

**PENGARUH LAMA SIMPAN KEFIR SUSU KAMBING
TERHADAP AKTIVITAS ANTIMIKROBA PADA
MIKROBA PATOGEN**

SKRIPSI

Oleh :

Cindy Heryanti Kusuma Wardhani

NIM. 175050107111087



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2021**



**PENGARUH LAMA SIMPAN KEFIR SUSU KAMBING
TERHADAP AKTIVITAS ANTIMIKROBA PADA
MIKROBA PATOGEN**

SKRIPSI

Oleh :

Cindy Heryanti Kusuma Wardhani

NIM. 175050107111087

Skrripsi ini merupakan salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Peternakan pada Fakultas Peternakan Universitas
Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2021**

**PENGARUH LAMA SIMPAN KEFIR SUSU KAMBING
TERHADAP AKTIVITAS ANTIMIKROBA PADA
MIKROBA PATOGEN**

SKRIPSI

Oleh :

Cindy Heryanti Kusuma Wardhani

NIM. 175050107111087

Telah dinyatakan lulus dalam ujian Sarjana
Pada Hari/Tanggal : Jum'at/ 16 April 2021

Mengetahui:
Dekan Fakultas Peternakan
Universitas Brawijaya

Menyetujui:
Pembimbing Utama,



Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS., IPU.,

ASEAN Eng.

NIP. 196204031987011001

Tanggal :

Prof. Dr. Ir. Lilik Eka Radiati,

MS, IPU

NIP. 195908231986092001

Tanggal : 3 Mei 2021

THE EFFECT OF STORAGE TIME GOAT'S MILK KEFIR ON ANTIMICROBIAL ACTIVITY IN PATHOGENIC MICROBES

Cindy Heryanti Kusuma Wardhani¹⁾, and Lilik Eka Radiati²⁾

¹⁾Students of the Faculty of Animal Science, University of Brawijaya, Malang

²⁾Lecturer at the Faculty of Animal Science, University of Brawijaya, Malang

E-mail: cindyheryanti@gmail.com

ABSTRACT

This research was conducted from November until December 2020 at Teknologi Hasil Ternak Laboratory of Animal Science Faculty Brawijaya University. Analysis of antimicrobial activity test results was conducted in Biomedical Laboratory, University of Muhammadiyah Malang. The aim of this research was to determine the effect of storage time goat's milk kefir on antimicrobial activity on pathogenic microbes. A method for this research by using Completely Randomized Design (CRD) with 4 treatments and 4 replications. The data were analyzed using variance analysis (ANOVA), and followed by duncan multiple range test (DMRT). The data were analyzed using analysis of variance (ANOVA), and followed by Duncan Multiple Range Test (DMRT). The results showed that the effect of storage time treatment gave very significant difference ($P < 0.01$) effect on the bland zones of *Staphylococcus aureus* and gave significant

difference ($P < 0.05$) effect on the bland zones of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. Storage time of 7 days and 14 days gives the best results against the average bland zone in *Staphylococcus aureus*. Storage time of 0 days gives the best results to the average bland zone in *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* but the effect does not show any difference to the length in storage time of 7 days.

Keywords : Kefir, Goat's Milk, Antimicrobial Activity, Pathogenic Microbes

PENGARUH LAMA SIMPAN KEFIR SUSU KAMBING TERHADAP AKTIVITAS ANTIMIKROBA PADA MIKROBA PATOGEN

Cindy Heryanti Kusuma Wardhani¹⁾, dan Lilik Eka Radiati²⁾

¹⁾Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang

²⁾Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang

E-mail: cindyheryanti@gmail.com

RINGKASAN

Kefir merupakan produk minuman fermentasi sebagai hasil aktivitas bakteri asam laktat dan yeast dalam susu yang dibuat dengan cara menambahkan kefir grain secara langsung ke dalam susu baik susu sapi, kambing, maupun kerbau. Lama simpan merupakan penambahan proses fermentasi yang terjadi saat proses inkubasi susu dengan biji kefir berlangsung. Inkubasi pada proses fermentasi biasanya hanya dilakukan 1 sampai 2 hari. Proses lama simpan memperpanjang waktu fermentasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh lama simpan kefir susu kambing terhadap aktivitas antimikroba pada mikroba patogen. Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah 2,5 liter kefir susu kambing yang dibagi dalam 16 botol.

Penelitian ini dilakukan mulai 27 November hingga Desember 2020 di Laboratorium Teknologi Hasil Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Analisis hasil uji aktivitas antimikroba dilakukan di Laboratorium Biomedik, Universitas Muhammadiyah Malang. Metode yang digunakan adalah metode percobaan laboratorium dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4



ulangan yang dilakukan. Perlakuan terdiri dari P0 (Lama simpan hari ke 0), P1 (Lama simpan hari ke 7), P2 (Lama simpan hari ke 14), dan P3 (Lama simpan hari ke 21). Data dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA), dan diikuti oleh Duncan Multiple Range Test (DMRT).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama simpan 7 hari dan 14 hari memberikan hasil terbaik terhadap rataan zona hambat pada *Staphylococcus aureus*. Lama simpan 0 hari memberikan hasil terbaik terhadap rataan zona hambat pada *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* namun pengaruhnya tidak menunjukkan perbedaan terhadap lama simpan 7 hari. Lama simpan 7 hari secara keseluruhan memberikan hasil terbaik terhadap rataan zona hambat pada *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.



DAFTAR ISI

Isi	Halaman
RIWAYAT HIDUP	i
KATA PENGANTAR.....	ii
ABSTRACT	iv
RINGKASAN	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Kegunaan	4
1.5 Kerangka Pikir	6
1.6 Hipotesis	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Kefir.....	7
2.1.1 Pengertian Kefir	7
2.1.2 Nilai Gizi dan Khasiat Komponen Bioaktif Kefir untuk Kesehatan	8
2.1.3 Proses Pembuatan Kefir.....	9
2.1.4 Perbedaan Kefir dan <i>Yoghurt</i>	11
2.2 Fermentasi.....	12
2.2.1 Mikroba.....	13
2.2.2 Lama Fermentasi.....	14
2.3 Aktivitas Antimikroba	15
2.3.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	19
2.3.2 <i>Escherchia coli</i>	20



2.3.3 Salmonella typhi	23
BAB III MATERI DAN METODE KEGIATAN	25
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	25
3.2 Materi Penelitian	25
3.3 Metode Penelitian	12
3.3.1 Variable Pengamatan	26
3.3.2 Prosedur Penelitian	27
3.3.2.1 Langkah-langkah Pembuatan Kefir Susu Kambing	27
3.3.2.2 Prosedur Persiapan	27
3.3.2.3 Pelaksanaan Penelitian	28
3.3.3 Analisis Statistik	28
3.4 Batasan Istilah	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1 Analisis Aktivitas Antimikroba pada <i>Staphylococcus aureus</i>	31
4.2 Analisis Aktivitas Antimikroba pada <i>Escherichia coli</i>	34
4.3 Analisis Aktivitas Antimirkoba pada <i>Salmonella typhi</i>	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	48



DAFTAR TABEL

Tabel

Halaman

1.	Kandungan Kefir Susu Kambing	9
2.	Rataan Zona Hambat Aktivitas Antimikroba <i>Staphylococcus aureus</i>	31
3.	Rataan Zona Hambat Aktivitas Antimikroba <i>Escherichia coli</i>	34
4.	Rataan Zona Hambat Aktivitas Antimikroba <i>Salmonella typhi</i> ...	37



DAFTAR GAMBAR

Gambar

Halaman

1.	Skema Kerangka Pikir Penelitian.....	6
2.	Kurva Pertumbuhan Kultur Mikroba	14
3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	19
4.	<i>Escherichia coli</i>	21
5.	<i>Salmonella typhi</i>	23
6.	Langkah-langkah Pembuatan Kefir Susu Kambing	27

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

Halaman

1.	Prosedur Uji Aktivitas Antimikroba	48
2.	Data Analisis Statistik Zona Hambat <i>Staphylococcus aureus</i>	49
3.	Data Analisis Statistik Zona Hambat <i>Escherichia coli</i>	54
4.	Data Analisis Statistik Zona Hambat <i>Salmonella typhi</i>	58
5.	Dokumentasi Penelitian.....	62



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Seiring dengan peningkatan kesadaran manusia akan pentingnya hidup sehat maka terjadi pula peningkatan penelitian dan pemasaran produk-produk makanan dan minuman yang berpotensi untuk menjaga kesehatan tubuh. Produk makanan dan minuman yang berkhasiat lebih dikenal dengan istilah pangan fungsional. Salah satu produk pangan fungsional yang sedang populer di masyarakat adalah susu fermentasi. Kefir merupakan produk minuman fermentasi sebagai hasil aktivitas bakteri asam laktat dan yeast dalam susu yang dibuat dengan cara menambahkan kefir grain secara langsung ke dalam susu baik susu sapi, kambing, maupun kerbau. Asam laktat ini akan menyebabkan cita rasa asam pada kefir.

Kefir grain adalah suatu massa yang terdiri atas berbagai macam bakteri serta yeast yang tersusun dalam suatu matriks protein dan karbohidrat yang kompleks (Farnworth, 2008). Kefir memiliki kandungan air 89,5%, lemak 1,5%, protein 3,5%, abu 0,6%, laktosa 4,55%, dan pH 4,6% (Usmiati dan Abubakar, 2009). Fermentasi adalah sebuah proses aerob dan anaerob yang memproduksi macam macam metabolit primer dan sekunder. Seperti bakteri asam laktat yang mempunyai peran memproduksi zat anti mikroba yang dapat menghambat pertumbuhan patogen dan memperpanjang masa simpan produk (Achmad, Nofiani, dan Ardinarsih, 2013).

Perlakuan lama simpan berarti memperpanjang proses fermentasi pada suhu dingin. Senyawa antimikroba adalah senyawa kimiawi atau biologis yang dapat menghambat



pertumbuhan dan aktivitas mikroba patogen. Mikroba patogen banyak mengkontaminasi makanan dan menyebabkan penyakit, mikroba patogen juga menyebabkan bahaya karena memiliki kemampuan menginfeksi, menimbulkan penyakit dan merusak kualitas bahan pangan (Vasterlund and Ouwehand, 2004). Mikroba patogen merupakan salah satu penyebab penyakit pada manusia dan makhluk hidup lainnya misalnya *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* dan lain lain (Juariah, dkk. 2014).

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif (Jawetz, et al., 2006). *Staphylococcus aureus* merupakan mikroba patogen utama pada tubuh manusia yang dapat menginfeksi setiap jaringan maupun organ pada tubuh manusia dan dapat menyebabkan gejala infeksi yang khas seperti, peradangan, nekrosis, dan membentuk abses (Syarurachman, dkk. 2010).

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif dan bakteri yang bersifat pathogen. Bakteri *Escherichia coli* mempunyai peranan penting dalam tubuh manusia terutama didalam usus besar yaitu dapat menghasilkan kolisin yang dapat melindungi saluran pencernaan dari patogenik. *Escherichia coli* akan berubah menjadi pathogen apabila berpindah dari tempat habitat normalnya kebagian lain dalam inangnya. Misalnya, jika *E.coli* yang berada di dalam usus besar berpindah masuk kedalam saluran kandung kemih dapat menyebabkan sistitis. *Escherichia coli* juga dapat menyebabkan diare akibat melemahnya resistensi usus melemah, bakteri akan menyerang jaringan dinding usus (Melliawati, 2009). *Salmonella* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang bergerak yang khas memfermentasikan glukosa dan manosa tanpa membentuk gas tetapi tidak memfermentasikan laktosa dan sukrosa. *Salmonella* menghasilkan H₂S (Jawetz, et al., 2006).



Tujuan difermentasi adalah untuk mencegah terjadinya kerusakan, sehingga untuk mempertahankan kualitas susu fermentasi akibat proses fermentasi yang berlanjut pada penyimpanan dengan suhu tertentu dapat menyebabkan kerusakan pada tekstur susu. Penyimpanan susu fermentasi juga akan berpengaruh terhadap probiotik dan metabolit yang dihasilkannya selama proses fermentasi (Nurdin, 2014).

Kemampuan mikroba probiotik dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen dan keuntungan probiotik sebagai mikroba non-patogen yang berasal dari flora normal menekan efek samping dan toksisitas yang biasanya menjadi kendala pada pengobatan dengan antibiotik. Senyawa antimikroba dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba patogen. Mikroba patogen yang banyak mengkontaminasi makanan dan menyebabkan penyakit misalnya misalnya *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan lain – lain.

Mikroba patogen menyebabkan bahaya karena memiliki kemampuan menginfeksi, menimbulkan penyakit dan merusak kualitas bahan pangan (Vasterlund and Ouwehand, 2004). Fermentasi dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi mikroba, suhu dan lama simpan. Penelitian tentang lama simpan pada kefir masih terbatas sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh lama simpan kefir susu kambing ini ditinjau dari aktivitas antimikroba pada mikroba patogen.

1.2 Rumusan Masalah

Aktivitas mikroba dalam proses fermentasi dan lama simpan dapat menghasilkan senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba adalah senyawa kimiawi atau biologis yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri patogen. Bakteri patogen yang banyak mengkontaminasi makanan dan menyebabkan penyakit

misalnya *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Terbatasnya penelitian tentang lama simpan pada produk fermentasi, terutama pada aktivitas antimikroba. Sehingga rumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana pengaruh lama simpan kefir susu kambing yang berbeda terhadap aktivitas antimikroba pada mikroba patogen?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh lama simpan kefir susu kambing terhadap aktivitas antimikroba pada mikroba patogen.

1.4 Kegunaan

1. Memberi informasi dan pengetahuan tentang pengaruh lama simpan kefir susu kambing terhadap aktivitas antimikroba pada mikroba patogen.
2. Memberikan informasi diversifikasi terhadap dunia ilmu pengetahuan, teknologi dan industri tentang kandungan produk terhadap pengaruh lama simpan pada kefir susu kambing di suhu refrigerator.

1.5 Kerangka Penelitian

Susu kefir adalah produk fermentasi susu dengan menggunakan biji kefir sebagai *starter culture*. Kefir merupakan susu fermentasi dengan cara menginokulasi susu dengan suatu mikroba yang diketahui sebagai biakan pemula (*starter culture*) yaitu *kefir grains*. Kefir yang difermentasikan dengan menggunakan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, dengan ragi dalam proses fermentasi tersebut menghasilkan asam dan alkohol. Tahap

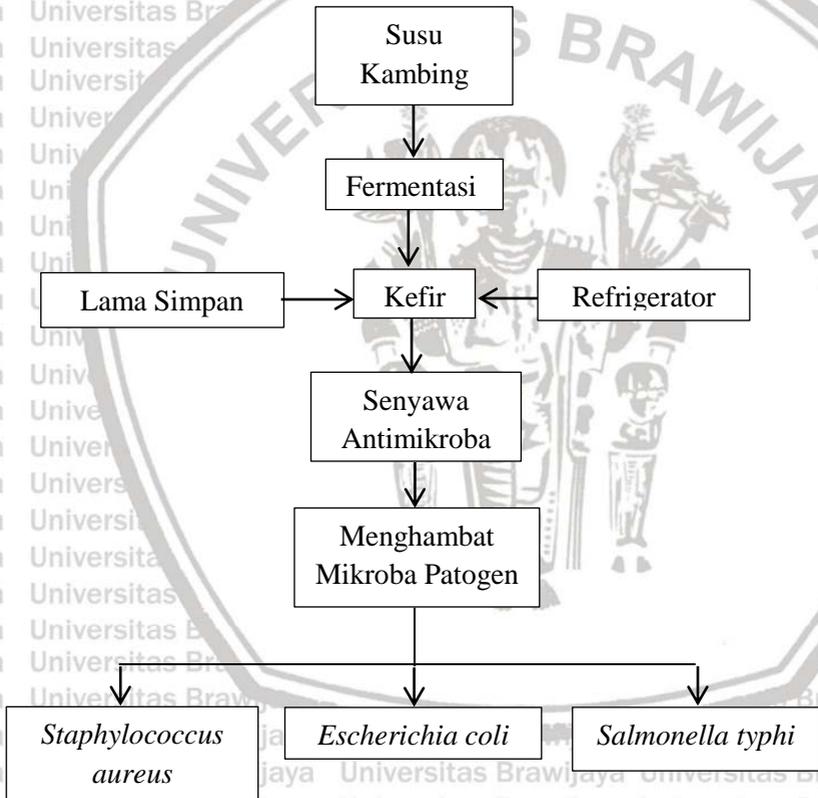


akhir proses dilakukan dalam kemasan tertutup untuk tujuan produksi karbonat (Albaarri dan Murti 2003).

Fermentasi dapat memproduksi macam-macam metabolit primer dan sekunder, seperti bakteri asam laktat yang mempunyai peran memproduksi zat anti mikroba yang dapat menghambat pertumbuhan patogen dan memperpanjang masa simpan produk (Achmad, dkk. 2013). Tujuan difermentasi adalah untuk mencegah terjadinya kerusakan, sehingga untuk mempertahankan kualitas susu fermentasi akibat proses fermentasi yang berlanjut pada penyimpanan dengan suhu tertentu dapat menyebabkan kerusakan pada tekstur susu. Penyimpanan susu fermentasi juga akan berpengaruh terhadap probiotik dan metabolit yang dihasilkannya selama proses fermentasi (Nurdin, 2014).

Perlakuan lama simpan berarti memperpanjang proses fermentasi pada suhu dingin. Senyawa antimikroba adalah senyawa kimiawi atau biologis yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas mikroba patogen. Mikroba patogen banyak mengkontaminasi makanan dan menyebabkan penyakit, mikroba patogen juga menyebabkan bahaya karena memiliki kemampuan menginfeksi, menimbulkan penyakit dan merusak kualitas bahan pangan (Vasterlund and Ouwehand, 2004).

Aktivitas mikroba dalam proses fermentasi dan lama simpan dapat menghasilkan senyawa antimikroba. Senyawa antimikroba adalah senyawa kimiawi atau biologis yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri patogen. Bakteri patogen yang banyak mengkontaminasi makanan dan menyebabkan penyakit. Mikroba patogen merupakan salah satu penyebab penyakit pada manusia dan makhluk hidup lainnya misalnya *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan lain lain (Juariah, dkk. 2014).



Gambar 1. Skema kerangka pikir penelitian

1.6 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah berbagai lama penyimpanan dapat memberikan perbedaan terhadap aktivitas antimikroba dalam menghambat mikroba uji *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kefir

2.1.1 Pengertian Kefir

Kefir adalah susu yang difermentasi dan berasal dari *Caucasus*. Kefir dibuat dengan menginokulasi susu sapi, kambing atau domba dengan biji kefir. Kefir tradisional dibuat dalam kantong kulit yang tergantung dekat pintu masuk/keluar dan kantong diketuk oleh setiap orang yang melintas untuk membantu susu dan biji kefir tercampur dengan baik. Kefir adalah produk susu yang difermentasikan dengan menggunakan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, dengan ragi dalam proses fermentasi tersebut menghasilkan asam dan alkohol. Tahap akhir proses dilakukan dalam kemasan tertutup untuk tujuan produksi karbonat. (Albaarri dan Murti 2003).

Kefir diperoleh melalui proses fermentasi susu pasteurisasi menggunakan starter berupa butir atau biji kefir (*kefir grain/kefir granule*), yaitu butiran-butiran putih atau krem dari kumpulan bakteri, antara lain *Streptococcus* sp., *Lactobacilli* dan beberapa jenis ragi/khamir nonpatogen. Bakteri berperan menghasilkan asam laktat dan komponen *flavor*, sedangkan ragi menghasilkan gas asam arang atau karbon dioksida dan sedikit alkohol. Itulah sebabnya rasa kefir di samping asam juga sedikit ada rasa alkohol dan soda, yang membuat rasa kefir lebih segar, dan kombinasi karbon dioksida dan alkohol menghasilkan buih yang menciptakan karakter mendesis pada produk (Usmiati dan Abubakar, 2009).



Fermentasi susu menjadi kefir menghasilkan senyawa metabolit yang bermanfaat bagi kesehatan yaitu eksopolisakarida dan peptida bioaktif. Kedua senyawa tersebut akan menstimulasi sistem kekebalan tubuh. Polisakarida yang terbentuk pada kefir juga berperan sebagai antitumor. Senyawa lain yang terdapat pada kefir adalah kandungan β -galactosidase yang baik untuk penderita laktose intoleran. Komponen antibakteri juga dihasilkan selama fermentasi kefir seperti asam organik (asam laktat dan asetat), karbondioksida, hidrogen peroksida, etanol, diasetil dan peptida (*bakteriocin*) yang tidak hanya berguna untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri pembusuk selama pengolahan dan penyimpanan makanan, tetapi dapat pula digunakan untuk pencegahan beberapa gangguan pencernaan dan infeksi (Farnworth, 2005).

2.1.2 Nilai Gizi dan Khasiat Komponen Bioaktif Kefir untuk Kesehatan

Kandungan zat gizi kefir hampir sama dengan susu yang digunakan sebagai bahan kefir namun memiliki berbagai kelebihan bila dibandingkan dengan susu segar. Kelebihan tersebut yaitu adanya 1) asam yang terbentuk dapat memperpanjang masa simpan, mencegah pertumbuhan mikroorganisme pembusuk sehingga mencegah pertumbuhan mikroorganisme patogen sehingga meningkatkan keamanan produk kefir (Fardiaz, 1987). 2) meningkatkan ketersediaan vitamineral (B_2 , B_{12} , asam folat, fosfor dan kalsium) yang baik untuk tubuh, 3) mengandung mineral dan asam amino esensial (tryptopan) yang berfungsi sebagai unsur pembangun, pemelihara, dan memperbaiki sel yang rusak, 4) fosfor dari kefir membantu karbohidrat, lemak dan protein dalam pembentukan sel serta untuk menghasilkan tenaga, 5) mengandung kalsium (Ca)

dan magnesium (Mg), Chromium (Cr) sebagai unsur mineral mikro esensial (Suroño, 2004).

Kefir mengandung sekitar 0,8% asam laktat dan 1% alkohol. Ditinjau dari kandungan gizi minuman ini hampir sama dengan susu asalnya kecuali pada laktosanya agak rendah (Harris dan Karmas, 1989). Beberapa efek kesehatan yang dapat diperoleh dari bakteri asam laktat sebagai probiotik antara lain dapat memperbaiki daya cerna laktosa, mengendalikan jumlah bakteri patogen dalam usus, meningkatkan daya tahan alami terhadap infeksi dalam usus, menurunkan serum kolesterol, menghambat tumor, antimutagenik dan antikarsinogenik, meningkatkan sistem imun, mencegah sembelit, memproduksi vitamin B dan bakteriosin (senyawa antimikroba) dan inaktivasi berbagai senyawa racun dan menghasilkan metabolit-metabolit seperti H_2O_2 dan asam laktat (Sari, 2007).

Tabel 1. Kandungan kefir susu kambing

Kandungan	Jumlah
Bahan Kering	14,32 %
Protein	3,91 %
Lemak	2,57 %
Laktosa	2,88 %

Sumber : Martharini dan Indratiningsih (2017)

2.1.3 Proses Pembuatan Kefir

Menurut Otles *et al.*, (2003), ada beberapa metode yang biasanya digunakan dalam pembuatan kefir yaitu proses secara tradisional, dan proses industri yang digunakan sekarang ini dengan teknik modern untuk menghasilkan kefir dengan karakteristik sama ditemukan pada proses tradisional. Kefir dapat



dibuat dari bermacam-macam tipe susu seperti susu kambing, sapi, domba, kelapa, beras, atau kedelai. Adapun macam-macam pilihan susu yang digunakan yaitu susu pasteurisasi, nonpasteurisasi, susu utuh, susu rendah lemak, susu skim dan susu tanpa lemak.

Secara tradisional proses pembuatan kefir dilakukan dengan penambahan stater bibit kefir ke dalam susu. Susu yang telah dipasteurisasi kemudian didinginkan sampai 20-25°C, kemudian stater bibit kefir ditambahkan 2-10% (biasanya 5%). Proses fermentasi berlangsung selama 18-24 jam pada suhu 20-25°C. Selama proses fermentasi dilakukan pengadukan 2-3 kali. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk memisahkan bibit kefir dari kefir yang sudah jadi. Bibit kefir disimpan pada temperatur dingin dan dapat digunakan untuk proses pembuatan kefir berikutnya. Sediaan kefir yang sudah jadi disimpan dalam suhu 4°C dan siap dikonsumsi (Karagozlu and Kavas, 2000).

Proses pembuatan kefir secara industri dan tradisional memiliki prinsip yang sama hanya berbeda pada proses dan tehnik pembuatannya. Langkah awal dengan memasukan 8% bahan susu kering dan dilakukan pemanasan pada suhu 90-95°C selama 5-10 menit. Lalu didinginkan hingga suhu 18-24°C dan dimasukkan stater bibit kefir 2-8% ke dalam wadah penyimpanan. Proses fermentasi dirubah dari 18 jam menjadi 24 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk memisahkan bibit kefir dari kefir yang sudah jadi dengan bantuan pompa. Kefir yang sudah jadi didistribusikan ke dalam botol didiamkan pada suhu 12-14°C atau 3-10°C selama 24 jam kemudian disimpan pada suhu 4°C (Koroleva, *et al.*, 1988).



2.1.4 Perbedaan Kefir dan Yoghurt

Kefir dan *yoghurt* merupakan susu fermentasi, tetapi keduanya memiliki perbedaan pada jenis kultur bakteri yang digunakan untuk fermentasi (Nihayah, 2015). Kefir mengandung beberapa strain bakteri yang tidak dapat ditemukan pada *yoghurt*, yaitu *Lactobacillus caucasus*, *Leuconostoc*, spesies *Acetobacter* dan spesies *Streptococcus*. Kefir juga mengandung khamir yang bermanfaat, seperti *Saccharomyces kefir* dan *Torula kefir* yang mendominasi, mengontrol dan menghilangkan khamir patogen yang destruktif dalam tubuh manusia (Buckle, *et al.*, 2010). *Yoghurt* adalah produk susu fermentasi berbentuk semi solid yang dihasilkan melalui proses fermentasi susu dengan menggunakan bakteri asam laktat. Melalui perubahan kimiawi yang terjadi selama proses fermentasi dihasilkan suatu produk yang mempunyai tekstur, aroma dan rasa yang khas. Selain itu juga mengandung nilai nutrisi yang lebih baik dibandingkan susu segar. Secara tradisional, pada pembuatan *yoghurt* digunakan kultur stater campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan perbandingan 1:1 (Hidayat dkk, 2006).

Kultur *yoghurt* mempunyai peran penting dalam proses asidifikasi dan fermentasi susu. Kualitas hasil akhir *yoghurt* sangat dipengaruhi oleh komposisi dan preparasi kultur stater. Komposisi stater harus terdiri dari bakteri termofilik dan mesofilik. Bakteri yang umum digunakan adalah *Lactobacillus bulgaricus* dengan suhu optimum 42-45°C dan *Streptococcus thermophilus* dengan suhu optimum 38 - 42°C (Hidayat dkk, 2006). Selama pertumbuhan terjadi simbiosis antara kedua jenis bakteri. Sedangkan kultur stater kefir mengandung mikroba yang terdiri dari bakteri dan khamir yang masing-masing berperan dalam pembentukan cita rasa dan struktur kefir. Bakteri

menyebabkan terjadinya asam sedangkan khamir menghasilkan alkohol dan CO₂ pada proses fermentasi. Hal ini yang membedakan rasa *yoghurt* dan kefir. Selain itu kefir biasanya mengandung lebih banyak lemak daripada *yoghurt*. Meskipun begitu, kefir mengandung lebih tinggi protein dan probiotik dibandingkan dengan *yoghurt*. Umumnya kefir mengandung 3 kali lebih banyak probiotik dibandingkan *yoghurt* (Nihayah, 2015). Perbedaan jenis bakteri tersebut tentunya akan berpengaruh terhadap manfaat yang diberikan. *Yoghurt* mengandung bakteri yang dapat mempertahankan kebersihan sistem pencernaan. Sedangkan kefir dapat membersihkan saluran usus secara langsung (Hidayat, dkk. 2006).

2.2 Fermentasi

Fermentasi dapat terjadi karena adanya aktivitas mikroba penyebab fermentasi pada substrat organik yang sesuai. Terjadinya fermentasi ini dapat menyebabkan perubahan sifat bahan pangan sebagai akibat dari pemecahan kandungan-kandungan bahan pangan (Winarno, dkk. 1980). Cara-cara pengawetan pangan ditujukan untuk menghambat atau membunuh mikroba. Sebaliknya fermentasi adalah suatu cara pengawetan yang mempergunakan mikroba tertentu untuk menghasilkan asam atau komponen lainnya yang dapat menghambat mikroba perusak lainnya. Fermentasi secara teknik dapat didefinisikan sebagai suatu proses oksidasi anaerob atau *partial anaerobic* dari karbohidrat dan menghasilkan alkohol serta beberapa asam. Namun banyak proses fermentasi yang menggunakan substrat protein dan lemak (Muchtadi, 1989).

Hasil dari fermentasi terutama tergantung pada berbagai faktor yaitu jenis bahan pangan (substrat), macam mikroba dan kondisi di sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroba tersebut. Mikroba yang bersifat fermentatif

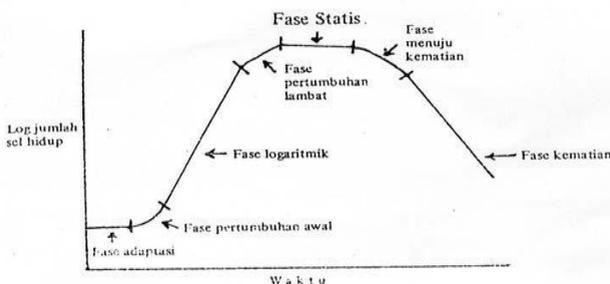
dapat mengubah karbohidrat dan turunan-turunannya terutama menjadi alkohol, asam dan CO₂. Mikroba proteolitik dapat memecah protein dan komponen-komponen nitrogen lainnya sehingga menghasilkan bau busuk yang tidak diinginkan sedangkan mikroba lipolitik akan memecah atau menghidrolisa lemak, fosfolipida dan turunannya dengan menghasilkan bau yang tengik (Winarno, dkk. 1980). Bila alkohol dan asam yang dihasilkan oleh mikroba fermentatif cukup tinggi maka pertumbuhan mikroba proteolitik dan lipolitik dapat dihambat. Prinsip fermentasi sebenarnya adalah mengaktifkan pertumbuhan dan metabolisme dari mikroba pembentuk alkohol dan asam, dan menekan pertumbuhan mikroba proteolitik dan lipolitik. Faktor-faktor yang mempengaruhi fermentasi yaitu jumlah mikroba, lama fermentasi, pH (keasaman), substrat (medium), suhu, alkohol, oksigen, garam dan air (Sulistyaningrum, 2008).

2.2.1 Mikroba

Fermentasi dilakukan dengan menggunakan kultur murni atau starter. Banyaknya mikroba (starter/inokulum) yang ditambahkan berkisar antara 3–10 % dari volume medium fermentasi. Penggunaan inokulum yang bervariasi ini dapat menyebabkan proses fermentasi dan mutu produk selalu berubah-ubah. Inokulum adalah kultur mikroba yang diinokulasikan ke dalam medium fermentasi pada saat kultur mikroba tersebut berada pada fase pertumbuhan eksponensial. Kriteria untuk kultur mikroba agar dapat digunakan sebagai inokulum dalam proses fermentasi adalah (a) sehat dan berada dalam keadaan aktif sehingga dapat mempersingkat fase adaptasi (b) tersedia cukup sehingga dapat menghasilkan inokulum dalam takaran yang optimum (c) berada dalam bentuk morfologi yang sesuai (d) bebas kontaminasi (e) dapat



mempertahankan kemampuannya membentuk produk (Rachman,1989). Menurut Fardiaz (1988), pertumbuhan mikroba di dalam suatu kultur mempunyai kurva seperti terlihat pada Gambar 2.



Sumber: Fardiaz (1988)

Gambar 2. Kurva pertumbuhan kultur mikroba

2.2.2. Lama Fermentasi

Menurut Buckle *et al.*, (2010), bila suatu sel mikroorganismen diinokulasikan pada media nutrisi agar, pertumbuhan yang terlihat mula-mula adalah suatu pembesaran ukuran, volume dan berat sel. Ketika ukurannya telah mencapai kira-kira dua kali dari besar sel normal, sel tersebut membelah dan menghasilkan dua sel. Sel-sel tersebut kemudian tumbuh dan membelah diri menghasilkan empat sel. Selama kondisi memungkinkan, pertumbuhan dan pembelahan sel berlangsung terus sampai sejumlah besar populasi sel terbentuk.

Waktu antara masing-masing pembelahan sel berbeda-beda tergantung dari spesies dan kondisi lingkungannya, tetapi untuk kebanyakan bakteri waktu ini berkisar antara 10 – 60 menit. Tipe pertumbuhan yang cepat ini disebut pertumbuhan logaritmik atau eksponensial karena bila log jumlah sel

digambarkan terhadap waktu dalam grafik akan menunjukkan garis lurus. Tetapi pada kenyataannya tipe pertumbuhan eksponensial ini tidak langsung terjadi pada saat sel dipindahkan ke medium pertumbuhan dan tidak terjadi secara terus menerus (Rachman, 1989).

2.3 Aktivitas Antimikroba

Komponen antimikroba adalah suatu komponen yang bersifat dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau kapang (bakteristatik atau fungistatik) atau membunuh bakteri atau kapang (bakterisidal atau fungisidal). Zat aktif yang terkandung dalam berbagai jenis ekstrak tumbuhan diketahui dapat menghambat beberapa mikroba patogen maupun perusak makanan. Zat aktif tersebut dapat berasal dari bagian tumbuhan seperti biji, buah, rimpang, batang, daun, dan umbi. Berbagai bahan pangan secara alami memiliki aktivitas antibakteri seperti misalnya komponen aktif yang terdapat dalam bawang putih mempunyai efek penghambatan terhadap beberapa mikroba patogen seperti *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, dan *Bacillus cereus* dan menghambat produksi toksin dari *Clostridium botulinum* tipe A dengan menurunkan produksi toksinnya sebanyak 3 log cycle (Ardiansyah and Indrayani, 2007).

Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain: (1) gangguan pada senyawa penyusun dinding sel, (2) peningkatan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel, (3) menginaktivasi enzim, dan (4) destruksi atau kerusakan fungsi material genetik. Kemampuan senyawa antimikroba untuk menghambat aktivitas pertumbuhan mikroba dalam sistem pangan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya temperatur, pH (keasaman),

ketersediaan oksigen, dan interaksi/sinergi antara beberapa faktor tersebut (Ardiansyah and Indrayani, 2007). Efek antagonistik atau antibakteri bakteri asam laktat ada dua kelompok besar yaitu berupa metabolit primer yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat seperti asam laktat, CO₂, diasetil, asetaldehida dan hidrogen peroksida dan bakteriosin suatu senyawa protein yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri sejenis (Surono, 2004).

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 *bakteriocin*. *Streptococcus cremoris* sama seperti *S. lactis*, lebih tahan terhadap phages dibandingkan dengan *S. lactis* dan meningkatkan citarasa 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



keselimbangan 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).

Antibakteri merupakan suatu zat atau komponen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau kapang (*bakteristatik* atau *fungistatik*) atau membunuh bakteri atau kapang (*bakterisidal* atau *fungisidal*) (Ardiansyah and Indrayani, 2007). Zat aktif yang terkandung dalam kefir susu kambing dapat menghambat beberapa mikroba patogen maupun perusak makanan seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*. Senyawa antimikroba sebagai hasil proses fermentasi adalah asam organik, hidrogen peroksida, acetaldehyd, diacetyl, karbokdioksida dan alkohol sebagai metabolit primer. Asam organik yang dihasilkan antara lain asam laktat. Dengan adanya asam laktat menyebabkan penurunan pH sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* yang optimum pada pH 6 – 7 (Surono, 2004).

Senyawa antibakteri yang dihasilkan melalui proses fermentasi sebagai metabolit sekunder antara lain bacteriocin. Metabolit sekunder adalah senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme tetapi bukan merupakan kebutuhan pokok fisiologis dari mikroorganisme tersebut. Senyawa antibakteri *bacteriocin* dihasilkan pada fase *decay* atau pada fase *stationer*, yaitu pada saat substrat mulai habis pada lama fermentasi tertentu. Saat substrat mulai habis, akan merangsang terbentuknya enzim-enzim yang berperan untuk pembentukan metabolit sekunder. Penelitian lain menyebutkan bahwa aktivitas antibakteri berupa bacteriocin yang dihasilkan oleh *Lactobacillus pentosus* ST712BZ optimum setelah lama fermentasi 24 jam dengan media pertumbuhan yang ditambahkan 20-40 gram/liter glukosa. Salah



satu kriteria pemilihan antibakteri untuk diaplikasikan dalam bahan pangan adalah keefektifan penghambatannya. Semakin kuat penghambatannya, semakin efektif (Todorov and Dicks, 2007).

Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antibakteri antara lain disebabkan oleh beberapa faktor antara lain:

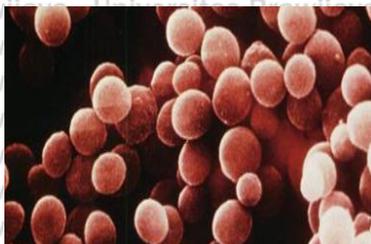
1. Mengganggu pembentukan dinding sel
Mekanisme ini disebabkan karena adanya akumulasi komponen limfofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel.
2. Bereaksi dengan membran sel
Mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma sehingga mengakibatkan kebocoran materi intraseluler.
3. Menginaktivasi enzim
Mekanisme yang terjadi menunjukkan kerja enzim terganggu dalam mempertahankan kelangsungan aktivitas mikroba, sehingga mengakibatkan enzim akan memerlukan energi dalam jumlah besar untuk aktivitasnya. Akibatnya energi untuk pertumbuhan menjadi berkurang, sehingga aktivitas mikroba menjadi terhambat dan inaktif apabila berlangsung lama.
4. Menginaktivasi fungsi material genetik
Merusak materi genetik sehingga mengganggu proses pembelahan sel untuk pembiakan.

Ada beberapa cara yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dalam produk makanan fermentasi antara lain dengan metode sumur agar dan metode difusi agar. Prinsip dari kedua metode tersebut adalah sama yaitu dengan melihat adanya

zona bening di sekitar sumur atau cakram. Semakin besar diameter zona bening di sekitar sumur atau cakram menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi (Iqbal, 2007).

2.3.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri. Berbagai derajat hemolisis disebabkan oleh *S. aureus* dan kadang-kadang oleh spesies stafilokokus lainnya. *Staphylococcus* memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen dari *Staphylococcus*. Asam teikoat mengandung aglutinogen dan N-asetilglukosamin (Jawetz, *et al.*, 2006).



Sumber: Todar (2008)

Gambar 3. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri aerob dan anaerob, fakultatif yang mampu menfermentasikan manitol dan menghasilkan enzim koagulase, hyalurodinase, fosfatase, protease dan lipase. *Staphylococcus aureus* mengandung lysostaphin yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah merah. Toksin yang dibentuk oleh *Staphylococcus aureus* adalah haemolysin alfa, beta, gamma delta dan apsiilon. Toksin lain ialah leukosidin, enterotoksin dan eksfoliatin. Enterotoksin dan eksoenzim dapat menyebabkan keracunan makanan terutama yang mempengaruhi saluran pencernaan. Leukosidin menyerang leukosit sehingga daya tahan tubuh akan menurun. Eksofoliatin merupakan toksin yang menyerang kulit dengan tanda-tanda kulit terkena luka bakar. Suhu optimum untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 35° – 37° C dengan suhu minimum 6,7° C dan suhu maksimum 45,4° C. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4,0 – 9,8 dengan pH optimum 7,0 – 7,5. Pertumbuhan pada pH 9,8 hanya mungkin bila substratnya mempunyai komposisi yang baik untuk pertumbuhannya. Pengecetan gram terlihat bentuk kokus ukurannya 0.8-1.0 mm dengan diameter 0.7-0.9 mikron. Bakteri ini tumbuh secara anaerobic fakultatif dengan membentuk kumpulan-kumpulan sel yang bentuknya seperti buah anggur. (Fardiaz, 1993).

2.3.2 *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan merupakan bakteri gram negatif, bentuk batang, memiliki ukuran 2,4 mikro 0,4 hingga 0,7 mikro, bergerak, tidak berspora, positif pada tes indol, glukosa, laktosa, sukrosa. Dinding sel bakteri gram negatif tersusun atas membran luar, peptidoglikan dan membran dalam. Peptidoglikan yang terkandung dalam bakteri gram



negatif memiliki struktur yang lebih kompleks dibandingkan gram positif. Membran luarnya terdiri dari lipid, liposakarida dan protein. Peptidoglikan berfungsi mencegah sel lisis, menyebabkan sel kaku dan memberi bentuk kepada sel Bakteri ini hidup pada tinja, dan dapat menyebabkan masalah kesehatan pada manusia, seperti diare, muntaber dan masalah pencernaan lainnya. *E.coli* banyak digunakan dalam teknologi rekayasa genetika (Purwoko, 2007).



Sumber: Todar (2008)

Gambar 4. *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif (Smith Keary, 1988). *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz *et al.*, 2006). Pada umumnya bakteri memerlukan kelembapan yang cukup tinggi sekitar 85% (Madigan and Martinko, 2005). *Escherichia coli* merupakan golongan bakteri mesofilik yaitu bakteri yang suhu pertumbuhannya optimumnya 15-45°C dan dapat hidup pada pH 5,5-8. *E. coli* akan tumbuh secara optimal pada suhu 27° C. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hawa, dkk. (2011), *E. coli* memiliki suhu maksimum pertumbuhan 40-45°C, di atas suhu tersebut bakteri akan mengalami inaktivasi (Gyles and Thoen, 1993).

Escherichia coli yang menyebabkan diare dapat dikelompokkan menjadi tiga kategori, yaitu enteropatogenik, enteroinvasif, dan enterotoksigenik:

1. *Escherichiacoli* enteropatogenik

Menyebabkan gastroenteritis akut pada bayi yang baru lahir sampai pada yang berumur dua tahun.

2. *Echerichia coli* enteroinfasif

Menyerang sel-sel epitel usus besar dan menyebabkan sindrom klinis yang mirip sidrom yang disebabkan oleh *Shingella*. Galur-galur bakteri ini dikenal sebagai enteroinvasif.

3. *Echerichia coli* enterotoksigenik

Menghasilkan salah satu atau kedua macam toksin yang berbeda (Purwoko, 2007).

Escherichia coli memiliki sejumlah antigen yaitu O, K, dan H. Antigen (serotipe) ini penting untuk membedakan strain *Escherichia coli* yang menyebabkan penyakit. Lebih dari 700 jenis antigen *Escherichia coli* yang teridentifikasi, hanya sebagian kecil bersifat patogen, misalnya strain O157:H7 (EPEC). Antigen O mengacu pada antigen somatik, H mengacu pada antigen flagellar.

Penyakit yang ditimbulkan oleh kuman *Escherichia coli* adalah infeksi saluran kemih mulai dari Sistitis sampai pielofritis, infeksi ini dapat terjadi akibat sumbatan saluran kemih karena adanya pembesaran prostat, batu, dan kehamilan. Infeksi piogenik seperti infeksi luka, peritoritis, kolesistis dan meningitis, epidemic diarrhea pada bayi dan noenatus. *Escherichia coli* adalah kuman oportunistis yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifat *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi primer pada usus, misalnya diare pada anak dan



travellers diarrhoe (diare musafir) seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain di luar usus (Bonang, 1992).

2.3.3 *Salmonella typhi*

Salmonella merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang bergerak yang khas memfermentasikan glukosa dan manosa tanpa membentuk gas tetapi tidak memfermentasikan laktosa dan sukrosa. *Salmonella* menghasilkan H₂S (Jawetz, *et al.*, 2006). Isolasi *Salmonella* pada media SSA dengan suhu 37°C maka koloni akan tampak cembung, transparan, bercak hitam di bagian pusat, bakteri *Salmonella* akan mati pada suhu 60°C selama 15-20 menit (Nugraha, dkk. 2012).



Sumber: Todar (2008)

Gambar 5. *Salmonella typhi*

Taksonomi *Salmonella typhi* memiliki beberapa tingkatan, yang pertama yaitu super kingdom yang masuk pada kelompok *Bacteria*, kemudian pada tingkatan Phylum masuk pada kelompok *Proteobacteria*, class *Gammaproteobacteria*, ordo *Enterobacteriales*, family *Enterobacteraceae*, genus *Salmonella*, Species *Enterica*, subspecies *Enterica*, dan yang terakhir masuk ke dalam serovar *Typhi* (Jaroni, 2014).

Bakteri *Salmonella typhi* bersifat patogen dapat menginfeksi manusia dan hewan di alam bebas *Salmonella typhi* dapat tahan hidup lama dalam air tanah atau pada bahan makanan. Dalam feses di luar tubuh manusia tahan hidup 1 - 2 bulan. Dalam air susu dapat berkembang biak dan hidup lebih lama, hal ini dikarenakan didalam itu terdapat protein lemak dan gula yang merupakan substrat saprofit (Monica, dkk. 2013). *Salmonella thypi* merupakan bakteri bentuk batang gram negatif , yang tidak memiliki spora, bergerak dengan flagel peritrik, bersifat intraseluler fakultatif dan anaerob fakultatif. Ukurannya berkisar 0,7-1,5 X 2-5 µm, memiliki antigen somatic (O), antigen flagel (H) dengan 2 fase dan antigen kapsul (Vi) (Cita, 2011).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya untuk pembuatan Kefir, proses lama simpan dan pengujian aktivitas antimikroba dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Universitas Muhammadiyah Malang dengan menggunakan metode difusi cakram. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan November sampai Desember 2020.

3.2 Materi Penelitian

Materi dalam penelitian ini yaitu susu kambing segar dari peternakan Ibu Yuyun, Sumberejo, Batu. Peralatan yang digunakan dalam pembuatan kefir susu kambing adalah botol plastik, wadah, pengaduk penyaring, gelas ukur, timbangan analitik dan sendok.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian ini adalah metode percobaan dengan Rancangan Acak Lengkap RAL 4 perlakuan dan 4 ulangan. Sehingga terdapat 16 sampel percobaan. Masing-masing sampel dengan metode dan cara yang sama. Perlakuan yang digunakan, yaitu:

P0: Lama simpan hari ke-0

P1: Lama simpan hari ke-7

P2: Lama simpan hari ke-14

P3: Lama simpan hari ke-21



3.3.1 Variable Pengamatan

Variabel pengamatan dalam penelitian ini yaitu pengaruh lama simpan kefir susu kambing terhadap aktivitas antimikroba pada mikroba patogen.

1. Pengujian Aktivitas Antimikroba (Fardiaz, 1987).
 - Analisis aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram. Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan terhadap Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) dan Bakteri Gram Negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*).
 - a. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (gram-positif). Media uji antimikroba yang digunakan *Staphylococcus aureus* yaitu Media Mueller Hinton Agar (MHA). Dimasukkan kultur mikroba uji ke dalam cawan petri. Dimasukkan kertas cakram yang telah dicelup dalam sampel. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, diamati daerah zona bening yang terbentuk dan diukur diameternya (Fardiaz, 1987).
 - b. *Escherichia coli*

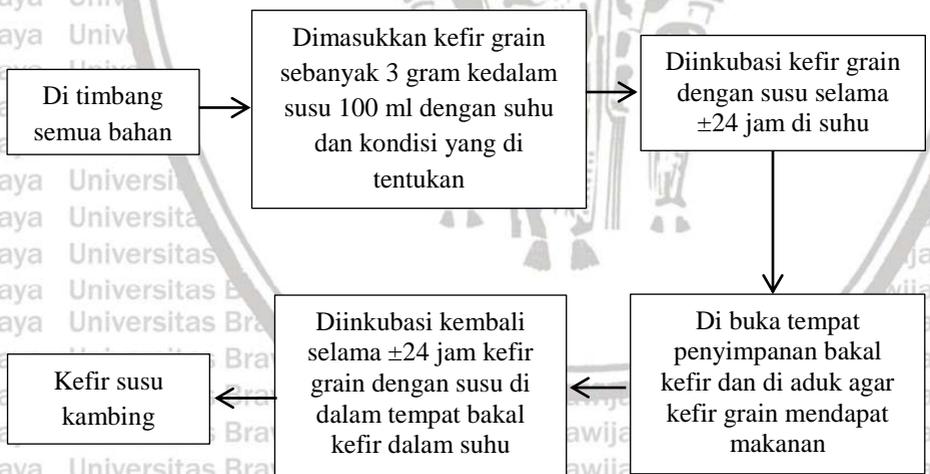
Escherichia coli (gram-negatif). Media uji antimikroba yang digunakan *Escherichia coli* yaitu Media Mueller Hinton Agar (MHA). Dimasukkan kultur mikroba uji ke dalam cawan petri. Dimasukkan kertas cakram yang telah dicelup dalam sampel. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, diamati daerah zona bening yang terbentuk dan diukur diameternya (Fardiaz, 1987).
 - c. *Salmonella typhi*

Salmonella typhi (gram-negatif). Media uji antimikroba yang digunakan *Salmonella typhi* yaitu Media Mueller Hinton Agar (MHA). Dimasukkan kultur

mikroba uji ke dalam cawan petri. Dimasukkan kertas cakram yang telah dicelup dalam sampel. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, diamati daerah zona bening yang terbentuk dan diukur diameternya (Fardiaz, 1987).

3.3.2 Prosedur Penelitian

3.3.2.1 Langkah-langkah pembuatan kefir susu kambing



Gambar 6. Langkah langkah pembuatan kefir susu kambing menurut Haryadi, dkk. (2013) yang telah dimodifikasi

3.3.2.2. Prosedur Persiapan

A. Persiapan alat dan bahan

1. Kefir diperoleh dari hasil pembuatan kefir menurut gambar 6. dan susu kambing diperoleh dari peternakan Ibu Yuyun, Sumberejo, Batu

2. Persiapan alat laboratorium untuk setiap uji pada laboratorium Biomedik, Universitas Muhammadiyah Malang.

3.3.2.3. Pelaksanaan Penelitian

A. Proses simpan kefir pada suhu refrigerator

1. Kefir yang masih tercampur dengan kefir grain diaduk perlahan.
2. Lalu dipindahkan dari tempat inkubasi suhu ruangan kedalam refrigerator dengan suhu 4°C.

B. Pemanenan kefir sebelum pengambilan sampel

1. Sterilisasi semua alat yaitu penyaring dan gelas ukur berlabel foodgrade dengan direndam dalam air panas 100°C.
2. Ambil botol sampel yang masih bercampur kefir grain.
3. Disaring kefir grain menggunakan penyaring lalu masukan kembali kedalam botol sampel.

C. Persiapan uji aktivitas antimikroba pada kefir susu kambing

1. Kefir dipanen dan diambil sampel pada penyimpanan hari ke 0, hari ke 7, hari ke 14, hari ke 21.
2. Pada setiap sampel akan dilakukan uji aktivitas antimikroba.

3.3.3. Analisis Statistik

Data penelitian yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis of Variant (ANOVA)* dari Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola satu arah dengan bantuan *Microsoft Excel*. Model matematika percobaan RAL yang digunakan yaitu:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$



Y_{ij} = Hasil pengamatan dari perlakuan ke 0 - 3 dan ulangan ke 1 - 4

μ = Rataan umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke 0 - 3

ϵ_{ij} = Galat percobaan dari perlakuan ke 0 - 3 pada ulangan ke 1 - 4

Apabila diperoleh hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$) atau sangat nyata ($P < 0,01$) maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda *Duncan* (Sudarwati, dkk. 2019). Adapun model matematika uji jarak berganda *Duncan* yaitu:

$$SE = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$$

Keterangan:

SE = *Standart Error*

KTG = *Kuadrat Tengah Galat*

R = *Banyaknya Ulangan*

3.4. Batasan Istilah

Batasan istilah yang di gunakan dalam penelitian ini yaitu

No	Istilah	Keterangan
1.	Kefir Grain	Starter yang terdiri atas beberapa mikroba yang memiliki kemampuan untuk mengubah susu menjadi susu fermentasi atau kefir. Biasanya terdiri atas <i>Lactobacillus acidophillus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. lactis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Acetobacter aceti</i> , dan <i>S. Cerevisiae</i> .
2.	Inkubasi	Pemeraman untuk memaksimalkan proses fermentasi kefir grain pada kefir sehingga susu dapat diubah menjadi kefir.
3.	Fermentasi	Fermentasi adalah sebuah proses aerob dan anaerob yang memproduksi macam macam substansial yang meningkatkan aktivitas mikroba, menurunkan pH, dan meningkatkan level asam.
4.	Senyawa Antimikroba	Senyawa kimiawi atau biologis yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri patogen.
5.	Mikroba Patogen	Mikroba patogen adalah bakeri jahat yang dapat menyebabkan penyakit pada tubuh manusia.
6.	Supernatan	Cairan bening hasil dari sentrifuge guna memisahkan supernatan dan pellet biasanya berada dibagian atas.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Aktivitas Antimikroba pada *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 °C). Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4,0 – 9,8 dengan pH optimum 7,0 – 7,5 (Jawetz, *et al.*, 2006). Menurut Yuwono (2005) bakteri ini termasuk golongan prokariotik (bersel tunggal) dengan struktur dengan struktur selnya terdiri dari dinding sel, membran sel, ribosom dan bahan genetik. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perlakuan lama simpan 0, 7, 14 dan 21 hari memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap aktivitas antimikroba pada *Staphylococcus aureus* dapat dilihat di Tabel 2.

Tabel. 2 Rataan zona hambat aktivitas antimikroba pada *Staphylococcus aureus*

Perlakuan	Zona Hambat (mm)
P0	2,23 \pm 0,17 ^a
P1	3,18 \pm 0,33 ^b
P2	3,14 \pm 0,42 ^b
P3	2,60 \pm 0,10 ^{ab}



Semakin besar zona hambat (zona bening) maka semakin besar pula kemampuan kefir susu kambing untuk menghambat pertumbuhan mikroba patogen. Kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* tertinggi ada pada lama simpan 7 dan 14 hari. Persentase aktivitas antimikroba terendah ada pada P0 dengan lama simpan 0 hari. P1 (Lama simpan pada hari ke 7) sebesar 3,18 mm dengan deviasi 0,33 kemudian P2 (Lama simpan pada hari ke 14) sebesar 3,14 mm dengan deviasi 0,42, dilanjutkan P3 (Lama simpan pada hari ke 21) sebesar 2,60 mm dengan deviasi 0,10, dan P0 (Lama simpan pada hari ke 0) sebesar 2,23 mm dengan deviasi 0,17. Perlakuan lama simpan 0, 7, 14 dan 21 hari pada suhu refrigerator memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap persentase aktivitas antimikroba pada *Staphylococcus aureus*.

Peningkatan atau penurunan rata-rata zona hambat seiring dengan peningkatan atau penurunan total bakteri asam laktat. P0 (Lama simpan 0 hari) bakteri asam laktat masih dalam fase adaptasi terhadap lingkungan penyimpanan dan sel masih mampu melakukan transport positif berupa nutrisi untuk pertumbuhan. Fase adaptasi merupakan fase saat mikroba menyesuaikan diri terhadap lingkungan baru dan sel-sel mulai membesar tetapi belum membelah diri (Fardiaz, 1987). P1 (Lama simpan 7 hari) bakteri asam laktat memasuki fase logaritmik yaitu fase saat bakteri membelah dengan cepat ditunjukkan dengan populasi bakteri asam laktat mulai meningkat. Ini disebabkan bakteri telah mampu beradaptasi dengan memanfaatkan sumber energi dari laktosa dan oligosakarida pada susu kambing. Hal ini didukung Viljoen (2001) yang menyatakan bahwa khamir (*yeast*) mampu memfermentasi laktosa dan memberikan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri asam laktat. P1 (Lama simpan 7 hari) dan P2 (Lama simpan 14 hari) memasuki fase stasioner yaitu



pertumbuhan populasi sel bakteri yang cenderung konstan. Hal ini disebabkan pada fase ini (stasioner) diduga BAL menghasilkan metabolit sekunder tertinggi untuk pertahanan diri. Kimura *et al.*, (2004) melaporkan bahwa hasil metabolit sekunder berupa *bakteriosin*.

P3 (Lama simpan 21 hari) terjadi penurunan rata-ran zona hambat disebabkan populasi bakteri asam laktat memasuki fase menuju kematian dari kurva pertumbuhan. Hal tersebut didukung oleh Fardiaz (1987) yang menyatakan bahwa fase menuju kematian merupakan fase saat medium kehabisan nutrisi dan populasi bakteri jumlahnya menurun. Disamping itu, terhambatnya pertumbuhan bakteri asam laktat disebabkan total asam yang tinggi (Lindawati, dkk. 2015). Terjadinya peningkatan total asam tertitrisasi ini mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan BAL. Hal tersebut sesuai dengan Ray (2001) yang menyatakan bahwa peningkatan asam ini dihasilkan tidak hanya dari asam laktat tetapi juga hasil dari pembentukan asam lemak rantai pendek dalam bentuk asam asetat, propionat, butirat, karbondioksida dan hidrogen lainnya selama proses fermentasi berlangsung.

Menurut Yulinery dan Nurhidayat (2012), kriteria kekuatan daya antimikroba terbagi menjadi empat kelompok yaitu sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10 mm dikategorikan kuat, dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Hasil penelitian jika dibandingkan dengan standar tersebut masuk kategori aktivitas antimikroba lemah.



4.2 Analisis Aktivitas Antimikroba pada *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif dan organisme uniseluler, prokariotik berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif (Smith Keary, 1988). *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz *et al.*, 2006). Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama simpan 0, 7, 14 dan 21 hari memberikan pengaruh nyata terhadap ($P < 0,05$) terhadap aktivitas antimikroba pada *Escherichia coli*. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba P0 (Lama simpan hari ke 0) memiliki rata-rata zona hambat tertinggi namun pengaruhnya tidak menunjukkan perbedaan terhadap P1 (Lama simpan hari ke 7) dan yang terendah adalah P3 (Lama simpan hari ke 21) dapat dilihat di Lampiran 3. Rataan zona hambat aktivitas antimikroba pada *Escherichia coli* dapat dilihat di Tabel 3.

Tabel. 3 Rataan zona hambat aktivitas antimikroba pada *Escherichia coli*

Perlakuan	Zona Hambat (mm)
P0	$3,32 \pm 0,74^b$
P1	$2,70 \pm 0,26^{ab}$
P2	$2,37 \pm 0,47^a$
P3	$2,09 \pm 0,19^a$

Semakin besar zona hambat (zona bening) maka semakin besar pula kemampuan kefir susu kambing untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tertinggi ada pada P0, yaitu perlakuan lama simpan pada hari ke 0, persentase aktivitas

antimikroba terendah ada pada P3, perlakuan lama simpan hari ke 21. P0 (Lama simpan pada hari ke 0) sebesar 3,32 mm dengan deviasi 0,74, kemudian P1 (Lama simpan pada hari ke 7) sebesar 2,70 mm dengan deviasi 0,26, kemudian P2 (Lama simpan pada hari ke 14) sebesar 2,37 mm dengan deviasi 0,47, dilanjutkan P3 (Lama simpan pada hari ke 21) sebesar 2,09 mm dengan deviasi 0,19. Perlakuan lama simpan pada suhu refrigerator memberikan pengaruh terhadap persentase aktivitas antimikroba pada *Escherichia coli*.

Lama simpan berpengaruh terhadap aktivitas antimikroba, karena semakin panjang masa simpan, maka bakteri asam laktat semakin pasif dan semakin sedikit jumlahnya, sehingga mempunyai kemampuan untuk memecah substrat semakin kecil. Lama simpan 0 hari memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* tertinggi, kemudian mengalami penurunan pada lama simpan 7 hari, 14 hari dan 21 hari. Lama simpan 21 hari, diduga substrat sudah mulai habis. Hal tersebut sesuai dengan Fardiaz (1987) yang menyatakan bahwa substrat mulai habis, sehingga bakteri *Lactobacillus bulgaricus* yang dipakai dalam fermentasi kefir susu kambing, memecah substrat yang ada dalam tubuhnya yaitu dalam bentuk aktivitas antimikroba (*bacteriocin*). Menurut Indah (2017) lama penyimpanan akan menurunkan total bakteri asam laktat, dikarenakan hasil dari asam laktat yang meningkat menyebabkan pH menurun, namun bakteri asam laktat itu sendiri juga tidak tahan dengan kondisi yang terlalu asam, sehingga bakteri akan mati/lisis.

Proses penyimpanan di lakukan pada suhu refrigerator yaitu 3-5 °C. Asgar dan Rahayu (2014) semakin rendah suhu penyimpanan, maka ada kecenderungan kadar air semakin besar yang disebabkan oleh pendinginan yang dapat memperlambat



kecepatan reaksi reaksi metabolisme, dimana pada umumnya setiap penurunan suhu 8°C kecepatan reaksi akan berkurang menjadi setengahnya. Berdasarkan hasil analisis statistik bahwa lama simpan kefir susu kambing berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap aktivitas antimikroba pada *Escherichia coli* hal ini disebabkan karena semakin menurunnya kemampuan daya hambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Lama penyimpanan dapat menurunkan efektifitas antibakteri dikarenakan penyimpanan kefir susu kambing (Suradi, 2012).

Menurut Yulinery dan Nurhidayat (2012), kriteria kekuatan daya antimikroba terbagi menjadi empat kelompok yaitu sebagai berikut: diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10 mm dikategorikan kuat, dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat. Hasil penelitian jika dibandingkan dengan standar tersebut masuk kategori aktivitas antimikroba lemah.

4.3 Analisis Aktivitas Antimikroba pada *Salmonella typhi*

Salmonella merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang bergerak yang khas memfermentasikan glukosa dan manosa tanpa membentuk gas tetapi tidak memfermentasikan laktosa dan sukrosa. *Salmonella* menghasilkan H₂S (Jawetz, *et al.*, 2006). Menurut Yuwono (2005) *Salmonella* termasuk golongan prokariotik (bersel tunggal) yang berkembang biak secara aseksual. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa lama simpan 0, 7, 14 dan 21 hari memberikan pengaruh nyata terhadap ($P < 0,05$) terhadap aktivitas antimikroba pada *Salmonella typhi*. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antimikroba P0 (lama simpan hari ke 0) memiliki rataan zona hambat tertinggi namun pengaruhnya tidak menunjukkan

perbedaan terhadap P1 (Lama simpan hari ke 7) dan yang terendah adalah P3 (Lama simpan hari ke 21) dapat dilihat di Lampiran 4. Rataan zona hambat aktivitas antimikroba pada *Salmonella typhi* dapat dilihat di Tabel 4.

Tabel. 4 Rataan zona hambat aktivitas antimikroba pada *Salmonella typhi*

Perlakuan	Zona Hambat (mm)
P0	$2,72 \pm 0,21^b$
P1	$2,37 \pm 0,09^{ab}$
P2	$2,01 \pm 0,14^a$
P3	$1,97 \pm 0,64^a$

Semakin besar zona hambat (zona bening) maka semakin besar pula kemampuan kefir susu kambing untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* tertinggi ada pada P0, yaitu perlakuan lama simpan pada hari ke 0, namun pengaruhnya tidak menunjukkan perbedaan terhadap perlakuan lama simpan hari ke 7, persentase aktivitas antimikroba terendah ada pada P3, perlakuan lama simpan hari ke 21. P0 (Lama simpan pada hari ke 0) sebesar 2,72 mm dengan deviasi 0,21, kemudian P1 (Lama simpan pada hari ke 7) sebesar 2,37 mm dengan deviasi 0,09, kemudian P2 (Lama simpan pada hari ke 14) sebesar 2,01 mm dengan deviasi 0,14, dilanjutkan P3 (Lama simpan pada hari ke 21) sebesar 1,97 mm dengan deviasi 0,64. Perlakuan lama simpan pada suhu refrigerator memberikan pengaruh terhadap persentase aktivitas antimikroba pada *Salmonella typhi*.



Tabel 4 menggambarkan terjadinya penurunan diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* seiring dengan adanya perlakuan lama simpan pada kefir susu kambing yang ditunjukkan dengan semakin kecilnya diameter zona bening yang terbentuk. Hal tersebut karena lama simpan berpengaruh terhadap aktivitas antimikroba, karena semakin panjang masa simpan, maka bakteri semakin pasif dan semakin sedikit jumlahnya, sehingga mempunyai kemampuan untuk memecah substrat semakin kecil. Lama simpan 0 hari memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* tertinggi, kemudian mengalami penurunan pada lama simpan 7 hari, 14 hari dan 21 hari. Lama simpan 21 hari, diduga substrat sudah mulai habis. Hal tersebut sesuai dengan Fardiaz (1987) yang menyatakan bahwa substrat mulai habis, sehingga bakteri *Lactobacillus bulgaricus* yang dipakai dalam fermentasi kefir susu kambing, memecah substrat yang ada dalam tubuhnya yaitu dalam bentuk aktivitas antimikroba (*bacteriocin*). Menurut Indah (2017) lama penyimpanan akan menurunkan total bakteri asam laktat, dikarenakan hasil dari asam laktat yang meningkat menyebabkan pH menurun, namun bakteri asam laktat itu sendiri juga tidak tahan dengan kondisi yang terlalu asam, sehingga bakteri akan mati/lisis.

Menurut Jawetz, *et al.*, (2006), faktor faktor yang mempengaruhi aktivitas zat antimikroba antara lain adalah (1) pH lingkungan berpengaruh terhadap jenis mikroba yang tumbuh, (2) komponen - komponen pembersihan yaitu media yang digunakan harus sesuai dengan pertumbuhan bakteri, (3) besarnya inokulum bakteri yaitu pada umumnya makin besar inokulum bakteri, makin rendah kepekaan mikroorganisme, (4) masa pengeraman yaitu makin lama waktu inkubasi makin besar kemungkinan timbulnya muatan yang resisten, semakin besar pula



kemungkinan mikroorganisme yang paling kurang peka untuk mulai berkembang baik sementara kekuatan berkurang, (5) suhu yaitu masing masing jasad renik memiliki suhu optimum dan maksimum untuk pertumbuhannya, (6) air dan kelembapan yaitu sel jasad renik memerlukan air untuk hidup dan berkembang biak, (7) nutrien dan media yaitu jasad renik heterotrof membutuhkan nutrien untuk pertumbuhan dan perkembangannya.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis statistika dan pembahasan di atas, dapat disimpulkan bahwa:

1. Lama simpan 7 hari dan 14 hari memberikan hasil terbaik terhadap rataan zona hambat pada *Staphylococcus aureus*.
2. Lama simpan 0 hari memberikan hasil terbaik terhadap rataan zona hambat pada *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* namun pengaruhnya tidak menunjukkan perbedaan terhadap lama simpan 7 hari.
3. Lama simpan 7 hari secara keseluruhan memberikan hasil terbaik terhadap rataan zona hambat pada *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

5.2. Saran

Saran dari penelitian ini sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antimikroba kefir susu kambing pada mikroba lain. Sehingga kefir susu kambing kedepannya dapat dijadikan minuman kesehatan yang bermanfaat karena dapat menghambat pertumbuhan berbagai macam bakteri patogen.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad D. I, Nofiani R, Ardiningsih P. 2013. *Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Lactobacillus sp. RED1 dari Cincalok Formulasi*. FMIPA Universitas Tanjungpura. Pontianak.

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.

Asgar, A. dan ST. Rahayu. 2014. Pengaruh Suhu Penyimpanan dan Waktu Pengkondisian untuk Mempertahankan Kualitas Kentang Kultivar Margahayu. *Berita Biologi*. 13 (3): 283-293.

Ardiansyah, A., and Indrayani, I. 2007. Natural Antioxidants Dietary and lipid Oxidation Analysis in Zebrafish (*Brachydanio rerio*) Tissue. *Hayati Journal of Biosciences*. 14 (3): 87-87.

Bonang G. 1992. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

Buckle, K. A., R.A. Edward., G.H. Fleet dan Wootton. 2010. *Ilmu Pangan*. (Diterjemahkan oleh H. Purnomo dan Adiono). Penerbit Univesitas Indonesia Press: Jakarta.

Cita, Y.P. 2011. Bakteri *Salmonella typhi* dan Demam Tifoid. *Jurnal kesehatan masyarakat*. 6 (1): 42–46.



Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1991, Petunjuk Pemeriksaan Mikrobiologi Makanan Dan Minuman. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

El Enshasy H.A., El Baz, A.F. and Ammar, E.M. 2008. Simultaneous Production and Decomposition of Different Rifamycins during *Amycolatopsis mediterranei* Growth in Shake Flask And in 64 Stirred Tank Bioreactor. Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology. A. Mendez-Vilas (Ed).

Ensminger. 1995. The concise encyclopedia of foods and Nutrition, CRC Press, London.

Fardiaz, S. 1987. Penuntun Praktek: Mikrobiologi Pangan. Lembaga Sumberdaya Informasi. IPB.

Fardiaz, S. 1988. Fisiologi Fermentasi. PAU IPB bekerja sama dengan Lembaga Sumberdaya Informasi IPB: 15-16.

Fardiaz, S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.

Farnworth, E.R. 2005. Kefir – a complex probiotic. Food Research and Development Centre, Agriculture and Agri-food Canada, St. Hyacinthe, Quebec, Canada J2S 8E3.

Farnworth, E.R. 2008. Handbook of Fermented Functional Foods. 2nd Edition. CRC Press. New York.

Gyles, C.L and C.O. Thoen. 1993. Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals. Willey Blackwell, USA.



Harris, RS, dan Karmas E. 1989. Evaluasi Gizi Pada Pengolahan Bahan Pangan. ITB, Bandung.

Haryadi, Nurliana, dan Sugioto. 2013. Nilai pH dan Jumlah Bakteri Asam Laktat Kefir Susu Kambing setelah Difermentasi dengan Penambahan Gula dengan Lama Inkubasi yang Berbeda. Jurnal Medika Veterinaria. 7 (1) 4-7.

Hawa, L. C., B. Susilo., N. E. Jayasari. 2011. Studi Komparasi Inaktivasi Escherichia coli dan Perubahan Sifat Fisik pada Pasteurisasi Susu Sapi Segar Menggunakan Metode Pemanasan dengan Kejut Medan Listrik. Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 12 (1): 31-39.

Hidayat, N., Padaga, M.C., dan Suhartini S. 2006. Mikrobiologi Industri. Penerbit Andi. Yogyakarta.

Indah, A. 2017. Optimasi Suhu Dalam Pembuatan Kefir Susu Sapi dan Uji Aktivitas Antibakterinya Sebagai Minuman Probiotik. Skripsi. Universitas Islam Negeri Jakarta.

Iqbal M. 2007. Isolasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Penghasil Antimikroba.

Jaroni, S., 2014. Salmonella typhi. Edisi Second Edi. Elsevier. Encyclopedia of Food Microbiology.

Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A., 2006. Stafilococo. Microbiología Médica, 14: 207-12.

Juariah, S., Suryanto, D., dan Jamilah, I 2014. Aktivitas Antibakteri Spesies Asterias Forbesii terhadap Beberapa



Jenis Bakteri Patogen. Jurnal Berkala Perikanan Terubuk. 42 (2) : 37-50.

Karagozlu, C and Kavas, G. 2000. Alkollü Fermente Süt İçecekleri: Kefir ve Kimizin Özellikleri ile İnsan Beslenmesindeki Önemi. Dünya Gıda.6 (4): 86–93.

Kimura, H., R. Nagano, H. Matsusaki, K. Sonomoto, and A. Ishizaki. 2004. A Bacteriocin of Strain *Pediococcus sp.* ISK-1 Isolated from Human Feces. J. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 61(6): 1049-1051.

Koroleva, V.I., Korolev, O.S., Loseva, E. and Bures, J., 1998. The effect of MK-801 and of Brain-Derived Polypeptides on the Development of Ischemic Lesion Induced by Bthothrombotic Occlusion of the Distal Middle Cerebral Artery in Rats. Brain research. 786 (2): 104-114.

Lindawati, S. A., N. L. P. Sriyani, M. Hartawan, dan I G. Suranjaya. 2015. Studi Mikrobiologis Kefir dengan Waktu Simpan Berbeda. Majalah Ilmiah Peternakan.18 (3): 95-99.

Madigan M and Martinko J (editors). 2005. Brock Biology of Microorganisms (11th ed.). Prentice Hall.

Martharini, D. and Indratiningsih, I., 2017. Kualitas Mikrobiologis dan Kimiawi Kefir Susu Kambing dengan Penambahan *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 dan Tepung Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca*). Agritech. 37 (1): 23-30.

Melliawati, R., 2009. Escherichia coli in human life. Bio Trends, 4 (1): 10-14.

Monica, W.S, H. Mahatmi dan K. Besung. 2013. Pola Resistensi Salmonella typhi yang Diisolasi dari Ikan Serigala (Hoplias malabaricus) Terhadap Antibiotik. Jurnal Ilmu dan Kesehatan Hewan. 1 (2): 64-69.

Muchtadi, D., 1989. Evaluasi nilai gizi pangan. PAU Pangan dan Gizi IPB, Bogor.

Nihayah, Ifratun. 2015. Pengaruh Konsentrasi Stater Terhadap Kualitas Kefir Susu Sapid an pemanfaatannya Sebagai Penurun Kadar Kolesterol Mencit (Mus musculus).Skripsi jurusan biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang.

Nugraha, A, Ida B.N.G.S, Ketut T.P.G. 2012. Deteksi Bakteri Salmonella spp. Dan Pengujian Kualitas Telur Ayam Buras. Indonesia Medicus Veterinus. 1 (3): 320-329.

Nurdin, Z., 2014. Kajian Karakteristik Yogurt Dengan Berbagai Jenis Susu Selama Penyimpanan Beku. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Syiah Kuala.

Otles, Semih, Ozem, and Cagindi. 2003. Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. Pakistan Journal Of Nutrition 2(2): 54-59.

Pollack, D.V. 2003. Student On Presentation *Salmonella enterica typhi*. University of Connecticut, Departemen of Molecular and Cell Biology.

Purwoko. T. 2007. Fisiologi Mikroba. Bumi Aksara. Jakarta



Rachman, A. 1989. Pengantar Teknologi Fermentasi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor: 88.

Ray, B. 2001. Fundamental Food Microbiology 2Ed. Boca Raton: CRC Press.

Sari, N.K. 2007. Tren dan Potensi Susu Sapi dalam Food Review bulan Maret 2007. PT Media Pangan Indonesia.

Smith Keary P. F., 1988, Genetic Elements in *Escherichia coli*, Macmillan Molecular biology series, London: 49-54.

Sudarwati, H., M. Halim, N dan V. M. A. Nurgiartiningsih. 2019. Statistika dan Rancangan Percobaan: Penerapan dalam Bidang Peternakan. Malang: UB Press.

Sulistyaningrum, L. S. 2008. Optimasi Fermentasi Asam Kojat oleh Galur Mutan *Aspergillus flavus* NTGA7A4UVE10. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Departemen Farmasi. Universitas Indonesia.

Suradi, K.2012. Pengaruh Lama Penyimpanan pada Suhu Ruang terhadap Perubahan Nilai Ph, TVB dan Total Bakteri Daging Kerbau. Jurnal Ilmu Ternak. 12 (2): 9 -12.

Surono, I.S. 2004. Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). TRICK. Jakarta: 31-32.

Syarurachman A, Chatim A, Soebandrio A, Karuniawati A, Santoso A, Harun B. 2010. Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Edisi Revisi. Binarupa Aksara Publisher. Jakarta.



Todar, K. 2008. Online Textbook of Bacteriology. Madison: University of Wisconsin.

Todorov, SD and Dicks, L.M.T. 2007. Bacteriocin production by *Lactobacillus pentosus* ST712BZ isolated from boza. Brazilian Journal of Microbiology. 38 (1).

Usmiati, S. dan Abubakar. 2009. Teknologi Pengolahan Susu. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapenen Pertanian Bogor.

Vasterlund, S., and Ouwehand, A.C., 2004. Antimicrobial Compounds From Lactic Acid Bacteria. New York.

Viljoen, B.C. 2001. The Interaction Between Yeasts and Bacteria in Dairy Environments. International Journal of Food Microbiology 69: 37-44.

Winarno, FG, Fardiaz, S, Fardiaz D. 1980. Pengantar Teknologi Pangan. PT Gramedia. Jakarta: 63–64.

Yulinery, T. and Nurhidayat, N., 2012. Analisis Viabilitas Probiotik *Lactobacillus* Terenkapsulasi dalam Penyulut Dekstrin dan Jus Markisa (*Passiflora edulis*). Jurnal Teknologi Lingkungan. 13 (1): 109-121.

Yuwono, Tribowo. 2005. Biologi Molekular. Erlangga. Jakarta.



Lampiran 1. Prosedur Uji Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba ditentukan berdasarkan prosedur uji aktivitas antimikroba (Fardiaz, 1987).

1. Peneliti menuangkan media agar Mueller Hinton Agar (MHA) sebanyak 20 ml dan dibiarkan membeku.
2. Peneliti memasukkan kultur bakteri uji sebanyak 0,1 ml ke dalam cawan petri
3. Peneliti memasukkan kertas cakram dengan diameter 6 mm yang telah dicelup dalam sampel (kefir) yang telah disentrifugasi.
4. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
5. Peneliti mengamati zona bening yang terbentuk dengan cara diukur diameter di luar cakram dengan satuan mm. Semakin lebar diameter zona bening menunjukkan efek penghambatan yang baik.

Lampiran 2. Data Analisis Statistik Zona Hambat *Staphylococcus aureus* pada Kefir Susu Kambing

No.	Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata	SD
		1	2	3	4			
1.	P0	2,19	2,41	2,08	-	6,68	2,23	0,17
2.	P1	2,70	3,23	3,31	3,46	12,70	3,18	0,33
3.	P2	3,68	2,67	3,14	3,06	12,55	3,14	0,42
4.	P3	2,69	2,59	2,47	2,66	10,41	2,60	0,10
						42,34		



Rancangan Acak Lengkap (RAL)

a. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{(\sum_i^t \sum_j^r Y_{ij})^2}{txr} \\ &= (42,34)^2 / 15 \\ &= 119,51 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= \sum_i^t \sum_j^r Y_{ij}^2 - \text{FK} \\ &= (2,19^2 + 2,41^2 + \dots + 2,66^2) - \text{FK} \\ &= 122,59 - 119,51 \\ &= 3,08 \end{aligned}$$

c. Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum_i^t (\sum_j^r Y_{ij})^2}{r} - \text{FK} \\ &= (6,68^2/3 + 12,70^2/4 + 12,55^2/4 + 10,41^2/4) - 119,51 \\ &= 2,15 \end{aligned}$$

d. Jumlah Kuadrat Galat (JK Galat)

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 3,08 - 2,15 \\ &= 0,94 \end{aligned}$$

Lampiran 2. Lanjutan Analisis Sidik Ragam

SK	DB	JK	KT	F Hit	F tabel
					0,05 0,01
Perlakuan	3	2,15	0,72	8,41	3,59 6,22
Galat	11	0,94	0,09		
Total	14	3,08			



Kuadrat Tengah (KT)

a. $KT \text{ Perlakuan} = JK \text{ Perlakuan} / (t-1)$

$$= 2,15/3$$

$$= 0,72$$

b. $KT \text{ Galat} = JK \text{ Galat} / t(r-1)$

$$= 0,94/11$$

$$= 0,09$$

c. $F \text{ hitung} = KT \text{ Perlakuan} / KT \text{ Galat}$

$$= 0,72/0,09$$

$$= 8,41$$

Lampiran 2. Lanjutan Perhitungan JNT 1%

1. SE (Standard Error) Ulangan Tak Sama

DUNCAN	P2	P3	P4
JNT 1%	4,39	4,63	4,77
	0,69	0,73	0,75

a. $SE \text{ Ulangan Tak Sama} = \sqrt{\frac{1}{2}(KTG) \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}$

$$= \sqrt{\frac{1}{2}(0,09) \left(\frac{1}{3} + \frac{1}{4} \right)}$$

$$= 0,16$$

b. Tabel Duncan

$$JNT \ 1\% = JND(1\%, db \text{ galat}, p) \times SE$$

$$= JND(1\%, 11, 2) \times 0,16$$



$$= 4,39 \times 0,16$$

$$= 0,69$$

$$\text{JNT } 1\% = \text{JND } (1\%, \text{ db galat, } p) \times \text{SE}$$

$$= \text{JND } (1\%, 11, 3) \times 0,16$$

$$= 4,63 \times 0,16$$

$$= 0,73$$

$$\text{JNT } 1\% = \text{JND } (1\%, \text{ db galat, } p) \times \text{SE}$$

$$= \text{JND } (1\%, 11, 4) \times 0,16$$

$$= 4,77 \times 0,16$$

$$= 0,75$$

2. SE (Standard Error) Ulangan Sama

DUNCAN	P2	P3	P4
JNT 1%	4,39	4,63	4,77
	0,64	0,68	0,70

a. SE Ulangan Sama $= \sqrt{\frac{KTG}{r}}$

$$= \sqrt{\frac{0,09}{4}}$$

$$= 0,15$$

b. Tabel Duncan

$$\text{JNT } 1\% = \text{JND } (1\%, \text{ db galat, } p) \times \text{SE}$$

$$= \text{JND } (1\%, 11, 2) \times 0,15$$

$$= 4,39 \times 0,15$$

$$= 0,64$$



$$\begin{aligned} \text{JNT } 1\% &= \text{JND } (1\%, \text{ db galat, } p) \times \text{SE} \\ &= \text{JND } (1\%, 11, 3) \times 0,15 \\ &= 4,63 \times 0,15 \\ &= 0,68 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT } 1\% &= \text{JND } (1\%, \text{ db galat, } p) \times \text{SE} \\ &= \text{JND } (1\%, 11, 4) \times 0,15 \\ &= 4,77 \times 0,15 \\ &= 0,70 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rataan	Notasi
P0	2,23 ± 0,17	a
P3	2,60 ± 0,33	ab
P2	3,14 ± 0,42	b
P1	3,18 ± 0,10	b

Kesimpulan:

F Hitung > F Tabel 1% menunjukkan bahwa perlakuan lama simpan 0, 7, 14 dan 21 hari memberikan pengaruh sangat nyata ($P < 0.01$) terhadap zona hambat *Staphylococcus aureus*. Lama simpan 7 hari dan 14 hari memberikan hasil terbaik terhadap rata-rata zona hambat pada *Staphylococcus aureus*.

Lampiran 3. Data Analisis Statistik Zona Hambat *Escherchia coli* pada Kefir Susu Kambing

No.	Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata	SD
		1	2	3	4			
1.	P0	2,63	2,78	3,72	4,17	13,30	3,32	0,74
2.	P1	2,49	2,86	2,86	2,47	10,80	2,70	0,26
3.	P2	3,91	1,84	1,84	2,18	9,50	2,37	0,47
4.	P3	2,31	2,03	2,03	2,15	8,36	2,09	0,19
						41,95		



Rancangan Acak Lengkap (RAL)

a. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{(\sum_i^t \sum_j^r Y_{ij})^2}{txr} \\ &= (41,95)^2 / 4 \times 4 \\ &= 109,98 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= \sum_i^t \sum_j^r Y_{ij}^2 - FK \\ &= (2,63^2 + 2,78^2 + \dots + 2,15^2) - FK \\ &= 115,95 - 109,98 \\ &= 5,98 \end{aligned}$$

c. Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum_i^t (\sum_j^r Y_{ij})^2}{r} - FK \\ &= (13,30^2 + 10,80^2 + 9,50^2 + 8,36^2) / 4 - 109,98 \\ &= 3,38 \end{aligned}$$

d. Jumlah Kuadrat Galat (JK Galat)

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 5,98 - 3,38 \\ &= 2,60 \end{aligned}$$

Lampiran 3. Lanjutan Analisis Sidik Ragam

SK	DB	JK	KT	F Hit	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	3,38	1,13	5,21	3,4	5,9
Galat	12	2,60	0,22			
Total	15	5,98				



Kuadrat Tengah (KT)

- a. KT Perlakuan = $\text{JK Perlakuan}/(t-1)$
= $3,38/3$
= $1,13$
- b. KT Galat = $\text{JK Galat}/(r-1)$
= $2,60/12$
= $0,22$
- c. F hitung = $\text{KT Perlakuan}/\text{KT Galat}$
= $1,13/0,22$
= $5,21$

Lampiran 3. Lanjutan Perhitungan JNT 5%

DUNCAN	P2	P3	P4
JNT 5%	3,08	3,23	3,31
	0,72	0,75	0,77

$$\begin{aligned} \text{a. iv SE (Standard Error)} &= \sqrt{\frac{\text{KTG}}{r}} \\ &= \sqrt{\frac{0,22}{4}} \\ &= 0,23 \end{aligned}$$

b. Tabel Duncan

$$\begin{aligned} \text{JNT 5\%} &= \text{JND (5\%, db galat, p)} \times \text{SE} \\ &= \text{JND (5\%, 12, 2)} \times 0,23 \\ &= 3,08 \times 0,23 \\ &= 0,72 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} \text{JNT } 5\% &= \text{JND } (5\%, \text{ db galat, } p) \times \text{SE} \\ &= \text{JND } (5\%, 12, 3) \times 0,23 \\ &= 3,23 \times 0,23 \\ &= 0,75 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT } 5\% &= \text{JND } (5\%, \text{ db galat, } p) \times \text{SE} \\ &= \text{JND } (5\%, 12, 4) \times 0,23 \\ &= 3,31 \times 0,23 \\ &= 0,77 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rataan	Notasi
P3	2,09 ± 0,19	a
P2	2,37 ± 0,47	a
P1	2,70 ± 0,26	ab
P0	3,32 ± 0,74	b

Kesimpulan:

F Hitung > F Tabel 5% menunjukkan bahwa perlakuan lama simpan 0, 7, 14 dan 21 hari memberikan pengaruh nyata ($P < 0.05$) terhadap zona hambat *Escherichia coli*. Lama simpan 0 hari memberikan hasil terbaik terhadap rata-rata zona hambat pada *Escherichia coli* namun pengaruhnya tidak menunjukkan perbedaan terhadap lama simpan 7 hari.



Lampiran 4. Data Analisis Statistik Zona Hambat *Salmonella typhi* pada Kefir Susu Kambing

No.	Perlakuan	Ulangan				Total	Rata-rata	SD
		1	2	3	4			
1.	P0	2,82	2,95	2,47	2,62	10,86	2,72	0,21
2.	P1	2,36	2,25	2,38	2,47	9,47	2,37	0,09
3.	P2	2,13	1,85	1,94	2,13	8,05	2,01	0,14
4.	P3	1,76	1,59	2,92	1,62	7,88	1,97	0,64
						36,26		



Rancangan Acak Lengkap (RAL)

a. Faktor Koreksi (FK)

$$\begin{aligned} \text{FK} &= \frac{(\sum_i^t \sum_j^r Y_{ij})^2}{txr} \\ &= (36,26)^2 / 4 \times 4 \\ &= 82,19 \end{aligned}$$

b. Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned} \text{JK Total} &= \sum_i^t \sum_j^r Y_{ij}^2 - FK \\ &= (2,82^2 + 2,95^2 + \dots + 1,62^2) - FK \\ &= 85,08 - 82,19 \\ &= 2,89 \end{aligned}$$

c. Jumlah Kuadrat Perlakuan

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{\sum_i^t (\sum_j^r Y_{ij})^2}{r} - FK \\ &= (10,86^2 + 9,47^2 + 8,05^2 + 7,88^2) / 4 - 82,19 \\ &= 1,46 \end{aligned}$$

d. Jumlah Kuadrat Galat (JK Galat)

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 2,89 - 1,46 \\ &= 1,43 \end{aligned}$$

Lampiran 4. Lanjutan Analisis Sidik Ragam

SK	DB	JK	KT	F Hit	F tabel	
					0,05	0,01
Perlakuan	3	1,46	0,49	4,07	3,49	5,95
Galat	12	1,43	0,12			
Total	15	2,89				



Kuadrat Tengah (KT)

- a. $KT \text{ Perlakuan} = JK \text{ Perlakuan}/(t-1)$
 $= 1,46/3$
 $= 0,49$
- b. $KT \text{ Galat} = JK \text{ Galat}/(r-1)$
 $= 1,43/12$
 $= 0,12$
- c. $F \text{ hitung} = KT \text{ Perlakuan}/KT \text{ Galat}$
 $= 0,49/0,12$
 $= 4,07$

Lampiran 4. Lanjutan Perhitungan JNT 5%

DUNCAN	P2	P3	P4
JNT 5%	3,08	3,23	3,31
	0,53	0,56	0,57

a. $SE \text{ (Standard Error)} = \sqrt{\frac{KTG}{r}}$
 $= \sqrt{\frac{0,12}{4}}$
 $= 0,17$

b. **Tabel Duncan**
 $JNT \text{ 5\%} = JND (5\%, \text{db galat}, p) \times SE$
 $= JND (5\%, 12, 2) \times 0,17$
 $= 3,08 \times 0,17$
 $= 0,53$



$$\begin{aligned} \text{JNT } 5\% &= \text{JND } (5\%, \text{ db galat, } p) \times \text{SE} \\ &= \text{JND } (5\%, 12, 3) \times 0,17 \\ &= 3,23 \times 0,17 \\ &= 0,56 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{JNT } 5\% &= \text{JND } (5\%, \text{ db galat, } p) \times \text{SE} \\ &= \text{JND } (5\%, 12, 4) \times 0,17 \\ &= 3,31 \times 0,17 \\ &= 0,57 \end{aligned}$$

Perlakuan	Rataan	Notasi
P3	1,97 ± 0,64	a
P2	2,01 ± 0,14	a
P1	2,37 ± 0,09	ab
P0	2,72 ± 0,21	b

Kesimpulan:

F Hitung > F Tabel 5% menunjukkan bahwa perlakuan lama simpan 0, 7, 14 dan 21 hari memberikan pengaruh nyata ($P < 0.05$) terhadap zona hambat *Salmonella typhi*. Lama simpan 0 hari memberikan hasil terbaik terhadap rata-rata zona hambat pada *Salmonella typhi* namun pengaruhnya tidak menunjukkan perbedaan terhadap lama simpan 7 hari.

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



Hasil uji aktivitas antimikroba *Staphylococcus aureus* pada P3 (Lama simpan 21 hari)



Hasil uji aktivitas antimikroba *Escherichia coli* pada P3 (Lama simpan 21 hari)



Hasil uji aktivitas antimikroba *Salmonella typhi* pada P3 (Lama simpan 21 hari)



Penimbangan kefir grain sebanyak 3%



Pembungkusan alat yang akan disterilisasi



Mensterilisasi alat-alat yang akan digunakan



Sampel kefir susu kambing



Sampel kefir susu kambing disentrifugasi



Pengenceran mikroba
nii