

KAJIAN PROPORSI SARI NANAS DAN KONSENTRASI STARTER TERHADAP AKTIVITAS ANTIBAKTERI KEFIR NANAS

(Study of proportion of pineapple juice and starter concentration to the antibacterial activity of pineapple kefir)

Dewi Mayasari^{a*}, Ira Nugerahani^a, Endang Sutriswati Rahayu^a

^a Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Indonesia

* Penulis korespondensi
Email: dewims9488@gmail.com

ABSTRACT

*This research uses Queen pineapple varieties juice because it have a high sugar content and contains antibacterial compounds such as phenol, chlorine, and iodine. The purpose of this study is to determine the effect of different proportions of pineapple juice and starter concentrations to the antibacterial activity of pineapple kefir. The experimental design that will be use is a Factorial Randomized Block Design (RBD) with two factors that are proportion of pineapple juice (N0= fruit juice; N1= 1:1, and N2= 1:2) and the concentration of starter (1% v/v and 10% v/v). Each treatment will be repeated 4 times. The main parameter that will be analyzed is the antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 with diffusion wells method. The parameters that will be analyzed as a supporting data are pH, total acid, total yeast and BAL. Obtained data will be analyzed statistically by ANOVA (Analysis of Variance) at $\alpha = 5\%$ and continued with DMRT (Duncan's Multiple Range Test) to determine which level of treatment that gives significant differences. The proportion of pineapple juice had significant effect on the antibacterial activity of pineapple kefir, beside starter concentration had not significant effect on the antibacterial activity of pineapple kefir and the interactions between the two factors had not significant effect on the antibacterial activity of pineapple kefir with bacterial test *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.*

Keywords: *pineapple kefir, kefir microorganisms, antibacterial activity*

ABSTRAK

Penelitian ini menggunakan sari buah nanas varietas *Queen* karena memiliki kadar gula yang tinggi dan mengandung senyawa antibakteri seperti fenol, klor, dan iodium. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan proporsi sari nanas dan konsentrasi *starter* terhadap aktivitas antibakteri kefir nanas. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) desain faktorial yang terdiri dari dua faktor, yaitu proporsi sari nanas (N0= sari buah; N1= 1:1, dan N2= 1:2) dan konsentrasi *starter* (1% v/v dan 10% v/v), dengan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Parameter uji utama yakni uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi sumur. Parameter uji pendukung meliputi pH, total asam, total khamir dan BAL. Data yang diperoleh dianalisa secara statistik dengan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) pada $\alpha = 5\%$ dan dilanjutkan dengan uji Beda Jarak Nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk menentukan taraf perlakuan mana yang memberikan perbedaan nyata. Proporsi sari nanas berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri kefir nanas, sedangkan konsentrasi *starter* tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri kefir nanas dan tidak ada interaksi antara kedua faktor tersebut terhadap aktivitas antibakteri kefir nanas dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kata kunci: kefir nanas, mikroorganisme kefir, aktivitas antibakteri

PENDAHULUAN

Kefir merupakan salah satu produk fermentasi dengan memanfaatkan aktivitas dari bakteri asam laktat, bakteri asam asetat, dan khamir. Kefir memiliki karakteristik bersifat asam, sedikit berkarbonasi atau terdapat esensi *sparkling* layaknya minuman bersoda dan mengandung sedikit alkohol berupa etanol yang dihasilkan oleh adanya aktivitas khamir (Wszolek *et al.*, 2001). Bahan baku yang umum digunakan dalam pembuatan kefir adalah dari berbagai jenis susu antara lain susu sapi, kambing, dan domba. Kefir juga dapat dibuat dengan bahan baku sari atau ekstrak buah, disebut sebagai *fruit kefir* atau *water kefir*, yang memiliki kenampakan keruh dan tidak membentuk gumpalan polisakarida (kefiran) karena tidak mengandung substrat protein.

Nanas merupakan buah yang dihasilkan oleh tanaman nanas (*Ananas comosus*) yang banyak dibudidayakan di Indonesia terutama di daerah Jawa dan Sumatera. Produksi nanas di Indonesia mencapai 1.427,781 ton pada tahun 2006 dan terus meningkat mencapai 1500 ton pada tahun 2011 dengan proporsi hasil panen 90% nanas varietas *Queen* dan 10% nanas varietas *Smooth cayenne* (Biro Pusat Statistik, 2012). Penelitian ini menggunakan sari buah nanas varietas *Queen* sebagai bahan baku pembuatan kefir. Buah nanas varietas *Queen* dipilih karena buah tersebut memiliki kandungan gula yang tinggi dan mengandung senyawa antibakteri seperti fenol, klor, dan iodium (Ilyas, 2005).

Kefir nanas mengandung senyawa yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus*. Senyawa tersebut dapat berasal dari buah nanas dan senyawa hasil metabolisme bakteri kefiran berupa asam laktat dan asam organik lainnya, hidrogen peroksida, dan bakteriosin. Kefir yang dihasilkan pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antibakteri kefir nanas pada berbagai proporsi sari nanas dan konsentrasi starter. Bakteri uji yang dipilih adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

(bakteri gram positif), karena didukung oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa kefir memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Menurut Czamanski *et al.* (2004), kefir memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif yang lebih baik daripada terhadap bakteri gram negatif dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan daerah penghambatan sebesar 30,0 mm (Rodrigues *et al.*, 2005). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbedaan proporsi sari nanas dan konsentrasi starter terhadap aktivitas antibakteri kefir nanas.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Buah nanas varietas “Queen” yang diperoleh dari perkebunan nanas di daerah Sidorejo, Ponggok, Blitar, Jawa Timur; starter kefir dari Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya Malang; gula pasir “Gulaku”; air minum dalam kemasan (AMDK) “AQUASE”; kultur murni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan, Jl. Karangmenjangan 18 Surabaya; kapas “Husada” 500 g diperoleh dari supermarket “Bilka Surabaya”; alkohol 96%; spiritus; akuades diperoleh dari “PT. Megah Sejahtera; kristal NaOH p.a (Mallinckrodt fw 0.40.00), Scientif”, *Nutrient Agar* (Pronadisa Cat 1060.00), *Nutrient Broth* (Pronadisa Cat 1216.00), *Pepton from Meat, oil imersion, Safranin Gram Stain*, Kristal Violet Modifikasi *Hucker*. Bahan-bahan ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Industri Pangan FTP-UKWMS.

Pembuatan Kefir Nanas

Buah nanas dilakukan sortasi, pengupasan dan pencucian. Selanjutnya dilakukan pamarutan dan penyaringan untuk mendapatkan sari nanas (N₀). Kemudian sari nanas (N₀) dilakukan pengenceran sebagai berikut N₁ (sari nanas : air = 1 : 1), dan N₂ (sari nanas:air =1:2). Selanjutnya dilakukan pasteurisasi pada T = 90°C, 5 menit, lalu disaring dan

dilakukan pasteurisasi kembali pada $T=90^{\circ}\text{C}$, 5 menit. Setelah itu dilakukan pengukuran volume dan pendinginan. Semua sari nanas yang diperoleh dilakukan analisa pH, total asam, TPT, vitamin C, total khamir dan BAL, lalu diinokulasi dengan *starter* sesuai perlakuan S1: 1% (v/v) dan S2: 10% (v/v). Selanjutnya diinkubasi pada $T = 29\pm 1^{\circ}\text{C}$, 24 jam. Kefir nanas yang dihasilkan dilakukan analisa aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi sumur, serta dilakukan uji pendukung meliputi uji pH, total asam, TPT, vitamin C, total khamir dan BAL.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Kefir Nanas dengan Metode Difusi Sumur

Penghitungan mengacu pada NCCLS (2006). Kultur bakteri uji ditumbuhkan dalam media NA dalam cawan petri, kemudian dibuat 4 lubang dengan *perforator* no.3. Setelah persiapan sampel uji selesai, kemudian dilakukan pengenceran terlebih dahulu sebelum dipipet kedalam sumur. Pengenceran sampel uji dilakukan dengan cara memipet 1mL sampel uji (sari buah, kefir, kefir netral, kefir pasteurisasi) ke dalam 4 mL Air Pepton 0,1% (pengenceran 5 kali). Kemudian setiap lubang diisi kefir nanas sebanyak 20 μL menggunakan mikropipet pada setiap lubang sumur sesuai perlakuan (sari buah, kefir, kefir netral, kefir pasteurisasi), setelah itu di masukkan ke dalam *refrigerator* $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, 2 jam dan dilanjutkan inkubasi dalam inkubator 37°C selama 24 jam. Daerah hambatan pertumbuhan (DHP) diukur menggunakan jangka sorong dan diulang 4 kali. Rumus menghitung daerah hambatan pertumbuhan (DHP) adalah:

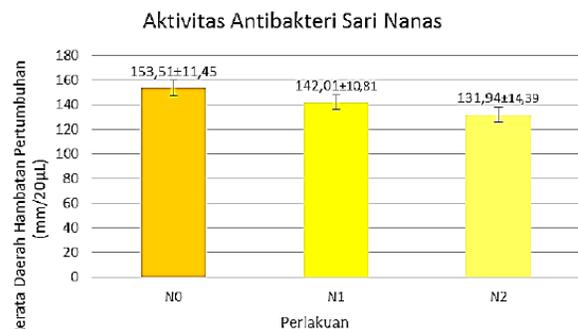
$$\text{DHP} = (d_{\text{perforator}} - d_{\text{rata-rata sumur}}) \times \text{FP}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini total bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berkisar antara $(2,2 \pm 0,75) \times 10^{10}$ CFU/mL. Pengujian aktivitas antibakteri kefir nanas

dilakukan dengan memasukkan sampel uji (sari buah, kefir, kefir pasteurisasi, dan kefir netral) ke dalam lubang sumur, dan setelah diinkubasi akan terlihat daerah hambatan pertumbuhan disekitar sumur.

Sari buah nanas yang digunakan sebagai sampel uji merupakan sari nanas yang telah dipasteurisasi. Adanya aktivitas antibakteri membuktikan bahwa sari nanas mengandung asam organik yang berperan sebagai senyawa antibakteri. Aktivitas antibakteri sari nanas dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Aktivitas Antibakteri Sari Nanas

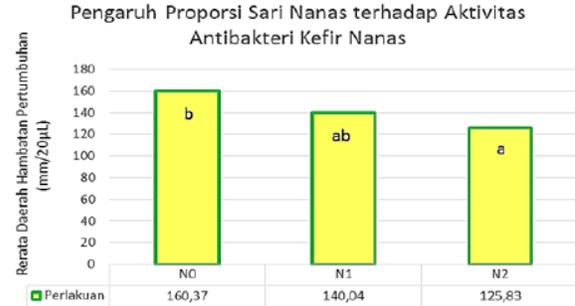
Berdasarkan hasil uji ANOVA ($\alpha = 5\%$), perbedaan proporsi sari nanas tidak berpengaruh nyata, karena rerata DHP yang dihasilkan oleh ketiga perlakuan tersebut tinggi, yakni dengan rerata $\text{DHP} \geq 30$ mm. Namun dapat dilihat pada Gambar 1. yang menunjukkan bahwa semakin besar proporsi sari nanas maka aktivitas antibakteri yang dihasilkan semakin kecil. Hal ini membuktikan bahwa terjadi penurunan jumlah nutrisi dan senyawa-senyawa baik organik maupun anorganik yang terlarut dalam sari nanas akibat adanya proses pengenceran.

Selain mengandung asam organik, diketahui sari nanas juga mengandung senyawa bioaktif dan fenol yang dapat berperan sebagai senyawa antibakteri. Senyawa fenol yang terdapat dalam sari nanas berturut-turut adalah $\text{N0} = 635,5$ ppm; $\text{N1} = 554$ ppm; dan $\text{N2} = 404,5$ ppm (Nugerahani dan Arisasmita, 2016). Diperlukan penetralan sari nanas untuk mengetahui kestabilan senyawa bioaktif dalam sari nanas. Bakteri uji yang

digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang merupakan bakteri gram positif, dimana bakteri ini memiliki struktur dinding sel yang sederhana yakni terdiri atas peptidoglikan dan asam teikoat, sehingga lebih mudah ditembus oleh senyawa antibakteri seperti asam organik dan senyawa fenol (Cabeen dan Jacobs, 2005).

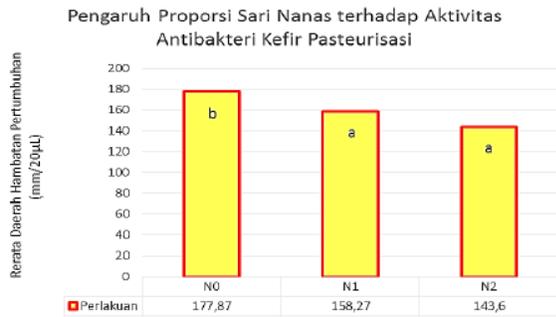
Kefir nanas yang digunakan sebagai sampel uji merupakan kefir nanas dengan waktu fermentasi 24 jam. Adanya aktivitas antibakteri membuktikan bahwa terdapat aktivitas dari mikroorganisme dalam kefir menghasilkan metabolit yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada fermentasi 24 jam, mikroorganisme dalam kefir berada pada fase stasioner dimana pertumbuhan mikroorganisme berada pada jumlah maksimum (statis) dan pada fase ini pula, terdapat aktivitas mikroorganisme yang menghasilkan metabolit berupa asam-asam organik dan metabolit lainnya yang menyebabkan penurunan pH. Asam organik yang dihasilkan memiliki kemampuan antibakteri, dimana asam organik tersebut akan menembus dinding sel bakteri (*Staphylococcus aureus*) dan menghambat pertumbuhan bakteri (Cabeen dan Jacobs, 2005).

Berdasarkan hasil uji ANOVA ($\alpha=5\%$), perbedaan proporsi sari nanas berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri kefir nanas. Kefir nanas N0S1 memiliki DHP paling tinggi sebesar 128,23 mm sedangkan kefir nanas N2S2 memiliki DHP paling rendah yakni 91,76 mm. Hasil uji DMRT menunjukkan kefir dengan sari nanas (N0) memiliki aktivitas antibakteri yang paling tinggi dan tidak berbeda nyata dengan kefir dengan sari nanas (N1), tetapi berbeda nyata dengan kefir dengan sari nanas (N2) (Gambar 2.). Hal ini membuktikan bahwa semakin besar proporsi sari nanas, maka jumlah nutrisi dan komponen penunjang aktivitas antibakteri juga akan semakin menurun, sehingga mempengaruhi kualitas kefir yang dihasilkan.



Gambar 2. Pengaruh Proporsi Sari Nanas terhadap Aktivitas Antibakteri Kefir Nanas

Kefir pasteurisasi yang digunakan sebagai sampel uji merupakan kefir nanas dengan fermentasi 24 jam yang dilakukan pemanasan/pasteurisasi pada $T=\pm 85-90^{\circ}\text{C}$, 5 menit. Adanya aktivitas antibakteri membuktikan bahwa terdapat senyawa antibakteri hasil metabolisme dari mikroorganisme dalam fermentasi kefir, seperti asam-asam organik dan hidrogen peroksida yang memiliki kemampuan antibakteri. Berdasarkan hasil uji ANOVA ($\alpha=5\%$) perbedaan proporsi sari nanas berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri kefir pasteurisasi. Kefir pasteurisasi dengan perlakuan N0S1 memiliki DHP paling tinggi yakni 135,35 mm dan perlakuan N2S2 memiliki DHP 100,77 mm. Hasil uji DMRT menunjukkan kefir dengan sari nanas (N0) memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi dan berbeda nyata dengan kefir dengan sari nanas (N1) dan sari nanas (N2) (Gambar 3.). Terjadi penurunan pH dan peningkatan derajat keasaman setelah fermentasi kefir 24 jam, dimana pH awal sari nanas 3,9 turun menjadi 3,48 dan derajat keasaman sari nanas 21,78°SH meningkat menjadi 65,76°SH (Violita, 2016). Hal ini membuktikan adanya aktivitas mikroorganisme dalam kefir, dimana khamir akan menghidrolisa sukrosa menjadi glukosa, CO_2 , dan etanol. Sedangkan BAL akan memanfaatkan glukosa hasil metabolisme khamir menjadi asam-asam organik seperti asam laktat dan senyawa hidrogen peroksida yang bersifat katalase negatif. Terjadinya akumulasi asam-asam organik dan CO_2 tersebut akan menyebabkan penurunan pH dan peningkatan derajat keasaman.

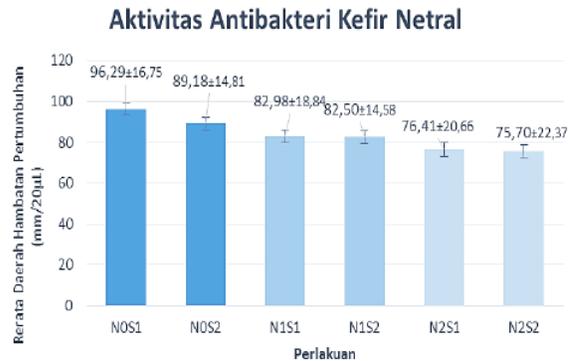


Gambar 3. Pengaruh Proporsi Sari Nanas Terhadap Aktivitas Antibakteri Kefir Pasteurisasi

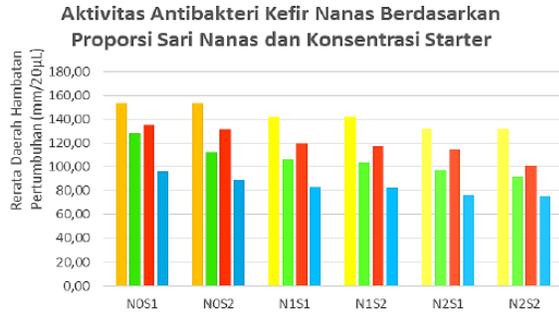
Kefir netral yang digunakan sebagai sampel uji merupakan kefir dengan fermentasi selama 24 jam yang kemudian dinetralkan dengan NaOH 1N hingga mencapai pH sekitar $6,944 \pm 0,08$. Adanya aktivitas antibakteri membuktikan bahwa terdapat bakteriosin yang dihasilkan oleh aktivitas BAL selama fermentasi kefir yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil uji ANOVA ($\alpha=5\%$) menunjukkan perbedaan proporsi sari nenas dan konsentrasi starter tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri kefir netral, serta tidak ada interaksi antara proporsi sari nenas dan konsentrasi starter. Hal ini disebabkan jumlah BAL antar perlakuan kefir nenas tidak jauh berbeda yakni sekitar 108 CFU/mL (Violita, 2016), sehingga jumlah bakteriosin yang dihasilkan juga tidak jauh berbeda. Kefir netral dengan perlakuan N0S1 memiliki DHP paling tinggi sedangkan perlakuan N2S2 memiliki DHP terendah. Aktivitas antibakteri kefir netral dapat dilihat pada Gambar 4.

Bakteriosin merupakan suatu senyawa polipeptida yang dihasilkan dalam ribosom sel. Bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL memiliki spektrum antibakteri yang terbatas, sehingga lebih efektif dalam menghambat bakteri gram positif antara lain *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, dan *Micrococcus luteu* (Rahayu dkk., 2004). Mekanisme penghambatan dan pembunuhan bakteri oleh bakteriosin yakni, senyawa bakteriosin menempel pada reseptor membran sitoplasma sehingga membran mengeluarkan material

intraselular atau sel akan mengalami lisis dan akhirnya mengalami kematian (Bhunia, 1990).



Gambar 4. Aktivitas Antibakteri Kefir Netral
 Hasil pengujian aktivitas antibakteri kefir nenas berdasarkan perbedaan proporsi sari nenas dan konsentrasi starter, kefir dengan konsentrasi starter 1% (v/v) menghasilkan rerata daerah hambatan pertumbuhan (DHP) yang lebih besar dibandingkan kefir dengan konsentrasi starter 10% (v/v) pada semua sampel uji. Hal ini disebabkan kefir nenas dengan konsentrasi starter 1% (v/v) mengalami peningkatan jumlah masa sel sebanyak 10^2 log cycle, yakni dari total khamir dan BAL ± 107 CFU/mL meningkat menjadi ± 109 CFU/mL diakhir fermentasi. Sedangkan kefir nenas dengan konsentrasi starter 10% (v/v) hanya mengalami peningkatan jumlah masa sel sebanyak 10^1 log cycle, yakni dari total khamir dan BAL ± 108 CFU/mL meningkat menjadi 109 CFU/mL diakhir fermentasi. Oleh karena itu, kefir dengan konsentrasi starter 1% (v/v) menghasilkan metabolit-metabolit bersifat antibakteri yang lebih tinggi dibandingkan kefir dengan konsentrasi starter 10% (v/v), sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan juga lebih besar, yang ditunjukkan dengan rerata DHP yang lebih tinggi. Proses pasteurisasi dapat menyebabkan terjadinya pemekatan sehingga konsentrasi metabolit yang berperan sebagai senyawa antibakteri semakin tinggi, sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan menjadi lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas antibakteri sampel kefir nenas.



Gambar 5. Aktivitas Antibakteri Kefir Nanas Berdasarkan Proporsi Sari Nanas dan Konsentrasi Starter

KESIMPULAN

Proporsi sari nanas berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri kefir nanas. Konsentrasi *starter* tidak berpengaruh nyata dan tidak ada interaksi antara proporsi sari nanas dan konsentrasi *starter* terhadap aktivitas antibakteri kefir nanas dengan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Kefir dengan sari nanas (N0) dan konsentrasi *starter* 1% (v/v) adalah kefir nanas yang memiliki aktivitas antibakteri paling optimum terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Namun perlu dilakukan pengujian secara *in vivo* serta melakukan penetralan terhadap sari nanas untuk mengetahui kestabilan senyawa bioaktif dalam sari nanas dan sebagai pembanding aktivitas antibakteri kefir netral.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah membiayai penelitian ini dari anggaran LPPM tahun 2015/2016 dengan kode 616.02.2439, sebagai bagian dari penelitian yang berjudul "Pengembangan Produk Kefir menggunakan Sari Nanas (*Ananas comosus*) sebagai Minuman Fungsional yang Memiliki Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan".

DAFTAR PUSTAKA

- Biro Pusat Statistik (BPS). 2012. Statistik Produksi Nanas Indonesia 2006-2011. Jakarta: Badan Pusat Statistik Republik Indonesia.
- Bhunia, A.K., Jhonson M.C., and Ray B. 1990. Purification, Characterization, and Antimicrobial Spectrum of a Bacteriocin Produced by *Pediococcus acidilactici*. J. Appl. Bacteriol. 65:261-268.
- Cabeen, M.T. and Jacobs-Wagner. 2005. C. Bacterial Cell Shape. Nat. Rev. Microbiol. 3:601.
- Czamanski, R.T., Greco, D.P., and Wiest, J.M. 2004. Evaluation of Antibiotic Activity in Filtrates of Traditional Kefir. Higiene Alimentar. 18:75-77.
- Ilyas, M. 2005. Daya Hambat Minimal Ekstrak Bonggol Nanas terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dalam Plak Gigi. Jurnal PDGI, Fakultas Kedokteran Gigi UNHAS, Makassar. Hal. 193-197.
- NCCLS. 2006. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically 7th edition. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Nugerahani, I. dan Joek H.A. 2016. Pengembangan Produk Kefir Menggunakan Sari Nanas (*Ananas comosus*) sebagai Minuman Fungsional yang Memiliki Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Surabaya.
- Rahayu, E.S., Tri Marwati, Nur Richana, dan Eni Harmayani. 2012. Teknik Produksi dan Purifikasi Pediosin PaF-11 dari *Pediococcus acidilactici* F-11. J. Pascapanen. 9(1):11-17.
- Rahayu, E.S., E. Harmayani, T. Utami, dan K. Handarini. 2004. *Pediococcus acidilactici* F-11 Penghasil Bakteriosin sebagai Agensia Biokontrol *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada Sayuran Segar Simpan Dingin. J. Agritech. 24(3):113-124.

Rodrigues K.L., Caputo L.R.G., Carvalho J.C.T., Fiorini J.E., and Schneedorf J.M. 2005. Antimicrobial and Healing Activity of Kefir and Kefiran Extract. *International Journal of Antimicrob. Agents.* 25(5):404-408.

Violita, S. 2016. Kajian Proporsi Sari Nanas dan Konsentrasi *Starter* terhadap Sifat Kimia dan Mikrobiologis Kefir Nanas. Skripsi S-1. Fakultas Teknologi

Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Surabaya.

Wszolek M., Tamime A.Y., Muir D.D., and Barclay M.N.L. 2001. Properties of Kefir Made in Scotland and Poland Using Bovine, Caprine and Ovine Milk with Different *Starter* Cultures. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie.* 34:251-261.