

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Siwalan (*Borassus flabellifer*)

Tanaman siwalan (*Borassus flabellifer* L.) merupakan jenis tanaman palem-paleman yang tumbuh melimpah di sepanjang Teluk Persia sampai Asia Tenggara. Di Indonesia tanaman ini memiliki beberapa nama lain, diantaranya lontar atau tal. Pohon ini terutama tumbuh di daerah-daerah kering. Tingginya sekitar 20-40 m dengan 30-40 tangkai bunga setiap pohonnya. Siwalan banyak tumbuh di sebelah timur pantai pulau Jawa, Madura, Bali, Nusa Tenggara Barat dan Nusa Tenggara Timur (Widjanarko, 2008).

Klasifikasi tanaman siwalan menurut Widjanarko (2008) adalah:

kingdom	: <i>Plantae</i>
divisio	: <i>Magnoliophyta</i>
klas	: <i>Liliopsida</i>
ordo	: <i>Arecales</i>
famili	: <i>Arecaceae</i>
genus	: <i>Borassus</i>
spesies	: <i>Borassus flabellifer</i> L.

Siwalan merupakan tanaman multi guna karena hampir semua komponennya dapat dimanfaatkan. Hasil utama tanaman ini adalah buah siwalan dan nira siwalan. Dua jenis hasil inilah yang menjadikan pohon siwalan terus berpotensi untuk diolah dan dikembangkan.

Nira segar atau yang lebih dikenal sebagai legen merupakan cairan yang keluar dari tandan bunga (mayang) pohon siwalan. Menurut Jayadi (1991), legen dapat menjadi bahan dasar pembuatan minuman nira, sirup nira dan gula siwalan serta tuak. Nira segar yang dibiarkan di ruang terbuka memiliki daya tahan setengah hari (Joseph, dkk. 1990).

Nira siwalan dapat diperoleh dengan cara penyadapan dari tangkai bunga pohonnya. Setiap hari tangkai bunga ini mampu menghasilkan 2 liter nira. Proses penyadapan dilakukan dengan melakukan pengirisan pada mayang setebal 3-5 cm dari ujung bunga, selanjutnya pengirisan dilakukan 2-3 mm setiap pagi dan sore (Davis and Johnson, 1987).



Gambar 2.1 Penyadapan Nira Siwalan (Anonymous, 2009)

Dalam keadaan segar, nira mempunyai rasa yang manis, berbau harum yang khas dan tidak berwarna. Nuraini dan Rosidi (1989) menambahkan bahwa rasa manis pada nira disebabkan oleh adanya kandungan gula yang cukup tinggi pada nira. Komposisi nira siwalan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 2.1 Komposisi Nira Siwalan

Karakteristik	Jumlah
Berat Jenis	1,07
Ph	6,7 – 6,9
Nitrogen (g/100 cc)	0,056
Protein (g/100 cc)	0,35
Total gula (g/100 cc)	10 – 15
Gula reduksi (g/100 cc)	0,96
Mineral sebagai abu (g/100 cc)	0,54
Kalsium	Sedikit
Fosfor (g/100 cc)	0,14
Besi (g/100 cc)	0,4
Vitamin C (mg/100 cc)	13,25
Vitamin B1 (IU)	3,9
Vitamin B kompleks	Diabaikan

Sumber : (David and Johnson, 1987)

Nira siwalan (legen) adalah cairan yang disadap dari bunga pohon siwalan, cairan ini mengandung gula antara 10 – 15 %. Gula yang terkandung dalam nira menunjang pertumbuhan aktif organisme-organisme fermentatif. Nira dapat diolah menjadi minuman ringan, maupun beralkohol, sirup dan gula aren. Menurut Jayadi (1991), legen dapat menjadi bahan dasar pembuatan minuman nira, sirup nira dan gula siwalan serta tuak. Legen (nira siwalan) yang disimpan



pada suhu kamar akan mengalami proses fermentasi atau peragian gula karena adanya proses enzimatik. Nira segar yang dibiarkan hanya akan dapat bertahan dalam waktu setengah hari (Josep, dkk. 1990).

2.2 Kefir

Kefir adalah salah satu produk susu fermentasi yang berasal dari daerah Kaukasus, yang dibuat dari susu yang telah dipasteurisasi dengan kombinasi fermentasi asam dan alkohol dari simbiosis antara bakteri asam laktat dan khamir. Kefir dibuat dengan menggunakan biji kefir yang bentuknya menyerupai bunga kol yang mengandung khamir dan bakteri (Spreer, 1998). Menurut Cagindi (2003), kefir dapat dibuat dari beberapa jenis susu antara lain susu sapi, susu kambing, santan (*coconut milk*), tajin (*rice milk*) dan sari kedelai (*soy milk*). Penalver (2004) menyatakan bahwa selain dari susu, kefir juga bisa dibuat dari bahan baku bukan susu yang biasa dikenal dengan water kefir.

Ada tiga macam kefir yaitu kefir susu, kefir air dan kombucha. Pada jenis kefir susu dan kefir air fermentasinya menggunakan biji kefir (*kefir grains*), tetapi biji kefir untuk kefir air berbeda dengan biji kefir yang digunakan pada kefir susu. Biji kefir air hampir *translucent* dan tidak padat seperti biji kefir susu (Penalver, 2004). Pada kefir berbahan baku ekstrak teh atau yang disebut kombucha fermentasinya menggunakan starter mikroba kombucha yang mengandung berbagai jenis bakteri asam asetat dan beberapa jenis khamir, dimana setiap akhir fermentasi selalu dihasilkan lapisan film yang tebal di bagian permukaan medium cair (Frank, 1995). Perbedaan biji kefir air, kefir susu dan kombucha dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Perbedaan Biji Kefir (Berurutan: Kefir Susu, Kefir Air, dan Kombucha)
(Anonymous, 2014) (Anonymous, 2011)

Menurut Rutgers *and* Ebing (1985), biji kefir berwarna keputih-putihan atau kekuning-kuningan, granula tidak teratur, ukurannya kurang lebih sebesar biji gandum dengan diameter 1 sampai 2 milimeter. Struktur biji kefir berlipat-lipat

pada permukaannya yang terbentuk dari penebalan berbagai mikroba dari biji kefir, serta akumulasi karbohidrat yang tidak larut, yang merupakan bagian terkecil dari matriks biji kefir. Kefir *grains* terdiri dari Bakteri Asam Laktat (BAL) dan khamir antara lain *Lactobacillus lactis* dan *Lactobacillus kefirgranum* yang berperan dalam pembentukan asam laktat, *Lactobacillus kefiranofaciens* penyebab terjadinya penggumpalan, *Leuconostoc* pembentuk diasetil dan *Candida kefir* pembentuk etanol dan CO₂ (Susilorini dan Sawitri, 2005). Biji kefir mengandung 24% polisakarida yang bersifat lengket (antara lain mengandung amilopektin) serta mikroba simbiotik yaitu khamir (*Saccharomyces kefir* dan *Torula kefir*), *Lactobacilli* (*Lactobacillus caucasicus*), *Leuconostocs* serta *Streptokoki laktat* (Rahman et al., 1992).

Gates (1998) menyatakan bahwa produk kefir mengandung mineral dan asam amino esensial yang berperan membantu pertumbuhan pemeliharaan tubuh. Protein diuraikan menjadi unsur-unsur sederhana sehingga lebih mudah dicerna dan dimanfaatkan oleh tubuh. Keuntungan bagi kesehatan tubuh adalah mikroflora dalam kefir memproduksi sejenis substansi antibiotik yang spesifik, membantu memperkuat sistem kekebalan tubuh dan meningkatkan efisiensi fungsi saluran pencernaan.

Bakteri asam laktat dalam kefir dapat menghambat pembentukan toksin bakteri pembentuk spora dalam usus besar. Susu hasil fermentasi direkomendasikan sebagai bahan pangan alami karena adanya keseimbangan antara vitamin dan zat pengatur metabolisme kolesterol, akan dapat meningkatkan daya cerna protein dan lemak serta meningkatkan daya guna beberapa kation (Padaga dan Purnomo, 1993). Perbaikan mikroflora usus dapat dilakukan melalui peningkatan mikroflora usus yang menguntungkan (bakteri asam laktat) karena kemampuannya dalam mensintesa vitamin-vitamin dan dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Komai and Nanno, 1992).

Kefir dapat memperbaiki proses pencernaan dengan menyediakan mikroorganisme yang diperlukan dalam proses pencernaan. Kefir memberikan nutrisi yang berkualitas tinggi dan seimbang yang diperlukan sebagai bahan untuk memperbaiki sel yang rusak, maupun untuk menjalankan fungsi tubuh secara seimbang sehingga organ tubuh dapat kembali berfungsi dengan normal. Kefir memiliki antibiotika alami yang dihasilkan mikroba (*human friendly/beneficial microflora*) serta derajat keasaman tinggi yang akan menekan pertumbuhan bakteri patogen (Ensminger, 1995).

Beberapa sumbangan yang diberikan bakteri dalam kefir antara lain *Streptococcus lactis* dapat menghidrolisis protein susu, meningkatkan daya cerna susu, memperbaiki pencernaan lambung, menghambat pertumbuhan mikroorganisme berbahaya, memproduksi *bakteriolysin*. *Streptococcus cremoris* sama seperti *S. lactis*, lebih tahan terhadap phages dibandingkan dengan *S. lactis* dan meningkatkan cita rasa kefir. *Lactobacillus plantarum* antagonis terhadap aktivitas *Listeria monocytogenes*, memproduksi *plantaricin bakteriocin* yang menghambat mikroorganisme pembusuk, mentoleransi konsentrasi garam empedu yang tinggi menempel pada mukosa usus. *Lactobacillus casei* membentuk koloni di saluran cerna, menempel pada mukosa usus, menciptakan lingkungan yang sesuai bagi keseimbangan mikrobial, membatasi pembusukan di usus sehingga dapat mengontrol produksi racun dan akibat berbahaya bagi organ vital dan sel tubuh, menghambat bakteri patogen, mengurangi efek laktosa intoleran (Ensminger, 1995).

Komponen dan komposisi kefir bervariasi, tergantung pada jenis mikroba starter, suhu, lama fermentasi serta bahan baku yang digunakan. Komposisi kefir dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2.2 Komposisi Kimia Kefir Menurut Codex Standars for Fermented Milks CODEX STAN 243-2003

Komponen	Jumlah
Asam Laktat (%)	Min 0,6
Alkohol (%)	0,5 – 2,5
Total BAL (cfu/g)	Min 10^7
pH	Maks. 4,6
Yeast (cfu/g)	Min. 10^4

Sumber : (Farnworth, 2005).

2.3 Mikroorganisme dalam Kefir

Menurut Kosikowski (1982), mikroflora penyusun biji kefir yang sering dijumpai antara lain *Saccharomyces kefir*, *Torula kefir*, *Lactobacillus caucassius*, *Leuconostoc* spp. dan *Lactic acid Streptococcus*. Yeast merupakan 5 – 10% dari seluruh total populasi mikroflora.

Mikroorganisme yang ada pada biji kefir susu dapat dilihat pada Tabel 2.3,.

Tabel 2.3 Mikroorganisme pada Biji Kefir Susu

<i>Lactobacilli</i>	<i>Cocci</i>	<i>Yeast</i>
<i>L. brevis</i>	<i>L. lactis</i> spp. <i>Lactis</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i>
<i>L. cellobiosus</i>	<i>L. lactis</i> sp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i>	<i>K. marxianus</i> sp. <i>bulgaricus</i>
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. lactis</i> sp. <i>cremoris</i>	<i>K. marxianus</i> sp. <i>marxianus</i>
<i>L. kefir</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>Saccharomyces florentinus</i>
<i>L. casei</i> spp. <i>alactosus</i>	<i>S. filant</i>	<i>S. glubosus</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>S. durands</i>	<i>S. unisporus</i>
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i>	<i>Leuc. mesenteroides</i> sp. <i>detranicum</i>	<i>S. carlsbergensis</i>
	<i>Leuc. mesenteroides</i> sp. <i>cremoris</i>	<i>Candida kefyri</i>
		<i>C. pseudotropicalis</i>
		<i>Torulasspora delbrueckii</i>

Sumber: Wood (1998)

2.3.1 Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat (BAL) secara fisiologi dikelompokkan sebagai bakteri gram positif, bentuk kokus atau batang yang tidak berspora dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. Secara umum, BAL terdiri dari empat genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, dan *Streptococcus* (Malaga dan Laga, 2005)

Menurut Yuguchi *et al.* (1992), bakteri asam laktat sebagai salah satu mikroflora normal manusia yang mempunyai peran yang menguntungkan bagi kesehatan manusia yaitu untuk mencegah infeksi usus yang diakibatkan oleh bakteri enterik patogen dan infeksi pada saluran urogenital, mencegah lactose-intolerance dan pertumbuhan bakteri indigenus pada saluran usus, untuk mengurangi penyakit kanker/tumor usus, kolesterol serum dan penyakit jantung, serta untuk menstimulasi sistem imun dan gerakan usus.

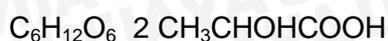
Pemanfaatan bakteri asam laktat pada pangan memiliki sifat biopreservatif, dimana dapat berdampak positif terhadap kualitas pangan yang bersangkutan (Ray, 1996). Sifat biopreservatif asam laktat yang dihasilkan ini, menurut Dugas (1998) akan menurunkan pH 7 menjadi pH 4. Pada pH 4 tersebut mikroba yang tidak tahan asam termasuk mikroba patogen tidak dapat tumbuh.

Bakteri asam laktat dibagi menjadi dua kelompok yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Jalur produksi asam laktat juga dibedakan menjadi dua yaitu bakteri homofermentatif dengan produk utama adalah asam laktat melalui glikolisis (jalur Embden –Meyerhof). Bakteri heterofermentatif memproduksi

asam laktat dan sejumlah etanol, asam asetat melalui jalur 6-phosphoglukanat/phosphoketolase (Supriyono, 2008)

→ - Fermentasi Homolaktat

Fermentasi 1 mol glukosa menjadi 2 mol asam laktat



Glukosa Asam Laktat

- Fermentasi Heterolaktat

→ Fermentasi 1 mol glukosa menghasilkan asam laktat, etanol dan karbondioksida.



Glukosa Asam laktat Etanol Karbondioksida

Bakteri asam laktat (BAL) memiliki ciri ketahanan terhadap rentang toleransi pH yang tinggi sampai rendah. Hal ini memungkinkan BAL mampu untuk bersaing dengan bakteri lain dalam proses fermentasi alami, sebagaimana BAL juga bisa bertahan pada peningkatan keasaman dari produksi asam organik (misalnya asam laktat) (Supriyono, 2008). Agar fermentasi yang menghasilkan asam laktat berjalan dengan baik, jumlah bakteri asam laktat yang diperlukan adalah lebih dari 10^6 cfu/ml (Battcock and Azam-Ali, 1998).

2.3.2 Khamir (Yeast)

Seperti juga bakteri, khamir juga mempunyai efek yang menguntungkan dan merugikan pada makanan. Khamir yang paling menguntungkan dan cocok untuk fermentasi adalah dari famili *Saccharomyces*, terutama *S. cerevisiae*. Khamir adalah organisme uniseluler yang bereproduksi secara aseksual dengan sporangium. Khamir berperan penting dalam industri pangan dengan memproduksi enzim yang membantu terjadinya reaksi kimia seperti pembentukan alkohol dan gula invert. Khamir telah diketahui mempunyai peran yang penting pada fermentasi, dimana mereka dapat menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan mikroba lain seperti asam amino dan vitamin, mengkondisikan pH, memproduksi etanol dan CO₂ (Battcock and Azam-Ali, 1998).

Hanya sedikit jenis khamir yang berperan dalam fermentasi makanan. Diantara khamir yang digunakan dalam fermentasi makanan adalah khamir dari famili *Ascomycetous*, khamir dari genus *Candida* dan genus *Saccharomyces cerevisiae*. Sebagian besar khamir memerlukan oksigen untuk pertumbuhannya,

dengan mengontrol oksigen, pertumbuhan khamir dapat dikendalikan. Selain oksigen, substrat utama dari khamir adalah gula. Khamir menghasilkan etil alkohol dan karbondioksida dari gula sederhana seperti glukosa dan fruktosa. Khamir biasanya sangat toleran terhadap asam dan dapat tumbuh pada pH 4 – 4,5, selain itu rentang suhu optimum 20°C – 30° C. Reaksi perubahan glukosa menjadi alkohol dan karbondioksida adalah sebagai berikut (Supriyono, 2008):

-
- Fermentasi 1 mol glukosa menghasilkan 2 mol etil alkohol dan 2 mol karbondioksida



Salah satu khamir yang terdapat pada kefir adalah *Candida kefir*. Bentukaseksual (teleomorph) dari *Candida kefir* adalah *Kluyveromyces marxianus* yang secara komersial digunakan untuk memproduksi enzim lactase sehingga khamir ini termasuk jenis yang dapat memfermentasi laktosa (Seyis and Aksoz, 2004). Populasi khamir yang diperlukan untuk inokulasi adalah 10⁶–10⁷cfu/ml (Battcock and Azam-Ali, 1998). Adapun khamir yang teridentifikasi pada kefir dapat dilihat pada Tabel 2.4

Tabel 2.4 Isolasi Mikrobiota Fungal yang Telah Teridentifikasi Pada *Kefir Grains*

Identifikasi bakteri versi terbaru	Identifikasi bakteri versi lampau
<i>Dekkera anomala/brettanomyces anomalus</i>	<i>Saccharomyces delbrueckii</i>
<i>Torulasporea delbrueckii</i>	<i>Candida collicula</i>
<i>Candida friedrichii</i>	<i>Torulopsis holmii</i>
<i>Candida humilllis</i>	<i>Candida holmii</i>
<i>Saccharomyces exiguus</i>	<i>Kluyveromyces marxianus var marxianus</i>
<i>Candida inconspicua</i>	<i>Candida lambica</i>
<i>Kluyveromyces marxianus/candida kefir</i>	<i>Kluyveromyces lactis</i>
<i>Pichia fermentans/candida firmetaria</i>	<i>Saccharomyces carlsbergensis</i>
<i>Issatchenkia orientalis/candida krusel</i>	
<i>Candida maris</i>	
<i>Cryptococcus hunicolus</i>	
<i>Debaryomyces hansenii/candida famata</i>	
<i>Debaryomyces (schwanniomyces) occidentalis</i>	
<i>Galactomyces geotrichum</i>	
<i>Kluyveromyces lactis var. Lactis</i>	
<i>Kluyveromyces lodderae</i>	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
<i>Saccharomyces pastorianus</i>	
<i>Saccharomyces unisporea</i>	
<i>Yarrowia lipolytica/candida lipolytica</i>	
<i>Zigosaccharomyces rouxii</i>	
<i>Saccharomyces turicensis sp. Nov</i>	

Sumber: Lopitz et al., 2006

2.4 Pasteurisasi

Pasteurisasi adalah pemanasan susu dengan suhu dan waktu tertentu. Pemanasan pada suhu pasteurisasi dimaksudkan untuk membunuh sebagian kuman patogenik yang ada dalam susu, dengan seminimum mungkin kehilangan gizinya dan mempertahankan semaksimal mungkin sifat fisik dan cita rasa susu segar (Purnomo dan Adiono, 1987). Metode pasteurisasi yang umum dilakukan pada susu ada dua cara, yaitu: *low temperature long time* (LTLT) yakni pasteurisasi pada suhu rendah 62,8°C selama 30 menit, sedangkan metode lain ialah *high temperature short time* (HTST), yakni pemanasan pada suhu tinggi 71,7°C selama 15 detik (Singh *et al.*, 1980; Fardiaz, 1992). Menurut Hobbs dan Roberts (1997) tujuan dari pasteurisasi adalah untuk membunuh bakteri patogen dan bakteri non patogen (pembusuk atau perusak), sekaligus untuk meningkatkan mutu susu. Susu pasteurisasi yang dipanaskan pada suhu 71-75°C selama 15 detik hanya membunuh 95% bakteri yang ada dalam susu, sehingga berpengaruh terhadap mutu susu pasteurisasi bila suhu penyimpanannya tidak sesuai (Fox dan Cameron, 1989).

Kecukupan panas yang digunakan pada proses pasteurisasi dan daya simpan produk terutama dipengaruhi oleh pH produk pangan. Pada produk pangan dengan keasaman rendah ($\text{pH} > 4,5$) tujuan utamanya adalah membunuh bakteri patogen, tetapi untuk produk pangan dengan keasaman tinggi ($\text{pH} < 4,5$), tujuan utama pasteurisasi adalah untuk meng inaktivasi enzim (Fellows, 2000).

2.5 Proses Pembuatan Kefir

Kefir diolah dengan menambahkan secara sengaja kefir grains ke dalam susu yang telah dipasteurisasi, diperam dan konsentrasi kefir grains akan menentukan lama pemeraman dan keasaman yang terbentuk, sehingga akan berpengaruh terhadap kualitas produk akhir yang dihasilkan. Bakteri asam laktat dalam kefir grains membutuhkan enzim yang dihasilkan khamir untuk pertumbuhan, sedangkan khamir menggunakan produk hasil fermentasi bakteri

asam laktat sebagai sumber karbon dan energi sehingga BAL dan khamir dapat tumbuh dengan perbandingan yang seimbang (Kosikowski, 1982). Penambahan kefir grains 30 gram per liter susu dan lama pemeraman 24 jam pada suhu ruang menghasilkan kefir dengan kualitas yang sesuai dengan standar susu fermentasi.

Sedangkan pembuatan kefir air yaitu bahan berupa air mineral (bisa juga menggunakan air buah, air kelapa, dll) dipasteurisasi kemudian didinginkan sampai 31 – 32° C, kemudian ditambahkan biji kefir dan difermentasikan selama 24 – 48 jam pada suhu ruang. Setelah difermentasi, kefir disaring dan biji kefir bisa digunakan untuk membuat kefir air yang baru.

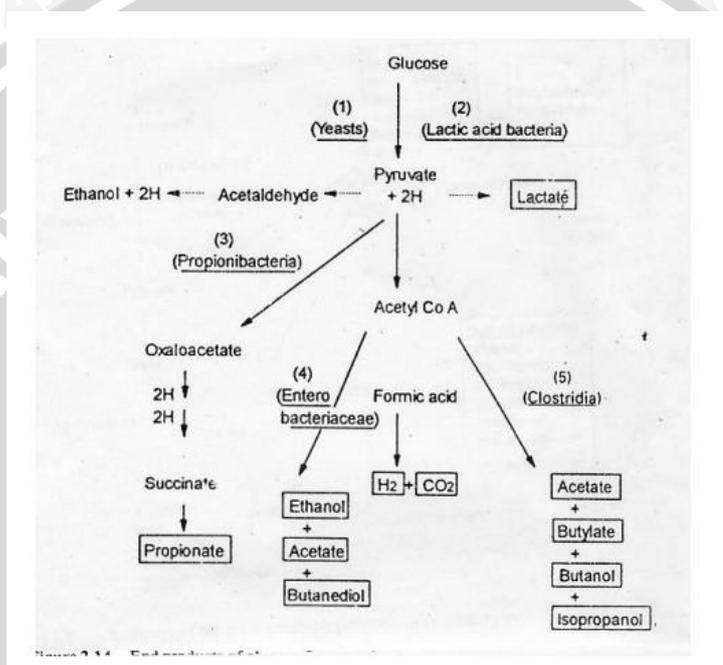
Penyimpanan kefir pada suhu rendah mutlak harus dilakukan dengan tujuan untuk menghambat aktivitas bakteri asam laktat berlanjut sehingga keasaman kefir relative stabil juga bertujuan menghambat kontaminasi bakteri patogen yang berasal dari lingkungan. Kosikowski (1982) menyatakan penyimpanan pada suhu 4 °C dapat membuat body dan tekstur kefir lebih stabil. Brewer (1994) menyatakan lama simpan kefir pada suhu rendah sekitar 10 hari, jika berlebihan maka kualitasnya akan menurun. Wijayanti (2002) menyatakan bahwa kefir yang dibuat dengan konsentrasi bibit kefir 3% dengan lama simpan 3 hari akan menghasilkan kefir dengan kualitas yang sesuai dengan standar susu fermentasi.

2.5 Fermentasi Kefir

Menurut Hidayat dkk. (2006), fermentasi adalah suatu proses metabolisme untuk merombak senyawa organik kompleks menjadi lebih sederhana. Menurut Bahar (2008), saat proses fermentasi kefir berlangsung, bakteri asam laktat akan menguraikan laktosa menjadi asam laktat. Asam laktat menyebabkan penurunan pH sehingga kefir bercitarasa masam. Disamping penguraian laktosa, terjadi juga penguraian protein susu menjadi komponen yang lebih kecil yaitu asam amino. Asam amino juga berkontribusi menurunkan pH. Dengan demikian, semakin lama proses fermentasi semakin masam pula cita rasa kefir.

Pada proses fermentasi kefir gula dipecah menjadi asam piruvat. Piruvat oleh khamir *Candida kefir* diubah menjadi Acetaldehida menjadi etanol, sedangkan oleh *Lactobacillus bulgaricus* diubah menjadi asam laktat, seperti

pada Gambar 2.3. Bakteri dan jamur serta beberapa macam khamir mampu memecah gula (glukosa) menjadi karbondioksida dan air. Khamir juga merupakan pengubah aldehyd menjadi alkohol yang paling efisien. Khamir *Saccharomyces ellipsoideus* adalah organisme yang penting dalam industri alkohol. Walaupun organisme lain juga mampu menghasilkan alkohol, tetapi alkohol yang dihasilkan masih tercampur dengan aldehyd, asam dan ester sehingga pemisahannya menjadi sulit (Rahman et al., (1992) dalam Kunaepah (2008)).

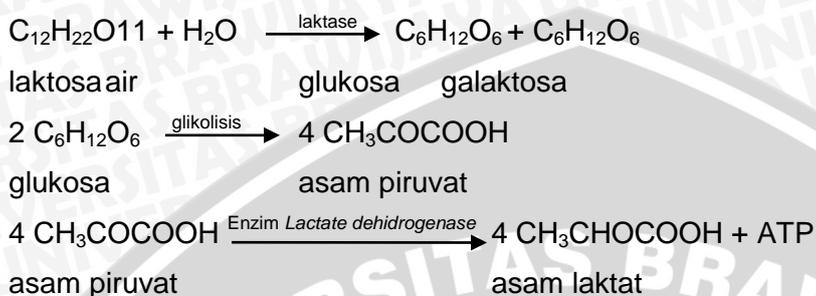


Gambar 2.3 Fermentasi Glukosa (Lee, 1996)

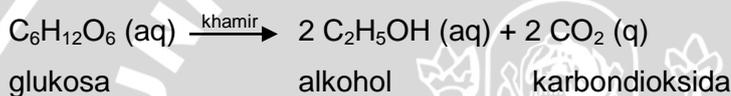
Fermentasi pada susu yang telah diinokulasi dengan biji kefir berlangsung kira-kira 24 jam. Selama waktu berlangsungnya fermentasi, bakteri asam laktat homofermentatif *Streptococci* tumbuh dengan cepat, ditandai dengan turunnya pH. Rendahnya pH membantu pertumbuhan *Lactobacilli*, akan tetapi menyebabkan jumlah *Streptococci* berkurang. Adanya khamir pada biji kefir, mendorong pertumbuhan bakteri *Streptococcus* yang menghasilkan aroma. Selama fermentasi, pertumbuhan bakteri asam laktat disokong oleh khamir dan bakteri asam asetat (Koroleva, 1982).

Mekanisme fermentasi pada kefir yaitu mikroorganisme dalam biji kefir akan menghidrolisa laktosa menjadi glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim laktase. Unit-unit monosakarida ini akan mengalami proses glikolisis

menjadi piruvat, yang kemudian direduksi oleh bakteri asam laktat dengan enzim *lactate dehidrogenase* menjadi asam laktat, sedangkan khamir akan mereduksi asam piruvat menjadi alkohol (Ferdiaz, 1997). Mekanisme perubahan laktosa menjadi asam laktat selama fermentasi dapat dilihat pada reaksi berikut (Kosikowski, 1982):



sedangkan, mekanisme perubahan glukosa menjadi alkohol dan CO₂ oleh khamir pada fermentasi kefir dapat dilihat pada reaksi berikut (Mead *et al*, 1996):



Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi kefir adalah:

a. Substrat (medium)

Medium fermentasi menyediakan semua zat gizi yang dibutuhkan oleh mikroba untuk memperoleh energi, pertumbuhan, bahan pembentuk sel dan biosintesis produk-produk metabolisme. Berbagai substrat dapat dipakai untuk melangsungkan fermentasi yaitu molases, sereal, pati, glukosa, sukrosa dan laktosa sebagai sumber karbon, sedangkan asam amino, protein, garam amonium, urea, nitrat dan sisa fermentasi sebagai sumber nitrogen. Disamping untuk memenuhi pertumbuhan sel dan pembentukan produk fermentasi, medium yang digunakan juga akan berpengaruh terhadap pH, pembentukan buih, potensial oksidasi dan morfologi mikroba (Rahman, 1989)

b. Biji Kefir

Penambahan biji kefir berkaitan dengan kecepatan fermentasi maupun karakteristik kefir yang dihasilkan. Jumlah biji kefir yang bisa ditambahkan ke dalam media fermentasi (susu) adalah 5% (Anfiteatro, 1999)

c. Suhu dan lama fermentasi

Suhu fermentasi sangat menentukan macam mikroba yang dominan selama fermentasi. *Leuconostoc* mempunyai suhu optimum 21° C,

sedangkan *Lactobacillus* mempunyai suhu optimum yang lebih tinggi. Pada suhu di atas 21° C *Leuconostoc* tidak dapat tumbuh sehingga tidak terbentuk asam asetat, akan tetapi pada suhu ini akan terbentuk asam laktat oleh *Lactobacillus* (Rahman dkk., 1992).

Biji kefir akan tumbuh dengan baik, jika diinkubasi pada ruangan dengan suhu sekitar 25° C selama 24 jam. Apabila menginginkan waktu fermentasi yang lebih lama, maka suhu inkubasi bisa diturunkan hingga 15° C (Anonymous, 2008).

d. pH substrat

setiap mikroorganisme mempunyai kisaran pH dimana masih memungkinkan untuk hidup dan tumbuh. Biji kefir dapat hidup pada kondisi pH<4 (Steinkraus, 1996).

e. Wadah/peralatan fermentasi

Wadah dan peralatan yang digunakan dalam pembuatan kefir tidak boleh terbuat dari bahan logam, karena kefir mempunyai sifat asam sehingga dapat bereaksi dengan logam. Wadah dan peralatan yang digunakan sebaiknya terbuat dari kaca atau plastik (Penalver, 2004).

