

FERMENTASI WHEY LIMBAH KEJU UNTUK PRODUKSI KEFIRAN OLEH KEFIR GRAINS

FERMENTATION OF CHEESE WHEY FOR KEFIRAN PRODUCTION BY KEFIR GRAINS

Asri Nursiwi¹⁾, Rohula Utami¹⁾, Martina Andriani¹⁾, Ayu Purnama Sari²⁾

¹⁾Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta

Email: asrinursiwi@gmail.com

ABSTRACT

Exopolysaccharide (EPS) known as kefiran is biopolymer which is produced by lactic acid bacteria in kefir grains. Kefiran is applied in many fields as a thickener, stabilizer, emulsifier, fat substitute or gelling agent, and biofilm. Cheese whey waste can be used as carbon source in fermentation medium of kefiran production. It is because cheese whey waste contains high amount of lactose. The purpose of the research was to investigate chemical characteristic of cheese whey waste, enumeration of total bacteria, lactic acid bacteria and yeast in kefir grains, and to investigate the changes in kefir grains biomass, lactic acid content, pH value, lactose content, and kefiran yield during fermentation. Fermentation was carried out at ambient temperature and 37 °C during 72 jam, and analysed every 24 hours. The result of research showed that cheese whey waste has 93,42% moisture content; 0,46% ash content; 0,22% lactic acid content; 0,76% protein content; 5,4% lactose content, and pH value was about 4,6. Total bacteria in kefir grain was $8,6 \times 10^8$ CFU/g, lactic acid bacteria was $1,2 \times 10^7$ CFU/g and yeast was $1,9 \times 10^8$ CFU/g. During fermentation the change of kefir grains biomass did not significantly, lactic acid content was increase which make pH value and lactose content decrease. Kefiran yield was decrease during fermentation.

Key word: kefiran, exopolysaccharide, kefir grains, cheese whey

ABSTRAK

Kefiran merupakan eksopolisakarida (EPS) yang bisa dihasilkan oleh bakteri asam laktat yang terdapat dalam biji kefir (kefir grains). Kefiran bisa diaplikasikan sebagai pengental, penstabil, pengemulsi, gelling agent, serta dapat pula dibuat menjadi film. Whey keju merupakan limbah produksi keju yang bisa dimanfaatkan sebagai sumber karbon oleh mikrobia karena mengandung laktosa dalam jumlah yang tinggi. Tujuan dari penelitian ini adalah karakterisasi kimia whey limbah keju, enumerasi total bakteri, bakteri asam laktat (BAL) dan yeast yang ada dalam kefir grains, serta mengetahui perubahan berat biomassa, kadar asam laktat, nilai pH, kadar laktosa, dan rendemen kefiran setelah fermentasi limbah whey keju oleh kefir grains. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang dan suhu 37 °C selama 72 jam, tiap 24 jam dilakukan analisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa whey keju mempunyai kadar air 93,42%, kadar abu 0,46%, kadar asam 0,22%, kadar protein 0,76%, kadar laktosa 5,4%, dan nilai pH 4,60. Jumlah populasi total bakteri dalam kefir grains adalah $8,6 \times 10^8$ CFU/g, bakteri asam laktat sebesar $1,2 \times 10^7$ CFU/g, dan yeast sebesar $1,9 \times 10^8$ CFU/g. Selama proses fermentasi perubahan berat biomassa kefir grains tidak signifikan. Kadar asam laktat meningkat, disertai dengan penurunan pH dan penurunan kadar laktosa. Rendemen kefiran mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu fermentasi.

Kata kunci : kefiran, eksopolisakarida, kefir grains, whey keju

PENDAHULUAN

Bakteri asam laktat mampu menghasilkan eksopolisakarida (EPS). Dalam bidang pangan, EPS berfungsi sebagai pembentuk konsistensi dan reologi susu fermentasi, pengental, penstabil, pembentuk emulsi, *binders*, *gelling agents*, dan pembentuk biofilm (Seesuriyachan dkk., 2011). Sehingga dalam beberapa tahun terakhir ini permintaan polimer alam untuk aplikasi di bidang pangan tersebut terus meningkat terutama dari mikroorganisme

GRAS (*Generally Recognized As Safe*) seperti bakteri asam laktat (BAL).

Salah satu sumber yang dapat dijadikan kultur produksi eksopolisakarida adalah biji kefir (*kefir grains*) dengan eksopolisakarida yang dihasilkan biasa disebut dengan kefiran (Ghasemlou dkk., 2012; Zajsek dkk., 2013; Cheirsilp dan Radchabut, 2011; Harta dkk., 2003). Kefiran merupakan glukogalaktan bercabang yang larut dalam air yang mengandung jumlah D-Glukosa dan D-Galaktosa yang sama besar (Rimada dan Abraham, 2001). Kefiran banyak diaplikasikan sebagai pengental, penstabil,

pengemulsi,, atau gelling agent. Selain itu kefiran juga memiliki aktivitas antitumor, aktivitas antimikrobia, dan berefek positif terhadap metabolisme kolesterol. Karena sifat dan karakteristiknya ini permintaan akan produk kefiran semakin meningkat setiap tahunnya dan produksi kefiran semakin banyak dilakukan untuk kepentingan industri sehingga efektivitas produksi kefiran yang tinggi dan bersifat *low cost* wajib dikembangkan (Cheirsilp dan Radchabut, 2011). Hal tersebut baru dilakukan di luar negeri.

Kefiran dihasilkan oleh *Lactobacillus kefiranofaciens* yang terdapat pada biji kefir (kefir grains) (Cheirsilp dan Radchabut, 2011). Telah diketahui secara luas bahwa kefir grains memiliki mikroflora kompleks, yang terdiri dari lebih dari 100 jenis bakteri dan yeast. Interaksi mikroorganisme dalam flora tersebut diklasifikasikan menjadi empat kelompok, yaitu bakteri asam laktat homofermentatif, bakteri asam laktat heterofermentatif, yeast yang mengasimilasi laktosa, dan yeast yang tidak mengasimilasi laktosa. Yeast yang tidak mengasimilasi laktosa ini hidup dengan mengkonsumsi galaktosa dan asam laktat sebagai sumber karbon (Cheirsilp dan Radchabut, 2011) sehingga diharapkan dapat mengurangi jumlah asam laktat. Asam laktat ini dapat menyebabkan autotoksin bagi bakteri asam laktat yang ada di dalamnya selama fermentasi. Dengan berkurangnya asam laktat dari media mungkin akan meningkatkan produksi dari kefiran (Cheirsilp dan Radchabut, 2011).

Whey keju merupakan limbah produksi keju yang bisa dimanfaatkan sebagai sumber karbon oleh mikrobia karena mengandung laktosa dalam jumlah yang banyak (Cheirsilp dan Radchabut, 2011) sehingga berpotensi sebagai media fermentasi untuk memproduksi kefiran. Selama ini whey pada kebanyakan perusahaan keju hanya menjadi limbah dan belum dimanfaatkan secara optimal. Penggunaan whey keju ini bertujuan untuk meningkatkan kegunaannya yaitu dijadikan sebagai sumber media fermentasi yang murah.

Untuk menghasilkan kefiran dalam jumlah yang tinggi diperlukan suatu

parameter proses yang tepat. Keberhasilan proses fermentasi dipengaruhi oleh salah satunya kondisi proses yang digunakan. Suhu dan waktu fermentasi merupakan salah satu parameter proses yang penting. Suhu fermentasi berkaitan dengan aktivitas optimal mikrobia dalam kefir grains yang digunakan dalam memproduksi kefiran. Penelitian ini bertujuan untuk karakterisasi kimia whey limbah keju, enumerasi total bakteri, total BAL dan yeast yang ada dalam kefir grains, serta mengetahui perubahan biomassa kefir grains, kadar asam laktat, nilai pH, kadar laktosa, dan rendemen kefiran yang dihasilkan setelah fermentasi dalam media whey keju selama 72 jam yang diinkubasi pada suhu ruang dan suhu 37 °C.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan meliputi limbah whey keju yang diperoleh dari industri keju di daerah Boyolali dan kefir grains komersial yang diperoleh dari Rumah Kefir Yogyakarta. Media yang digunakan adalah susu pasteurisasi komersial, media *deMann Rogosa Sharpe* (MRS) agar, *Plate Count Agar* (PCA) dan *Peptone Glucose Yeast* (PGY). Bahan kimia yang digunakan adalah alkohol 96%., NaOH 0,1 N, Nelson A dan B, *arsenomolibdat*, indikator PP, NaOH–Na₂S₂O₃, H₂SO₄ pekat, asam Borat 4%, BCG-MR, HCl 0,02 N, katalisator N.

Tahapan Penelitian

Persiapan Kefir Grains

Kefir grains ditumbuhkan pada media susu pasteurisasi (Schoevers dan Britz, 2003) sebanyak 5% (b/v) pada suhu ruang selama 24 jam (Zajsek dkk., 2013 dengan modifikasi). Setelah itu kefir grains dipisahkan dari media menggunakan penyaring dan siap digunakan untuk fermentasi. Kefir grains yang tidak digunakan disimpan disuhu refrigerator dengan penambahan susu pasteurisasi dan disegarkan kembali secara berkala.

Fermentasi Whey Menggunakan Kefir Grains

Kefir grains yang sudah disiapkan kemudian diinokulasikan ke dalam whey yang sudah disterilisasi sebanyak 25 g *kefir grains* ke dalam 250 ml whey. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan suhu 37 °C selama 72 jam. Setiap 24 jam dilakukan analisis berat biomassa, kadar asam laktat, pH, kadar laktosa, dan rendemen kefiran yang dihasilkan.

Isolasi Kefiran

Isolasi kefiran menggunakan metode Rimada dan Abraham (2003), Piernaria dkk. (2009) dengan modifikasi. Isolasi kefiran dibagi menjadi dua, yaitu isolasi kefiran dari *broth* (media fermentasi) dan dari *kefir grains*. Proses isolasi kefiran diawali dengan pemisahan antara *kefir grains* dengan *broth* (media fermentasi) menggunakan kertas saring.

Isolasi kefiran dari *broth* melewati tahap pemanasan pada air mendidih selama 15 menit untuk melarutkan polisakarida yang terikat pada sel dan untuk menginaktivasi enzim yang dapat menghidrolisis polimer. Kemudian sel dipisahkan dengan sentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit pada 20 °C. Kefiran yang berada pada *broth* dipresipitasi menggunakan etanol 96% dengan volume dua kali volume *broth* dan disimpan pada suhu refrigerator selama 24 jam. Selanjutnya sampel disentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit, pada suhu 4 °C. Pellet dipresipitasi kembali dengan menambahkan etanol 96% dengan volume dua kali dari volume *broth* dan disimpan pada suhu refrigerator selama 24 jam. Setelah itu disentrifugasi pada 3000 rpm selama 15 menit, suhu 4 °C.

Untuk isolasi kefiran dari *kefir grains*, *kefir grains* ditambah dengan aquades dengan perbandingan aquades dan berat *kefir grains* adalah 1:10, kemudian dilanjutkan dengan pemanasan *kefir grains* yang telah ditambah aquades selama 15 menit. Proses selanjutnya sama dengan proses isolasi kefiran dari *broth*. Pellet yang diperoleh dibilas dengan air panas, lalu disaring dengan kertas saring, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105 °C selama 24 jam, kemudian ditimbang.

Metode Analisis

Analisis kadar air menggunakan metode gravimetri (AOAC, 1995), kadar protein menggunakan metode mikrokjeldahl (AOAC, 1995), kadar abu menggunakan metode pengabuan kering (AOAC, 1995), kadar laktosa menggunakan metode Nelson-Somogyi (AOAC, 1995), kadar asam laktat menggunakan metode titrimetri NaOH 0,1 N (Hadiwiyoto, 1994), nilai pH menggunakan pH meter, berat biomassa menggunakan metode Zajsek dkk. (2013).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Kimia Whey Keju

Whey yang digunakan adalah hasil samping dari proses pengolahan keju. Whey ini dihasilkan dari proses pemisahan curd. Hasil analisis kimia dari whey keju ini terlihat pada whey yang diperoleh dari hasil samping pengolahan keju mozzarella ini memiliki kadar air sebesar 93,42%, kadar asam tertitrasi sebesar 0,22%, dan pH 4,6. Di dalam whey masih terkandung berbagai nutrisi. Diantaranya adalah laktosa sebesar 5,43%, protein sebesar 0,76%, dan abu sebesar 0,46%. Menurut Goyal dan Gandhi (2009) pH whey keju adalah 6,21, kadar laktosa pada whey keju sebesar 5%, kadar protein sebesar 0,53%, dan masih mengandung berbagai mineral seperti sodium 260 mg/l, potasium 1300 mg/l, kalsium 291 mg/l, klorida 1167 mg/l, dan zink 210 µg/l. Sedangkan Anonim (2006) menyebutkan bahwa whey asam mempunyai kadar air sebesar 94-95%, kadar asam laktat mencapai 0,8%, pH 4,6-5, laktosa sebesar 3,8-4,3%, protein 0,8-1%, dan mineral sebesar 0,5-0,7%.

Tabel 1. Karakteristik Kimia Whey Keju

Analisis	Nilai (%wb)
Kadar Air	93,42
Kadar Abu	0,46
Kadar Asam Laktat	0,22
Kadar Protein	0,76
Kadar Laktosa	5,43
pH	4,60

Kadar laktosa yang bisa digunakan oleh mikrobia untuk hidup sebagai sumber karbon di dalam whey ini masih cukup tinggi. Selain itu di dalam whey juga masih mengandung mineral, tercermin dari kadar abu sebesar 0,46 %. Bakteri asam laktat, bakteri dominan pada *kefir grains* mampu memfermentasi laktosa sehingga bakteri *Lactobacillus kefiranofaceins* dalam *kefir grains* bisa hidup dengan memetabolisme laktosa dalam whey sebagai sumber karbon. Bakteri inilah yang akan menghasilkan kefiran sebagai hasil dari metabolismenya.

Karakteristik Mikrobiologi *Kefir Grains*

Mikrobia yang berperan dalam menghasilkan kefiran dalam penelitian ini berasal dari *kefir grains*. Hasil analisis mikrobiologis *kefir grains* terlihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2.Karakteristik Mikrobiologi *Kefir Grains*

Analisis	Jumlah (CFU/g)
Total bakteri	$8,6 \times 10^8$
Bakteri asam laktat	$1,2 \times 10^7$
Yeast	$1,9 \times 10^8$

Berdasarkan **Tabel 2**, di dalam *kefir grains* terdapat sejumlah bakteri asam laktat dan yeast. Populasi total bakteri dalam *kefir grains* yang digunakan dalam penelitian ini sebesar $8,6 \times 10^8$ CFU/g, bakteri asam laktat sebesar $1,2 \times 10^7$ CFU/g, dan yeast sebesar $1,9 \times 10^8$ CFU/g. Hal ini sesuai dengan Pogacic dkk. (2013) yang menyebutkan bahwa populasi mikrobia dalam *kefir grains* terdiri dari bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, yeast, dan jamur berfilamen yang bersimbiosis. Berdasarkan penelitian Abraham dan Rimada (2001) di dalam *kefir grains* terdapat bakteri asam laktat sebesar $1,8 \times 10^8$ CFU/g dan yeast sebesar $2,1 \times 10^7$ CFU/g. Perbandingan antara bakteri asam laktat dan yeast yang terdapat dalam *kefir grains* yang digunakan dalam penelitian ini berbeda dengan yang digunakan oleh Rimada dan Abraham (2001). Menurut Pogacic dkk. (2013) rasio dan jumlah masing-masing spesies mikrobia dalam *kefir grains* bergantung pada asalnya dan metode kultivasi.

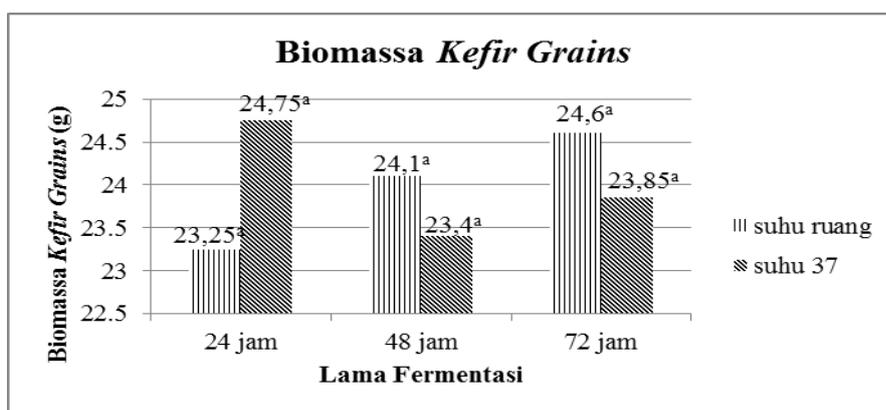
Menurut Pogacic dkk. (2013) di dalam *kefir grains* mengandung sekitar 10^9 *Lactococcus*, $10^4 - 10^5$ yeast, $10^4 - 10^5$ bakteri asam asetat, dan sejumlah kapang *Geotrichum candidum*. Simova dkk. (2002) menyebutkan bahwa di dalam *kefir grains* terdapat 83-90% bakteri asam laktat dan 10-17% yeast. Bakteri asam laktat yang terdapat dalam *kefir grains* yaitu *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei* subsp. *pseudopantarum* dan *Lactobacillus brevis*. Yeast yang terdapat dalam *kefir grains* adalah *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida inconspicua*, dan *Candida maris*.

Perubahan Setelah Fermentasi

Biomassa Biji Kefir (*Kefir Grains*)

Pengukuran biomassa bertujuan untuk mengetahui perubahan berat dari biji kefir (*kefir gains*) setelah fermentasi pada suhu ruang dan suhu 37 °C selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Berat awal *kefir grains* sebelum fermentasi adalah seberat 25 g.

Hasil analisis biomassa *kefir gains* setelah fermentasi 24 jam dapat dilihat pada **Gambar 1**. Berdasarkan data pada **Gambar 1** tampak berat *kefir grains* mengalami penurunan setelah fermentasi. Menurut Rimada dan Abraham (2003), penurunan berat biomassa *kefir grains* disebabkan oleh pelepasan jumlah total polisakarida termasuk eksopolisakarida (EPS) terlarut dari *kefir grains*. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi biomassa diantaranya, interval waktu penggantian media tumbuh *kefir grains*, suhu, konsentrasi penambahan nutrisi yang tepat pada media pertumbuhan, komposisi mikrobia asal *kefir grains*, dan tipe strain bakteri pada *kefir gains*.



Gambar 1. Berat Kefir Grains Setelah Fermentasi pada Whey (Suhu Ruang dan Suhu 37 °C)

Berdasarkan data yang dapat dilihat pada **Gambar 1**, tampak bahwa berat *kefir grains* antar sampel setelah fermentasi tampak tidak saling berbeda nyata. Akan tetapi apabila ditinjau dari perbandingan lama fermentasi terlihat bahwa fermentasi selama 24 jam menunjukkan biomassa tertinggi dibanding dengan fermentasi selama 48 jam dan 72 jam, yaitu terdapat pada sampel dengan perlakuan suhu 37 °C selama 24 jam dengan biomassa yang dihasilkan sebesar 24,75 gram. Hal ini selaras dengan penelitian Rimada dan Abraham (2001) bahwa bakteri asam laktat (BAL) dan yeast mengalami fase stasioner setelah inkubasi 24 jam, sehingga apabila melewati waktu 24 jam fermentasi jumlah biomassa tidak meningkat. Selain itu fermentasi setelah 24 jam menunjukkan bahwa setelah waktu tertentu inkubasi atau dalam kondisi lingkungan tertentu, *kefir grains* dapat terlarut, membebaskan komponen ke media. Sedangkan ditinjau dari suhu fermentasi yang digunakan tampak bahwa suhu 37 °C menunjukkan biomassa yang lebih tinggi dibanding dengan suhu ruang, yaitu 24,75 gram. Hal ini seperti yang dinyatakan oleh Habibi dkk.. (2011) bahwa bakteri asam laktat pada *kefir grains* sebagian besar memiliki suhu optimum pertumbuhan 37 °C. Akan tetapi, setelah melewati waktu 24 jam, biomassa *kefir grains* pada suhu ruang menunjukkan biomassa lebih tinggi dibanding pada suhu 37 °C. Hal ini karena fermentasi pada suhu 37 °C menyebabkan eksopolisakarida terlarut lebih cepat ke dalam media fermentasi dibanding pada suhu ruang (Rimada dan Abraham, 2001).

Kadar Asam Laktat

Selama proses fermentasi terjadi peningkatan nilai total asam akibat aktivitas bakteri asam laktat. Laktosa merupakan disakarida yang tersusun atas galaktosa dan glukosa dengan ikatan β -1,4. Surono (2004) menyatakan, berbagai monosakarida dimetabolisme oleh bakteri asam laktat menjadi glukosa-6-fosfat atau fruktosa-6-fosfat dan kemudian dimetabolisme melalui jalur Embden Meyerhoff Parnas (EMP) yang akhirnya dihasilkan asam laktat.

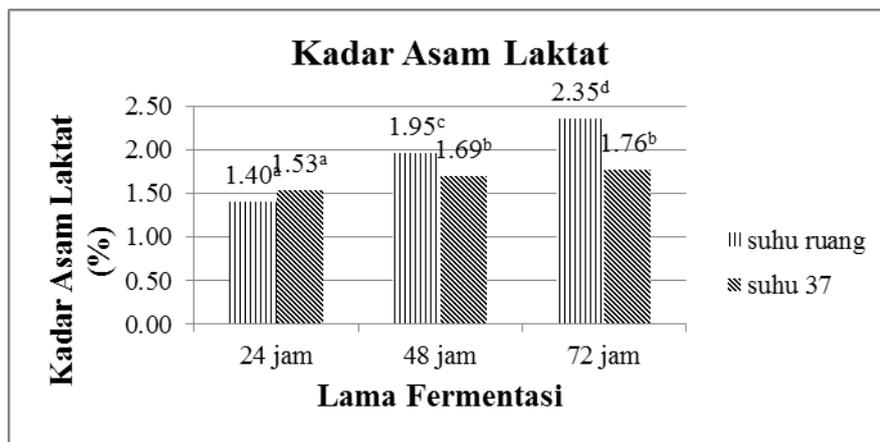
Nilai pH

Nilai pH merupakan kombinasi fungsi dari asam tertitrasi dan basa terkonjugasi. Konsentrasi ion hidrogen bebas direfleksikan dengan nilai pH (Nielsen, 2003). Yang (2000) menyatakan bahwa fermentasi oleh BAL pada *kefir grains* ditandai dengan terakumulasinya asam-asam organik yang diikuti dengan penurunan pH. Tingkat dan tipe dari asam-asam organik selama proses fermentasi tergantung kepada spesies organisme, komposisi kultur dan kondisi pertumbuhan.

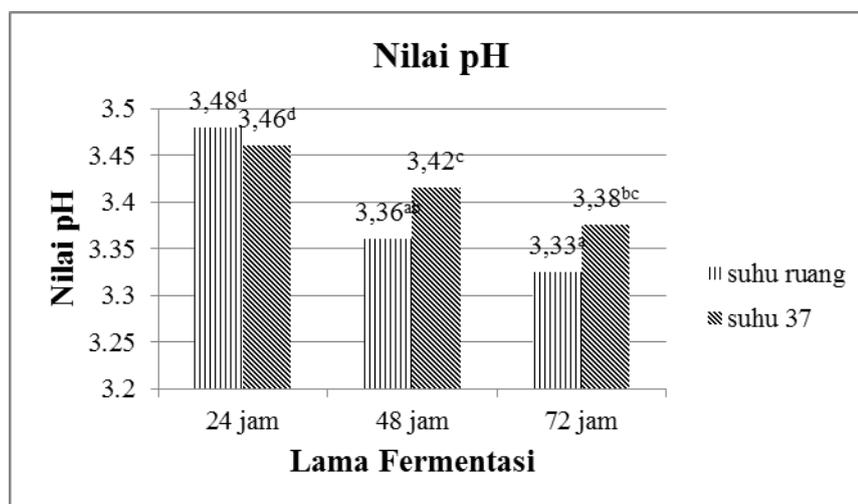
Berdasarkan data yang didapat (**Gambar 4**), tampak bahwa penurunan pH terjadi seiring dengan semakin lama waktu fermentasi. Hal ini selaras dengan meningkatnya kadar asam laktat (**Gambar 3**) sehingga mempengaruhi penurunan nilai pH di dalam whey, yaitu dari pH 3,48 menjadi 3,33 pada perlakuan suhu ruang dan pH 3,46 menjadi 3,38 pada perlakuan suhu 37 °C. Sedangkan ditinjau dari suhu fermentasi yang digunakan tampak bahwa nilai pH media

fermentasi pada perlakuan suhu ruang lebih tinggi dibanding dengan suhu 37 °C, seharusnya apabila kadar asam laktat yang tinggi pada perlakuan suhu ruang juga menyebabkan pH pada sampel dengan perlakuan suhu ruang lebih rendah jika dibanding dengan perlakuan suhu 37 °C.

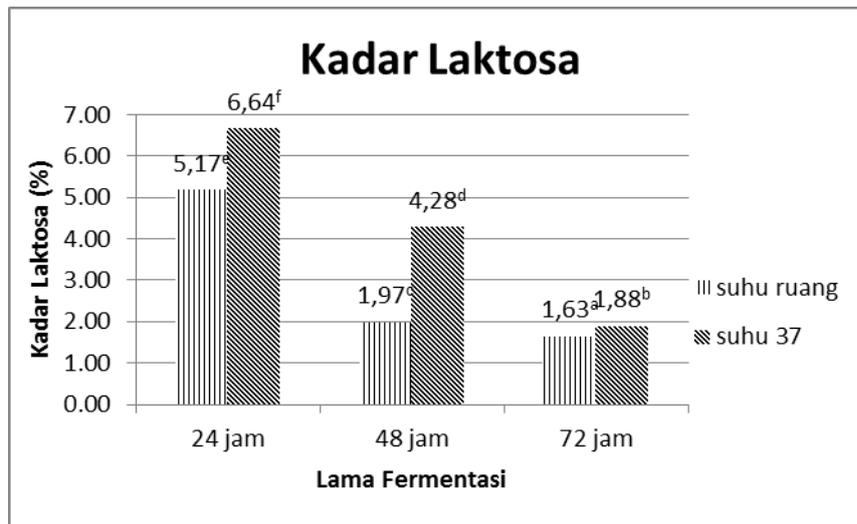
Namun pH yang terjadi pada sampel berkebalikan dari asam laktat yang dihasilkan. Nilai pH yang didapat ini tidak selaras dengan asam laktat yang dihasilkan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Kadar Asam Laktat Whey setelah Fermentasi (Suhu Ruang dan Suhu 37 °C)



Gambar 3. pH Whey Setelah Fermentasi (Suhu Ruang dan Suhu 37 °C)



Gambar 4. Kadar laktosa pada whey setelah fermentasi pada suhu ruang dan Suhu 37°C

Hal ini karena adanya asam organik lain seperti asam asetat yang juga dihasilkan oleh bakteri asam laktat mempengaruhi pH pada media fermentasi. Rendahnya nilai pH pada perlakuan suhu 37 °C diduga karena adanya asam asetat yang lebih tinggi dibanding dengan perlakuan pada suhu ruang. Hal ini selaras dengan penelitian Magalhães dkk.. (2011) yang menunjukkan bahwa asam asetat yang diduga dihasilkan dari bakteri asam asetat dan bakteri asam laktat heterofermentatif juga berperan dalam penurunan pH dengan menghasilkan asam asetat 0,7 g/l setelah fermentasi 2-48 jam.

Kadar Laktosa

Selama fermentasi terjadi penurunan kadar laktosa pada whey, baik yang difermentasi pada suhu ruang maupun suhu 37 °C (**Gambar 4**), yaitu dari 5,17% menjadi 1,63% untuk yang difermentasi suhu ruang dan 6,64% menjadi menjadi 1,88% untuk yang difermentasi suhu 37 °C.

Hal ini terjadi karena laktosa telah dimetabolisme oleh bakteri asam laktat dan yeast. Menurut Simova dkk. (2002) didalam *kefir grains* terdapat bakteri asam laktat, yeast dan sejumlah kapang. Bakteri asam laktat akan memfermentasi laktosa dan dihasilkan asam laktat.

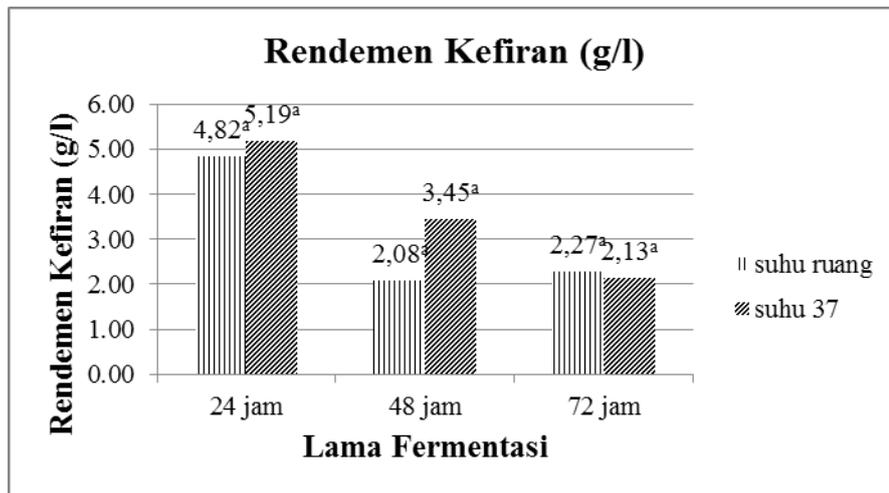
Menurut Kosoemawardani, dkk. (2013), jumlah bakteri asam laktat yang tinggi menyebabkan perombakan gula menjadi asam laktat jauh lebih besar. Selain itu di dalam *kefir grains* juga terdapat yeast

yang mampu memfermentasi laktosa, yaitu *Kluyveromyces marxianus* var. *Lactis*.

Ditinjau dari suhu fermentasi yang dilakukan, tampak bahwa kadar laktosa pada media fermentasi dengan perlakuan suhu 37 °C lebih tinggi daripada suhu ruang. Dari data pada **Gambar 4** tampak bahwa perlakuan dengan perbedaan suhu tampak saling berbeda nyata. Hal ini selaras dengan aktivitas mikroorganisme pada sampel dengan perlakuan suhu ruang yang lebih tinggi dibanding dengan aktivitas mikroorganisme pada sampel dengan perlakuan suhu 37 °C (**Gambar 2**). Aktivitas mikroorganisme ini dapat dilihat dari asam laktat yang dihasilkan pada perlakuan suhu ruang lebih tinggi dibanding dengan asam laktat pada perlakuan suhu 37 °C, sehingga diduga konsumsi laktosa oleh mikroorganisme pada suhu ruang cenderung lebih tinggi dibanding dengan suhu 37 °C.

Rendemen Kefiran

Gambar 5 merupakan data total kefiran yang disolasi dari media fermentasi (*broth*) dan *kefir grains* dengan rendemen total kefiran berkisar antara 2,08–5,19 g/l. Kefiran yang dihasilkan antar sampel tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Akan tetapi, walaupun tidak menghasilkan rendemen kefiran yang berbeda secara signifikan, tampak bahwa semakin lama waktu fermentasi yang dilakukan, rendemen kefiran yang dihasilkan semakin sedikit.



Gambar 5. Produksi kefiran pada whey yang difermentasi pada suhu ruang dan suhu 37 °C

Pada perlakuan suhu ruang tampak rendemen kefiran yang dihasilkan mulai dari 4,82 g/l turun menjadi 2,08 g/l dan 2,27 g/l setelah melewati lama fermentasi 24 jam. Sedangkan rendemen kefiran pada fermentasi suhu 37 °C rendemen kefiran yang dihasilkan pada lama fermentasi 24 jam adalah 5,19 g/l kemudian turun menjadi 3,45 g/l pada lama fermentasi 48 jam dan 2,27 g/l pada lama fermentasi 72 jam. Hal ini selaras dengan biomassa yang dihasilkan bahwa biomassa pada fermentasi selama 24 jam menunjukkan biomassa tertinggi, sehingga diduga dapat menghasilkan rendemen kefiran yang lebih tinggi juga. Selain itu penurunan rendemen kefiran yang didapat setelah fermentasi 24 jam diduga karena adanya degradasi polisakarida. Beberapa peneliti menyatakan bahwa bakteri asam laktat (BAL) membebaskan *cytoplasmic hidrolases* setelah lama inkubasi tertentu yang bisa mendegradasi eksopolisakarida (Rimada dan Abraham, 2001).

KESIMPULAN

Whey keju mempunyai kadar air 93,42%, kadar abu 0,46%, kadar asam 0,22%, kadar protein 0,76%, kadar laktosa 5,4%, dan nilai pH 4,60. Jumlah populasi total bakteri dalam *kefir grains* adalah $8,60 \times 10^8$ CFU/g, bakteri asam laktat sebesar $1,17 \times 10^7$ CFU/g, dan yeast sebesar $1,91 \times 10^8$ CFU/g. Selama proses fermentasi perubahan berat biomassa kefir grain tidak signifikan. Kadar asam laktat meningkat, disertai dengan penurunan

pH dan penurunan kadar laktosa. Rendemen kefiran mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu fermentasi

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada Universitas Sebelas Maret yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Unggulan Fakultas (UF-UNS) dana PNPB tahun 2014 melalui No Kontrak 501/UN27.11/PN/2014

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim.(2006). *Whey*.<http://www.dairyforall.com/whey.php>. [3 September 2014].
- AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC
- Cheirsilp, B. dan Radchabut,S . (2011). *Use of whey lactose from dairy industry for economical kefir production by Lactobacillus kefiranofaciens in mixed cultures with yeasts*. Elsevier, New Biotechnology 28.
- Ghasemlou, Me., Famarz, K., Kambiz,J., Seyed, M.T.G.,Salma, T. (2012). *Structural investigation and response surface optimisation for improvement of kefir production yield from a low-cost culture medium*. Journal Food Chemistry 133. Pages: 383–389.
- Goyal,N., Gandhi,D.N. (2009). *Comparative*

- analysis of Indian paneer and cheese whey for electrolyte whey drink.* World Journal of Dairy & Food Sciences 4 (1): 70-72, 2009.
- Hadiwiyoto, S. (1994). *Teori dan Prosedur Pengujian Mutu Susu dan Hasil Olahannya.* Liberty. Yogyakarta
- Harta, O., M, Iconomopoulou., A, Bekatorou., P, Nigam., M, Kontominas., A.A, Koutinas. (2003). *Effect of various carbohydrate substrates on the production of kefir grains for use as a novel baking starter.* Food Chemistry 88. Pages: 237–242.
- Kosoemawardani, D., Samsul, R., Moralita, T. (2013). *Perubahan sifat mikrobiologi dan kimiawi rusip selama fermentasi.* Jurnal Agritech, Vol. 33, No. 3. Hal: 265 – 272.
- Magalhães, K.T., Giuliano, D., Gilberto, V. D.M.P., Jose, M.O., Lucilia, D., Jose, A. Teixeira, Joao, Silva.B.A, Rosane, F.S. (2011). *Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir.* Food Chemistry 126. Pages: 249–253.
- Piermaria, J.A., Pinotti, A., Garcia, M.A., Abraham, A.G. (2009). *Films based on kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: development and characterization.* Food Hydrocolloids 23 : 684–690.
- Pogacic, T., Sinko, S., Zamberlin, S., Samarzija, D., (2013). *Microbiota of kefir grains.* Mljekarstvo 63 (1), 3-14
- Rimada, P.S., Abraham, A.G. (2001). *Polysaccharide production by kefir grains during whey fermentation.* Journal of Dairy Research 68 653±661.
- Rimada, P.S., Abraham, A.G. (2003). *Comparative study of different methodologies to determine the exopolysaccharide produced by kefir grains in milk and whey.* Lait 83: 79–87.
- Schoevers, A., Britz, T.J., (2003). *Influence of different culturing conditions on kefir grain increase* International Journal of Dairy Technology. Vol 56, No 3 August.
- Seesuriyachan, Phisit, Kuntiya, A., Hanmoungjai, P., Techapun, C. (2011). *Exopolysaccharide production by Lactobacillus confusus TISTR 1498 using coconut water as an alternative carbon source: the effect of peptone, yeast extract and beef extract.* Songklanakarin J. Sci. Technol. 33 (4), 379-387, Jul. - Aug. 2011.
- Simova, E., D, Beshkova., A, Angelov., T.S, Hristozova., dan Z, Spasov. (2002). *Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them.* Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 28, 1–6.
- Surono, S. (2004). *Probiotik, Susu Fermentasi dan Kesehatan.* YAPMMI, Jakarta.
- Yang, Z. (2000). *Antimicrobial Compounds and Extracellular Polysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: Structures and Properties.* Dissertation. Faculty of Agriculture and Forestry University of Helsinki, Helsinki.
- Zajsek, K., Gorsek, A., Kolar, M. (2013). *Cultivating conditions effects on kefir production by the mixed culture of lactic acid bacteria imbedded within kefir grains.* Jurnal elsevier, Food Chemistry.