijapranata, Semarang.
- [6] Sari, N.K., 2007, *Tren dan Potensi Susu Sapi* dalam Food Review bulan Maret 2007, PT Media Pangan Indonesia.
- [7] SNI 01-2891.2009. *Cara Uji Makanan dan Minuman*. Jakarta : Pusat Standar Industri. Departemen Industri.
- [8] Kurmann, J.A. and J.L. Rasic. 1980. *The Health Potential of Product Containing Bifidobacteria. In Therapeutic Properties of*

Fermented Milks. Ed RK.Robinson
Elsevier App. Sci. London, New
York.