

Terakreditasi

Ditjen Penguatan Riset dan Pengembangan, Kemenristekdikti
Keputusan No: 21/E/KPT/2018, Tanggal 9 Juli 2018

DOI: <http://dx.doi.org/10.33772/jitro.v7i2.8642>
<http://ojs.uho.ac.id/index.php/peternakan-tropis>

Pengaruh Konsentrasi VCO terhadap Profil Asam Lemak, Aktivitas Antibakteri, dan Antioksidan Kefir

Anis Usfah Prastujati^{1*}, M. Habbib Khirzin¹, Dewi Lusiana¹, Achmad Rosidi¹

¹Program Studi Teknologi Pengolahan Hasil Ternak, Politeknik Negeri Banyuwangi
Jl. Raya Jember Km 13 Labanasem, Kabat, Banyuwangi

*Email korespondensi: anis.usfah@poliwangi.ac.id

(Diterima 10-09-2020; disetujui 02-06-2020)

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan berbagai konsentrasi minyak kelapa murni ke profil asam lemak, aktivitas antibakteri dan antioksidan kefir. Kefir VCO yang dibuat pada penelitian ini terbuat dari susu sapi yang difermentasi selama kurang lebih 2 hari menggunakan biji kefir dengan konsentrasi 5%, dengan suhu inkubasi 28°C. Penelitian ini terdiri dari empat perlakuan dimana masing-masing perlakuan terdiri dari tiga ulangan yaitu P0 (kefir tanpa VCO), P1 (kefir dengan VCO 2%), P2 (kefir dengan VCO 4%), P3 (kefir dengan VCO 6%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan VCO memberikan hasil yang signifikan ($P < 0,01$) pada aktivitas antibakteri dan antioksidan. Hasil uji antibakteri kefir dalam semua perlakuan memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Semakin tinggi konsentrasi VCO, semakin besar zona penghambatan terbentuk. Aktivitas antioksidan dalam VCO kefir meningkat nilainya dengan peningkatan konsentrasi VCO. Sementara hasil profil asam lemak menunjukkan peningkatan dan penurunan asam lemak karena proses fermentasi.

Kata kunci: aktivitas antibakteri, antioksidan, kefir, lemak, minyak kelapa murni, profil asam lemak

ABSTRACT

Kefir in this research made of milk fermented for 48 hours with grain kefir a concentration of 5%, with incubation temperature is 28°C. This study was used with four treatments and each treatment consisted of three replications. The treatment used was P0 (kefir without VCO), P1 (kefir with VCO 2%), P2 (kefir with VCO 4%), P3 (kefir with VCO 6%). The results showed that the addition of VCO give a significant effect ($P < 0.01$) on the antibacterial and antioxidant activities. The antibacterial activity of VCO kefir in all treatments were unable to strongly inhibit bacterial growth. The higher VCO concentration has added the vast inhibition zone was formed. The antioxidant activity in VCO kefir increases in value with increasing VCO concentration. While the result of the fatty acid profile showed an increase and decrease in fatty acids due to the fermentation process.

Keywords: antibacterial activities, antioxidant, fat, fatty acid profile, kefir, virgin coconut oil

PENDAHULUAN

Susu merupakan cairan yang diproduksi melalui kelenjar atau ambung mamalia yang didapat dari proses pemerahan ternak sehat, tanpa dikurangi ataupun diberi tambahan sesuatu (Soeparno, 2015). Nilai gizi susu sangat tinggi sehingga susu sangat baik dikonsumsi oleh manusia dengan segala umur. Diversifikasi susu dilakukan untuk memperbaiki kandungan gizinya bahkan menambah nilai gizinya seperti susu fermentasi. Kefir merupakan satu pdari beberapa jenis roduk susu fermentasi yang berupa minuman dengan bantuan probiotik menggunakan biji kefir yang dapat menghasilkan beberapa jenis

zat bioaktif (Kania & Judiono, 2017). Biji kefir memiliki bentuk seperti bunga kol yang tidak beraturan berwarna putih dan sedikit kekuningan dengan ukuran sekitar 1-3 cm. Kefir grains berbentuk granula tak beraturan seukuran biji gandum dengan diameter 2-3 mm dan berwarna keputih-putihan atau kekuningan (Wood, 1998). Virgin Coconut Oil (VCO) diproduksi dari buah kelapa yang tua melalui proses basah tanpa ada proses pemanasan (Santoso *et al.*, 2008). Winarti, *et al.*, (2006) menyatakan bahwa VCO dibuat dengan suhu rendah dalam upaya mempertahankan nutrisi penting di dalam minyak.

VCO terdiri dari 48% asam laurat yang merupakan jenis asam lemak jenuh dengan rantai karbon sedang (MCFA, Medium Chain Fatty Acids) yang lebih mudah dicerna dan dimetabolisme oleh tubuh sehingga dapat memproduksi energi sehingga tidak disimpan di dalam adiposa. Kabara *et al.* (2000) menyatakan bahwa, MCFA tertentu seperti asam laurat mempunyai efek yang merugikan terhadap mikroba patogen seperti jamur, khamir dan bakteri. Selain itu, kandungan antioksidan didalam VCO juga tinggi akan kandungan tokoferol dan betakaroten. Muis (2009) menyebutkan bahwa, VCO mengandung komponen minor (mikronutrien) berupa senyawa fenolik, salah satu senyawa fenolik yang teridentifikasi adalah alfa-tokoferol. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan VCO terhadap karakteristik kefir dilihat dari profil asam lemak, aktivitas antimikroba dan antioksidannya.

MATERI DAN METODE

Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini berupa bahan dan alat seperti susu, biji kefir, VCO sebagai bahan utama juga bahan pendukung seperti bahan-bahan kimia yang digunakan untuk menganalisa sampel antara lain aquades, NaCl fisiologis, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, KI, asam asetat-kloroform, dan larutan DPPH.

Metode

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan yaitu VCO dengan konsentrasi 0% sebagai kontrol (P0), VCO dengan konsentrasi 2% (P1), VCO dengan konsentrasi 4% (P2), VCO dengan konsentrasi 6% (P3).

Prosedur Penelitian

Produksi VCO

VCO dibuat berdasarkan Fachry *et al.*, (2006) dengan sedikit modifikasi. Daging kelapa diparut, ditambahkan air, dan diperas menggunakan kain saring. Hasil saringan selanjutnya didiamkan dalam lemari es suhu 5°C hingga terpisah krim dan air. Selanjutnya krim disentrifuse dengan kecepatan 3500 rpm selama 20 menit. Minyak diambil dari larutan yang telah terpisah antara padatan dan ciran dengan cara disaring.

Produksi Kefir dengan Penambahan VCO

Susu dipasteurisasi dengan metode *Low Temperature Long Time* (LTLT). Suhu yang

digunakan yakni 65°C selama 30 menit (Abubakar *et al.*, 2001). Susu diturunkan suhunya 28–30°C. Biji kefir sebanyak 5% diinokulasikan ke dalam setiap perlakuan. VCO ditambahkan sesuai dengan perlakuan 2%, 4%, dan 6%. Fermentasi selama 48 jam namun setelah fermentasi 24 jam kefir dihomogenkan dan setelah 48 jam biji kefir dapat dipisahkan dari larutan kefir dengan cara disaring.

Variabel Penelitian

Uji Profil Asam Lemak

Analisis profil asam lemak dilakukan dengan mengadopsi metode pada AOAC (2005). Prinsip yang digunakan pada metode analisis ini yaitu mengubah asam lemak menjadi produk turunannya yaitu metil ester, sehingga dapat terdeteksi oleh alat kromatografi. Prinsip kerja *gas chromatography* (GC) adalah memisahkan fase gas dengan lapisan tipis cairan berdasarkan pada jenis bahan yang berbeda. Hasil analisis akan muncul pada suatu lembaran yang terhubung dengan *recorder* dan ditunjukkan dengan beberapa grafik yang memiliki puncak/*pick* pada waktu retensi tertentu sesuai dengan karakter setiap jenis asam lemak. Sebelum dilakukan injeksi metil ester, terlebih dahulu lemak diesterifikasi sehingga terbentuk metil ester dari masing-masing asam lemak yang didapat.

Uji Bilangan Peroksida

Sampel ditimbang sebanyak $5,00 \pm 0,05$ gr dalam erlenmeyer 250 ml dan ditambahkan 30 ml larutan asam asetat-kloroform (3:2). Larutan digoyangkan sampai bahan terlarut semua kemudian ditambah 0,5 ml larutan jenuh KI. Larutan didiamkan selama 1 menit dengan sesekali larutan digoyang setelah itu ditambahkan 30 ml aquades. Selanjutnya dilakukan titrasi dengan 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ sampai warna kuning hampir hilang. Lalu ditambahkan 0,5 ml larutan pati 1%. Titrasi dilanjutkan kembali hingga warna biru mulai hilang. Angka peroksida dinyatakan dalam *mili-equivalen* dari peroksida dalam setiap 1000 gr sampel (Sudarmadji *et al.*, 2010).

$$\text{Angka peroksida} = \frac{\text{ml Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{Berat Sampel (gr)}}$$

Keterangan:

Angka peroksida : kadar dalam ppm
 mL $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$: jumlah larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ yang digunakan
 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$: normalitas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Uji Aktivitas Antibakteri

Senyawa antibakteri adalah senyawa kimiawi atau biologis yang dapat menghambat pertumbuhan dan aktivitas bakteri patogen (Khotimah & Kusnadi, 2014). Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar sumur. Haryati *et al.* (2017) menyatakan bahwa metode sumur agar memiliki kelebihan yaitu lebih mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk.

Biakan bakteri (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*) dimasukkan ke dalam media *nutrient broth* (NB) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk peremajaan. Menyiapkan media *nutrient agar* (NA) sebanyak 20 ml dengan cara *pour plate* kemudian dihomogenkan dan ditunggu hingga padat. Sebanyak 0,1 ml bakteri dalam NB dimasukkan ke dalam media (NA) Selanjutnya, media dilubangi menggunakan *blue tip's plastic* dengan ukuran 5-6 mm. Sampel yang diuji diambil sebanyak 50 µl dan dimasukkan pada lubang sumur agar. Inkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam kemudian diukur diameter hambat bakteri. Rumus perhitungan uji aktivitas antibakteri berdasarkan zona hambat:

$$\text{Luas Zona Hambat} = 3,14 \times \left[\left(\frac{d2}{2} \right)^2 \right] - \left[\left(\frac{d1}{2} \right)^2 \right]$$

Keterangan:

d1 : diameter sumuran (cm)

d2 : rata-rata diameter zona hambat (cm)

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) (Pratiwi *et al.*, 2010). Sampel sebanyak 0,2 mL dimasukkan ke dalam vial. Kemudian ditambahkan 3,8 mL larutan DPPH 50 µM. Larutan selanjutnya dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Absorbansi diukur 517 nm. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Aktivitas antioksidan sampel oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH dapat diketahui melalui perhitungan persentase aktivitas antioksidan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs. Blanko = Absorbansi DPPH 50 µM

Abs. Sampel = Absorbansi Sampel Uji

Analisis Data

Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Nutrisi Kefir-VCO

Rasa asam pada kefir dihasilkan oleh aktivitas bakteri asam laktat (BAL) dalam metabolisme laktosa menjadi asam laktat. Fermentasi pada kefir menggunakan kefir *grains*. Kefir *grains* terdiri dari Bakteri Asam Laktat (BAL) dan khamir antara lain *Lactobacillus lactis* dan *Lactobacillus kefirgranum* yang berperan dalam pembentukan asam laktat, *Lactobacillus kefiranofaciens* penyebab terjadinya penggumpalan, *Leuconostoc* pembentuk diasetil dan *Candida kefir* pembentuk etanol dan CO₂ (Susilorini & Sawitri, 2005). Putri *et al.*, (2016) menyatakan bahwa manfaat kefir bagi kesehatan diantaranya merangsang sistem imunitas tubuh, mengganggu pertumbuhan sel tumor, dapat menurunkan jumlah kolesterol, menstabilkan jumlah mikroflora di saluran pencernaan dan mengandung berbagai senyawa antibakteri.

Minyak kelapa murni atau VCO terdiri dari asam lemak jenuh rantai sedang dan pendek atau *Medium Chain Fatty Acid* (MCFA) yang dapat dicerna dan diserap tubuh. Widiyanti (2015) menyatakan bahwa di dalam organ tubuh manusia, asam laurat yang ada di dalam VCO akan dirombak sehingga membentuk monolaurin yang memiliki sifat sebagai antivirus, antibakteri dan antiprotozoa serta asam lemak lainnya seperti asam kaprilat akan diubah menjadi monokaprin yang bermanfaat untuk menyembuhkan beberapa penyakit yang diakibatkan oleh virus HIV-1 dan HSV-2 serta bakteri *Neisseria gonorrhoeae*.

Analisis Profil Asam Lemak

Profil asam lemak ialah suatu komposisi yang menyusun asam lemak pada kefir dengan penambahan VCO. Komponen VCO terdiri dari asam lemak jenuh (90%) dan tak jenuh (10%) (Widiyanti, 2015). Asam lemak yang terkandung dalam minyak kelapa adalah asam lemak jenuh yang diperkirakan 91% terdiri dari asam kaproat, asam kaprilat, asam kaprat, asam laurat, asam miristat, asam palmitat, asam stearat, asam arakidot, dan asam lemak tak jenuh sekitar 9% yang terdiri dari oleat dan linoleat (Warisno, 2003). Standar asam lemak yang digunakan adalah asam laurat, asam miristat, asam kaprilat, asam palmitat, dan asam oleat. Tabel 1 menunjukkan bahwa

kandungan profil asam lemak pada masing-masing sampel mulai mengalami kenaikan pada P2 dan P3. Kandungan profil asam lemak kefir dengan penambahan VCO 2%, 4%, dan 6% dari persentase standar profil asam lemak VCO tersaji dalam Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Persentase standar hasil profil asam lemak kefir VCO

Parameter	P0	P1	P2	P3
	dalam persen (%)			
Laurat	0,08	0,10	0,58	3,20
Miristat	0,36	0,13	0,57	1,77
Kaprilat	0,03	0,03	0,17	0,65
Palmitat	1,19	0,35	1,44	2,24
Oleat	1,52	0,46	1,86	2,24

Vieira *et al.* (2015) menyatakan bahwa fermentasi oleh bakteri asam laktat (BAL) dari produk susu mampu mempengaruhi komposisi asam lemak, menyebabkan peningkatan atau penurunan konsentrasi asam lemak pada produk yang dianalisis. Sementara itu, kenaikan dan penurunan komposisi asam lemak kefir-VCO terjadi kemungkinan karena asam lemak yang dianalisis dipecah menjadi asam lemak lain pada saat fermentasi oleh BAL dalam kefir. Ngadiarti *et al.* (2013), proses fermentasi dengan BAL menyebabkan perubahan komposisi asam lemak, dimana asam lemak jenuh/*Saturated Fatty Acids* (SFA) dan asam lemak tidak jenuh tunggal/*Mono Unsaturated Fatty Acids* (MUFA) akan mengalami peningkatan, sedangkan asam lemak tidak jenuh ganda/*Poly Unsaturated Fatty Acids* (PUFA) akan mengalami penurunan. Sartika (2008) menyebutkan, satu dari beberapa jenis MUFA ialah oleat (ω -9) yang bersifat lebih stabil dan lebih baik fungsinya dibandingkan dengan PUFA. Penelitian Bahobail *et al.* (2014) menunjukkan bahwa, ada peningkatan konsentrasi asam lemak jenuh rantai pendek dalam susu fermentasi, sedangkan asam lemak rantai panjang ditemukan dalam persentase lebih rendah dibandingkan dengan susu unta segar. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Gassem *et al.* (2016) menunjukkan bahwa, fermentasi secara signifikan meningkatkan kandungan palmitat, oleat, miristat, kaprat, kaprilat, laurat dan linolenat, sedangkan asam palmitoleat dan asam arakidat menurun secara signifikan.

Mikroba dalam biji kefir mengandung sejumlah BAL yang mampu menghasilkan enzim pemecah lipid (lipase) dan dan pemecah protein (protease) serta sejumlah khamir yang tergabung dalam struktur polisakarida dan ikatan tersebut akan

dirilis pada saat proses fermentasi berlangsung (Setyawardani *et al.*, 2017). Enzim lipase tersebut yang kemudian memecah lemak menjadi senyawa yang lebih sederhana. Pemecahan lemak kefir-VCO dipengaruhi oleh viabilitas BAL didalamnya. Viabilitas BAL diartikan sebagai kemampuan hidup BAL didalam kefir-VCO yang dinyatakan dalam satuan cfu/ml. Hasil penelitian viabilitas BAL dalam kefir VCO berturut-turut dari P0, P1, P2, dan P3 yaitu 6,55; 6,52; 6,49; dan 6,58 cfu/ml. Perbedaan viabilitas BAL tersebut yang kemudian menyebabkan nilai asam lemak yang berbeda. Sementara itu, dalam penelitian Ammar *et al.* (2014), penambahan minyak zaitun meningkatkan viabilitas BAL dan bifidobacteria, namun memiliki jumlah koloni bakteri yang terlihat/*total viable bacterial counts* (TVBC) yang lebih sedikit. Setiap kelompok bakteri menunjukkan potensi produksi asam lemak dengan konsentrasi yang berbeda. Hal ini didukung penelitian Adamska *et al.* (2017), penggunaan kultur bakteri yang berbeda dengan substrat yang sama menghasilkan komposisi asam lemak keju yang berbeda.

Analisis Bilangan Peroksida

Bilangan peroksida menjadi indikator yang cukup penting dan digunakan sebagai pedoman untuk menentukan tingkat kerusakan komponen minyak. Peroksida dapat terbentuk akibat ikatan yang terjadi antara ikatan rangkap asam lemak tidak jenuh dan oksigen (Ketaren, 1986). Proses tersebut dikenal sebagai proses oksidasi. Kecepatan terjadinya proses oksidasi lemak akan meningkat pada suhu tinggi dan akan menurun pada suhu rendah. Penambahan VCO berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap bilangan peroksida. Bilangan peroksida tertinggi sebesar 0,663 meq oksigen/kg minyak terdapat pada perlakuan P3 dengan penambahan VCO 6%.

Bilangan peroksida pada susu fermentasi masih sangat jarang disinggung dalam suatu penelitian. Penelitian ini menunjukkan bilangan peroksida pada kefir masih dibawah batas maksimal VCO yang boleh dikonsumsi yaitu 15 meq oksigen/kg minyak (CAC, 2015). Menurut Ketaren (1986), pembentukan peroksida dipercepat dengan adanya cahaya, suasana asam, kelembaban udara dan katalis. Peningkatan bilangan peroksida pada kefir dengan penambahan VCO salah satunya disebabkan oleh suasana asam, dimana kefir merupakan minuman fermentasi yang menghasilkan rasa masam dengan pH rendah. Rata-rata pH kefir dengan penambahan VCO yaitu sebesar 3,6. Bilangan peroksida yang terhitung dalam kefir VCO tersaji dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil rataan bilangan peroksida kefir VCO

Parameter	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
Bilangan peroksida (meq/1000gr)	0,33 ± 0,02 ^d	0,40 ± 0,02 ^c	0,53 ± 0,01 ^b	0,66 ± 0,04 ^a

Keterangan: P0 (kontrol), P1 (kefir+VCO 2%), P2 (kefir+VCO 4%), P3 (kefir+VCO 6%). Notasi ^{a, b, c, dan d} pada kolom yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata (P<0,01)

Analisis Kadar Antioksidan

Aktivitas antioksidan menggambarkan kemampuan suatu senyawa antioksidan untuk menghambat laju reaksi pembentukan radikal bebas (Parwata, 2016). Puspitasari *et al.* (2016) juga menyatakan bahwa semua polifenol mampu menangkal radikal bebas dengan memberikan donor elektron sehingga terbentuk radikal fenoksil yang relatif stabil. Menurut Price (2004) senyawa tokoferol dan tokotrienol berfungsi sebagai senyawa antioksidan. Aktivitas antioksidan dari senyawa fenol terbentuk karena kemampuan senyawa fenol membentuk ion fenoksida yang dapat memberikan satu elektronnya pada senyawa radikal bebas dan membentuk senyawa non radikal. Aktivitas antioksidan kefir VCO yang diperoleh dari penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Data hasil aktivitas antioksidan kefir VCO

Perlakuan	Aktivitas Antioksidan (%)
P0	27,09 ± 0,27 ^d
P1	30,14 ± 0,27 ^c
P2	33,01 ± 0,11 ^b
P3	36,41 ± 0,14 ^a

Keterangan: P0 (kefir tanpa penambahan VCO), P1 (kefir penambahan VCO 2%), P2 (kefir penambahan VCO 4%), P3 (kefir penambahan VCO 6%). Notasi ^{abc dan d} pada kolom yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata (P<0,01)

Kefir dengan penambahan VCO berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap aktivitas antioksidan. Nilai rata-rata aktivitas antioksidan kefir dengan penambahan VCO perlakuan P0 (kontrol) memperoleh hasil terendah yaitu 27,09%, sedangkan pada perlakuan P1, P2 dan P3 mengalami peningkatan sekitar 3% pada setiap perlakuannya. Semakin tinggi penambahan konsentrasi VCO, maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya. Susu dan produk turunan susu seperti susu fermentasi mengandung peptida yang secara biologis memiliki sifat aktif (Chalid &

Hartiningsih, 2013). Korhone dan Pihlanto (2006) menyebutkan bahwa, peptida susu fermentasi mempunyai sifat fungsional diantaranya sebagai antioksidan dan antimikroba. Peptida atau hidrolisat protein adalah turunan protein melalui degradasi enzim proteolitik (Chalid & Hartiningsih, 2013).

Selain itu, VCO juga mengandung komponen berupa sterol, tokoferol, dan tokotrienol. Senyawa tersebut yang menyebabkan meningkatnya aktivitas antioksidan dalam kefir. (Dhianawaty & Ruslin, 2015). Kandungan antioksidan kefir dengan penambahan VCO dapat membantu tubuh dalam menstabilkan radikal bebas yang menyebabkan proses *degeneratif* seperti penuaan dalam sel tubuh yang dapat mempengaruhi fungsi organ tubuh secara keseluruhan.

Analisis Aktivitas Antibakteri

Kefir dengan penambahan VCO berpengaruh sangat nyata (P<0,01) terhadap aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri kefir dengan penambahan berbagai konsentrasi VCO menghasilkan zona hambat yang kecil. Zona hambat kefir dengan penambahan VCO terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* pengamatan 24 jam dari semua perlakuan membentuk zona hambat yang kecil. Kecilnya zona hambat yang terbentuk mengindikasikan rendahnya aktivitas antibakteri pada kefir. Besar atau kecilnya zona hambat yang terbentuk dapat menyatakan bahwa suatu antimikroba tersebut bersifat tidak aktif, lemah, sedang, atau kuat terhadap pertumbuhan suatu mikroba. Aktivitas antibakteri pada masing-masing bakteri yaitu:

a. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) merupakan jenis bakteri gram positif yang memiliki karakteristik sebagai bakteri anaerob fakultatif dan tidak menghasilkan spora. Aktivitas antibakteri pada *S. aureus* masuk dalam klasifikasi zona hambat yang tidak aktif, dengan nilai zona hambat yang tertinggi yaitu 6,13 mm. Kecilnya kemampuan daya hambat dari produk susu yang difermentasi terhadap bakteri gram positif disebabkan golongan bakteri gram positif punya daya tahan terhadap kondisi lingkungan yang memiliki derajat keasaman rendah (Khikmah, 2015). Hal ini didukung penelitian Cotter & Hill (2003), bahwa jenis bakteri gram positif memiliki daya tahan terhadap kondisi asam melalui mekanisme pompa proton, sehingga hal tersebut dapat menjadikan nilai pH dalam sel dan senyawa antimikroba lain tidak dapat berdifusi ke dalam membran sitoplasma. Winarti *et al.* (2009) juga menyebutkan bahwa dinding sel bakteri gram positif mempunyai rantai peptida yang tersusun

Tabel 4. Data hasil aktivitas antibakteri kefir dengan berbagai konsentrasi VCO

Bakteri	Zona hambat (mm)			
	P0	P1	P2	P3
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,98 ± 0,28 ^d	2,70 ± 0,43 ^c	4,40 ± 0,68 ^b	6,13 ± 0,64 ^a
<i>Escherichia coli</i>	1,87 ± 0,39 ^d	4,04 ± 0,33 ^c	6,19 ± 0,86 ^b	8,35 ± 1,01 ^a

Keterangan: P0 (kefir tanpa penambahan VCO), P1 (kefir penambahan VCO 2%), P2 (kefir penambahan VCO 4%), P3 (kefir penambahan VCO 6%). Notasi ^{ab,c} dan ^d pada kolom yang berbeda menunjukkan pengaruh berbeda sangat nyata (P<0,01)

rapat dan beraturan antara rantai glikan satu sama lain. Hal tersebut yang menyebabkan komponen dinding sel bakteri gram positif *S. aureus* sulit untuk dirusak oleh senyawa antibakteri.

b. *Escherichia coli* (*E. coli*)

Escherichia coli (*E. coli*) ialah bakteri gram negatif bersifat anaerob fakultatif dan tidak membentuk spora. Aktivitas antibakteri pada *E. coli* membentuk area hambat dari semua perlakuan terkecil ke terbesar 1,87; 4,04; 6,19; dan 8,35 mm. Zona hambat yang terbentuk pada *E. coli* lebih besar dibandingkan bakteri *S. aureus*. Hal ini dikarenakan *E. coli* termasuk dalam bakteri gram negatif yang mempunyai dinding sel yang lebih tipis. Lindawati et al. (2014) menyebutkan bahwa, bakteri gram negatif memiliki dinding sel tipis sehingga senyawa antimikroba yang dihasilkan susu fermentasi merembes dinding sel dan akhirnya merusak bagian sitoplasma. Menurut Tortora et al. (2007), dinding sel bakteri gram positif terdiri dari komponen peptidoglikan yang tebal sedangkan dinding sel bakteri gram negatif terdiri dari peptidoglikan yang tipis. Hal tersebut yang kemudian menyebabkan struktur dinding sel bakteri gram negatif (*E. coli*) lebih mudah dirusak oleh senyawa antibakteri dalam kefir VCO. Daya hambat susu fermentasi yang besar terhadap bakteri gram negatif disebabkan oleh senyawa antibakteri berupa asam-asam organik (Branen & Davidson, 1993). Penelitian Poeloengan (2012) menunjukkan bahwa, bakteri gram negatif (*S. thypii* dan *E. coli*) lebih mudah dihambat pertumbuhannya oleh yogurt probiotik dibandingkan dengan bakteri gram positif.

Hasil pengujian antibakteri menunjukkan bahwa kefir VCO tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara kuat. Hal tersebut diduga karena kecilnya kandungan profil asam lemak khususnya asam laurat dalam kefir VCO. Faktor lain yang mempengaruhi rendahnya aktivitas antibakteri pada penelitian ini adalah penggunaan suhu yang kurang optimum pada proses inkubasi. Inkubasi dalam penelitian ini menggunakan suhu

ruang (28-30°C). Suhu yang optimum untuk inkubasi dalam pengujian antibakteri adalah 37°C (Sokmen et al. 2003). Sementara itu, Merchant dan Parker (1961) menyebutkan bahwa, *Escherichia coli* dapat tumbuh pada suhu 15-45°C. Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada suhu 7-48°C (Lielveld et al., 2005). Hasil pengujian aktivitas antibakteri kefir VCO tersaji pada Tabel 4.

KESIMPULAN

Semakin meningkat konsentrasi VCO ke dalam kefir maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dan cenderung meningkat aktivitas antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Sementara itu, profil asam lemaknya mengalami kenaikan dan penurunan akibat fermentasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah memberikan hibah penelitian tahun anggaran 2019 dan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Politeknik Negeri Banyuwangi dalam membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Association of Official Analytical Chemists. Official Method of Analysis of The Association of Analytical of Chemist. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Abubakar., Triyantini., Sunarlim, R., Setiyanto, H., & Nurjannah. 2001. Pengaruh suhu dan waktu pasteurisasi terhadap mutu susu selama penyimpanan. Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner 6(1):45-50.
- Adamska, A., Rasinska, E., Rutkowska, J., & Antoniewska A. 2017. Fatty acid profile of commercial camembert and brie-type

- cheeses available on the polish market. CYTA-Journal of Food 15(4):639-645.
- Ammar, E.T.M. A., Ismail, M.M., El-Shazly, A.K., & Eid, M.Z. 2014. effect of supplementation with olive oil on some properties of bio-yoghurt. Journal of Applied Microbiology 1(4):66-77.
- Bahobail, S.A., A.A. Ali, & A.A. Alyan. 2014. Effect of fermentation process on the improvement value of camel milk. International Journal of Multidisciplinary and Current Research 2:78-82.
- Branen, A.L., & Davidson, P.M. 1993. Antimicrobial in Foods. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York
- [CAC] Codex Alimentarius Commission. 2015. Standard For Edible Fats and Oils. Codex Alimentarius Commission. FAO. London.
- Chalid, S.Y. & F. Hartiningsih. 2013. Potensi Dadih Susu Kerbau Fermentasi Sebagai Antioksidan dan Antibakteri. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung. Hal. 369-375.
- Cotter, P.D. & C. Hill. 2003. Surviving the acid test: responses of gram positive bacteria to low pH. Microbiology and Molecular Biology Review 67(3):429-453.
- Dhianawaty, D. & Ruslin. 2015. Kandungan total polifenol dan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol akar *Imperata cylindrica* (L) Beauv. (Alang-alang). Majalah Kedokteran (47)1:60-64.
- Fachry, A., A. Oktarian, and W. Wijanarko. 2006. Pembuatan Virgin Coconut Oil dengan Metode Sentrifugasi, Palembang: Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia. Palembang, 19-20 Juli 2006.
- Haryati, S.D., S. Darmawati, & W. Wilson. 2017. Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Disk dan Sumuran. Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat "Implementasi Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Untuk Peningkatan Kekayaan Intelektual". Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang, 30 September 2017. Hal. 348-352.
- Gassem, M.A., Osman, M.A., Ahmed, I.A.M., Rahman, I.A., Fadol, M., & Al-Maiman, S. 2016. Effect of fermentation by selected lactic acid bacteria on the chemical composition and fatty acids of camel milk. Journal of Camel Practice and Research 23(2):277-281.
- Kabara. 2000. Health oils from the tree of life (nutritional and health aspects of coconut oil). Indian Coconut Journal 31(8):2-8.
- Kania, D.A. & Judiono. 2017. Uji kesukaan es krim kefir labu kuning. Jurnal Riset Kesehatan 9(1):16-22.
- Ketaren, S. 1986. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. UI Press. Jakarta
- Khikmah, N. 2015. Uji Antibakteri Susu Fermentasi Komersial Pada Bakteri Patogen. Jurnal Penelitian Saintek 20(1):45-52.
- Khotimah, K. & J. Kusnadi. 2014. Aktivitas antibakteri minuman probiotik sari kurma (*Phoenix dactylifera* L.) menggunakan *Lactobacillus plantarum* dan *Lactobacillus casei*. Jurnal Pangan dan Agroindustri 2(3):110-120.
- Korhone, H & A. Pihlant. 2006. Review bioactive peptides: production and functionality. International Dairy Journal 16:945-960.
- Lelieveld, H.L.M., Mostert, M.A., & Holah, J. 2005. Handbook of Hygiene Control in the Food Industry. CRC Press. New York.
- Lindawati, S.A., Y.S. Haniyah. I.N.S. Miwada, N.W.T. Inggriati, M. Hartawan. & I.G.D. Suarta. 2014. Aktivitas antimikroba yogurt berbasis air kelapa menghambat bakteri patogen secara in vitro. Majalah Ilmiah Perternakan 17(2):51-55.
- Muis, A. 2009. Aktivitas antioksidan dan antifotooksidan komponen minor dari virgin coconut oil (VCO). Jurnal Riset Industri 2:86-93.
- Ngadiarti, I., C.M. Kusharto, D. Briawan, S.A. Marliyati, & D. Sayuthi. 2013. Kandungan asam lemak dan karakteristik fisiko-kimia minyak ikan lele dan minyak ikan lele terfermentasi. Jurnal Penelitian Gizi dan Makanan 36(1):82-90.
- Parwata, I.M.O.A. 2016. Antioksidan. Kimia terapan. Universitas Udayana. Bali.

- Poeloengan, M. 2012. Pengujian Yoghurt Probiotik pada Pertumbuhan Bakteri. Prosiding Semiloka Nasional Prospek Industri Sapi Perah Menuju Perdagangan Bebas 2020, Balai Besar Penelitian Veteriner, Bogor. Hal. 303-307.
- Pratiwi P., M. Suzery., & B. Cahyono. 2010. Total fenolat dan flavonoid dari ekstrak fraksi daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) Jawa Tengah serta Aktivitas Antioksidannya. Jurnal Sains & Matematika 18 (4):140-148.
- Price, M. 2004. Coconut Oil for Health. Longevity Publishing House. USA.
- Puspitasari, M.L., T.V. Wulansari, T.D. Widyaningsih, J.M. Maligan, & N.I.P. Nugrahini. 2016. Aktivitas Antioksidan suplemen herbal daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan kulit manggis (*Garcinia mangostana* L). Jurnal Pangan dan Agroindustri 4(1):283-290.
- Putri, N.M., H. Aprilia, & A. Arumsari. 2016. Pengujian aktivitas antibakteri minuman kefir terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Prosiding Farmasi 2(2):272-279.
- Santoso, U., Sutardi & O.F. Verdial. 2008. Optimasi Pemecahan Emulsi Kanil dengan Cara Pendinginan dan Pengadukan Pada Pembuatan Virgin Coconut Oil (VCO). Prosiding Seminar Nasional Teknik Pertanian 2008. Jurusan Teknik Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian UGM. Yogyakarta 18-19 November 2008.
- Sartika, R.A.D. 2008. Pengaruh asam lemak jenuh, tidak jenuh dan asam lemak trans terhadap kesehatan. Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional 2(4):154-160.
- Setyawardani, T., J. Sumarmono, A.H.D. Rahardjo, M. Sulistyowati, & K. Widayaka. 2017. Kualitas kimia, fisik dan sensori kefir susu kambing yang disimpan pada suhu dan lama penyimpanan berbeda. Buletin Peternakan 41(3):298-306.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, & Suhardi. 2010. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta.
- Susilorini, T.E. & M.E. Sawitri. 2005. Produk-Produk Olahan Susu. PT.Penebar Swadaya. Jakarta.
- Sokmen, M., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M., & Daferera, D. 2003. Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of achillea sintenisii hub. mor. (asteraceae). Phytochemical Research 17:1005-1010.
- Soeparno. 2015. Properti dan Teknologi Produksi Susu. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Tortora, G.J., B.R. Funke, & C.L. Case. 2007. Microbiology: An Introduction. Pearson Education. Singapore.
- Vieira, C.P., S. Alvares, A.G. Torres, V.M.F. Pacholin, & C.A. Conte-Junior. 2015. Kefir Grains Change Fatty Acid Profile of Milk During Fermentation and Storage. PLoS ONE.DOI:10.1371/journal.pone.013991.
- Warisno. 2003. Budidaya Kelapa Genjah. Kanisius. Yogyakarta.
- Widiyanti, R.A. 2015. Pemanfaatan Kelapa Menjadi VCO (Virgin Coconut Oil) Sebagai Antibiotik Kesehatan dalam Upaya Mendukung Visi Indonesia Sehat 2015. Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi. Prodi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Malang. Malang, 21 Maret 2015. Hal. 577-584.
- Winarti., Kusriani, D., Fachriyah, E. 2009. Isolasi, identifikasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri akar sidaguri (*Sida rhombifolia* Linn). Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi 12(2):52-56.
- Winarti, S., N. Syah, & Sulistyowati. 2006. pembuatan eskrim kacang merah dengan penambahan virgin coconut oil dan kuning telur. Jurnal Buana Sains 6(1):75-82.
- Wood, B.J.B. 1998. Microbiology of Fermented Foods. Blackie Academic and Profesional London. Elsevier Applied Science Publishing. New York