

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP NILAI PH, TOTAL  
ASAM, JUMLAH MIKROBA, PROTEIN, DAN KADAR ALKOHOL  
KEFIR SUSU KACANG KEDELAI (*Glycine max* (L)Merill)**

**SKRIPSI**

Oleh :

**ZIANA OCTA FARIDAH ZAINI**

**NIM. 12620012**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2016**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP NILAI PH, TOTAL  
ASAM, JUMLAH MIKROBA, PROTEIN, DAN KADAR ALKOHOL  
KEFIR SUSU KACANG KEDELAI (*Glycine max* (L)Merill)**

**SKRIPSI**

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam

Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh :

**ZIANA OCTA FARIDAH ZAINI**

**NIM. 12620012**

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2016**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP NILAI PH, TOTAL ASAM, JUMLAH MIKROBA, PROTEIN, DAN KADAR ALKOHOL KEFIR SUSU KACANG KEDELAI (*Glycine max* (L)Merill)**

SKRIPSI

Oleh :  
**ZIANA OCTA FARIDAH ZAINI**  
NIM. 12620012

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 03 Desember 2016

Dosen Pembimbing I

Ir. Liliek Harianie AR.M.P  
NIP. 19620901 199803 2 001

Dosen Pembimbing II

Dr. Ahmad Barizi.M.A  
NIP. 19731212 19980001

Mengetahui  
Ketua Jurusan Biologi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002

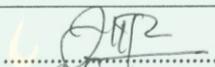
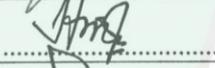
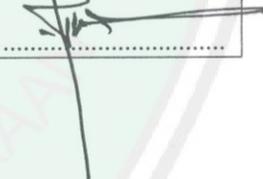
**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP NILAI PH, TOTAL ASAM, JUMLAH MIKROBA, PROTEIN, DAN KADAR ALKOHOL KEFIR SUSU KACANG KEDELAI (*Glycine max* (L)Merill)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**ZIANA OCTA FARIDAH ZAINI**  
NIM. 12620012

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan  
Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan  
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: 15 Desember 2016

Penguji Utama	<u>Dr. Hj Ulfah Utami, M.Si</u> NIP. 196 50509 199903 2 002	
Ketua Penguji	<u>Anik Maunatin, M.P</u> NIK. 2014 0201 2412	
Sekretaris Penguji	<u>Ir. Liliek Harianie AR. M.P</u> NIP. 19620901 199803 1 001	
Anggota Penguji	<u>Dr. Ahmad Barizi, M.A</u> NIP. 19731212 199803 1 001	

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
NIP. 19741018 200312 2 002

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ziana Octa Faridah Zaini

NIM : 12620012

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Nilai pH, Total Asam, Jumlah Mikroba, Protein, dan Kadar Alkohol Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 03 Desember 2016

Yang membuat pernyataan,



Ziana Octa Faridah Zaini

NIM. 12620012

## MOTTO

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٥﴾ إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿٦﴾

*“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan” (Qs. Al-Insyirah/94 :5-6).*

فَإِذَا فَرَغْتَ فَانصَبْ ﴿٧﴾ وَإِلَىٰ رَبِّكَ فَارْغَبْ ﴿٨﴾

*“Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap” (Qs. Al-Insyirah/94 :7-8).*

## LEMBAR PERSEMBAHAN

Karya ini saya persembahkan untuk:

Allah Subhanahu wata'ala dan Rasulullah Muhammad Salallahu'alaihi wasallam

Kedua orang tua saya, Muhammad Zaini dan Sri Astutik, terimakasih atas kasih sayang yang luar biasa, yang telah sabar memberikan segala bentuk dukungan, yang senantiasa mengiringiku dengan do'a tanpa henti.

Guru-guru dan dosen-dosenku, semoga Allah selalu memberikan kesehatan dan meninggikan derajatmu didunia maupun diakhirat, terimakasih atas bimbingan selama ini. Semoga ilmu yang telah diajarkan dapat menuntunku menuju kesuksesan didunia dan bernilai diakhirat.

Teruntuk sahabat-sahabatku Mikromania yang telah menjadi tempat berbagi duka maupun suka, Sahabatku tercinta Hana, Ifah, Sofi, Ghazali, Erna, Diah, Hima, Intan W, Kurniawan, Irna, Acik, dkk terimakasih yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Sahabat-sahabat ku dalam masa perjuangan Biologi 2012, terimakasih atas solidaritas yang luar biasa sehingga menjadikan hari-hari perkuliahan lebih bararti.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah yang telah dilimpahkan-Nya sehingga skripsi dengan judul **“Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Nilai pH, Total Asam, Jumlah Mikroba, Protein, dan Kadar Alkohol Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill)”** ini dapat diselesaikan dengan baik. Sholawat serta salam semoga tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah mengantarkan manusia ke jalan kebenaran.

Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. H. Mudjia Raharjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku Ketua Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Liliek Harianie A.R, M.P dan Dr. Ahmad Barizi, M.A, selaku dosen pembimbing yang dengan penuh keikhlasan, dan kesabaran telah memberikan bimbingan, pengarahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si, selaku dosen wali dan dosen penguji yang telah memberikan saran, nasehat dan dukungan sehingga penulisan skripsi dapat terselesaikan.
6. Anik maunatin, M.P, selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun sehingga membantu terselesainya skripsi ini.
7. Seluruh dosen, Laboran Jurusan Biologi dan Staf Administrasi yang telah membantu dan memberikan kemudahan, terimakasih atas semua ilmu dan bimbingannya.
8. Ustadzah Nuril Mufidah, M.pd, selaku dosen wali kelas kuliah b.Arab di UIN yang telah memberikan motivasi dan nasehat selama perkuliahan.

9. Kedua orang tuaku Ayah Muhammad Zaini dan Ibu Sri Astutik, yang selalu memberikan do'a, semangat, serta motivasi kepada penulis sampai saat ini.
10. Teman-teman Biologi A, terimakasih telah menjadi sahabat dan keluarga selama 4 tahun perkuliahan, dan seluruh teman-teman Jurusan Biologi angkatan 2012, yang berjuang bersama-sama menyelesaikan studi sampai memperoleh gelar S.Si
11. Semua pihak yang ikut membantu dan memberikan dukungan baik moril maupun materiil dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi manfaat bagi penulis khususnya, dan bagi para pembaca pada umumnya. Semoga Allah Subhanahu wa Ta'ala senantiasa memberikan ilmu yang bermanfaat dan melimpahkan Rahmat dan Ridho-Nya. Amin.

Malang, 03 Desember 2016

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGAJUAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	vi
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	vii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiv
<b>ABSTRAK</b> .....	xv
<b>ABSTRACT</b> .....	xvi
خلاصة البحث .....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan .....	6
1.4 Hipotesis Penelitian .....	6
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
1.6 Batasan Masalah .....	7
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L) Merrill) .....	8
2.1.1 Kajian Umum Kedelai .....	8
2.1.2 Kajian Umum Susu Kedelai .....	15
2.2 Kefir .....	19
2.2.1 Pengertian Kefir .....	19
2.2.2 Nilai Gizi dan Khasiat Kefir .....	20
2.2.3 Mikroorganismen dalam Starter Kefir <i>Grains</i> (Bibit Kefir) .....	23
2.2.4 Proses Fermentasi Kefir .....	25
2.2.5 Manfaat Kefir .....	37
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Rancangan Penelitian .....	39
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	40
3.3 Variabel Penelitian .....	40
3.3.1 Variabel Bebas .....	40

3.3.2 Variabel Terikat .....	40
3.3.3 Variabel Terkendali .....	40
3.4 Alat dan Bahan.....	40
3.4.1 Alat.....	40
3.4.2 Bahan .....	41
3.5 Prosedur Penelitian .....	41
3.5.1 Sterilisasi Alat.....	41
3.5.2 Pembuatan Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L) Merrill).....	42
3.5.3 Pembuatan Kefir Susu Kacang Kedelai .....	42
3.6 Prosedur Analisa Sampel .....	43
3.6.1 Analisis Nilai pH.....	43
3.6.2 Pengukuran Total Asam .....	43
3.6.3 Uji TPC ( <i>Total Plate Count</i> ).....	44
3.6.4 Analisa Kadar Protein .....	45
3.6.4.1 Pembuatan Kurva Standart .....	45
3.6.4.2 Pengukuran Sampel .....	45
3.6.5 Analisa Kadar Alkohol .....	46
3.6.5.1 Pembuatan Kurva Baku Etanol.....	46
3.6.5.2 Analisis Kadar Etanol dengan Kromatografi Gas (GC) .....	46
3.7 Analisis Data .....	46
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Nilai pH Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merrill) .....	47
4.2 Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Asam Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merrill) .....	51
4.3 Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Jumlah Mikroba Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merrill) .....	55
4.4 Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merrill) .....	59
4.5 Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merrill) .....	63
4.6 Integrasi Sains dan Al-Qur'an Terhadap Kualitas Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merrill) .....	66
<b>BAB V PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan .....	72
5.2 Saran .....	72
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	73
<b>LAMPIRAN</b> .....	79

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bibit Kefir ( <i>Kefir grains</i> ) .....	24
Gambar 4.1 Grafik Rata-Rata Nilai pH Kefir Susu Kacang Kedelai .....	47
Gambar 4.2 Grafik Rata-Rata Total Asam Kefir Susu Kacang Kedelai .....	51
Gambar 4.3 Grafik Rata-Rata Jumlah Mikroba Kefir Susu Kacang Kedelai ..	55
Gambar 4.4 Grafik Rata-Rata Kadar Protein Kefir Susu Kacang Kedelai .....	60



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Zat Gizi dan Zat Kimia pada Kacang-kacangan (100 g)	12
Tabel 2.2 Komposisi Asam Amino dalam Kedelai Kering.....	13
Tabel 2.3 Komposisi Gizi Susu Kedelai Cair dan Susu Sapi (dalam 100 gram)...	16
Tabel 2.4 Komposisi Asam Amino Susu Kedelai (mg/gram nitrogen total) ...	18
Tabel 2.5 Komposisi Kefir Kimia.....	21
Tabel 2.6 Standar Nasional Indonesia untuk Yoghurt .....	22
Tabel 3.1 Rancangan Penelitian.....	39
Tabel 4.1 Uji Lanjut Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Nilai pH Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merill).....	49
Tabel 4.2 Uji Lanjut Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Asam Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merill).....	53
Tabel 4.3 Uji Lanjut Pengaruh Lama Fermentasi Jumlah Koloni Mikroba Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merill).....	57
Tabel 4.4 Uji Lanjut Pengaruh Lama Fermentasi Kadar Protein Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merill).....	61
Tabel 4.5 Hasil Analisis Kadar Alkohol Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merill). .....	63

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data nilai pH kefir susu kacang kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merill) dengan pengaruh lama fermentasi .....	79
Lampiran 2. Contoh Perhitungan Total Asam .....	81
Lampiran 3. Pembuatan Larutan BSA (Bovin Serum Albumin) untuk Kurva Standart Uji Kadar Protein Metode Biuret .....	83
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Alkohol Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merill) .....	88
Lampiran 5. Hasil Analisis Statistik dengan SPSS tentang Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Kefir Susu Kacang Kedelai ( <i>Glycine max</i> (L)Merill).....	92
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian .....	103

## ABSTRAK

Zaini, Ziana Octa Faridah. 2016. **Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Nilai pH, Total Asam, Jumlah Mikroba, Protein dan Kadar Alkohol Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill)**. Pembimbing: Ir. Liliek Harianie, M.P dan Dr. Ahmad Barizi, M.A

**Kata Kunci** : Lama Fermentasi, Kefir susu kacang kedelai

---

Kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) merupakan salah satu produk dari fermentasi yang memanfaatkan Bakteri Asam Laktat dan khamir dalam proses pembuatannya. Kefir mempunyai manfaat bagi kesehatan antarlain dapat memperbaiki proses pencernaan dan mempunyai kandungan protein yang tinggi. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH, total asam, jumlah mikroba, protein dan kadar alkohol pada kefir susu kacang kedelai.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 4 kali ulangan. Materi yang digunakan adalah susu kacang kedelai, starter kefir grains, dan gula dengan lama fermentasi 12 jam, 14 jam, 16 jam, dan 18 jam. Variabel yang diukur adalah pH menggunakan pH meter, total asam menggunakan titrasi, jumlah mikroba menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*), protein menggunakan metode biuret, dan kadar alkohol menggunakan metode GC (kromatografi gas). Analisa data menggunakan Analisa varians (ANOVA) *one way*. Apabila ada pengaruh perlakuan terhadap variabel yang diukur, dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh tidak nyata terhadap nilai pH, total asam, jumlah mikroba, dan kadar protein. Nilai pH terendah 3.80, total asam meningkat hingga 1.69% pada perlakuan 18 jam. Jumlah mikroba terendah pada perlakuan 12 jam  $2,38 \times 10^8$  (cfu/ml) dan tertinggi pada 18 jam  $9,68 \times 10^8$  (cfu/ml). Kadar protein terendah pada perlakuan 12 jam 4.12% dan tertinggi pada 18 jam 6.52%. Adapun kadar alkohol pada perlakuan 12 jam mengalami peningkatan sebesar 0.42% dan mengalami penurunan pada 18 jam menjadi 0.23%.

## ABSTRACT

Zaini, Ziana Octa Faridah. 2016. **The Effect of Fermentation Time Toward pH Value, Total Acid, Total Microbes, Protein and Alcohol Content of Soy (*Glycine max* (L) Merrill) Milk Kefir**. Thesis. Supervisors: Ir. Liliek Harianie, M.P and Dr. Ahmad Barizi, M.A.

**Keywords:** Fermentation time, Soymilk Kefir

---

Soy milk kefir is one of the products of fermentation utilizing Lactic Acid Bacteria and yeasts in the manufacturing process. Kefir has advantage for health such as improving the digestive process and containing high protein. This research objectives were to know the effect of fermentation time on pH number, total acid, the number of microbes, protein and alcohol content in soy milk kefir.

This study used a randomized complete design with four replications. The materials were soy milk, kefir starter grains, and fermented sugar with 12 hours, 14 hours, 16 hours and 18 hours fermentation. The variable was measured using a pH meter pH, total acid using titration, the number of microbes using the TPC (*Total Plate Count*), the protein using biuret method, and alcohol content using GC (gas chromatography). Data were analyzed using analysis of variance (*one way ANOVA*). If there was any treatment effect of the variables measured, followed by Tukey's test at 5% level.

The result showed that the fermentation time unreally affected toward pH value, total acid, the number of microbes, and protein content. The lowest pH value was 3.80, total acid increased to 1.69% at 18 hours treatment. The lowest number of microbes was in treatment 12 hours  $2,38 \times 10^8$  (cfu/ml) and the highest was at 18 hours  $9,68 \times 10^8$  (cfu/ml). The lowest protein content was in treatment 12 hours of 4,12% and the highest was at 18 hours of 6,52%. The alcohol level in treatment 12 hours increased in the amount of 0,42% and decreased at 18 hours to 0,23%.

## مستخلص البحث

زيني، زينا أكتا فريدة. 2016م. تأثير طويل التخمر الإمكانات للهيدوجين (pH) وعدد من الحمض وعدد من الجرثوم والبرتين وقدر الكحول الزبادي في لبن فول الصويا (*Glycine max (L) Merrill*). البحث الجامعي قسم علم الأحياء كلية علم وتكنولوجيا جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج المشريف: الدكتورة أليك هارياني الماجستير والدكتور أحمد بريزي الماجستير

الكلمات الأساسية: طويل التخمر والزبادي في لبن فول الصويا

الزبادي في لبن فول الصويا هو احدى من الإنتاج من التخمر الذي ينتج الجرثوم الحمض اللبنيك والخمائر في عملية التصنيع. زبادي له فوائد في العافية منها: أن تكون تحسين عملية الهضم والمحتوى نسبة عالية من البرتين. أهداف هذا البحث هو لتعريف تأثير طويل التخمر الإمكانات للهيدوجين (pH) وعدد من الحمض وعدد من الجرثوم والبرتين وقدر الكحول الزبادي في لبن فول الصويا.

استخدم هذا البحث مجموعة مشروع عشوائ لها تتكررا أربع مرات. استخدمت هذا المادة هي لبن فول الصويا وكاتب زبادي الحبوب وتخمر السكر اثنه عشر ساعات وأربعة عشر ساعات وستة عشر ساعات وثمانية عشر ساعات. المتغيرات قياس إمكانات الهيدوجين في المتري و استخدم عدد الحمض معايرة واستخدم جراثيم بالطريقة تعداد الصحن الكلي (Total Plate Count) والبرتين باستخدام الطريقة البيوريت ومستويات الكحول باستخدام طريقة الفصل اللوني للغاز. تحليل البيانات تستخدم من تحليل التباين إذا كان قياس تأثير معاملة متغيرات الاختبار المستمر على مدى 5%.

تدل على نتيجة هذا البحث هو تأثير طويل التخمر إلى درجة الإمكانات للهيدوجين (pH) وعدد من الحمض وعدد من الجرثوم والبرتين. درجة الإمكانات للهيدوجين على اقل 3,80 ويرتفع عدد الحمض 1,69% في معاملة ثمانية عشر ساعات. معاملة عدد الجرثوم على اقل اثنا عشر ساعات  $10^8 \times 2,38$ . معاملة قدر البرتين اثنا عشر ساعات  $10^8 \times 9,68$  (cfu/ml) ويرتفع على ثمانية عشر ساعات 6,52%. على فوق ذلك معاملة على قدر الكحول اثنا عشر ساعات 3,81% ويرتفع 0,42% ومعاملة على أقل ثمانية عشر هو 0,23%.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar belakang

Allah SWT telah bersabda, bahwa kita sebagai orang muslim dianjurkan untuk mengkonsumsi makanan halal dan baik yang terdapat di bumi ini. Hal tersebut telah dijelaskan dalam firman-Nya surat Al-Baqarah ayat 168, sebagai berikut:

يَأْتِيهَا النَّاسُ كُلُّوْا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ  
عَدُوٌّ مُّبِينٌ

*Artinya: “Hai sekalian manusia, makanlah yang halal lagi baik dari apa yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan; karena Sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu” (Qs. Al-Baqarah/2: 168).*

Menurut Al-Jazairi (2006) dalam tafsir Al-Aisyar tentang surat Al-Baqarah ayat 168, menjelaskan tentang rizeki-Nya yang halal dan baik serta diizinkan untuk dikonsumsi. Adapun yang tidak diizinkan maka itu tidak baik untuk dikonsumsi oleh mereka karena mengandung unsur yang membahayakan bagi fisik dan jiwa manusia. Allah kemudian melarang mereka untuk mengikuti langkah-langkan musuh-Nya dan musuh mereka (syaitan), karena bila mereka melakukan itu, akan membawa pada kebinasaan dan kesengsaraan. Dia pun memberitahukan kepada mereka, bahwa syaitan tidak memerintahkan sesuatu kecuali apa yang membahayakan mereka.

Berdasarkan tafsir surat Al-Baqarah ayat 168 tersebut, diketahui bahwa makan yang dimakan seorang muslim adalah makanan yang halal dan baik, sehingga halal saja kurang cukup dan harus disertai dengan baik (*thayib*) dari manfaat makanan yang dikonsumsi tersebut. Dimana makanan yang halal hakikatnya makanan yang didapat serta diolah dengan cara yang benar. Sedangkan makanan yang baik adalah makanan yang tidak membahayakan, namun juga memberikan manfaat bagi tubuh konsumennya. Contoh makanan atau minuman yang baik tersebut adalah kefir.

Kefir merupakan susu yang difermentasi oleh sejumlah mikroba yaitu bakteri penghasil asam laktat (BAL), dan khamir. Menurut Safitri (2013), kefir merupakan salah satu jenis susu fermentasi yang dibuat dengan menggunakan starter granula kefir. Kefir memiliki kekentalan seperti krim serta mempunyai rasa asam dan beralkohol. Kelebihan kefir adalah adanya bakteri probiotik yang terbukti dapat memperbaiki proses pencernaan dengan menyediakan mikroflora yang dibutuhkan dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen didalam saluran pencernaan. Selain itu kefir memberikan daya tahan alami terhadap infeksi dalam usus, mencegah sembelit, dan memproduksi vitamin B (Sari, 2007). Mubin (2016) menambahkan bahwa kefir mampu menjaga metabolisme dan fungsi imun manusia.

Kefir biasanya dibuat dari susu hewani. Pada umumnya, susu sapi dan susu kambing digunakan sebagai bahan baku pembuatan kefir. Namun, dengan adanya kekhawatiran akan *Lactose intolerant*, juga semakin meningkatnya golongan vegetarian, serta harga susu hewan yang relatif mahal, memicu peningkatan

ketersediaan minuman probiotik non-susu. Oleh sebab itu, alternatif lain sebagai bahan pembuatan kefir adalah susu kacang kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) sebagai medium pertumbuhan probiotik dan diharapkan dapat menjadi salah satu alternatif produk minuman kesehatan. Menurut Koswara (2006), susu kedelai mempunyai gizi yang hampir setara dengan susu sapi, umumnya digunakan sebagai pengganti susu sapi bagi penderita *Lactose intolerance* dan penderita alergi terhadap protein susu sapi.

Kacang kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) merupakan salah satu jenis kacang yang sering digunakan dalam pembuatan makanan di Indonesia. Kacang kedelai adalah sumber protein, karbohidrat, serta sebagai sumber vitamin A, E, K, dan beberapa jenis vitamin B dan mineral K, Fe, Zn, dan P. Kandungan protein kacang-kacangan berkisar antara 20-25%, sedangkan pada kedelai mencapai 40% (Winarsi, 2010).

Aman dan Hardjo (1973), menyatakan kadar protein pada susu kedelai sebesar 3,50 gram sedangkan pada susu sapi 3,20 gram (dalam 100 gram). Karbohidrat dalam susu kedelai berasal dari golongan oligosakarida dan polisakarida, merupakan prebiotik yang terdapat dalam kedelai dan digunakan lebih lanjut oleh mikroorganisme probiotik yang hidup dalam saluran cerna sebagai sumber energi (Harish and Varghese, 2006). Sedangkan Sparringa (1995), menyatakan susu kedelai merupakan medium yang baik untuk pertumbuhan khamir dan bakteri asam laktat.

Fermentasi kacang kedelai menjadi kefir menggunakan bakteri asam laktat (BAL) dan khamir *Candida kefir* yang bekerja sama secara simbiosis. Menurut

Usmiati (2007), bahwa bakteri asam laktat menghasilkan asam laktat dari pemecahan glukosa yang merangsang pertumbuhan khamir. Sedangkan khamir penting dalam proses fermentasi kefir karena menghasilkan senyawa etanol dan komponen pembentuk flavor sehingga menghasilkan cita rasa yang khas.

Kandungan gula yang terdapat dalam susu kacang kedelai yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme berperan dalam proses pembuatan kefir sangat terbatas, oleh karena itu perlu dilakukan penambahan gula sebagai sumber karbon. Pemilihan sukrosa dikarenakan sukrosa adalah gula dalam bentuk sederhana yang dapat langsung dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhannya. Penambahan gula dalam penelitian ini mengacu pada Misgiyarta (2003), dengan penambahan gula 4% dalam pembuatan susu kacang-kacangan sebagai kefir. Sukrosa adalah gula yang dihasilkan dari tumbuhan dan dapat dimanfaatkan oleh bakteri fermentasi untuk memperoleh energi dan dapat dipecah menjadi fruktosa dan glukosa (Kunaepah, 2008).

Menurut Maryana (2014), bahwa mikroba akan merombak senyawa karbon (sukrosa/gula) menjadi energi untuk pertumbuhan dan asam laktat sebagai metabolitnya. Mikroba membutuhkan gula untuk aktivitas metabolisme dan perkembangbiakan sel. Rahmawati (2006), menyatakan peningkatan jumlah bakteri menyebabkan peningkatan perombakan senyawa gula yang ada pada medium menjadi asam-asam organik. Adapun jumlah mikroorganisme probiotik yang diperlukan untuk dikonsumsi dan baik untuk kesehatan adalah berkisar antara  $10^7 - 10^9$  cfu/ml (Fuller 1992 dalam Haryadi 2013).

Waktu fermentasi adalah salah satu faktor terpenting dalam proses pembuatan kefir. Waktu fermentasi akan berpengaruh terhadap perubahan sifat fisik, kimia, dan mikrobiologi kefir sehingga berpengaruh terhadap kualitas kefir. Hal ini telah dibuktikan pada penelitian Haryadi (2013), bahwa waktu inkubasi 16 jam adalah perlakuan terbaik berdasarkan parameter nilai pH dan jumlah bakteri asam laktat. Sedangkan penelitian Ridawati (2013), bahwa lama fermentasi 18 jam dalam pembuatan kefir sari kecambah kacang hijau mempunyai kualitas yang baik.

Proses fermentasi dalam kefir secara langsung menghasilkan metabolit primer yang berupa asam laktat dan alkohol. Alkohol yang terbentuk selama proses fermentasi dihasilkan oleh khamir (*yeast*). Hasil penelitian Fratiwi (2008), bahwa dengan lama fermentasi 24 jam menghasilkan kadar alkohol 1,310% pada kefir susu kacang kedelai. Penelitian Yusriyah (2014), dengan konsentrasi starter 5 % pada fermentasi 24 jam diperoleh kadar alkohol sebanyak 15,607 % pada kefir susu sapi. Adapun Majelis Ulama Indonesia Nomor 4 Tahun 2003, mengenai standarisasi fatwa halal ditetapkan bahwa minuman yang termasuk dalam kategori khamr adalah minuman yang mengandung ethanol ( $C_2H_5OH$ ) minimal 1%. Dari pernyataan tersebut sangat disayangkan jika minuman kefir susu kacang kedelai yang memiliki kandungan gizi yang cukup baik bagi tubuh tidak dapat dikonsumsi karena mengandung etanol yang melebihi fatwa halal MUI. Oleh sebab itu, untuk mengurangi nilai kadar alkohol yang tinggi pada kefir maka perlu dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui lama fermentasi yang tepat

dengan kandungan alkohol < 1%, sehingga dapat memperbaiki kualitas kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L) Merrill).

### **1.2 Rumusan masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu bagaimana pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH, total asam, jumlah mikroba, protein dan kadar alkohol kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L) Merrill)?

### **1.3 Tujuan**

Tujuan dalam penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH, total asam, jumlah mikroba, protein dan kadar alkohol pada kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L) Merrill).

### **1.4 Hipotesis**

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu adanya pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH, total asam, jumlah mikroba, protein dan kadar alkohol pada kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L) Merrill).

### **1.5 Manfaat**

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi secara ilmiah tentang pemanfaatan kacang kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) sebagai salah satu bahan alternatif dalam pembuatan kefir.

2. Memberikan pengetahuan melalui penelitian dengan adanya produk baru yang memiliki sifat fungsional, dan dapat dijadikan masukan bagi peneliti selanjutnya, untuk melihat aspek yang lain dari kefir susu kacang kedelai, serta dapat mengetahui waktu fermentasi yang tepat sehingga sesuai dengan standart mutu kefir.

### 1.6 Batasan Masalah

Batasan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Kacang kedelai (*Glycine max* (L) Merill) sebagai bahan susu kedelai varietas unggul wilis yang diperoleh dari BALITKABI (Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi) Malang
2. Starter kefir diperoleh dari Laboratorium Teknik Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang
3. Gula yang digunakan yaitu gula pasir
4. Lama fermentasi 12 jam, 14 jam, 16 jam dan 18 jam.
5. Parameter yang akan diuji meliputi nilai pH, total asam, jumlah mikroba, protein dan kadar alkohol

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kedelai (*Glycine max* (L) Merrill)

##### 2.1.1 Kajian Umum Kedelai

Kedelai merupakan tanaman biji-bijian yang mengandung sumber protein dan lemak nabati. Kandungan protein nabati dalam kedelai mencapai 35% bahkan pada beberapa varietas dapat mencapai 40-43% (Zen, 2009). Oleh karena itu dapat dijadikan sumber protein yang dimanfaatkan sebagai sumber makanan yang mempunyai nilai gizi baik. Tanaman biji-bijian ini dijelaskan dalam Al-Qur'an surat Yasin/36 ayat 33:

وَأَيُّهُمُ الْأَرْضُ الْمَيِّتَةُ أَحْيَيْنَاهَا وَأَخْرَجْنَا مِنْهَا حَبًّا فَمِنْهُ يَأْكُلُونَ ﴿٣٣﴾

*Artinya: “Dan suatu tanda (kekuasaan Allah yang besar) bagi mereka adalah bumi yang mati. Kami hidupkan bumi itu dan kami keluarkan dari padanya biji-bijian, maka dari padanya mereka makan” (Qs. Yasin /36: 33).*

Berdasarkan *Tafsir Ibnu Katsir* (2004), makna lafad *وَأَيُّهُمُ الْأَرْضُ الْمَيِّتَةُ* yang artinya “Dan suatu tanda (kekuasaan Allah yang besar) bagi mereka.” Yaitu tanda bagi mereka tentang adanya Maha Pencipta, kekuasaan-Nya yang sempurna dan perbuatan-Nya menghidupkan yang mati. Adapun kata *الارض الميئة* yang berarti bumi yang mati dan kata *حبا* yang berarti biji-bijian. Bumi yang mati merupakan bumi yang gersang atau tidak subur sedangkan biji yang dimaksud adalah biji-bijian dari semua jenis tanaman dan biji-bijian tersebut dapat dijadikan sebagai rizki bagi manusia dan binatang-binatang ternak. Ayat tersebut dapat diartikan

bahwa bumi yang mati merupakan tanah yang kering, kedelai yaitu tanaman yang tahan terhadap kekeringan dan dikategorikan dalam satu tanaman biji-bijian yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber makanan. Seperti yang tercantum dalam Al-Qur'an surat Al-An'am/6 ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا  
 نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ  
 وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي  
 ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

*Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan. Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (Qs. Al-An'am/6 :99).*

Makna lafad *حبا متراكبا* yang berarti butir yang banyak. Butir yang dimaksud dalam ayat ini adalah biji atau buah yang dihasilkan oleh suatu tanaman, didalam biji mengandung beberapa komposisi diantaranya protein, karbohidrat, zat gula, dan zat tepung (Ibnu Katsir, 2004). Adapun pentingnya biji-bijian pada tanaman sebagai sumber pangan ini dikisahkan pada masa nabi Yusuf A.S yang menjelaskan dalam Al-qur'an surat Yusuf/12 ayat 47-48:

قَالَ تَزْرَعُونَ سَبْعَ سِنِينَ دَأْبًا فَمَا حَصَدْتُمْ فَذَرُوهُ فِي سُنْبُلِهِ إِلَّا قَلِيلًا مِّمَّا تَأْكُلُونَ  
 ثُمَّ يَأْتِي مِنْ بَعْدِ ذَلِكَ سَبْعٌ شِدَادٌ يَأْكُلْنَ مَا قَدَّمْتُمْ هُنَّ إِلَّا قَلِيلًا مِّمَّا تُحْصِنُونَ



*Artinya: “Dia (Yusuf) berkata, “Agar kamu bercocok tanam tujuh tahun (berturut-turut) sebagaimana biasa, kemudian apa yang kamu panen hendaklah kamu biarkan di tangkainya kecuali sedikit untuk kamu makan (47) Kemudian setelah itu akan datang tujuh (tahun) yang sangat sulit, yang menghabiskan apa yang kamu simpan untuk menghadapinya (tahun sulit), kecuali sedikit apa (bibit gandum) yang kamu simpan” (Qs. Yusuf/12 :47-48).*

Berdasarkan ayat diatas terdapat lafad *تزرعون* yang berarti bercocok tanam. Ayat diatas menerangkan bahwa Nabi Yusuf A.S memerintahkan kepada ummatnya untuk bercocok tanam selama tujuh tahun, dan ketika tiba waktu panen maka biji atau buah yang didapat untuk dibiarkan dan agar tahan lama. Hal ini dimaksudkan untuk persiapan menghadapi tujuh tahun yang sangat sulit yang akan datang (masa peceklik) (Ash-Shiddieqy, 2000). Dari kisah ini dapat diartikan bahwa tanaman pangan merupakan tanaman yang sangat penting karena menjadi sumber makanan bagi makhluk hidup dimana salah satu tanaman pangan yang banyak dimanfaatkan adalah kacang kedelai.

Masyarakat mengenal kedelai karena gizinya, terutama proteinnya yang mencapai 40%. Protein kedelai memiliki kandungan asam amino sulfur yang rendah, seperti metionin, sistein, dan threonin, tetapi kualitas protein nabati ini setara dengan protein hewani. Kandungan asam amino lisin cukup tinggi, karena itu sering digunakan pengkayaan gandum. Kadar lemak kedelai adalah tertinggi diantara kacang-kacangan, dengan didominasi oleh asam lemak tak jenuhnya

seperti asam linoleat, asam linolenat, dan asam oleat. Asam linoleat sebesar 53% dari total kandungan asam lemak tak jenuh, tetapi sedikit kandungan asam lemak  $\omega$ -3 (asam lemak yang baik). Karbohidrat kedelai tersusun atas glukosa, arabinosa, sukrosa, rafinosa, dan stachiosa. Adanya kandungan rafinosa dan stachiosa ini menyebabkan lambung flatulensi (rasa sebab) dan tidak nyaman, setelah konsumsi kedelai (Winarsi, 2010).

Selain kandungan protein, kacang kedelai juga mengandung senyawa flavonoid yang lebih dikenal sebagai isoflavon kedelai, yang merupakan senyawa non-nutritif. Banyak peneliti yang telah menelusuri potensinya untuk kesehatan. komponen kedelai tersebut mampu memperbaiki status antioksidan wanita yang telah memasuki masa menopause. Demikian pula pada status imunnya juga ditingkatkan oleh senyawa isoflavon kedelai tersebut. Tampaknya komponen kedelai tersebut juga bersifat *estrogen like*, sehingga dapat menghilangkan beberapa sindrom menopause pada wanita yang telah berusia lebih dari 40 tahun di Purwokerto. Dalam penelitian selanjutnya, senyawa flavonoid tersebut juga mampu memperbaiki profil lipid wanita. Bagi wanita muda yang sering mengkonsumsi isolate protein kedelai plus ataupun tanpa isoflavon dapat menyeimbangkan kebutuhan asam amino (Winarsi, 2010).

Banyak penelitian yang mengungkap manfaat konsumsi polong-polongan seperti kedelai. Makanan berbasis kedelai diyakini sebagai sumber protein berkualitas dengan kandungan lemak jenuh rendah, dan bahkan bebas kolesterol. Pada tanggal 26 Oktober 1999, FDA (*Food and Drugs Administrasion*) di Amerika menyetujui suatu pertanyaan bahwa protein kedelai berperan dalam

menurunkan risiko penyakit jantung koroner. Pernyataan ini berkaitan dengan komponen yang terkandung dalam kedelai yang memiliki kandungan lemak jenuh tetapi kolesterolnya rendah, sehingga mampu mengurangi risiko penyakit jantung koroner (Winarsi, 2010). Adapun komposisi zat gizi dan zat kimia pada kacang-kacangan adalah sebagai berikut:

Tabel 2.1 Komposisi zat gizi dan zat kimia pada kacang-kacangan (100 g)

Komponen	Sat	Kacang tanah	Kacang kedelai	Kacang hijau	Kacang merah	Kacang tolo
Air	%	5,6	70	11,7	10,4	10,5
Energy	Kal	564	403	340	343	343
Protein	G	26	34,1	24,1	22,5	22,8
Lemak	G	47,5	17,7	1,3	1,5	1,5
Karbohidrat	G	18,6	33,5	60,3	61,9	61,7
Serat	G	2,4	4,9	4,9	1,6	1,1
Abu	G	2,3	4,7	2,6	1,5	3,5
Ca	Mg	69	226	64	73	74
P	Mg	401	554	340	406	426
Fe	Mg	2,1	8,4	5,1	6,9	5,8
Na	Mg	5	5	35	10	35
K	Mg	674	1677	1055	984	1024
Vit. A	UI	-	80	120	20	30
Thiamin	Mg	1,14	1,1	0,75	0,51	1,05
Ribovlavin	Mg	0,13	0,31	0,29	0,2	0,21
Niacin	Mg	17,2	2,2	3,0	2,3	2,2
Vit. C	Mg	0	-	-	2,3	2,2

Sumber: Sarwono dkk., (2003) Indeks Glikemik Berbagai Makanan Indonesia

Pada umumnya kandungan protein kacang-kacangan adalah 20-25%, tetapi khusus pada kedelai mencapai 40%. Protein kedelai memiliki kandungan asam amino sulfur yang rendah (Tabel 2.1). Metionin merupakan asam amino sulfur yang paling terbatas jumlahnya, kemudian disusul sistein dan threonin. Meskipun memiliki keterbatasan dalam kandungan asam amino sulfur, namun perbedaannya tidak begitu signifikan, mengingat kualitas protein kedelai setara

dengan protein hewani (Winarsi, 2010). Adapun komposisi asam amino dalam kedelai adalah sebagai berikut:

Tabel 2.2 Komposisi asam amino dalam kedelai kering

Asam amino	mg/g protein
Arginin	77,16
Alanin	40,23
Asam aspartate	68,86
Sistin	25,00
Asam glutamate	190,16
Glisin	36,72
Histidin	34,38
4-hidrosiprolin	1,40
Isoleusin	51,58
Leusin	81,69
Lisin	68,37
Metionin	10,70
Fenilalanin	56,29
Prolin	52,91
Serin	54,05
Treonin	41,94
Triptofan	12,73
Tirosin	41,55
Valin	41,55

Sumber : Liu (1999)

Lebih dari itu, protein kedelai mengandung cukup lisin (biasanya kadar asam amino tersebut kurang dalam protein gandum). Selain itu, jenis-jenis asam amino pada kedelai mampu mengimbangi asam amino pada gandum. Dengan demikian polong-polongan dapat dimanfaatkan untuk melengkapi gizi gandum (Winarsi, 2010).

Kandungan lemak kedelai sekitar 18-22%. Sebagian besar komponen trigliserida menyusun 99% lemak kedelai. Komponen minornya meliputi fosfolipid, senyawa yang tidak tersaponifikasi (tokoferol, fitosterol, dan karbohidrat), dan asam lemak bebas. Sebagian besar kacang-kacangan memiliki

kandungan lemak rendah, namun kedelai merupakan pengecualian karena kandungan lemaknya tertinggi diantara keluarga kacang-kacangan yaitu 47%. Lemak didominasi oleh asam lemak tak jenuh rantai panjang yaitu asam linoleat (C18:2) dan asam linolenat (C18:3). Lemak kedelai juga mengandung asam lemak tak jenuh lain dalam jumlah besar yakni asam oleat (C18:1) dan asam lemak tak jenuh dalam jumlah sedang antara lain asam palmitat (C16:0) dan asam stearat (C18:0). Asam lemak yang tak jenuh utama adalah asam linoleat, yaitu 53% dari total kandungan asam lemak tak jenuh. Asam lemak linolenat juga luar biasa karena kandungannya sekitar 7-8%. Hanya sedikit kandungan asam lemak  $\omega$ -3 (asam lemak yang baik, missal asam linolenat) (Winarsi, 2010).

Karbohidrat kedelai sekitar 35%, merupakan komponen terbesar kedua. Makanan berbahan kedelai mengandung 1% pati. Komponen dinding selnya merupakan polisakarida non-pati, berfungsi melindungi sejumlah besar molekul polisakarida kecuali  $\alpha$ -glukan (pati). Penyusun dinding sel ini dibagi kedalam 3 kelompok yaitu selulosa, polimer non-selulosa (hemiselulosa), dan polisakarida pectin. Dinding sel kedelai mengandung 92% polisakarida. Senyawa gula utama dalam polisakarida ini adalah arabinosa, galaktosa, asam uronat, dan glukosa (Winarsi, 2010).

Kacang kedelai dapat digunakan sebagai bahan baku beraneka jenis pembuatan makanan atau minuman. Konsumsi kacang kedelai umumnya digunakan sebagai pembuatan tempe, tahu dan susu. Namun pemanfaatan kedelai sebagai olahan susu merupakan teknik yang sederhana, dan lebih mudah

dibandingkan dengan bentuk olahan makanan lain. Pengolahan kacang kedelai sebagai susu mempunyai kandungan atau gizi yang baik bagi kesehatan tubuh.

### **2.1.2 Kajian Umum Susu Kedelai**

Susu kedelai merupakan minuman yang bergizi tinggi, terutama karena kandungan proteinnya. Selain itu susu kedelai juga mengandung lemak, karbohidrat, kalsium, phosphor, zat besi, provitamin A, Vitamin B kompleks (kecuali B12), dan air. Namun perhatian masyarakat terhadap jenis minuman ini pada umumnya masih kurang. Susu kedelai ini harganya lebih murah daripada susu produk hewani (Amrin, 2005).

Susu kedelai baik dikonsumsi oleh orang-orang yang alergi susu sapi, yaitu orang-orang yang tidak punya atau kekurangan enzim laktase (b-galaktosidase) dalam saluran pencernaannya, sehingga tidak mampu mencerna laktosa yang terkandung dalam susu sapi (Koswara, 2006). Ketahanan tubuh masing-masing orang terhadap susu hewani yang mengandung laktosa berbeda-beda. Hal ini sangat dipengaruhi oleh kandungan enzim laktase dalam mukosa usus. Enzim laktase ini berguna untuk menghidrolisis laktosa menjadi gula sederhana yaitu glukosa dan galaktosa agar dapat digunakan untuk metabolisme dalam tubuh manusia. Bila kekurangan enzim lactase maka laktosa tidak dapat dicerna dengan baik, sebagai akibatnya laktosa akan tertimbun dalam jaringan tubuh manusia sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan tubuh. Lebih dari 70% orang-orang dewasa di Afrika, Asia, dan Indian Amerika menunjukkan adanya kekurangan enzim laktase (Buckle, 1987).

Susu kedelai mengandung protein nabati tidak kalah gizinya dengan susu yang berasal dari hewan (susu sapi). Komposisi gizi di dalam susu kedelai dan susu sapi dapat dilihat pada Tabel 2.3. Dapat dilihat bahwa kandungan protein dalam susu kedelai hampir sama dengan kandungan protein dalam susu sapi.

Tabel 2.3 Komposisi gizi susu kedelai cair dan susu sapi (dalam 100 gram)

<b>Komponen</b>	<b>Susu Kedelai</b>	<b>Susu Sapi</b>
Kalori (Kkal)	41,00	61,00
Protein (gram)	3,50	3,20
Lemak (gram)	2,50	3,50
Karbohidrat (gram)	5,00	4,30
Kalsium (mg)	50,00	143,00
Fosfor (gram)	45,00	60,00
Besi (gram)	0,70	1,70
Vitamin A (SI)	200,00	130,00
Vitamin B1 (tiamin) (mgram)	0,08	0,03
Vitamin C (mgram)	2,00	1,00

Sumber: Aman dan Hardjo, (1973).

Selain itu, beberapa balita alergi terhadap laktosa sehingga dianjurkan mengkonsumsi produk pangan lain yang mempunyai kandungan gizi hampir sama dengan susu hewani. Apabila seseorang tidak boleh atau tidak dapat mengkonsumsi daging atau sumber protein hewani lainnya, kebutuhan protein sebesar 55 gram per hari dapat dipenuhi dengan makanan yang berasal dari 157,14 gram kedelai. Oleh karena itu orang mulai mencari alternatif lain untuk mengganti susu sapi dan akhirnya telah ditemukan susu nabati yang terbuat dari bahan baku kedelai (Santoso, 2009).

Daya osmosis laktosa sangat tinggi dan dapat menarik air dari cairan tubuh masuk usus kecil, dan dapat merangsang gerakan peristaltik dinding usus lebih cepat sehingga laktosa yang masuk tidak berhasil dipecah oleh enzim pencernaan. Ini dapat mendorong isi usus kecil secara cepat menuju usus besar. Di usus besar

bakteri akan memfermentasi laktosa menjadi berbagai asam organik dan gas, kemudian timbullah gejala-gejala sakit perut, mulas, kejang perut dan diare. Oleh sebab itu perlu dikembangkan suatu produk yang mempunyai nilai gizi mirip susu hewani tetapi tidak mengandung laktosa yaitu susu kedelai (Budimarwanti, 2010).

Atas dasar ketersediaannya dikenal 2 kelompok asam amino, yaitu asam amino esensial dan asam amino non esensial. Asam amino esensial adalah asam amino yang sangat diperlukan oleh tubuh, tetapi tidak dapat disintesis dari bahan makanan dengan kecepatan yang memadai (sesuai dengan kebutuhan), oleh karena itu harus disediakan dalam bentuk jadi (sudah ada dalam bahan makanan yang dikonsumsi). Termasuk dalam kelompok asam amino esensial yaitu: lisin, triptopan, fenilalanin, leusin, isoleusin, treonin, metionin, valin. Jika dilihat komposisi asam amino yang terkandung dalam susu kedelai menunjukkan bahwa susu kedelai mengandung kedelapan asam amino esensial. Asam amino non esensial juga sangat diperlukan oleh tubuh sama pentingnya seperti asam amino esensial. Akan tetapi asam amino non esensial ini dapat disintesis oleh tubuh dalam jumlah yang memadai dari bahan-bahan yang ada dalam makanan (Budimarwanti, 2010).

Protein susu kedelai mempunyai susunan asam amino yang mirip susu sapi sehingga dapat dijadikan pengganti susu sapi bagi mereka yang alergi (*lactose intolerance*) atau bagi mereka yang tidak menyukai susu sapi. Komposisi asam amino di dalam susu kedelai dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Komposisi asam amino susu kedelai (mg/gram nitrogen total)

<b>Asam Amino</b>	<b>Susu Kedelai (mg)</b>
Isoleusin	330
Leusin	470
Lisin	330
Metionin	86
Sistin	46
Fenilalanin	330
Treonin	210
Triptofan	85
Valin	360
Arginin	400
Histidin	140
Alanin	280
Asam aspartate	710
Asam glutamate	1.100
Nitrogen	0,49

Sumber: Santoso, 1994

Susu kedelai merupakan salah satu minuman suplemen (tambahan) yang dianjurkan diminum secara teratur sesuai kebutuhan tubuh. Sebagai minuman tambahan, artinya susu kedelai bukan merupakan obat, tetapi bisa menjaga kondisi tubuh agar tetap fit sehingga tidak mudah terserang penyakit (Amrin, 2005).

Susu kedelai juga dikenal sebagai minuman kesehatan karena tidak mengandung kolesterol tetapi mengandung fitokimia, yaitu suatu senyawa dalam bahan pangan yang berkhasiat menyehatkan tubuh. Susu kedelai juga mengandung lesitin yang sangat tinggi. Lesitin digunakan sebagai pengemulsi pada margarin, pembuatan roti dan lainnya. Lesitin dari kacang kedelai mempunyai sifat lebih unggul sebagai peremaja sel tubuh, jika dibandingkan lesitin dari bahan-bahan lain. Kandungan lesitin bersama dengan zat-zat lain pada

kacang kedelai merupakan senyawa yang sangat berkhasiat sebagai obat awet muda, dan mempertinggi daya tahan tubuh (Cahyadi, 2007).

## 2.2 Kefir

### 2.2.1 Pengertian Kefir

Kefir adalah minuman yang berasal dari susu, hasil fermentasi oleh sejumlah mikroba, yaitu bakteri penghasil asam laktat (BAL), bakteri penghasil asam asetat, dan khamir (ragi). Kefir merupakan minuman hasil fermentasi susu dengan bibit kefir (*kefir grains*) yang berasal dari kawasan pegunungan Kaukasus (wilayah bagian Rusia) di Eropa Timur. Konon menurut sejarah, awalnya kefir berasal dari daerah Timur Tengah (Wijayaningsih, 2008).

Kata kefir sendiri berasal dari bahasa Turki yang artinya sehat dan panjang umur. Mungkin ini merujuk kepada penduduk Kaukasus yang tetap sehat, awet muda, dan berumur panjang karena mengonsumsi kefir secara teratur. Saat ini kefir sangat dikenal luas di Eropa dan diperdagangkan dengan berbagai sebutan, diantaranya *kephir*, *kiaphur*, *kefyr*, *knapon*, *kepi* dan *kippe*. Kefir disebut juga *The Champagne of Cultured Milk* atau minuman yang paling bernilai dari berbagai jenis susu fermentasi. Kefir sering disamakan dengan produk fermentasi susu yogurt, namun kefir memiliki khasiat kesehatan dalam skala yang lebih luas (Wijayaningsih, 2008). Kefir mengandung 0,5-1,0% alkohol dan 0,9-1,1% asam laktat (Surono, 2004).

Kefir diperoleh melalui proses fermentasi susu pasteurisasi, menggunakan starter berupa butir atau biji kefir (kefir grains/kefir granule), yaitu butiran-butiran

putih atau krem dari kumpulan bakteri, antara lain *Streptococcus sp.*, *Lactobacilli* dan beberapa jenis ragi/khamir non pathogen. Bakteri berperan menghasilkan asam laktat dan komponen flavor, sedangkan ragi menghasilkan gas asam arang atau karbon dioksida dan sedikit alkohol. Itulah sebabnya rasa kefir disamping asam juga sedikit ada rasa alkohol dan soda, yang membuat rasa kefir lebih segar. kombinasi karbon dioksida dan alkohol menghasilkan buih yang menciptakan karakter mendesis pada produk (Usmiati, 2007).

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  $\beta$ -galactosidase yang baik untuk penderita *lactose intoleran*. Komponen antibakteri juga dihasilkan selama fermentasi kefir seperti asam organik (asam laktat dan asetat), karbondioksida, hydrogen peroksida, etanol, diasetil dan peptide (bakteriosin) yang tidak hanya berguna untuk menghambat pertumbuhan bakteri pathogen dan bakteri pembusuk selama pengolahan dan penyimpanan makanan, tetapi dapat pula digunakan untuk pencegahan beberapa gangguan pencernaan dan infeksi (Farnworth, 2005).

### **2.2.2 Nilai Gizi dan Khasiat Kefir**

Kandungan gizi kefir hampir sama dengan gizi susu bahan kefir. Kelebihannya dibandingkan dengan susu segar adalah karena asam yang terbentuk dapat memperpanjang masa simpan, mencegah pertumbuhan mikroorganisme

pembusuk sehingga mencegah kerusakan susu, dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme patogen sehingga meningkatkan keamanan produk kefir (Sawitri, 2007). Komposisi kefir kimia dipaparkan sebagai berikut:

Tabel 2.5 Komposisi Kefir Kimia

No	Komponen	Kadar
1.	CO <sub>2</sub>	0,65-1,33 g/l
2.	Protein	3,16-3,18 %
3.	Lemak	3,07-3,17 %
4.	Laktosa	1,8-3,8 %
5.	Etanol	0,5-1,5 %
6.	Asam lemak	0,7-1,0 %

Sumber: Pangkalan Ide, Health Secret Of Kefir 2008

Adapun kefir memiliki berbagai kelebihan jika dibandingkan dengan susu segar, yaitu:

- 1) Asam yang terbentuk dapat memperpanjang masa simpan, mencegah pertumbuhan mikroorganisme pembusuk sehingga mencegah pertumbuhan mikroorganisme pathogen sehingga dapat meningkatkan produk kefir (Fardiaz, 1987).
- 2) Mengandung mineral dan asam amino esensial (tryptopan) yang berfungsi sebagai unsur pembangun, pemelihara, dan memperbaiki sel yang rusak
- 3) Meningkatkan ketersediaan mineral, vitamin (B2, B12, asam folat, fosfor dan kalsium) yang baik untuk tubuh
- 4) Fosfor dari kefir membantu karbohidrat, lemak dan protein dalam pembentukan sel serta untuk menghasilkan tenaga (Surono, 2004).

Untuk memenuhi persyaratan mutu, kefir yang dihasilkan dibandingkan dengan persyaratan mutu yogurt karena SNI kefir belum ada, sehingga kefir disesuaikan dengan produk susu fermentasi lain yang hampir sama yaitu Standar

Nasional Indonesia untuk yoghurt. Adapun Standar Nasional Indonesia untuk yoghurt disajikan pada Tabel 2.6.

Tabel 2.6 Standar Nasional Indonesia untuk Yoghurt

<b>Kriteria uji</b>	<b>Persyaratan</b>
Keadaan penampakan	Cairan kental/semi padat
Bau	Normal/khas
Rasa	Khas/asam
Konsistensi	Homogen
Lemak (% b/b)	Maksimum 3,8
Berat kering tanpa Lemak (BKTL) (% b/b)	8,2
Protein (% b/b)	Min 3,5
Abu (% b/b)	Maks 1,0
Jumlah asam (dihitung sebagai laktat) (% b/b)	0,5-2,0
Cemaran logam (md/kg)	
Timbal (Pb)	Maksimum 0,3
Tembaga (Cu)	Maksimum 20
Timah (Sn)	Maksimum 40
Raksa (Hg)	Maksimum 0,03
Arsen (As)	Maksimum 0,1
Cemaran mikroba	
Bakteri coliform (angka paling mungkin)	Maksimum 10
Escheria coli	< 3
Salmonella	Negatif

Sumber: Dewan Standardisasi Nasional (1992)

Kefir diyakini sebagai minuman yang berkhasiat multiguna, BAL dalam kefir berfungsi sebagai probiotik yang bermanfaat menjaga keseimbangan mikroorganisme saluran pencernaan, menurunkan produksi racun seperti, fenol, ammonia dan nitrosamin. Sebagai minuman fungsional, kefir diduga bisa menurunkan kolesterol, menurunkan risiko timbulnya kanker dan penyakit jantung koroner. Efek penenang kefir pada sistem saraf bermanfaat mengatasi masalah insomnia, stress, depresi dan ADHD (*Attention Deficit Hyperactive Disorder*) (Sawitri, 2007).

Beberapa efek kesehatan yang diperoleh dari bakteri asam laktat antara lain dapat memperbaiki daya cerna laktosa, mengendalikan jumlah bakteri pathogen 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).

### 2.2.3 Mikroorganismen dalam Starter Kefir *Grains* (Bibit Kefir)

Starter dari produk kefir adalah biji kefir yang menyebabkan fermentasi. Biji ini mengandung bahan kering sebanyak 10% yang terdiri dari karbohidrat 56%, protein 32%, polisakarida 24% dan komponen lainnya (Usmiati, 2007). Butiran-butiran bibit kefir ini mengandung campuran berbagai bakteri dan khamir (ragi) yang dikelilingi oleh gumpalan gula polisakarida yang disebut kefiran. Jenis bakteri dalam kefir terdiri dari *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter*, dan ragi yang semuanya merupakan probiotik yang bermanfaat menjaga kesehatan, terutama kesehatan pencernaan. Bibit kefir juga sering disebut *kefir grains*, *kefir granules*, *natural starter*, atau *natural-mother culture*. Bibit ini merupakan suatu biomatriks yang lembut, berwarna putih, mengandung protein, lemak dan polisakarida kompleks (kefiran). Kadar kefiran dapat mencapai 45 persen dari bibit kefir kering (Sawitri, 2007).



Gambar 2.1 Bibit Kefir (*kefir grains*)

Mikroorganisme dalam kefir grains yang dapat diidentifikasi yaitu 1) bakteri mesofilik asam laktat seperti *Streptococcus lactis*, dan *S. cremoris*, 2) bakteri aromatic asam laktat seperti *Leucinastoc kefir*, *L. destranicum* dan *L. mesenteroides*, 3) *Lactobacillus termofilik kefir*, *L.bresvis*, *L.bulgaricus*, *L.buchneri* dan *L.caucasium*, 4) bakteri asam asetat *Acetobacter aceti* dan *Gluconobacter spp*, 5) khamir, termasuk juga *yeast* yang memfermentasi laktosa seperti *Candida kefir* (*C.kefir*, *C.pseudotropicalis var. lactose*) dan *Saccharomyces lactis*. Selain itu masih banyak mikroorganisme penyusun kefir grains yang belum teridentifikasi (Kanbe, 1992).

Menurut Cousens (2003), menyatakan butir kefir berkualitas tinggi mengandung :

1. *Streptococcus lactis*, yang menghasilkan asam laktat, membantu pencernaan, menghambat mikroorganisme berbahaya, dan menghasilkan bacteriolysis.
2. *Lactobacillus plantaturum* yang membantu asam laktat, perkelahian melawan *listeria monocitogenes* dan membantu plantaricin yang menghambat mikroorganisme yang menyebabkan pembusukan
3. *Streptococcus cremoris*, yang memiliki sifat yang mirip *S.lactis*.

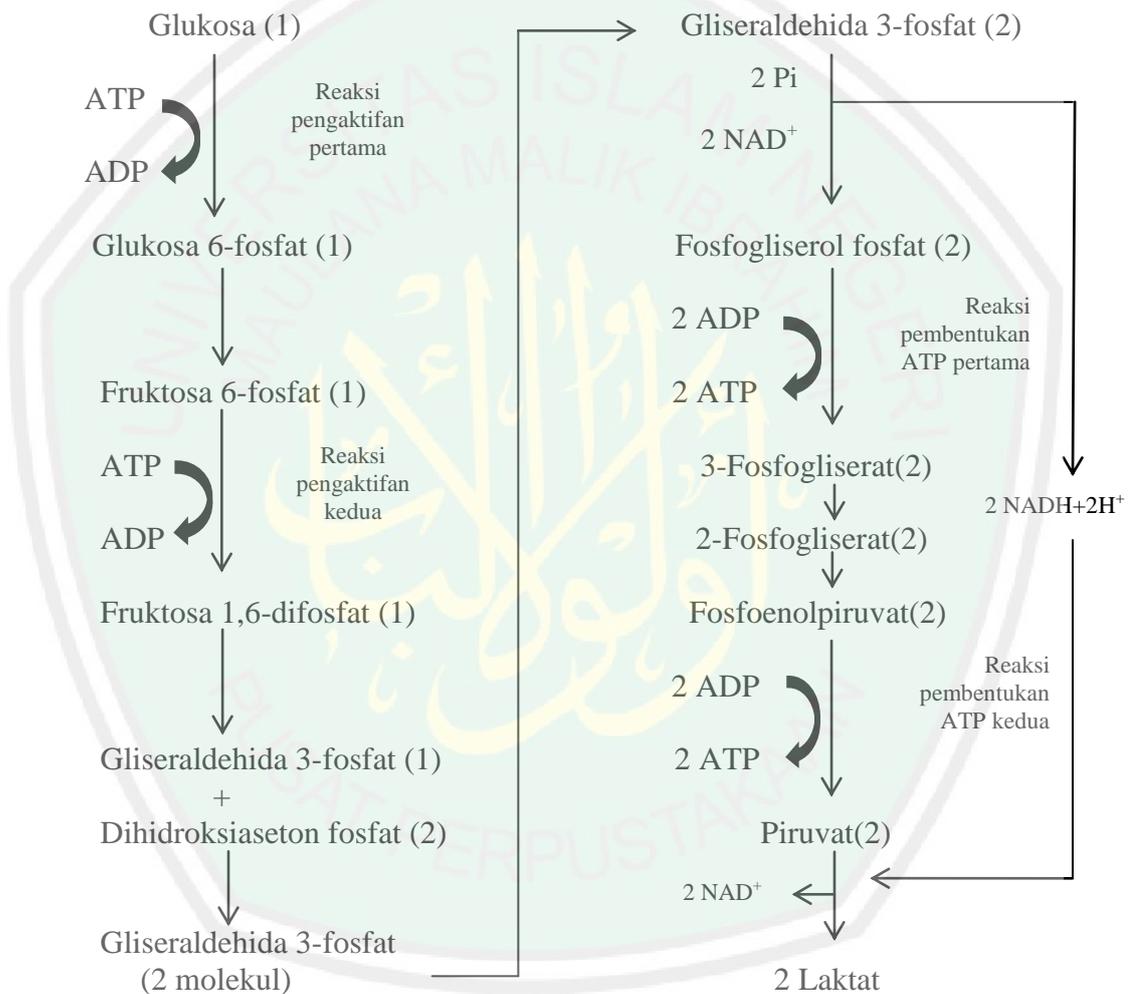
4. *Lactobacillus casei* yang menghasilkan sejumlah besar L (+) asam laktat, berkolonisasi dengan baik disaluran pencernaan, menciptakan media yang menggantungkan bagi bakteri lain untuk tumbuh, menghambat pembusukan, meningkatkan fungsi kekebalan tubuh, dan menghambat bakteri patogen dan membantu melindungi terhadap infeksi bakteri.
5. *Streptococcus diacetylactis* menghasilkan CO<sub>2</sub> dalam kefir, membuat diacetyl yang memberikan kefir bau khas, dan memiliki sifat umum mirip dengan *S.lactis*.
6. *Saccharomyces florentinus* dan *Leuconastic cremoris* yang tidak menyebabkan candida.

Bibit kefir tidak dapat dikeringkan dengan pemanasan karena sebagian mikroorganisme di dalamnya akan mati. Bibit kefir masih aktif jika diawetkan dengan cara pengeringan beku (*freeze drying*). Tapi cara terbaik menyimpan bibit kefir adalah dengan memindahkan bibit kefir lama ke dalam susu yang di pasteurisasi secara berkala, diinkubasi semalam dan disimpan dalam lemari es bersuhu  $4^{\circ}\text{C} - 7^{\circ}\text{C}$ , dalam kondisi seperti ini bibit kefir tetap aktif selama kurang lebih sebulan (Sawitri, 2007).

#### **2.2.4 Proses Fermentasi Kefir**

Tahap pertama fermentasi kefir susu kacang kedelai yaitu dimulai dengan mengubah sukrosa menjadi D-glukosa dan D-fruktosa oleh bantuan enzim sukrase. Selanjutnya glukosa akan dipecah menjadi asam piruvat yang disebut Glikolisis glukosa melalui Jalur Embden-MeyerhofParnas (EMP) (Purwoko,

2007). Glikolisis merupakan proses penguraian molekul glukosa yang memiliki 6 atom karbon, secara enzimatik didalam urutan 10 reaksi enzimatik, untuk menghasilkan 2 molekul piruvat, yang memiliki 3 atom karbon. Adapun lintasan glikolisis anaerobic dijelaskan dalam reaksi kimia berikut (Lehninger, 1990)



Keterangan: Lintasan glikolisis memiliki 2 fase, yaitu fase pertama (1) fosforilasi glukosa dan pengubahannya menjadi gliseraldehida 3-fosfat dan fase kedua (2) perubahan gliseraldehida 3-fosfat menjadi laktat dan pembentukan yang terjadi secara bersamaan.

Menurut Supriyono (2008) proses fermentasi pada kefir yang dilakukan oleh bakteri asam laktat terbagi atas dua jenis, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Beberapa contoh genus yang merupakan bakteri homofermentatif dalam starter bibit kefir adalah *Lactococcus* dan beberapa *Lactobacillus* seperti spesies *Lactobacillus casei*. Sedangkan contoh genus bakteri heterofermentatif yaitu *Leuconostoc* dan beberapa bakteri *Lactobacillus* seperti spesies *Lactobacillus brevis* (Irianto, 2013). Adapun reaksi kimia dari kedua bakteri tersebut, yaitu (Supriyono, 2008):

Fermentasi Bakteri Homofermentatif :



Fermentasi Bakteri Heterofermentatif



Secara garis besar keduanya memiliki kesamaan dalam mekanisme pembentukan asam laktat, yaitu piruvat akan dirubah menjadi laktat dan diikuti dengan proses transfer elektron dari NADH menjadi NAD<sup>+</sup>. Pola fermentasi ini dapat dibedakan dengan mengetahui keberadaan enzim-enzim yang berperan dalam jalur metabolisme glikolisis. Pada fermentasi heterofermentatif, tidak ada aldose dan heksose, tetapi menggunakan enzim fosfoketolase dan menghasilkan CO<sub>2</sub>. Metabolisme heterofermentatif dengan menggunakan heksosa akan menggunakan jalur heksosa monofosfat atau pentosa fosfat. Sementara itu, proses fermentasi homofermentatif melibatkan aldose dan heksose, tetapi tidak memiliki fosfoketolase serta hanya sedikit atau sama sekali tidak menghasilkan CO<sub>2</sub>. Jalur

metabolisme yang digunakan pada homofermentatif adalah lintasan *Embden-Meyerhof-Parnas* (Irianto, 2013).

Tahap kedua fermentasi etanol yaitu proses asam piruvat akan diubah menjadi etanol. Fermentasi etanol merupakan proses serupa dengan glikolisis namun piruvat diubah menjadi etanol melalui asetaldehida dengan bantuan enzim piruvat dekarboksilase dan etanol dehidrogenase. Proses fermentasi etanol berbeda dari glikolisis, karena khamir tidak mengandung dehidrogenase laktat, namun terdapat 2 reaksi sebagai gantinya yaitu piruvat dekarboksilase dan etanol dehidrogenase. Piruvat sebanyak 2 mol juga dihasilkan dalam tahap ini. Tahap ketiga adalah piruvat oleh enzim piruvat dekarboksilase diubah menjadi asetaldehida, lalu asetaldehida teroksidasi menjadi etanol, yang menghasilkan tenaga produksi melalui kerja enzim etanol dehidrogenase. Reaksi kimia dari proses tersebut dijelaskan sebagai berikut (Lehninger, 1990) :



Tahap terakhir adalah peranan dari genus *Acetobacter*, dimana peran dari bakteri *Acetobacter aceti* yang merupakan satu-satunya bakteri dari genus *Acetobacter* dalam kultur stater kefir ini, akan merubah etanol menjadi asam asetat. Perubahan yang terjadi tersebut disebabkan oleh adanya proses asetifikasi dari etanol menjadi asam asetat yang ditimbulkan sebagai akibat aktifitas bakteri tersebut (Timotius. 1982). Reaksi kimia yang terjadi pada perubahan etanol menjadi asam asetat dapat dilihat bahwa ini:



Ada tiga cara penyimpanan dingin berdasarkan perbedaan suhu yaitu suhu kamar (26-28°C), suhu rendah (5-10°C), dan suhu beku (dibawah suhu 0°C). Semakin rendah suhu penyimpanan mengakibatkan daya simpannya bertambah lama (Winarno, 1993).

Penyimpanan pada suhu rendah menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri sehingga menghambat terjadinya perubahan biokimia, fisik dari produk pangan sehingga dapat memperpanjang umur simpannya (Von Bockelmann, 1993). Penelitian Usmiati (2008), bahwa hasil mutu kefir yang baik diperoleh pada penyimpanan suhu rendah adalah sampai 10 hari dengan kadar asam laktat sebesar 1,08%, sedangkan pada penyimpanan pada suhu ruang sampai 4 hari dengan kadar asam laktat 1,07%. Sedangkan kadar alkohol pada kefir yang disimpan selama 12 hari pada suhu kamar maupun suhu rendah ternyata mempunyai kadar alkohol pada kisaran normal yaitu diatas 0,2% dan dibawah 1,0%.

Selain lama fermentasi terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses fermentasi. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi adalah:

1. Suhu

Suhu fermentasi menentukan jenis mikroba yang dominan selama fermentasi. Contohnya *Lactobacillus bulgaricus* yang termasuk dalam kelompok Bakteri asam laktat, pada umumnya suhu pertumbuhan optimum 40°C – 45°C, sedangkan khamir mempunyai suhu pertumbuhan optimum pada 20°C – 30°C. Jika konsentrasi asam yang diinginkan telah tercapai, maka suhu dapat dinaikkan untuk menghentikan fermentasi (Rahman, 1989).

## 2. Substrat (Medium)

Substrat/medium fermentasi menyediakan zat gizi yang diperlukan oleh mikroba untuk memperoleh energi, pertumbuhan, bahan pembentuk sel dan biosintesa produk-produk metabolisme. Berbagai macam substrat dapat dipakai untuk melangsungkan fermentasi yaitu sereal, pati, laktosa, glukosa, dan sukrosa sebagai sumber karbon, sedangkan asam amino, protein, nitrat, garam amonium, tepung kedelai dan sisa fermentasi sebagai sumber nitrogen. Selain untuk memenuhi pertumbuhan sel dan pembentukan produk fermentasi, medium yang digunakan akan berpengaruh terhadap pH (Rahman, 1989).

## 3. pH (keasaman)

Makanan yang mengandung asam pada umumnya dapat bertahan lama. Beberapa hasil fermentasi terutama asam dapat mencegah pertumbuhan mikroba yang beracun didalam makanan misalnya *Clostridium botulinum* yang pada pH dibawah 4,6 tidak dapat tumbuh dan membentuk toksin. Tetapi jika oksigen cukup jumlahnya dan kapang dapat tumbuh serta fermentasi berlangsung terus, maka daya awet dari asam tersebut akan hilang. Pada keadaan ini mikroba proteolitik dan lipolitik dapat berkembang biak (Rahman, 1989).

Salah satu contohnya pada proses fermentasi susu. Susu segar pada umumnya akan terkontaminasi dengan beberapa macam mikroba dan yang dominan yaitu *Streptococcus lactis*, sehingga dapat menghasilkan asam laktat. Tetapi pada pertumbuhan selanjutnya bakteri ini akan terhambat oleh keasaman yang dihasilkannya sendiri. Oleh karena itu bakteri tersebut akan menjadi inaktif sehingga kemudian akan tumbuh bakteri jenis *Lactobacillus* yang lebih toleran

terhadap asam daripada *Streptococcus*. *Lactobacillus* akan menghasilkan asam lebih banyak sampai jumlah tertentu yang dapat menghambat pertumbuhannya, karena pada keasaman yang tinggi *Lactobacillus* akan mati, kemudian tumbuh khamir yang lebih toleran terhadap asam (Kunaepah, 2008).

#### 4. Oksigen

Udara atau oksigen selama proses fermentasi diatur untuk memperbanyak atau menghambat pertumbuhan mikroba tertentu. Setiap mikroba memerlukan oksigen yang jumlahnya berbeda pertumbuhan atau membentuk sel-sel baru, dan untuk fermentasi. Misalnya ragi roti (*Saccharomyces cerevisiae*) akan tumbuh lebih baik pada keadaan aerobik, tetapi akan melakukan fermentasi terhadap gula jauh lebih cepat pada keadaan anaerobik. *Candida kefir* merupakan salah satu khamir yang melakukan fermentasi secara anaerobik, sedangkan *Lactobacillus bulgaricus* merupakan bakteri yang bersifat fakultatif anaerob (Winarno, 1993).

#### 5. Mikroba

Proses fermentasi pada umumnya dilakukan dengan menggunakan kultur murni. Kultur murni dapat disimpan dalam keadaan kering atau beku, misalnya kultur murni dari bakteri asam laktat untuk membuat keju. Kadang-kadang tidak digunakan kultur murni untuk fermentasi, tetapi menggunakan starter (Winarno, 1993). Mikroba yang digunakan dalam proses fermentasi kefir antara lain bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan khamir *Candida kefir*.

### a. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Istilah bakteri asam laktat (BAL) pada awalnya ditujukan hanya untuk sekelompok bakteri yang menyebabkan keasaman pada susu (milk-souring organisms). Secara umum BAL didefinisikan sebagai suatu kelompok bakteri gram positif, tidak menghasilkan spora, berbentuk bulat atau batang yang memproduksi asam laktat sebagai produk akhir metabolik utama selama fermentasi karbohidrat (Pato, 2003).

Bakteri merupakan makhluk hidup mikroskopis yang tidak bisa dilihat oleh kasat mata, untuk melihatnya melalui alat bantu yang disebut dengan mikroskop. Bakteri mempunyai peran menguntungkan maupun merugikan bagi kehidupan. Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an surat al-Baqarah/2 ayat 26 :

﴿ إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةٌ فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ  
الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا  
وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ﴾

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. adapun orang-orang yang beriman, Maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: “Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?.” dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik”* (Al-Baqarah/2: 26).

Berdasarkan ayat tersebut Allah SWT telah “mengumpamakan nyamuk atau yang lebih rendah dari itu” artinya bahwa yang lebih rendah tersebut dapat dikatakan makhluk hidup berukuran lebih kecil dari nyamuk atau makhluk yang tidak tampak oleh kasat mata sehingga perlu alat untuk melihatnya dengan

mikroskop yaitu bakteri. Bakteri asam laktat secara umum sifatnya bukan sebagai bakteri patogen sehingga dapat dimanfaatkan oleh manusia dalam bidang pangan. Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang menghasilkan asam organik dan peranannya lebih menguntungkan.

BAL terdiri dari empat genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* dan *Pediococcus*. *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* atau biasa disebut BAL atau *L. Bulgaricus*. BAL merupakan bakteri yang sering digunakan sebagai starter kultur untuk susu fermentasi, berpotensi sebagai antikolesterol yang diduga karena adanya Eksopolisakarida/EPS (Wijayaningsih, 2008).

*L. bulgaricus* juga dinyatakan sebagai bakteri asidurik atau asidofilik, karena memerlukan pH yang relatif rendah (sekitar 4.6 - 5.4) supaya tumbuh dengan baik. Bakteri ini biasanya memfermentasikan susu dan memproduksi asam laktat yang membantu mengawetkan susu. Ketika susu difermentasi, *Lactobacillus bulgaricus* memproduksi asetaldehida sebagai senyawa beraroma pada yoghurt. Agar fermentasi yang menghasilkan asam laktat berjalan dengan baik, jumlah bakteri asam laktat yang diperlukan adalah lebih dari  $10^6$  cfu/ml. *L. bulgaricus* memerlukan asam pantotenat, niasin, riboflavin dan vitamin B<sub>12</sub>, bisa jadi jumlah vitamin dalam susu tidak memadai maka perlu dikombinasikan dengan khamir (yeast) (Surono, 2004).

Andriyanto (2008) mengatakan bahwa dalam kehidupan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* memiliki beberapa manfaat, antara lain dapat meningkatkan pencernaan susu, merangsang produksi inteferon dan tumor

necrosis faktor, mengatur sistem kekebalan tubuh, membantu metabolisme lipid, dapat mengendalikan kadar kolesterol, menghasilkan zat pembunuh kuman (antibiotik) alami serta mampu menghambat perkembangan biakan jamur yang tidak diinginkan.

Bakteri asam laktat mempunyai peranan esensial hampir dalam semua proses fermentasi makanan dan minuman. Peran utama bakteri ini dalam industri makanan adalah untuk pengasaman bahan mentah dengan memproduksi sebagian besar asam laktat (bakteri homofermentatif) atau asam laktat, asam asetat, etanol dan CO<sub>2</sub> (bakteri heterofermentatif) (Nur, 2005). Hasil penelitian Misgiyarti dan Sri (2002), mengatakan bahwa BAL dikatakan memiliki kemampuan unggul, apabila menghasilkan asam laktat lebih tinggi selama proses fermentasi.

Budiyanto (2002), menjelaskan bahwa prinsip utama pembuatan asam laktat dengan fermentasi adalah pemecahan laktosa menjadi bentuk monosakarida. Monosakarida dibantu oleh aktivitas enzim yang dihasilkan oleh *Lactobacillus bulgaricus* diubah menjadi asam laktat.

#### **b. Khamir**

Khamir adalah organisme uniseluler yang bereproduksi secara aseksual dengan spora. Khamir mempunyai peran penting dalam industri pangan dengan memproduksi enzim yang membantu terjadinya reaksi kimia seperti pembentukan alkohol sebagai metabolit primer maupun senyawa antibakteri sebagai metabolit sekunder. Khamir juga mempunyai peran penting pada fermentasi produk dari susu, karena menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan mikroba lain seperti asam amino, vitamin, dan mengkondisikan pH (Fardiaz, 1987).

Beberapa khamir adalah chromogenic yang menghasilkan berbagai pigmen hijau, kuning, dan hitam. Selain itu juga mampu mensintesis vitamin B. Hanya sedikit khamir yang berperan dalam fermentasi makanan. Diantaranya khamir yang digunakan dalam fermentasi makanan adalah khamir dari family *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 toleran terhadap asam dan dapat tumbuh pada pH 4 - 4,5. Rentang suhu pertumbuhan khamir sangat luas yaitu dari  $0^{\circ}\text{C} - 50^{\circ}\text{C}$ , dengan suhu optimum  $20^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$  (Rahman dkk, 1992).

Khamir pada kefir belum banyak dipelajari dibanding dengan bakteri pada kefir. Khamir yang terdapat pada kefir antara lain *Candida kefir*. *Candida kefir* dalam bentuk aseksual adalah *Kluyveromyces marxianus* yang digunakan untuk memproduksi enzim lactase, termasuk jenis khamir yang dapat memfermentasi laktosa (Farnworth, 2005).

### 2.2.5 Manfaat Kefir

Kefir sebagai minuman yang bergizi tinggi dengan kandungan gula susu (laktosa) yang relatif rendah dibandingkan susu murni. Kefir sangat bermanfaat bagi penderita *Lactose intolerant* atau tidak tahan terhadap laktosa, karena laktosanya telah dicerna menjadi glukosa dan galaktosa oleh enzim lactase dan mikrobia dalam biji kefir. Kefir juga dapat menyembuhkan beberapa penyakit metabolisme seperti diabetes, asma, arteriosklerosis dan jenis tumor tertentu (Usmiati, 2007).

Kefir mendukung pertumbuhan bakteri baik dan membantu mengurangi bakteri jahat (pathogen) karena pH-nya yang rendah. Bakteri jahat ini penyebab kembung, sakit, masuk angin, dan diare. Itu sebabnya seseorang yang mengkonsumsi probiotik akan mendapatkan keuntungan dari konsumsi kefir karena kefir dapat menjaga bakteri baik tetap hidup dan menempel di saluran pencernaan. Bakteri dalam kefir membuat koloni dalam usus dan khamir membantu bakteri untuk melakukan penetrasi pada dinding usus. Penetrasi ini tidak hanya menghilangkan khamir jahat, tapi juga melindungi dari parasit dan meningkatkan pencernaan menjadi lebih baik. Kefir juga membantu sistem imun seseorang, dan mengandung protein dan asam amino penting untuk kesehatan. salah satunya adalah triptofan yang memberikan efek menenangkan pada sistem syaraf (Pangkalan Ide, 2008).

Konsumsi probiotik berguna bagi kesehatan antara lain: menurunkan gejala malabsorpsi laktosa, meningkatkan ketahanan alami terhadap infeksi saluran pencernaan, menekan pertumbuhan sel kanker, menurunkan kolesterol

dalam darah, memperbaiki sistem pencernaan, dan menstimulasi imunitas dalam pencernaan. Bakteri probiotik harus bertahan hidup dalam saluran pencernaan setelah dikonsumsi. Bakteri tersebut mampu melekat pada sel epithelium dan menjaga keharmonisan komposisi bakteri saluran pencernaan. Selanjutnya ia membantu mengatasi intoleransi terhadap laktosa, mencegah diare, sembelit, kanker, hipertensi, menurunkan kolesterol, menormalkan bakteri saluran pencernaan setelah pengobatan antibiotic, serta meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Winarsi, 2010).



## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH, kadar asam, jumlah mikroba, protein dan kadar alkohol kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 4 ulangan. Adapun rancangan penelitian dalam penelitian ini dilihat dalam tabel 3.1 berikut:

Tabel 3.1 Rancangan Penelitian

Lama fermentasi	Ulangan			
	U1	U2	U3	U4
F1	F1U1	F1U2	F1U3	F1U4
F2	F2U1	F2U2	F2U3	F2U4
F3	F3U1	F3U2	F3U3	F3U4
F4	F4U1	F4U2	F4U3	F4U4

Keterangan :

F1 : lama fermentasi 12 jam

F2 : lama fermentasi 14 jam

F3 : lama fermentasi 16 jam

F4 : lama fermentasi 18 jam

## 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Agustus 2016 yang bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Biokimia, dan Genetik Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

## 3.3 Variabel Penelitian

### 3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah lama fermentasi 12 jam, 14 jam, 16 jam, dan 18 jam.

### 3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah nilai pH, kadar asam laktat, jumlah mikroba, protein dan kadar alkohol.

### 3.3.3 Variabel terkontrol

Variabel terkontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu kacang kedelai, starter kefir *grains* 3 gram, konsentrasi gula 4 gram.

## 3.4 Alat dan Bahan

### 3.4.1 Alat

Adapun alat yang digunakan yaitu botol kaca, panci, pH meter elektronik, sendok, pengaduk, tempat saringan, buret, mikropipet, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, termometer, *beaker glass*, *autoclave*, kompor, cawan petri, bunsen, aluminium foil, gunting, blender, wrap plastik, incubator, corong kaca, labu ukur, *water bath*, spektrofotometer, dan sentrifuge.

### 3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah kacang kedelai, starter kefir *grains*, gula pasir, alkohol, media *Plate Count Agar* (PCA), kain kasa, biuret, larutan Bovin Serum Albumin (BSA), NaOH 10%, NaOH 0,1 N, larutan buffer 4, larutan buffer 7, dan larutan indikator fenolftelin 1%.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dilakukan sebelum peralatan akan digunakan dalam proses pembuatan kefir susu kacang kedelai yaitu dengan cara sterilisasi fisik. Sterilisasi ini dilakukan dengan cara pemanasan dengan suhu tinggi menggunakan autoclave pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dengan tekanan 15 Psi (*Per Square Inch*) selama 15 menit. Adapun proses sterilisasi alat mengacu pada penelitian Atikah (2010) yaitu :

1. Semua alat yang akan digunakan dalam proses pelaksanaan dicuci bersih dan dikeringkan
2. Tabung reaksi, gelas ukur, labu ukur, erlenmeyer dan botol ditutup mulutnya dengan menggunakan kapas. Lalu dimasukkan kedalam plastik tahan panas
3. Disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit

### 3.5.2 Pembuatan susu kacang kedelai (*Glycine max* (L) Merrill)

Pembuatan susu kacang kedelai dilakukan menurut metode Misgiyarta (2003):

1. Kacang kedelai yang telah dipisahkan dari kotoran atau biji yang rusak direndam dalam air dengan perbandingan air dengan kacang kedelai 3:1 selama 8 jam
2. Kulit kacang dikupas, selanjutnya dihancurkan dengan blender, perbandingan air : kacang adalah 8 liter air : 1 kg kacang
3. Selanjutnya kacang disaring dengan kain saring untuk memperoleh filtrat atau susu kacang yang murni
4. Susu kacang dimasak hingga mendidih dan diaduk.

### 3.5.3 Pembuatan kefir susu kacang kedelai

Prosedur pembuatan kefir susu kacang kedelai yaitu:

1. Disiapkan susu kacang kedelai sebanyak 200 ml
2. Ditambahkan gula konsentrasi 4 gram, dan starter kefir 3 gram
3. Diaduk-aduk pelan
4. Hasil campuran ditutup rapat pada botol kaca dan diinkubasi pada suhu ruang  $28^{\circ}\text{C}$  selama 12, 14, 16, dan 18 jam.
5. Kefir yang telah difermentasi disaring dengan saringan untuk memisahkan kefir *grains* dengan kefir
6. Langkah tersebut dilakukan kembali untuk ulangan 2, 3 dan 4.

### 3.6 Prosedur Analisa Sampel

#### 3.6.1 Analisis nilai pH (Afifah, 2010)

1. pH meter dinyalakan
2. Dimasukkan elektroda kedalam larutan buffer 4, dan dibiarkan sampai stabil
3. Elektroda dibilas dengan menggunakan aquades kemudian dikeringkan
4. Dimasukkan elektroda ke dalam larutan buffer 7 dan dibiarkan sampai stabil
5. Elektroda dibilas dengan menggunakan aquades kemudian dikeringkan
6. Dimasukkan elektroda kedalam larutan sampel dan dibiarkan sampai stabil (2-3 menit)
7. Dicatat nilai pH yang tertera pada layar

#### 3.6.2 Pengukuran total asam (Hadiwiyoto, 1983)

Adapun pengukuran asam laktat yang dilakukan sebagai berikut :

1. Sebanyak 10 ml sampel dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml
2. Ditambahkan aquades sampai tanda batas lalu dihomogenkan dan disaring
3. Filtrat diambil 10 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer
4. Ditambahkan *indikator phenolphthalein* 2 tetes
5. Dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda, pembacaan skala pada saat warna merah muda terbentuk yang pertama kali dan bertahan sampai beberapa saat.

Kadar total asam laktat (%) dihitung dengan menggunakan rumus perhitungan :

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times 0,09 \times \text{FP}}{\text{Volume sampel}} \times 100$$

Keterangan :

N NaOH = Normalitas larutan NaOH (0,0981 N)

FP = Faktor pengenceran

BM asam laktat = 0,09 (bobot setara asam laktat)

Standarisasi larutan NaOH 0.1 N

### 3.6.3 Uji TPC (*Total Plate Count*) (Safitri, 2013)

Uji TPC (*Total Plate Count*) dilakukan untuk mengetahui jumlah mikroba yang hidup dalam kefir. Diambil 1 ml sampel dimasukkan kedalam botol flakon yang berisi aquades sebanyak 9 ml. Pengenceran dilakukan hingga faktor pengenceran  $10^{-7}$ . Dari pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ , dan  $10^{-7}$  masing-masing diambil 1 ml dan dimasukkan dalam cawan petri steril. Kemudian media PCA steril dituang dalam cawan petri yang berisi sampel. Diinkubasi dalam inkubator dengan suhu  $37^{\circ} \text{C}$  selama 24 jam dengan posisi cawan terbalik. Kemudian jumlah koloni yang tumbuh dapat dihitung dengan menggunakan metode SPC (*Standard Plate Count*) dan dinyatakan dalam satuan CFU/ml atau log CFU/ml. Batas minimal jumlah koloni yang ditentukan SNI 2981:2009 untuk susu dan produk fermentasinya yaitu  $1 \times 10^7$  CFU/ml.

### **3.6.4 Analisa Kadar Protein (Serlahwaty, 2015)**

#### **3.6.4.1 Pembuatan Kurva Standart**

Larutan Stok Bovin Serum Albumin dengan konsentrasi 10mg/mL disiapkan untuk pembuatan kurva standar. Dibuat larutan seri dengan konsentrasi 1,2,3,4,5,6,7 dan 8 mg/mL. Kemudian masing-masing larutan ditambahkan 2mL reagen Biuret kedalam tiap tabung dan larutan dihomogenisasi lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Masing-masing absorbansi larutan diukur dengan panjang gelombang maksimum.

#### **3.6.4.2 Pengukuran Sampel**

Sampel 0.5 mL ditambahkan 1 mL NaOH 1 M, dimasukkan kedalam tabung appendorf 2 ml, kemudian dipanaskan pada *water bath* dengan suhu  $90^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit. Setelah itu disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatant diambil 0.5 mL dan dipindahkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan biuret 2 mL. Pembuatan blanko sebanyak 0.5 mL aquades ditambah NaOH 1 mL 1 M. Setelah itu diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Kemudian absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 580 nm, dan ditentukan kadarnya.

### **3.6.5 Analisa kadar alkohol (Hasanah, 2012)**

#### **3.6.5.1 Pembuatan Kurva Baku Etanol**

Dibuat seri konsentrasi 1, 3, 5, 7, dan 9%. 1  $\mu$ l dari masing-masing konsentrasi disuntikkan kedalam kolom. Luas puncak etanol dari kromatogram dihitung. Kurva baku dibuat dengan memplotkan rasio luas puncak etanol dengan kadar etanol (% v/v). Persamaan kurva baku dengan regresi linear.

#### **3.6.5.2 Analisis Kadar Etanol dengan Kromatografi Gas (GC)**

Diambil (1  $\mu$ l) dari masing-masing sampel dan disuntikkan kedalam kolom melalui tempat injeksi. Luas puncak etanol dari kromatogram dihitung. Kadar etanol kefir susu kacang kedelai ditentukan dengan menggunakan persamaan kurva baku.

### **3.7 Analisis Data**

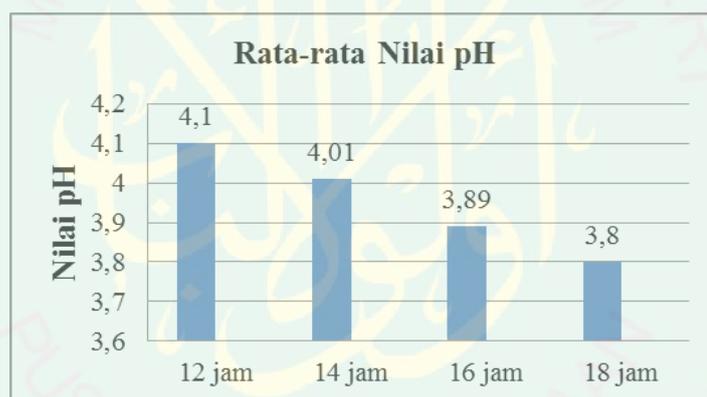
Data yang diperoleh hasil pengujian dianalisis dengan Analysis of Variance (ANOVA) one way, untuk mengetahui adanya pengaruh lama fermentasi terhadap kualitas kefir susu kacang kedelai. Apabila hasil analisis menunjukkan ada pengaruh antar perlakuan, maka dilanjutkan Uji Tukey dengan tingkat signifikansi 5%. Analisa data dilakukan dengan menggunakan program SPSS versi 16. Sedangkan data yang didapatkan pada pengukuran kadar alkohol kefir susu kacang kedelai dianalisis secara deskriptif.

## BAB 1V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Nilai pH Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

Analisis nilai pH atau derajat keasaman pada kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) dilakukan setelah fermentasi, bertujuan untuk mengetahui perubahan nilai pH kefir setelah proses fermentasi. Pengukuran nilai pH secara langsung menggunakan pH meter. Adapun rata-rata nilai pH pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 4.1 berikut :



Gambar 4.1 Grafik Rata-Rata Nilai pH Kefir Susu Kacang Kedelai

Berdasarkan Gambar 4.1 menunjukkan nilai rata-rata pH kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) mengalami penurunan setelah dilakukan fermentasi selama 18 jam. Hal ini berhubungan dengan total asam yang dihasilkan oleh mikroba. Semakin lama fermentasi, maka mikroba semakin banyak memanfaatkan karbohidrat dalam kacang kedelai untuk proses metabolisme, sehingga kemampuan mikroba untuk menghasilkan asam laktat semakin meningkat. Peningkatan asam laktat dapat diukur dengan penurunan pH. Haryadi

dkk., (2013) menyebutkan bahwa penurunan pH menyebabkan rasa menjadi asam karena pembentukan asam laktat sebagai produk utama hasil metabolisme bakteri asam laktat. Selanjutnya menurut Yusmarini dan Efendi (2004), bahwa semakin banyak sumber gula yang dapat dimetabolisme maka semakin banyak pula asam-asam organik yang dihasilkan terutama asam laktat yang menyebabkan terjadinya penurunan nilai pH susu fermentasi.

Nilai rata-rata pH kefir pada penelitian ini berkisar antara 3,80 hingga 4,10. Hasil nilai pH setara dengan penelitian Kunaepah (2008), dengan rata-rata nilai pH 3,94 – 4,16 dengan lama fermentasi 18, 21, 24 jam pada kefir susu kacang merah. Dan penelitian Wijaningsih (2008), menambahkan bahwa rata-rata nilai pH kefir susu kacang hijau berkisar antara 4,07 – 4,40 dengan lama fermentasi 6, 8, 10 jam dan konsentrasi starter 5%, 10% dan 15%. Adapun kualitas susu fermentasi berdasarkan pH yang baik menurut Adriani (2005), yaitu 3,8 – 4,6.

Berdasarkan hasil uji normalitas dan uji homogenitas diperoleh bahwa distribusi data normal dan variabel data homogen (Lampiran 5). Berdasarkan hasil analisis statistik *One Way ANOVA* dengan taraf 5% (Lampiran 5) dapat diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$  yang artinya ada pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill). Sebagaimana diketahui bahwa semua perlakuan  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , maka  $H_0$  ditolak. Oleh karena itu dilakukan uji lanjut dengan Uji Tukey. Hasil uji lanjut pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) pada penelitian ini sebagaimana dalam Tabel 4.1

Tabel 4.1 Uji lanjut pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

Lama Fermentasi	Rata-rata
F1 (12 jam)	4.10 <sup>a</sup>
F2 (14 jam)	4.01 <sup>a</sup>
F3 (16 jam)	3.89 <sup>b</sup>
F4 (18 jam)	3.80 <sup>b</sup>

Keterangan: Notasi berbeda dalam kolom sama menunjukkan beda secara nyata

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa pengaruh lama fermentasi terhadap nilai pH berpengaruh namun tidak berbeda nyata. Hal ini dapat diketahui pada notasi yang tidak semua berbeda pada tiap perlakuan. Hanya kefir lama fermentasi 12 jam dengan 18 jam yang notasinya berbeda yang menunjukkan perbedaan yang nyata. Berdasarkan hal tersebut dapat diduga disebabkan karena selisih lama fermentasi antar perlakuan tidak signifikan sehingga asam yang dihasilkan oleh bakteri yang menyebabkan keasaman kefir tidak berbeda secara signifikan. Perlakuan dengan lama fermentasi 18 jam mempunyai nilai pH yang paling rendah. Hal ini diduga karena semakin lama fermentasi maka mikroba mempunyai kemampuan yang banyak untuk memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa melalui kerja enzim intervase, dimana Kumala (2011), menyatakan fruktosa digunakan oleh BAL sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan maupun sumber energi sehingga menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir.

Penurunan nilai pH yang terjadi pada Gambar 4.1 dapat dilihat bahwa kacang kedelai mengandung nutrisi yang lengkap seperti protein, karbohidrat, lemak dan merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri, kapang dan khamir (Muchtadi, 2010). Sehingga kacang kedelai

mengalami fermentasi dengan adanya mikroorganisme yang merubah sukrosa menjadi alkohol dan berlanjut menjadi asam (Susanto dan Saneto, 1994).

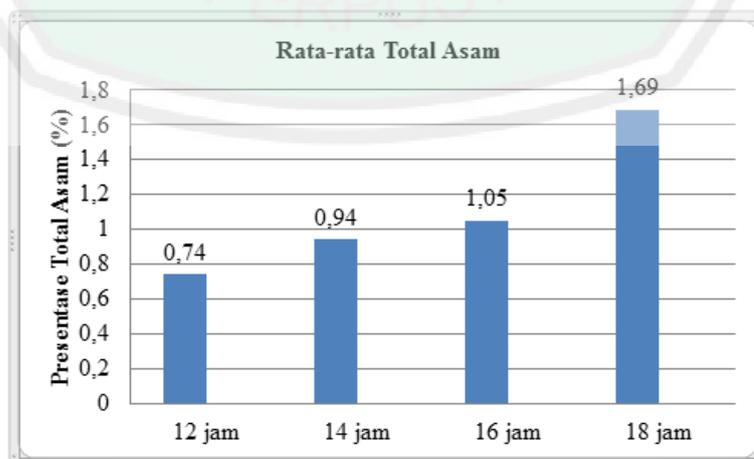
Tabel 4.1 dapat dilihat bahwa terjadi penurunan nilai pH dengan semakin lama fermentasi dapat disebabkan oleh faktor kondisi suhu ruang ( $26 - 28^{\circ}\text{C}$ ) yang baik untuk *Saccharomyces* dan *Acetobacter* yang ada pada kefir melakukan aktivitas metabolisme dengan baik. Sehingga dengan lama fermentasi mengalami penurunan nilai pH. Menurut Prescott (1949), bahwa *Saccharomyces* merupakan khamir utama dalam proses fermentasi. Khamir dapat tumbuh dan berkembangbiak pada pH 4,4 – 4,6. Sedangkan Frazier (1958), menambahkan bahwa khamir dapat tumbuh pada pH 4 – 4,5 dengan suhu  $25 - 30^{\circ}\text{C}$ . Oleh karena itu khamir dapat tumbuh pada pH rendah dimana pertumbuhan bakteri terlambat. Aktivitas *Acetobacter* yaitu merombak senyawa alkohol menjadi asam asetat, sehingga terjadi peningkatan keasaman dengan menyebabkan menurunnya nilai pH. Budiyanto (2002), menyatakan bahwa suhu pertumbuhan bakteri *Acetobacter* berkisar antara  $25 - 37^{\circ}\text{C}$ .

Sawitri (2007), menyatakan jenis mikroorganisme dalam kefir terdiri dari *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter*, dan ragi. Mikroorganisme pada starter kefir tersebut akan bersimbiosis, dimana dapat mempercepat proses fermentasi yang nantinya akan menghasilkan nilai pH yang rendah serta kadar asam laktat yang tinggi. Zubaidah dan Musdholifah (2016), menambahkan fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat ditandai dengan peningkatan jumlah asam-asam organik yang diiringi dengan penurunan nilai pH.

Penurunan pH menyebabkan rasa menjadi asam karena terbentuknya asam laktat sebagai produk utama hasil metabolisme bakteri asam laktat (Winarno, 1993).

#### 4.2 Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Total Asam Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

Pengukuran total asam sebagai asam laktat dengan metode titrasi menurut Hadiwiyoto (1983), dapat dilihat pada Gambar 4.2. Pengukuran total asam bertujuan untuk mengetahui perubahan total asam pada kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) setelah proses fermentasi. Mikroba dalam starter kefir berperan dalam pembentukan asam-asam organik dan komponen rasa. Pelczar (1985), menyatakan asam-asam organik yang dihasilkan oleh starter kefir bermacam-macam antara lain asam laktat, asam asetat, asam butirat dan sebagainya. Asam organik dihasilkan dari proses metabolisme mikroba dalam starter selama proses fermentasi melalui proses glikolisis. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh rata-rata total asam dapat sebagaimana tersaji dalam Gambar 4.2 berikut :



Gambar 4.2 Grafik Rata-Rata Total Asam Kefir Susu Kacang Kedelai

Berdasarkan Gambar 4.2 terlihat bahwa total asam terendah diperoleh dengan lama fermentasi 12 jam yaitu 0,74. Sedangkan total asam tertinggi diperoleh dengan lama fermentasi 18 jam yaitu 1,69. Nilai total asam laktat pada kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) mengalami peningkatan setelah dilakukan fermentasi. Hal ini disebabkan semakin lama fermentasi yang diberikan, maka asam laktat yang dihasilkan BAL semakin banyak, sehingga kemampuan menghasilkan asam laktat semakin tinggi. Hal ini sesuai penelitian Mijayani (2008), bahwa total asam meningkat seiring dengan lama fermentasi. Hal tersebut disebabkan semakin lama fermentasi, mikroba akan mempunyai kesempatan lebih lama dalam proses fermentasi, dan mempunyai kesempatan lebih lama untuk mengubah substrat atau karbohidrat pada kacang kedelai menjadi asam.

Total asam yang didapatkan pada penelitian ini berkisar antara 0,74 – 1,69%. Hasil total asam pada penelitian ini setara dengan penelitian Kunaepah. Menurut Kunaepah (2008), nilai rata-rata total asam pada kefir susu kacang merah berkisar antara 1,64% - 2,04%. Sedangkan penelitian Wijaningsih (2008), menyatakan nilai rata-rata total asam pada kefir susu kacang hijau berkisar antara 1,43% – 1,71%. Total asam pada penelitian ini sesuai dengan SNI yoghurt jumlah asam laktat berkisar antara 0,5 – 2,0%.

Berdasarkan hasil uji normalitas dan uji homogenitas diperoleh bahwa distribusi data normal dan variabel data homogen (Lampiran 5). Berdasarkan hasil analisis statistik *One Way ANOVA* dengan taraf 5 % (Lampiran 5) dapat diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , artinya ada pengaruh variasi lama fermentasi

terhadap total asam. Sebagaimana diketahui bahwa semua perlakuan  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , maka  $H_0$  ditolak. Oleh karena itu dilakukan Uji Lanjut dengan Tukey. Hasil Uji lanjut dapat dilihat pada Tabel 4.2 berikut

Tabel 4.2 Uji lanjut pengaruh lama fermentasi terhadap total asam Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

Lama Fermentasi	Rata-rata
F1 (12 jam)	0,74 <sup>a</sup>
F2 (14 jam)	0,94 <sup>a</sup>
F3 (16 jam)	1,05 <sup>a</sup>
F4 (18 jam)	1,69 <sup>b</sup>

Keterangan: Notasi berbeda dalam kolom sama menunjukkan beda secara nyata

Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa pengaruh lama fermentasi terhadap nilai rata-rata total asam kefir susu kacang kedelai berpengaruh namun tidak berbeda nyata. Hal ini dapat diketahui pada notasi yang tidak semua berbeda pada tiap perlakuan. Hanya kefir lama fermentasi 12 jam dengan 18 jam yang mempunyai notasi yang berbeda yang menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal tersebut diduga dikarenakan selisih lama fermentasi antar perlakuan tidak berbeda jauh sehingga total asam yang dihasilkan oleh mikroba starter kefir selama proses fermentasi tidak memberikan pengaruh yang nyata pada tiap perlakuan.

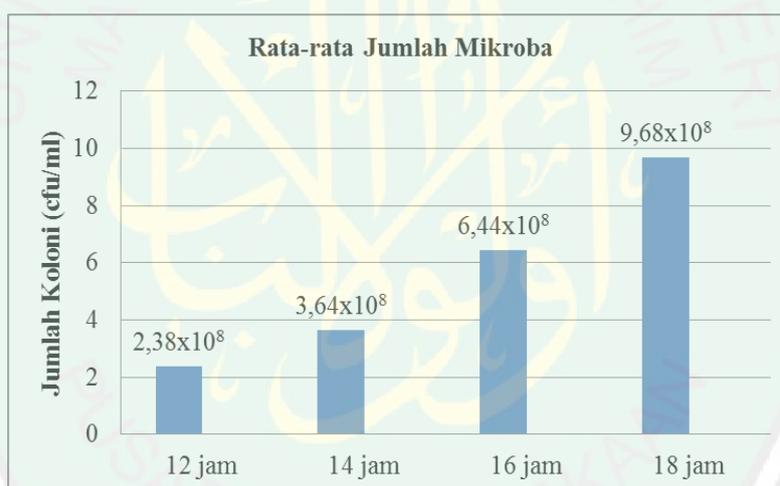
Asam laktat merupakan salah satu metabolit primer yang dihasilkan dalam proses fermentasi. Menurut Rachman (1989), bahwa metabolit primer adalah senyawa-senyawa kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dibutuhkan oleh mikroba tersebut untuk pertumbuhannya. Sedangkan Rahman (1992), menambahkan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* merupakan bakteri *homofermentatif* yang terutama memproduksi asam laktat.

Total keasaman pada kefir susu kacang kedelai mengalami peningkatan setelah dilakukan fermentasi. Hal ini dikarenakan semakin lama fermentasi, banyaknya asam laktat yang dihasilkan oleh BAL selama fermentasi juga semakin besar. Selain itu juga total asam yang tinggi disebabkan adanya kandungan karbohidrat dalam kacang kedelai. Proses fermentasi yang semakin lama menyebabkan peningkatan nilai total asam akibat adanya asam organik yang dihasilkan oleh mikroba, diantaranya asam laktat. Menurut Widowati dan Misgiyarta (2003), bahwa asam laktat yang dihasilkan oleh BAL akan tersekresikan keluar sel dan akan terkumulasi dalam substrat sehingga meningkatkan keasaman.

Hasil penelitian Harjiyanti (2013), menyatakan bahwa waktu inkubasi berpengaruh terhadap pembentukan asam laktat. Asam yang terbentuk dipengaruhi oleh glukosa. Pada tahap pertama glukosa akan dipecah menjadi asam piruvat melalui Jalur Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) (Lee, 1996). Kemudian pada tahap kedua fermentasi asam piruvat akan diubah menjadi asam laktat (Fardiaz, 1987). Astawan (2008), menambahkan lama fermentasi berpengaruh terhadap produk yang dihasilkan, yaitu semakin lama inkubasi maka banyak substrat yang mampu dirombak oleh starter. Sukrosa yang ditambahkan dalam pembuatan kefir untuk semua perlakuan sama yaitu sebanyak 4% dari volume susu kacang kedelai sehingga dapat disimpulkan jumlah tersebut telah mencukupi untuk berlangsungnya fermentasi asam laktat.

### 4.3 Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Jumlah Mikroba Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

Analisis jumlah mikroba pada penelitian ini dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Perhitungan mikroba dengan metode TPC dilakukan dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media cawan. Perhitungan jumlah mikroba dilakukan untuk mengetahui kualitas secara mikrobiologis produk fermentasi susu seperti kefir yang baik dan dapat dikonsumsi oleh manusia. Pengaruh lama fermentasi terhadap jumlah mikroba kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) sebagaimana tersaji pada Gambar 4.3



Gambar 4.3 Grafik Rata-Rata Jumlah Mikroba Kefir Susu Kacang Kedelai

Berdasarkan Gambar 4.3 dapat diketahui bahwa jumlah koloni mikroba meningkat dari perlakuan 12 jam hingga 18 jam. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, maka semakin banyak mikroba dalam kefir berkembangbiak sehingga jumlah mikroba semakin banyak. Semakin banyak mikroorganisme baik yang ada dalam kefir maka semakin baik juga kualitas kefir. Adapun rata-rata jumlah mikroba, dapat diketahui bahwa kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) pada penelitian ini sesuai dengan SNI yang telah

ditentukan yaitu minimal  $10^7$ . Hal ini menunjukkan bahwa kualitas kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) berdasarkan jumlah mikroba baik untuk dikonsumsi.

Peningkatan jumlah total mikroba kefir susu kedelai yang terjadi pada Gambar 4.3 disebabkan karena semakin lama fermentasi maka semakin banyak mikroba yang dapat tumbuh dan berkembang sehingga jumlah total mikroba meningkat pada masing-masing perlakuan. Menurut Nurwantoro dan Djarijah (1997) bahwa faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba dalam pangan meliputi faktor intrinsik, merupakan sifat-sifat fisik, kimia, dan struktur yang dimiliki bahan itu sendiri. Faktor ekstrinsik, yaitu kondisi lingkungan pada penanganan dan penyimpanan bahan pangan seperti suhu, kelembaban, susunan gas di atmosfer. Faktor implisit yang merupakan sifat-sifat yang dimiliki oleh mikroba itu sendiri, dan faktor pengolahan. Pelczar (1986) dalam Safitri (2013), menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri meliputi fase lamban diikuti oleh suatu periode pertumbuhan yang cepat (fase log), kemudian mendatar (fase statis), dan akhirnya diikuti oleh suatu penurunan populasi sel-sel hidup (fase kematian). Berdasarkan hasil rata-rata total mikroba, pertumbuhan mikroba selama penelitian, belum menunjukkan tanda-tanda memasuki fase statis, karena masih terjadi peningkatan total mikroba.

Media yang digunakan dalam menumbuhkan mikroba dalam penelitian ini yaitu media PCA (*Plate Count Agar*). Penggunaan media PCA dalam penelitian ini dikarenakan mikroba dalam kefir tidak hanya terdiri dari bakteri asam laktat saja melainkan terdapat jenis bakteri lain dan beberapa jenis khamir. Menurut

Kanbe (1992), bahwa mikroorganisme dalam kefir grains terdiri dari 1) bakteri mesofilik asam laktat seperti *Streptococcus lactis*, dan *S. cremoris*, 2) bakteri aromatic asam laktat seperti *Leucinastoc kefir*, dan *L. destranicum*, 3) *Lactobacillus bulgaricus*, *L. buchneri* dan *L. caucasium*, 4) bakteri asam laktat *Acetobacter aceti*, 5) khamir, seperti *Candida kefir*.

Berdasarkan hasil uji normalitas dan uji homogenitas diperoleh bahwa distribusi data normal dan variabel data homogen (Lampiran 5). Berdasarkan hasil analisis statistik *One Way ANOVA* dengan taraf 5% (Lampiran 5) dapat diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , yang artinya ada pengaruh lama fermentasi terhadap jumlah mikroba kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill). Sebagaimana diketahui bahwa semua perlakuan  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , maka  $H_0$  ditolak. Oleh karena itu dilakukan uji lanjut dengan Tukey. Hasil uji lanjut dalam penelitian ini sebagaimana tersaji dalam Tabel 4.3

Tabel 4.3 Uji lanjut pengaruh lama fermentasi terhadap jumlah mikroba Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

Lama Fermentasi	Rata-rata (CFU)	Notasi
F1 (12 jam)	$2,38 \times 10^8$	a
F2 (14 jam)	$3,64 \times 10^8$	ab
F3 (16 jam)	$6,44 \times 10^8$	bc
F4 (18 jam)	$9,68 \times 10^8$	c

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat diketahui bahwa pengaruh lama fermentasi terhadap jumlah koloni mikroba berpengaruh namun tidak berbeda secara nyata. Hal ini dapat diketahui pada notasi yang tidak semua berbeda pada tiap perlakuan. Hanya kefir dengan perlakuan lama fermentasi 12 jam dengan 18 jam yang notasinya berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini diduga disebabkan

karena selisih lama fermentasi antar perlakuan tidak signifikan sehingga mikroba yang tumbuh selama fermentasi tidak berbeda secara signifikan.

Berdasarkan hasil rata-rata jumlah koloni mikroba bahwa semakin lama fermentasi, maka mikroba yang tumbuh semakin banyak. Hal ini berbanding lurus dengan hasil total keasaman pada Tabel 4.2 dimana semakin tinggi total asam semakin tinggi pula jumlah koloni mikroba yang diperoleh, karena total keasaman berasal dari hasil metabolisme mikroba pada kefir. Sedangkan jika dibandingkan dengan nilai pH berbanding balik karena ketika mikroba dalam jumlah yang banyak maka kadar hasil metabolisme berupa asam semakin besar sehingga akan menambah nilai  $H^+$  dimana ion yang menyebabkan asam, sehingga nilai pH menurun.

Peningkatan jumlah mikroba setelah fermentasi pada Gambar 4.3 diketahui disebabkan karena semakin lama fermentasi maka mikroba mempunyai kesempatan tumbuh berupa pertambahan jumlah sel, sehingga jumlah mikroba semakin meningkat. Menurut Andarti (2015), menyatakan bahwa mikroba memanfaatkan nutrisi (karbohidrat) yang telah dipecah menjadi gula sederhana untuk melakukan aktivitas pertumbuhan sehingga pertumbuhan mikroba meningkat. Adapun Tampubolon (2008), menambahkan bahwa beberapa faktor utama yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba pada bahan pangan antara lain yaitu sumber energi (suplei zat gizi), waktu, suhu, air, pH, dan tersedianya oksigen.

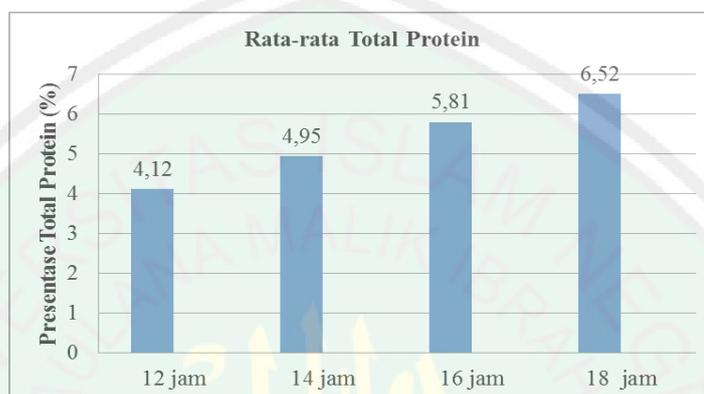
Lama fermentasi berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba. Hal ini didukung oleh nutrisi yang ada pada media, dimana mikroba mampu memanfaatkan nutrisi tersebut dengan baik. Menurut Buckle (1987), menyatakan bahwa pertumbuhan awal yang terlihat apabila suatu sel mikroorganisme diinokulasikan pada nutrisi agar adalah pembesaran ukuran, volume, dan berat sel. Sel-sel terus membelah secara eksponensial atau secara cepat. Selama kondisi memungkinkan, pertumbuhan dan pembelahan sel berlangsung sampai sejumlah besar populasi sel terbentuk.

Kunaepah (2008), menyatakan faktor yang mempengaruhi fermentasi antara lain substrat, suhu, pH, oksigen, dan mikroba yang digunakan. Azizah (2012), substrat merupakan bahan baku fermentasi yang mengandung nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba untuk tumbuh maupun menghasilkan produk fermentasi. Nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba baik untuk tumbuh maupun untuk menghasilkan produk fermentasi adalah karbohidrat. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang berfungsi sebagai penghasil energi bagi mikroba.

#### **4.4 Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L)Merill)**

Analisis kadar protein pada kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) menggunakan metode biuret. Menurut Poedjiadi (1994), bahwa reaksi biuret merupakan suatu peptida yang mempunyai dua buah ikatan peptida atau lebih dapat bereaksi dengan ion  $\text{Cu}^{++}$  dalam suasana basa dan membentuk suatu senyawa kompleks yang berwarna biru ungu. Tujuan dari reaksi biuret yaitu untuk menentukan gugus amino bebas pada asam amino, peptida maupun protein.

Dimana protein salah satu makromolekul yang terdiri atas sejumlah besar asam amino. Adapun hasil rata-rata pengaruh lama fermentasi terhadap kadar protein sebagaimana tersaji pada Gambar 4.4



Gambar 4.4 Grafik Rata-Rata Kadar Protein Kefir Susu Kacang Kedelai

Berdasarkan Gambar 4.4 diketahui bahwa rata-rata kadar protein dalam kefir susu kacang kedelai (*Glycine max (L)Merill*) berkisar antara 4,12-6,52%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi maka kadar protein kefir susu kacang kedelai semakin tinggi. Peningkatan rata-rata kadar protein pada penelitian ini serupa dengan hasil penelitian Nihayah (2015), yaitu berkisar antara 4,6-6% dengan lama fermentasi 48 jam dan variasi konsentrasi starter pada kefir susu sapi. Perbandingan dari rata-rata kadar protein tersebut menunjukkan bahwa kadar protein kefir susu kedelai hampir setara dengan kefir susu sapi. Kadar protein dalam penelitian ini telah memenuhi standar mutu SNI 2981:2009 yaitu minimal 2,7%.

Berdasarkan hasil uji normalitas dan uji homogenitas diperoleh bahwa distribusi data normal dan variabel data homogen (Lampiran 5). Berdasarkan hasil analisis statistik *One Way ANOVA* dengan taraf 5% (Lampiran 5) dapat diketahui

bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , yang artinya ada pengaruh lama fermentasi terhadap kadar protein kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill). Sebagaimana diketahui bahwa semua perlakuan  $F_{hitung} > F_{tabel}$ , maka  $H_0$  ditolak. Oleh karena itu dilakukan uji lanjut dengan Tukey. Hasil uji lanjut dalam penelitian ini tersaji dalam Tabel 4.4 berikut

Tabel 4.4 Uji lanjut pengaruh lama fermentasi terhadap kadar protein Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

Lama Fermentasi	Rata-rata
F1 (12 jam)	4.12 <sup>a</sup>
F2 (14 jam)	4.95 <sup>ab</sup>
F3 (16 jam)	5.81 <sup>bc</sup>
F4 18 jam)	6.52 <sup>c</sup>

Keterangan: Notasi berbeda dalam kolom sama menunjukkan beda secara nyata

Berdasarkan Tabel 4.4 menunjukkan bahwa pengaruh lama fermentasi terhadap kadar protein kefir susu kacang kedelai berpengaruh namun tidak berbeda secara nyata. Hal ini dapat diketahui bahwa notasi yang tidak semua berbeda pada tiap perlakuan. Hanya kefir susu kedelai dengan perlakuan lama fermentasi 12 jam dengan 18 jam yang notasinya berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini diduga dikarenakan selisih lama fermentasi antar perlakuan tidak signifikan sehingga kadar protein yang didapatkan selama fermentasi tidak berbeda secara signifikan.

Hasil kadar protein pada susu kedelai dalam penelitian ini diperoleh sebesar 2.26%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar protein kefir susu kedelai setelah dilakukan fermentasi lebih tinggi dibandingkan dengan susu kedelai sebelum fermentasi. Peningkatan kadar protein kefir susu kedelai pada penelitian ini diduga karena mikroba dalam kefir mempunyai kemampuan untuk mengubah

protein dari senyawa yang kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan enzim protease. Zakaria (2013), menyatakan semakin banyak jumlah bakteri aktif dalam susu fermentasi maka enzim protease semakin banyak dan mempercepat penguraian protein oleh bakteri sebagai suplai energi untuk pertumbuhannya. Sawitri (2011), menambahkan protein yang terkandung dalam susu fermentasi merupakan jumlah total dari protein susu dan protein bakteri-bakteri yang terkandung didalamnya.

Berdasarkan Gambar 4.4 dapat diketahui bahwa semakin lama fermentasi maka semakin banyak pula kadar protein pada susu kacang kedelai. Hal ini disebabkan karena semakin lama fermentasi maka, mikroba mempunyai kesempatan yang lebih lama untuk menguraikan protein menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu asam amino dengan bantuan enzim protease. Menurut Heller (2007), menyatakan bahwa protein merupakan salah satu komponen yang penting dalam aktivitas metabolisme bakteri. Protein susu akan dihidrolisis menjadi asam amino esensial oleh bakteri proteolitik yang menghasilkan enzim protease. Komponen protein akan memberikan pengaruh terhadap rasa dari produk fermentasi.

Lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar protein kefir susu kacang kedelai. Menurut Buckle (1987), menyatakan bahwa semakin banyak jumlah bakteri aktif dalam susu fermentasi maka akan semakin mempercepat penguraian protein dan lemak sebagai suplai energi dan karbon untuk pertumbuhan bakteri tersebut. Hal ini berbanding lurus dengan hasil total mikroba pada Tabel 4.3 dimana semakin tinggi total mikroba semakin tinggi pula kadar protein yang

diperoleh, karena semakin banyak jumlah mikroba yang aktif maka enzim protease semakin banyak dalam mempercepat penguraian protein oleh bakteri.

Menurut Winarno (1993), menyatakan bahwa kacang kedelai sebagai salah satu hasil pertanian yang sangat penting dalam bahan makanan, karena jumlah dan mutu protein yang dikandungnya sangat tinggi bila dibandingkan dengan kacang-kacang lainnya. Kasyanto (1987), menambahkan kacang kedelai mempunyai nilai protein nabati yang tinggi karena proteinnya mempunyai asam amino lengkap yang hampir sama dengan pola susunan asam amino yang berasal dari hewan atau protein hewani. Nilai protein kedelai jika difermentasi dan dimasak akan memiliki mutu yang lebih baik daripada jenis kacang-kacangan lain (Winarno, 1993).

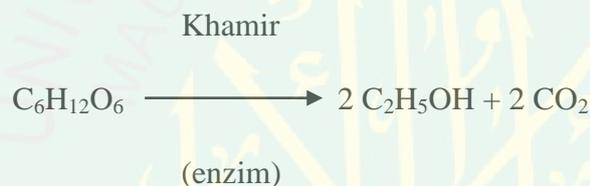
#### **4.5 Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L)Merill)**

Analisis kadar alkohol pada kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) menggunakan metode GC (kromatografi gas). Pengambilan data dilakukan pada waktu 12 jam dan 18 jam. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar etanol dalam lama fermentasi pada kefir susu kacang kedelai. Adapun data kadar alkohol dapat dilihat pada Tabel 4.5 berikut:

Tabel 4.5 Hasil Analisis Kadar Alkohol pengaruh lama fermentasi terhadap kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

No	Lama Fermentasi	Kadar Alkohol
1.	12 jam	0.42%
2.	18 jam	0.23%

Berdasarkan Tabel 4.5 dapat dilihat bahwa nilai kadar alkohol kefir susu kacang kedelai dengan lama fermentasi selama 12 jam diperoleh 0.42%. sedangkan nilai kadar alkohol dengan lama fermentasi selama 18 jam diperoleh 0.23%. Pada lama fermentasi 12 jam nilai kadar alkohol kefir susu kacang kedelai menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibandingkan setelah fermentasi 18 jam. Hal ini diduga bahwa di lama fermentasi 12 jam terjadi proses fermentasi gula oleh khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang dapat menghasilkan etil alkohol (etanol) dan CO<sub>2</sub> melalui reaksi sebagai berikut (Winarno, 1980) :



Sehingga kadar alkohol pada minuman kefir masih tinggi. Kemudian pada lama fermentasi 18 jam nilai kadar alkohol hasil fermentasi khamir dengan adanya oksigen akan mengalami fermentasi lebih lanjut oleh bakteri *Acetobacter aceti* menjadi asam asetat sebagai berikut (Winarno, 1980) :



Sehingga nilai kadar alkohol mengalami penurunan yang bersamaan dengan menurunnya nilai pH pada minuman kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) seperti pada Tabel 4.9.

Hasil fermentasi selama 12 jam dan 18 jam diperoleh kadar alkohol < 1% menunjukkan bahwa minuman kefir susu kacang kedelai masih dalam kualitas baik dan layak dikonsumsi. Hal tersebut berdasarkan ijtihad fatwa MUI (Majelis Ulama' Indonesia) pada tahun 1993 yang ditetapkan pada bulan agustus 2001

maka semakin kuat pernyataan bahwa adanya batas 1% kadar alkohol yang diperbolehkan untuk dikonsumsi. Dengan demikian dapat memperjelas dalam penetapan status kehalalan minuman.

Kadar alkohol pada kefir susu kedelai diperoleh 0.42% dengan lama fermentasi 12 jam dan dengan lama fermentasi 18 jam diperoleh 0.23%. Hasil tersebut tidak berbeda jauh dengan penelitian Wijaningsih (2008), bahwa nilai kadar alkohol pada kefir susu kacang hijau berkisar antara 0.534% - 1.076% dengan lama fermentasi 6 jam, 8 jam, 10 jam dan variasi starter 5%, 10%, dan 15%. Sedangkan penelitian Kunaepah (2008), hasil kadar alkohol pada kefir susu kacang merah berkisar antara 0,47 – 0,78% dengan lama fermentasi 18 jam, 21 jam, 24 jam, dan variasi glukosa 5%, 10%, dan 15%. Berdasarkan hasil penelitian ini, nilai kadar alkohol sesuai pendapat Surono (2004), bahwa kadar alkohol pada kefir berkisar 0.5% - 1.0%.

Lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar alkohol karena semakin lama fermentasi maka semakin banyak mikroorganisme yang aktif atau berkembangbiak, dalam hal ini yaitu khamir *Candida kefir*. Menurut Rahman (1989), khamir merupakan mikroorganisme *heterofermentatif*, dimana mampu mengubah substrat menghasilkan lebih dari satu senyawa. Khamir akan memecah gula sederhana menjadi alkohol dan karbondioksida. Dalam pembentukan alkohol atau etanol, mula-mula terjadi pemecahan glukosa menjadi asam piruvat. Asam piruvat mengalami dekarboksilasi menjadi acetaldehida. Acetaldehida tereduksi menjadi etanol.

Menurut Fratiwi (2008), bahwa kandungan karbohidrat pada kacang umumnya berupa polisakarida dan oligosakarida. Khamir dari kefir diduga mampu mendegradasi karbohidrat kompleks menjadi karbohidrat sederhana sehingga dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan dan memproduksi alkohol. Sedangkan Wignyanto (2007), menambahkan gula merupakan makanan dasar yang dibutuhkan oleh khamir untuk mempertahankan hidup. Khamir memetabolisme gula menjadi alkohol dan karbondioksida.

Nilai kadar alkohol pada penelitian ini mengalami penurunan setelah dilakukan fermentasi selama 18 jam. Kunaepah (2008), menyatakan bahwa kandungan total asam yang tinggi dari *Lactobacillus bulgaricus* dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dalam proses fermentasi termasuk khamir *Candida kefir*. Dari pernyataan tersebut dapat diduga bahwa khamir *Candida kefir* tidak dapat memecah substrat seperti pada awal fermentasi, sehingga kemampuan *Candida kefir* untuk menghasilkan alkohol mulai menurun setelah dilakukan fermentasi 18 jam.

#### **4.6 Integrasi Sains dan Al-Qur'an Terhadap Kualitas Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L)Merill)**

Minuman hasil fermentasi seperti kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) merupakan minuman yang mempunyai manfaat yang lebih baik daripada minuman tanpa proses fermentasi seperti susu murni. Hal ini dapat dibuktikan bahwa kandungan gizi dalam kefir lebih tinggi dibandingkan dalam susu murni. Menurut Hidayat (2006), menyatakan minuman fermentasi mempunyai beberapa kelebihan daripada susu bahan baku. Kelebihannya yaitu

asam yang terbentuk dapat memperpanjang masa simpan, mencegah pertumbuhan mikroorganisme pembusuk dan mencegah mikroorganisme patogen sehingga dapat meningkatkan keamanan produk. Sebagaimana Allah berfirman dalam surat ‘Abasa/80 ayat 24 :

فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ ۚ

Artinya: “Maka hendaklah manusia itu memperhatikan **makanannya**” (QS. Abasa/80 :24).

Berdasarkan *Tafsir Sayyid Qutub* (2007), menjelaskan bahwa kata **ينظر** dapat diartikan untuk melihat dengan mata dan merenungkan atau berpikir dengan mata hati bahwa makanan adalah suatu yang paling lekat dan selalu ada pada manusia. Hendaklah ia memperhatikan urusan yang dimudahkan bagi mereka tetapi sangat vatal, didepan mata dan yang terjadi berulang-ulang. Supaya mereka memperhatikan cerita yang menakjubkan dan dengan makanan itu membuat lebih bertakwa kepada Allah SWT.

Berdasarkan tafsir tersebut dapat diketahui bahwa cara memperhatikan makanan yaitu dengan melihat kandungan makanan atau minuman yang baik untuk dikonsumsi, seperti kefir susu kacang kedelai. Hal ini dibuktikan pada penelitian kefir susu kacang kedelai dengan pengaruh lama fermentasi menghasilkan kadar protein yang tinggi. Kadar protein dalam penelitian ini berkisar antara 3,86-9,18%. Oleh sebab itu, hendaknya manusia mengetahui kandungan atau nutrisi makanan dan minuman yang dikonsumsi, dimana mempunyai gizi yang baik dan dapat bermanfaat bagi tubuh. Sebagaimana Allah

memberikan kriteria makanan yang boleh dikonsumsi oleh manusia dalam Surat An-Nahl/16 ayat 114:

فَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا وَاشْكُرُوا نِعْمَتَ اللَّهِ إِنَّ كُتُومَ إِيَّاهُ تَعْبُدُونَ

Artinya: *Maka makanlah yang halal lagi baik dari rezeki yang telah diberikan Allah kepadamu, dan syukurilah nikmat Allah, jika kamu hanya kepada-Nya saja menyembah* (QS. An-Nahl/16: 114).

Berdasarkan *Tafsir Ibnu Katsir* (2007:114), menafsirkan bahwa Allah Ta'ala berfirman seraya memerintahkan hamba-hamba-Nya yang beriman untuk memakan rizki yang halal lagi baik yang telah diberikan-Nya. Selain itu juga turut tidak lupa untuk mensyukurinya. Sesungguhnya Dialah yang memberikan dan mengkaruniakan nikmat yang hanya Dia yang berhak mendapatkan penghambaan, yang tiada sekutu baginya.

Berdasarkan *Tafsir Ibnu Katsir* surat An-Nahl ayat 114, menjelaskan mengenai perintah-Nya kepada manusia untuk mengonsumsi makanan yang baik bagi tubuh. Hal tersebut dikarenakan makanan atau minuman yang dikonsumsi merupakan hal yang terpenting untuk diperhatikan, dimana menjadi kebutuhan sehari-hari yang harus dipenuhi oleh manusia. Selain itu, juga kita harus mensyukurinya, karena sesungguhnya Dialah yang akan memberikan karunia nikmat-Nya. Seperti hasil fermentasi kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) yang merupakan minuman probiotik dan mempunyai nilai gizi yang bermanfaat bagi tubuh.

Minuman hasil fermentasi umumnya dikenal sebagai minuman beralkohol dan hukumnya haram menurut islam, akan tetapi tidak semua minuman hasil

fermentasi disebut khamr dan memabukkan. Terdapat produk hasil fermentasi yang tidak memabukkan, bahkan justru mempunyai kandungan atau gizi yang baik bagi kesehatan tubuh yang telah dikonsumsi sejak dahulu seperti minuman kefir. Hasil penelitian minuman probiotik dari kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) merupakan salah satu hasil olahan minuman fermentasi yang memanfaatkan bakteri probiotik dan khamir. Dimana terdapat hasil metabolit bakteri asam laktat yaitu asam laktat berfungsi sebagai antibakteri dalam sistem pencernaan terutama dalam usus (Van Neil, 2002). Sedangkan khamir pada kefir akan menghasilkan senyawa alkohol.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui kadar alkohol pada minuman kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) dengan perlakuan fermentasi 12 jam menghasilkan kadar alkohol sebesar 0,42%, dan fermentasi 18 jam menghasilkan kadar alkohol sebesar 0,23%. Berdasarkan hasil penelitian, maka minuman tersebut masih dalam kualitas baik dan masih layak dikonsumsi, karena dalam fatwa MUI (Majelis Ulama' Indonesia) ditetapkan bahwa standarisasi makanan atau minuman halal yang mengandung alkohol minimal 1%.

Etanol atau alkohol pada dasarnya mempunyai dampak positif maupun dampak negatif. Apriyantono (2007), menjelaskan bahwa dampak positif etanol yaitu sebagai campuran obat dalam dunia kedokteran dengan kadar yang telah ditentukan, sterilisasi alat-alat kedokteran, pelarut (parfum, obat dan lain sebagainya). Sedangkan dampak negatif etanol yaitu dapat menyebabkan mabuk dan berbahaya terhadap syaraf serta organ-organ tubuh lainnya yang dapat menyebabkan kematian (Hasanah, 2008). Adapun dampak-dampak positif

maupun dampak negatif sebagaimana firman Allah dalam surat Al-Baqarah (2):  
219:

﴿يَسْأَلُونَكَ عَنِ الْخَمْرِ وَالْمَيْسِرِ قُلْ فِيهِمَا إِثْمٌ كَبِيرٌ وَمَنْفَعَةٌ لِلنَّاسِ وَإِثْمُهُمَا أَكْبَرُ مِنْ نَفْعِهِمَا ۗ وَيَسْأَلُونَكَ مَاذَا يُنْفِقُونَ قُلِ الْعَفْوَ ۗ كَذَلِكَ يُبَيِّنُ اللَّهُ لَكُمْ آيَاتِهِ لَعَلَّكُمْ تَتَفَكَّرُونَ



Artinya: “Mereka bertanya kepadamu tentang khamar dan judi. Katakanlah: “Pada keduanya terdapat dosa yang besar dan beberapa manfaat bagi manusia, tetapi dosa keduanya lebih besar dari manfaatnya”. Dan mereka bertanya kepadamu apa yang mereka nafkahkan. Katakanlah: “ yang lebih dari keperluan.” Demikianlah Allah menerangkan ayat-ayat-Nya kepadamu supaya kamu berpikir” (Qs. Al-Baqarah/2 :219).

Menurut Ibrahim, Sa’ad (2008) dalam surat al-Baqarah ayat 219 menegaskan bahwa khamr mempunyai segi positif dan negatif, dan karena segi negatifnya lebih besar maka hukumnya haram. Rasulullah tidak melihat kepada materi yang digunakan untuk membuat *khamr*. Beliau melihat kepada pengaruh yang ditimbulkan, yaitu “memabukkan”. Kaidah fiqih menyatakan: “Setiap yang memabukkan adalah *khamr*, dan setiap *khamar* adalah haram” Berdasarkan ayat-ayat dan hadist diatas, dapat dinyatakan ‘illat diharamkannya *khamr* adalah memabukkan. Karena jika ‘illat (penyebabnya) adanya alkohol, dalam buah-buah juga terdapat alkohol. Oleh karena itu, dapat dinyatakan bahwa haram bagi siapa saja jika secara umum memabukkan, baik karena karena adanya etanol maupun tidak (Ibrahim, Sa’ad, 2008).

Berdasarkan pernyataan diatas, maka haram bagi setiap orang jika mengkonsumsi makanan atau minuman yang menjadikan mabuk, misalnya kelengkeng yang kadar alkoholnya tinggi, tetapi tidak bagi orang lain yang tidak mabuk, karena pada umumnya kelengkeng tidak memabukkan. Sampai saat ini belum ada fatwa MUI (Majelis Ulama' Indonesia) yang menyatakan bahwa kefir itu haram. Namun, sebagai umat muslim kita harus berhati-hati dalam mengkonsumsi makanan.

Menurut fatwa MUI bulan agustus 2001, bahwa minuman beralkohol disepakati kadar etanol dalam makanan atau minuman  $< 1\%$  dengan landasan hadist, dimana waktu Rasulullah SAW tidak mau meminum jus yang dibiarkan dalam suhu ruang lebih dari 3 hari, dan dilakukan tes menghitung kadar etanolnya dengan patokan 1%. Dengan adanya patokan tersebut, maka kita akan mudah untuk menentukan apakah suatu produk makanan atau minuman dapat dikatakan berpotensi memabukkan seperti minuman *khamr* atau tidak. Tentunya dengan pembatasan kadar etanol dalam makanan atau minuman sangat penting dilakukan untuk pencegahan, karena prinsip dalam Islam adalah mencegah ke arah yang haram (Didinkaem, 2006).

## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa lama fermentasi pada kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L) Merrill) berpengaruh namun tidak berbeda nyata terhadap nilai pH, total asam, jumlah mikroba, dan kadar protein. Nilai pH berkisar antara 3,80 – 4,10, nilai asam laktat berkisar 0,74-1,69%, total mikroba  $2,38 \times 10^8$  –  $9,68 \times 10^8$  (cfu/ml) dan kadar protein 4,12–6,52%. Adapun lama fermentasi 12 jam menghasilkan kadar alkohol 0.42% dan lama fermentasi 18 jam menghasilkan kadar alkohol 0.23%. Kadar alkohol yang diperoleh sesuai dengan fatwa MUI bahwa kadar alkohol > 1 % diperbolehkan untuk dikonsumsi. Berdasarkan data yang diperoleh, produk yang dihasilkan adalah produk yang halal dan mempunyai manfaat yang baik bagi tubuh.

#### 5.2 Saran

Peneliti ini hanya dibatasi pada pengamatan kadar alkohol yaitu 12 jam dan 18 jam. Satu hal yang sangat disayangkan dalam penelitian ini akibat dari suatu keterbatasan fasilitas alat dan bahan, sehingga menarik jika ada yang berminat untuk melanjutkan penelitian uji kadar alkohol dengan waktu fermentasi keseluruhan yaitu 12jam, 14jam, 16jam, dan 18jam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, Nurul. 2010. Analisa Kondisi dan Potensi Lama Fermentasi Medium Kombhuca (Teh, Kopi, Rosela) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen (*Vibrio cholerae* dan *Bacillus cereus*). Dalam *Skripsi Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- 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
- Al-Jazairi, Abu Bakar Jabir. 2006. *Tafsir Al-Aisyar Jilid 1* (diterjemahkan Hatim, Azhari dan Mukti, Abdurrahim). Jakarta: Darus Sunnah Press
- Amrin, T. 2005. *Susu Kedelai*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Andarti, Ika Yuli dan Wardani, Agustin Krisna. 2015. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Kimia, Mikrobiologi, dan Organoleptik Miso Kedelai Hitam (*Glycine max(L)*). *Jurnal pangan dan Agroindustri*.Vol.3 No.3
- Andriyanto, T.T. 2008. *Di Balik Ancaman E. Sakazaki Dalam Susu Formula, Susu Fermentasi Untuk Kebugaran dan Pengobatan*. Yogyakarta: Universitas Atma Jaya Yogyakarta
- Ash-Shiddieqy, M.H. 2000. *Tafsir Al-Qur'anul Majid An-Nuur*. Semarang: Pustaka Rizki Putra
- Astawan, M.T. 2008. *Teknologi Pengolahan Pangan Nabati Tepat Guna*. Jakarta: Penerbit Akademika Pressindo
- Atikah, Nur. 2010. Uji Aktivitas Anti Mikroba Ekstrak Herba Kemangi (*Ocimum americanum L*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN syarif Jakarta
- Bahar, B. 2008. *Kefir Minuman Susu Fermentasi dengan Segudang Khasiat untuk Kesehatan*. Gramedia: Jakarta
- Buckle KA, Edwards RA, Fleet HA, Wootton M. 1987. *Food Science*. Diterjemahkan oleh Purnomo dan Adiono. Jakarta: Ilmu Pangan. UI Press

- Budyanto, A dan Yulianingsih. 2002. Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Karakteristik Pektin Dari Ampas Jeruk Siam (*Citrus nobilis* L). *Jurnal Pasca Panen* 5 (2): 37: 44
- Budimarwanti, C. 2010. *Komposisi dan Nutrisi Pada Susu Kedelai*. Jurdik Kimia. FMIPA UNY
- Budyanto, M.A.K. 2002. *Mikrobiologi Terapan*. Malang: UMM Press
- Cahyadi, W. 2007. *Kedelai : Khasiat dan Teknologi*. Jakarta : Bumi Aksara
- Fardiaz, S. 1987. *Penuntun Praktek: Mikrobiologi Pangan*. Lembaga Sumberdaya Informasi. IPB
- Fratiwi, Yulneriwarni, dan Noverita. 2008. Fermentasi Kefir dari Susu Kacang-Kacangan. *VIS VITALIS*. Vol. 1. No 2
- Frazier W.C. 1958. *Food Microbiology, 2nd Edition*. New York: Mc.Graw Hill Book Compony
- Fuller, R. 1992. *History and Development of Probiotic*. In *Probiotic the Scientific Basic*. London: Chapman and Hall
- Gandjar, Indrawati dan Wellyzar Sjamsuridzal. 2006. *Mikologi: Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia
- Hadiwiyoto, S. 1983. *Teori dan Prosedur Pengujian Mutu Susu dan Hasil Olahannya*. Yogyakarta : CRC Press
- Harjiyanti, M.D, Pramono, Y.B, dan Mulyani, S. 2013. Total Asam, Viskositas, dan Kesukaan pada Yoghurt Drink dengan Sari Buah Mangga (*Mangifera indica*) sebagai Perisa Alami. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, Vol.2 No. 2
- Haryadi, Nurliana dan Sugito. 2013. Nilai PH dan Jumlah Bakteri Asam Laktat Kefir Susu Kambing setelah Difermentasi dengan Penambahan Gula dan Lama Inkubasi yang Berbeda. *Jurnal medika veterinaria*. Vol. 7, No. 1. ISSN: 0853-1943
- Hasanah, H. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Tape Ketan Hitam (*Oryza sativa* L var forma glutinosa) dan Tape Singkong (*Manihot utilissima* Pohl). *Skripsi*. Sains dan Teknologi. Juusan Kimia. Universitas Islam Negeri, Malang
- Hidayat, Nur., Masdiana C. Padaga dan Sri Suhartini. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Penerbit Andi

- Ibrahim, Sa'ad. 2008. *Alkohol Untuk Komestik, Obat, Makanan, dan Minuman Dalam Perspektif Hukum Islam*. Malang: Makalah disampaikan dalam Olimpiade Kimia Indonesia (OKI) IKAHIMKI Himpunan Mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang
- Kanbe, M. 1992. *Traditional fermented milk of the world*. Di dalam: Nakazawa Y, Hosono AND, editor. *Functions of Fermented Milk Challenges for the Health Science*. London and New York : Elsevier Science
- Katsir, Ibnu. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 6* (diterjemahkan oleh Ghoffar, Abdul M dan Al-Atsari, Abu Ihsan). Jakarta : Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Katsir, Ibnu. 2007. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5* (diterjemahkan oleh Ghoffar, Abdul M dan Al-Atsari, Abu Ihsan). Jakarta: Pustaka Imam Asy-Syafi'i
- Koswara, S. 2006. Susu Kedelai tak Kalah Dengan Susu Sapi. Soybean Oligosaccharides. *Potential as New Ingredients in Functional Foods*. Departement de Metabolisme nutricion. Instituto del Frio (CSIC). Madrid Espana. Nutr Hosp; 21 :92-96.
- Kunaepah, Uun. 2008. *Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah*. Tesis. Universitas Diponegoro Semarang
- Maryana, Dwi. 2014. *Pengaruh Penambahan Sukrosa Terhadap Jumlah Bakteri dan Keasaman Whey Fermentasi dengan Menggunakan Kombinasi Lactobacillus plasntarum dan Lactobacillus acidophilus*. Skripsi. Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin. Makassar
- Mijayani, P.C. 2008. *Pembuatan Kefir Susu Kacang Hijau (Phaseolus radiate L.) Kajian Pengaruh Konsentrasi Susu Skim dan Lama Fermentasi Terhadap Parameter Fisik, Kimia dan Organoleptik*. Skripsi. Malang: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya
- Misgiyarti dan Sri, W. 2002. *Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenus*. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Bogor.
- Mubin, M. Fatkhul. 2016. *Studi Pembuatan Kefir Nira Siwalan (Borassus flabellifer L.) (Pengaruh Pengenceran Nira Siwalan dan Metode Inkubasi)*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol.4 No.1
- Muchtadi, Tiaan. 2010. *Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*. Bandung: Alfabeta CV

- Nihayah, Irfatun. 2015. Pengaruh Konsentrasi Starter Terhadap Kualitas Kefir Susu Sapi dan Pemanfaatannya Sebagai Penurun Kadar Kolesterol Darah Mencit (*Mus musculus*). *Skripsi*. Jurusan Biologi Uin Malang
- Pato, U. 2003. Potensi Antibakteri Asam Laktat yang Diisolasi Dari Dadih Untuk Menurunkan Resiko Penyakit Kanker. *Jurnal Natur Indonesia*, 5 (2). Pusat Penelitian Bioteknologi. Pekanbaru: Universitas Riau
- Pelzcar, Michael J. 1985. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1*. Jakarta: UI Press
- Podjiadi, Anna. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press
- Prescott, S.G and C.G. Dunn. 1949. "*Industrial Microbiology*". McGraw-Hill BookCompony, New York
- Rahman, A. 1989. *Pengantar Teknologi Fermentasi*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Bogor: IPB
- Rahman, A,S. Fardiaz, W. P. Rahayu, Suliantari, dan C. C. Nurwitri. 1992. *Teknologi Fermentasi Susu*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Rahmawati. 2006. Studi Viabilitas dan Aktivitas Antimikrobal Bakteri Probiotik (*Lactobacillus acidophillus*) dalam Medium Fermentasi Berbasis Susu dan Bekatul Selama Proses Fermentasi. Skripsi. Jurusan THP. Universitas Brawijaya. Malang
- Ridawati, dkk. 2013. *Formulasi Kefir Sari Kecambah Kacang Hijau (Vigna radiata) dengan Lama Fermentasi Yang Berbeda*. Jurusan IKK, FT. Universitas Negeri Jakarta
- Safitri, M.F. 2013. Kualitas Kefir Berdasarkan Konsentrasi Kefir Grain. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. Vol.2, No.2
- Santoso. 2009. *Seri Teknologi Pangan Populer: Susu dan Yogurt Kedelai*. Laboratorium Kimia Pangan Faperta UWG.
- Sawitri, Manik Eirry. 2007. Kajian Konsentrasi Kefir Grain dan Lama Simpan dalam Refrigerator terhadap Kualitas Kimiawi Kefir Rendah Lemak. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan*. Universitas Brawijaya. Malang
- Sawitri M.E. 2011. Kajian Penggunaan Ekstrak Susu Kedelai Terhadap Kualitas Kefir Susu Kambing. *Jurnal Ternak Tropika*. Vol. 12, (1)
- Sayyid Qutub. 2007. *Tafsir Fi Zhilali AL-Qur'an, jil XI, Cet V*. Diponegoro: Gema Insani

- Serlahwaty, Diana dan Syarmalina. 2015. Analisis Kandungan Lemak dan Protein terhadap Kualitas Soyghurt dengan Penambahan Susu Skim. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi. Vol 4, No.2*
- Sparringa, R.A. 1995. Pertumbuhan dan aktivitas proteolitik bakteri asam laktat dan khamir dalam susu kedelai. *Seminar Biotek Biomassa BPPPT I: 228-242.*
- Standart Nasional Indonesia. 1992. *Syarat Mutu Yoghurt 01-2981-1992*, Departemen Perindustrian R.I, Jakarta.
- Suprpto, 1993. *Bertanam Kedelai*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Surono, I. S. 2004. *Probiotik Susu Fermentasi dan Kesehatan*. Yayasan Pengusaha Makanan dan Minuman Seluruh Indonesia (YAPMMI). Jakarta: TRICK
- Susanto, T. dan B. Saneto. 1994. *Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian*. Surabaya: Bina Ilmu
- Tampubolon, Komariah. 2008. *Mikroorganisme dalam Pangan Laut*. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor
- Usmiati, S. 2007. Kefir, Susu Fermentasi dengan Rasa Menyegarkan. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Vol.29, No.2*
- Misgiyarta, Bintang M, dan Widowati, S. 2003. *Isolasi, Identifikasi dan Efektifitas Bakteri Asam Laktat Lokal Untuk Fermentasi Susu Kacang-Kacangan*. Bandung: Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia
- Wignyanto, dkk. 2007. Perencanaan Produksi Kefir Tomat Skala Rumah Tangga. *Jurnal Teknologi Pertanian. Vol 8.No.3*
- Wijaningsih, Wiwik. 2008. *Aktivitas Antibakteri In Vitro dan Sifat Kimia Kefir Susu Kacang Hijau (Vigna radiata) Oleh Pengaruh Jumlah Starter dan Lama Fermentasi* (Tesis, Universitas Diponegoro, Semarang)
- Winarno, F.G. 1993. *Pangan, Gizi, Teknologi dan Konsumen*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama
- Winarsi, Hery. 2010. *Protein Kedelai dan Kecambah Manfaatnya Bagi Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Yusmarini dan R. Efendi. 2004. Evaluasi Mutu Soygurt yang dibuat dengan Penambahan beberapa Jenis Gula. *Jurnal Natur Indonesia 6(2): 104-110*

Yusriyah, Nuril Khafidzoh. 2014. Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Bibit Kefir Terhadap Mutu Kefir Susu Sapi. *Journal of Chemistry*. Vol.3 No.2

Zubaidah, Elok dan Musdholifah. 2016. Studi Aktivitas Antioksidan Kefir Teh Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dari Berbagai Merek di Pasaran. Dalam *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1): 29-39

Zakaria, Yusdar. 2013. Pengaruh Jenis Susu dan Presentasi Starter yang Berbeda Terhadap Kualitas Kefir. *Jurnal Agripet*, Vol 9.No.1



## LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Data Nilai pH kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) dengan pengaruh lama fermentasi

Perlakuan	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Rata-rata
12 jam	4.03	4.10	4.18	4.10	4.10
14 jam	4.03	4.08	4.00	3.95	4.01
16 jam	3.84	3.94	3.89	3.91	3.89
18 jam	3.82	3.81	3.84	3.76	3.80

2. Data Total Asam kefir (%) susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) dengan pengaruh lama fermentasi

2.1 Sebelum perhitungan

Perlakuan	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4
12 jam	0.9	0.7	0.8	1
14 jam	0.9	1.2	0.8	1.4
16 jam	1.1	1.2	0.9	1.6
18 jam	1.9	2	1.9	1.9

2.2 Sesudah perhitungan

Perlakuan	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4	Rata-rata
12 jam	0.79	0.61	0.70	0.88	0.74
14 jam	0.79	1.05	0.70	1.23	0.94
16 jam	0.97	1.05	0.79	1.41	1.05
18 jam	1.67	1.76	1.67	1.67	1.69

3. Data Hasil Penelitian Jumlah Mikroba (cfu/ml) kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill) dengan pengaruh lama fermentasi

Perlakuan	Ulangan				Rata-rata
	1	2	3	4	
F1	$2,35 \times 10^8$	$2,19 \times 10^8$	$2,43 \times 10^8$	$2,55 \times 10^8$	$2,38 \times 10^8$
F2	$4,47 \times 10^8$	$2,88 \times 10^8$	$2,80 \times 10^8$	$4,44 \times 10^8$	$3,64 \times 10^8$
F3	$4,59 \times 10^8$	$10,8 \times 10^8$	$5,74 \times 10^8$	$4,65 \times 10^8$	$6,44 \times 10^8$
F4	$7,22 \times 10^8$	$11,2 \times 10^8$	$11,7 \times 10^8$	$8,62 \times 10^8$	$9,68 \times 10^8$

4. Hasil pengaruh lama fermentasi terhadap kadar protein kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

4.1 Hasil absorbansi spektrofotometer dengan pengaruh lama fermentasi terhadap kadar protein kefir susu kedelai

Lama Fermentasi	Ulangan			
	1	2	3	4
12 jam	0,074	0,070	0,072	0,079
14 jam	0,065	0,082	0,100	0,085
16 jam	0,090	0,086	0,102	0,093
18 jam	0,098	0,105	0,101	0,099

4.2 Hasil perhitungan pengaruh lama fermentasi terhadap kadar protein kefir susu kedelai

Lama Fermentasi	Ulangan				Rata-rata
	1	2	3	4	
12 jam	4.15	3.80	3.97	4.59	4.12
14 jam	3.35	4.86	6.46	5.13	4.95
16 jam	5.57	5.22	6.63	5.84	5.81
18 jam	6.28	6.90	6.54	6.37	6.52

5. Data kadar alkohol pengaruh lama fermentasi terhadap kefir susu kedelai

Lama Fermentasi	Kadar alkohol
12 jam	0,42%
18 jam	0,23%

## Lampiran 2. Contoh Perhitungan Total Asam

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times 0,09 \times \text{FP}}{\text{Volume sampel}} \times 100 \%$$

➤ F1 = Lama fermentasi 12 jam

$$\text{a. F1U1} = \frac{0,9 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 0,79\%$$

$$\text{b. F1U2} = \frac{0,7 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 0,61\%$$

$$\text{c. F1U3} = \frac{0,8 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 0,70\%$$

$$\text{d. F1U4} = \frac{1 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 0,88\%$$

➤ F2 = Lama fermentasi 14 jam

$$\text{a. F2U1} = \frac{0,9 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 0,79\%$$

$$\text{b. F2U2} = \frac{1,2 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 1,05\%$$

$$\text{c. F2U3} = \frac{0,8 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 0,70\%$$

$$\text{d. F2U4} = \frac{1,4 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 1,23\%$$

➤ F3 = Lama fermentasi 16 jam

$$\text{a. F3U1} = \frac{1,1 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 0,97\%$$

$$\text{b. F3U2} = \frac{1,2 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 1,05\%$$

$$\text{c. F3U3} = \frac{0,9 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 0,79\%$$

$$\text{d. F3U4} = \frac{1,6 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 1,41\%$$

➤ F4 = Lama fermentasi 18 jam

$$a. F4U1 = \frac{1,9 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 1,67\%$$

$$b. F4U2 = \frac{2 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 1,76\%$$

$$c. F4U3 = \frac{1,9 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 1,67\%$$

$$d. F4U4 = \frac{1,9 \times 0,0981 \times 10 \times 0,09}{10} \times 100\% = 1,67\%$$

❖ Pembuatan Larutan NaOH 0.1 N

$$N \text{ NaOH} = \frac{\text{massa NaOH}}{BE \text{ NaOH}} \times \frac{1000}{V}$$

$$\text{Massa NaOH} = N \text{ NaOH} \times BE \text{ NaOH} \times V : 1000$$

$$= 0.1 \times 40 \times 250 : 1000$$

$$= 1 \text{ gram}$$

❖ Pembuatan Larutan NaOH 1 M

$$M \text{ NaOH} = \frac{\text{massa NaOH}}{Mr \text{ NaOH}} \times \frac{1000}{V}$$

$$\text{Massa NaOH} = M \text{ NaOH} \times Mr \text{ NaOH} \times V : 1000$$

$$= 1 \times 40 \times 100 : 1000$$

$$= 4 \text{ gram}$$

**Lampiran 3.** Pembuatan Larutan BSA (Bovin Serum Albumin) untuk Kurva Standart Uji Kadar Protein Metode Biuret

✚ Pembuatan larutan stock 10.000 ppm

$$\begin{aligned}\text{Larutan stok } 10.000 \text{ ppm} &= 10.000 \text{ mg/L} \\ &= 10 \text{ g/L} \\ &= 10 \text{ mg/ml}\end{aligned}$$

Jadi untuk membuat larutan stock 10.000 ppm = 10 mg/ml

➤ Membuat konsentrasi 1  $\text{mg/ml}$

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 10 \text{ mg/ml} &= 1 \text{ mg/ml} \times 1 \text{ ml} \\ V_1 \times 10 \text{ mg/ml} &= 1 \text{ mg} \\ V_1 &= \frac{1 \text{ mg}}{10 \text{ mg/ml}} \\ V_1 &= 0.1 \text{ ml} = 100 \mu\end{aligned}$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi 1  $\text{mg/ml}$ , diambil 100  $\mu$  larutan stok BSA + aquades 900  $\mu$

➤ Membuat konsentrasi 2  $\text{mg/ml}$

$$\begin{aligned}V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 10 \text{ mg/ml} &= 2 \text{ mg/ml} \times 1 \text{ ml} \\ V_1 \times 10 \text{ mg/ml} &= 2 \text{ mg} \\ V_1 &= \frac{2 \text{ mg}}{10 \text{ mg/ml}}\end{aligned}$$

$$V_1 = 0.2 \text{ ml} = 200 \mu$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi 2  $\text{mg/ml}$ , diambil 200  $\mu$  larutan stok BSA + aquades 800  $\mu$

- Membuat konsentrasi 3  $\text{mg/ml}$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 3 \text{ mg/ml} \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 3 \text{ mg}$$

$$V_1 = \frac{3 \text{ mg}}{10 \text{ mg/ml}}$$

$$V_1 = 0.3 \text{ ml} = 300 \mu$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi 3  $\text{mg/ml}$ , diambil 300  $\mu$  larutan stok BSA + aquades 700  $\mu$

- Membuat konsentrasi 4  $\text{mg/ml}$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 4 \text{ mg/ml} \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 4 \text{ mg}$$

$$V_1 = \frac{4 \text{ mg}}{10 \text{ mg/ml}}$$

$$V_1 = 0.4 \text{ ml} = 400 \mu$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi 4  $\text{mg/ml}$ , diambil 400  $\mu$  larutan stok BSA + aquades 600  $\mu$

- Membuat konsentrasi 5  $\text{mg/ml}$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 5 \text{ mg/ml} \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 5 \text{ mg}$$

$$V_1 = \frac{5 \text{ mg}}{10 \text{ mg/ml}}$$

$$V_1 = 0.5 \text{ ml} = 500 \mu$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi  $5 \text{ mg/ml}$ , diambil  $500 \mu$  larutan stok BSA + aquades  $500 \mu$

- Membuat konsentrasi  $6 \text{ mg/ml}$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 6 \text{ mg/ml} \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 6 \text{ mg}$$

$$V_1 = \frac{6 \text{ mg}}{10 \text{ mg/ml}}$$

$$V_1 = 0.6 \text{ ml} = 600 \mu$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi  $6 \text{ mg/ml}$ , diambil  $600 \mu$  larutan stok BSA + aquades  $400 \mu$

- Membuat konsentrasi  $6 \text{ mg/ml}$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 6 \text{ mg/ml} \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 6 \text{ mg}$$

$$V_1 = \frac{6 \text{ mg}}{10 \text{ mg/ml}}$$

$$V_1 = 0.6 \text{ ml} = 600 \mu$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi  $6 \text{ mg/ml}$ , diambil  $600 \mu$  larutan stok BSA + aquades  $400 \mu$

- Membuat konsentrasi  $7 \text{ mg/ml}$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 7 \text{ mg/ml} \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 7 \text{ mg}$$

$$V_1 = \frac{7 \text{ mg}}{10 \text{ mg/ml}}$$

$$V_1 = 0.7 \text{ ml} = 700 \mu$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi  $7 \text{ mg/ml}$ , diambil  $700 \mu$  larutan stok BSA + aquades  $300 \mu$

➤ Membuat konsentrasi  $8 \text{ mg/ml}$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 8 \text{ mg/ml} \times 1 \text{ ml}$$

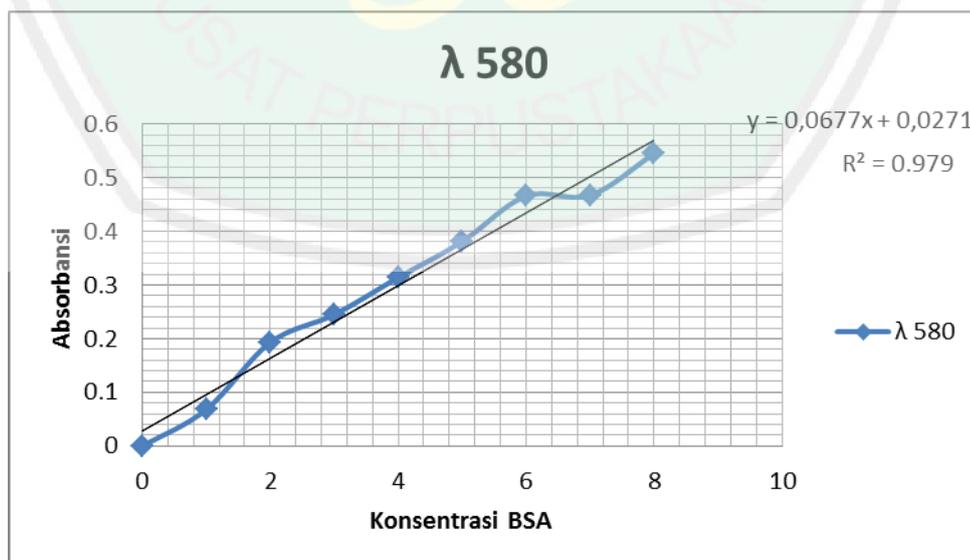
$$V_1 \times 10 \text{ mg/ml} = 8 \text{ mg}$$

$$V_1 = \frac{8 \text{ mg}}{10 \text{ mg/ml}}$$

$$V_1 = 0.8 \text{ ml} = 800 \mu$$

Jadi, untuk membuat konsentrasi  $8 \text{ mg/ml}$ , diambil  $800 \mu$  larutan stok BSA + aquades  $200 \mu$

✚ Grafik dan Hasil Persamaan Kurva Standard Protein



## ❖ Contoh perhitungan Kadar Protein

✚ Hasil absorbansi sampel = 0.086

Konsentrasi berdasarkan kurva standard (x)  $\rightarrow y = 0.0677x + 0.0271$

$$0.086 = 0.0677x + 0.0271$$

$$0.0677x = 0.086 - 0.0271$$

$$0.0677x = 0.0589$$

$$x = 0.8700$$

$$\text{Konsentrasi sampel untuk dianalisa (y)} = \frac{m}{v} = \frac{0.5 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} = 0.5$$

✚ Kadar protein

$$= \frac{\text{konsentrasi sampel berdasarkan kurva standard (x)}}{\text{konsentrasi sampel untuk dianalisa (y)}} \times \text{fp} \times 100\%$$

$$= \frac{0.8700}{0.5} \times 3 \times 100\%$$

$$= 5.22 \%$$

#### Lampiran 4. Perhitungan Kadar Alkohol Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L)Merill

LABORATORIUM KIMIA ANALISIS INSTRUMENTASI  
 JURUSAN TEKNIK KIMIA POLITEKNIK NEGERI MALANG  
 Jl. Soekarno Hatta No. 09 P.O. BOX 04 Malang 65141

##### REKAPITULASI PERHITUNGAN SAMPEL ETANOL

No Spl	Nama File	Berat (gr)		Area		Etanol			
		Sampel	ACN	Etanol	ACN	Ratio	Terukur (gr)	THT (gr)	Kadar (%)
1	12 JAM	0.4781	0.2245	48,282.22	5,934,212.08	0.008	0.009	0.0020	0.42
2	18 JAM	0.4785	0.2212	21,048.36	4,648,488.32	0.005	0.005	0.0011	0.23

Malang, 03 Agustus 2016

Pelaksana

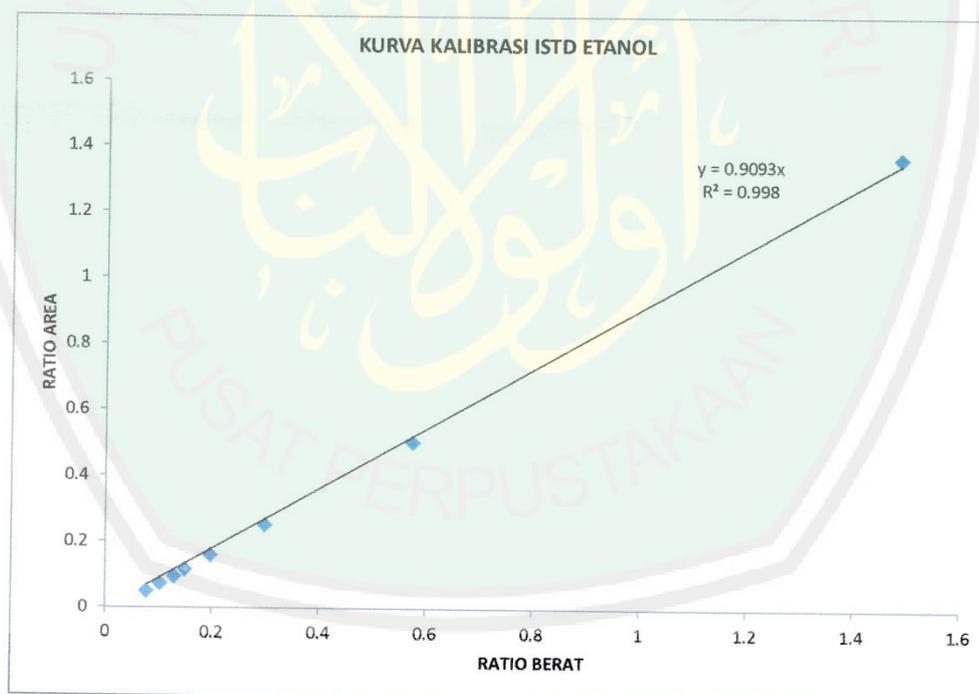


Kallawan

**LABORATORIUM KIMIA ANALISIS INSTRUMENTASI**  
**JURUSAN TEKNIK KIMIA POLITEKNIK NEGERI MALANG**

**REKAPITULASI PERHITUNGAN STANDARD ETANOL**

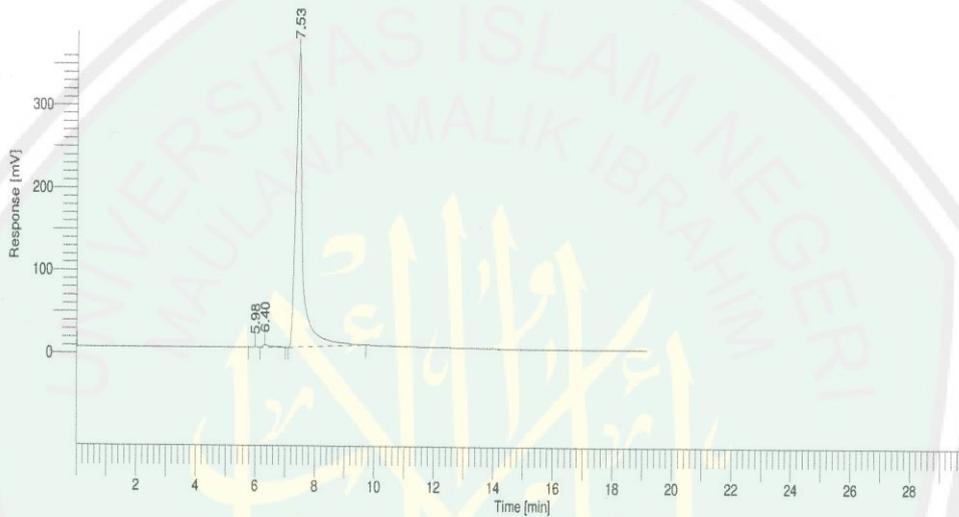
No	Nama Std	Berat (gr)		Area		Ratio	
		Etanol	ACN	Etanol	ACN	Berat	Area
1	Std 1	0.0799	1.0342	312,041.36	6,127,495.83	0.08	0.0509
2	Std 2	0.1311	1.2844	436,881.81	5,875,300.34	0.10	0.0744
3	Std 3	0.1685	1.3121	650,574.05	6,755,205.28	0.13	0.0963
4	Std 4	0.1957	1.3140	532,775.52	4,529,867.18	0.15	0.1176
5	Std 5	0.2580	1.3124	1,007,956.49	6,242,455.69	0.20	0.1615
6	Std 6	0.3822	1.2841	1,058,213.58	4,177,769.83	0.30	0.2533
7	Std 7	0.7532	1.3100	2,406,589.39	4,775,598.00	0.57	0.5039
8	Std 8	0.7815	0.5261	2,685,587.25	1,960,881.25	1.49	1.3696



Software Version : 6.2.1.0.104:0104  
 Sample Name : 12 JAM  
 Instrument Name : HP 5890  
 Rack/Vial : 0/0  
 Sample Amount : 1.000000  
 Cycle : 1

Date : 2/08/2016 2:44:06 AM  
 Data Acquisition Time : 2/08/2016 2:28:09 AM  
 Channel : B  
 Operator : JurTeknikKimia  
 Dilution Factor : 1.000000

Result File :  
 Sequence File : C:\PenExe\TcWS\Ver6.2.1\Examples\Alkohol.seq



### DEFAULT REPORT

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [ $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$ ]	Height [ $\mu\text{V}$ ]	Area [%]
1		5.975	4889.12	454.35	0.08
2		6.401	48282.22	2709.13	0.81
3		7.531	5934212.08	357877.42	99.11
			5987383.42	361040.90	100.00

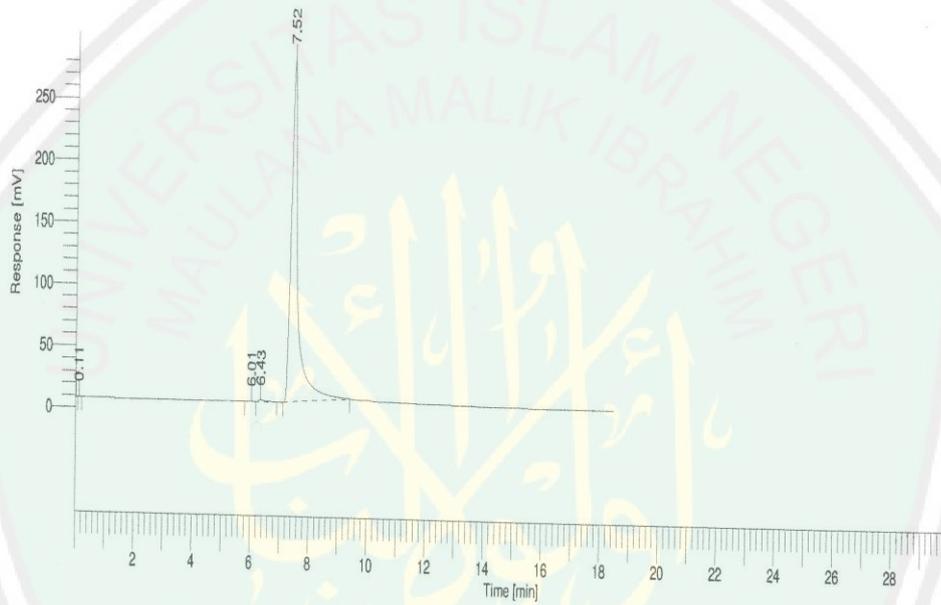
Missing Component Report  
 Component Expected Retention (Calibration File)

All components were found

Software Version : 6.2.1.0.104:0104  
 Sample Name : 18 JAM  
 Instrument Name : HP 5890  
 Rack/Vial : 0/0  
 Sample Amount : 1.000000  
 Cycle : 1

Date : 2/08/2016 3:00:02 AM  
 Data Acquisition Time : 2/08/2016 2:43:50 AM  
 Channel : B  
 Operator : JurTeknikKimia  
 Dilution Factor : 1.000000

Result File :  
 Sequence File : C:\PenExe\TcWS\Ver6.2.1\Examples\Alkohol.seq



### DEFAULT REPORT

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [ $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$ ]	Height [ $\mu\text{V}$ ]	Area [%]
1		0.111	323.86	69.17	0.01
2		6.006	3731.55	342.88	0.08
3		6.426	21048.36	1355.83	0.45
4		7.525	4648488.32	277684.48	99.46

4673592.10 279452.37 100.00

Missing Component Report  
 Component Expected Retention (Calibration File)

All components were found

**Lampiran 5.** Hasil Analisis Statistik dengan SPSS tentang Pengaruh lama fermentasi terhadap kualitas kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

1. Analisis total pH kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

**NPar Tests**

[DataSet1] F:\SKRIPSI OCTA 15 2016\spss fix\data pH.sav

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan	16	2.50	1.155	1	4
ulangan	16	2.50	1.155	1	4
data	16	3.9550	.12431	3.76	4.18

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		perlakuan	ulangan	Data
N		16	16	16
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	2.50	2.50	3.9550
	Std. Deviation	1.155	1.155	.12431
Most Extreme Differences	Absolute	.167	.167	.135
	Positive	.167	.167	.135
	Negative	-.167	-.167	-.102
Kolmogorov-Smirnov Z		.670	.670	.540
Asymp. Sig. (2-tailed)		.760	.760	.932

a. Test distribution is Normal.

**Oneway**

**Descriptives**

data								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum

12 jam	4	4.1025	.06131	.03065	4.0049	4.2001	4.03	4.18
14 jam	4	4.0150	.05447	.02723	3.9283	4.1017	3.95	4.08
16 jam	4	3.8950	.04203	.02102	3.8281	3.9619	3.84	3.94
18 jam	4	3.8075	.03403	.01702	3.7533	3.8617	3.76	3.84
Total	16	3.9550	.12431	.03108	3.8888	4.0212	3.76	4.18

### Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.264	3	12	.850

### ANOVA

Data	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.203	3	.068	28.028	.000
Within Groups	.029	12	.002		
Total	.232	15			

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

Data

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
perlakuan	14 jam	.08750	.03473	.107	-.0156	.1906
	16 jam	.20750*	.03473	.000	.1044	.3106
	18 jam	.29500*	.03473	.000	.1919	.3981
14 jam	12 jam	-.08750	.03473	.107	-.1906	.0156
	16 jam	.12000*	.03473	.021	.0169	.2231
	18 jam	.20750*	.03473	.000	.1044	.3106
16 jam	12 jam	-.20750*	.03473	.000	-.3106	-.1044
	14 jam	-.12000*	.03473	.021	-.2231	-.0169

	18 jam		.08750	.03473	.107	-.0156	.1906
18 jam	12 jam		-.29500*	.03473	.000	-.3981	-.1919
	14 jam		-.20750*	.03473	.000	-.3106	-.1044
	16 jam		-.08750	.03473	.107	-.1906	.0156

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

### Data

Tukey HSD

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
18 jam	4	3.8075	
16 jam	4	3.8950	
14 jam	4		4.0150
12 jam	4		4.1025
Sig.		.107	.107

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

## 2. Analisis total asam kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

### NPar Tests

[DataSet1] F:\SKRIPSI OCTA 15 2016\spss fix\data total asam.sav

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan	16	2.50	1.155	1	4
ulangan	16	2.50	1.155	1	4
data	16	1.1088	.40338	.61	1.76

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	perlakuan	ulangan	data
--	-----------	---------	------

N		16	16	16
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	2.50	2.50	1.1088
	Std. Deviation	1.155	1.155	.40338
Most Extreme Differences	Absolute	.167	.167	.183
	Positive	.167	.167	.183
	Negative	-.167	-.167	-.168
Kolmogorov-Smirnov Z		.670	.670	.732
Asymp. Sig. (2-tailed)		.760	.760	.658
a. Test distribution is Normal.				

## Oneway

### Descriptives

data	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					12 jam	4		
14 jam	4	.9425	.24240	.12120	.5568	1.3282	.70	1.23
16 jam	4	1.0550	.26045	.13022	.6406	1.4694	.79	1.41
18 jam	4	1.6925	.04500	.02250	1.6209	1.7641	1.67	1.76
Total	16	1.1088	.40338	.10085	.8938	1.3237	.61	1.76

### Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.618	3	12	.099

## ANOVA

Data					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.014	3	.671	18.899	.000
Within Groups	.426	12	.036		
Total	2.441	15			

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

data

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
12 jam	14 jam	-.19750	.13328	.477	-.5932	.1982
	16 jam	-.31000	.13328	.146	-.7057	.0857
	18 jam	-.94750*	.13328	.000	-1.3432	-.5518
14 jam	12 jam	.19750	.13328	.477	-.1982	.5932
	16 jam	-.11250	.13328	.833	-.5082	.2832
	18 jam	-.75000*	.13328	.001	-1.1457	-.3543
16 jam	12 jam	.31000	.13328	.146	-.0857	.7057
	14 jam	.11250	.13328	.833	-.2832	.5082
	18 jam	-.63750*	.13328	.002	-1.0332	-.2418
18 jam	12 jam	.94750*	.13328	.000	.5518	1.3432
	14 jam	.75000*	.13328	.001	.3543	1.1457
	16 jam	.63750*	.13328	.002	.2418	1.0332

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

### Data

Tukey HSD

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
12 jam	4	.7450	
14 jam	4	.9425	
16 jam	4	1.0550	
18 jam	4		1.6925
Sig.		.146	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

3. Analisis jumlah mikroba pada kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill)

## NPar Tests

[DataSet1] F:\SKRIPSI OCTA 15 2016\spss fix\data mikroba log.sav

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan	16	2.50	1.155	1	4
ulangan	16	2.50	1.155	1	4
log_data	16	.6713	.25711	.34	1.07
data	16	5.5394	3.35302	2.19	11.70

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	perlakuan	ulangan	log_data	Data	
N	16	16	16	16	
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	2.50	2.50	.6713	5.5394
	Std. Deviation	1.155	1.155	.25711	3.35302

Most Extreme Differences	Absolute	.167	.167	.170	.230
	Positive	.167	.167	.170	.230
	Negative	-.167	-.167	-.108	-.159
Kolmogorov-Smirnov Z		.670	.670	.680	.918
Asymp. Sig. (2-tailed)		.760	.760	.744	.368
a. Test distribution is Normal.					

### Descriptives

log\_data

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
12 jam	4	.3759	.02777	.01388	.3317	.4201	.34	.41
14 jam	4	.5511	.11303	.05651	.3712	.7309	.45	.65
16 jam	4	.7804	.17445	.08723	.5028	1.0580	.66	1.03
18 jam	4	.9779	.09880	.04940	.8207	1.1351	.86	1.07
Total	16	.6713	.25711	.06428	.5343	.8083	.34	1.07

### Test of Homogeneity of Variances

log\_data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.106	3	12	.067

### ANOVA

log\_data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.830	3	.277	20.602	.000
Within Groups	.161	12	.013		
Total	.992	15			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

log\_data

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
12 jam	14 jam	-.17515	.08196	.197	-.4185	.0682
	16 jam	-.40449*	.08196	.002	-.6478	-.1611
	18 jam	-.60195*	.08196	.000	-.8453	-.3586
14 jam	12 jam	.17515	.08196	.197	-.0682	.4185
	16 jam	-.22934	.08196	.067	-.4727	.0140
	18 jam	-.42680*	.08196	.001	-.6701	-.1835
16 jam	12 jam	.40449*	.08196	.002	.1611	.6478
	14 jam	.22934	.08196	.067	-.0140	.4727
	18 jam	-.19746	.08196	.128	-.4408	.0459
18 jam	12 jam	.60195*	.08196	.000	.3586	.8453
	14 jam	.42680*	.08196	.001	.1835	.6701
	16 jam	.19746	.08196	.128	-.0459	.4408

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

log\_data

Tukey HSD

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
12 jam	4	.3759		
14 jam	4	.5511	.5511	
16 jam	4		.7804	.7804
18 jam	4			.9779
Sig.		.197	.067	.128

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

4. Analisis kadar protein kefir susu kacang kedelai (*Glycine max* (L)Merill)**NPar Tests**

[DataSet1] F:\SKRIPSI OCTA 15 2016\spss fix\data protein fiks.sav

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
perlakuan	16	2.50	1.155	1	4
ulangan	16	2.50	1.155	1	4
data	16	5.5144	1.43592	3.35	8.94

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		perlakuan	ulangan	data
N		16	16	16
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	2.50	2.50	5.5144
	Std. Deviation	1.155	1.155	1.43592
Most Extreme Differences	Absolute	.167	.167	.105
	Positive	.167	.167	.105
	Negative	-.167	-.167	-.078
Kolmogorov-Smirnov Z		.670	.670	.419
Asymp. Sig. (2-tailed)		.760	.760	.995
a. Test distribution is Normal.				

**Oneway****Descriptives**

data								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
12 jam	4	4.1275	.33984	.16992	3.5867	4.6683	3.80	4.59

14 jam	4	4.9500	1.27549	.63774	2.9204	6.9796	3.35	6.46
16 jam	4	5.8150	.59969	.29985	4.8608	6.7692	5.22	6.63
18 jam	4	6.5225	.27379	.13689	6.0868	6.9582	6.28	6.90
Total	16	5.3538	1.14054	.28514	4.7460	5.9615	3.35	6.90

### Test of Homogeneity of Variances

Data

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.623	3	12	.236

### ANOVA

Data	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12.982	3	4.327	7.951	.003
Within Groups	6.531	12	.544		
Total	19.513	15			

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

data

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
12 jam	14 jam	-.82250	.52165	.426	-2.3712	.7262
	16 jam	-1.68750*	.52165	.031	-3.2362	-.1388
	18 jam	-2.39500*	.52165	.003	-3.9437	-.8463
14 jam	12 jam	.82250	.52165	.426	-.7262	2.3712
	16 jam	-.86500	.52165	.385	-2.4137	.6837
	18 jam	-1.57250*	.52165	.046	-3.1212	-.0238
16 jam	12 jam	1.68750*	.52165	.031	.1388	3.2362
	14 jam	.86500	.52165	.385	-.6837	2.4137

	18 jam		- .70750	.52165	.548	-2.2562	.8412
18 jam	12 jam		2.39500*	.52165	.003	.8463	3.9437
	14 jam		1.57250*	.52165	.046	.0238	3.1212
	16 jam		.70750	.52165	.548	-.8412	2.2562

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

### Data

Tukey HSD

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
12 jam	4	4.1275		
14 jam	4	4.9500	4.9500	
16 jam	4		5.8150	5.8150
18 jam	4			6.5225
Sig.		.426	.385	.548

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

### Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

 <p>Kacang kedelai varietas Wilis diperoleh dari BALITKABI Malang</p>	 <p>Perendaman kacang kedelai</p>
 <p>Starter kefir diperoleh dari Laboratorium Teknik Hasil Ternak Fakultas Peternakan UB Malang</p>	 <p>Timbangan analitik</p>
 <p>Kefir susu kacang kedelai fermentasi 12 jam</p>	 <p>Kefir susu kacang kedelai fermentasi 14 jam</p>



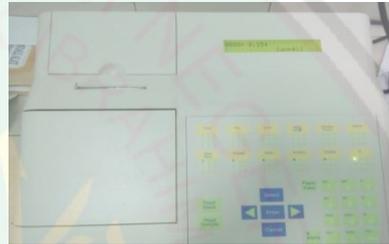
Kefir susu kacang kedelai fermentasi  
16 jam



Kefir susu kacang kedelai fermentasi  
18 jam



Pembuatan larutan kurva standard



Pengujian kadar protein pada  
spektrofotometer dengan panjang  
gelombang 580 nm



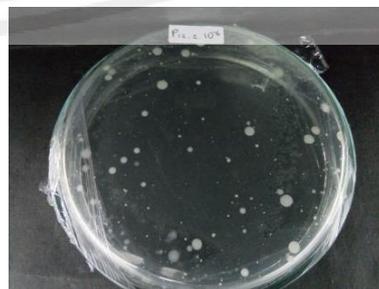
Uji TPC



Pengukuran pH kefir susu kacang  
kedelai



Uji total asam



Hasil TPC



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 558933, Fax. (0341) 558933 Malang

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : ZIANA OCTA FARIDAH ZAINI  
 NIM : 12620012  
 Program Studi : S1 Biologi  
 Semester : Ganjil/ Genap TA. 2012  
 Pembimbing : Ir. Liliek Harianie AR, M.P  
 Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Nilai pH, Total Asam, Jumlah Mikroba, Protein dan Kadar Alkohol Keфир Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	05 Februari 2016	Pengajuan Judul Skripsi	H
2.	10 Februari 2016	Revisi Judul Skripsi	H
3.	18 Februari 2016	Revisi Judul Skripsi	H
4.	25 Februari 2016	Acc Judul Skripsi	H
5.	26 Februari 2016	Konsultasi Bab I (Latar belakang, Rumusan masalah)	H
6.	1 Maret 2016	Revisi Bab I (Latar belakang, RM, Tujuan)	H
7.	4 Maret 2016	Acc Bab I	H
8.	9 Maret 2016	Konsultasi Bab II	H
9.	14 Maret 2016	Revisi Bab II (Tinjauan Pustaka Keфир)	H
10.	17 Maret 2016	Acc Bab II	H
11.	21 Maret 2016	Konsultasi Bab III	H
12.	23 Maret 2016	Revisi Bab III (Rancangan Penelitian)	H
13.	28 Maret 2016	Revisi Bab III (Uji Mikroba, Total Asam)	H
14.	31 Maret 2016	Revisi Bab III (Uji Protein)	H
15.	10 Januari 2017	Acc Keseluruhan (Bab I - Bab V)	H

Pembimbing Skripsi,

Ir. Liliek Harianie AR, M.P  
 NIP. 19620901998032001

Malang, 10 Januari 2017  
 Ketua Jurusan,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P  
 NIP. 197410132003122002



**KEMENTERIAN AGAMA**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
**JURUSAN BIOLOGI**

Jl. Gajayana No. 50 Telp. (0341) 558933, Fax. (0341) 558933 Malang

**BUKTI KONSULTASI SKRIPSI**

Nama : ZIANA OCTA FARIDAH ZAINI  
 NIM : 12620012  
 Program Studi : S1 Biologi  
 Semester : Ganjil/ Genap TA. 2012  
 Pembimbing : Dr. Ahmad Barizi, M.A.  
 Judul Skripsi : Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Nilai pH, Total Asam, Jumlah Mikroba, Protein dan Kadar Alkohol Kefir Susu Kacang Kedelai (*Glycine max* L) Merrill)

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	3 Maret 2016	Konsultasi Integrasi ayat bab I	
2.	15 Maret 2016	Revisi ayat bab I (Tumbuhan berbiji)	
3.	5 April 2016	Revisi ayat bab I (pembetulan tulisan)	
4.	27 April 2016	Acc Integrasi ayat bab I	
5.	11 Mei 2016	Konsultasi Integrasi ayat Bab II	
6.	26 Mei 2016	Acc ayat bab II	
7.	9 Agustus 2016	Konsultasi Integrasi ayat bab IV	
8.	24 Agustus 2016	Acc Integrasi ayat Bab I, II, IV	
9.	05 Januari 2017	Konsultasi Integrasi Bab I sampai Bab IV	
10.	06 Januari 2017	Acc Integrasi Bab I sampai Bab IV	

Pembimbing Skripsi,

Dr. Ahmad Barizi, M.A.  
 NIP. 1973121219980001

Malang, 10 Januari 2017  
 Ketua Jurusan,  
  
 Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.  
 NIP. 197410182003122002