

NUTRIFIKASI KEFIR SUSU SAPI DENGAN SERBUK DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP TOTAL BAL DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *E. coli* DAN *Salmonella* sp.

Rahmat Muhidin, S.P.¹⁾, Rini Triani, M.Sc., P.hD²⁾

¹⁾Mahasiswa Magister Teknologi Pangan, Universitas Pasundan, Jl. Sumatra No 41, Bandung, 40117, Indonesia

²⁾Dosen Pascasarjana Teknologi Pangan, Universitas Pasundan, Jl. Sumatra No 41, Bandung, 40117, Indonesia

ABSTRAK

Kefir yang ditambahkan dengan daun kelor berpotensi dapat menjadi kombinasi positif dan memberikan efek sinergi dalam mempertahankan viabilitas bakteri asam laktat dan juga sifat fungsionalnya. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari nutrifikasi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap total BAL dan aktivitas antimikroba pada *E. coli* dan *Salmonella* sp. serta mempelajari konsentrasi terbaiknya terhadap total BAL dan aktivitas antimikroba pada *E. coli* dan *Salmonella* sp. Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 yaitu k₀ (kontrol kefir susu); k₁ (1% serbuk daun kelor); k₂ (2% serbuk daun kelor); k₃ (3% serbuk daun kelor); k₄ (kefir susu + 1% serbuk daun kelor); k₅ (kefir susu + 2% serbuk daun kelor); k₆ (kefir susu + 3% serbuk daun kelor). Setiap perlakuan dan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 21 satuan percobaan. Berdasarkan hasil Penelitian didapatkan hasil bahwa nutrifikasi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) berpotensi meningkatkan total BAL dengan konsentrasi tertinggi perlakuan k₅ (kefir susu dengan 2% serbuk daun kelor) dengan jumlah 9.97×10^9 x 10⁹ namun tidak meningkatkan aktivitas antimikroba pada *E. coli* dan *Salmonella* sp.

Kata Kunci : Aktivitas antimikroba; bakteri asam laktat; kefir susu sapi; serbuk daun kelor; viabilitas

ABSTRACT

Fortifying cow's milk kefir with *Moringa* leaf powder (*Moringa oleifera* L.) offers the potential for a beneficial combination, creating a synergistic effect that preserves the viability of lactic acid bacteria (LAB) and maintains their functional properties. This study aimed to examine the effects of fortifying cow's milk kefir with *Moringa* leaf powder on total LAB counts and antimicrobial activity against *E. coli* and *Salmonella* sp., as well as to determine the optimal concentration for these parameters. An experimental method employing a Completely Randomized Design (CRD) was used, comprising seven treatments: k₀ (milk kefir control); k₁ (1% *Moringa* leaf powder); k₂ (2% *Moringa* leaf powder); k₃ (3% *Moringa* leaf powder); k₄ (milk kefir + 1% *Moringa* leaf powder); k₅ (milk kefir + 2% *Moringa* leaf powder); and k₆ (milk kefir + 3% *Moringa* leaf powder). Each treatment was replicated three times, resulting in 21 experimental units. The results indicated that fortifying cow's milk kefir with *Moringa* leaf powder had the potential to increase total LAB counts, with the highest count (9.97×10^9 CFU/mL) observed in treatment k₅ (milk kefir + 2% *Moringa* leaf powder); however, the fortification did not enhance antimicrobial activity against *E. coli* and *Salmonella* sp..

Keywords : Antimicrobial activity; Cow's milk kefir; Lactic acid bacteria (LAB); Moringa leaf powder (*Moringa oleifera* L.); Viability

ABSTRAK (SUNDA)

Kefir anu ditambahan bubuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) gaduh poténsi janten kombinasi anu saé sarta masihan éfék sinergis dina ngajaga *viabilitas* baktéri asam laktat (BAL) sareng sipat fungsionalna. Tujuan panalungtikan ieu nyaéta pikeun neuleuman pangaruh panambahan bubuk daun kelor kana kefir susu sapi kana total BAL sareng aktivitas antimikroba kana *E. coli* sareng *Salmonella* sp. sarta pikeun manggihan konsentrasi anu paling saé pikeun total BAL sareng aktivitas antimikroba kasebat. Méthode anu digunakeun dina panalungtikan ieu nyaéta méthode ékspérimén ku Rarancang Acak Lengkep (RAL), kalayan tujuh perlakuan, nyaéta: k_0 (kontrol kefir susu); k_1 (1% bubuk daun kelor); k_2 (2% bubuk daun kelor); k_3 (3% bubuk daun kelor); k_4 (kefir susu + 1% bubuk daun kelor); k_5 (kefir susu + 2% bubuk daun kelor); sareng k_6 (kefir susu + 3% bubuk daun kelor). Unggal perlakuan diulang tilu kali, sahingga dihasilkeun 21 unit ékspérimén. Dumasar kana hasil panalungtikan, kapendak yén panambahan bubuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) kana kefir susu sapi gaduh poténsi pikeun ningkatkeun total BAL, kalayan perlakuan k_5 (kefir susu ku bubuk daun kelor 2%) mintonkeun hasil pangluhurna, nyaéta $9,97 \times 10^9$, tapi teu ningkatkeun aktivitas antimikroba kana *E. coli* sareng *Salmonella* sp.

Kecap Konci : Aktivitas antimikroba; bakteri asam laktat; kefir susu sapi; bubuk daun kelor; *viabilitas*

1. Pendahuluan

1.1. Latar Belakang

Pangan fungsional merupakan pangan baik itu makanan maupun minuman yang memberikan fungsi lain diluar fungsi dasarnya sebagai sumber gizi pada manusia, yaitu bermanfaat dalam meningkatkan kesehatan (Elida *et al.*, 2020). Salah satu contoh yang sudah dikenal sebagai pangan fungsional adalah kefir.

Kefir merupakan salah satu minuman fermentasi yang kaya nutrisi, dan probiotik serta memiliki berbagai efek baik untuk kesehatan. Kefir mengandung berbagai macam nutrisi diantaranya protein, laktosa, lemak (Yusuf *et al.*, 2020), asam folat, asam amino dan vitamin (B1, B12). Selain manfaat dalam segi nutrisi, kefir juga memiliki manfaat kesehatan yaitu meningkatkan sistem imun, Anti-inflamasi, antikanker, antimutagenesis, antialergi, menurunkan kolesterol (Raras, 2022; Arslan, 2015), mencegah infeksi saluran urin, melancarkan buang air besar, mencegah resiko penyakit jantung (Setiarto, 2020), meningkatkan toleransi terhadap laktosa (Hardiansyah *et al.*, 2022) dan antibakteri (Kurniawan *et al.*, 2025).

Fermentasi kefir biasanya berbahan susu dengan penambahan kefir grain atau biji kefir sebagai starter. Bahan yang biasanya digunakan adalah susu sapi, kambing, kerbau, unta, dan domba (Raras, 2022). Beberapa penelitian melakukan pembuatan kefir menggunakan bahan selain susu, contohnya belimbing manis (Mulyani *et al.*, 2021), susu kedelai (Nafisah *et al.*, 2025), kefir air kulit buah naga (Anjliany *et al.*, 2023). Biji kefir sendiri adalah simbiosis dari berbagai mikroflora seperti bakteri asam laktat (BAL) dan khamir, dalam proses fermentasinya dapat menghasilkan asam laktat, alkohol serta kandungan lain yang bermanfaat sebagai probiotik (Triana *et al.*, 2022).

Probiotik merupakan mikroorganisme hidup yang dikonsumsi dalam jumlah tertentu, memberikan pengaruh positif terhadap saluran pencernaan seperti membantu penyerapan nutrisi (Fauziyah *et al.*, 2023) dan melawan patogen saluran cerna (Nurita *et al.*, 2023). Viabilitas dan aktivitas probiotik menjadi hal yang penting diperhatikan dalam pangan fungsional, dalam Elida *et al.* (2020) menyebutkan bahwa kisaran bakteri probiotik yang harus hidup dan sampai ke usus adalah antara 10⁶ sampai 10⁹ cfu/ml.

Penambahan daun kelor memiliki dampak signifikan terhadap viabilitas bakteri probiotik seperti bakteri asam laktat. Menurut Abdelshafy *et al.* (2022) daun kelor dapat meningkatkan efektivitas produk fermentasi melalui mekanisme yang melibatkan sejumlah senyawa bioaktif yang terdapat dalam daun kelor, seperti oligosakarida, yang berfungsi sebagai prebiotik, menciptakan kondisi yang kondusif bagi pertumbuhan bakteri menguntungkan, termasuk spesies BAL seperti *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium*. Selain itu, daun kelor diketahui memiliki berbagai kandungan bermanfaat untuk meningkatkan profil nutrisi produk fermentasi seperti kaya nutrisi seperti protein, β -karoten, vitamin B1, B2, dan C, zat besi, kalsium (Wahyuni *et al.*, 2013; Adeyemi & Elebiyo, 2014) dan senyawa bioaktif yang bermanfaat, seperti saponin, tannin, flavonoid, terpenoid, dan alkaloid. Keberadaan senyawa bioaktif ini juga memberikan efek kesehatan saluran cerna, salah satu manfaatnya adalah sebagai antimikroba (Rivai, 2020; Sasmita *et al.*, 2021).

Kefir yang ditambahkan dengan daun kelor berpotensi dapat menjadi kombinasi positif dan memberikan efek sinergi dalam mempertahankan viabilitas bakteri asam laktat dan juga sifat fungsionalnya. Sifat antimikroba pada kefir

digabungkan dengan dengan kelor yang sama-sama memiliki sifat antimikroba, sehingga dapat mengendalikan mikroba patogen di dalam pencernaan dengan mekanisme masing-masing. Penelitian mengenai nutrifikasi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor yang mengkaji potensi sinergis terhadap total BAL dan aktivitas antibakteri masih terbatas, sehingga berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan percobaan lebih lanjut mengenai potensi sinergi nutrifikasi serbuk daun kelor pada kefir susu sapi terhadap viabilitas BAL dan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *Salmonella* sp., supaya didapatkan konsentrasi serbuk daun kelor terbaik dalam meningkatkan kualitas kefir baik secara viabilitas maupun aktivitas antibakterinya.

1.2. Identifikasi Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut

- Bagaimana potensi nutrifikasi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap total BAL dan aktivitas antimikroba pada *E. coli* dan *Salmonella* sp.?
- Berapa konsentrasi terbaik nutrifikasi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap total BAL dan aktivitas antimikroba pada *E. coli* dan *Salmonella* sp.?

1.3. Maksud dan Tujuan

Berdasarkan uraian sebelumnya, didapatkan tujuan penelitian sebagai berikut.

- Mempelajari nutrifikasi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap total BAL dan aktivitas antimikroba pada *E. coli* dan *Salmonella* sp.
- Mempelajari konsentrasi terbaik nutrifikasi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap total BAL dan aktivitas

antimikroba pada *E. coli* dan *Salmonella* sp.

1.4. Kegunaan Penelitian

Secara teoritis, penelitian ini dapat memberikan data ilmiah tentang potensi sinergis antara metabolit probiotik kefir dan senyawa fitokimia daun kelor, memperkaya literatur tentang mekanisme interaksi probiotik-fitokimia dalam pangan fermentasi dan memberikan pemahaman tentang optimasi formulasi pangan fungsional berbasis sinergi. Secara praktis, dapat menghasilkan formulasi kefir fungsional dengan aktivitas biologis optimal, memberikan alternatif antimikroba alami untuk mendukung kesehatan pencernaan, meningkatkan nilai tambah produk kefir dan daun kelor sebagai komoditas lokal Indonesia dan memberikan acuan bagi industri pangan untuk pengembangan produk fermentasi fungsional serta mendukung diversifikasi produk olahan susu dan pemanfaatan tanaman lokal.

2. Bahan dan Metode Penelitian

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar, Serbuk daun kelor (*merk* Dari Bumi), kefir grain, media Man Rogosa and Shape Agar (MRSA), Nutrien agar (NA), *Mueller hinton agar* (MHA), BaCl_2 1%, H_2SO_4 1%, NaCl fisiologis, NaOH, HCl, buffer pH 4, buffer pH 6.8, buffer pH 9, akuades, etanol 96%, kertas saring, membran filter 0.22 μm , kertas label, plastik wrap, aluminium foil, isolat *S. Typhi*, *E. coli*, aseton 80%, reagen Folin-Ciocalteu (FCR), Na_2BO_3 10%, *Chloramfenicol*, *Natamycin*, asam galat.

2.2. Alat

timbangan, panci, inkubator, kulkas, toples, termometer, erlenmeyer, cawan petri, labu ukur, autoklaf, pipet tetes, pipet volume, mikropipet, colony counter, pH meter, refraktometer, inkubator, tabung reaksi,

gelas ukur, labu ukur, bunsen botol vial, hokistick, cork borer 6mm, penggaris, jarum ose, vortex mixer, laminar airflow.

2.3. Metode Penelitian

Percobaan dilaksanakan dengan pendekatan eksperimental menggunakan pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 7 Perlakuan, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga terdapat 21 unit percobaan. Adapun perlakuan dalam percobaan ini yaitu:

k_0 : kefir susu (kontrol kefir)

k_1 : 1% serbuk daun kelor (kontrol kelor)

k_2 : 2% serbuk daun kelor (kontrol kelor)

k_3 : 3% serbuk daun kelor (kontrol kelor)

k_4 : kefir susu + 1% serbuk daun kelor

k_5 : kefir susu + 2% serbuk daun kelor

k_6 : kefir susu + 3% serbuk daun kelor

Variabel dalam penelitian terdiri atas variabel bebas (Independent Variable) dan variabel terikat (Dependent Variable). Variabel bebas, yaitu berupa perlakuan konsentrasi serbuk daun kelor, sedang variabel terikat berupa respon penambahan serbuk daun kelor terhadap kualitas kefir susu. Adapun yang menjadi parameter pengamatan pada variabel terikat adalah pH, Total Padatan terlarut, Total BAL (CFU/mL), total fenol dan aktivitas antimikroba kefir terhadap *E. coli* dan *Salmonella* sp.

Data dianalisis menggunakan *analysis of variants* (ANOVA) pada taraf nyata nyata 0,05 (5%). Apabila hasilnya signifikan, data diuji lanjut menggunakan uji beda nyata jujur (BNJ/HSD) pada taraf nyata 0,05 (5%).

3. Prosedur Penelitian

Penelitian ini diawali dengan melakukan pembuatan kefir susu, selanjutnya ditambahkan perlakuan serbuk daun kelor dengan konsentrasi yang telah ditentukan. Sebagai kontrol kelor, dibuat

larutan ekstrak kelor tanpa ditambahkan kefir, dan sebagai kontrol kefir, maka tidak ditambahkan kelor. Kemudian dilanjutkan dengan pengujian berbagai parameter yang sudah ditentukan.

3.1.1. Persiapan Perlakuan

a. Persiapan Serbuk Daun Kelor dan Pembuatan Kontrol Kelor

Serbuk daun kelor diperoleh dari PT. Solusi Pangan Kita, merupakan perusahaan yang menjual produk herbal. Serbuk daun kelor kemudian disaring menggunakan ayakan tyler 60 *mesh* untuk memastikan butiran serbuk seragam, untuk mengetahui kandungan kadar airnya, maka dilakukan uji kadar air (Deskripsi serbuk daun kelor dilampirkan pada lampiran 1).

Pembuatan kontrol kelor dilakukan dengan menimbang serbuk daun kelor sesuai dengan perlakuan (k_1 , k_2 dan k_3) kemudian dilarutkan ke dalam akuades sampai homogen. Larutan tersebut diinkubasi selama 24 jam dengan suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Sampel diambil untuk dilakukan tahapan pengujian, diantaranya pengujian pH, total padatan terlarut, total BAL (CFU/mL) pada media MRSA, total fenol dan aktivitas antibakteri.

b. Pembuatan Kontrol Kefir

Susu sapi dipasteurisasi dengan suhu 85°C selama 15 menit, diamkan sampai suhu $\pm 30^\circ\text{C}$, tambahkan kefir grain 5% (b/v) diinkubasi selama 24 jam dengan suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Selanjutnya dilakukan penyaringan untuk memisahkan biji kefir (Wulansari *et al.*, 2022). Sampel diambil sebagian untuk dilakukan tahapan pengujian, diantaranya pengujian pH, total padatan terlarut, total BAL (CFU/mL) pada media MRSA, total fenol dan aktivitas antibakteri.

c. Pembuatan Perlakuan Kefir dinutrifikasi Serbuk Daun Kelor

Susu sapi dipasteurisasi dengan suhu 85°C selama 15 menit, diamkan sampai suhu $\pm 30^\circ\text{C}$, tambahkan serbuk daun kelor sesuai perlakuan (k_4 , k_5 , k_6) diaduk sampai

homogen, selanjutnya tambahkan kefir grain 5% (b/v) dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan biji kefir (Wulansari *et al.*, 2022). Sampel diambil sebagian untuk dilakukan tahapan pengujian, diantaranya pengujian pH, total padatan terlarut, total BAL (CFU/mL) pada media MRSA, total fenol dan aktivitas antibakteri. Penambahan serbuk daun kelor dilakukan setelah pasteurisasi dengan tujuan untuk mempertahankan fitokimia yang sensitif terhadap panas dan mempertahankan mikroba alami yang ada pada bahan.

3.1.2. Persiapan Media

a. Media Muller Hinton Agar (MHA)

Media MHA akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri. Sebanyak 19 gram MHA dilarutkan ke dalam akuades sebanyak 500 ml, dipanaskan sampai mendidih dan homogen. Selanjutnya media yang telah dibuat disterilisasi, menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C . Setelah selesai disterilisasi, media dituangkan pada cawan petri sebanyak ± 25 ml/cawan dan didiamkan sampai memadat (Nurhayati *et al.*, 2020).

b. Media Man Rogosa Sharpe Agar (MRSA)

Media MRSA akan digunakan untuk identifikasi total BAL. Sebanyak 34,10 gram serbuk MRSA dilarutkan sampai homogen ke dalam 500 ml akuades, dipanaskan sampai mendidih dan homogen. Media kemudian disterilisasi selama 15 menit dalam autoklaf dengan suhu 121°C . Setelah selesai disterilisasi, media dituangkan pada cawan petri dan didiamkan sampai memadat (Jangnga *et al.*, 2023).

c. Media Nutrient Agar (NA)

Media NA merupakan media yang akan digunakan untuk peremajaan sampel *Salmonella* sp dan *E. coli*. Pembuatan media NA dilakukan dengan melarutkan sebanyak 23 gram serbuk NA pada 1000 ml akuades,

dipanaskan sampai mendidih sambil di aduk sampai homogen. Selanjutnya media yang telah dibuat disterilisasi, menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C . Setelah selesai disterilisasi, media dituangkan pada cawan petri sebanyak ± 25 ml/cawan (Alouw *et al.*, 2022).

3.1.3. Persiapan Bakteri Uji

Isolat bakteri *E. coli* diambil satu ose menggunakan jarum ose, digoreskan pada media NA, inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C . Hal yang sama dilakukan juga untuk peremajaan bakteri *Salmonella* sp. Bakteri yang telah diremajakan dibuat suspensi dengan cara diambil satu ose, kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi berisi NaCl fisiologis 5 ml. Uji tingkat kekeruhan menggunakan larutan Mc Farland 0,5 untuk standarisasi bakteri uji. Jika standar kekeruhan masih belum tercapai, bakteri dapat diambil lagi kemudian ditambahkan pada NaCl fisiologis lalu di *vortex*. Selanjutnya sampel dengan tingkat kekeruhan yang sudah sesuai standar, diinokulasikan sebanyak 0,1 ml pada media MHA untuk uji aktivitas antibakteri. Suspensi yang telah distandarisasi dapat digunakan sebelum 15 menit (Nurhayati *et al.*, 2020).

3.1.4. Pengamatan sampel

a. pH

pH merupakan nilai yang menyatakan tingkat keasaman suatu bahan. Pengujian pH pada sampel kefir dilakukan menggunakan alat pH meter yang sebelumnya sudah dikalibrasi menggunakan larutan buffer pH 4. Masing-masing sampel kefir ± 10 ml dan kontrol dicelupkan elektroda pH meter, pastikan elektroda terendam oleh sampel. Selanjutnya tunggu sampai nilai pH konstan, kemudian di catat (Nurfadilah *et al.*, 2022).

b. Total Padatan Terlarut (TPT)

Pengukuran total padatan terlarut dilakukan menggunakan alat *refraktometer*. sebelum *refractometer* digunakan, bagian

prisma dibersihkan dulu menggunakan akuades kemudian dikeringkan menggunakan tisu. Masing-masing sampel kefir dan kontrol ditambahkan sebanyak 1-2 tetes pada bagian atas prisma kemudian diamati. Hasil pembacaan dinyatakan dalam satuan °brix (Tarihoran *et al.*, 2022).

c. Total BAL (CFU/mL) pada MRS Agar

Total BAL menunjukkan jumlah total BAL yang hidup. Pengujian dilakukan dengan mengencerkan masing-masing perlakuan sebanyak 1 ml, ditambahkan NaCl fisiologis 0,9% sebanyak 9 ml. pengenceran dilakukan sampai 10^{-8} . Sebanyak 1 ml sampel diambil masing-masing dari tiga seri pengenceran terakhir, kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri. Selanjutnya, media MRSA dituang ke dalam cawan yang telah berisi sampel, lalu dilakukan inkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C pada kondisi anaerob. Pertumbuhan koloni pada setiap cawan dihitung dengan angka TPC dalam 1 ml dengan mengalikan jumlah koloni rata-rata dengan faktor pengenceran yang digunakan dengan satuan *colony forming unit* (CFU)/mL atau koloni/ml (Kinteki *et al.*, 2019). Kriteria cawan yang dihitung adalah cawan yang berisi 30-300 koloni, selanjutnya data TPC dianalisis setelah transformasi log₁₀ (CFU/mL).

d. Total Fenol

Pengujian total fenol ditentukan menggunakan metode kolorimetri Folin-Ciocalteu. Masing-masing sampel ditimbang 2 gram, kemudian diencerkan dengan 10 ml aseton (80% b/v). Selanjutnya disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Supernatan kemudian disaring menggunakan kertas saring. Sebanyak 1 ml supernatan kemudian dimasukan ke dalam kuvet, tambahkan 2 ml akuades, 0,5 ml reagen Folin-Ciocalteu dan 0,5 ml Na₂CO₃ (10%). Inkubasi sampel dalam tempat gelap selama 1 jam. Absorbansi diukur pada 760 nm menggunakan *spectrophotometer* UV-

Vis. Pengukuran diulang sebanyak 3 kali, dan dinyatakan sebagai mg *galic acid extract* (GAE) per 100 ml (Chadha *et al.*, 2024).

e. Aktivitas Antibakteri kefir terhadap *E. coli* dan *Salmonella* sp.

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion method*) dengan cara membuat lubang pada media uji yang telah diinokulasikan bakteri *E. coli* dan *Salmonella* sp. lubang sumuran akan digunakan sebagai tempat meletakkan sampel uji yang kemudian akan diamati diameter zona hambatnya setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C (Nurhayati *et al.*, 2020). Jumlah lubang sumuran disesuaikan dengan jumlah perlakuan, lubang sumuran dibuat menggunakan *cork borer* dengan diameter 6 mm (Abu-hussien *et al.*, 2025). Persiapan sampel uji dilakukan dengan mengambil sebanyak 10 ml sampel kefir, disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit sehingga didapatkan *cell free supernatant* (CFS), selanjutnya disaring menggunakan filter nilon 0,22 µm (Santarelli *et al.*, 2025). tambahkan NaOH 1 M untuk menetralkan pH CFS. Sampel CFS sebanyak 50 µL dituangkan pada lubang sumuran yang telah disediakan. Sebagai kontrol positif, ditambahkan kloramfenikol (30 mcg) 25 µL dan akuades (kontrol negatif) (Suphandi *et al.*, 2023).

4. Hasil dan Pembahasan

4.1.Nilai pH

Hasil analisis menunjukkan bahwa nutrisi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap pH dengan kisaran nilai pH antara 4.2133 – 5.7044. Berdasarkan hasil uji lanjut diketahui bahwa perlakuan k₀, k₄, k₅ dan k₆ tidak berbeda nyata, tetapi berbeda nyata dengan k₁, k₂ dan k₃. Perlakuan k₁, k₂ dan k₃ yaitu serbuk daun kelor saja memiliki nilai

pH berbeda nyata lebih tinggi dibandingkan kontrol kefir susu (k₀) dan kefir susu yang dinutrifikasi serbuk daun kelor (k₄, k₅ dan k₆). Sedang perlakuan (k₄, k₅ dan k₆) menunjukkan nilai pH lebih rendah seiring lebih tingginya konsentrasi serbuk daun kelor yang ditambahkan, dibandingkan kontrol kefir susu (k₀) meskipun secara statistik tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan serbuk daun kelor dengan konsentrasi 1%, 2% dan 3% tidak memberikan pengaruh terhadap pH kefir (Data disajikan pada Tabel 2).

Tabel 2. Rata-rata pH kefir

Perlakuan	Nilai pH + SD
k ₀ = kefir susu (kontrol kefir)	4.4578 ± 0.086a
k ₁ = 1% serbuk daun kelor	5.8078 ± 0.122b
k ₂ = 2% serbuk daun kelor	5.6267 ± 0.200b
k ₃ = 3% serbuk daun kelor	5.7044 ± 0.326b
k ₄ = kefir susu + 1% serbuk daun kelor	4.2344 ± 0.010a
k ₅ = kefir susu + 2% serbuk daun kelor	4.2156 ± 0.039a
k ₆ = kefir susu + 3% serbuk daun kelor	4.2133 ± 0.061a

Keterangan : angka dengan diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Beda nyata Jujur (BNJ) taraf 5%.

Nilai pH pada kefir susu dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti kandungan laktosa pada susu, pertumbuhan dan kemampuan Bakteri asam laktat memprosesnya menjadi asam laktat. Penelitian Triana *et al.* (2022) menyatakan bahwa susu dengan jumlah kandungan laktosa tinggi memengaruhi nilai pH kefir menjadi lebih rendah dibandingkan dengan kandungan laktosa rendah. Sesuai dengan pernyataan Sulmiyati *et al.* (2018) bahwa nilai pH pada kefir susu disebabkan karena bakteri asam laktat melakukan perombakan laktosa menjadi glukosa dan galaktosa yang selanjutnya dalam proses glikolisis dirubah menjadi asam piruvat, kemudian dirubah menjadi asam laktat. Sehingga kandungan laktosa pada substrat memengaruhi jumlah

asam laktat yang proses dan nilai pH pada produk akhir kefir.

Penambahan serbuk daun kelor tidak berpengaruh terhadap pH kefir diduga karena kandungan nutrisi pada kelor dengan konsentrasi 1-3% belum cukup mampu memberikan tambahan nutrisi bagi BAL dalam menunjang proses metabolismenya. Pengaruh penurunan pH pada kelor dan juga kefir yang dinutrifikasi serbuk daun kelor dapat juga disebabkan karena komposisi asam pada serbuk daun kelor menyebabkan penurunan nilai pH (Mbikay (2012). Pernyataan Diantoro *et al.*, (2015) mengemukakan bahwa pH pada ekstrak daunkelor cenderung berkisar antara 5,8-6,0. Hal ini relevan dengan hasil penelitian bahwa nilai pH serbuk daun kelor berada dikisaran antara 5,6-5,8.

4.2.Total Padatan Terlarut (TPT)

Berdasarkan analisis sidik ragam, nutrifikasi kefir susu dengan serbuk daun kelor memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap total padatan terlarut. Rentan nilai berkisar antara 0.45 oBrix (k₁) sampai 7 oBrix (k₆) Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan saling berbeda nyata kecuali perlakuan k₀ dan k₄. Perlakuan k₀ dan k₄ tidak berbeda nyata namun berbeda nyata dengan perlakuan lainnya (Data disajikan pada Tabel 3).

Tabel 3. Rata-rata nilai Total Padatan Terlarut (TPT)

Perlakuan	Nilai TPT (°Brix) + SD
k ₀ = kefir susu (kontrol kefir)	6.00 ± 0.00d
k ₁ = 1% serbuk daun kelor	0.45 ± 0.00a
k ₂ = 2% serbuk daun kelor	1.00 ± 0.00b
k ₃ = 3% serbuk daun kelor	1.17 ± 0.14c
k ₄ = kefir susu + 1% serbuk daun kelor	6.00 ± 0.00d
k ₅ = kefir susu + 2% serbuk daun kelor	6.50 ± 0.00e
k ₆ = kefir susu + 3% serbuk daun kelor	7.00 ± 0.00f

Keterangan : angka dengan diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda

nyata berdasarkan uji Beda nyata Jujur (BNJ) taraf 5%.

Jika dibandingkan dengan kontrol kefir, nilai total padatan terlarut pada perlakuan serbuk daun kelor (k_1 , k_2 dan k_3) memiliki nilai lebih rendah, meskipun terus meningkat seiring bertambahnya konsentrasi. Pada perlakuan kefir susu sapi yang ditambahkan serbuk daun kelor, nilai total padatan terlarut cenderung lebih tinggi seiring meningkatnya konsentrasi yang ditambahkan. Total padatan terlarut diartikan sebagai jumlah kandungan bahan yang larut pada pelarut (Farikha *et al.*, 2013). Pada kefir susu sapi, nilai TPT yang tinggi diduga dipengaruhi penguraian senyawa organik oleh bakteri asam laktat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Wardhani *et al.* (2018) bahwa adanya pemutusan senyawa-senyawa karbohidrat rantai panjang dirombak menjadi senyawa gula yang larut menyebabkan peningkatan TPT.

Pada kefir yang ditambahkan dengan serbuk daun kelor, jumlah TPT juga mengalami peningkatan. Peningkatan ini dapat dipengaruhi dengan adanya penambahan serbuk daun kelor. Sesuai dengan pernyataan Endah (2022) bahwa bahan kering yang ditambahkan ke dalam pembuatan kefir memengaruhi jumlah TPT yang tinggi. Serbuk daun kelor sendiri memang memiliki kandungan bahan kering sebanyak 95% Alabi (1994).

4.3.Total BAL (CFU/mL) pada MRS Agar
Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 4, total Bakteri Asam Laktat (BAL) pada seluruh perlakuan menunjukkan variasi. Secara umum, kefir susu yang ditambahkan serbuk daun kelor (k_4 , k_5 , k_6) menunjukkan jumlah BAL yang lebih tinggi dibandingkan kontrol kefir susu tanpa penambahan (k_0), sedangkan serbuk daun kelor tunggal tanpa matriks susu (k_1 , k_2 , k_3) justru tidak

menunjukkan pertumbuhan BAL yang terhitung.

Tabel 4. Rata-rata total BAL

Perlakuan	TOTAL BAL (CFU/mL)
k_0 = kefir susu (kontrol kefir)	5.63×10^9
k_1 = 1% serbuk daun kelor	TFTC
k_2 = 2% serbuk daun kelor	TFTC
k_3 = 3% serbuk daun kelor	TFTC
k_4 = kefir susu + 1% serbuk daun kelor	6.13×10^9
k_5 = kefir susu + 2% serbuk daun kelor	9.97×10^9
k_6 = kefir susu + 3% serbuk daun kelor	4.74×10^9

Keterangan : TFTC (diartikan sebagai nilai < 30 koloni sehingga tidak dihitung)

Berdasarkan Nilai total BAL pada k_0 sebesar $5,63 \times 10^9$ CFU/mL menunjukkan bahwa proses fermentasi kefir susu tanpa penambahan bahan lain telah menghasilkan populasi BAL yang baik dan memenuhi standar mutu mikrobiologis kefir. Nilai ini berada di atas ambang batas minimal yang dipersyaratkan SNI untuk produk susu fermentasi probiotik ($\geq 10^7$ CFU/mL), sehingga dapat dijadikan dasar pembandingan bagi perlakuan lain. Tingginya jumlah BAL pada kontrol ini didukung oleh ketersediaan laktosa sebagai sumber karbon utama dalam susu, yang secara alami dimanfaatkan oleh mikroorganisme starter kefir (kompleks bakteri asam laktat dan khamir dalam biji kefir) untuk tumbuh dan berkembang biak selama proses fermentasi.

Nilai total BAL pada perlakuan k_4 dan k_5 dengan penambahan serbuk daun kelor 1% dan 2% menunjukkan peningkatan jumlah total BAL, hal ini mengindikasikan bahwa penambahan serbuk daun kelor memengaruhi terhadap pertumbuhan BAL. hal ini sesuai dengan pernyataan Zazlan *et al.* (2025) yang menyatakan bahwa daun kelor dapat merangsang peningkatan jumlah bakteri pada fase eksponensial. kandungan

seperti serat, protein, vitamin dan mineral memberikan tambahan nutrisi esensial dan membantu dalam proses metabolisme bakteri asam laktat (Chan, 2003).

4.4.Total Fenol

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa nutrifikasi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor memberikan pengaruh nyata terhadap total fenol, dengan nilai berkisar antara 0,320 mg GAE/g (k_0) hingga 1,253 mg GAE/g (k_6). Berdasarkan uji lanjut, perlakuan k_6 berbeda nyata dengan k_0 , k_1 dan k_2 , sedang dengan k_3 , k_4 dan k_5 tidak berbeda nyata satu sama lain. k_2 tidak berbeda nyata dengan k_3 , k_4 dan k_5 (data ditunjukkan pada Tabel 5). Nilai total fenol secara umum menunjukkan peningkatan seiring meningkatnya jumlah konsentrasi serbuk daun kelor. Jika dibandingkan dengan kontrol, kandungan kefir susu yang dinutrifikasi serbuk daun kelor mengalami peningkatan jumlah total fenol yang signifikan.

Tabel 5. Rata-rata total fenol kefir susu sapi dan serbuk daun kelor

Perlakuan	Total Fenol (mg GAE/g) + SD
k_0 = kefir susu (kontrol kefir)	0.320 ± 0.049a
k_1 = 1% serbuk daun kelor	0.334 ± 0.097a
k_2 = 2% serbuk daun kelor	0.666 ± 0.129ab
k_3 = 3% serbuk daun kelor	1.092 ± 0.258bc
k_4 = kefir susu + 1% serbuk daun kelor	0.900 ± 0.316bc
k_5 = kefir susu + 2% serbuk daun kelor	1.091 ± 0.106bc
k_6 = kefir susu + 3% serbuk daun kelor	1.253 ± 0.031c

Keterangan : angka dengan diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Beda nyata Jujur (BNJ) taraf 5%.

Serbuk daun kelor secara umum memang diketahui memiliki senyawa fenolik yang

tinggi, sehingga jika ditambahkan pada kefir dapat meningkatkan jumlah senyawa fenolnya. Yusmita *et al.* (2023) menyatakan bahwa persentase total fenol pada ekstrak daun kelor berkisar antara 20,90% - 59,21%. Peningkatan atau penurunan kandungan fenolik juga dapat disebabkan oleh aktivitas metabolisme mikroorganisme dan kapasitasnya untuk mendegradasi atau mengubah struktur senyawa fenolik kompleks (Tore *et al.*, 2024). Senyawa fenolik pada bahan juga dapat bersifat berbahaya bagi pertumbuhan mikroorganisme fermentatif, pada serbuk daun kelor diduga dapat juga bersifat antimikroba. sehingga dalam fermentasi kefir mikroorganisme memiliki batas toleransi kandungan senyawa fenolik yang dapat mengancam pertumbuhannya. Pada kefir susu sapi yang ditambahkan serbuk daun kelor 1%-3% kadar senyawa fenolik masih dalam kondisi yang dapat ditoleransi sehingga senyawa fenolik tidak mengalami penurunan.

Menurut Tore *et al.* (2024) penurunan disebabkan oleh aksi degradasi enzim mikroba dalam susu yang diaktifkan selama fermentasi karena dianggap membahayakan pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa bakteri asam laktat (LAB), seperti *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*, dan *Lactobacillus plantarum*, memetabolisme asam fenolik melalui dekarboksilasi dan reduksi. Toleransi *lactobacilli* terhadap senyawa fenolik dan kemampuannya untuk memetabolisme senyawa tersebut bersifat spesifik strain atau spesies. Selama fermentasi, enzim seperti β -glukosidase yang berasal dari mikroorganisme fermentatif bertanggung jawab untuk menghidrolisis senyawa fenolik kompleks menjadi jenis yang lebih sederhana dan peningkatan jumlah kuantitatif total fenolik.

Selain dipengaruhi oleh aktivitas mikroorganisme selama proses fermentasi,

kestabilan senyawa fenolik dalam bahan juga dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain suhu, oksigen, dan enzim. Pembentukan matriks bahan berkaitan dengan kuat atau lemahnya ikatan kompleks antara senyawa polifenol dan komponen lain yang terdapat dalam bahan. Sementara itu, polaritas media ekstraksi berperan dalam menentukan kemampuan senyawa untuk berdifusi ke dalam jaringan bahan serta memengaruhi pelepasan senyawa fenolik dari matriks bahan. Selain faktor tersebut, aktivitas enzimatis yang berlangsung sebelum maupun setelah proses pengolahan juga dapat memengaruhi keberadaan senyawa fenolik. Penggunaan suhu tinggi selama pengolahan dapat menyebabkan kerusakan pada dinding sel, sehingga mendorong pelepasan senyawa fenolik akibat terputusnya ikatan antara senyawa fenolik dan komponen kompleks lainnya (Fitriani *et al.*, 2024)

4.5. Aktivitas Antibakteri kefir terhadap *E. coli* dan *Salmonella* sp.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa nutrisi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) tidak memberikan pengaruh berbeda nyata terhadap aktivitas antibakteri. Berdasarkan Tabel 6 diketahui bahwa nilai diameter zona hambat berkisar antara 0,16–0,79 mm untuk *S. Typhi* dan 0,13–0,37 mm untuk *E. coli*, dengan kategori daya hambat lemah. Hasil uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5% menunjukkan bahwa seluruh perlakuan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan terhadap kedua jenis bakteri uji. Artinya serbuk daun kelor secara tunggal maupun kombinasinya dengan kefir susu, pada rentang konsentrasi 1–3%, belum mampu meningkatkan daya hambat secara nyata dibandingkan kontrol kefir (k_0).

Tabel 6. Aktivitas Antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. Typhi*

Perlakuan	Diameter zona hambat terhadap <i>S. Typhi</i> ± SD	Kategori daya hambat	Diameter zona hambat terhadap <i>E. coli</i> ± SD	Kategori daya hambat
k_0 = kefir susu (kontrol kefir)	0.22 ± 0.267a	Lemah	0.17 ± 0.191a	Lemah
k_1 = 1% serbuk daun kelor	0.16 ± 0.153a	Lemah	0.26 ± 0.063a	Lemah
k_2 = 2% serbuk daun kelor	0.17 ± 0.076a	Lemah	0.20 ± 0.156a	Lemah
k_3 = 3% serbuk daun kelor	0.24 ± 0.095a	Lemah	0.29 ± 0.038a	Lemah
k_4 = kefir susu + 1% serbuk daun kelor	0.29 ± 0.247a	Lemah	0.37 ± 0.166a	Lemah
k_5 = kefir susu + 2% serbuk daun kelor	0.24 ± 0.166a	Lemah	0.23 ± 0.063a	Lemah
k_6 = kefir susu + 3% serbuk daun kelor	0.79 ± 0.601a	Lemah	0.13 ± 0.090a	Lemah

Keterangan : (1) Angka dengan diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Beda nyata Jujur (BNJ) taraf 5%; (2) kategori daya hambat mengacu pada standar daya hambat Davis & Stout (1971).

Secara umum, sudah banyak diketahui bahwa kefir susu sapi dan daun kelor secara terpisah memiliki potensi sebagai antimikroba. Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa kefir memberikan efek antimikroba pada beberapa patogen uji seperti *E. coli*, *S. Typhi*, *S. aureus* (Vieira *et al.* 2021; Azizi *et al.*, 2021; Kimestri *et al.*, 2024). Menurut Raras (2022) kefir memiliki kemampuan sebagai antibakteri dengan berbagai mekanisme seperti kandungan asam organik yang menyebabkan penurunan nilai pH lingkungan, serta keberadaan senyawa

bioaktif yang mampu berperan sebagai antimikroba, beberapa diantaranya seperti eksopolisakarida, Peptida bioaktif (kefiran, asam laktat, asam asetat, vesikel ekstraseluler, biofilm dan lain-lain), senyawa bacteriocin, dan biosurfactan. Sedang daun kelor memiliki kandungan fitokimia seperti Alkaloid, Flavonoid, saponin dan tannin yang bersifat antibakteri (Isyraqi *et al.*, 2020; Sasmita *et al.*, 2021).

Pada penelitian ini, perlakuan kefir dengan atau tanpa penambahan serbuk daun kelor sama-sama memberikan daya penghambatan dengan kategori rendah. Berbeda dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan pradana *et al.* (2018) yang melaporkan bahwa supernatan kefir memiliki zona hambat 20,75 mm terhadap bakteri patogen uji, sedang jika dalam bentuk suspensi memberikan efek zona hambat 24,37 mm. Hal ini diduga karena pada metode yang digunakan dilakukan penyesuaian pH ke arah netral (pH mendekati 7) sehingga menyebabkan kemampuan penghambatan kefir menjadi berkurang. Hal ini dimaksudkan untuk menghindari bias dalam metode yang dikhawatirkan daya hambatnya hanya karena penurunan pH bukan karena senyawa aktif yang dihasilkan. Namun ternyata penyesuaian pH berdampak pada kemampuan penghambatan kefir.

Menurut Penelitian Lv *et al.* (2021) supernatan yang telah dinetralkan pada pH 7, tidak memberikan pengaruh penghambatan terhadap bakteri gram positif ataupun gram negatif yang di uji. Zat antibakteri yang bersifat asam seperti asam organik tidak dapat menjalankan fungsi penghambatannya, atau zat-zat tertentu yang berperan menghambat dalam kondisi asam tidak dapat bekerja sama dengan asam untuk menghasilkan efek antibakteri secara utuh. Hal ini juga mendukung kuat dugaan bahwa mekanisme utama antibakteri dari kefir adalah pH asam karena tingginya asam organik. Lv *et al.* (2021) pun menyatakan

bahwa metabolit bakteri asam laktat diketahui memiliki efek bakterisida dan bakteristatik spektrum luas terhadap pertumbuhan bakteri patogen dan bakteri saprofit, dengan melibatkan berbagai mekanisme baik itu persaingan untuk nutrisi dan penghambatan produksi metabolit (hidrogen peroksida, bakteriosin, dan asam organik). Kombinasi mekanisme tersebut memiliki aktivitas antibakteri yang kuat hanya dalam kondisi asam.

Daun kelor secara mandiri pada perlakuan 1-3% juga memberikan nilai penghambatan rendah, berkisar antara 0.16 mm – 0.24 mm pada *S. Typhi* dan 0.20 mm - 0.29 mm pada *E. coli*. Hal ini diduga karena konsentrasi serbuk daun kelor terlalu rendah. Sesuai Penelitian sebelumnya yg dilakukan Tunas *et al.* (2019) yang menguji aktivitas antibakteri daun kelor pada konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7% dan 9%. Pada penelitian tersebut menunjukkan nilai penghambatan dengan kategori rendah yaitu berkisar antara 0.5 mm, 1.08 mm, 1.58 mm, 5,75 mm dan 1,83 mm.

5. Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan kesimpulan bahwa:

- 1) Nutrifikasi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) berpotensi meningkatkan total BAL namun tidak meningkatkan aktivitas antimikroba pada *E. coli* dan *S. Typhi*.
- 2) Konsentrasi tertinggi nutrifikasi kefir susu sapi dengan serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dalam meningkatkan total BAL yaitu pada perlakuan k5 (kefir susu dengan 2% serbuk daun kelor) dengan jumlah 9.97×10^9 sedangkan perlakuan terbaik terhadap aktivitas antimikroba pada *E. coli* dan *S.*

Typhi adalah perlakuan k0 (kontrol kefir susu sapi)

Saran Dari penelitian yang dilaksanakan, dapat dicoba untuk melakukan pengujian menggunakan ekstrak daun kelor daripada dengan serbuk daun kelor, kemudian perlu ada penyesuaian metode dimana pengujian aktivitas antibakteri perlu dibandingkan antara pengujian dengan penetralan pH dan juga tanpa penetralan pH.

6. Daftar Pustaka

- Abdelshafy, A. M., El-Naggar, E. A., & Kenawi, M. N. (2022). Moringa leaves for improving the health benefits of quinoa fermented by probiotics. *Food Bioengineering*, 1(3–4), 264–275.
- Abu-hussien, S. H., Nasry, A. R., Samy, Z., El-sayed, S. M., Bakry, A., Ebeed, N., Elhariry, H., & Elnoby, T. (2025). Synergistic antimicrobial activity of essential oils mixture of Moringa oleifera, Cinnamomum verum and Nigella sativa against Staphylococcus aureus using L-optimal mixture design. *AMB Express*, 15(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s13568-024-01797-y>
- Adeyemi, O. S., & Elebiyo, T. C. (2014). Moringa oleifera supplemented diets prevented nickel-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2014(1), 958621.
- Alouw, G. E. C., Fatimawali, & Lebang, J. S. (2022). ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACTION FROM JAMAICAN CHERRY LEAVES (Muntingia Calabura L.) on Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa BACTERIA USING WELL DIFFUSION METHOD. *Pharmacy Medical Journal*, 5(1), 36–44.
- Anjliany, M., Pangesti, R. F., & Mualim, I. A. (2023). Water kefir kulit buah naga: pengaruh dari starter dan lama fermentasi. *Seminar Nasional Lahan Suboptimal*, 10(1), 660–673.
- Arslan, S. (2015). A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. *CyTA-Journal of Food*, 13(3), 340–345.
- Aryanta, I. W. R. (2021). Kefir dan manfaatnya bagi kesehatan. *Widya Kesehatan*, 3(1), 35–38.
- Atik, D. S., Gürbüz, B., Bölük, E., & Palabıyık, \.Ibrahim. (2021). Development of vegan kefir fortified with Spirulina platensis. *Food Bioscience*, 42, 101050.
7. Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker-*, 139, 1–66.
- Ayobami, O., Brinkwirth, S., Eckmanns, T., & Markwart, R. (2022). Antibiotic resistance in hospital-acquired ESKAPE-E infections in low-and lower-middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Emerging Microbes & Infections*, 11(1), 443–451. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2030196>
- Azizi, N. F., Kumar, M. R., Yeap, S. K., Abdullah, J. O., Khalid, M., & Alitheen, N. B. (2021). Kefir and Its Biological Activities. *Food*, 10(1210), 1–26.
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 4(4), 665.
- Bourrie, B. C. T., Willing, B. P., & Cotter, P. D. (2016). The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir. *Frontiers in Microbiology*, 7,

- 196946.
- BPOM. (2016). *Kelor Moringa oleifera Lam.* Badan Pengawas Obat dan Makanan.
- Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28(4), 281–370.
- Chadha, M., Shukla, R., Tiwari, R. K., Choudhary, S., Adya, A., & Singh, K. (2024). Optimizing the Formulation of Homemade Milk Kefir Drink from India: Comprehensive Microbial, Physicochemical, Nutritional, and Bioactivity Profiling. *Engineering Proceedings*, 67(1), 44.
- Chan, E. C. S. (2003). Microbial nutrition and basic metabolism. In *Handbook of water and wastewater microbiology* (Vol. 1). Academic Press Cambridge, MA, USA.
- Dai, J., Tao, L., Shi, C., Yang, S., Li, D., Sheng, J., & Tian, Y. (2020). Fermentation improves calcium bioavailability in Moringa oleifera leaves and prevents bone loss in calcium-deficient rats. *Food Science & Nutrition*, 8(7), 3692–3703.
- Diantoro, A., Rohman, M., Budiarti, R., Palupi, H. T., Pertanian, F., & Yudharta, U. (2015). *Pengaruh penambahan ekstrak daun kelor* (. 6(2).
- Elida, M., Gusmalini, G., Agustina, A., & Saufani, I. A. (2020). Viabilitas Sel dan Aktivitas Antimikroba Bio-Kapsul Probiotik Lb paracasei ssp paracasei ML3 Hasil Ekstrusi Karagenan-SKIM. *Jurnal Ilmiah INOVASI*, 20(3).
- Farikha, I. N., Anam, C., & Widowati, E. (2013). Pengaruh jenis dan konsentrasi bahan penstabil alami terhadap karakteristik fisikokimia sari buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) selama penyimpanan. *Jurnal Teknosains Pangan*, 2(1).
- Fatiqin, A., Novita, R., & Apriani, I. (2019). Pengujian *Salmonella* dengan menggunakan media ssa dan *E. coli* menggunakan media EMBA pada bahan pangan. *Indobiosains*, 1(1), 22–29. <https://jurnal.univpgri-palembang.ac.id/index.php/biosains/article/view/2206/2105>
- Fauziah, N., Maulidiyah, M., Hartanto, T. P., Putri, S. N. D., Sabhira, A. S., Mukaromah, I. W., Putri, R. A., Latif, A., Seran, A. A., S.Klau, I. C., & Ningsih, A. W. (2023). Artikel Review : Studi Fitokimia Dan Farmakologi Tanaman Kelor (*Moringa Oleifera Lam*). *The Journal General Health and Pharmaceutical Sciences Research*, 1(4), 45–52.
- Fauziyah, Z., Nia, L., Nandi, F. J., Lingga, R., & Helmi, H. (2023). Identifikasi dan Potensi Probiotik Bakteri Asam Laktat pada Pangan Fermentasi Lokal. *Jurnal Bios Logos*, 13(2), 54–64.
- Fitriarni, D., Zulfahmi, A. N., Assrorudin, A., & Ramadani, D. (2024). Pengaruh penambahan serbuk daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap komposisi proksimat, kadar fenol, dan evaluasi sensoris selai daun kelor. *Jurnal Teknologi Pangan dan Industri Perkebunan (LIPIDA)*, 4(1), 50-63.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Minervini, F., & Limitone, A. (2007). Cell--cell communication in food related bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1–2), 34–45.
- González-orozco, B. D., García-cano, I., Jiménez-flores, R., & Álvarez, V. B. (2022). Invited review : Milk kefir microbiota — Direct and indirect antimicrobial effects. *Journal of*

- Dairy Science*, 105(5), 3703–3715.
<https://doi.org/10.3168/jds.2021-21382>
- Hardiansyah, A., Kusuma, H. H., Gizi, S., Islam, U., Walisongo, N., Fisika, S. P., Islam, U., & Walisongo, N. (2022). Optimalisasi kualitas organoleptik dan aktivitas antioksidan kefir susu kambing dengan penambahan madu lokal bunga randu. *Journal of Nutrition College*, 11(4), 278–284.
- Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., & Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 365s–373s.
- Ibrahim, A., Fridayanti, A., & Delvia, F. (2015). Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat (BAL) dari buah mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 159–163.
- Ibrahim, E. M. M., Bedeer, E. G. E., Hak, N. R. El, Sharaf, Y. A. H., Elsayed, M. G. K., Ali, Y. A. E., Mohamed, N. M. A., Dafer, Y. F. A., Mark, C., Mahmoud, N. S. A., Ibrahim, N. A. E., Eltabbakh, Y. E. A., & Gaber, H. R. (2024). *Journal of Food and Dairy Sciences Effects of Moringa oleifera Leaf and Seed Powder on the Quality and Viability of Probiotic Fermented Milk*. 15(7), 97–102.
<https://doi.org/10.21608/jfds.2024.295997.1159>
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Mazhitov, B. (2018). Characterization of lactic acid bacteria from local cow s milk kefir. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 130(1), 12019.
- Isty, G. M. N., Setyawardani, T., & Sumarmono, J. (2023). Karakteristik Fisik dan Sensori Kefir Susu Sapi yang Diperkaya dengan Ekstrak Beras Hitam. *Jurnal Triton*, 14(2), 573–582.
- Isyraqi, N. A., Rahmawati, D., & Sastyarina, Y. (2020). Studi Literatur: Skrining Fitokimia dan Aktivitas Farmakologi Tanaman Kelor (*Moringa oleifera* Lam). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 12, 202–210.
- Jangnga, I. P., Haskito, A. E. P., Sari, C., & Adrenalin, S. L. (2023). *Total lactic acid bacteria (LAB) and antioxidant activity of goat's milk yoghurt with the addition of red bran during refrigeration storage*.
- Kimestri, A. B., Pratiwi, A., Prasanjaya, P. N. K., & Isnaeni, P. D. (2024). Aktivitas Antibakteri Kefir dengan Media Susu yang Berbeda terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Peternakan Halu Oleo*, 6(2), 100–103.
<https://doi.org/10.56625/jipho.v6i2.47738>
- Kinteki, G. A., Rizqiati, H., & Hintono, A. (2019). Pengaruh lama fermentasi kefir susu kambing terhadap mutu hedonik, total bakteri asam laktat (BAL), total khamir dan pH. *Jurnal Teknologi Pangan*, 3(1), 42–50.
- Kurniawan, K., Milanda, T., & Kusuma, S. A. F. (2025). Kefir: Minuman Fermentasi dengan Manfaat Antibakteri. *Jurnal Ilmiah Global Farmasi (JIGF)*, 3(1), 28–35.
- Kurniawan, R. D. (2025). *UJI RESISTENSI Salmonella sp. TERHADAP PENISILIN, SULFAMETOKSAZOL DAN TETRASIKLIN DARI LIMBAH SAPI PERAH DI KECAMATAN WONOSALAM KABUPATEN JOMBANG* [Wijaya Kusuma Surabaya University].
<https://erepository.uwks.ac.id/20674/>

- [11/artikel.pdf](#)
- Lv, T., Huang, X., Zhang, C., Chen, D., Gu, R., Wa, Y., Peng, K., Zong, L., & Chen, X. (2021). Enhancement of the Antibacterial Properties of Kefir by Adding *Lactobacillus fermentum* grx08. *Journal of Food Protection*, 84(8), 1463–1471. <https://doi.org/https://doi.org/10.4315/JFP-21-113>
- Mahmudah, R., Dewi, D. C., & Maimunah, S. (2023). Pemberdayaan Masyarakat Desa Gadingkulon Dau Kabupaten Malang melalui Pelatihan Pembuatan Kefir untuk Meningkatkan Nilai Ekonomis Susu Sapi. *PengabdianMu: Jurnal Ilmiah Pengabdian Kepada Masyarakat*, 8(5), 789–796.
- Muhialdin, B. J., Zarei, M., Hassanzadeh, K., Yea, C. S., & Ahmadi, R. (2022). Fermentation Process: The Factory of Bioactive Peptides. *Bioactive Peptides from Food*, 233–258.
- Mulyani, S., Sunarko, K. M. F., & Setiani, B. E. (2021). Pengaruh lama fermentasi terhadap total asam, total bakteri asam laktat dan warna kefir belimbing manis (*Averrhoa carambola*). *Jurnal Ilmiah Sains*, 113–118.
- Nafisah, D., Ardyagarani, D., Jannah, B. C., Rachmah, A. N., & Sholihah, T. A. (2025). Pengaruh Penambahan Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) terhadap Tingkat Keasaman Produk Fermentasi Kefir Susu Kedelai. *Sains Dan Matematika*, 10(1), 23–28.
- Nasution, A. N., Harahap, F. M., & Nasution, S. W. (2023). Potensi Antimikroba Ekstrak Daun Kemangi dan Daun Kelor Pada Bakteri *Salmonella typhi*. *Ahmar Metastasis Health Journal*, 3(3), 154–160.
- Nurfadilah, S., Utami, I. K., & Magfirah. (2022). KEFIR EKSTRAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) Kesehatan terpenting mendukung secara sangat dalam adalah kehidupan aspek merupakan minuman fermentasi yang mengandung asam laktat bagi berjalannya aktivitas tubuh dalam menguntungkan optimal. *Kesehat. Farmakologika Jurnal Farmasi Vol.XIX.*, 19(2), 191–203.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). *PERBANDINGAN PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI STARTER YOGURT DENGAN METODE DIFUSI SUMURAN DAN METODE DIFUSI CAKRAM*. 1(September), 41–46. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Nurita, S. R., Perwitasari, T., Patriani, S., & Jayanti, O. (2023). KIE Probiotik Pangan Lokal serta Manfaatnya di PMB Muzilatul Nisma Kota Jambi. *Jurnal Abdimas Kesehatan (JAK)*, 5(2), 411–419.
- Peñalver, R., Martínez-Zamora, L., Lorenzo, J. M., Ros, G., & Nieto, G. (2022). Nutritional and Antioxidant Properties of Moringa oleifera Leaves in Functional Foods. *Foods*, 11(8), 1–13.
- Prayoga, I. P. A., Ramona, Y., & Suaskara, I. B. M. (2021). *BAKTERI ASAM LAKTAT BERMANFAAT DALAM KEFIR DAN PERANNYA DALAM MENINGKATKAN KESEHATAN SALURAN PENCERNAAN*. 9(2), 115–130.
- Pradana, I. P. E., Dewi, S. S., & Wilson, W. (2018, November). Aktivitas Kefir dan Isolat Bakteri Asam Laktat dari Kefir dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhi*. In *Prosiding Seminar Nasional*

- Mahasiswa Unimus (Vol. 1).
- Rahman, H. S., Mahmoud, B. M., Othman, H. H., & Amin, K. (2018). A review of history, definition, classification, source, transmission, and pathogenesis of *Salmonella*: a model for human infection. *Journal of Zankoy Sulaimani*, 20(3–4), 11–19.
- Raras, T. Y. M. (2022). KEFIR: MIKROBIOLOGI, SENYAWA BIOAKTIF, DAN MANFAATNYA PADA PENYAKIT NONINFEKSI. *Majalah Kesehatan*, 9(2), 263–280.
- Rivai, A. T. O. (2020). *Identifikasi Senyawa yang FUNDAMENTAL Terkandung pada Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera)*. 6(2), 63–70.
- Rosa, D. D., Dias, M. M. S., Grzeńskowiak, Ł. M., Reis, S. A., Conceição, L. L., & Peluzio, M. do C. G. (2017). Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. *Nutrition Research Reviews*, 30(1), 82–96.
- Safitri, Y., Gultom, W. R., Tobing, D. A. L., & Sianturi, D. R. (2024). Potensi *Escherichia Coli* Sebagai Resistansi Antibiotik. *Algoritma: Jurnal Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam, Kebumihan Dan Angkasa*, 2(5), 08-20.
- Salminen, S., & Von Wright, A. (2004). *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. CRC press.
- Santarelli, G., Rosato, R., Cicchinelli, M., Iavarone, F., Urbani, A., Sanguinetti, M., Delogu, G., & De Maio, F. (2025). The activity of cell-free supernatant of *Lactobacillus crispatus* M247: a promising treatment against vaginal infections. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 15, 1586442.
- Sasmita, R. F., Herawati, I., & Hilmi, D. (2021). *PERBANDINGAN JUMLAH Lactobacillus acidophilus PADA MEDIA deMan Rogosa Sharpe (MRS) DENGAN ATAU TANPA PENAMBAHAN DAUN*. 2(2), 51–56.
- Sastrosupadi, A. (1999). Rancangan Percobaan Bidang Pertanian. *Edisi Revisi*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Setiarto, R. H. B. (2020). *Teknologi Fermentasi Pangan Tradisional dan Produk Olahannya*. Guepedia.
- Sulmiyati, N. S. S., Fahrodi, D. U., & Ratmawati Malaka, F. (2018). Perbandingan kualitas fisiokimia kefir susu kambing dengan kefir susu sapi. *Jurnal Veteriner Juni*, 19(2), 263–268.
- Suphandi, M., Sugata, M., & Tan, T. J. (2023). Aktivitas antimikroba bakteri asam laktat yang diisolasi dari susu sapi di Indonesia. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 111–119.
- Suriasih, K. (2011). Antimicrobial activity of kefir and lactic acid bacteria isolated from kefir [carbonated fermented milk product in Indonesia]. *Journal of ISSAAS [International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences](Philippines)*, 17(1).
- Tania, M., & Parhusip, A. J. N. (2022). Studi literatur perbandingan mutu mikrobiologis dan fisikokimia minuman fermentasi kefir dari beberapa jenis susu 1. *Jurnal Teknologi Pangan Dan Kesehatan (The Journal of Food Technology and Health)*, 4(1), 25–36.
- Tarihoran, W. C., Hintono, A., & Rizqiati, H. (2022). Total BAL, Viskositas, pH dan Padatan Terlarut Kefir Susu Kerbau Dengan Pemberian Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 10(4), 187–193.
- Triana, A. N., Setyawardani, T., & Sumarmono, J. (2022). *Pengaruh*

- Jenis Susu pada pH , Total Asam dan Warna Kefir Tradisional The Effect of Milk Type on pH , Total Acid and Color of Traditional Kefir.* 4(1), 15–25.
- Umarudin, Adnyana, I. G. A., Rohayati, Slamet, N. S., Sembiring, F., Rakanita, Y., Sari, N. K. Y., Sumariangen, A. B., Kurniati, I., Yuliawati, Permatasari, A. A. A. P., Merdekawati, F., & Dermawan, A. (2023). *BAKTERIOLOGI 2* (H. Akbar (ed.)). Media Sains Indonesia.
- Vieira, C. P., Rosario, A. I. L. S., Lelis, C. A., Rekowsky, B. S. S., Carvalho, A. P. A., Rosário, D. K. A., Elias, T. A., Costa, M. P., Foguel, D., & Conte-Junior, C. A. (2021). Bioactive Compounds from Kefir and Their Potential Benefits on Health: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021(1), 9081738.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2021/9081738>
- Wahyuni, S., Asrikan, M. A., Sabana, M. C. U., Sahara, S. W. N., Murtiningsih, T., & Putriningrum, R. (2013). Uji Manfaat Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk) Untuk Mengobati Penyakit Hepatitis B. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada*.
- Wardani, R., Kawiji, K., dan Siswanti, S. 2018. Kajian variasi konsentrasi cmc (carboxyl methyl cellulose) terhadap karakteristik sensoris, fisik, dan kimia selai umbi bit (*Beta vulgaris* L.) dengan penambahan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum* sp.). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 11(1), 11–19.
<https://doi.org/10.20961/jthp.v11i1.29088>
- Wulansari, P. D., Rezeki, S., Endah, N., Nofriyaldi, A., & Harmayani, E. (2022). *Microbiological , chemical , fatty acid and antioxidant characteristics of goat milk kefir enriched with Moringa oleifera leaf powder during storage.* 2061, 1–10.
- Yusuf, D., Nuraida, L., Dewanti-Hariyadi, R., & Hunaefi, D. (2020). Lactic acid bacteria and yeasts from Indonesian kefir grains and their growth interaction. *Asian J Microbiol Biotechnol Environ Sci*, 22(1), 44–49.
- Zazlan, A. H., Faizal, A., Razis, A., Hussein, A., & Adam, B. (2025). *JOURNAL OF BIOCHEMISTRY , MICROBIOLOGY Effect of Moringa oleifera Leaf Powder Fortification on the Nutritional , Microbial , and Sensory Properties of Kefir.* 13(1), 24–32.