

**LAPORAN PENELITIAN
TAHUN ANGGARAN 2022**

Kluster Penelitian Pembinaan/Kapasitas

**KARAKTERISASI DAN UJI ANTIBAKTERI FORMULA
KEFIR TERFORTIFIKASI DENGAN EKSTRAK INULIN
DARI UMBI DAHLIA (*Dahlia sp. L*) TERHADAP *Klebsiella
pneumoniae***

Oleh:

Alif Firman Firdausy

(NIP. 199206072019031017)



**KEMENTERIAN AGAMA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT (LP2M)
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2022

HALAMAN PERSETUJUAN

Laporan penelitian dengan judul “KARAKTERISASI DAN UJI ANTIBAKTERI
FORMULA KEFIR TERFORTIFIKASI DENGAN EKSTRAK INULIN DARI
UMBI DAHLIA (*Dahlia sp. L*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae*”

Oleh:

Alif Firman Firdausy

(NIP. 199206072019031017)

Telah diperiksa dan disetujui *reviewer* dan komite penilai pada tanggal
14 November 2022


Malang, 14 November 2022

Reviewer 1,



(Bayyinatul Muchtaromah)

Reviewer 2,



(Moch. Irfan Hadi)

Komite,

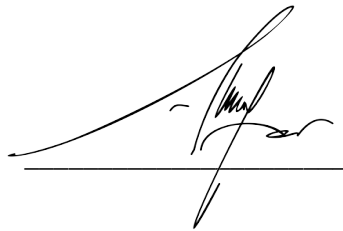
(Dr. H. Syaiful Mustofa, M.Pd.)

HALAMAN PENGESAHAN

Laporan Penelitian ini disahkan oleh Lembaga Penelitian kepada Masyarakat Universitas
Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Pada Tanggal 14 November 2022

Peneliti

Nama : apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed.
NIP : 199206072019031017
Tanda tangan

A handwritten signature in black ink, written over a horizontal line. The signature is stylized and appears to be 'Alif Firman Firdausy'.

Ketua LP2M
UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

Dr. H. Agus Maimun, M.Pd.
NIP. 196508171998031003

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Kami yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed.
NIP : 199206072019031017
Pangkat/Gol. Ruang : Penata Muda Tk.I /III-b
Fakultas/ Program Studi : FKIK/ Farmasi
Jabatan dalam Penelitian : Ketua Peneliti

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa dalam penelitian ini tidak terdapat unsur-unsur penjiplakan karya penelitian atau karya ilmiah yang pernah dilakukan atau dibuat oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis disebutkan dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar Pustaka. Apabila di kemudian hari ternyata dalam penelitian ini terbukti terdapat unsur-unsur penjiplakan dan pelanggaran etika akademik, maka kami bersedia mengembalikan dana penelitian yang telah kami terima dan diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, 14 November 2022

Ketua Peneliti,



(ALIF FIRMAN FIRDAUSY)

NIP. 199206072019031017

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tinjauan <i>Dahlia sp. L</i>	4
B. Kandungan dan Manfaat <i>Dahlia sp. L</i>	4
C. Inulin	5
D. Kefir	5
E. Bakteri Asam Laktat (BAL).....	6
F. Ultrasonic-and Microwave Assisted Extraction (UMAE)	7
G. Karakteristik Fisikokimia dan Bakteri Asam Laktat Kefir	8
H. Total Plate Count (TPC)	8
I. Uji Aktivitas Antibakteri (<i>Kirby-Bauer Method</i>).....	9
J. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	9
BAB III METODE PENELITIAN	11
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	11
B. Lokasi dan Tempat Penelitian.....	11
C. Variabel Penelitian.....	11
D. Instrumen, Alat dan Bahan.....	12
E. Prosedur Ekstraksi Inulin	13
F. Prosedur Formulasi Kefir Terfortifikasi	13
G. Prosedur Uji Karakteristik	13
H. Analisis Data.....	15
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	17
A. Determinasi Tumbuhan.....	17
B. Proses Pembuatan Formula Kefir Terfortifikasi	18

1. Ultrasonic and Microwave Assited Extraction (UMAE)	18
2. Analisis Ekstrak Inulin dengan <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC).....	19
3. Pembuatan Kefir Terfortifikasi	19
C. Karakterisasi Fisikokimia Formula Kefir Terfortifikasi	20
1. Uji Organoleptik	20
2. Pengukuran Viskositas, pH, dan Kadar Asam Organik	22
D. Karakteristik Mikrobiologi Formula Kefir Terfortifikasi	24
E. Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat (BAL) terhadap <i>K. pneumoniae</i>	25
1. Pembuatan <i>Stock Culture K. pneumoniae</i>	25
2. Isolasi Bakteri Asam Laktat	26
3. Pengukuran Zona Hambat CFS BAL.....	27
BAB V PENUTUP	30
A. Kesimpulan	30
B. Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN.....	35

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1. Pedoman interpretasi koefisien korelasi.....	16
Tabel 4.1. Hasil determinasi umbi dahlia.....	17
Tabel 3.2. Waktu retensi hasil HPLC ekstrak inulin <i>Dahlia sp. L</i> terhadap standar.....	19
Tabel 4.3. Hasil statistik uji organoleptis formula kefir terfortifikasi umbi dahlia menggunakan metode Hedonik.....	21
Tabel 4.4. Uji viskositas, pH, dan kadar asam organik	22
Tabel 4.5. Kandungan mikroba berdasarkan media pertumbuhan	24
Tabel 4.6. Hasil pengukuran diameter zona hambat CFS isolat BAL.....	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. <i>Dahlia sp. L</i>	4
Gambar 4.1. Proses ekstraksi inulin umbi dahlia.	18
Gambar 4.2. Proses formulasi kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi dahlia.	20
Gambar 4.3. Visualisasi <i>colony counter</i> pada sampel formula kefir terfortifikasi umbi dahlia dengan pengenceran: (a) 10^{-2} , 624 koloni; (b) 10^{-3} , 99 koloni; dan (c) 10^{-4} , 6 koloni.	25
Gambar 4.4. Proses pembuatan kultur stok <i>K. pneumoniae</i>	26
Gambar 4.5. Hasil isolasi BAL dari sampel kefir.....	27
Gambar 4.6. Hasil uji aktivitas antimikroba <i>cell free supernatant</i> isolate BAL	28

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia adalah salah satu negara dengan kuota jamaah haji terbesar di dunia dan jumlahnya terus meningkat dari tahun ke tahun (Badan Pusat Statistik, 2020). Peningkatan kuota tersebut diikuti pula dengan tingginya kasus kematian jamaah haji. Menurut SISKOHATKES, penyebab utama kematian sebagian besar didominasi oleh penyakit kardiovaskuler dan sistem pernafasan (Kemenkes RI, 2014, 2017). (Savitri *et al.*, 2019) menyebutkan bahwa gangguan pernafasan pada jamaah haji utamanya disebabkan oleh pneumonia, yakni gejala peradangan akibat kondisi patologis seperti infeksi bakteri (National Heart, Lung, 2016). Tingginya kasus pneumonia pada musim haji sebagian besar diakibatkan oleh infeksi *Candida albican*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella pneumophila*, dan *Klebsiella pneumoniae* (Asghar *et al.*, 2011).

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) adalah bakteri Gram-negatif yang secara alami terdapat dalam saluran pencernaan, namun pada kondisi patologis tertentu dapat menginfeksi organ lain termasuk paru-paru (Li *et al.*, 2014a). Meskipun sebagai flora normal, kolonisasi *K. pneumoniae* secara berlebihan merupakan faktor resiko terjadinya infeksi. (Gorrie *et al.*, 2017) menyatakan ~50% infeksi *K. pneumoniae* pada pasien ICU berasal dari mikrobiota normal. Oleh karena itu, upaya mengurangi kolonisasi *K. pneumoniae* menjadi penting untuk mengurangi resiko kejadian infeksi.

Infeksi *K. pneumoniae* hingga saat ini menjadi perhatian serius karena resistensi bakteri tersebut terhadap sejumlah antibiotik. Banyak ditemukan isolat *K. pneumoniae* yang memproduksi *extended-spectrum- β -lactamase* sehingga membuat bakteri menjadi resisten terhadap sejumlah antibiotik (Paterson *et al.*, 2004; Dalmolin *et al.*, 2017; Gorrie *et al.*, 2017). Dilaporkan pula bahwa *K. pneumoniae* termasuk dalam mikroorganisme pembentuk biofilm, yakni lapisan matriks ekstraseluler yang menghindarkan bakteri dari kondisi-kondisi tidak

menguntungkan, termasuk pengaruh antibiotik (Jamal *et al.*, 2018). *K. pneumoniae* yang membentuk biofilm lebih sulit dibasmi menggunakan terapi antibiotik dibandingkan dengan *K. pneumoniae* non-biofilm (Wu *et al.*, 2011; Nirwati *et al.*, 2019).

Diperlukan upaya alternatif dalam mengatasi permasalahan infeksi *K. pneumoniae*. Salah satu bahan alam yang kaya akan senyawa antibakteri patogen adalah kefir. Kefir adalah produk fermentasi mengandung bakteri asam laktat (BAL) sebagai mikroorganisme penghasil metabolit penting yang memiliki aktivitas antibakteri seperti: asam laktat, hidrogen peroksida, senyawa *diacetyl*, dan bakteriosin (Kasra-Kermanshahi and Mobarak-Qamsari, 2015; Shokri *et al.*, 2018). Penelitian sebelumnya telah berhasil mengidentifikasi *Lactobacillus helveticus* dalam kefir susu kambing mampu menghambat pembentukan biofilm *K. pneumoniae* (Raras *et al.*, 2019).

BAL telah dikenal sebagai probiotik *Generally Recognized as Safe* (GRAS) sehingga aman untuk dikonsumsi (García *et al.*, 2021). BAL membutuhkan prebiotik sebagai asupan untuk tumbuh dengan baik. Prebiotik menstimulasi metabolisme dan pertumbuhan bakteri probiotik (Markowiak and Ślizewska, 2017; Peng *et al.*, 2020). Umbi dahlia (*Dahlia sp. L*) adalah sumber inulin, prebiotik larut air namun tetap stabil hingga mencapai usus (Murwindra, 2019). Penelitian oleh (Kusmiyati, Wahyuningsih and Widodo, 2018) membuktikan bahwa ekstrak inulin dahlia mampu menstimulasi pertumbuhan *Lactobacillus casei* sekaligus menghambat pertumbuhan patogen *Shigella dysenteriae* dan *Helicobacter pylori*. Penambahan ekstrak inulin umbi dahlia dalam berbagai variasi konsentrasi diprediksi dapat meningkatkan efektivitas BAL dalam menghambat pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi ekstrak inulin umbi dahlia (*Dahlia sp. L*) terhadap karakteristik fisikokimia dan mikrobiologis produk kefir terfortifikasi, serta mengevaluasi kemampuannya dalam menghambat *K. pneumoniae*. Diharapkan dapat tercipta formula kefir terfortifikasi yang dapat digunakan sebagai sediaan nutrasetika bagi jamaah haji Indonesia.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah karakteristik fisikokimia formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.*?
2. Bagaimanakah karakteristik bakteri asam laktat dalam formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.*?
3. Bagaimanakah aktivitas antibakteri oleh bakteri asam laktat yang terkandung dalam formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.* terhadap *Klebsiella pneumoniae*?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui karakteristik fisikokimia formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.*
2. Mengetahui karakteristik bakteri asam laktat dalam formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.*
3. Mengetahui aktivitas antibakteri oleh bakteri asam laktat yang terkandung dalam formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.* terhadap *Klebsiella pneumoniae*.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan kajian informasi dan referensi dan juga sebagai sumber pustaka umum mengenai karakteristik fisikokimia dan mikrobiologis produk kefir terfortifikasi ekstrak umbi dahlia (*Dahlia sp. L*) dengan konsentrasi terbaik dan memenuhi syarat SNI.

2. Manfaat Praktis

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai produk alternatif untuk pengobatan dan pengembangan ekstrak umbi dahlia (*Dahlia pinnata*) yang akan dilakukan pada penelitian berikutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan *Dahlia sp. L*

Klasifikasi

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledone

Ordo : Liliales

Famili : Compositae/Asteraceae

Genus : *Dahlia*

Spesies : *Dahlia variabilis*, *Dahlia juarezii*, *Dahlia coccinea* dan *Dahlia pinnata*

(Dole Wilkins, Harold F., 2005)



Gambar 2.0.1. *Dahlia sp. L*

B. Kandungan dan Manfaat *Dahlia sp. L*

Dahlia (Dahlia sp. L) adalah salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman hias karena memiliki karakteristik berupa warna bunga yang menarik. Selain memiliki bunga yang indah, dahlia juga mempunyai umbi yang jarang dimanfaatkan khususnya dalam bidang pengobatan dan nutrisi (Murwindra,

2019). Bunga dahlia dilaporkan mengandung mineral, vitamin C, senyawa fenolik, antosianin, karotenoid dan senyawa-senyawa antioksidan lainnya (Lara-Cortés *et al.*, 2014). Batang dan daun dahlia kaya akan flavonoid seperti butein dan turunan flavonol (Ohno *et al.*, 2018). Selain itu, umbi dahlia merupakan sumber inulin yang baik sebab karakteristiknya yang mengandung fiber, baik yang larut maupun yang tidak larut dalam air (Kusmiyati, Wahyuningsih and Widodo, 2018).

C. Inulin

Inulin merupakan polisakarida tumbuh-tumbuhan yang merupakan rantai polimer $\beta(2\rightarrow1)$ *polyfructofuranosyl α -D-glucose* dan berfungsi sebagai simpanan energi pada sejumlah tanaman seperti dahlia, bawang merah, bawang putih, dan *chicory*. Khasiat inulin bagi kesehatan telah lama diketahui dan banyak digunakan untuk mengobati sejumlah penyakit seperti *hepatic lipogenesis*, atherosklerosis, dan diabetes mellitus. Selain itu, inulin dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi, imuno-regulator dan antikanker (Petroski, 2017). Sebuah studi yang dilakukan oleh (Kusmiyati, Wahyuningsih and Widodo, 2018), menunjukkan karakteristik inulin dari umbi dahlia sebagai prebiotik yang baik, karena mampu menghambat pertumbuhan *Lactobacillus casei* AP dan menstimulasi kemampuan bakteri tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen usus *Shigella dysenteriae* dan *Helicobacter pylori* secara *in vitro*. Karakteristik inulin sebagai prebiotik banyak dimanfaatkan sebagai suatu bahan tambahan pangan khususnya pada produk turunan susu (*dairy product*). Beberapa produk dengan kandungan inulin diantaranya adalah coklat, makanan ringan, sereal, dan susu fermentasi (Kuntz, Fiates and Teixeira, 2013).

D. Kefir

Kefir adalah hasil fermentasi susu dengan bantuan *starter culture* yang disebut dengan *grain*/bibit. *Grain* kefir itu sendiri mengandung beberapa macam bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus kefir*, *Leuconostoc* sp., *Lactococcus*, *Acetobacter*, serta mengandung khamir seperti *Kluyveromyces marxianus*, *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* dan *Saccharomyces exiguous* (Pothuraju *et al.*, 2017). *Grain* kefir bersifat tidak larut dalam air dan mengendap di

dasar produk kefir. Komposisi *grain* kefir terdiri dari air (89-90%b/b), lipid (0,2%b/b), protein (3,0%b/b), gula (6,0%b/b), dan abu (0,7%b/b) (Plessas *et al.*, 2017).

Terdapat banyak variasi media pertumbuhan *grain* kefir, diantaranya adalah: susu sapi, kambing, domba, santan kelapa, sari beras, kedelai, dan lain-lain, namun yang paling umum digunakan adalah produk susu sapi dan susu kambing (Ot'es and Cagindi, 2003). Media yang sesuai akan memudahkan pertumbuhan mikroorganisme dalam *grain* kefir, sehingga mampu menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif seperti asam laktat, asam asetat, CO₂, alkohol, dan beberapa senyawa aromatik lainnya (Machado *et al.*, 2013).

Kefir dapat dibuat dengan dua cara, yakni tradisional dan industrial. Secara tradisional, kefir dibuat dengan langsung mencampurkan sebanyak 5% *grain* ke dalam susu yang telah dipasteurisasi dan didinginkan hingga kembali mencapai suhu 20-25°C. Campuran susu dan *grain* kemudian diinkubasi dalam suhu ruang selama 18-24 jam. Proses pembuatan kefir secara industri dilakukan dengan proses homogenisasi susu terlebih dahulu sebelum proses pasteurisasi pada 90-95°C selama 5-10 menit. Susu didinginkan hingga mencapai suhu 18-24°C, kemudian ditambahkan 2-8% *grain* kefir dan dilanjutkan dengan proses inkubasi. Kefir yang telah berhasil diproduksi, baik secara tradisional maupun industrial, kemudian dipisahkan dari *grain* dan disimpan dalam suhu 4°C (Ot'es and Cagindi, 2003).

E. Bakteri Asam Laktat (BAL)

BAL adalah kelompok bakteri yang bertanggungjawab dalam konversi laktosa susu menjadi asam laktat. Konversi tersebut ditandai dengan adanya penurunan pH media dan peningkatan keasaman produk kefir (Machado *et al.*, 2013). Berdasarkan taksonominya BAL termasuk ke dalam golongan bakteri Gram-positif yang mampu memfermentasi karbohidrat, katalase negatif, mikro-aero- dan asido-toleran. Selain itu, BAL bersifat *non-motil*, tidak memproduksi endospora, berbentuk batang atau terkadang juga berbentuk *coccus*, serta bersifat anaerob fakultatif (Ekundayo, 2014). Terdapat sekitar 20 genus BAL yang banyak dimanfaatkan dalam industri pangan, yakni: *Lactobacillus*, *Carnobacterium*,

Enterococcus, *Lactococcus*, *Oenococcus*, *Aerococcus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Leuconostoc* dan *Weissella* (Liu *et al.*, 2014).

BAL dilaporkan memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri patogen seperti: *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*-ESBL, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescense*, dan *Acinetobacter baumannii* (Wimmerstedt and Kahlmeter, 2008). BAL menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui mekanisme (1) Produksi asam laktat dan penurunan pH lingkungan, (2) produksi bakteriosin dan senyawa-senyawa antimikrobal lainnya, (3) membentuk lapisan biofilm yang menghambat kolonisasi bakteri patogen (Kasra-Kermanshahi and Mobarak-Qamsari, 2015). Selain bersifat antimikroba, senyawa yang dihasilkan oleh BAL pada kefir memiliki kemampuan antibiofilm terhadap bakteri patogen. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa *Lactobacillus helveticus* yang diisolasi dari kefir susu kambing mampu menghambat pembentukan biofilm *Klebsiella pneumoniae* (Raras *et al.*, 2019).

F. Ultrasonic-and Microwave Assisted Extraction (UMAE)

Metode ekstraksi senyawa bioaktif dalam tanaman secara konvensional, seperti maserasi dan efluks, relatif membutuhkan waktu pengerjaan yang cukup lama dengan hasil yang belum tentu sesuai dengan yang diharapkan. Oleh karena itu, diperkenalkan metode ekstraksi alternatif dengan memanfaatkan energi gelombang mikro maupun ultrasonik untuk menghindari kerusakan senyawa serta memperoleh rendemen dengan jumlah yang relatif lebih besar. Ekstraksi dengan gelombang mikro maupun ultrasonik terbukti lebih ramah lingkungan karena residu yang tidak beracun serta limbah yang dihasilkan mudah didegradasi (Sasongko *et al.*, 2018). Di antara metode ekstraksi dengan gelombang radiasi tersebut salah satunya adalah metode *Ultrasonic-and Microwave Assisted Extraction* (UMAE). UMAE adalah metode kombinasi antara *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dengan *Microwave Assisted Extraction* (MAE). UAE bekerja dengan pemancaran gelombang ultrasonik (>20000 Hz) dari reaktor yang digunakan untuk memecah dinding sel tanaman, sedangkan MAE menggunakan gelombang elektromagnetik

pada kisaran panjang gelombang mikro (2500 MHz) (Suhendar *et al.*, 2020). Keunggulan UMAE adalah dengan adanya kedua jenis gelombang energi, yakni gelombang ultrasonik sekaligus gelombang elektromagnetik mikro. Gelombang mikro mampu memperpendek waktu ekstraksi dengan adanya energi panas yang dihasilkan sehingga terjadi transfer panas yang intensif pada sistem padat-cair dalam sampel sekaligus meningkatkan laju disolusi partikel padatan. Gelombang ultrasonik yang dipancarkan dapat membentuk gelembung kavitasi pada larutan yang akan pecah dan menghasilkan gelombang kejut di sekitar dinding sel disertai dengan pancaran cairan sehingga membuat dinding sel pecah (*cavity effect*) (Guan *et al.*, 2018).

G. Karakteristik Fisikokimia dan Bakteri Asam Laktat Kefir

Kefir menurut (Badan Standardisasi Nasional, 2018) termasuk ke dalam produk susu fermentasi, yakni produk yang diperoleh dari proses fermentasi susu segar dengan bakteri asam laktat dan mikroba lain yang sesuai. Oleh karena itu, terdapat syarat mutu kefir yang wajib dipenuhi meliputi karakteristiknya baik secara fisik, kandungan kimiawi, serta mikroorganisme yang terkandung. Karakteristik fisik kefir meliputi keadaan warna, bau, rasa, dan viskositas. Karakteristik kimiawi meliputi pH, kadar air, kadar protein, dan kadar asam organik (Gul *et al.*, 2015).

H. Total Plate Count (TPC)

Karakteristik mikroorganisme BAL dalam kefir diuji dengan metode *total plate count* (TPC). TPC adalah metode yang didesain untuk mengetahui jumlah mikroorganisme dalam sampel makanan. TPC dilakukan dengan cara menumbuhkan sampel pada media tumbuh spesifik yang sesuai bagi mikroorganisme yang akan dihitung (Beuchat *et al.*, 1998). Metode TPC untuk kuantifikasi jumlah BAL dalam kefir terbagi menjadi beberapa metode sesuai dengan media yang digunakan. Media *deMan Rogosa Sharpe* (MRS) untuk *Lactobacilli*, media M17 untuk *Latococci*, serta MRS+vankomisin untuk *Leuconostoc* (Gul *et al.*, 2015; Ortolani *et al.*, 2021).

I. Uji Aktivitas Antibakteri (*Kirby-Bauer Method*)

Metode *Kirby-Bauer* biasa disebut dengan metode cakram adalah salah satu metode yang dapat diaplikasikan untuk mengetahui aktivitas antibakteri sampel uji terhadap bakteri tertentu. Dalam metode ini digunakan cakram kertas (*paper disc*) untuk menampung sampel uji, kemudian diletakkan di atas media agar yang sebelumnya telah diinokulasi mikroorganisme uji. Cawan petri berisi media agar dan cakram kertas kemudian diinkubasi pada waktu dan kondisi tertentu sesuai dengan kondisi optimal pertumbuhan mikroorganisme uji. Hasil uji yang dapat diamati yakni berupa ada atau tidaknya zona hambat yang ditandai dengan daerah bening pada media pertumbuhan di sekitar cakram kertas. Munculnya zona hambat dengan radius tertentu menunjukkan adanya aktivitas antibakteri sampel uji (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012).

J. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) merupakan bakteri patogen yang termasuk dalam bakteri Gram negatif, berbentuk batang, bersifat *non-motil*, dan tidak menghasilkan endospora (Brabb *et al.*, 2012). *K. pneumoniae* termasuk dalam *family Enterobacteriaceae* dan secara alami terdapat di dalam saluran pencernaan manusia, namun dalam kondisi patologis tertentu dapat menyebabkan sejumlah penyakit infeksi serius seperti pneumonia, meningitis, infeksi pembuluh darah, infeksi saluran kemih, serta infeksi berbagai organ lainnya, seperti paru-paru dan ginjal (Li *et al.*, 2014b). *K. pneumoniae* dilaporkan menjadi penyebab utama sejumlah penyakit infeksi baik yang diperoleh pasien dari komunitas (*community acquired pneumonia/CAP*) tempat dia tinggal maupun yang didapat pasien ketika dirawat di rumah sakit (*nosocomial/hospital-acquired pneumoniae/HAP*) (Clegg and Murphy, 2016). Infeksi *K. pneumoniae* pada kasus CAP dapat mengakibatkan timbulnya abses liver spesifik dengan tanpa didahului oleh gejala hepatobilier, sehingga meningkatkan prevalensi serta mortalitas kasus ini di Asia (Paterson *et al.*, 2004; Melot, Colot and Guerrier, 2015).

Faktor virulensi *K. pneumoniae* antara lain adalah produksi kapsuler antigen, jejaring eksopolisakarida (EPS), lipopolisakarida, reseptor pengikat besi

(*siderophore*), dan pili (*fimbriae*) (Echeverri and Catano, 2010). Kapsul *K. pneumoniae* terbentuk dari senyawa polisakarida kompleks dengan 77 jenis serologi, mempunyai struktur fibriler yang tebal dan dapat menutupi seluruh permukaan bakteri. EPS *K. pneumoniae* berada pada lapisan terluar kapsul dan bersifat *mucoviscous*/lengket. Lapisan EPS melindungi koloni *K. pneumoniae* dari pengaruh destruktif dari sistem imun inang. Lipopolisakarida melindungi *K. pneumoniae* dari mekanisme respon imun dengan menghalangi pengenalan komplemen C1q dan C3b pada membran sel bakteri. *Fimbriae*/pili tipe 1 dan tipe 3 pada *K. pneumoniae* bertanggung jawab dalam proses perlekatan bakteri pada permukaan sel inang. Pili tipe 1 berfungsi untuk memediasi perlekatan bakteri terhadap berbagai jenis sel epitel, sedangkan pili tipe 3 membantu perlekatan *K. pneumoniae* pada permukaan abiotik (Li *et al.*, 2014b).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan termasuk ke dalam jenis penelitian eksperimental laboratorium. Adapun penelitian ini akan dibagi ke dalam beberapa tahap, yakni:

1. Ekstraksi inulin dari umbi dahlia (*Dahlia sp. L*) menggunakan instrumen *ultrasonic and microwave extracting apparatus*.
2. Formulasi kefir terfortifikasi dengan penambahan 5% ekstrak inulin umbi dahlia (*Dahlia sp. L*) menggunakan starter kefir komersial dan susu sapi murni.
3. Karakterisasi fisikokimia dan mikroba formula kefir terfortifikasi dengan penambahan 5% ekstrak inulin umbi dahlia (*Dahlia sp. L*), meliputi: organoleptis, viskositas, pH, kadar air, kadar protein, kadar asam organik, dan *total plate count* bakteri asam laktat.
4. Uji aktivitas antibakteri formula kefir terfortifikasi dengan penambahan 5% ekstrak inulin umbi dahlia (*Dahlia sp. L*) terhadap *Klebsiella pneumoniae* dengan metode *Kirby-Bauer*.

B. Lokasi dan Tempat Penelitian

Penelitian ini direncanakan akan dilakukan mulai bulan Januari 2022 sampai dengan bulan Juli 2022. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia Program Studi Sarjana Farmasi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Konsentrasi ekstrak inulin umbi dahlia (*Dahlia sp. L*) sebesar 5%.

2. Variabel Tergantung

Karakteristik fisik kefir terfortifikasi meliputi warna, bau, rasa, dan

viskositas; karakteristik kimia kefir terfortifikasi meliputi pH, kadar air, kadar protein, kadar asam organik; dan karakteristik mikroba kefir terfortifikasi meliputi *total plate count* bakteri asam laktat; diameter zona hambat masing-masing kefir dengan konsentrasi ekstrak inulin umbi dahlia (*Dahlia sp. L.*).

3. Variabel Kontrol

Simplisia umbi dahlia (*Dahlia sp. L.*), starter kefir, *power* dan frekuensi gelombang mikro dan ultrasonik instrumen UMAE, media pertumbuhan *de-Mann Rogosa Sharpe* (MRS), media *Mueller-Hinton Agar* (MHA).

D. Instrumen, Alat dan Bahan

Instrumen Proses Ekstraksi dan Formulasi

1. *Ultrasonic and microwave extracting apparatus* CW-2000®, Shanghai Xintuo Microwave Instrument Co.Ltd., China
2. *Rotary evaporator* RV3 IKA®, Indonesia
3. Peralatan gelas seperti labu alas bulat, gelas ukur, *beaker glass*, dan pipet

Instrumen Karakterisasi Fisikokimia dan Mikroba

1. *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) Shimadzu®, Shim-Pack *column* (150×4,6 mm, 4 µm; Jepang)
2. pH meter
3. Peralatan gelas seperti tabung erlenmeyer, *beaker glass*, gelas ukur, piknometer+pipa *Ostwald*, cawan porselen dan pipet

Instrumen Uji Aktivitas Antibakteri

1. *Biological Safety Cabinet* BSC-1300IIA2-X Biobase®, India
2. *Equitron® Autoclave Verticla Sledd*, India
3. Inkubator CO₂ IN55 Memmert®, Germany
4. Peralatan gelas seperti cawan petri, tabung erlenmeyer, tabung reaksi, *magnetic stirrer*, ose, dan batang pengaduk

Bahan

Simplisia umbi dahlia, aquadestilata, starter kefir (Yogourmet®), susu sapi murni, pereaksi Sevag, H₂SO_{4(p)}, NaOH, H₃BO₃, HCl 0,1N, standar HPLC (asam laktat, asetat, sitrat, dan butirrat), media MRSA, media M17A, *yeast extract*,

glukosa, vankomisin, kloramfenikol.

E. Prosedur Ekstraksi Inulin

Simplisia kering umbi dahlia yang telah disortasi sebanyak 5g dimasukkan ke dalam 75ml aquadestilata pada tabung erlenmeyer 250ml dan diaduk. Tabung erlenmeyer diletakkan dalam UMAE *apparatus* dengan pengaturan gelombang mikro 2450 MHz; 800 W dan *ultrasonic transducer* sebesar 40 kHz; 50 W. Ekstrak disaring dengan kertas Whatman No.1 kemudian dipekatkan hingga 30ml dengan *rotary evaporator* pada suhu 60°C. Protein pada sampel ditapisakan menggunakan pereaksi Sevag.

F. Prosedur Formulasi Kefir Terfortifikasi

Sebanyak 500 ml susu sapi murni dipanaskan hingga 90-95°C selama 5-10 menit kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 20-25°C. Ke dalam susu ditambahkan starter kefir 5% (b/v) dan sejumlah konsentrasi ekstrak inulin, diaduk hingga homogen. Campuran diinkubasi dalam suhu ruang selama 18-24 jam, setelah itu disimpan dalam suhu -18°C.

G. Prosedur Uji Karakteristik

1. Uji Organoleptis

Sampel kefir terfortifikasi dengan berbagai konsentrasi ekstrak inulin umbi dahlia diberi kode secara acak dan diujikan kepada 25 orang panelis yang tak-terlatih. Kondisi aroma, tekstur, warna, dan rasa diukur berdasarkan kesukaan menggunakan skala numerik 1 (sangat tidak suka) hingga 5 (sangat suka).

2. Uji Fisikokimia (Prastiwi, Bintoro and Rizqiati, 2018)

- a. Viskositas. Ditimbang bobot piknometer kosong dan piknometer+ sampel kefir sebanyak 10 ml. Sebanyak 10ml air dimasukkan ke dalam pipa *Ostwald* hingga batas indikator atas, dicatat waktu turun air hingga batas bawah menggunakan *stopwatch*. Dilakukan hal yang sama dengan masing-masing sampel kefir terfortifikasi. Rumus viskositas:

$$\text{Viskositas} = \frac{\rho_{\text{sampel}} \times t_{\text{sampel}} \times \eta_{\text{air}}}{\rho_{\text{air}} \times t_{\text{air}}}; \rho_{\text{sampel}} = \frac{m_1 - m_0}{v}$$

Keterangan:

m_0 = massa piknometer kosong (g)

m_1 = massa piknometer kosong + sampel (g)

v = volume piknometer (ml)

η_{air} = viskositas air

ρ = massa jenis (g/ml); ($\rho_{air} = 1$)

t = waktu(s)

- b. pH. Sebanyak 15ml sampel dituang ke dalam *beaker glass*, dicelupkan elektroda hingga diperoleh nilai pH sampel.
- c. Kadar air. Sebanyak 5g sampel diletakkan di atas cawan porselen dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 100-105°C selama 6 jam. Sampel diletakkan dalam desikator kemudian ditimbang bobot sebelum dan sesudah proses pengeringan.
- d. Kadar protein. Sebanyak 1gram sampel ditimbang dan dipindah ke dalam labu alas bulat 500ml. Ditambahkan 0,2g selenium dalam 15ml H₂SO₄ 98%. Larutan dipanaskan hingga jernih, saat dingin ditambahkan 100ml NaOH 30% hingga basa kemudian dilakukan destilasi. Destilat ditampung dalam erlenmeyer berisi H₃BO₃ 3% dan indikator Tashiro hingga larutan berubah menjadi hijau. Dilakukan titrasi dengan HCl 0,1N hingga larutan berubah ungu. Sebagai blanko adalah H₃BO₃ tanpa sampel.
- e. Kadar asam organik. Sebanyak 5ml sampel ditambahkan ke dalam 25 ml H₂SO₄ 0,01 N, divortex selama 1 menit dan disentrifugasi pada 7000×g selama 7 menit. Supernatan disaring dan diinjeksikan pada HPLC dengan suhu kolom (150×4,6mm; 4μ) 65°C, *flow rate* 0,7 ml/min dengan fase gerak H₂SO₄ 10Mm. Kuantifikasi berdasarkan kurva standar asam organik (asam laktat, asetat, sitrat, dan butirrat) dengan *range* konsentrasi 10–500ml/L.

3. Uji Kandungan Mikroba

Sebanyak 10 ml sampel kefir diencerkan sebanyak 4 kali dengan aquadestilata steril, kemudian diinokulasi pada sejumlah media: MRSA suhu 30°C, 5 hari; M17A suhu 30°C, 3 hari; MRSA+vankomisin, 30°C, 3 hari; dan *yeast extract-glucose*+kloramfenikol agar 25°C, 3 hari.

4. Uji Aktivitas Antimikroba

Sebanyak 7,2gram media MHA (*Muller Hinton Agar*) dilarutkan dalam 250 mL aquades, dihomogenkan dengan pemanasan. MHA dituang ke dalam cawan

petri hingga padat. Sebanyak 10 μL biakan *K. pneumoniae* disebar di permukaan media dan diletakkan cakram kertas berisi sampel dan kontrol. Cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat yang muncul diukur dan dicatat.

H. Analisis Data

Pengolahan data penelitian sifat fisikokimia dan mikrobiologis kefir susu sapi terfortifikasi ekstrak inulin umbi dahlia (*Dahlia pinnata Cav*) dilakukan dengan metode uji korelasi *Pearson Product Moment* dan uji univariat, serta uji lanjutan *Post Hoc*. Persyaratan yang harus terpenuhi saat menggunakan uji korelasi *Pearson Product Moment* yaitu melakukan uji normalitas (data berdistribusi normal) dan uji keseragaman (variasi sama), serta melakukan uji linearitas.

Langkah pertama yaitu melakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Uji *Shapiro-Wilk* ini merupakan salah satu uji untuk mengetahui nilai distribusi sampel yang diamati dengan jumlah sampel <30 sampel. Distribusi data sampel dikatakan normal jika nilai signifikansi yang muncul lebih dari 0,05 dan dikatakan tidak normal apabila nilai signifikansi menunjukkan kurang dari 0,05 (Usmadi, 2020). Selanjutnya dilakukan uji keseragaman dengan metode uji *Bartlett*. Uji *Bartlett* merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menguji sampel dengan jumlah lebih dari 2 sampel. Kriteria pengujian diterima apabila nilai signifikansi yang ditunjukkan lebih dari 0,05. Hal ini mengindikasikan bahwa sampel berasal dari populasi yang sama, sebaliknya jika nilai signifikansi kurang dari 0,05 artinya sampel tidak berasal dari populasi yang sama (Hari P, 2017)

Langkah ketiga yaitu uji korelasi *pearson product moment*. Uji korelasi *pearson product moment* dilaksanakan untuk mengukur pengaruh konsentrasi terhadap karakteristik kefir susu sapi terfortifikasi ekstrak umbi dahlia (*Dahlia Pinnata Cav*). Uji korelasi *pearson product moment* merupakan uji korelasi sederhana yang menyertakan satu variabel terikat dengan satu variabel bebas yang menghasilkan koefisien korelasi dengan simbol “p” apabila diukur dalam populasi, “r” jika diukur dalam sampel. Koefisien korelasi dimaksudkan untuk mengukur hubungan linier antara dua variabel yang ditentukan berdasarkan nilainya yaitu apabila koefisien korelasi berada pada rentang $-1 < 0 < 1$ artinya nilai $r = -1$ korelasi

negatif sempurna (taraf signifikansi hubungan kedua variabel bersifat lemah), dan $r=1$ korelasi positif sempurna (taraf signifikansi hubungan kedua variabel bersifat kuat) (Sudjana, 2005). Berdasarkan pedoman dalam interpretasi terhadap koefisien korelasi menurut Sugiyono (2021) dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Pedoman interpretasi koefisien korelasi

Interval Koefisien	Tingkat Hubungan
0,00 – 0,199	Sangat rendah
0,20 – 0,399	Rendah
0,40 – 0,599	Sedang
0,60 – 0,799	Kuat
0,80 – 1,000	Sangat kuat

Syarat atau asumsi dalam uji korelasi pearson product moment diantaranya yaitu : 1). Terdapat hubungan linier antar variabel, 2). Data yang berdistribusi normal, 3). Kedua variabel memiliki varian sama, apabila data tidak terdistribusi dengan normal dan tidak memiliki varian yang sama maka menggunakan uji korelasi *Rank Spearman* (Widyantara, Dewi and Ariana, 2017). Uji korelasi *Rank Spearman* merupakan uji untuk skala data yang ordinal, berjenjang, dan bebas distribusi (Creswell J, 2015). Kriteria pengujian diterima apabila nilai signifikansi ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa antar variabel memiliki korelasi, pengujian ditolak apabila nilai signifikansi ($p > 0,05$) menunjukkan bahwa antar variabel tidak memiliki korelasi.

BAB IV
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tumbuhan

Umbi dahlia yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Bandung, Jawa Barat. Sebelum dilakukan proses ekstraksi, umbi dahlia diidentifikasi terlebih dahulu di UPT Matera Media, Kota Batu, Jawa Timur. Proses identifikasi dilakukan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan telah benar berdasarkan taksonomi yang diakui. Adapun hasil determinasi umbi dahlia yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 4.1.

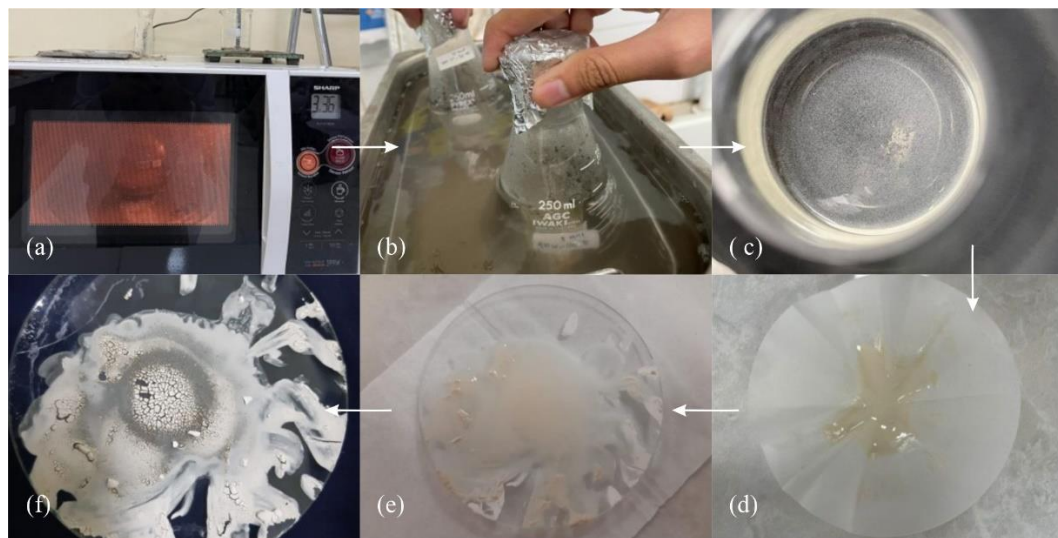
Tabel 4.1. Hasil determinasi umbi dahlia

Kingdom Divisi Kelas Bangsa Suku Marga Jenis Nama umum Kunci determinasi	Plantae Magnoliophyta Magnoliopsida Asterales Asteraceae Dahlia <i>Dahlia pinnata</i> Cav. Dahlia 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23a: Asteraceae-1b-3b-33b-41a-42a-43a-44b-45b-46b-47b-48b-49b-54a-66: Dahlia
Morfologi	Habitus: Herba abadi, rimpang dan akar berbonggol, dapat mencapai tinggi 70-120cm. Batang: Tegak, bercabang hanya di perbungaan. Daun: Sederhana, bulat telur, panjang 5-10cm, sedikit berambut. Bunga: Terdiri dari 2-8 kepala bunga, diameter 6-10cm pada batang, panjang 5-5cm, berbetuk bulat telur, warna merah muda hingga ungu tua, dapat tumbuh dalam berbagai warna dan bentuk
Bagian yang digunakan	Umbi

B. Proses Pembuatan Formula Kefir Terfortifikasi

1. Ultrasonic and Microwave Assited Extraction (UMAE)

Inulin umbi dahlia (*Dahlia sp. L*) diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan metode *Ultrasonic-and Microwave Assited Extraction* (UMAE). Metode tersebut dilaksanakan dengan melakukan *Microwave Assited Extraction* (MAE) terhadap simplisia umbi dahlia terlebih dahulu, kemudian segera dilanjutkan dengan prosedur *Ultrasonic Assited Extraction* (UAE) hingga diperoleh ekstrak inulin kering.



Gambar 4.0.1. Proses ekstraksi inulin umbi dahlia.

Keterangan: (a) Prosedur MAE; (b) Prosedur UAE; (c) Inulin basah; (d) Filtrat inulin basah; (e) Hasil pencucian inulin basah sebelum proses pengeringan; (f) Inulin kering

Sebanyak 2kg umbi dahlia kering disortasi kemudian dibuat simplisianya. Didapatkan sejumlah 330g simplisia kering umbi dahlia untuk kemudian dilakukan proses ekstraksi MAE. Sebanyak 7g simplisia dilarutkan dalam akuades dengan perbandingan (1:10) hingga homogen, kemudian diletakkan dalam *microwave* (Output 700W; Frekuensi 2450MHz) selama 5 menit. Campuran hasil ekstraksi pertama selanjutnya diletakkan dalam bejana UAE, dan *running* (Frekuensi 45kHz; Power 30W; Temperatur 45°C) selama 20 menit. Ditambahkan larutan aseton (4:1) ke dalam campuran yang didapatkan dari prosedur UMAE, kemudian didiamkan selama 60 menit dalam *freezer* -18°C. Setelah didiamkan dalam suhu ruang, saring

dan cuci endapan putih dalam larutan/ inulin basah (Gambar 4.1.c) menggunakan larutan etanol 95%. Ekstrak inulin kering umbi dahlia diperoleh setelah proses pengeringan menggunakan oven 50-60°C selama 10 jam (Gambar 4.1.f).

Ekstrak yang diperoleh kemudian ditambahkan ke dalam proses pembuatan kefir susu sapi dengan konsentrasi 5%. Sebanyak 58gram ekstrak inulin kering diperoleh dari 330gram serbuk simplisia umbi dahlia.

2. Analisis Ekstrak Inulin dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)

Dilakukan analisis kualitatif untuk memastikan bahwa endapan putih hasil ekstraksi pada tahapan sebelumnya adalah inulin. Analisis menggunakan HPLC dengan fase diam yakni silika gel dan fase gerak aquades, Detektor yang digunakan adalah UV pada panjang gelombang 210 nm dengan kecepatan alir 1 ml/menit, waktu retensi 5 menit, sampel yang digunakan yaitu sampel inulin umbi dahlia (*Dahlia sp. L*) dan standar yang digunakan yaitu inulin akar *chicory*. Sebanyak 20 µL larutan inulin standar serta masing-masing sampel dengan 3 replikasi diinjeksikan ke kolom. Setelah dilakukan analisis menggunakan HPLC, terdapat puncak pada kromatogram pada elusi inulin *chicory* yakni pada $t_r = 2,483$ menit. Profil puncak serta waktu retensi sampel inulin disajikan pada Tabel 4.2.

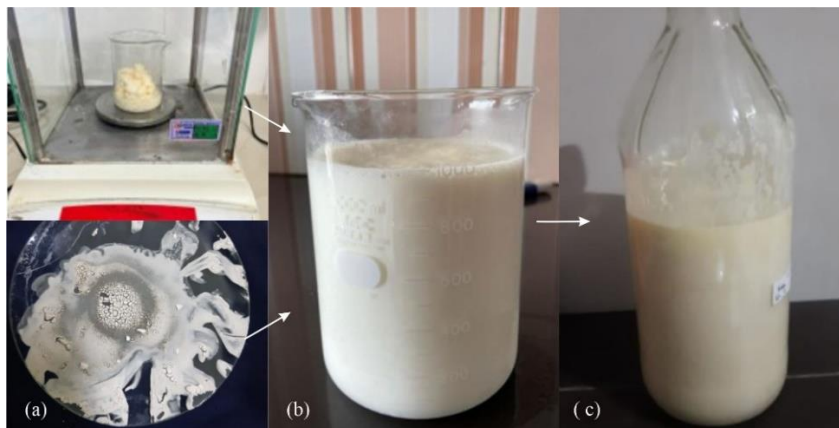
Tabel 3.2. Waktu retensi hasil HPLC ekstrak inulin *Dahlia sp. L* terhadap standar

Sampel Injeksi	t_r
Inulin <i>chicory</i> (standar)	2,483 menit
Replikasi sampel 1	2,493 menit
Replikasi sampel 2	2,483 menit
Replikasi sampel 3	2,487 menit

Berdasarkan profil puncak dan waktu retensi pada kromatogram HPLC yang identik, dapat disimpulkan bahwa endapan putih yang diperoleh dari hasil ekstraksi simplisia umbi dahlia merupakan inulin.

3. Pembuatan Kefir Terfortifikasi

Formula yang digunakan dalam pembuatan kefir terfortifikasi dalam penelitian ini adalah dengan penambahan 0% (F0/kontrol) dan 5% (F5) ekstrak inulin umbi dahlia. Pemilihan konsentrasi 5% berdasarkan pada penelitian terdahulu yang telah dilakukan oleh Kusmiyati, et al. (2018) dan Petkova et al. (2018).



Gambar 4.0.2. Proses formulasi kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi dahlia. Keterangan: (a) Penambahan starter kefir dan ekstrak inulin ke dalam (b) susu sapi hasil pasteurisasi; (c) Kefir terfortifikasi hasil inkubasi b selama 12 jam suhu ruang.

Sebanyak 900ml susu sapi dipanaskan hingga suhu 90-95°C, lalu dinginkan hingga suhu ruang. Ke dalam susu, ditambahkan sebanyak 5gram starter kefir serta 50gram ekstrak inulin (F5) dan diaduk hingga homogen. Campuran susu, starter dan ekstrak inulin umbi dahlia diinkubasi selama 12 jam pada suhu ruang dengan kondisi tertutup steril dan terhindar dari cahaya. Setelah 12 jam, kefir terfortifikasi dipindahkan dalam botol dan disimpan dalam *freezer* -18°C (Gambar 4.2).

C. Karakterisasi Fisikokimia Formula Kefir Terfortifikasi

1. Uji Organoleptik

Evaluasi karakteristik fisikokimia formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin 5% umbi dahlia dilakukan dengan uji organoleptis, viskositas, pH, dan kadar asam organik. Uji organoleptis dilakukan kepada 25 orang panelis. Pengujian organoleptis dilakukan terhadap sampel formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin 0% (kontrol) dan 5% untuk mengetahui tingkat kesukaan terhadap aroma, rasa, dan tekstur kefir. Uji organoleptis dianalisis dengan metode Hedonik menggunakan *software* SPSS 26. Setiap panelis menuliskan tingkat kesukaan terhadap ketiga parameter yakni aroma, rasa, dan tekstur berdasarkan skala 1-4, yakni dari 'sangat tidak suka' hingga 'sangat suka' (Aulia, Rizqianti and Nurwantoro, 2019). Hasil uji organoleptis formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin 6% umbi dahlia dibandingkan dengan kontrol (inulin 0%) disajikan dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Hasil statistik uji organoleptis formula kefir terfortifikasi umbi dahlia menggunakan metode Hedonik

Parameter	Rata-rata±SD		Sig
	Kontrol	Sampel	
Aroma	2,88±14,64	3,16±13,36	0,110
Rasa	2,40±10,00	1,72±11,04	0,000*
Tekstur	2,32±13,44	2,28±23,04	0,746

Keterangan: Kontrol (inulin 0%), sampel (inulin 6%); *signifikansi $P < 0,05$

Aroma memiliki peranan penting dalam menentukan kualitas suatu bahan pangan. Aroma bersifat obyektif dan sulit diukur karena kesukaan dan sensitifitas masing-masing panelis berbeda-beda. Kefir memiliki aroma alkohol yang memiliki kesamaan bau dengan tape yang disebabkan karena kefir mengandung khamir. Data analisis univariat menunjukkan nilai signifikansi $0,110 > 0,05$ yang artinya bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari segi aroma antara formula kefir terfortifikasi dengan control yang non-fortifikasi. Nilai rata-rata menunjukkan panelis lebih menyukai aroma formula kefir terfortifikasi umbi dahlia. Aroma kefir terfortifikasi umbi dahlia cukup kuat dibandingkan produk kefir biasa. Hal tersebut disebabkan oleh aktivitas khamir yang menghasilkan aroma alkohol serta akumulasi dengan total asam yang terdapat pada kefir (Kinteki, Rizqiati and Hintono, 2018).

Rasa merupakan salah satu faktor sensori yang sangat penting dalam penerimaan produk makanan. Rasa merupakan tanggapan dari rangsangan indra pengecap seperti rasa manis, asin, pahit, dan asam. Hasil analisis univariat menunjukkan nilai signifikansi yaitu $0,00 < 0,05$ yang artinya adalah terdapat perbedaan signifikan dalam segi rasa antara produk kefir terfortifikasi umbi dahlia dan non-terfortifikasi. Menurut panelis, rasa kefir terfortifikasi kurang disukai sebab rasa asam yang berlebihan. Rasa yang sangat asam tersebut disebabkan oleh kandungan asam laktat yang semakin banyak seiring dengan peningkatan jumlah bakteri asam laktat yang terkandung. Selain itu, rasa juga dipengaruhi oleh suhu, konsentrasi, dan interaksi dengan komponen lainnya (Kinteki, Rizqiati and Hintono, 2018).

Tekstur merupakan karakteristik suatu produk yang diakibatkan dengan adanya perpaduan dari berbagai sifat fisik seperti bentuk, ukuran, jumlah dan

unsur-unsur pembentukan bahan yang dapat dirasakan oleh indera peraba dan penglihatan. Tekstur yang diinginkan pada kefir susu sapi yaitu halus dan kental (Midayanto and Yuwono, 2014). Terjadinya perubahan tekstur disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya yaitu bahan-bahan yang terkandung pada kefir, proses pengolahan, serta penyimpanan. Berdasarkan hasil uji analisis univariat didapatkan nilai signifikansi $0,746 > 0,05$, artinya ialah tidak terdapat perbedaan signifikan antara tekstur produk kefir terfortifikasi inulin umbi dahlia dengan non-fortifikasi.

2. Pengukuran Viskositas, pH, dan Kadar Asam Organik

Uji viskositas dilakukan dengan metode dan alat viscosimeter Brookfield. Hal ini dilakukan sebab sediaan formula kefir memiliki konsistensi yang kental, sehingga tergolong sebagai cairan non-Newton. Adapun hasil uji viskositas, pH, dan kadar asam organik terhadap sampel formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin 0% (kontrol) dan 6% disajikan dalam Tabel 4.4.

Tabel 4.4. Uji viskositas, pH, dan kadar asam organik

Parameter	Kontrol	Sampel
Viskositas	13,32 cP	21,64 cP
pH	4,42	4,22
Kadar asam organik	2,02	2,94

Keterangan: Kontrol (inulin 0%), sampel (inulin 6%)

Berdasarkan Tabel 4.4 terlihat bahwa nilai rata-rata viskositas memenuhi standar viskositas yang baik pada kefir meskipun nilai rata-rata yang dihasilkan mengalami fluktuasi. Terjadinya peningkatan viskositas ini dikarenakan adanya lemak dan protein yang saling berinteraksi sehingga membentuk *whey* protein dan kasein misel sehingga menyebabkan terjadinya kekentalan pada kefir. Sebaliknya, pada saat pH kefir rendah melampaui titik isoelektrik protein kasein yaitu 4,6 dapat menyebabkan penggumpalan kasein yang terbentuk menjadi lemah dan cenderung mudah larut dalam air sehingga akan menurunkan kekentalan kefir (Purbasari, Pramono and Abduh, 2014). Tingkat viskositas kefir juga dipengaruhi oleh diantaranya yaitu perubahan suhu, semakin tinggi temperatur penyimpanan semakin menurun tingkat viskositasnya; lama masa penyimpanan, semakin lama

penyimpanan semakin menurun viskositas kefir, hal ini terjadi dikarenakan terjadinya peningkatan lemak pada susu, gumpalan lemak ini akan memisah sehingga berkurangnya resistensi aliran kefir dan dapat mengurangi kekentalan susu tersebut; total bahan padat yang terkandung pada kefir; (Rohmah and Estiasih, 2018). Selain itu, viskositas kefir juga dipengaruhi oleh pertumbuhan starter yang digunakan, jika pada starter kefir mengandung bakteri yang bersifat eksopolisakarida dengan berat molekul yang besar maka akan menghasilkan viskositas yang tinggi (Setyawardani *et al.*, 2020).

Pengujian pH pada penelitian ini menggunakan alat pH meter yang bertujuan untuk mengetahui tingkat keasaman kefir, serta untuk menentukan kualitas kefir karena mempengaruhi tekstur dan rasa kefir. Menurut Pamericar dkk. (2018) pH kefir normal untuk perkembangan bakteri dan khamir yaitu 4,6. Sedangkan menurut Martharini dan Indratiningsih (2017), pH kefir umumnya yaitu antara 4,2 sampai 4,6. Berdasarkan hasil pengukuran pH pada Tabel 4.4, diketahui bahwa pH yang diperoleh pada masing-masing konsentrasi telah memenuhi persyaratan pH kefir yaitu 4,2-4,6. Nilai pH dapat dipengaruhi oleh faktor aktivitas bakteri asam laktat yang dapat merubah karbohidrat susu yaitu laktosa menjadi asam laktat sehingga nilai pH mengalami penurunan. Selain itu lama penyimpanan dan suhu penyimpanan juga dapat mempengaruhi nilai pH (Rohmah and Estiasih, 2018).

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran kadar asam organik yang bertujuan untuk mengetahui perubahan tingkat keasaman pada kefir setelah dilakukan fermentasi. Asam laktat pada kefir dapat merangsang gerakan peristaltik di lambung serta asam laktat dapat mengurangi pertumbuhan bakteri pathogen dan menekan produksi senyawa berbahaya yang diproduksi oleh bakteri pathogen. Menurut (Setyawardani *et al.*, 2020). Kadar asam laktat dipengaruhi oleh aktivitas bakteri yang terdapat pada biji kefir, pada saat proses fermentasi berlangsung bakteri asam laktat pada biji kefir akan mengubah laktosa menjadi asam laktat, jumlah asam laktat tersebut menunjukkan nilai total asam tertitrasi pada kefir, nilai total asam tertitrasi semakin tinggi apabila waktu fermentasi semakin lama. Selain itu, faktor lain yang dapat mempengaruhi nilai total asam laktat pada kefir diantaranya yaitu jenis susu yang digunakan, temperatur penyimpanan, jenis starter

dan komposisi starter yang digunakan. Berdasarkan SNI 01-2891-2009 nilai kisaran total asam pada fermentasi susu seperti kefir yaitu 0,5%-2,0%. Dari hasil pengukuran, kadar asam organik formula kefir terfortifikasi inulin umbi dahlia sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan standar.

D. Karakteristik Mikrobiologi Formula Kefir Terfortifikasi

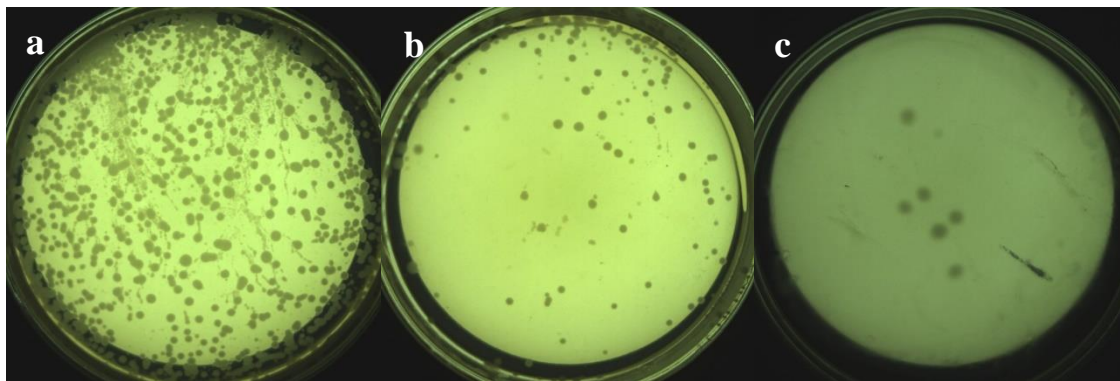
Metode *total plate count* (TPC) dilakukan untuk menghitung jumlah bakteri asam laktat (BAL) yang terkandung dalam sampel formula kefir terfortifikasi umbi dahlia.

BAL diinokulasi pada beberapa media yaitu MRS agar, MRS-vankomisin agar, M-17 agar, yeast-glucose-chloramphenicol (YGC) agar. Dilakukan inokulasi pada media tersebut untuk mengetahui BAL yang terkandung dalam kefir susu sapi terfortifikasi dengan penambahan variasi konsentrasi ekstrak umbi dahlia. Menurut (Daniela *et al.*, 2011), BAL yang tumbuh pada media MRS dan MRS-V agar yaitu BAL spesies *Lactobacilli*, pada media M-17 yaitu spesies *Streptococci*, dan pada media YGC yaitu spesies khamir seperti *S.cerevisiae*. Menurut (Witthuhn, Cilliers and Britz, 2005), populasi bakteri pada kefir yaitu $6,4 \times 10^4$ sampai $8,5 \times 10^8$ CFU/ml dan khamir $1,5 \times 10^5$ sampai $3,7 \times 10^8$ CFU/ml.

Tabel 4.5. Kandungan mikroba berdasarkan media pertumbuhan

Media	Kontrol	Sampel
MRSA	52×10^4	34×10^4
MRS-V	24×10^4	29×10^4
M17	$1,55 \times 10^4$	2×10^4
YGC	20×10^4	$44,5 \times 10^4$

Dari hasil kultur dan inkubasi sampel, dipilih cawan dengan pengenceran 10^{-3} dengan pertimbangan koloni yang tumbuh terpisah dengan baik. Cawan petri berisi pengenceran sampel sebesar 10^{-4} diletakkan pada instrumen *colony counter* dan diperoleh visualisasi sebagaimana Gambar 4.3. Dari pengamatan, diperoleh jumlah sebanyak 6 koloni, setara dengan $1,95 \times 10^5$ CFU/ml.



Gambar 4.0.3. Visualisasi *colony counter* pada sampel formula kefir terfortifikasi umbi dahlia dengan pengenceran: (a) 10^{-2} , 624 koloni; (b) 10^{-3} , 99 koloni; dan (c) 10^{-4} , 6 koloni.

E. Aktivitas Antibakteri Bakteri Asam Laktat (BAL) terhadap *K. pneumoniae*

1. Pembuatan *Stock Culture K. pneumoniae*

Bakteri *K. pneumoniae* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Agar dapat digunakan dalam uji, dilakukan pembuatan *stock culture K. pneumoniae*. Satu ose biakan *K. pneumoniae* dalam media Luria-Bertani (LB) Agar diinokulasikan dalam media kaldu LB steril dan diinkubasi dalam *shaker incubator* 37°C selama 14jam (*overnight*). Inokulan yang tumbuh ditandai dengan kekeruhan setara *Optical density* 600 nm (OD600) atau sesuai dengan larutan standar McFarland 0,5 (Gambar 4.3.a).

Sebanyak 1ml media berisi kultur *K. pneumoniae* dipindahkan ke dalam *cryotube* yang telah berisi 1ml larutan gliserol 40% hingga didapatkan *stock culture K. pneumoniae* dalam larutan gliserol 20% sebanyak 2ml. Tabung *cryotube* kemudian diberi label dan disimpan dalam *freezer* -18°C (Gambar 4.3.b).

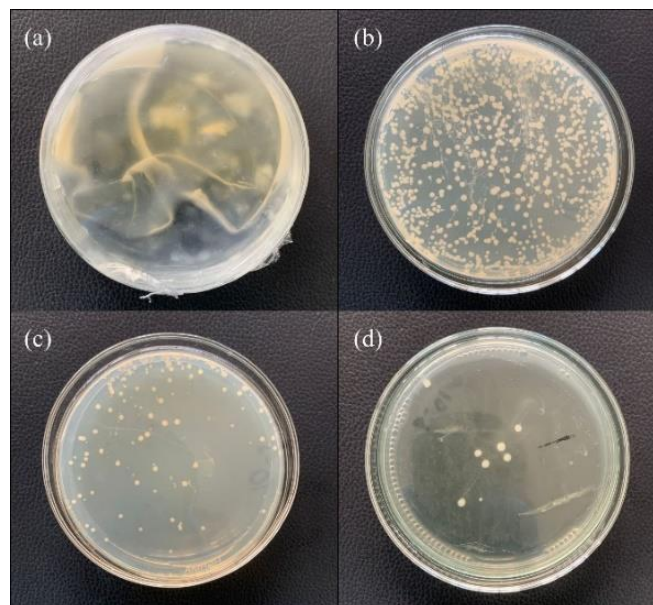


Gambar 4.0.4. Proses pembuatan kultur stok *K. pneumoniae*.
Keterangan: (a) Hasil inokulasi *overnight K. pneumoniae*. (b) Stok kultur *K. pneumoniae* dalam larutan gliserol 20%.

2. Isolasi Bakteri Asam Laktat

Bakteri asam laktat yang terkandung dalam formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin 5% umbi dahlia diisolasi dengan metode cawan sebar. Sebanyak 10ml sampel F5 dituang ke dalam tabung reaksi dan dibuat seri pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} . Masing-masing sebanyak 10 μ l hasil pengenceran sampel ditetaskan di atas media steril MRS Agar kemudian diratakan dengan *spreader*.

Cawan berisi MRS Agar yang telah ditanam sampel kemudian diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh diidentifikasi dan dihitung menggunakan *colony counter*. Dari proses inkubasi diperoleh sejumlah koloni bakteri asam laktat berwarna putih dengan morfologi cembung (Gambar 4.5).



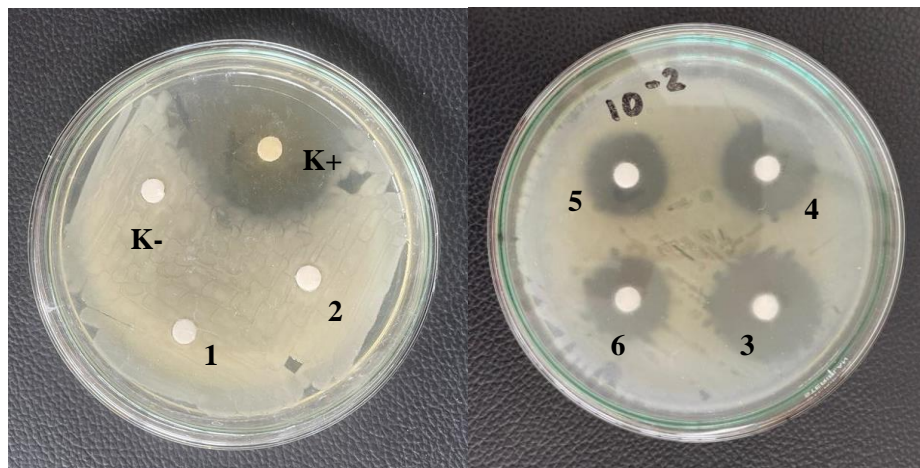
Gambar 4.0.5. Hasil isolasi BAL dari sampel kefir.
Keterangan: (a) Pengenceran 10^{-1} ; (b) Pengenceran 10^{-2} ; (c) Pengenceran 10^{-3} ; dan (d) Pengenceran 10^{-4} .

3. Pengukuran Zona Hambat CFS BAL

Koloni yang diperoleh dari perhitungan TPC sebanyak 6 koloni diinokulasi secara terpisah dalam tabung reaksi berisi *fresh* media MRS *broth*, kemudian diinkubasi pada suhu 36°C *overnight*. Koloni yang berhasil tumbuh kemudian diinokulasikan ke dalam media MRSB+gliserol 20% untuk uji selanjutnya.

Uji aktivitas antibakteri isolat BAL dilakukan dengan metode *disc diffusion Kirby-Bauer* dengan sampel uji berupa *cell free supernatant* (CFS) kultur isolat BAL. CFS diperoleh dengan cara inokulasi isolat BAL dari *stock culture* pada media MRS *broth* steril kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dengan kondisi mikroaerofilik hingga diperoleh konsentrasi sel 10^8 CFU/ml (Standar McFarland 0,5). Sebanyak 3 ml kultur dipindahkan ke dalam *microtube* (Appendorf®) kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan disaring dengan membran mikrofilter $0,22\ \mu\text{m}$ Millipore (Biostellar®) steril sehingga diperoleh CFS isolat BAL untuk diuji (Egbe and Lennox, 2019).

Hasil uji aktivitas antimikroba CFS 6 isolat BAL (BAL 1-6) terhadap bakteri uji *K. pneumoniae* disajikan pada Tabel 4.6 dan Gambar 4.6.



Gambar 4.0.6. Hasil uji aktivitas antimikroba *cell free supernatant* isolate BAL
Keterangan: Kontrol positif: kloramfenikol 30 μ g; kontrol negatif: media MRSB

Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat CFS BAL terhadap *K. pneumoniae* yang disajikan pada Tabel 4.6., didapat nilai rerata $41,67 \pm 12,67$ mm pada kontrol positif (antibiotik meropenem). Selain itu, kontrol negatif (MRSB), CFS isolat BAL 1 dan isolat BAL 2 tidak menunjukkan adanya zona hambat di sekitar cakram. Diantara keenam CFS yang diambil dari biakan isolat BAL, isolat nomor 3 (BAL 3) menunjukkan aktivitas antimikroba yang baik terhadap *K. pneumoniae* dibuktikan dengan rerata diameter zona hambat yang baik yakni sebesar $29,67 \pm 0,67$ mm.

Tabel 4.6. Hasil pengukuran diameter zona hambat CFS isolat BAL

Formula	Sampel/nomor Isolat	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata \pm SD
		d1	d2	d3	
Fortifikasi 6% umbi dahlia	Kontrol positif	39,00	44,00	42,00	$41,67 \pm 12,67$
	Kontrol negatif	6,00	6,00	6,00	$6,00 \pm 0,00$
	BAL 1	6,00	6,00	6,00	$6,00 \pm 0,00$
	BAL 2	6,00	6,00	6,00	$6,00 \pm 0,00$
	BAL 3	30,00	29,00	30,00	$29,67 \pm 0,67$
	BAL 4	25,00	25,00	25,00	$25,00 \pm 0,00$
	BAL 5	21,00	22,00	22,00	$21,67 \pm 0,67$
	BAL 6	21,00	21,00	21,00	$21,00 \pm 0,00$

Menurut Davis dan Stout (1971), daya hambat antimikroba terbagi ke dalam 4 zona berdasarkan diameternya: (1) Lemah; zona hambat <5 mm; (2) Sedang; zona hambat berkisar 5-10 mm; (3) Kuat; zona hambat berkisar 10-20 mm; dan (4)

Sangat kuat; apabila zona hambat >20mm. Berdasarkan penggolongan tersebut, isolate BAL 3 menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan yang Sangat Kuat terhadap *K. pneumoniae*. Aktivitas antimikroba yang ditunjukkan dengan diameter zona hambat terhadap bakteri uji dipengaruhi oleh banyaknya dan jenis senyawa aktif yang dihasilkan oleh BAL. BAL dikenal mampu menghasilkan sejumlah senyawa aktif dan enzim-enzim hidrolitik yang dapat melawan pertumbuhan bakteri patogen. Selain senyawa aktif dan aktivitas enzim, factor lain yang mempengaruhi aktivitas antimikroba BAL adalah waktu inkubasi, umur biakan, dan komposisi medium yang digunakan dalam pertumbuhan (Gede *et al.*, 2017).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.* memiliki karakteristik aroma dan tekstur yang tidak berbeda secara signifikan terhadap produk kefir non-fortifikasi. Dari segi rasa, formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.* kurang disukai (rerata skala $1,72 \pm 11,04$) dibandingkan dengan produk kefir non-fortifikasi (rerata skala $2,40 \pm 10,00$). Viskositas kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.* adalah 21,64 cP; pH 4,22; dan mengandung asam organik dengan kadar 2,94.
2. Formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.* memiliki karakteristik mikrobiologis dengan jumlah *lactobacilli sp.* sebesar 29×10^4 CFU/ml; *streptococci sp.* sebesar 2×10^4 CFU/ml; dan khamir sebesar $44,5 \times 10^4$ CFU/ml.
3. Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL 3, 4, 5, dan 6) yang terkandung dalam formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.* menunjukkan aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat BAL 3 sebesar $29,67 \pm 0,67$ mm; BAL 4 sebesar $25,00 \pm 0,00$ mm; BAL 5 sebesar $21,67 \pm 0,67$ mm; dan BAL 6 sebesar $21,00 \pm 0,00$ mm.

B. Saran

1. Perlu dilakukan optimasi formula untuk menentukan konsentrasi optimum ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.*
2. Selanjutnya agar dapat dilakukan uji karakteristik genotip terhadap isolat BAL yang terkandung dalam formula kefir terfortifikasi ekstrak inulin umbi *Dahlia sp.* yang memiliki aktivitas antimikroba.

DAFTAR PUSTAKA

- Asghar, A.H. *et al.* (2011) 'Profile of bacterial pneumonia during Hajj', *The Indian journal of medical research*, 133(5), pp. 510–513. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21623036>.
- Aulia, S., Rizqiati, H. and Nurwanto (2019) 'Pengaruh Substitusi Kefir Terhadap Sifat Fisik, Khamir Dan Hedonik Es Krim', *Jurnal Teknologi Pangan*, 3(2), pp. 192–198.
- Badan Pusat Statistik (2020) *Jumlah Jemaah Haji1 yang Diberangkatkan ke Tanah Suci Mekah Menurut Provinsi*. Available at: <https://www.bps.go.id/linkTableDinamis/view/id/960>.
- Badan Standardisasi Nasional (2018) 'SNI Susu Fermentasi'.
- Beuchat, L.R. *et al.* (1998) *Comparison of the SimPlate@D Total Plate Count Method with Petrifilm@D, Redigel@D, and Conventional Pour-Plate Methods for Enumerating Aerobic Microorganisms in Foods*, *Journal of Food Protection*. Available at: http://meridian.allenpress.com/jfp/article-pdf/61/1/14/1669843/0362-028x-61_1_14.pdf.
- Brabb, T. *et al.* (2012) 'Infectious Diseases', *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*, pp. 637–683. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-380920-9.00023-7>.
- Clegg, S. and Murphy, C.N. (2016) 'Epidemiology and Virulence of *Klebsiella pneumoniae*.', *Microbiology spectrum*, 4(1). Available at: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.UTI-0005-2012>.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2012) *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved standard - Eleventh edition*. Available at: <https://doi.org/M02-A11>.
- Dalmolin, T.V. *et al.* (2017) 'Detection and analysis of different interactions between resistance mechanisms and carbapenems in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*', *Brazilian Journal of Microbiology*, 48(3), pp. 493–498. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.01.003>.
- Daniela, M.S. *et al.* (2011) 'Evaluation of different selective media for enumeration of probiotic micro-organisms in combination with yogurt starter cultures in fermented milk', *African Journal of Microbiology Research*, 5(23). Available at: <https://doi.org/10.5897/ajmr11.598>.
- Davis, W.W. and Stout, T.R. (1971) *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay I. Factors Influencing Variability and Error1*, *APPLIED MICROBIOLOGY*.
- Dole Wilkins, Harold F., J.M. (2005) *Floriculture : principles and species*. Upper Saddle River, N.J.: Pearson/Prentice Hall.
- Echeverri, L.M. and Catano, J.C. (2010) 'Klebsiella pneumoniae as nosocomial pathogens: epidemiology and resistance.', *Atreia*, 23(3), pp. 240–249.
- Egbe, G. and Lennox, J.A. (2019) 'Antibacterial Activity of Cell Free Supernatant of Lactic Acid Bacteria Isolated from Food Samples against Food Borne Pathogens', *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 10(6). Available at: <http://www.ijser.orghttp://www.ijser.org>.
- Ekundayo, F.O. (2014) 'Isolation and identification of lactic acid bacteria from rhizosphere soils of three fruit trees , fish and ogi', *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3), pp. 991–998.
- García, R. *et al.* (2021) 'Identification of potential antiviral compounds against SARS-CoV-2 structural and non structural protein targets: A pharmacoinformatics study

- of the CAS COVID-19 dataset', *Computers in Biology and Medicine*, 133, p. 104364. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2021.104364>.
- Gede, I. *et al.* (2017) *Skrining Isolat Bakteri Asam Laktat Penghasil Bakteriosin yang Diisolasi dari Asinan Rebung Bambu Tabah dan Ketahanannya terhadap Panas*.
- Gorrie, C.L. *et al.* (2017) 'Gastrointestinal Carriage Is a Major Reservoir of *Klebsiella pneumoniae* Infection in Intensive Care Patients', *Clinical Infectious Diseases*, 65(2), pp. 208–215. Available at: <https://doi.org/10.1093/cid/cix270>.
- Guan, X. *et al.* (2018) 'Effects of Ultrasonic-Microwave-Assisted Technology on Hordein Extraction from Barley and Optimization of Process Parameters Using Response Surface Methodology', *Journal of Food Quality*, 2018. Available at: <https://doi.org/10.1155/2018/9280241>.
- Gul, O. *et al.* (2015) 'Manufacture and characterization of kefir made from cow and buffalo milk, using kefir grain and starter culture', *Journal of Dairy Science*, 98(3), pp. 1517–1525. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8755>.
- Jamal, M. *et al.* (2018) 'Bacterial biofilm and associated infections', *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(1), pp. 7–11. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012>.
- Kasra-Kermanshahi, R. and Mobarak-Qamsari, E. (2015) 'Inhibition effect of Lactic acid bacteria against food born pathogen, *Listeria monocytogenes*', *Applied Food Biotechnology*, 2(4), pp. 11–19. Available at: <https://doi.org/10.22037/afb.v2i4.8894>.
- Kemenkes RI (2014) 'Sistem Informasi Kesehatan Haji Indonesia (Siskohatkes)'.
Kemenkes RI (2017) 'Analisis Haji Indonesia 2017.Pdf'.
- Kinteki, G.A., Rizqiati, H. and Hintono, A. (2018) 'Pengaruh Lama Fermentasi Kefir Susu Kambing Terhadap Mutu Hedonik, Total Bakteri Asam Laktat (BAL), Total Khamir, dan pH', *Jurnal Teknologi pangan*, 3(1).
- Kuntz, M.G.F., Fiates, G.M.R. and Teixeira, E. (2013) 'Characteristics of prebiotic food products containing inulin', *British Food Journal*, 115(2), pp. 235–251. Available at: <https://doi.org/10.1108/00070701311302212>.
- Kusmiyati, N., Wahyuningsih, T.D. and Hadisaputro, W. (2018) 'Extraction and Identification of Inulin-Type Fructo-Oligosaccharides from *Dahlia pinnata* L.', *Asian Journal of Chemistry*, 30, pp. 355–358. Available at: <https://doi.org/10.14233/ajchem.2018.20965>.
- Kusmiyati, N., Wahyuningsih, T.D. and Widodo (2018) 'Prebiotic effect of inulin extract from dahlia tubers (*Dahlia pinnata* L.) on the growth performance of intestinal-origin *Lactobacillus casei* AP', *Pakistan Journal of Nutrition*, 17(8), pp. 405–410. Available at: <https://doi.org/10.3923/pjn.2018.405.410>.
- Lara-Cortés, E. *et al.* (2014) 'Actividad antioxidante, composición nutrimental y funcional de flores comestibles de dalia', *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 20(1), pp. 101–116. Available at: <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2013.07.024>.
- Li, B. *et al.* (2014a) 'Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*', 9, pp. 1071–1081.
- Li, B. *et al.* (2014b) 'Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*', *Future Microbiology*, 9(9), pp. 1071–1081. Available at: <https://doi.org/10.2217/fmb.14.48>.
- Liu, W. *et al.* (2014) 'Biodiversity of Lactic Acid Bacteria', in *Lactic Acid Bacteria*. Dordrecht: Springer Netherlands. Available at: https://doi.org/10.1007/978-94-017-8841-0_2.
- Machado, A. *et al.* (2013) 'Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage', *Brazilian Journal of Microbiology*, 34(2),

- pp. 341–349.
- Markowiak, P. and Ślizewska, K. (2017) ‘Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health’, *Nutrients*. Available at: <https://doi.org/10.3390/nu9091021>.
- Melot, B., Colot, J. and Guerrier, G. (2015) ‘Bacteremic community-acquired infections due to *Klebsiella pneumoniae*: clinical and microbiological presentation in New Caledonia, 2008-2013.’, *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 41, pp. 29–31. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.10.013>.
- Midayanto, D.N. and Yuwono, S.S. (2014) ‘Penentuan Atribut Mutu Tekstur Tahu Untuk Direkomendasikan Sebagai Syarat Tambahan Dalam Standar Nasional Indonesia [in Press Oktober 2014]’, *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(4).
- Murwindra, R. (2019) ‘Optimalisasi Ekstraksi Inulin DDari Tanaman Umbi Dahlia (*Dahlia SP. L*) Menggunakan Pelarut etanol’, *FMIPAKes UMRi*, 1, pp. 32–40.
- National Heart, Lung, and B.I. (2016) ‘What Is Pneumonia? (Printer-Friendly)’, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 193, pp. 1–2. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1164/rccm.1931P1>.
- Nirwati, H. *et al.* (2019) ‘Biofilm formation and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples in a tertiary care hospital, Klaten, Indonesia’, *BMC Proceedings*, 13(Suppl 11), pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12919-019-0176-7>.
- Ohno, S. *et al.* (2018) ‘Identification of Flavonoids in Leaves of a Labile Bicolor Flowering Dahlia (*Dahlia variabilis*) “Yuino”’, *The Horticulture Journal*, 87. Available at: <https://doi.org/10.2503/hortj.OKD-099>.
- Ortolani, M.B. *et al.* (2021) ‘Screening and enumeration of lactic acid bacteria in milk using three different culture media in Petrifilm TM Aerobic Count plates and conventional pour plate methodology’. Available at: <https://doi.org/10.1017/S002202990700266X>.
- Ot’es, S. and Cagindi, O. (2003) ‘Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects’, *Pakistan Journal of Nutrition*, 2(2), pp. 54–59. Available at: <https://doi.org/10.3923/pjn.2003.54.59>.
- Paterson, D.L. *et al.* (2004) ‘Antibiotic Therapy for *Klebsiella pneumoniae* Bacteremia: Implications of Production of Extended-Spectrum -Lactamases’, *Clinical Infectious Diseases*, 39(1), pp. 31–37. Available at: <https://doi.org/10.1086/420816>.
- Peng, M. *et al.* (2020) ‘Effectiveness of probiotics, prebiotics, and prebiotic-like components in common functional foods’, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), pp. 1908–1933. Available at: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12565>.
- Petkova, N.T., Sherova, G. and Denev, P.P. (2018) ‘Characterization of inulin from dahlia tubers isolated by microwave and ultrasound-assisted extractions’, *International Food Research Journal*, 25(5), pp. 1876–1884.
- Petroski, N. (2017) ‘Advax Adjuvant: A Potent and Safe Immunopotentiator Composed of Delta Inulin’, *Immunopotentiators in Modern Vaccines: Second Edition*, pp. 199–210. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804019-5.00010-4>.
- Plessas, S. *et al.* (2017) ‘Microbiological exploration of different types of Kefir grains’, *Fermentation*, 3(1), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.3390/fermentation3010001>.
- Pothuraju, R. *et al.* (2017) ‘Fermented milk in protection against inflammatory mechanisms in obesity’, *Immunity and Inflammation in Health and Disease: Emerging Roles of Nutraceuticals and Functional Foods in Immune Support*, pp. 389–401.

- Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805417-8.00029-9>.
- Prastiwi, V.F., Bintoro, V.P. and Rizqiyati, H. (2018) 'Sifat Mikrobiologi, Nilai Viskositas dan Organoleptik Kefir Optima dengan Penambahan High Fructose Syrup (HFS)', *Jurnal Teknologi Pangan*, 2(1), pp. 27–32.
- Purbasari, A., Pramono, Y.B. and Abduh, S.B.M. (2014) 'Nilai pH, kekentalan, citarasa asam, dan kesukaan pada susu fermentasi dengan perisa alami jambu air (*Syzygium sp*)', *J. Aplikasi Teknologi Pangan*, 3(4).
- Raras, T.Y.M. *et al.* (2019) 'Anti-Biofilm Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Kefir against Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*', *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(2), pp. 983–992. Available at: <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.2.35>.
- Rohmah, F. and Estiasih, T. (2018) 'Perubahan Karakteristik Kefir Selama Penyimpanan: Kajian Pustaka', *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 6(3), pp. 30–36. Available at: <https://doi.org/10.21776/ub.jpa.2018.006.03.4>.
- Sasongko, A. *et al.* (2018) 'Aplikasi Metode Nonkonvensional Pada Ekstraksi Bawang Dayak', *JTT (Jurnal Teknologi Terpadu)*, 6(1), p. 8. Available at: <https://doi.org/10.32487/jtt.v6i1.433>.
- Savitri, M. *et al.* (2019) 'Polysaccharides Pneumonia Vaccination (PPV-23) and Serum Pneumonia-Specific IgG Levels in the Elderly', *The New Armenian Medical Journal*, 13(1), pp. 85–90.
- Setyawardani, T. *et al.* (2020) 'Improving composition and microbiological characteristics of milk kefir using colostrum', *Food Science and Technology (Brazil)*, 40. Available at: <https://doi.org/10.1590/fst.31719>.
- Shokri, D. *et al.* (2018) 'The Inhibition Effect of Lactobacilli Against Growth and Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa*', *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10(1). Available at: <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9267-9>.
- Suhendar, U. *et al.* (2020) 'PENGARUH BERBAGAI METODE EKSTRAKSI PADA PENENTUAN KADAR FLAVONOID EKSTRAK ETANOL DAUN ILER (*Plectranthus scutellarioides*)', *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 10(1), pp. 76–83. Available at: <https://doi.org/10.33751/jf.v10i1.2069>.
- Usmadi (2020) 'Pengujian Persyaratan Analisis', *Inovasi Pendidikan*, 7(1), pp. 50–62.
- Widyantara, P.R.A., Dewi, G.A.M.K. and Ariana, I.N.T. (2017) 'Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas', *Jurnal Ilmiah Peternakan*, 20(1), pp. 5–11.
- Wimmerstedt, A. and Kahlmeter, G. (2008) 'Associated antimicrobial resistance in *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes*', *Clinical Microbiology and Infection*, 14(4). Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01946.x>.
- Witthuhn, R.C., Cilliers, A. and Britz, T.J. (2005) 'Evaluation of different preservation techniques on the storage potential of Kefir grains', *Journal of Dairy Research*, 72(1). Available at: <https://doi.org/10.1017/S0022029904000652>.
- Wu, M.C. *et al.* (2011) 'Isolation of genes involved in biofilm formation of a *Klebsiella pneumoniae* strain causing pyogenic liver abscess', *PLoS ONE*, 6(8). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023500>.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil uji organoleptis sampel kefir terfortifikasi umbi dahlia 5% terhadap kontrol

PANELIS	KONTROL			SAMPEL		
	AROMA	RASA	TEKSTUR	AROMA	RASA	TEKSTUR
1	3	2	3	3	1	3
2	3	3	2	4	2	3
3	4	2	3	2	2	3
4	3	3	3	3	2	3
5	3	2	2	2	1	2
6	4	2	2	4	2	2
7	3	3	1	3	3	1
8	3	2	2	4	1	1
9	2	3	3	4	2	4
10	3	2	4	3	1	4
11	2	2	3	3	2	3
12	3	1	2	4	1	2
13	4	2	3	4	1	3
14	3	2	3	2	1	4
15	3	3	2	3	2	2
16	4	3	2	4	2	2
17	2	2	2	3	2	2
18	2	3	3	3	2	1
19	1	2	2	2	1	1
20	2	2	1	3	1	1
21	3	3	2	4	2	2
22	4	4	2	4	3	2
23	3	2	3	3	1	3
24	2	2	2	2	2	2
25	3	3	1	3	3	1

Lampiran 2. Hasil Analisis Data Aroma Metode Uji Variansi Univariat

Notes

Output Created	08-NOV-2022 19:00:33	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>

	N of Rows in Working Data File	50
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics are based on all cases with valid data for all variables in the model.
Syntax		UNIANOVA Aroma BY Sampel Panelis /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /CRITERIA=ALPHA(0.05) /DESIGN=Sampel Panelis.
Resources	Processor Time	00:00:00.00
	Elapsed Time	00:00:00.01

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Sampel	1	Kontrol	25
	2	2	25
Panelis	1		2
	2		2
	3		2
	4		2
	5		2
	6		2
	7		2
	8		2
	9		2
	10		2
	11		2
	12		2
	13		2
	14		2
	15		2
	16		2
17		2	
18		2	

19		2
20		2
21		2
22		2
23		2
24		2
25		2

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Aroma

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	20.460 ^a	25	.818	2.305	.022
Intercept	456.020	1	456.020	1284.563	.000
Sampel	.980	1	.980	2.761	.110
Panelis	19.480	24	.812	2.286	.024
Error	8.520	24	.355		
Total	485.000	50			
Corrected Total	28.980	49			

a. R Squared = .706 (Adjusted R Squared = .400)

Lampiran 3. Hasil Analisis Data Rasa Metode Uji Variansi Univariat

Notes

Output Created	08-NOV-2022 19:04:36	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	50
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics are based on all cases with valid data for all variables in the model.

Syntax	UNIANOVA Rasa BY Sampel Panelis /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /CRITERIA=ALPHA(0.05) /DESIGN=Sampel Panelis.
Resources	Processor Time 00:00:00.00 Elapsed Time 00:00:00.00

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
Sampel	1 Kontrol	25
	2	25
Panelis	1	2
	2	2
	3	2
	4	2
	5	2
	6	2
	7	2
	8	2
	9	2
	10	2
	11	2
	12	2
	13	2
	14	2
	15	2
	16	2
	17	2
	18	2
	19	2
	20	2
	21	2
	22	2
	23	2
	24	2
	25	2

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Rasa

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	24.100 ^a	25	.964	8.506	.000
Intercept	212.180	1	212.180	1872.176	.000
Sampel	5.780	1	5.780	51.000	.000
Panelis	18.320	24	.763	6.735	.000
Error	2.720	24	.113		
Total	239.000	50			
Corrected Total	26.820	49			

a. R Squared = .899 (Adjusted R Squared = .793)

Lampiran 4. Hasil Analisis Data Tekstur Metode Uji Variansi Univariat

Notes

Output Created	08-NOV-2022 19:09:52	
Comments		
Input	Active Dataset	DataSet0
	Filter	<none>
	Weight	<none>
	Split File	<none>
	N of Rows in Working Data File	50
Missing Value Handling	Definition of Missing	User-defined missing values are treated as missing.
	Cases Used	Statistics are based on all cases with valid data for all variables in the model.
Syntax	UNIANOVA Tekstur BY Sampel Panelis /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /CRITERIA=ALPHA(0.05) /DESIGN=Sampel Panelis.	
Resources	Processor Time	00:00:00.00
	Elapsed Time	00:00:00.00

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Sampel	1	Kontrol	25
	2	2	25
Panelis	1		2
	2		2
	3		2
	4		2
	5		2
	6		2
	7		2
	8		2
	9		2
	10		2
	11		2
	12		2
	13		2
	14		2
	15		2
	16		2
	17		2
	18		2
	19		2
	20		2
	21		2
	22		2
	23		2
	24		2
	25		2

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Tekstur

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	32.020 ^a	25	1.281	6.861	.000
Intercept	264.500	1	264.500	1416.964	.000
Sampel	.020	1	.020	.107	.746

Panelis	32.000	24	1.333	7.143	.000
Error	4.480	24	.187		
Total	301.000	50			
Corrected Total	36.500	49			

a. R Squared = .877 (Adjusted R Squared = .749)

**LAPORAN KEUANGAN
TAHUN ANGGARAN 2022**

**KARAKTERISASI DAN UJI ANTIBAKTERI FORMULA KEFIR
TERFORTIFIKASI DENGAN EKSTRAK INULIN DARI UMBI DAHLIA
(*Dahlia sp. L*) TERHADAP *Klebsiella pneumoniae***

Nomor DIPA	DIPA BLU-DIPA 025.04.2.423812/2022
Tanggal	14 November 2022
Satker	(4238120) UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Kode Kegiatan	(2132) Peningkatan Akses, Mutu, Relevansi dan Daya Saing Pendidikan Tinggi Keagamaan Islam
Kode Output Kegiatan	(050) PTKIN Penerima BOPTN
Sub Output Kegiatan	(514) Penelitian (BOPTN)
Kode Komponen	(004) Dukungan Operasional Penyelenggaraan Pendidikan
Kode Sub Komponen	A Penelitian Pengembangan/Kapasitas

Oleh:

Alif Firman Firdausy
(NIP. 199206072019031017)



**KEMENTERIAN AGAMA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT (LP2M)
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2022

CASHFLOW DANA PENELITIAN 100%

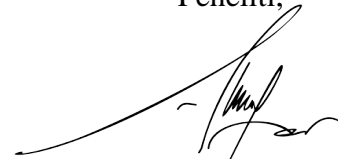
Kluster Penelitian : Penelitian Pengembangan/Kapasitas
 Judul Penelitian : Karakterisasi dan Uji Antibakteri Formula Kefir Terfortifikasi dengan Ekstrak Inulin dari Umbi Dahlia (*Dahlia sp. L*) terhadap *Klebsiella pneumoniae*
 Peneliti : apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed.

Tanggal	Uraian	Debet	Kredit				
			Vol	Satuan	Harga	Jumlah	Saldo
		Rp 15,000,000					
25-Feb-22	Cawan Petri 100x15		4	buah	Rp 25,500	Rp 102,000	Rp 14,898,000
	Beaker Glass 100ml		1	buah	Rp 34,500	Rp 34,500	Rp 14,863,500
	Beaker Glass 500ml		1	buah	Rp 44,000	Rp 44,000	Rp 14,819,500
11-May-22	Jasa Bacterial Species Barcoding		3	kali	Rp 1,000,000	Rp 3,000,000	Rp 11,819,500
21-Jun-22	Media MHA		1	buah	Rp 850,000	Rp 850,000	Rp 10,969,500
	Media M17 Agar		1	buah	Rp 1,936,700	Rp 1,936,700	Rp 9,032,800
	Media Luria Bertani Broth		1	buah	Rp 1,386,000	Rp 1,386,000	Rp 7,646,800
	Bakteri <i>K. pneumoniae</i>		1	buah	Rp 750,000	Rp 750,000	Rp 6,896,800
	Meropenem		1	buah	Rp 1,000,000	Rp 1,000,000	Rp 5,896,800
19-Aug-22	Blank disc		1	pak	Rp 155,000	Rp 155,000	Rp 5,741,800
	Cotton swab		8	buah	Rp 1,500	Rp 12,000	Rp 5,729,800
19-Aug-22	TSIA		5	gram	Rp 5,500	Rp 27,500	Rp 5,702,300
	SIM		5	gram	Rp 5,500	Rp 27,500	Rp 5,674,800
20-Aug-22	Glucose Monohydrate		1	buah	Rp 75,000	Rp 75,000	Rp 5,599,800
21-Aug-22	Syringe filter		3	buah	Rp 17,000	Rp 51,000	Rp 5,548,800
	Syringe 1ml		1	buah	Rp 1,500	Rp 1,500	Rp 5,547,300
	Erlenmeyer IWAKI		1	buah	Rp 56,120	Rp 56,120	Rp 5,491,180
20-Sep-22	Media MRS Agar		500	gram	Rp 3,120	Rp 1,560,000	Rp 3,931,180
	Media MRS Broth		250	gram	Rp 3,992	Rp 998,000	Rp 2,933,180
	Spreader IWAKI		1	buah	Rp 26,500	Rp 26,500	Rp 2,906,680
	Gliserin		250	ml	Rp 90	Rp 22,500	Rp 2,884,180
	NaCl 0.9%		2	botol	Rp 15,000	Rp 30,000	Rp 2,854,180
	Spatula pendek		1	buah	Rp 8,500	Rp 8,500	Rp 2,845,680
	Filter syringe 0.22		5	buah	Rp 25,000	Rp 125,000	Rp 2,720,680

Tanggal	Uraian	Debet	Kredit				
			Vol	Satuan	Harga	Jumlah	Saldo
	Yellow Tip Biologix		1	pak	Rp 215,000	Rp 215,000	Rp 2,505,680
	Blue Tip Biologix		1	pak	Rp 335,000	Rp 335,000	Rp 2,170,680
	PCR 1.5ml Onemed		50	buah	Rp 400	Rp 20,000	Rp 2,150,680
2-Oct-22	MRS Broth PA		77	gram	Rp 9,240	Rp 711,480	Rp 1,439,200
3-Oct-22	Oxidase Disc		1	pak	Rp 571,200	Rp 571,200	Rp 868,000
8-Oct-22	Granulated Yeast Extract		5	gram	Rp 7,800	Rp 39,000	Rp 829,000
15-Oct-22	McFarland Standard		1	set	Rp 500,000	Rp 500,000	Rp 329,000
23-Oct-22	Blank disc		2	pak	Rp 160,000	Rp 320,000	Rp 9,000
	Hidrobat		1	buah	Rp 9,000	Rp 9,000	Rp -

Malang, 14 November 2023

Peneliti,



apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed.
NIP. 199206072019031017