

BAKTERI ASAM LAKTAT BERMANFAAT DALAM KEFIR DAN PERANNYA DALAM MENINGKATKAN KESEHATAN SALURAN PENCERNAAN

BENEFICIAL LACTIC ACID BACTERIA IN KEFIR AND THEIR ROLES IN IMPROVING HEALTH OF DIGESTIVE TRACT

I Putu Aditya Prayoga¹, Yan Ramona^{1,2}, Ida Bagus Made Suaskara^{1,3}

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana

²UPT Laboratorium Terpadu Biosain dan Bioteknologi, Universitas Udayana

Corresponding Author: yogaaditya.stuard@gmail.com

ABSTRAK

Kefir merupakan produk fermentasi susu yang melibatkan berbagai macam bakteri asam laktat (BAL) dalam fermentasinya. Bakteri asam laktat di dalam kefir telah banyak dilaporkan memberi manfaat menyehatkan bagi saluran pencernaan manusia yang mengonsumsinya, dengan cara mengendalikan atau mengatur populasi bakteri patogen. Telaah ilmiah ini menjabarkan berbagai BAL dan perannya dalam proses pembuatan kefir, mekanisme yang dilakukan BAL dalam mengendalikan populasi patogen dalam saluran pencernaan, serta efek fungsional BAL terhadap produk kefir. Dalam telaah literature ini diperoleh informasi bahwa *Lactobacillus kefiranofaciens*, *L. kefiri*, *L. casei*, *L. delbrueckii* dan *L. brevis* merupakan kelompok BAL yang paling umum terlibat dalam pembuatan kefir. Spesies-spesies BAL tersebut berperan dalam mengendalikan populasi mikroba saluran pencernaan melalui berbagai mekanisme, seperti produksi asam laktat, etanol, diasetil, hidrogen peroksida, reuterin atau bakteriosin. Efek fungsional yang dapat dilakukan oleh BAL setelah berada di dalam saluran pencernaan antara lain mencegah terjadinya infeksi bakteri patogen, menurunkan kadar kolesterol darah, meningkatkan sistem imun, dan sebagai antioksidan. Hal ini mengindikasikan bahwa BAL yang diisolasi dari kefir berpotensi dikembangkan sebagai probiotik potensial dimasa yang akan datang.

Kata Kunci: *BAL, kefir, sistem pencernaan manusia*

ABSTRACT

Kefir is fermented milk which involves various types of lactic acid bacteria (LAB) in its fermentation. Lactic acid bacteria in the kefir have been reported to provide health beneficial for human intestinal tract following consumption of such LAB containing kefir. These LABs control the population of pathogenic bacteria in the intestine. In this manuscript, various LABs involved in the process of kefir making, the mechanisms by which such LABs control the population of pathogens in the intestine, as well as the functional effects of the LABs in the kefir are reviewed. It was found in the reviews that *Lactobacillus kefiranofaciens*, *L. kefiri*, *L. casei*, *L. delbrueckii*, and *L. brevis* are the most common LAB isolates involved in the kefir making. These LABs control the pathogen population in the intestine by various mechanisms, such as production of lactic acid, ethanol, diacetyl, hydrogen peroxide, reuterin, or bacteriocin. Functional effects provided by these LABs include prevention of infection by pathogens, reduction of blood cholesterol level, improving immune system, or as anti-oxidants. These beneficial effects of LABs improve their opportunities to be developed as potential future probiotics.

Keywords: *Human digestive system, kefir, LAB*

PENDAHULUAN

Sistem pencernaan merupakan sistem yang berperan dalam memecah molekul kompleks (karbohidrat, lemak dan protein) menjadi monomernya sebelum diserap ke dalam darah dan diedarkan ke seluruh sel tubuh melalui pembuluh darah. Proses yang terjadi di sepanjang saluran pencernaan sangat kompleks yang melibatkan banyak enzim sebelum sari-sari makanan terbentuk dan siap untuk diserap di dalam usus halus. Selain kelenjar-kelenjar pencernaan, proses yang berjalan dalam saluran pencernaan juga ditentukan oleh komposisi mikroba (probiotik) yang terdapat di dalamnya (Hillman *et al.*, 2017).

Keberadaan mikroba dalam saluran pencernaan harus selalu berada dalam keadaan seimbang supaya proses pencernaan dapat berlangsung secara normal. Kondisi ini akan menentukan tingkat kesehatan seseorang (Yuniastuti, 2014). Peningkatan yang signifikan pada populasi patogen dapat menyebabkan berbagai gangguan pada saluran pencernaan, seperti terjadi diare, tukak lambung dan feses yang bercampur darah. Probiotik diperlukan untuk menjaga keseimbangan populasi mikroba dalam saluran pencernaan, dengan cara menekan pertumbuhan berlebih dari patogen. Bakteri asam laktat merupakan kandidat yang baik sebagai probiotik (Widiyaningsih, 2011). Bakteri asam laktat (BAL) dapat diisolasi dari berbagai sumber seperti makanan terfermentasi, susu yang diambil dari berbagai spesies hewan dalam kelompok mamalia, atau bahkan dari feses bayi sehat yang diberi asupan ASI selama 6 bulan secara terus menerus (Medjaoui *et al.*, 2016). Secara umum, kandidat probiotik yang diisolasi dari berbagai sumber tersebut akan melalui berbagai tahapan uji sebelum diklaim dapat digunakan sebagai

suplemen dalam makanan fungsional. Beberapa persyaratan tersebut adalah:

1. Kandidat probiotik tersebut harus dapat bertahan dalam saluran pencernaan bagian atas, terutama lambung yang pH nya dapat mencapai 2 unit pH ketika dalam keadaan kosong (Shewale *et al.*, 2014). Kondisi asam ini akan berperan sebagai *barrier* pertama yang harus dilalui oleh kandidat probiotik sebelum mencapai usus besar, dimana mereka akan berperan dalam menekan dan menjaga keseimbangan *gut microbiota*, sehingga usus akan menjadi sehat. Oleh karena itu, dalam isolasi dan *screening* kandidat probiotik akan dilakukan uji tahan asam pada tahap awal (Febrianti dkk., 2016).
2. Kandidat probiotik harus dapat bertahan hidup pada kondisi dimana konsentrasi cairan empedu (*bile*) sangat tinggi (Shewale *et al.*, 2014). Cairan empedu merupakan senyawa bakterisida biologis yang berperan sebagai *barrier* kedua yang harus dilalui mikroba yang terdapat dalam makanan, termasuk kandidat probiotik sebelum mencapai saluran pencernaan bagian bawah. Beberapa spesies mikroba tidak mampu untuk bertahan dikondisi basa yang diciptakan cairan empedu. Oleh karena itu, dalam proses *screening* probiotik uji ketahanan terhadap cairan empedu (*bile*) juga menjadi bagian yang difokuskan (Febrianti dkk., 2016).
3. Kandidat probiotik tidak melakukan aktivitas metabolisme yang dapat mengubah asam kolat menjadi asam deoksikolat (Shewale *et al.*, 2014). Beberapa penelitian bahkan telah melaporkan bahwa keberadaan asam deoksikolat dalam konsentrasi tinggi di dalam usus besar dapat meningkatkan resiko munculnya kanker kolon (kanker usus besar) pada seseorang. Oleh karena itu, semua

isolat kandidat probiotik akan disisihkan untuk pengembangan lebih lanjut bila menunjukkan aktivitas ini, walaupun karakteristik fungsional lain dipenuhi oleh kandidat probiotik tersebut (Shewale *et al.*, 2014; Febrianti dkk., 2016).

Pembahasan telaah pustaka ini difokuskan pada isolasi dan pengembangan kandidat probiotik lokal yang isolatnya dapat diperoleh dari susu terfermentasi yang dikenal dengan nama kefir. Proses fermentasi susu melibatkan berbagai kelompok BAL atau kelompok bifidobacteria yang berperan sebagai mikroba pemroses, karena kemampuannya memfermentasi laktosa menjadi asam laktat (Widiyaningsih, 2011).

METODE TELAAH PUSTAKA

Telaah pustaka

Tulisan ini merupakan telaah pustaka atau *Literature review*. Telaah pustaka adalah metode yang dipakai untuk mengumpulkan data atau sumber yang berhubungan pada sebuah topik tertentu yang bisa didapat dari berbagai sumber buku, majalah, artikel dan jurnal ilmiah.

Penentuan topik bahasan

Penentuan topik bahasan berdasarkan pada potensi kefir sebagai susu terfermentasi yang mengandung beragam bakteri probiotik yang bermanfaat dalam meningkatkan kesehatan saluran pencernaan.

Pencarian topik dan analisis artikel

Pencarian artikel berdasarkan database google scholar, dengan kata kunci kefir dan bakteri asam laktat dimana ditemukan 800 artikel terkait kefir dan 1000 artikel terkait BAL. Analisis artikel dilakukan dengan menyeleksi topik bahasan berdasarkan tujuan dari telaah pustaka yang akan dibahas dan pada telaah ini mengutip 177 jurnal ilmiah dari 1800 artikel terkait kefir dan BAL dari database google scholar yang terdiri dari 27 jurnal nasional dan 150 jurnal internasional.

HASIL TELAAH LITERATUR

Bakteri asam laktat dalam kefir

Bakteri asam laktat yang telah berhasil diisolasi dari biji kefir dan susu kefir sangat penting untuk diketahui, mengingat keberagaman spesies mikroba yang terkandung di dalamnya. Spesies dari genus *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus* dan *Weissella* berhasil ditemukan pada kefir maupun biji kefir, dimana BAL dari genus *Lactobacillus* merupakan yang paling dominan ditemukan. Tabel 1 menunjukkan berbagai spesies yang telah dilaporkan berhasil diisolasi dari kefir atau biji kefir.

Mekanisme kerja senyawa antimikroba BAL isolat kefir

Berbagai senyawa yang dihasilkan oleh BAL isolat kefir beserta mekanisme kerja senyawa aktif tersebut dalam menghambat pertumbuhan atau mengontrol bakteri merugikan ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 1. Bakteri asam laktat yang ditemukan pada kefir dan biji kefir

No	Spesies	Referensi
1	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011; Gao <i>et al.</i> , 2012; Vardjan <i>et al.</i> , 2013; Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014; Garofalo <i>et al.</i> , 2015; Korsak <i>et al.</i> , 2015
2	<i>L. kefir</i>	Magalhães <i>et al.</i> , 2011; Gao <i>et al.</i> , 2012; Korsak <i>et al.</i> , 2015
3	<i>L. paracasei</i>	Magalhães <i>et al.</i> , 2011; Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014; Yusuf <i>et al.</i> , 2020
4	<i>L. parabuchneri</i>	Magalhães <i>et al.</i> , 2011; Dobson <i>et al.</i> , 2011; Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
5	<i>L. casei</i>	Magalhães <i>et al.</i> , 2011; Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
6	<i>L. delbrueckii</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
7	<i>L. helveticus</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011; Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
8	<i>L. brevis</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014; Yusuf <i>et al.</i> , 2020
9	<i>L. parakefir</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011
10	<i>L. plantarum</i>	Gao <i>et al.</i> , 2013a; Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
11	<i>L. satsumensis</i>	Leite <i>et al.</i> , 2012
12	<i>L. kalixensis</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
13	<i>L. diolivorans</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
14	<i>L. gallinarum</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
15	<i>L. acidophilus</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011; Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
16	<i>L. gasseri</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014;
17	<i>L. kefirgranum</i>	Vardjan <i>et al.</i> , 2013
18	<i>L. garvieae</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011
19	<i>L. sunkii</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014; Garofalo <i>et al.</i> , 2015
20	<i>L. crispatus</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014; Garofalo <i>et al.</i> , 2015
21	<i>L. otakiensis</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014; Garofalo <i>et al.</i> , 2015
22	<i>L. instestinalis</i>	Garofalo <i>et al.</i> , 2015
23	<i>L. amylovorus</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
24	<i>L. hilgardii</i>	Garofalo <i>et al.</i> , 2015
25	<i>L. johnsonii</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
26	<i>L. rhamnosus</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
27	<i>L. reuteri</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
28	<i>L. pentosus</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
29	<i>L. rossiae</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
30	<i>L. sakei</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
31	<i>L. rapi</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
32	<i>L. parafarraginis</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
33	<i>L. harbinensis</i>	Yusuf <i>et al.</i> , 2020
34	<i>L. fermentum</i>	Yusuf <i>et al.</i> , 2020
35	<i>Pediococcus claussenii</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
36	<i>P. damnosus</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
37	<i>P. halophilus</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014

38	<i>P. pentosaceus</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
39	<i>P. lolii</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
40	<i>P. acidilactici</i>	Sabir <i>et al.</i> , 2010
41	<i>P. dextrinicus</i>	Sabir <i>et al.</i> , 2010
42	<i>Lactococcus</i> sp	Gao <i>et al.</i> , 2012;Gao <i>et al.</i> , 2013a
43	<i>Lactococcus lactis</i>	Garofalo <i>et al.</i> , 2015
44	<i>Lactococcus cremoris</i>	Korsak <i>et al.</i> , 2015
45	<i>Lactococcus garvieae</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
46	<i>Leuconostoc</i> sp.	Leite <i>et al.</i> , 2012; Gao <i>et al.</i> , 2013a
47	<i>Leuconostoc lactis</i>	Gao <i>et al.</i> , 2012
48	<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	Gao <i>et al.</i> , 2012;Gao <i>et al.</i> , 2013a
49	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014;Korzak <i>et al.</i> , 2015
50	<i>L. pseudomesenteroides</i>	Gao <i>et al.</i> , 2012; Gao <i>et al.</i> , 2013a
51	<i>Streptococcus</i> sp	Garofalo <i>et al.</i> , 2015
52	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Garofalo <i>et al.</i> , 2015
53	<i>Bifidobacterium</i> sp	Dobson <i>et al.</i> , 2011
54	<i>B. breve</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011
55	<i>B. choerinum</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011
56	<i>B. longum</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011
57	<i>B. pseudolongum</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011
58	<i>B. bifidum</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
59	<i>Enterococcus</i> sp	Garofalo <i>et al.</i> , 2015
60	<i>E. durans</i>	Carasi <i>et al.</i> , 2014
61	<i>E. faecium</i>	Carasi <i>et al.</i> , 2014
62	<i>Oenococcus oeni</i>	Nalbantoglu <i>et al.</i> , 2014
63	<i>Weissella</i> sp	Gao <i>et al.</i> , 2012;Gao <i>et al.</i> , 2013a

Tabel 2. Senyawa Antimikroba dari BAL dan Mekanisme Kerjanya

Senyawa Antimikroba	Mekanisme Kerja	Spesies BAL
Diasetil	Menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dengan bereaksi pada protein pengikat arginin, sehingga mempengaruhi pemanfaatan arginin bakteri Gram negatif	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp <i>biovar diacetylactis</i>
Hidrogen Peroksida (H ₂ O ₂)	Efek antimikroba dari H ₂ O ₂ dapat terjadi akibat oksidasi gugus sulfhidril yang menyebabkan denaturasi sejumlah enzim, dan peroksidasi lipid membran sehingga permeabilitas membran meningkat	<i>Lactococcus lactis</i> dan <i>Enterococcus faecium</i>
Reuterin	Menghambat aktivitas enzim reduktase ribonukleotida bakteri patogen, sehingga menghambat replikasi DNA bakteri Patogen	<i>Lactobacillus reuteri</i>
Bakteriosin	Merusak permeabilitas membran sel sehingga menghambat produksi energi dan biosintesis protein	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> dan <i>Lactobacillus plantarum</i>
Asam Organik	Meningkatkan pH lingkungan dan mencegah kolonisasi bakteri patogen	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , dan <i>Lactobacillus plantarum</i>

Pembahasan

Bakteri asam laktat yang ditemukan pada kefir dan biji kefir

Mikroba di dalam kefir dapat berasal dari susu yang digunakan dalam fermentasi atau dari biji kefir (Marsh *et al.*, 2013). Mikroba yang terdapat di dalam kefir didominasi oleh bakteri asam laktat. Selain itu terdapat beberapa spesies bakteri asam asetat dan khamir (Magalhães *et al.*, 2011). Saat ini genus BAL yang umum ditemukan pada kefir berasal dari genus *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* dan *Leuconostoc*. Genus ini cenderung mendominasi populasi mikroba yang ada dalam kefir maupun pada biji kefir dengan spesies *Lactobacillus kefiranofaciens*, *L.*

kefiri, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. casei*, *L. brevis*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus* dan *Leuconostoc mesenteroides* terhitung antara 37 % sampai 90% dari total komunitas mikroba yang ada (Marsh *et al.*, 2013). Dalam dekade terakhir banyak penelitian terkait spesies BAL yang berhasil diisolasi dari kefir. Spesies BAL yang berhasil diisolasi dari kefir maupun biji kefir ditampilkan pada Tabel 1.

Komposisi mikroba pada kefir dapat bervariasi sesuai dengan asal biji kefir dan substrat yang digunakan dalam proses fermentasi, serta metode pemeliharaan kulturnya. Pada penelitian (Gao *et al.*, 2012), kefir asal Tibet dengan substrat susu sapi, yang diisolasi di Cina, didominasi oleh *Lactobacillus kefiri*, *L. plantarum*,

Lactococcus lactis dan *Leuconostoc lactis*. Selain itu, pada penelitian (Yusuf *et al.*, 2020) kefir asal Indonesia dengan substrat susu sapi dan biji kefir dari Bogor berhasil mengisolasi *Lactobacillus kefir*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, dan *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.

Berdasarkan hasil sekuensing gen 16S rRNA pada biji kefir dan susu kefir hasil fermentasi, diketahui bahwa biji kefir biasanya didominasi oleh 1 (*Lactobacillus*) atau 2 (*Lactobacillus* dan *Acetobacter*) genus bakteri dominan (Marsh *et al.*, 2013; Nalbantoglu *et al.*, 2014 ; Garofalo *et al.*, 2015; Korsak *et al.*, 2015). Spesies *Lactobacillus* yang umum ditemukan pada biji kefir adalah *L. kefiranofaciens*, *L. kefir*, dan *L. parakefir* (Dobson *et al.*, 2011 ; Leite *et al.*, 2012 ; Vardjan *et al.*, 2013 ; Nalbantoglu *et al.*, 2014 ; Garofalo *et al.*, 2015 ; Korsak *et al.*, 2015). Selain genus *Lactobacillus* ada banyak genus lain yang terdapat dalam biji kefir ini, namun jumlahnya hanya mewakili 10% saja dari komunitas mikroba pada biji kefir (Leite *et al.*, 2012; Marsh *et al.*, 2013 ; Nalbantoglu *et al.*, 2014 ; Garofalo *et al.*, 2015). Pada susu kefir hasil fermentasi dengan biji kefir, genus mikroba yang ada pada susu kefir relatif lebih bervariasi daripada pada biji kefir, dengan *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, dan *Acetobacter* menjadi yang paling melimpah (Marsh *et al.*, 2013; Korsak *et al.*, 2015). Variasi mikroba yang terdapat pada susu kefir dipengaruhi oleh asal biji kefir, substrat yang digunakan dalam proses fermentasi dan lama waktu fermentasi (Dobson *et al.*, 2011; Marsh *et al.*, 2013; Korsak *et al.*, 2015). Berdasarkan bahasan di atas BAL genus *Lactobacillus* banyak diisolasi dari minuman fermentasi kefir, namun tidak menutup kemungkinan BAL bentuk coccus ditemukan pada kefir.

seperti genus *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* dan *Leuconostoc*. Selain itu, dalam pembuatan susu kefir belum diteliti lebih lanjut terkait kultur spesies tertentu yang membentuk susu kefir secara konsisten.

Peran bakteri asam laktat sebagai kandidat probiotik dalam proses pembuatan kefir

Kefir merupakan minuman susu fermentasi dengan rasa asam, tekstur kental seperti krim, kadar alkohol rendah dan sedikit berkarbonasi yang dihasilkan melalui fermentasi biji kefir (Bourrie *et al.*, 2016). Proses fermentasi kefir melibatkan bakteri asam laktat *homolactic* dan *heterolactic* dalam memperbaiki cita rasa pada kefir (Bourrie *et al.*, 2016). Bakteri asam laktat *homolactic* akan memfermentasi laktosa menjadi asam piruvat, kemudian dengan bantuan NADH asam piruvat diubah menjadi asam laktat sebagai produk akhir fermentasi *homolactic*. Fermentasi *heterolactic* ditandai oleh terbentuknya produk tambahan seperti CO₂, etanol atau asam asetat. Bakteri asam laktat dalam pembuatan kefir berperan sebagai pemberi cita rasa dan aroma yang khas pada kefir dengan senyawa volatil dan non-volatil yang dihasilkan asam laktat, asam asetat, etanol dan CO₂ (Bintsis, 2018).

Spesies BAL yang berperan dalam proses fermentasi kefir diantaranya *Lactobacillus kefiranofaciens*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. brevis*, *Lactococcus lactis*, *Streptococcus durans*, *Pediococcus pentosaceus*, *P. acidilactici*, *P. dextrinicus* berperan dalam pembentukan asam laktat. *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus cremoris* berperan dalam pembentukan asam asetat. *Lactobacillus kefir*, *L. harbinensis*,

Leuconostoc mesenteroides berperan dalam pembentukan etanol. *Lactobacillus brevis*, *L. kefir* dan *Leuconostoc mesenteroides* berperan dalam pembentukan CO₂. Senyawa asam lain seperti piruvat, propionat, suksinat, fumarat, manitol disintesis oleh *Lactobacillus hilgardii*. Senyawa volatil seperti asetaldehida disintesis oleh *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus* dan *Streptococcus durans* (Farag *et al.*, 2020). Selain itu, tidak hanya BAL *heterolactic* yang memberi cita rasa sedikit beralkohol dan berkarbonasi pada kefir, tetapi beberapa spesies khamir paling banyak berperan dalam menghasilkan etanol dan CO₂. *Saccharomyces cerevisiae* salah satu khamir yang mampu mengubah laktosa menjadi etanol dengan bantuan enzim dan spesies khamir ini umum ditemukan pada kefir.

Bakteri asam laktat kandidat probiotik selain menghasilkan asam laktat dan etanol juga menghasilkan metabolit sekunder sebagai senyawa antimikroba seperti Diasetil, Hydrogen Peroksida, Reuterin dan Bakteriosin (Sanlibaba and Yalcin, 2015). Senyawa antimikroba yang dihasilkan BAL dapat memberikan efek menyehatkan bagi yang mengkonsumsinya (Yuniastuti, 2014). Diasetil merupakan senyawa perisa kimia penting dalam produk susu. Diasetil dapat disintesis oleh jalur metabolisme gula *homolactic* atau *heterolactic*. Bakteri asam laktat yang memanfaatkan sitrat dapat menghasilkan diasetil selama proses fermentasi susu. Diasetil umumnya menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dengan bereaksi pada protein pengikat arginin, sehingga mempengaruhi pemanfaatan arginin bakteri Gram negatif. Spesies BAL yang umum diketahui menghasilkan diasetil antara lain

Lactobacillus plantarum, *L. helveticus* *Leuconostoc mesenteroides* dan *Lactococcus lactis* subsp *biovar diacetylactis* (Singh, 2018).

Beberapa spesies BAL mampu menghasilkan hidrogen peroksida (H₂O₂). H₂O₂ diproduksi oleh BAL dengan adanya oksigen dan dapat menghambat bakteri patogen tanpa katalase. Efek antimikroba dari H₂O₂ dapat terjadi akibat oksidasi gugus sulfhidril yang menyebabkan denaturasi sejumlah enzim, dan dari peroksidasi lipid membran sehingga permeabilitas membran. *Lactococcus lactis* dan *Enterococcus faecium* dilaporkan menghasilkan H₂O₂ dengan efek antimikroba yang kuat (Yang *et al.*, 2019).

Reuterin merupakan metabolit sekunder yang terkait dengan metabolisme gliserol oleh *Lactobacillus reuteri*. Reuterin memiliki spektrum aktivitas yang luas dengan cara, menghambat replikasi DNA. Senyawa ini bersifat resisten terhadap enzim proteolitik dan lipolitik (Singh, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Helal *et al.*, (2016), reuterin menunjukkan aktivitas hambatan terhadap *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida* spp.

Selain reuterin, Bakteriosin juga banyak dilaporkan sebagai senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Bakteriosin merupakan peptida yang disintesis oleh ribosom atau senyawa yang dihasilkan melalui ekspresi gen (Prabhakar *et al.*, 2013). Bakteriosin disintesis selama fase eksponensial pertumbuhan BAL, dan memiliki sifat bakterisidal terhadap bakteri patogen Gram positif dan negatif. Bakteriosin memiliki spektrum yang luas terhadap bakteri target dan memiliki sifat pengikatan spesifik (Fauziah dkk., 2013). Target utama bakteriosin adalah membran sitoplasma sel mikroba patogen. Tahap

awal kerja bakteriosin adalah merusak permeabilitas membran dan menghilangkan *proton motive force* (PMF), sehingga menghambat produksi energi dan biosintesis protein (Prabhakar *et al.*, 2013). Mekanisme aktivitas bakterisidal dari bakteriosin adalah melalui kontak langsung pada membran sel bakteri patogen. Proses kontak ini mampu mengganggu potensial membran berupa destabilitas membran sitoplasma, sehingga sel menjadi tidak kuat. Ketidakstabilan membran berdampak pada terbentuknya lubang atau pori pada membran sel bakteri patogen, sehingga terjadi gangguan pada PMF. Hal ini selanjutnya berdampak pada terjadinya perubahan gradien potensial membran dan pelepasan molekul interseluler maupun masuknya substansi ekstraseluler (Prabhakar *et al.*, 2013). Peristiwa tersebut menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bakteri patogen atau bahkan menjadi penyebab kematian pada sel bakteri yang sensitif terhadap bakteriosin (Usmiati dkk., 2009). Bakteriosin yang disintesis oleh bakteri asam laktat antara lain Nisin yang dapat disintesis oleh *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* BS-10, Sakacin A yang dihasilkan oleh *Lactobacillus curvatus*, Pediosin PA-1 yang dihasilkan oleh *Pediococcus acidilactici* dan Plantaricin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* (Chikindas *et al.*, 2019).

Manfaat kesehatan kefir banyak dikaitkan dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa populasi bakteri probiotik dalam usus orang yang rutin mengkonsumsi kefir menjadi berlimpah, dan hal ini berkorelasi positif dengan tingkat kesehatan orang tersebut (Anandharaj and Sivasankari, 2014). Kefir saat ini merupakan minuman fermentasi susu yang dikenal sebagai sumber probiotik potensial dengan khasiat kesehatan yang

sangat menarik. Senyawa metabolit primer maupun sekunder yang dihasilkan oleh isolat BAL dalam fermentasi kefir banyak diklaim memberikan efek menyehatkan bagi manusia atau hewan yang mengkonsumsinya (Yuniastuti, 2014). Berdasarkan bahasan di atas dalam proses pembuatan kefir BAL lebih banyak berperan dalam menghasilkan asam-asam organik daripada menghasilkan etanol dan CO₂. Selain itu, dalam pembuatan kefir etanol dan CO₂ lebih banyak dihasilkan oleh khamir karena memiliki enzim invertase dan zymase yang mampu mengubah gula monosakarida maupun disakarida menjadi etanol dan CO₂ yang merupakan produk utama hasil fermentasinya. Bakteri asam laktat kandidat probiotik selain harus mampu bertahan pada saluran pencernaan, BAL kandidat probiotik juga harus mampu melakukan metabolisme dan menghasilkan senyawa antimikroba di dalam saluran pencernaan. Senyawa antimikroba yang dihasilkan BAL heterofermentatif lebih beragam dibandingkan dengan BAL homofermentatif.

Mekanisme bakteri asam laktat isolat kefir dalam mengatur keseimbangan mikroba saluran pencernaan

Saluran pencernaan orang yang sehat, terkandung 4 filum utama bakteri, yaitu Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria dan Proteobacteria, dan merupakan 91,1% bakteri yang terdapat di dalamnya (Lacob *et al.*, 2019). Bakteri-bakteri pada saluran pencernaan tersebut ada yang berpotensi sebagai patogen atau memberikan efek positif. Kelompok bakteri yang bermanfaat bagi saluran pencernaan dan memberi efek menyehatkan dikenal dengan probiotik.

Keseimbangan populasi antar mikroba penghuni saluran pencernaan harus selalu terjaga, supaya proses pencernaan dapat berlangsung secara normal dan akhirnya berperan dalam memberi efek menyehatkan bagi inangnya (Yuniastuti, 2014). Kelompok probiotik sudah dikaji dan berperan sangat nyata dalam menjaga keseimbangan populasi mikroba dalam saluran pencernaan, dengan cara menekan pertumbuhan patogen dengan berbagai mekanisme, seperti bersaing untuk menempel pada lapisan mukosa saluran pencernaan (Widiyaningsih, 2011). Selain itu, BAL juga dapat melepaskan senyawa antimikroba seperti Diasetil, H₂O₂, Reuterin, Bakteriosin atau menghasilkan asam-asam organik terutama asam lemak rantai pendek / *Short Chain Fatty Acid* (asam asetat, propionat, butirat) yang dapat mengubah kondisi lingkungan saluran pencernaan (Lacob *et al.*, 2019).

Ketidakeimbangan mikrobiota usus atau disbiosis, ditandai dengan penurunan jumlah bakteri penghasil asam organik (seperti SCFA), dan fenomena ini sering ditemukan pada pasien dengan penyakit radang usus, sindrom iritasi usus besar, obesitas, gangguan autoimun atau pada pasien kanker kolon (Jiamiao *et al.*, 2016). Asam lemak rantai pendek (SCFA) adalah asam lemak jenuh yang mudah menguap serta memiliki 1-6 atom karbon dalam rantai alifatik (David *et al.*, 2016). Asam lemak rantai pendek dibentuk melalui proses fermentasi bakteri (probiotik) dengan menggunakan serat makanan atau karbohidrat yang tidak dapat dicerna (prebiotik) di dalam usus besar (Kuczynska *et al.*, 2011). Asam lemak rantai pendek meliputi asam format, asetat, propionat, butirat, valerian, dan kaproat. Asam lemak rantai pendek yang paling umum dengan

komposisi sekitar 90 - 95% di dalam usus besar manusia adalah asam asetat, asam propionat dan asam butirat dengan rasio molar sebesar 3: 1: 1 (David *et al.*, 2016). Asam asetat yang merupakan komponen terbesar SCFA dapat diserap oleh hati dan berfungsi dalam sintesis kolesterol. Sementara itu, asam propionat yang dihasilkan di usus manusia terutama oleh Bacteroidetes dan Firmicutes, berperan dalam menghambat glukoneogenesis dan sintesis kolesterol di sel-sel hati. Asam propionat juga memiliki efek antibakteri, anti inflamasi serta berperan dalam melindungi usus manusia dari infeksi patogen. Asam butirat yang juga merupakan komponen dominan di dalam usus dan berperan dalam memberikan efek anti-inflamasi terkuat dari semua SCFA yang ada di dalam usus (Kuczynska *et al.*, 2011). Asam butirat juga dapat berperan sebagai sumber energi utama bagi sel epitel usus.

Beberapa peneliti seperti Yang *et al.*, (2019) melaporkan asam lemak rantai pendek (SCFA) memiliki efek yang sangat positif dalam menjaga keseimbangan mikroba saluran pencernaan dengan cara mencegah kolonisasi bakteri patogen pada epitel usus. Penelitian yang dilakukan oleh Fukuda *et al.*, (2011) berhasil mengungkap peran *Bifidobacterium longum* dalam menghasilkan asam asetat yang berfungsi dalam memberikan perlindungan pada usus tikus dari infeksi *Escherichia coli* O157: H7, dalam hal ini asam asetat berperan dalam menghambat translokasi Shiga toksin *E. coli* O157: H7 dari lumen usus ke darah.

Asam lemak rantai pendek lain seperti asam butirat, yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* dan *Bifidobacterium bifidum* juga dilaporkan berpotensi dalam mencegah dan untuk

pengobatan radang usus besar. Penelitian secara *invitro* yang dilakukan Suriasih dan Agung, (2009) menyebutkan bahwa *Lactobacillus fermentum* dan *Lactobacillus acidophilus* yang diisolasi dari kefir mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhii*, *Shigella flexiner* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Kehadiran asam lemak rantai pendek (SCFA), seperti asam asetat, asam propionat dan butirrat dalam jumlah yang cukup di dalam saluran pencernaan manusia berperan sangat signifikan dalam menjaga keseimbangan dan kesehatan saluran pencernaan inangnya (LeBlanc *et al.*, 2017). Asam lemak rantai pendek memainkan peran yang sangat penting dalam mengatur pH, meningkatkan penyerapan kalsium, zat besi, dan magnesium di dalam usus. Selain itu, asam-asam ini berperan dalam pemeliharaan struktur normal, integritas dan fungsi usus (Kuczynska *et al.*, 2011). Dalam bahasan ini mekanisme BAL dalam menjaga keseimbangan mikroba dengan cara menghasilkan senyawa antimikroba yang berperan untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen berlebih di usus. Selain itu, asam lemak rantai pendek yang dihasilkan BAL dapat berperan untuk mencegah kolonisasi bakteri patogen pada epitel usus dengan melapisi sel epitel usus dengan asam asetat, propionat dan butirrat.

Efek fungsional yang dapat dilakukan oleh bakteri asam laktat isolat kefir

Kefir mengandung banyak kultur bakteri asam laktat yang dapat berperan sebagai probiotik di dalam saluran pencernaan. Bakteri asam laktat banyak dilaporkan berpotensi meningkatkan kesehatan saluran pencernaan atau memberikan efek menguntungkan lain pada

kesehatan hewan atau manusia (Anandharaj and Sivasankari, 2014). Efek menguntungkan lain yang dilaporkan dapat dilakukan oleh BAL isolat kefir antara lain memberi perlindungan terhadap infeksi bakteri patogen, mengurangi kadar kolesterol, imunomodulator dan antioksidan (Slattery *et al.*, 2019). Penelitian terkait karakteristik kemampuan BAL isolat kefir dalam menghambat pertumbuhan dan menghambat toksik yang dikeluarkan bakteri patogen telah banyak dilakukan dalam beberapa dekade terakhir ini. Campuran BAL dan ragi isolat kefir (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus kefiri*, *Lactococcus lactis*, *Kluyveromyces marxianus* dan *Saccharomyces cerevisiae*) mampu mencegah diare dan enterokolitis yang dipicu oleh bakteri patogen *Clostridium difficile* pada model hamster (Bolla *et al.*, 2013). *Lactobacillus plantarum* isolat kefir dilaporkan mampu mengurangi aktivitas sitotoksik dari shiga toksin yang dilepaskan oleh *Escherichia coli* O157: H7. Selain itu spesies *Lactobacillus kefiranofaciens* juga mampu mencegah gejala infeksi EHEC, translokasi bakteri dan penetrasi shiga toksin yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* O157: H7 pada tikus. Pencegahan infeksi EHEC dapat terjadi karena pemberian suspensi *L. kefiranofaciens* sehingga meningkatkan sekresi IgA oleh mukosa usus tikus, sehingga tikus dapat tersembuhkan oleh EHEC. Respon IgA spesifik-patogen berafinitas tinggi yang bergantung pada sel T yang memainkan peran penting dalam perlindungan terhadap infeksi patogen (Strungnell and Wijburg, 2010).

Kombinasi mikrobiota kefir yang sangat kompleks, dan produk metabolisme yang ada dalam susu kefir, banyak dikaitkan dengan fungsi mengurangi kadar kolesterol (Bourrie *et al.*, 2016). Beberapa

penelitian secara *in-vivo* menunjukkan kemampuan isolat *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus kefir* dan *Lactobacillus acidophilus* yang diisolasi dari kefir berpengaruh baik dalam menurunkan kadar kolesterol yang beredar dalam plasma, kadar kolesterol di hati dengan cara mencegah penyerapan kolesterol dari usus halus. Kemampuan BAL isolat kefir terhadap penurunan kadar kolesterol diduga karena BAL dapat mengasimilasi kolesterol di dalam usus halus dan mendekongugasi garam empedu. Selain itu, asam lemak rantai pendek yang dihasilkan oleh *Lactobacillus* juga dapat menghambat sintesis kolesterol hepatic dan distribusi kolesterol di dalam plasma dan hati (Nuraida dkk., 2011).

Banyak penelitian mengenai manfaat kefir bagi kesehatan, khususnya sebagai imunomodulator. Fungsi imunomodulator adalah memperbaiki sistem imun dengan cara menstimulasi (imunostimulan) atau menekan reaksi imun yang abnormal (Wisudanti, 2017). Imunomodulator dibutuhkan terutama untuk kondisi dimana status sistem imun menurun, sehingga orang tersebut akan sangat rentan terhadap penyakit, yang disebabkan oleh, bakteri, fungi atau virus. Beberapa spesies BAL isolat kefir banyak dikaitkan kemampuannya sebagai imunomodulator. Pengobatan yang dilakukan dengan menggunakan supernatan *Lactobacillus kefiranofaciens* strains M1 terbukti meningkatkan regulasi berbagai sitokin pro-inflamasi di makrofag secara signifikan (Hong *et al.*, 2011). Penelitian lain juga melaporkan bahwa sejumlah gen *Lactobacillus kefiranofaciens* M1 dapat terekspresi sehingga meningkatkan respon imun, inang, mencegah peradangan, dan mencegah adhesi sel patogen pada saluran pencernaan inang (Hong *et al.*, 2011).

Selain sebagai imunomodulator isolat kefir juga memiliki manfaat sebagai antioksidan. Beberapa penelitian melaporkan bahwa *Lactobacillus plantarum* memiliki efek antioksidan sederhana, dengan cara meningkatkan aktivitas beberapa enzim yang berperan dalam katalisasi radikal bebas. Efek ini diperkirakan disebabkan, oleh eksopolisakarida (EPS) yang dihasilkan oleh BAL. Selain itu BAL dapat memproduksi asam organik dan senyawa fenol. Kadar asam laktat yang terus meningkat pada proses fermentasi mampu meningkatkan aktivitas antioksidan. Asam laktat pada susu fermentasi mengandung *ahidroxyacids* (AHA) yang berfungsi sebagai antioksidan. Peningkatan aktivitas antioksidan selain oleh asam laktat dapat disebabkan oleh metabolit sekunder hasil metabolisme bakteri. Bakteri probiotik menghasilkan senyawa antioksidan dalam bentuk vitamin C dan vitamin E. Aktivitas antioksidan yang tinggi dari EPS mengindikasikan bahwa EPS dapat dijadikan suplemen atau antioksidan alami yang menjanjikan untuk ditambahkan ke dalam makanan manusia (Chen *et al.*, 2015). Efek fungsional dari bahasan diatas kefir sangat baik bagi kesehatan terutama dalam mengatasi masalah kesehatan saluran pencernaan, akan tetapi apakah kefir ini baik untuk dikonsumsi bagi balita atau orang tua usia diatas 70 tahun, dalam hal ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait efek negatif yang mungkin dapat terjadi apabila balita atau orang lanjut usia mengkonsumsi kefir.

KESIMPULAN

Berdasarkan penjabaran telaah pustaka yang dilakukan pada tulisan ini, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Kefir sebagai minuman fermentasi susu potensial ditemukan sebanyak 63 spesies BAL yang telah berhasil diisolasi dalam dekade terakhir ini. Bakteri asam laktat tersebut didominasi oleh genus *Lactobacillus* (34 spesies). Genus lain, seperti *Pediococcus* (7 spesies), *Bifidobacterium* (6 spesies), *Leuconostoc* (5 spesies) dan *Lactococcus* (4 spesies) juga telah dilaporkan berhasil diisolasi dari Kefir.
2. Bakteri asam laktat dalam pembuatan kefir berperan dalam memfermentasi laktosa yang terdapat dalam susu menjadi asam laktat saja bila BAL tersebut termasuk kelompok BAL yang dapat melakukan proses *homolactic* fermentasi. Kelompok BAL *heterolactic* akan menghasilkan CO₂ dan etanol, selain asam laktat. Bakteri asam laktat juga berperan dalam menghasilkan metabolit sekunder (Diasetil, H₂O₂, Reuterin, Bakteriosin) yang berfungsi untuk menjaga kesehatan saluran pencernaan bagi yang mengkonsumsinya.
3. Mekanisme BAL dalam mengatur keseimbangan mikroba saluran pencernaan adalah dengan cara mengeluarkan senyawa-senyawa metabolit sekundernya yang berfungsi dalam menekan pertumbuhan patogen sehingga mencegah kolonisasi patogen pada epitel usus. Selain asam laktat, etanol, diasetil, H₂O₂, reuterin, bakteriosin, kehadiran asam lemak rantai pendek, seperti asam asetat, asam propionat dan butirrat dalam jumlah yang cukup berperan sangat penting dalam menekan pertumbuhan patogen melalui pengaturan pH usus, meningkatkan penyerapan kalsium, zat besi, dan magnesium di dalam usus. Selain itu, asam-asam ini berperan dalam

pemeliharaan struktur normal, integritas, dan fungsi usus.

4. Efek fungsional menguntungkan dari BAL yang diisolasi dari kefir antara lain memberi perlindungan dari infeksi bakteri patogen penyebab diare dan enterokolitis, mengurangi efek shiga toksin yang dilepaskan oleh *Escherichia coli* O157: H7, memperbaiki profil lipid darah, efek Imunomodulator, efek antioksidan, dan menstimulasi kekebalan tubuh.

DAFTAR PUSTAKA

- Anandharaj, M. and Sivasankari, B. 2014. Isolation of potential probiotic *Lactobacillus oris* HMI68 from mother's milk with cholesterol-reducing property. *J Biosci Bioeng.* 118(2):153-159.
- Bintsis, T. 2018. Lactic Acid Bacteria as Starter Cultures: an Update in Their Metabolism and Genetics. *AIMS Microbiol.* 4(4): 665–684.
- Bolla, P.A., Paula, C., Maria, D.L.A.B., Graciela, L.D.A. and Maria, D.L.A.S. 2013. Protective Effect Of a Mixture Of Kefir-Isolated Lactic Acid Bacteria and Yeasts in a Hamster Model Of *Clostridium difficile* Infection. 21(1) : 28-33.
- Bourrie, B.C.T., Benjamin, P. W. and Paul, D.C. 2016. The Microbiota and Health Promoting Characteristics of the Fermented Beverage Kefir. *Front Microbiol.* 7(1) : 647-664.
- Carasi, P., Claudine, J., David, R. and Elie, A.M. 2014. Safety and Potential Beneficial Properties of Enterococcus Strains Isolated from Kefir. *International Dairy Journal.* 39(1) : 193-200.
- Chen, Z., Junling, S., Xijuan, Y., Bo. N., Yang, L. and Zhongfu, W. 2015. Chemical and Physical Characteristics and Antioxidant

- Activities Of The Exopolysaccharide Produced By Tibetan Kefir Grains During Milk Fermentation. *Journal International Dairy* . 43(1) : 15-21.
- Chikindas, M.L., Richard, W., Djamel, D., Vladimir, A.C. and Leon M.T.D. 2019. Functions and Emerging Applications of Bacteriocins. *Curr Opin Biotechnol*. 49(1) : 23-28
- David, R.C., Patricia, R.M., Abelardo, M., Miguel, G., Clara, R.G. and Nuria, S. 2016. Intestinal Short Chain Fatty Acids and their Link with Diet and Human Health. *Front Microbiol*. 7(1): 1-9.
- Dobson, A., O'Sullivan, O., Cotter, P. D., Ross, P and Hill C. 2011. High-Throughput Sequence-Based Analysis Of The Bacterial Composition Of Kefir and An Associated Kefir Grain. *FEMS Microbiol*. 320(1):56–62.
- Farag, M.A., Sujan, A.J., Aida, A.E.W. and Hesham, R.E.S. 2020. The Many Faces of Kefir Fermented Dairy Products: Quality Characteristics, Flavour Chemistry, Nutritional Value, Health Benefits, and Safety. *Journal Nutrients*. 12(2) :346 – 358.
- Febrianti, A.N., I. W. Suardana., dan I. N. Suarsana., 2016. Ketahanan Bakteri Asam Laktat (BAL) Isolat 9A Hasil Isolasi dari Kolon Sapi Bali terhadap pH Rendah dan Natrium Deoksikolat (NaDC). *Indonesia Medicus Veterinus*. 5(5) : 415-421.
- Fukuda, S., Hidehiro, T., Koji, H., Kenshiro, O., Yumiko, N., Kazutoshi, Y., Toru, T., Julie, M.C., David, L.T., Tohru, S., Todd, D.T., Kikuji, I., Jun, K., Hidetoshi, M., Masahira, H. and Hiroshi, O. 2011. Bifidobacteria Can Protect From Enteropathogenic Infection Through Production Of Acetate. *Journal Nature*. 469(1) : 543-547.
- Gao, J., Fengying, G., Jie, H., Jianzhong, X., Qihe, C., Hui, R and Guoqing, He. 2013a. Metagenome Analysis Of Bacterial Diversity In Tibetan Kefir Grains. *Eur. Food Res. Technol*. 236(1): 549–556.
- Gao, J., Gu, F., Abdella, N. H., Ruan, H and He, G. 2012. Investigation On Culturable Microflora In Tibetan Kefir Grains From Different Areas Of China. *J. Food Sci*. 77(1):425–433.
- Garofalo, C., Osimani, A., Milanović, V., Aquilanti, L., De Filippis F., Stellato, G., Simone, D.M., Benedetta, T., Pietro, B., Danilo, E. and Francesca, C. 2015. Bacteria And Yeast Microbiota In Milk Kefir Grains From Different Italian Regions. *Journal Food Microbiology*. 49(1): 123–133.
- Helal, M.M., Hashem, A.M., Ghobashy, M.O.I. and Shalaby, A.S.G. 2016. Some Physiological And Biological Studies On Reuterin Production From *Lactobacillus reuteri*. *J. Probiotics Health*. 4(3) :1000156.
- Hillman, E., T. Yao., Lu, H. and Nakatsu, C.H. 2017. Microbial Ecology along the Gastrointestinal Tract. *Journal Microbes Environ*. 1(1) : 2 – 9.
- Hong, W.S., Yen, P.C., Ting, Y.D., Nung, H. and Ming, J.C. 2011. Effect of Heat-Inactivated Kefir-Isolated *Lactobacillus kefiranofaciens* M1 on Preventing an Allergic Airway Response in Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(1) : 9022-9033.
- Jiamiao, H., Shaoling, L., Baodong, Z. and Peter, C.K.C. 2016. Short-Chain Fatty Acids In Control of Energy Metabolism. *Journal Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 58(8) :1243–1249.

- Korsak, N., Taminiau, B., Leclercq M., Nezer C., Crevecoeur S., Ferauche C., Detry, E., Delcenserie, V. and Daube, G. 2015. Short Communication: Evaluation Of The Microbiota Of Kefir Samples Using Metagenetic Analysis Targeting The 16S And 26S Ribosomal DNA Fragments. *Journal Dairy Science*. 98(6): 3684–3689.
- Kuczynska, B., Wasilewska, A., Biczysko, M., Banasiewicz, T. and Drews, M. 2011. Short-Chain Fatty Acids - Mechanism Of Action, Potential Clinical Application and Dietary Recommendations. *Nowiny Lekarskie*. 80(4): 299–304.
- Lacob, S., Diana, G.L. and Luminita, M. 2019. Intestinal Microbiota as a Host Defense Mechanism to Infectious Threats. *Front Microbial*. 9(1) : 2-9.
- LeBlanc, J.G., Florian, C., Rebeca, M., Luis, G.B.H., Stephanie, C. and Philippe, L. 2017. Beneficial Effects On Host Energy Metabolism Of Short-Chain Fatty Acids and Vitamins Produced By Commensal and Probiotic Bacteria. *Microbial Cell Factories*. 16(1) :1–10.
- Leite, A. M. O., Mayo, B., Rachid, C. T. C. C., Peixoto, R. S., Silva, J. T., Paschoalin, V. M. F. and Delgado, S. 2012. Assessment of the microbial diversity of Brazilian kefir grains by PCR-DGGE and pyrosequencing analysis. *Food Microbiology*. 31(2):215-221.
- Magalhães, K.T., G.V.M. Pereira., C.R. Campos., G.D. Dragone. and R.F. Schwan. 2011. Brazilian Kefir : Structure, Microbial Communities and Chemical Composition. *Brazilian Journal of Microbiology*. 42(1): 693-702.
- Marsh, A. J., O’Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., Cotter, P. D. 2013. Sequencing-Based Analysis Of The Bacterial And Fungal Composition Of Kefir Grains and Milks From Multiple Sources. *PLOS ONE*. 8(7):1-11.
- Medjaoui, I., Bouabdellah, R., Malika, T., Fatima Z. Mahammi., Fatima, Z. Moghtit., Nadhira, M. and Semir B.S.G. 2016. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Human Milk and Newborn Feces. *Journal of Pure and Applied Microbiology*.10(4) :2613-2620.
- Nalbantoglu, U., Atilla, C., Haluk, D., Neslihan, A., Duran, U., Khalid, S and Handan, C. 2014. Metagenomic Analysis of The Microbial Community In Kefir Grains. *Food Microbiol*. 41(1): 42–51.
- Nuraida, L., Siti, W., Hana., dan Endang, P. 2011. Evaluasi In Vitro Terhadap Kemampuan Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Air Susu Ibu Untuk Mengasimilasi Kolesterol Dan Mendekongjugasi Garam Empedu. *Jurnal Teknol dan Industri pangan*. 22(1) : 46-52.
- Prabhakar, K.V., Indira, M., Abraham, P., Venkateswarulu, T.C. and John, B.D. 2013. Biosynthesis and Potential Applications of Bacteriocins. *Journal Of Pure and Applied Microbiology*. 7(4): 2
- Sabir, F., Yavuz, B., Cumhur, C. and Derya, O.D. 2010. Assessment of Potential Probiotic Properties of *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., and *Pediococcus* spp. Strains Isolated from Kefir. *Journal of food science*. 75(9) : 568-573.
- Sanlıbaba, P. and Yalçın, G. 2015. Antimicrobial Activity Of Lactic Acid Bacteria. *Journal of International Scientific Publications*. 3(1) : 451-457.
- Shewale, R. N., Pravin, D. S., Khedkar, C.D. and Ajay, S. 2014. Selection Criteria For Probiotics: A Review.

- International Journal of Probiotics and Prebiotics*. 9(1) : 17-22.
- Singh, V.P. 2018. Recent Approaches in Food Bio-Preservation-A Review. *Open Vet. Journal*. 8(1) : 104–111.
- Slattery, C., Paul, D.C., and Paul, W.O. 2019. Analysis of Health Benefits Conferred by *Lactobacillus* Species from Kefir. *Journal Nutrisi*. 11(6): 1252.
- Strungnell, R.A. and Wijburg, O.L.C. 2010. The Role Of Secretory Antibodies in Infection Immunity. *Nature Review Microbial*. 8(1) : 656-667.
- Suriasih, K. dan Agung, I.G.N. 2009. Karakteristik Senyawa Antimikroba yang Dihasilkan oleh Bakteri Asam Laktat Isolat Kefir dan ‘Biji’ Kefir. *Jurnal Agrotekno*. 15(2) : 1-20.
- Usmiati, S., Miskiyah, dan Rarah, R.A.M. 2009. Pengaruh Penggunaan Bakteriosin Dari *Lactobacillus* Sp. Galur SCG 1223 Terhadap Kualitas Mikrobiologi Daging Sapi Segar. *JITV*.14(2):150–166.
- Vardjan, T., Mohar, L.P., Rogelj, I and Canzek, M.A. 2013. Characterization and Stability of *Lactobacilli* and Yeast Microbiota in Kefir Grains. *J. Dairy Sci*. 96:2729–2736.
- Widiyaningsih, E.N. 2011. Peran Probiotik Untuk Kesehatan. *Jurnal Kesehatan*. 4(1): 14-20.
- Wisudanti, D.D. 2017. Efek Kefir terhadap Respons Imun Sukarelawan Sehat Secara In Vitro. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 3(2) : 28-34.
- Yang, H., Yiran, S., Rui, C., Ying, C. And Bing, G. 2019. The Impact Of Dietary Fiber and Probiotics In Infectious Diseases. *Journal Microbial Pathogen*. 140(1): 1-27.
- Yuniastuti, A. 2014. Peran Pangan Fungsional Dalam Meningkatkan Derajat Kesehatan. *Jurnal Unimus*. 1(1) : 7-9.
- Yusuf, D., Lilis, N., Ratih, D.H. and Dase, H. 2020. Lactic Acid Bacteria and Yeasts from Indonesian Kefir Grains and Their Growth Interaction. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*.22(1):44-49.