

Aktivitas Antibakteri Kefir dengan Media Susu yang Berbeda terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

(Antibacterial Activity Kefir with Different Milk Media against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*)

Asma Bio Kimestri^{1*}, Arbyin Pratiwi¹, Putu Nara Kusuma Prasanjaya¹, Purnaning Dhian Isnaeni¹

¹Fakultas Peternakan Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Tridarma Jl. H. E. A. Mokodompit, Amdonohu, Kendari, Sulawesi Tenggara, Indonesia 93232.

*Corresponding author: asma.bio@uho.ac.id

Abstrak. Susu kefir merupakan suatu produk fermentasi susu dengan penambahan kefir grains. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktifitas antibakteri kefir dengan media susu yang berbeda terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Media susu yang digunakan susu UHT, Susu bubuk fullcream, dan susu bubuk skim dengan penambahan kefir masing 10% (b/v). Uji yang dilakukan dengan metode uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar menggunakan bakteri *Escherichia coli* (gram negatif) dan *Staphylococcus aureus* (gram positif). Analisis menggunakan RAL dengan 3 perlakuan 5 ulangan. Hasil yang diperoleh dari uji aktivitas antibakteri menggunakan media susu yang berbeda terhadap bakteri *Escherichia coli* Media susu UHT memiliki zona hambat 8,78 mm, susu bubuk fullcream zona hambat 8,53 mm, dan susu bubuk skim 6,88 mm. Aktivitas antibakteri media susu berbeda terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* media susu UHT memiliki zona hambat 8,15 mm, susu bubuk fullcream zona hambat 8,02 mm, dan susu bubuk skim 5,63 mm. aktivitas antibakteri yang ada pada susu UHT dan susu bubuk fullcream lebih besar daya hambatnya terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan susu bubuk skim karena media mempengaruhi fermentasi kefir.

Kata kunci: Susu UHT, Susu bubuk Fullcream, Susu bubuk Skim, kefir, Aktivitas antibakteri

Abstract. Kefir milk is a fermented milk product with the addition of kefir grains. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of kefir with different milk media against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Milk media used were UHT milk, full-cream milk powder, and skim milk powder with the addition of 10% (b/v) kefir each. The test was conducted with an antibacterial activity test method with agar diffusion method using *Escherichia coli* (gram-negative) and *Staphylococcus aureus* (gram-positive) bacteria. Analysis using RAL with 3 treatments and 5 replicates. The results obtained from the antibacterial activity test using different milk media against *Escherichia coli* bacteria UHT milk media has an inhibition zone of 8.78 mm, full-cream milk powder inhibition zone of 8.53 mm, and skim milk powder 6.88 mm. Antibacterial activity of different milk media against *Staphylococcus aureus* bacteria, UHT milk media has an inhibition zone of 8.15 mm, full-cream milk powder has an inhibition zone of 8.02 mm, and skim milk powder has 5.63 mm. Antibacterial activity in UHT milk and full-cream milk powder is greater inhibition against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria than in skim milk powder because the media affects kefir fermentation.

Keywords: UHT milk, Full cream milk powder, Skim milk powder, kefir, Antibacterial activity

1. Pendahuluan

Susu kefir adalah suatu produk fermentasi susu yang dibuat dengan penambahan kefir grains. Kefir grains atau yang sering disebut bibit kefir merupakan kumpulan dari bakteri asam laktat, bakteri asetat, yeast dan beberapa mikroorganisme lainnya. Media tumbuh mikroorganisme kefir umumnya susu kambing dan sapi. Kandungan karbohidrat dan lemak yang terdapat dalam susu menjadi media dan sumber energi mikroorganisme kefir. Kandungan protein susu digunakan mikroorganisme kefir untuk mensimulir pertumbuhan mikroorganisme kefir. Susu kefir merupakan susu yang terfermentasi yang

mengandung alcohol 0,5-1% [1]. Kefir memiliki kelebihan dengan terbentunya asam mempunyai manfaat dalam memperpanjang masa simpan, mencegah pertumbuhan mikroba pembusuk sehingga mencegah kerusakan pada susu, dan mencegah pertumbuhan mikroba patogen sekaligus meningkatkan kemanan produk kefir [2].

Ketersediaan susu segar masih sangat minim sehingga alternatif pembuatan susu kefir menggunakan bahan yang mudah di dapatkan seperti susu bubuk full krim, susu Skim dan susu UHT. Olahan susu tersebut dapat dijadikan media tumbuh dari mikroorganisme kefir. Perbedaan kandungan nutrisi yang terdapat pada susu bubuk full krim, susu bubuk skim, dan susu UHT akan mempengaruhi pertumbuhan dari mikroorganisme kefir selama fermentasi.

Mikroba yang terdapat dalam bibit kefir yaitu *Streptococcus* sp, *Lactobacili* dan beberapa jenis ragi/khamir nonpatogen [3]. Pertumbuhan mikroorganisme selama fermentasi mempengaruhi pembentukan komponen seperti asam laktat, asam asetat, CO₂, Alkohol, dan senyawa organik. Asam laktat yang dihasilkan susu kefir setelah fermentasi bermanfaat sebagai penghambat bakteri patogen. Manfaat kefir bagi kesehatan seperti merangsang imunitas tubuh, menghambat pertumbuhan sel tumor, mampu menurunkan kadar kolesterol, menjaga keseimbangan bakteri di dalam usus, dan mengandung senyawa anti bakteri. Minuman kefir mempunyai efek yang lebih baik dari pada susu biasa. Bakteri yang digunakan pada penelitian ini mewakili bakteri yang sering menjadi sumber infeksi pada pencernaan sehingga dilakukan efektifitas potensi antibakteri minuman kefir dengan menumbuhkan di media susu yang berbeda.

2. Metode Penelitian

Bahan yang digunakan kefir grain, susu UHT, Susu Bubuk Full krim, Susu Skim, aquades, media nutrient Agar (NA), Kultur bakteri *Staphylococcus aureus* (gram positif), bakteri *Escherchia coli* (gram -negatif), MRS Broth, buffer pH 4, buffer pH 7, dan kertas tissue.

Alat yang digunakan timbangan, gelas ukur, panci, kompor, pengaduk, tabung reaksi, vortex, hot plate, beaker glass, corong, bunsen, aluminium foil, cawan petri, incubator, pH meter, autoclave, oven, cool box, Erlenmeyer, magnetic stirrer, panci, ring, timbangan analitik, pipet tetes, titrasi, thermometer.

2.1. Prosedur Penelitian

2.1.1 Proses mengaktifkan bibit kefir

Bibit kefir diaktivasi dalam susu pada suhu 28°C selama 24 jam. Setelah proses fermentasi granula di saring untuk menghilangkan gumpalan susu dan dicuci dengan air steril. Granula sebelum digunakan diaktivasi sebanyak 3 kali [4].

2.1.2 Pembuatan Produk Kefir

Susu UHT dimasukkan kedalam wadah sebanyak 1 liter dan tambahkan dengan granula kefir yang sudah diaktivasi sebanyak 10% (b/v) di inkubasi pada suhu 28°C selama 8 jam [5]

Susu bubuk fullcream dan susu bubuk skim di rekonstitusi sebanyak 10% dengan menambahkan aquades dandihomegenkan. Susu tersebut dipisahkan didalam wadah masing dan dipanaskan dengan menggunakan suhu 105°C selama 5 menit dengan autoklaf. Setelah media susu disterilkan selanjutnya didinginkan dan diinokulasi granula kefir yang diaktivasi sebanyak 10% (b/v) dan di inkubasi pada suhu 28°C selama 8 jam. Produk yang telah difermentasi dilakukan proses uji aktivitas antibakteri.

2.2. Prosedur Uji

Uji Aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar modifikasi [6] [7]. Nutrien Agar (NA) yang telah disterilkan didinginkan sampel suhu 50°C dalam penangan air. Kultur masing-masing bakteri 24 jam konsentrasi sel per ml ditambahkan kedalam NS sebanyak 40µl untuk setiap 20 ml NA. Kemudian dituang agar cawan petri tinggi 4-5 mm. Membuat 2 sumuran pada agar tersebut dengan diameter 9,5mm. Kedalaman-masing sumur dimasukkan 200 µ sampel susu kefir dengan media susu yang berbeda. Selanjutnya diinkubasi suhu 37°C selama 24 – 48 jam dengan posisi tidak dibalik. Hasil penghambatan terhadap bakteri yang diamati diukur diameter zona hambat dalam mm menggunakan

mikrometer, tahap dilakukan duplo. Bakteri patogen yang digunakan Gram negatif *Escherichia coli* dan gram positif *Staphylococcus aureus*.

2.3 Analisis data

Data rancangan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) 3 perlakuan 5 ulangan. Data dianalisis dengan menggunakan Software IBM SPSS Statistic 23.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Uji Aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dari hasil penelitian menggunakan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* dan bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri pathogen yang sangat mempengaruhi bahan pangan dan menyebabkan masalah pencernaan [8].

Tabel 1. Rerata Aktivitas antibakteri (mm) susu kefir dengan media yang berbeda.

Jenis Bakteri	Media		
	Susu UHT	Susu bubuk Fullcream	Susu bubuk skim
<i>Escherichia coli</i> .	8,78 ± 0,378 ^b	8,53 ± 0,238 ^b	6,88 ± 0,915 ^a
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,15 ± 0,765 ^b	8,02 ± 0,685 ^b	5,63 ± 0,307 ^a

^{a,b} Superskrip menunjukkan perbedaan yang nyata pada media susu yang berbeda (P<0,05)

Hasil analisis menunjukkan kualitas susu kefir dengan media susu yang berbeda menunjukkan pengaruh nyata (P<0,05) terhadap bakteri *Escherichia coli*. Nilai rata-rata zona hambat susu UHT 8,78 mm dan susu bubuk fullcream 8,53 mm tidak jauh berbeda sedangkan pada susu bubuk skim 6,88 mm zona hambatnya lebih kecil. Tabel 1 menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* yang dengan media susu yang berbeda. Pengaruh media susu sangat mempengaruhi komponen senyawa yang bersifat antibakteri. BAL dalam kefir menghasilkan asam laktat yang menghambat aktivitas antibakteri dari *Escherichia coli*. Asam laktat memberi efek bakterisidal pada pH dibawah 5 terhadap bakteri gram negative [9]. Zona hambat yang terbentuk kefir terhadap *Escherichia coli* menggunakan media susu UHT, susu bubuk fullcream, dan susu bubuk skim dimater zona hambatan katagori sedang. [10] Standar kekuatan antibakteri berdasarkan diameter zona hambat >20 mm yang berate sangat kuat, zona hambat 10-20 mm zona hambat katagori kuat, 5-10 mm katagori sedang, dan zona hambat <5 mm katagori lemah. Zona hambat yang terbentuk dari asam laktat yang dihasilkan. Media susu sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroba probiotik yang ada pada kefir. Susu UHT dan susu bubuk Fullcream kelengkapan nutrisinya masih lengkap sehingga bakteri probiotik dalam memecah nutrisi menjadi asam laktat masih tinggi sehingga lebih banyak menghasilkan BAL. Susu bubuk skim yang nutrisi sudah dikurangi lemaknya sehingga minim akan nutrisi yang digunakan oleh mikroba probiotik kefir untuk di fermentasi sehingga bakteri asam laktat yang dihasilkan kurang. Bakteri gram negatif yang memiliki peptidoglikan yang lebih sedikit dan kandungan lemak yang lebih banyak sehingga susu kefir mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* disbakan oleh senyawa antimikroba pada kefir berupa asam-asam organik [11].

Pada Tabel 1 menunjukkan kualitas susu kefir dengan media susu yang berbeda terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Nilai rata-rata zona hambat UHT 8,15 mm dan susu bubuk fullcream 8,02 mm yang berdasarkan standar zona hambatan termasuk katagori sedang, sedangkan susu bubuk skim 5,63 mm termasuk zona hambat yang katagori lemah. Terbentuknya zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan gram positif yang memiliki peptidoglikan lebih kompleks dan kandungan lipid yang lebih rendah. Peningkatan aktivitas antibakteri karena adanya senyawa asam laktat yang merupakan bakterisidal yang mampu menghambat bakteri gram positif. Bakteri asam laktat pada kefir dalam menghambat bakteri patogen mempengaruhi asam organik [12]. Senyawa antibakteri pada kefir bukan hanya asam organik yang bekerja menghambat terbentuknya zona hambat tetapi juga hydrogen peroksida serta bakteriosin [13]. Media susu mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme

pada kefir. Semakin banyak mikroorganisme yang aktif dan berkembang biak pada susu kemampuan memecah substrak semakin baik sehingga akan menghasilkan asam laktat dalam jumlah yang banyak [14]. Selama proses fermentasi kefir memiliki kandungan asam organik (asam laktat dan asam asetat), karbondioksida, hydrogen peroksida, etanol diasetil dan peptide untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri pembusuk [15].

4. Kesimpulan

Susu kefir dengan media susu yang berbeda menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang termasuk katagori Sedang. Media susu UHT dan susu bubuk fullcream memiliki diameter zona hambat 8 mm yang berkategori sedang sedangkan untuk susu skim sekitar 6-5 mm yang berkategori lemah.

5. Daftar Pustaka

- [1] Simova, E., D Beshkova, A. Angelov, T Frengova, and Spasov. 2002. Lactic Acid Bacterial and Yeast in Kefir Grains and Kefir Made from Them, *J. Ind Microbiol Biotechnol* 28: 1-6.
- [2] Purnomo, H., and L. D. Muslimin. 2012. Chemical Characteristik of Pasteurisasi Goad Milk and Goad Milk Fefir of Indonesia Kefir and Incubation time. *Journal International Food Res* 19(2):791-794.
- [3] Gaware, V., K. Kotade, R. Dolas, and K Dhamak. 2011. The Magic of Kefir: A Review. *Pharmacologyonline* 1: 376-386.
- [4] Leite, A. M.O., Leite, D C A., Del Aguila, E. M. Alveres, T. S. Peixoto, R.S. Miguel, M.A. L., Silva, J. T, and Paschoalin V M F. 2013. Microbiological and chemical caharacteristics of Brazilian kefir during fermentation and storange processes. *J. Dairy Sci.* 96:4149-4159.
- [5] Fitrianiingsih, H. Hafid, A. B. Kimestri, A. Sulfitriana, and R. D. S. Toba. 2021. The effect of different kefir grains stater concentration on pH, alcohol percentage, and Organoleptic properties of Ultra High Temperature (UHT) Milk kefir. *Proceeding of International Convergence on Improving Tropical Animal Production for Food Security.* Atlantis Press 20: 399-403.
- [6] Wolf, C.E. and W. R. Gibbons. 1996. Improved method for quantification of the bacteriocin nisin. *J. App. Bacteriol.* 80:453-457
- [7] Kimestri AB, Indratiningsih, W Hadisaputro. 2018. Microbiological and physicochemical quality of pasteurized milk supplemented with sappan wood extract (*Cesalpinia sappan L.*). *International Food Reasearch Journal* 25(1):392-398.
- [8] Fauzul, M and Khariri. 2020. Baktei Patogen Penyebab Fooofborne Dieases. *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi Covid-19* 74-79.
- [9] Ibrahim, H. R, S. Higashiguchi, L. R. Juneja, M, Kim and T. Yamamoto. 1996. A structural phase of heat-denatured lysozyme with novel antimicrobial *action*. *J. Agric. Food Chem.* 44: 1416 - 1423.
- [10] Morales G, P. Sera, Mancilla, A. Parades, L. A. Loyola, O Gallardo, dan J. Borquez. 2003. Secondary Methabolis from Fore Medicinal Plans from Nothern Chile, antimicrobial acrivity, and Biototoxicity agains *Artemia salina*. *Journal Chile Chem*, 48(2).
- [11] Qonita S, R. Rasid, dan Linosefa. 2020. Perbedaan daya hambatkefir susu kambing dengan kefir susu sapi terhadap *Escherchia coli* secara in vitro. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia* 1 (3):321-328.
- [12] Yusliani. 2010. Aktivitas antimikroba khamir asal dadih (susu kerbau fermentasi) terhadap bakteri patogen. *Agripet*, 11:19-24.
- [13] Ningsih AS, Ekowati CN, Sumardi, dan Farisi S. 2018. Uji daya antibakteri isolad baktei asam laktat dari kefir dengan inokulasi ragi tape terhadap *Escherchia coli*. *Jurnal Tadris Pendidikan Biologi*, 9: 28-42.
- [14] Widodo, W. 2002. Bioteknologi Fermentasi Susu. Pusat Pengembangan Bioteknologi. Univesitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- [15] Farnworth, dan Edward. 2005. Kefir-A compleax probiotic. *Food Science and Technologi Bulletin: J. Funct. Food.* 1: 1-17.