

Pengaruh Penambahan *High Fructose Syrup* (HFS) terhadap Perubahan Sifat Fisikokimia dan Mikrobiologi Kefir Air Kelapa Hijau

The Effect of High Fructose Syrup (HFS) Addition in Physicochemical Properties and Microbiology of Coconut Water Kefir

Yolanda Yunivia, Bambang Dwiloka, Heni Rizqiati

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang

*Korespondensi dengan penulis (bdl_consulting@yahoo.com)

Artikel ini dikirim pada tanggal 19 Desember 2018 dan dinyatakan diterima tanggal 30 Januari 2018. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/tekpangan. eISSN 2597-9892. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan *High Fructose Syrup* (HFS) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap tingkat keasaman (pH), total asam, jumlah bakteri asam laktat, dan total khamir pada kefir air kelapa hijau. Materi yang digunakan yaitu air kelapa hijau, *kefir grains*, serta gula *High Fructose Syrup* (HFS) dengan formulasi bahan yang berbeda tiap perlakuan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 kali ulangan. Formulasi yang dibagi menjadi 5 perlakuan dalam penelitian ini berupa pemberian gula HFS dengan konsentrasi 0%, 2,5%, 5%, 7,5%, 10%. Analisis data yang digunakan yaitu *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikansi 5% dan dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) apabila berpengaruh nyata. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi HFS berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap derajat keasaman (pH), total asam, dan total bakteri asam laktat, namun tidak berpengaruh nyata dengan total khamir kefir air kelapa hijau. Perlakuan dengan penambahan gula HFS sebesar 7,5% pada kefir air kelapa hijau merupakan perlakuan terbaik untuk parameter yang diuji secara menyeluruh.

Kata kunci: air kelapa hijau; hfs; kefir; asam; mikrobiologi

Abstract

This study aims to determine the effect of adding High Fructose Syrup (HFS) with different concentrations to acidity (pH), total acid, number of lactic acid bacteria, and total yeast on green coconut water kefir. The materials used were green coconut water, kefir grains, and High Fructose Syrup (HFS) with different formulations for each treatments. The experimental design used was a Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatments and 4 replications. The formulation which was divided into 5 treatments in this study was adding HFS sugar with a concentration of 0%, 2.5%, 5%, 7.5%, 10%. Data analysis used was Analysis of Variance (ANOVA) at the 5% significance level and continued with the Duncan Multiple Range Test (DMRT) test if it had a significant effect. The results obtained showed that the addition of HFS concentrations had a significant effect ($p < 0.05$) on acidity (pH), total acid, and total lactic acid bacteria, but did not significantly affect the total yeast of green coconut water kefir. The treatment with the addition of 7.5% HFS sugar to the green coconut water kefir was the best treatment for the parameters tested thoroughly.

Keywords: green coconut water; hfs; kefir; acid; microbiological properties

Pendahuluan

Pengolahan produk pangan dengan berbagai macam teknik pengolahan terus berkembang sebagai upaya menciptakan keanekaragaman produk baru dengan tujuan tertentu. Salah satu teknologi pengolahan pangan yang berkembang saat ini adalah fermentasi (Safitri dan Swarastuti, 2013). Kefir merupakan salah satu produk fermentasi yang mempunyai rasa dan aroma yang spesifik serta memiliki sifat yang kental dan mengandung alkohol. Kefir selain menjadi produk fermentasi, juga dapat dikategorikan menjadi pangan fungsional. Kefir dapat mengontrol metabolisme kolesterol, sebagai probiotik, antitumor (riset hewani), antibakteri, antijamur dan lain-lain (Aristya *et al.*, 2013).

Kefir umumnya terbuat dari susu hewani seperti susu sapi, susu kambing, ataupun susu berbasis nabati yang biasanya disebut kefir susu akan tetapi, pengolahan kefir yang terbuat dari bahan dasar berupa cairan yang mengandung gula atau disebut kefir air masih sangat terbatas. Salah satu jenis cairan yang mengandung gula tersebut adalah air kelapa. Air kelapa memiliki potensi untuk digunakan sebagai bahan pembuatan kefir air (Lestari *et al.*, 2018). Air kelapa merupakan air alami steril yang mengandung senyawa organik seperti protein dan mineral khususnya kadar K dan Cl yang tinggi (Kristina dan Syahid, 2012). Berdasarkan kandungan air kelapa, beberapa peneliti telah membuktikan bahwa air kelapa berfungsi sebagai anti bakteri (racun) khususnya air kelapa hijau. Pengolahan air kelapa hijau menjadi kefir dapat menjadi salah satu minuman yang memiliki nilai gizi tinggi, sifat fungsional, dan bermanfaat bagi masyarakat.

Satu hal yang penting pada fermentasi menggunakan starter bakteri asam laktat (BAL) yang terkandung dalam *kefir grain* adalah jenis karbohidrat dan jumlah kandungan gulanya pada media tanam. Gula alami yang terkandung pada air kelapa berbeda jenis dengan gula yang ada pada susu yang biasanya digunakan dalam fermentasi kefir susu. Jenis gula pada air kelapa yaitu monosakarida dan disakarida, sedangkan gula yang terkandung pada susu yaitu laktosa (Netty, 2002). Kandungan gula yang terdapat dalam air kelapa yang akan dimanfaatkan oleh

mikroorganisme dalam proses pembuatan kefir masih sangat terbatas, oleh sebab itu, perlu ditambahkan gula seperti HFS sebagai sumber karbon.

Gula HFS merupakan campuran dari glukosa dan fruktosa yang memiliki tingkat kemanisan yang tinggi namun dapat menurunkan resiko diabetes serta biayanya juga lebih murah sehingga banyak digunakan dalam industri pangan misalnya industri yoghurt, coklat, dan ice cream (Salamah *et al.*, 2010). Penggunaan HFS pada industri yoghurt dapat meningkatkan cita rasa produk, mempengaruhi struktur, dan viskositas serta dapat mempercepat proses fermentasi dalam pembuatan yoghurt (Johnson *et al.*, 2009). Penggunaan HFS dalam pembuatan kefir diharapkan dapat menghasilkan suatu produk kefir air kelapa yang memiliki kandungan gizi tinggi dengan tingkat kemanisan dan keasaman produk yang tepat.

Berdasarkan hal tersebut maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan *High Fructose Syrup* (HFS) dengan konsentrasi yang berbeda terhadap tingkat keasaman (pH), total asam, jumlah bakteri asam laktat, dan total khamir pada kefir air kelapa hijau. Manfaat dari penelitian ini adalah mengetahui konsentrasi HFS yang optimal untuk menghasilkan water kefir yang sesuai untuk perkembangan kefir grain, serta menciptakan produk yang lezat, unik, bergizi, dan layak dikonsumsi dengan memanfaatkan air kelapa hijau.

Materi dan Metode

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Oktober 2018 – November 2018 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

Materi

Bahan yang digunakan pada penelitian water kefir dengan penambahan *High Fructose Syrup* (HFS) yaitu air kelapa hijau yang diperoleh dari pasar Banyumanik, *kefir grains*, HFS yang dibeli di CV. Inovasindo Berkah Mandiri agen Kediri, medium *de Man Ragosa and Shape Agar* (MRSA), larutan buffer pH 4 dan pH 7, medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), NaCl fisiologis 0,85%, indikator *phenolphthalein* 1%, larutan NaOH 0,1 N, dan aquades. Alat yang digunakan meliputi cawan petri, panci, timbangan analitik, termometer, kompor, beaker glass, erlenmeyer, buret, labu ukur, wadah/toples bening, plastic wrap, pipet tetes, gelas plastik, pH meter, pipet mikro, sendok, bunsen, dan tabung reaksi.

Metode

Pembuatan Kefir Air Kelapa Hijau

Pembuatan kefir air kelapa hijau dengan penambahan HFS mengacu pada Prastiwi *et al.* (2018) yang telah dimodifikasi dengan cara air kelapa hijau yang masih segar dipasteurisasi pada suhu 60 °C selama 30 detik lalu didinginkan hingga mencapai suhu 28 °C setelah itu dimasukkan ke dalam wadah dengan ditambahkan *kefir grain* sebanyak 5% dan HFS sesuai dengan perlakuan yaitu pada konsentrasi 0%, 2,5%, 5%, 7,5%, 10% dari volume air kelapa hijau, lalu diaduk hingga merata. Sampel kemudian difermentasi secara anaerob dalam toples selama 12 jam di suhu ruang. Setelah difermentasi, *kefir grains* dipisahkan dari kefir air kelapa hijau dengan cara disaring dan kefir yang diperoleh diamati sesuai dengan parameter yang telah ditentukan.

Uji Tingkat Keasaman (pH)

Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan pH meter (Sudarmadji *et al.*, 1996). Alat pH meter yang sudah dikalibrasi sebelumnya dinyalakan dan dibiarkan stabil selama 15 – 30 menit kemudian katoda indikator pH meter dibersihkan dengan aquades, lalu dikeringkan dengan tisu setelah itu katoda dicelupkan pada sampel dan dibiarkan beberapa saat hingga menunjukkan angka/skala pada display lalu dicatat. Katoda indikator dibersihkan dengan aquades setiap mengganti sampel larutan uji.

Uji Total Asam

Pengujian total asam ditentukan dengan metode titrasi (Hadiwiyoto, 1994). Sampel kefir diambil sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, ditambahkan indikator *phenolphthalein* (PP) 1% sebanyak 5 tetes. Sampel dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N hingga warna sampel menjadi merah muda konstan lalu volume NaOH yang digunakan dicatat. Total asam dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Total asam (\%)} = \frac{\text{mL NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{BM Asam Laktat}}{\text{mL Sampel} \times 1000} \times 100\%$$

Uji Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Pengujian total bakteri asam laktat dilakukan dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dengan medium *de Man Ragosa and Shape Agar* (MRSA) (Aristya *et al.*, 2013). Sampel sebanyak 1 ml disiapkan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl fisiologis 0,85% dengan menggunakan pipet steril kemudian 1 ml suspensi sampel diambil dari tabung reaksi pertama dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi selanjutnya dan dilanjutkan dengan hal yang sama hingga diperoleh pengenceran 10⁶. Suspensi sebanyak 1 ml dari 3 pengenceran terakhir dimasukkan ke dalam cawan petri secara duplo. 15 ml medium MRSA yang bersuhu 50 °C ditambahkan ke dalam cawan petri dengan tutup sedikit terbuka dan cawan diputar seperti membentuk angka delapan. Setelah medium memadat, cawan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam dalam posisi terbalik. Angka

total bakteri dalam 1 ml sampel diperoleh dengan mengalikan jumlah rata – rata koloni pada cawan petri dengan faktor pengenceran yang digunakan.

Pengujian Total Khamir

Pengujian total khamir menggunakan *Potato Dextrose Agar* (PDA) sebagai media pertumbuhan khamir (Maturin dan Peeler, 2001). Sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml NaCl fisiologis 0,85% dengan pipet steril sebagai pengenceran 10^1 selanjutnya 1 ml suspensi sampel diambil dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi selanjutnya dilanjutkan dengan hal yang sama hingga diperoleh pengenceran 10^4 . Suspensi sebanyak 1 ml dari 3 pengenceran terakhir yaitu $10^2 - 10^4$ dimasukkan ke dalam cawan petri secara duplo setelah itu ditambahkan 15 ml medium PDA yang bersuhu $50\text{ }^\circ\text{C}$ dengan tutup yang sedikit terbuka dan cawan diputar seperti membentuk angka delapan. Setelah medium memadat, cawan diinkubasi pada suhu $37\text{ }^\circ\text{C}$ selama 24 jam. Angka total bakteri dalam 1 ml sampel dilakukan dengan cara mengalikan jumlah rata - rata koloni pada cawan petri dengan faktor pengenceran yang digunakan.

Analisis Data

Data yang diperoleh diolah menggunakan SPSS 21.0 for windows dengan taraf signifikansi 5%. Hasil pengujian pH, total asam, total bakteri asam laktat, dan total khamir dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan apabila terdapat pengaruh yang nyata dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) (Srigandono, 1992).

Hasil dan Pembahasan

Tingkat Keasaman (pH)

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa perlakuan penambahan HFS pada kefir air kelapa hijau berpengaruh nyata terhadap nilai pH. Nilai pH pada T_0 , T_1 , dan T_2 tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata antar perlakuan, begitu juga dengan T_3 dan T_4 namun, perlakuan T_0 , T_1 , dan T_2 berbeda nyata dengan nilai pH pada T_3 dan T_4 . Hal ini sesuai dengan pendapat Djaafar dan Rahayu (2006) yang menyatakan bahwa selama proses fermentasi, BAL akan memanfaatkan karbohidrat yang ada hingga terbentuk asam laktat, sehingga terjadi penurunan nilai pH dan peningkatan keasaman. Sejalan dengan pendapat Delgado *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi, bakteri semakin aktif, semakin banyak jumlahnya, semakin banyak asam-asam organik yang terakumulasi sehingga akan meningkatkan derajat keasaman produk.

Nilai pH yang dihasilkan dari $T_0 - T_4$ secara keseluruhan menunjukkan adanya peningkatan menuju netral. Hal ini dapat disebabkan lama fermentasi selama 12 jam kurang optimal bagi mikroorganisme dalam memecahkan gula untuk menghasilkan asam walaupun substrat yang tersedia banyak. Menurut Kunaepah (2008), semakin lama fermentasi yang dilakukan maka semakin banyak mikroorganisme aktif dan berkembang biak sehingga kemampuan dalam memecah substrat semakin baik dan asam yang dihasilkan akan lebih banyak. Sesuai dengan pendapat tersebut, Buckley (2014) menyatakan bahwa kefir air kelapa hijau umumnya difermentasi selama 12 – 24 jam. Peningkatan nilai pH juga dapat disebabkan pH kefir yang dihasilkan belum optimal bagi mikroba untuk fermentasi. Elevri dan Putra (2006) berpendapat bahwa *Saccharomyces* dapat melakukan fermentasi secara optimal pada pH 4,5. Hal ini didukung dengan pendapat Ayuti *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa kesulitan bakteri asam laktat untuk tumbuh baik dan menghasilkan asam adalah waktu inkubasi, suhu, pH dan nutrisi yang digunakan sebagai makanan dalam proses fermentasi.

Tabel 1. Hasil Analisa Nilai pH, Total Asam, Total Bakteri Asam Laktat (BAL), dan Total Khamir Kefir Air Kelapa Hijau

Perlakuan	Satuan	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4
Nilai pH	-	$4,72 \pm 0,04^a$	$4,73 \pm 0,03^a$	$4,72 \pm 0,01^a$	$4,91 \pm 0,02^b$	$4,91 \pm 0,03^b$
Total asam	%	$0,24 \pm 0,01^a$	$0,21 \pm 0,00^b$	$0,19 \pm 0,00^c$	$0,17 \pm 0,00^d$	$0,15 \pm 0,00^e$
Total BAL	CFU/ml	$1,00 \times 10^{6a}$	$1,18 \times 10^{6a}$	$1,75 \times 10^{6b}$	$3,78 \times 10^{6c}$	$5,31 \times 10^{6d}$
Total khamir	CFU/ml	$0,08 \times 10^6$	$0,22 \times 10^6$	$0,24 \times 10^6$	$0,99 \times 10^6$	$1,14 \times 10^6$

Keterangan:

*Data ditampilkan sebagai nilai rerata dari 4 ulangan

*Superscript huruf kecil yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($p < 0,05$)

* T_0 , T_1 , T_2 , T_3 , dan T_4 merupakan konsentrasi HFS masing-masing: 0%; 2.5%; 5%; 7.5%; 10%

Total Asam

Berdasarkan Tabel 1 diperoleh bahwa adanya pengaruh yang signifikan antara penambahan HFS terhadap total asam pada kefir air kelapa hijau serta terdapat perbedaan yang nyata antar perlakuan yang disertai penurunan total asam seiring dengan penambahan HFS. Data yang diperoleh menunjukkan adanya kesesuaian dengan data nilai pH dimana nilai pH yang dihasilkan berbanding terbalik dengan total asam. Hal ini sejalan dengan pendapat Prasetyo *et al.* (2015) yang menyatakan bahwa total asam erat hubungannya dengan nilai pH, dimana kenaikan total asam menunjukkan penurunan pH dan sebaliknya. Standar konsentrasi asam laktat yang terbaik untuk water kefir belum ditentukan oleh badan standarisasi bahan pangan, maka water kefir disesuaikan dengan standar kefir susu asam laktat. Menurut Codex (2003), standar kefir susu asam laktat yang dihasilkan minimal mencapai kadar 0,6%. Hal ini menunjukkan hasil total asam yang diperoleh tidak sesuai dengan standar yang ditetapkan. Hal ini

dikarenakan fermentasi mikroba untuk memecah disakarida menjadi monosakarida agar dapat menghasilkan asam membutuhkan waktu yang lebih lama. Pendapat Ikram-Ui-Haq dan Ali (2007) menyatakan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* dapat merombak sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa melalui bantuan enzim invertase. Senada dengan pendapat tersebut, Nisa *et al.* (2008) menyatakan bahwa selama proses fermentasi, terjadi pemecahan disakarida menjadi monosakarida dimana gula – gula pereduksi ini akan dimetabolisme oleh bakteri menjadi asam laktat. Hal ini menunjukkan walaupun penambahan HFS sebagai substrat semakin banyak namun lama fermentasi belum optimal, akan menghasilkan total asam yang kurang optimal dengan rasa manis lebih dominan dibanding asam.

Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Berdasarkan Tabel 1 dapat diperoleh bahwa penambahan HFS pada kefir air kelapa hijau memberikan pengaruh nyata terhadap total bakteri asam laktat dimana total BAL terus meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi HFS. Total bakteri asam laktat pada T₀ tidak berbeda nyata dengan T₁ namun, hasil T₀ dan T₁ menghasilkan perbedaan yang nyata dengan hasil total bakteri asam laktat pada T₂, T₃, dan T₄ sedangkan ketiga perlakuan tersebut juga saling berbeda nyata. Herawati dan Wibawa (2009) menyatakan bahwa gula (sukrosa, laktosa, glukosa, atau fruktosa) selain sebagai sumber rasa manis juga merupakan sumber energi yang baik untuk mikroorganisme. Nofrianti *et al.* (2013) juga menyatakan bahwa semakin besar jumlah gula yang ditambahkan, maka substrat yang tersedia bagi mikroba semakin banyak dan menyebabkan pertumbuhannya semakin banyak dan cepat. Menurut Codex (2003) menyatakan bahwa jumlah minimal mikroorganisme pada kefir adalah 1×10^7 CFU/ml, sedangkan total bakteri asam laktat pada kefir air kelapa hijau tidak sesuai dengan standar yang ditetapkan. Hal ini dapat dikarenakan lama fermentasi yang belum optimal akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri yang kurang maksimal selama fermentasi seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Menurut Astawan (2008) yang menyatakan bahwa semakin lama fermentasi dan semakin banyak gula yang ditambahkan, mikroorganisme berkembangbiak semakin banyak, sehingga kemampuan mikroba (*Lactobacillus bulgaricus* dan khamir *Candida kefir*) memecah glukosa menghasilkan metabolit primer (asam laktat dan alkohol) dan metabolit sekunder (aktivitas antibakteri dan polifenol) semakin banyak.

Total Khamir

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa penambahan HFS tidak berpengaruh nyata terhadap total khamir pada kefir air kelapa hijau namun, hasil total khamir meningkat dari T₀ hingga T₄. Hal ini dapat disebabkan pH sampel tidak sesuai untuk pertumbuhan khamir. Adapun nilai pH yang optimum untuk pertumbuhan khamir adalah 4 – 4,5 (Budiyanto, 2003) sehingga dapat dikatakan lama fermentasi kefir air kelapa hijau akan mempengaruhi derajat keasaman yang juga akan mempengaruhi kecepatan fermentasi. Standar total khamir pada water kefir yang terbaik belum ditentukan oleh badan standarisasi bahan pangan, sehingga hasil total khamir mengacu pada standar khamir untuk susu fermentasi menurut Codex (2003) yaitu minimal 10^4 CFU/ml. Hal ini menunjukkan seluruh hasil total khamir yang diperoleh sudah sesuai standar. Khamir dan bakteri asam laktat bekerja sama dalam proses fermentasi. Sejalan dengan pernyataan tersebut, Usmiati (2007) menyatakan bahwa khamir *Candida kefir* menghasilkan senyawa etanol dari pemecahan glukosa dan komponen pembentuk flavor sehingga menghasilkan cita rasa yang khas. Azizah *et al.* (2012) juga menyatakan bahwa dalam fermentasi alkohol umumnya digunakan *Saccharomyces cerevisiae* karena khamir dapat mengkonversi gula menjadi alkohol dengan adanya enzim zimase dalam kondisi anaerob. Hal ini menunjukkan adanya kemungkinan bahwa kadar alkohol yang dihasilkan juga tidak berpengaruh atau masih dalam jumlah yang sedikit.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa penambahan konsentrasi HFS berpengaruh nyata terhadap derajat keasaman (pH), total asam, dan total bakteri asam laktat, dimana semakin tinggi penambahan HFS maka nilai pH dan total asam semakin menurun akan tetapi, total bakteri asam laktat meningkat disertai peningkatan juga pada total khamir walaupun tidak berpengaruh. Formulasi penambahan HFS terbaik adalah 7,5% (T₃) karena memiliki karakteristik produk yang cukup baik untuk pertumbuhan mikroorganisme dan tingkat keasaman dibandingkan perlakuan T₄ yang memiliki karakteristik tidak terlalu berbeda dengan T₃.

Daftar Pustaka

- Aristya, A.L., A.M. Legowo, dan A.N. Al-Baari. 2013. Total asam, total yeast, dan profil protein kefir susu kambing dengan penambahan jenis dan konsentrasi gula yang berbeda. *Jurnal Pangan dan Gizi* 4 (7): 39 – 48.
- Astawan, M. 2008. *Susu Fermentasi untuk Kebugaran dan Pengobatan*. Universitas Atma Jaya, Yogyakarta.
- Ayuti, S. R., Nurliana, Yurliasni, Sugito, dan Darmawi. 2016. Dinamika pertumbuhan *Lactobacillus casei* dan karakteristik susu fermentasi berdasarkan suhu dan lama penyimpanan. *Jurnal Agritepa* 16 (1): 25 – 35.
- Azizah, N., A. N. Al-Baari, dan S. Mulyani. 2012. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar alkohol, pH, dan produksi gas pada proses fermentasi bioetanol dari whey dengan substitusi kulit nenas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* 1 (2): 72 – 77.
- Buckley, L. K. 2014. *Culture Your Life: Kefir and Kombucha for Every Day Nourishment*. Xlibris Corporation, USA.
- Budiyanto, M. A. K. 2003. *Mikrobiologi Terapan*. UMM Press, Malang.
- Codex Alimentarius. 2003. *Codex Standard for Fermented Milks*. CODEX STAN 243-2003.
- Delgado, F. P., N. Corzo, A. Olano, H. O. Hernandez, dan F. J. Moreno. 2018. Effect of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria and physicochemical properties of yoghurts. *International Dairy Journal* 81 (3): 209 – 215.

- Djaafar, T. F. dan E. S. Rahayu. 2006. Karakteristik yogurt dengan inokulum *Lactobacillus* yang diisolasi dari makanan fermentasi tradisional. Jurnal Pertanian Agros 8 (1): 73 – 80.
- Elevri, P. A. dan S. R. Putra. 2006. Produksi etanol menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* yang diamobilisasi dengan agar batang. Akta Kamindo 1 (2):105 – 114.
- Hadiwiyoto, S. 1994. Hasil-Hasil Olahan Susu, Ikan, Daging, dan Telur. Liberty, Yogyakarta.
- Herawati, D. A. dan D. A. A. Wibawa. 2009. Pengaruh konsentrasi susu skim dan waktu fermentasi terhadap hasil pembuatan soyghurt. Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan 1 (2): 48 – 58.
- Ikram-UI-Haq and S. Ali. 2007. Kinetics of invertase production by *Saccharomyces cerevisiae* in batch cultures. Pakistan Journal of Botany 39 (3): 907 – 912.
- Johnson R., S. N. Moorthy and G. Padmaja. 2009. Comparative production of glucose and high fructose syrup from cassava and sweet potato roots by direct conversion techniques. Journal Innovative Food Science and Emerging Technologies 10: 616 – 620.
- Kristina, N. N. dan S. F. Syahid. 2012. Pengaruh air kelapa terhadap multiplikasi tunas in vitro, produksi rimpang, dan kandungan xanthorrhizol temulawak di lapangan. Jurnal Litri 18 (3): 125 – 134.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Diponegoro. Semarang. (Tesis)
- Lestari, M. W., V. P. Bintoro, dan H. Rizqiati. 2018. Pengaruh lama fermentasi terhadap tingkat keasaman, viskositas, kadar alkohol, dan mutu hedonik kefir air kelapa. Jurnal Teknologi Pangan 2 (1): 8 – 13.
- Maturin, L. and J.P. Peeler. 2001. Aerobic Plate Count. 8th Edition, Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual Online, Berlin.
- Netty, W. 2002. Optimasi medium untuk multiplikasi tunas kana (*Canna hibryda Hort.*) dengan penambahan sitokinin. Jurnal Biosains dan Bioteknologi Indonesia 2 (1): 27 – 31.
- Nisa, F. C., J. Kusnadi, dan R. Chrisnasari. 2008. Viabilitas dan deteksi subletal bakteri probiotik pada susu kedelai fermentasi instan metode pengeringan beku (kajian jenis isolat dan konsentrasi sukrosa sebagai krioprotektan. Jurnal Teknologi Pertanian 9 (1): 40 – 51.
- Nofrianti, R., F. Azima, dan R. Eliyasmi. 2013. Pengaruh penambahan madu terhadap mutu yoghurt jagung. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 2 (2): 60 – 67.
- Prasetyo, B. B., Purwadi, dan D. Rosyidi. 2015. Penambahan CMC (Carboxy Methyl Cellulose) pada Pembuatan Minuman Mandu Sari Buah Jambu Merah (*Psidium Guajava*) Ditinjau dari pH, Viskositas, Total Kapang, dan Mutu Organoleptik. Fakultas Peternakan, Universitas Brawijaya, Malang. (Skripsi)
- Prastiwi, V. F., V. P. Bintoro, dan H. Rizqiati. 2018. Sifat mikrobiologi, nilai viskositas, dan organoleptik kefir optima dengan penambahan high fructose syrup (HFS). Jurnal Teknologi Pangan 2 (1): 27 – 32.
- Safitri, M. F. dan A. Swarastuti. 2013. Kualitas kefir berdasarkan konsentrasi kefir grain. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 2 (2): 87 – 92.
- Salamah, E., A. C. Erungan, dan Y. Retnowati. 2010. Pemanfaatan *Gracilaria sp.* dalam pembuatan permen jelly. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia 9 (1): 39 – 48.
- Srigandono, B. 1992. Rancangan Percobaan. Fakultas Peternakan UNDIP, Semarang.
- Sudarmadji. S., B. Haryono, dan Suhardi. 1996. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty Yogyakarta, Yogyakarta.