

## KAJIAN LITERATUR SPESIFIKASI MUTU FISIKOKIMIA DAN MIKROBIOLOGIS *WATER KEFIR* DENGAN VARIASI KONSENTRASI SUBSTRAT DAN *STARTER*

Veronica P. Effendi<sup>1\*</sup>, Adolf J.N. Parhusip<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Pelita Harapan, Tangerang

**ABSTRAK:** *Water kefir* adalah salah satu produk minuman dengan bahan dasar larutan gula atau sari nabati yang melalui proses fermentasi dengan bibit *water kefir* dengan ciri khas rasa asam, sedikit rasa manis, serta mengandung alkohol dan karbon dioksida. Salah satu mikroorganisme yang terkandung dalam bibit *water kefir*, yaitu bakteri asam laktat memiliki peran fungsional sebagai probiotik yang bermanfaat bagi kesehatan saluran pencernaan dan juga bekerja secara sinergis dengan khamir dalam proses fermentasi *water kefir*. Selain mengandung probiotik, *water kefir* juga merupakan diversifikasi produk pangan yang dapat menjadi alternatif bagi kelompok vegan, vegetarian, dan individu yang memiliki alergi terhadap produk olahan susu. Kajian literatur dibuat dengan tujuan untuk mempelajari pengaruh variasi penambahan konsentrasi substrat dan *starter* dalam pembuatan *water kefir* terhadap mutu fisikokimia dan mutu mikrobiologis *water kefir*. Data dalam kajian literatur diperoleh dari jurnal internasional dan nasional terakreditasi dengan minimal *ranking* Q4 dan Sinta 4. Melalui kajian literatur yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi *starter* hingga 15% dapat menurunkan nilai pH dan meningkatkan kadar alkohol, total asam tertitrasi, viskositas, karbon dioksida, total bakteri asam laktat serta total khamir. Peningkatan substrat hingga konsentrasi 9% dapat menurunkan nilai pH dan viskositas serta meningkatkan kadar alkohol, total asam tertitrasi, karbon dioksida, total bakteri asam laktat serta total khamir. Plasmolisis sel-sel mikroorganisme bibit *water kefir* dapat terjadi pada penambahan substrat dengan konsentrasi 10% atau lebih sehingga pH meningkat dan kadar alkohol, karbon dioksida, total khamir, dan total bakteri asam laktat pada produk akhir yang dihasilkan menurun.

**Kata Kunci:** water kefir, sinergisme, konsentrasi substrat, konsentrasi starter

**ABSTRACT:** *Water kefir* is a beverage made from sugar or plant based solution that is fermented with *water kefir* seeds that has sour and slightly sweet taste characteristics, contains alcohol and carbon dioxide. The microorganisms contained in *water kefir* seeds such as lactic acid bacteria have a functional role as beneficial probiotics that can promote digestive tract health and work synergistically with yeast in *water kefir* fermentation. *Water kefir* is also a form of diversity of food product that can be an alternative for vegans, vegetarians, and individuals who have certain allergies to dairy products. This literature review was made to study the effect of variations of substrate and starter concentrations used in *water kefir* fermentation on the physicochemical quality and microbiological of *water kefir*. The data in this literature review were obtained from international and national journals with a minimum ranking of Q4 and Sinta 4. In conclusion, increasing the starter concentration up to 15% can reduce the pH value and increase the alcohol content, total titrated acid, viscosity, carbon dioxide, total lactic acid bacteria and total yeast. The addition of substrate up to 9% can reduce the pH value and viscosity and increase the alcohol content, total titrated acid, carbon dioxide, total lactic acid bacteria and total yeast. Plasmolysis in microorganisms cells happened with the addition of a substrate with a concentration of 10% or more causing the pH value to increase and decreasing the levels of alcohol, carbon dioxide, total yeast, and total lactic acid bacteria in the final product.

**Keywords:** water kefir, synergism, substrate concentration, starter concentration

### PENDAHULUAN

*Water kefir* dapat didefinisikan sebagai minuman probiotik yang dibuat dengan melakukan fermentasi pada larutan gula atau sari nabati menggunakan bibit *water kefir* dan memiliki rasa asam, sedikit rasa manis, serta mengandung alkohol dengan kisaran 0,8 – 1,5% dan karbon dioksida (Surja *et al.*, 2019). Fermentasi pada *water kefir* terjadi karena bibit *water kefir* terdiri atas mikroorganisme seperti *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, dan *Streptococcus*, serta khamir seperti

*Kluyveromyces*, *Candida*, dan *Saccharomyces* (Randazzo *et al.*, 2016).

Pada proses fermentasi *water kefir* terjadi sinergisme antara khamir dan bakteri asam laktat dalam bibit *water kefir* karena khamir dapat memecah substrat seperti sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa. Monosakarida seperti glukosa berfungsi sebagai sumber energi pada proses fermentasi bagi bakteri asam laktat yang terdapat pada bibit *water kefir*. Asam laktat yang merupakan metabolit dari bakteri dapat menurunkan derajat keasaman produk sehingga

\* Email korespondensi: veronicaeffendi@gmail.com

menghasilkan kondisi yang optimal bagi pertumbuhan khamir (Dahunsi *et al.*, 2019). Menurut Wahono *et al.* (2011) pH optimal bagi pertumbuhan khamir berada di kisaran 4,0-4,5.

*Water kefir* mengandung probiotik yang dapat membantu meningkatkan kesehatan saluran pencernaan dan menjaga jumlah mikroorganisme pada mikroflora usus agar tetap seimbang (Laureyst dan Vuyst, 2016). *Water kefir* juga memiliki cakupan pasar yang lebih luas dibandingkan dengan kefir dengan bahan dasar susu hewani karena dapat menjadi alternatif produk bagi kelompok *vegan* dan *vegetarian*, serta kelompok individu yang memiliki alergi terhadap produk olahan susu (Lynch *et al.*, 2021).

Perbedaan *water kefir* dan kefir terletak pada media fermentasi dan bibit yang digunakan dalam proses fermentasi. Bibit kefir memiliki bentuk granular, kecil, dan berwarna putih susu, sedangkan bibit *water kefir* memiliki bentuk granular, konsistensi yang lebih padat, dan cenderung tidak berwarna atau berwarna putih keabuan (Guzel-Seydim, 2021). Perbedaan lain adalah kefir merupakan minuman fermentasi berbahan dasar susu hewani seperti susu kambing atau susu sapi dengan ciri khas rasa asam yang serupa dengan *yoghurt*, sedangkan *water kefir* merupakan produk dengan bahan

dasar non-hewani yang difermentasi menggunakan bibit *water kefir* (Dertli dan Con, 2017).

Menurut penelitian yang telah dilakukan seperti pada Aristya *et al.* (2012), Surja *et al.* (2019), dan Margareth *et al.* (2020), karakteristik *water kefir* yang dihasilkan dipengaruhi oleh beberapa faktor selama fermentasi seperti konsentrasi starter, dan konsentrasi substrat sehingga dilakukan kajian literatur lebih lanjut untuk mempelajari pengaruh dari konsentrasi *starter* dan substrat yang digunakan terhadap produk *water kefir* dan kefir.

## METODE

Metode kerja yang dilakukan dalam kajian literatur ini adalah dengan mengumpulkan data hasil penelitian dari jurnal nasional dan internasional dengan minimal akreditasi masing-masing Sinta 4 dan indeks SCOPUS Q4.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar Alkohol

Alkohol merupakan salah satu metabolit hasil metabolisme dari mikroorganisme yang terdapat pada bibit kefir dan *water kefir* terutama khamir. Data penelitian pengaruh konsentrasi *starter* terhadap kadar alkohol disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Pengaruh Konsentrasi *Starter* Terhadap Kadar Alkohol**

Produk	Konsentrasi <i>Starter</i> (%)	Kadar Alkohol (%)	Referensi
<i>Water kefir</i> sari kacang kedelai	2	0,07	Pourahmad <i>et al.</i> (2011)
	3	0,10	
	4	0,10	
	5	0,26	
	10	0,53	
<i>Water kefir</i> sari kacang hijau	15	0,62	Supriyono <i>et al.</i> (2014)
	5	1,86	
	7	1,91	
Kefir <i>whey</i>	9	1,98	Prastujati <i>et al.</i> (2018)
	2	0,69	
	4	1,41	
Kefir susu kambing	6	1,78	Sulmiyati <i>et al.</i> (2019)

Pada *water kefir* sari kacang kedelai (Pourahmad *et al.*, 2011), *water kefir* sari kacang hijau (Supriyono *et al.*, 2014), kefir *whey* (Prastujati *et al.*, 2018), dan kefir susu kambing (Sulmiyati *et al.*, 2019), kadar alkohol yang dihasilkan cenderung meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi *starter*. Namun, kadar alkohol yang dihasilkan pada *water kefir* sari kacang kedelai belum sesuai dengan standar. Standar mutu untuk *water kefir* belum ditentukan sehingga mengacu pada standar mutu untuk produk serupa, yaitu kefir susu dan minuman susu fermentasi. Standar kadar alkohol dari

Kenya Bureau of Standard (KEBS) untuk kefir minimal 0,5%.

Peningkatan kadar alkohol yang terjadi seiring dengan peningkatan konsentrasi *starter* disebabkan karena peningkatan dari konsentrasi *starter* yang digunakan menyebabkan jumlah mikroorganisme yang dapat memecah substrat dan menghasilkan metabolit seperti alkohol bertambah banyak, sehingga kadar alkohol yang dihasilkan juga meningkat (Prastujati *et al.*, 2018).

Selain konsentrasi *starter*, konsentrasi substrat yang digunakan dalam pembuatan *water*

*kefir* dan kefir juga berpengaruh terhadap kadar alkohol yang dihasilkan. Data pengaruh konsentrasi substrat disajikan pada Tabel 2. Menurut penelitian Laureys *et al.* (2018) kadar alkohol yang dihasilkan meningkat menjadi 2,06%, seiring dengan peningkatan konsentrasi substrat yang digunakan. Pada penelitian Surja *et*

*al.* (2019) dalam fermentasi *water kefir* kelapa hijau, peningkatan kadar alkohol juga terjadi hingga konsentrasi penambahan substrat 7,5% sehingga kadar alkohol yang dihasilkan sudah memenuhi standar dari KEBS. Namun, pada konsentrasi substrat 10%, terjadi penurunan kadar alkohol yang dihasilkan menjadi 1,17%.

**Tabel 2. Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Kadar Alkohol**

Produk	Konsentrasi Substrat (%)	Kadar Alkohol (%)	Referensi
<i>Water kefir</i> larutan gula	0	0,77	Laureys <i>et al.</i> (2018)
	2	1,52	
	4	2,06	
	0	0,97	
<i>Water kefir</i> kelapa hijau	2,5	1,34	Surja <i>et al.</i> (2019)
	5	1,48	
	7,5	1,55	
	10	1,17	

Selama proses fermentasi berlangsung, sumber energi yang digunakan oleh mikroorganisme seperti bakteri asam laktat dapat berupa laktosa atau sukrosa yang kemudian akan dipecah menjadi monosakarida. Monosakarida terutama glukosa akan digunakan oleh khamir sebagai sumber energi dalam metabolisme dan menghasilkan alkohol sebagai metabolit, sehingga semakin banyak substrat yang tersedia dalam media fermentasi, maka senyawa alkohol yang dihasilkan juga dapat meningkat. Namun, konsentrasi penambahan substrat juga perlu diperhatikan karena ketersediaan substrat seperti sukrosa yang terlalu berlebih di dalam media fermentasi dapat

mengubah kondisi fermentasi dan menyebabkan perbedaan tekanan osmotik sehingga sel mikroorganisme mengalami plasmolisis dan metabolisme mikroorganisme pada bibit kefir dan *water kefir* dapat terhambat sehingga metabolit yang dihasilkan seperti alkohol juga menurun (Supriyono *et al.*, 2014, Torres *et al.*, 2016, Laureys *et al.*, 2018).

#### Nilai pH

Nilai pH dapat digunakan sebagai indikator dalam pengukuran derajat keasaman suatu produk. Data pengaruh konsentrasi *starter* terhadap nilai pH produk dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3. Pengaruh Konsentrasi Starter Terhadap Nilai pH**

Produk	Konsentrasi Starter (%)	Nilai pH	Referensi
<i>Water kefir</i> sari kacang hijau	5	4,35	Supriyono <i>et al.</i> (2014)
	10	4,27	
	15	4,01	
Kefir susu kambing	2	5,40	Sulmiyati <i>et al.</i> (2019)
	4	4,96	
	6	4,76	
Kefir susu kambing	1	6,13	Dewi <i>et al.</i> (2019)
	3	4,74	
	2,5	4,30	
Kefir susu kerbau	5	4,20	Margareth <i>et al.</i> (2020)
	7,5	4,09	
	10	4,02	

Secara umum, pH dari keempat produk yang dihasilkan menurun ketika penambahan konsentrasi starter ditingkatkan dan beberapa produk juga telah memenuhi standar nilai pH produk minuman susu fermentasi dari *Food Standards Australia New Zealand* (FSANZ) karena pH yang dihasilkan berada di bawah nilai 4,5.

Peningkatan jumlah konsentrasi *starter* yang digunakan dapat menurunkan nilai pH produk karena jumlah bakteri asam laktat yang akan memecah substrat yang terdapat dalam media fermentasi juga bertambah banyak sehingga jumlah asam yang terdapat pada produk juga meningkat. Hasil metabolisme yang diperoleh

dari kelompok bakteri asam laktat homofermentatif adalah dua molekul asam laktat dan hasil metabolisme kelompok heterofermentatif adalah satu molekul asam laktat dan metabolit lain seperti alkohol dan karbon dioksida. Khamir yang terdapat pada bibit kefir dan *water kefir* selain menghasilkan alkohol

dan karbon dioksida juga dapat memecah glukosa dan menghasilkan asam organik sebagai hasil dari metabolisme sehingga total asam organik yang terdapat pada produk meningkat dan nilai pH produk menurun (Dewi *et al.*, 2019, Ayivi *et al.*, 2020, Supriyono *et al.*, 2014).

**Tabel 4. Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Nilai pH**

Produk	Konsentrasi Substrat (%)	Nilai pH	Referensi
<i>Water kefir</i> buah belimbing manis	0	4,77	Rizqiati <i>et al.</i> (2021)
	3	4,63	
	6	4,55	
	9	4,32	
	12	4,52	
Kefir susu kambing	4	4,79	Aristya <i>et al.</i> (2013)
	6	4,77	
	8	4,73	

Pada Tabel 4., penambahan konsentrasi substrat yang meningkat akan cenderung menurunkan nilai pH produk yang dihasilkan. *Water kefir* buah belimbing manis (Rizqiati *et al.*, 2021) dengan penambahan konsentrasi 9% menghasilkan produk dengan nilai pH yang telah memenuhi persyaratan mutu dengan nilai pH 4,32. Namun, pada konsentrasi sukrosa 12% terjadi peningkatan nilai pH dari 4,32 menjadi 4,52.

Peningkatan konsentrasi substrat meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi pertumbuhan dan metabolisme bakteri asam laktat dan khamir sehingga mikroorganisme dapat menghasilkan metabolit terutama asam-asam organik yang kemudian akan menurunkan

nilai pH. Namun, penambahan sukrosa sebagai substrat yang melewati batas dapat menyebabkan perbedaan tekanan osmotik di media fermentasi dan sel-sel mikroorganisme mengalami plasmolisis sehingga pemecahan substrat menjadi metabolit asam-asam organik juga terhambat. Akibat dari hal tersebut adalah nilai pH produk yang dihasilkan meningkat (Rizqiati *et al.*, 2021).

#### Total Asam Tertitrasi (TAT)

Total asam tertitrasi pada kefir dan *water kefir* pada umumnya dihitung dalam persentase asam laktat karena sebagian besar mikroorganisme penyusun bibit kefir dan *water kefir* terdiri atas bakteri asam laktat (Danilovic *et al.*, 2019).

**Tabel 5. Pengaruh Konsentrasi Starter Terhadap Total Asam Tertitrasi**

Produk	Konsentrasi Starter (%)	TAT (%)	Referensi
Kefir susu sapi	3	1,58	Triwibowo <i>et al.</i> (2019)
	5	1,89	
	7	2,18	
	10	1,97	
Kefir kolostrum sapi	20	2,50	Kurniati <i>et al.</i> (2020)
	30	2,50	
	2,5	1,78	
<i>Water kefir</i> sari kacang bambara	5	1,79	Nur'utami <i>et al.</i> (2018)
	7,5	1,99	
	5	1,57	
<i>Water kefir</i> sari kacang hijau	10	1,64	Supriyono <i>et al.</i> (2014)
	15	1,96	

Berdasarkan Tabel 5., total asam tertitrasi yang dihasilkan pada produk kefir dari berbagai macam bahan cenderung mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi *starter* yang digunakan. Kefir susu sapi (Triwibowo *et al.*, 2019), kefir kolostrum sapi (Kurniati *et al.*, 2020),

*water kefir* sari kacang bambara (Nur'utami *et al.*, 2018), dan *water kefir* sari kacang hijau (Supriyono *et al.*, 2014) dengan penambahan konsentrasi *starter* yang berkisar antara 3-15% menghasilkan total asam tertitrasi yang sesuai dengan standar mutu kefir dari CODEX dan KEBS,

yaitu sebanyak minimal 0,6%. Namun, TAT yang dihasilkan pada keempat produk tersebut belum memenuhi standar mutu dari SNI untuk minuman susu fermentasi karena TAT yang dihasilkan

melebihi 0,9% sedangkan standar mutu yang ditetapkan untuk total asam tertitrasi pada produk adalah 0,2-0,9%.

**Tabel 6. Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Total Asam Tertitrasi**

Produk	Konsentrasi Substrat (%)	TAT (%)	Referensi
Kefir susu kambing	4	0,66	Aristya <i>et al.</i> (2013)
	6	0,81	
	8	0,91	
Water kefir sari kacang hijau	5	1,57	Supriyono <i>et al.</i> (2014)
	10	1,76	
	15	2,07	

Berdasarkan Tabel 6., total asam tertitrasi yang dihasilkan juga mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi glukosa sebagai substrat yang digunakan. Total asam tertitrasi dari kedua produk yang dihasilkan masing-masing telah sesuai dengan persyaratan mutu kefir dari CODEX dan KEBS.

Persentase total asam tertitrasi yang dihasilkan pada kefir dan *water kefir* dipengaruhi oleh pertumbuhan dan aktivitas metabolisme dari mikroorganisme yang terkandung pada *starter*, terutama bakteri asam laktat. Peningkatan konsentrasi *starter* menyediakan lebih banyak asam laktat dan khamir pada media fermentasi dan metabolit yang dihasilkan juga lebih banyak, sehingga total asam tertitrasi yang diperoleh juga meningkat. Substrat dipecah menjadi monosakarida dan merupakan sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroorganisme. Pada suhu ruang dengan keadaan optimal, bakteri asam laktat dapat memecah sekitar 95% glukosa

menjadi asam laktat. Peningkatan konsentrasi substrat meningkatkan sumber energi yang tersedia untuk proses mikroorganisme juga meningkat dan metabolit yang dihasilkan termasuk asam laktat juga akan bertambah seiring dengan peningkatan konsentrasi substrat (Suharman *et al.*, 2021). Selain asam laktat, khamir juga dapat menghasilkan asam organik lain seperti asam asetat, dan asam suksinat yang dapat memengaruhi total asam tertitrasi (Kopecka *et al.*, 2012).

#### Viskositas

Berdasarkan Tabel 7., kefir susu sapi (Safitri dan Swarastuti, 2013) dengan penambahan konsentrasi *starter* 2,5%-7,5% memiliki viskositas dengan kisaran 2,30-3,52 cP. Pada pembuatan kefir susu kambing, viskositas pada konsentrasi *starter* 1% dan 3% masing-masing adalah 65,00 cP dan 136,70 cP.

**Tabel 7. Pengaruh Konsentrasi Starter Terhadap Viskositas**

Produk	Konsentrasi Starter (%)	Viskositas (cP)	Referensi
Kefir susu sapi	2,5	2,30	Safitri dan Swarastuti (2013)
	5	2,48	
	7,5	3,52	
	10	3,04	
Kefir susu kambing	1	65,00	Dewi <i>et al.</i> (2019)
	3	136,70	

Kecenderungan viskositas kefir meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi starter dapat terjadi karena total bakteri asam laktat yang terdapat pada media fermentasi bertambah seiring dengan peningkatan konsentrasi starter yang digunakan. Asam laktat yang terbentuk menciptakan kondisi fermentasi dengan nilai pH yang rendah. Ketika pH terus menurun hingga mencapai titik isoelektrik protein, terjadi denaturasi dan penggumpalan protein sehingga viskositas produk yang dihasilkan meningkat (Dewi *et al.*, 2019). Denaturasi protein akibat

asam dapat menyebabkan perubahan bentuk pada molekul protein dan menghasilkan gumpalan yang cenderung tidak larut air (Narayan *et al.*, 2019).

Perbedaan viskositas yang dihasilkan pada kefir susu sapi dan kefir susu kambing dapat juga disebabkan oleh lama inkubasi. Menurut Safitri dan Swarastuti (2013), waktu inkubasi yang lebih lama dapat memperbanyak jumlah asam laktat yang dihasilkan sehingga nilai pH pada media fermentasi menurun dan terjadi koagulasi

protein yang lebih banyak dan viskositas yang dihasilkan menjadi lebih tinggi.

**Tabel 8. Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Viskositas**

Produk	Konsentrasi Substrat (%)	Viskositas (cP)	Referensi
Kefir susu sapi	0	1,37	Prastiwi <i>et al.</i> (2018)
	2,5	0,93	
	5	0,78	
	7,5	0,43	
	10	0,32	

Berdasarkan Tabel 8., pada penelitian oleh Prastiwi *et al.* (2018), peningkatan konsentrasi substrat yang digunakan dalam fermentasi, menurunkan viskositas susu sapi yang dihasilkan. Namun, hasil pengukuran ini berlawanan dengan hasil penilaian organoleptik *water kefir* air kelapa hijau. Berdasarkan penelitian Surja *et al.* (2019), hasil uji organoleptik kekentalan *water kefir* air kelapa hijau dari 25 orang panelis menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi substrat menghasilkan *water kefir* yang semakin kental atau meningkatkan viskositas dari produk dan penambahan substrat 7,5% menghasilkan viskositas yang paling disukai. Berdasarkan skor dari panelis, penambahan substrat dengan konsentrasi 0% dan 2,5% *water kefir* air kelapa hijau tergolong dalam kategori tidak kental, pada penambahan substrat 5% produk yang dihasilkan tergolong dalam kategori agak kental, dan pada penambahan substrat 7,5% dan 10% *water kefir* termasuk dalam kategori kental dan sangat kental.

Hasil viskositas yang berbeda antara kefir dan *water kefir* dapat disebabkan juga karena perbedaan jenis bahan baku yang digunakan. Susu sapi mengandung sekitar 4-5% laktosa dan peningkatan substrat sebagai nutrisi pada media fermentasi menyebabkan mikroorganisme yang hidup pada media fermentasi memiliki nutrisi lebih sehingga produksi asam organik lebih banyak dan pH produk yang dihasilkan menjadi

lebih rendah. Ketika nilai pH kefir susu turun melewati titik isoelektrik kasein pada pH 4,6, gumpalan atau agregat yang terbentuk pada titik isoelektrik akan melemah dan akan cenderung menjadi larut dalam air sehingga viskositas yang dihasilkan juga menurun (Purbasari *et al.*, 2014 dan Da Costa *et al.*, 2013).

Hasil berbeda yang diperoleh pada *water kefir* air kelapa hijau (Surja *et al.*, 2019) dapat disebabkan karena sebagai sumber bahan, air kelapa tidak mengandung laktosa melainkan mengandung lebih banyak gula. Air kelapa dapat mengandung gula total sekitar 1,8-4,4 g/100 mL. Semakin tinggi konsentrasi substrat yang digunakan dalam fermentasi menyebabkan total padatan terlarut pada *water kefir* juga akan meningkat sehingga viskositas dari *water kefir* yang dihasilkan juga meningkat. Selain itu, penambahan substrat dalam konsentrasi yang berlebih juga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang terdapat dalam bibit *water kefir* sehingga penguraian total padatan terlarut dan metabolisme mikroorganisme menjadi terhambat dan viskositas yang dihasilkan pada produk menjadi tinggi (Prastiwi *et al.*, 2018 dan Burns *et al.*, 2020).

#### Karbon Dioksida (CO<sub>2</sub>)

Salah satu metabolit yang dihasilkan oleh mikroorganisme pada bibit *water kefir* dan kefir adalah karbon dioksida (CO<sub>2</sub>).

**Tabel 9. Pengaruh Konsentrasi Starter Terhadap CO<sub>2</sub>**

Produk	Konsentrasi Starter (%)	CO <sub>2</sub> (%)	Referensi
Kefir susu kerbau	2,5	0,38	Margareth <i>et al.</i> (2020)
	5	0,43	
	7,5	0,48	
	10	0,52	

Berdasarkan penelitian Margareth *et al.* (2020) pada Tabel 9., perbedaan penambahan konsentrasi bibit kefir dengan konsentrasi 2,5-10% menghasilkan kefir susu kerbau dengan kadar CO<sub>2</sub> di kisaran 0,38-0,52% dan CO<sub>2</sub> yang dihasilkan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi bibit kefir yang

digunakan. Selain konsentrasi starter, kadar CO<sub>2</sub> juga dipengaruhi oleh konsentrasi substrat yang digunakan.

Berdasarkan Tabel 10., penelitian oleh Surja *et al.* (2019) menunjukkan peningkatan konsentrasi substrat yang digunakan cenderung meningkatkan CO<sub>2</sub> yang terkandung dalam *water*

*kefir* air kelapa hijau hingga konsentrasi sukrosa 7,5%. Peningkatan kadar CO<sub>2</sub> yang dihasilkan berkisar antara 0,07-0,10%. Namun, pada penambahan konsentrasi substrat sebanyak

10%, kadar CO<sub>2</sub> yang dihasilkan menurun menjadi 0,09%.

**Tabel 10. Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap CO<sub>2</sub>**

Produk	Konsentrasi Substrat (%)	CO <sub>2</sub> (%)	Referensi
<i>Water kefir</i> air kelapa hijau	0	0,07	Surja <i>et al.</i> (2019)
	2,5	0,08	
	5	0,09	
	7,5	0,10	
	10	0,09	

Khamir seperti *S. cerevisiae* dapat monosakarida seperti glukosa menjadi metabolit sekunder seperti CO<sub>2</sub> dan alkohol melalui siklus glikolisis. Peningkatan substrat yang digunakan dapat meningkatkan ketersediaan glukosa sebagai nutrisi sehingga karbon dioksida yang dihasilkan juga meningkat. Penurunan CO<sub>2</sub> yang terjadi pada penambahan substrat dengan konsentrasi 10% disebabkan karena terjadi perbedaan tekanan osmotik yang terlalu tinggi pada media fermentasi ketika penambahan gula yang dilakukan berlebih sehingga organel sel mikroorganisme menjadi rusak dan, jumlah mikroorganisme serta metabolit yang dihasilkan juga menurun. Penambahan gula atau ketersediaan glukosa secara berlebih hingga mencapai gradien saturasi pada media fermentasi juga dapat menghentikan pembentukan CO<sub>2</sub> sehingga kadar CO<sub>2</sub> yang dihasilkan menurun

(Azizah *et al.*, 2014 dan Bryan *et al.*, 2018). Selain konsentrasi substrat, peningkatan konsentrasi *starter* yang digunakan dalam proses fermentasi akan meningkatkan jumlah total mikroorganisme terutama khamir yang terkandung dalam media fermentasi sehingga metabolit seperti karbon dioksida yang dihasilkan dari pemecahan glukosa juga akan meningkat (Walker dan Stewart, 2016).

#### **Total Khamir dan Bakteri Asam Laktat (BAL)**

Konsentrasi substrat dan *starter* yang digunakan dalam proses fermentasi memengaruhi mutu mikrobiologis dari produk yang dihasilkan. Berdasarkan Tabel 11. dan Tabel 12., peningkatan konsentrasi *starter* yang digunakan cenderung meningkatkan total bakteri asam laktat dan total khamir pada produk yang dihasilkan.

**Tabel 11. Pengaruh Konsentrasi Starter Terhadap Total Khamir**

Produk	Konsentrasi Starter (%)	Total Khamir (CFU/mL)	Referensi
<i>Water kefir</i> sari kacang bambara	2,5	2,7x10 <sup>5</sup>	Nur'utami <i>et al.</i> (2018)
	5	3,0x10 <sup>6</sup>	
	7,5	4,3x10 <sup>7</sup>	
Kefir susu sapi	1	0,6x10 <sup>6</sup>	Magra <i>et al.</i> (2012)
	3	1,5x10 <sup>6</sup>	
	7	4,5x10 <sup>6</sup>	

**Tabel 12. Pengaruh Konsentrasi Starter Terhadap Total BAL**

Produk	Konsentrasi Starter (%)	Total Bakteri Asam Laktat (CFU/mL)	Referensi
Kefir susu kambing	2	1,64x10 <sup>7</sup>	Sulmiyati <i>et al.</i> (2019)
	4	1,71x10 <sup>7</sup>	
	6	1,76x10 <sup>7</sup>	
<i>Water kefir</i> sari kacang bambara	2,5	1,5x10 <sup>8</sup>	Nur'utami <i>et al.</i> (2018)
	5	2,9x10 <sup>8</sup>	
	7,5	1,5x10 <sup>9</sup>	

Berdasarkan Tabel 11., peningkatan konsentrasi bibit kefir yang digunakan dalam juga meningkatkan total khamir yang dihasilkan dan secara umum hasil yang diperoleh telah

memenuhi persyaratan bagi minuman susu fermentasi yang tertera pada JETRO dengan standar minimal total bakteri asam laktat yang terkandung pada produk adalah 10<sup>6</sup> CFU/mL.

Berdasarkan Tabel 12., total bakteri asam laktat yang dihitung pada produk juga meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi *starter* dan telah memenuhi persyaratan dari JETRO.

Menurut Danilovic *et al.* (2019) dan Randazzo *et al.* (2016), bibit kefir dan *water kefir* terdiri atas lebih dari 50 jenis mikroorganisme yang tergabung dalam matriks polisakarida. Sekitar 65-80% mikroorganisme yang terdapat pada bibit kefir disusun oleh bakteri asam laktat dengan kisaran 74% tergolong dalam kelompok heterofermentatif seperti *Lactococci* dan *Streptococci* dan sekitar 26% bakteri asam laktat homofermentatif seperti *Lactobacilli*. Fermentasi produk dengan konsentrasi bibit kefir dan *water kefir* yang lebih tinggi dapat meningkatkan jumlah mikroorganisme yang berada pada media fermentasi sehingga total khamir dan total bakteri asam laktat pada produk akhir yang dihasilkan juga meningkat.

Selain konsentrasi *starter*, berdasarkan Tabel 13. dan 14., konsentrasi substrat yang digunakan dalam proses fermentasi kefir dan *water kefir* juga memengaruhi pertumbuhan mikroorganisme pada kefir dan *water kefir*. Pada Tabel 13., pada kefir susu kambing (Aristya *et al.*, 2013) total yang dihitung untuk bakteri asam laktat berkisar antara  $8,3 \times 10^6$ - $3,7 \times 10^7$  CFU/mL dan mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi substrat yang digunakan. Pada *water kefir* buah belimbing manis (Rizqiati *et al.*, 2021), peningkatan konsentrasi sukrosa hingga 9% juga menghasilkan total bakteri asam laktat yang meningkat menjadi  $5,6 \times 10^8$  CFU/mL. Namun, pada konsentrasi sukrosa 12%, total bakteri asam laktat mengalami penurunan menjadi  $6,5 \times 10^7$  CFU/mL.

**Tabel 13. Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Total BAL**

Produk	Konsentrasi Substrat (%)	Total Bakteri Asam Laktat (CFU/mL)	Referensi
Kefir susu kambing	4	$8,3 \times 10^6$	Aristya <i>et al.</i> (2013)
	6	$2,3 \times 10^7$	
	8	$3,7 \times 10^7$	
	0	$2,2 \times 10^7$	
<i>Water kefir</i> buah belimbing manis	3	$3,3 \times 10^7$	Rizqiati <i>et al.</i> (2021)
	6	$5,5 \times 10^7$	
	9	$5,6 \times 10^8$	
	12	$6,5 \times 10^7$	

**Tabel 14. Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Total Khamir**

Produk	Konsentrasi Substrat (%)	Total Khamir (CFU/mL)	Referensi
<i>Water kefir</i> larutan gula	0	$6,3 \times 10^6$	Laureys <i>et al.</i> (2018)
	2	$3,2 \times 10^7$	
	4	$5,0 \times 10^7$	
<i>Water kefir</i> buah naga merah	0	$2,4 \times 10^5$	Insani <i>et al.</i> (2018)
	3	$3,4 \times 10^5$	
	6	$3,8 \times 10^5$	
	9	$6,0 \times 10^5$	
	12	$3,5 \times 10^5$	

Pada *water kefir* larutan gula (Laureys *et al.*, 2018), peningkatan substrat yang digunakan juga meningkatkan total khamir pada produk yang dihasilkan dari  $6,3 \times 10^6$  menjadi  $5,0 \times 10^7$  CFU/mL. Peningkatan total khamir pada produk juga diperoleh pada penelitian Insani *et al.* (2018). Total khamir pada *water kefir* dengan bahan dasar buah naga merah berkisar antara  $2,4 \times 10^5$ - $6,0 \times 10^5$  CFU/mL dan peningkatan dengan total khamir tertinggi terjadi pada penambahan sukrosa 9%. Pada penambahan sukrosa dengan konsentrasi 12%, terjadi penurunan total khamir menjadi  $3,51 \times 10^5$  CFU/mL.

Sukrosa dalam media fermentasi berfungsi sebagai sumber nutrisi dan energi bagi pertumbuhan serta metabolisme bakteri asam laktat dan khamir. Sukrosa akan mengalami degradasi dan terpecah menjadi gula sederhana, yaitu monosakarida glukosa dan fruktosa dengan aktivitas metabolisme dari bakteri asam laktat. Selama proses fermentasi tersebut, akan dihasilkan metabolit seperti asam laktat,  $\text{CO}_2$ , dan alkohol oleh bakteri asam. Asam laktat yang dihasilkan kemudian dapat menghasilkan nilai pH yang lebih rendah dan menyebabkan kondisi fermentasi menjadi lebih asam sehingga khamir dapat berkembang dengan lebih optimal



terutama di pH 4,0-4,5 (Korukluoglu *et al.*, 2017). Selain itu, sinergisme dalam proses fermentasi antara khamir dan bakteri asam laktat juga dapat terjadi karena khamir seperti *S.cerevisiae* dapat menghasilkan asam amino esensial dan nutrisi lain yang dapat menunjang pertumbuhan bakteri asam laktat seperti leusin, isoleusin, metionin, tripsin, triptofan, dan vitamin B6 (Stadie *et al.*, 2013).

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh berbagai sumber, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi *starter* dan substrat yang digunakan dalam pembuatan *water kefir* dapat memengaruhi sifat fisikokimia dan mutu mikrobiologis dari produk yang dihasilkan. Mikroorganisme yang terkandung pada bibit *water kefir*, yaitu khamir dan bakteri asam laktat dapat bekerja secara sinergis selama fermentasi berlangsung dan peningkatan konsentrasi bibit *water kefir* sebagai *starter* hingga 15% menghasilkan nilai pH yang menurun serta kadar alkohol, total asam tertitrasi, viskositas, karbon dioksida, total bakteri asam laktat serta total khamir yang dihasilkan meningkat. Peningkatan substrat yang digunakan dalam proses fermentasi hingga konsentrasi 9% dapat menurunkan nilai pH dan viskositas serta meningkatkan kadar alkohol, total asam tertitrasi, karbon dioksida, total bakteri asam laktat serta total khamir. Namun, pada penambahan substrat dengan konsentrasi 10% atau lebih terjadi plasmolisis sel-sel mikroorganisme sehingga pH yang dihasilkan meningkat dan terjadi penurunan kadar alkohol, karbon dioksida, total khamir, serta total bakteri asam laktat pada produk akhir.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Program Studi Teknologi Pangan UPH memberikan kesempatan dalam penyusunan kajian pustaka dari awal hingga selesai.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aristya, A.L., Legowo, A.M., Al-Baari, A.N. 2013. Karakteristik fisik, kimia, dan mikrobiologis kefir susu kambing dengan penambahan jenis dan konsentrasi gula yang berbeda. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 2(3), Hal. 139-143.
- Ayivi, R.D., Gyawali, R., Krastanov, A., Aljaloud, S.O., Worku, M., Tahergorabi, R., Da Silva, R.C., Ibrahim, S.A. 2020. Lactic acid bacteria: food safety and human health application. *Dairy*, 1(3), pp. 202-232. DOI: <https://doi.org/10.3390/dairy1030015>.
- Azizah, R., Restuhadi, F., dan Rossi, E. 2014. Kajian penggunaan tween80™ pada pelbagai konsentrasi nira nipah kental dalam proses fermentasi bioetanol. *Journal Online Faculty of Agriculture Students*, 1(1), Hal. 1-8.
- Bryan, A., Hart, C., Howell, A., Wise, M., dan Roberts, B. 2018. Glucose concentrations effect on rate of fermentation in yeast. *Journal of Undergraduate Biology Laboratory Investigation*, pp. 1-4.
- BSN. 2009. Minuman susu fermentasi berperisa. Badan Standarisasi Nasional, SNI 7552:2009.
- Burns, D.T., Johnston, E.L., dan Walker, M.J. 2020. Authenticity and the potability of coconut water - a critical review. *Journal of AOAC International*, 103(3), pp. 800-806. DOI: 10.1093/jaoacint/qs008.
- CAC. 2003. CODEX standards for fermented milks. Codex Alimentarius Commission, CODEX STAN 243-2003.
- Da Costa, S.L., Rossi, N.P., dan Maldonado, R.R. 2013. Evaluation of lactose in milk and dairy products. *International Journal for Innovation Education and Research*, 1(3), pp. 1-4.
- Dahunsi, A.T.A., Dahunsi, S.O., dan Olayanju, A. 2019. Synergistic microbial interactions between lactic acid bacteria and yeasts during production of Nigerian indigenous fermented foods and beverages. *Food Control*, 110, pp. 1-30.
- Danilovic, B., Dordevic, N., dan Savic, D. 2019. Microbiological and chemical changes during two-phase fermentation of kefir. *Advanced Technologies*, 8(1), pp. 5-9.
- Dertli, E., dan Con, A.H. 2017. Microbial diversity of traditional kefir grains and their role on kefir aroma. *LWT Food Science and Technology*, 85, pp. 151-157.
- Dewi, A.C., Rahardjo, A.H.D., Setyawardani, T., dan Subagja, H. 2019. Study on kefir grain concentration and the different length of storage on the physicochemical of goat milk kefir. *Journal of Physics: Conference Science*, 1569, pp.1-5. DOI: 10.1088/1742-6596/1569/3/032001
- FSANZ. 2015. Fermented milk products. Food Standards Australia New Zealand, ANZFS Code Standard 2.5.3.
- Guzel-Seydim, Z.B., Gokirmakli, C., dan Greene, A.K. 2021. A comparison of milk kefir and water kefir: physical, chemical, microbiological and functional properties. *Trends in Food Science and Technology*, 113, pp. 42-53.
- Insani, H., Rizqiyati, H., dan Prataman, Y. 2018. Pengaruh variasi konsentrasi sukrosa

- terhadap total khamir, total padatan terlarut, kadar alkohol dan mutu hedonik pada water kefir buah naga merah (*Hylureceus polyrhizus*). *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(2), Hal. 90-95.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C. & Mazhitov, B. 2018. Characterization of lactic acid bacteria from local cow's milk kefir. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 130, Hal. 1-8.
- JETRO.2011. Specifications and standards for foods, food additives, etc. under the food sanitation act. Japan External Trade Organization.
- KEBS. 2018. Fermented (cultured) milks – specification. Kenya Beureau of Standards, Kenya Standard DKS 941:2018.
- Kopecka, J., Matoulkova., dan Nemeč, M. 2012. Yeast And Its Uses. *Kvasny Prum*, 58, pp.326-334. DOI:10.18832/kp2012029.
- Korukluoglu, M., Arik, G., Erdogan, C., dan Kocakoglu, S. 2017. Screening of antagonistic/synergistic effect between lactic acid bacteria (lab) and yeast strains isolated from kefir. *International Journal of Nutrition and Food Engineering*, 11(1), pp. 282-288.
- Kurniati, T., Windayani, N., dan Listiawati, M. 2020. Total lactic acid, protein, fat, and carbohydrates in curd kefir and cow colostrum kefir. *Jurnal Biodjati*, 5(2), Hal. 271-280.
- Laureys, D., Aerts, M., Vandamme, P., Vuyst L.D. 2018. Oxygen and diverse nutrients influence the water kefir fermentation process, *Food Microbiology*, 75, pp. 351-361. DOI: 10.1016/j.fm.2018.02.007.
- Laureys, D., dan Vuyst, LD. 2016. The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process. *Journal of Applied Microbiology*, 122, pp. 719-732. DOI :10.1111/jam.1337.
- Lynch, K.M., Wilkinson, S., Daenen, L., dan Arendt, E.K. 2021. An update on water kefir: Microbiology, composition and production. *International Journal of Food Microbiology*, 345(109128), pp. 1- 18. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109128.
- Magra, T.I., Antoniou, K.D., dan Psomas, E.I. 2012. Effect of milk fat, kefir grain inoculum and storage time on the flow properties and microbiological characteristics of kefir. *Journal of Texture Studies*, 43(4), pp. 1-10. DOI: 10.1111/j.1745-4603.2011.00343.x.
- Margareth, L.L., Nurwantoro, dan Rizqiati, H. 2020. Effect of different kefir grain starter concentration on yield, ph, co2 content, and organoleptic properties of buffalo milk kefir. *Journal of applied food technology*, 7(1), Hal. 15-18.
- Narayan, A., Bhattacharjee, K., dan Naganathan, A.N. 2019. Thermally versus chemically denatured protein states. *Biochemistry*, 58, pp. 2519-2523.
- Nur'utami, D.A., Pertiwi, S.R.R., dan Syarifah, N. 2018. formulasi kefir rendah lemak dari kacang bambara (*Vigna subterranae*) dengan variasi waktu fermentasi dan konsentrasi starter. *Jurnal Agroindustri Halal*, 4 (2), Hal. 192 - 199.
- Pourahmad, R., Moghimi, A., Dadkhah, S. dan Assadi, M.M. 2011. Evaluation of flavor and aroma compounds amounts in kefir from soymilk. *World Applied Science Journal*, 15(5), pp. 673-676.
- Prastiwi, V.F., Bintoro, V.P., dan Rizqiati, H. 2018. Sifat mikrobiologi, nilai viskositas dan organoleptik kefir optima dengan penambahan high fructose syrup (HFS). *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(1), Hal. 27-32.
- Prastujati, A.U., Hilmi, M., dan Khirzin, M.H. 2018. Pengaruh konsentrasi starter terhadap kadar alkohol, pH, dan total asam tertitrasi (TAT) whey kefir. *Jurnal Ilmu Peternakan Terapan*, 1(2), Hal. 63-69.
- Purbasari, A., Pramono, Y.B., dan Abduh, S.B.M. 2014. Nilai ph, kekentalan, citarasa asam, dan kesukaan pada susu fermentasi dengan perisa alami jambu air (*Syzygium sp*). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 3(4), pp. 174-177.
- Randazzo, W., Corona, O., Guarcello, R., Francesca, N., Germana, M.A., Erten, H., Moschetti, G., dan Settani, L. 2016. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiology*, 54, pp. 40-51.
- Rizqiati, H., Mulyani, S., dan Ramadhanti, D.L. 2021. Pengaruh variasi konsentrasi sukrosa terhadap total bakteri asam laktat, ph, kadar alkohol dan hedonik water kefir belimbing manis (*Averrhoa carambola*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 21(1), Hal. 54-62. DOI: <https://doi.org/10.35799/jis.21.1.2021.31160>.
- Rosiana, E., Nurliana, dan Armansyah, T. 2013. Kadar asam laktat dan derajat asam kefir susu kambing yang di fermentasi dengan penambahan gula dan lama inkubasi yang berbeda. *Jurnal Medika Veterinarian*, 7(2), pp. 87-90.
- Safitri, M.F., dan Swarastuti, A. 2013. Kualitas kefir berdasarkan konsentrasi kefir grain.

- Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 2(2), Hal. 87-92.
- Stadie, J., Gilitz, A., Ehrmann, M.A., dan Vogel, R.F. 2013. Metabolic activity and symbiotic interactions of lactic acid bacteria and yeasts isolated from water kefir. *Food Microbiology*, 35(2), pp. 92-98. DOI: 10.1016/j.fm.2013.03.009.
- Suharman, Sutakwa, A., dan Nadia, L.S. Effects of sucrose addition to lactic acid concentrations and lactic acid bacteria population of butterfly pea (*Clitoria Ternatea* L.) yogurt. *Journal of Physics: Conference Science*, 1823, pp. 1-5. DOI: 10.1088/1742-6596/1823/1/012038.
- Sulmiyati, Said, N.S., Fahrodis, D.U., Malaka, R., dan Maruddin, F. 2019. The physicochemical, microbiology, and sensory characteristics of kefir goat milk with different levels of kefir grain. *Tropical Animal Science Journal*, 42(2), Hal. 152-158. DOI: <https://doi.org/10.5398/tasj.2019.42.2.152>.
- Supriyono, T., Murwani, R., dan Nurrahman. 2014. Kandungan beta karoten, polifenol total dan aktifitas "merantas" radikal bebas kefir susu kacang hijau (*Vigna radiata*) oleh pengaruh jumlah starter (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Candida kefir*) dan konsentrasi glukosa. *Jurnal Gizi Indonesia*, 2(2), pp. 65-71.
- Surja, L.L., Dwiloka, B., dan Rizqiyati, H. 2019. Effect of high fructose syrup (HFS) addition on chemical and organoleptic properties of green coconut water kefir. *Journal of applied food technology*, 6(1), pp. 3-8.
- Torres, A.M., Abrocio, S.G., Del Orbe, P.H., Tanaca, L.V., dan Rodriguez. C.H. 2016. Inferring the role of microorganisms in water kefir fermentations. *International Journal of Food Science and Technology*, pp. 2-12.
- Triwibowo, B., Wicaksono, R., Antika, Y., Ermi, S., Jarmiati, A., Setiadi, A.A., Syahriar, R. 2019. The effect of kefir grain concentration and fermentation duration on characteristics of cow milk-based kefir. *Journal of Physics: Conference Series*, 1444(012001), Hal. 1-6. DOI: 10.1088/1742-6596/1444/1/012001
- Wahono, S.K., Damayanti, E., Rosyida, V.T., Sadyastuti, E.I. 2011. Laju pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* pada proses fermentasi pembentukan bioetanol dari biji sorgum (*Sorghum bicolor* L.). *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*, Hal. 3-6.
- Walker, G.M., dan Stewart, G.G. 2016. *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, 2(30), pp. 1-12. DOI: 10.3390/beverages2040030.
- Yang, E., Fan, L., Yan, J., Jiang, Y., Doucette, C., Fillmore, S., dan Walker, B. 2018. Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express*, 8(10), pp. 1-14. DOI: 10.1186/s13568-018-0536-0.