

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1.Umbi Bit (*Beta vulgaris L.*)

2.1.1. Deskripsi dan taksonomi umbi bit



Gambar 2.1 Umbi Bit (*Beta vulgaris L.*) (Maryati dkk., 2020)

Umbi bit merupakan tanaman yang berbentuk rumput memiliki batang yang sangat pendek hampir tidak terlihat, akar tunggangnya tumbuh menjadi umbi dan daunnya tumbuh mengumpul pada leher akar tunggal (pangkal umbi), serta berwarna kemerahan (Chawla dkk., 2016). Umbi bit berbentuk bulat menyerupai gasing, ada pula yang berbentuk lonjong. Bunganya tersusun dalam rangkaian bunga yang bertangkai banyak (Suganya dkk., 2017).

Spesies liar bit berasal dari wilayah Mediterania dan Afrika Utara dengan penyebaran ke arah timur hingga wilayah barat India dan ke arah barat sampai Kepulauan Kanari dan pantai barat Eropa yang meliputi Kepulauan Inggris dan Denmark. Teori yang ada sekarang menunjukkan bahwa bit segar mungkin berasal dari persilangan *B. vulgaris var. maritime* (bit laut) dengan *B. patula*. Spesies liar sekerabatnya adalah *B. atriplicifolia* dan *B. Macrocarpa*. (Lechner dan Stoner, 2019).

Dalam Taksonomi tumbuhan, umbi bit (*Beta vulgaris* L.) diklasifikasikan sebagai berikut (Lange dkk., 1999) :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobinta</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Hama melidae</i>
Ordo	: <i>Caryophyllales</i>
Famili	: <i>Chenopodiaceae</i>
Genus	: <i>Beta</i>
Spesies.	: <i>Beta vulgaris</i> L.

2.1.2. Manfaat dan Kandungan Umbi Bit

Bit salah satu bahan pangan yang sangat bermanfaat. Salah satu manfaatnya adalah memberikan warna alami dalam pembuatan produk pangan. Pigmen yang terdapat pada bit merah adalah betalain. Betalain merupakan golongan antioksidan, yang jarang digunakan dalam produk pangan dibandingkan dengan antosianin dan betakaroten sehingga perlu dimanfaatkan secara maksimal (Lechner dan Stoner, 2019).

Clifford dkk., (2015) melaporkan bahwa umbi bit dapat menjadi sumber pangan yang berpotensi dalam peningkatan kesehatan atau terapi pengobatan untuk beberapa gangguan patologis, memberikan efek antioksidan yang kuat, antiinflamasi, dan protektif pembuluh darah dalam menurunkan tekanan darah, serta membantu mengelola penyakit kardiovaskular dan kanker.

Semua bagian dari tanaman ini memiliki kegunaan obat yang berbeda, seperti anti-oksidan, anti-depresan, anti-mikroorganisme, anti-jamur, anti-inflamasi, diuretik, ekspektoran dan karminatif, hepatoprotektif, atau pelindung kardiovaskular kesehatan. Manfaat lain yang dilaporkan oleh (Kale dkk, 2018) termasuk penghambatan peroksidasi lipid dan efek *chemo-preventative*.

Bit dipandang sebagai pengobatan terapeutik yang menjanjikan dalam serangkaian patologi klinis yang terkait dengan stres oksidatif dan peradangan. Sawicki dkk., (2016) melaporkan bahwa konsumsi jus bit merah menghasilkan

peningkatan senyawa antioksidan termasuk betalain dalam urin. Beberapa individu tidak dapat memetabolisme betanin merah, menyebabkan produksi urin merah (dikenal sebagai beeturia). Betanin dari bit merah ditemukan untuk menghambat lipid peroksidasi dalam membran atau emulsi linoleat yang dikatalisis oleh siklus redoks "besi bebas" (sitokrom c), Metmyoglobin yang diaktifkan H_2O_2 , dan lipoksigenase (Paliwal dkk., 2016).

Komposisi kimia yang terkandung di dalam bit merah berbeda-beda tergantung pada varietas bit merah. Kisaran komposisi kimia dan distribusi senyawa nutrisi bit merah tergantung pada bagian anatomi dari tanaman (daun, batang, akar, kulit) (Sawicki dkk., 2016). Daun bit adalah kaya akan karotenoid dibandingkan dengan umbi-umbian. Ini dijelaskan oleh fakta bahwa karotenoid terakumulasi dalam kloroplas bagian hijau tumbuhan sebagai campuran -karoten, -cryptoxanthin, lutein, zeaxanthin, violaxanthin, dan neoxanthin (Paliwal dkk., 2016).

Daun dan batang hijau adalah solusi sempurna dalam masalah obesitas dan manajemen berat badan, karena memiliki nilai kalori yang rendah. Tingginya kadar vitamin A, K dan C penting untuk produksi protein esensial untuk kesehatan tulang. Sayuran berdaun hijau adalah yang utama sumber zat besi dan kalsium untuk diet apapun. Sayuran berdaun digunakan untuk mencegah penyakit kronis, seperti kanker, penyakit kardiovaskular dan diabetes, karena mereka memiliki anti-aktivitas inflamasi dan antikarsinogenik. Daun umbi bit digunakan untuk menurunkan tekanan darah (Suganya dkk., 2017).

Manfaat kesehatan bit merah ditunjukkan oleh studi *in vitro* dan pra-klinis meliputi: anti-oksidan, anti-oksidatif stres, anti-depresan, anti-kanker, anti-sifat mutagenik, anti-karsinogenik, radioprotektif, serta anti-hipertensi, anti-hiperkolesterolemia, antihiperqlikemik, hematopoetik, anti-bakteri, anti-inflamasi, diuretik, anti-nefrotoksisitas, hepatoprotektif, anti-proliferasi, imunomodulator properti. Jus buah bit, yaitu mampu menghancurkan sel tumor dan sel kanker, mencegah penyakit stroke dan jantung. mampu berfungsi sebagai obat hati dan kantong empedu, dan mampu menurunkan kolesterol. Membersihkan dan menetrakisir racun dalam tubuh, memperkuat fungsi darah dan mengatasi anemia, memproduksi sel-sel darah merah, memperkuat sistem peredaran darah dan sistem

kekebalan tubuh, mengobati infeksi dan radang, menghasilkan energi dan menyeimbangkan tubuh (Chawla dkk., 2016).

Studi telah memberikan bukti bahwa konsumsi umbi bit (seperti jus atau roti tambahan) memberikan efek fisiologis yang menguntungkan yang dapat meningkatkan hasil klinis untuk beberapa patologi, seperti hipertensi, aterosklerosis, gangguan neurodegeneratif, diabetes tipe 2 (Clifford dkk., 2015). Karena vitamin B, bit membantu mengurangi efek demensia dan hilangnya memori dengan meningkatkan aliran darah ke otak (Andhikari dkk., 2017). Sebagai sumber nitrat, konsumsi bit memberikan cara alami untuk meningkatkan ketersediaan nitric oxide (NO), yang dapat mencegah dan menyembuhkan penyakit seperti: hipertensi dan fungsi endotel (Clifford dkk., 2015).

Betalains dan senyawa fenolik lainnya di dalam umbi bit dapat mengurangi kerusakan oksidatif lipid dan juga dapat mengurangi peradangan pada sendi, tulang dan pembuluh darah, membantu pasien menderita asma dan osteoporosis. Betalains menunjukkan efek anti-inflamasi, antiradikal, sehingga membantu mengatur stres oksidatif terkait gangguan pada manusia (Sawicki dkk., 2016).

Bit merah adalah sayuran dengan kandungan lemak rendah, tapi kaya akan karbohidrat, pati, serat larut, protein, menjadi produk dengan nilai kalori sedang. Akar bit kaya akan vitamin C, A, E, K. Kandungan vitamin B (B1-tiamin, B2-riboflavin, B3-niasin, Asam B5-pantotenat, B6-piridoksin, B9-folat dan B12-cyancobalamin), serta asam folat dan antioksidan yang tinggi seperti triterpen, seskuiterpenoid, karotenoid, kumarin, flavonoid (tiliroside, astragalin, rhamnositrin, rhamnnetin, kaempferol), betalains dan senyawa fenolik. Senyawa bioaktif lainnya yang ditemukan dalam bit adalah: saponin, alkaloid (calystegine B1, kalistegin B2, kalistegin C1, kalistegin B3, ipomin), asam amino (treonin, valin, sistin, metionin, isoleusin, leusin, lisin, fenilalanin, histidin, arginin, asam glutamat, prolin, alanin, tirosin - dalam daun), tanin. Akar bit adalah sumber yang baik dari mineral, seperti mangan (baik untuk kesehatan tulang), magnesium, kalium, natrium, fosfor, besi, seng, tembaga, boron, silika dan selenium (Lechner dan Stoner, 2019; Babarykin dkk, 2019).

Nilai nutrisi dari umbi bit dapat dilihat pada tabel 2.1.

Kandungan	Nilai	
	Akar	Daun
Air (g)	91.3 ± 4.29	91.00 ± 4.00
Protein (g)	1.89 ± 0.3	2.20 ± 0.5
Karbohidrat (g)	7.23 ± 2.33	4.33 ± 1.5
Serat (g)	3.25 ± 0.55	3.7
Total gula (g)	6.76 ± 1.23	0.50
Total lipid (g)	0.15 ± 0.05	0.13
Abu (g)	1.08 ± 0.72	2.33
α-Karoten (µg)	22.0 ± 2.0	3.5 ± 0.5
β-Karoten (µg)	0	11.64
Likopen (µg)	30 ± 0.3	0
Lutein + zeaxanthin (µg)	0	1.503
Betain (µg)	128.7 ± 22.0	0
Folat (µg)	109	15
Niacin (mg)	0.334	0.400
Vitamin A, IU	0	6.326
Vitamin B6	0.067	0.106
Vitamin C (mg)	7.2 ± 2.5	30
Natrium, Na (mg)	78.0 ± 5.0	226
Kalium, K (mg)	325 ± 4.5	762
Fosfor, P (mg)	40.00	41
Magnesium, Mg (mg)	23.0 ± 2.0	70
Kalsium, Ca (mg)	16 ± 3.5	117
Mangan, Mn (mg)	0.359 ± 0.04	0.391
Zinc, Zn (mg)	0.365 ± 0.015	0.38
Tembaga, Cu (mg)	0.075	0.191
Besi, Fe (mg)	0.80	2.57

(Sumber: Kale dkk, 2018)

2.2.Kefir

Kefir adalah produk olahan susu yang diolah melalui proses fermentasi oleh berbagai jenis mikroorganisme yaitu bakteri penghasil asam laktat (BAL), bakteri penghasil asam asetat, dan khamir. Kefir tergolong dalam kelompok pangan fungsional simbiotik (Aristya dkk., 2013).



Gambar 2.2. Kefir (El Golli-Bennour dkk., 2018)

Bahan baku pembuatan kefir adalah susu, baik susu sapi, domba maupun kambing. Susu dipanaskan pada suhu 85 °C selama 30 menit atau 95°C selama 5 menit. Tujuan pemanasan untuk membunuh mikroorganisme yang tidak diinginkan dan denaturasi protein untuk meningkatkan viskositas produk. Kemudian susu didinginkan (22 – 23 °C) dan ditambahkan biji kefir, diinkubasi pada suhu 22 – 23°C selama kurang lebih 20 jam atau pada suhu 10°C selama 1 – 3 hari. Pada akhir fermentasi, produk yang dihasilkan mengandung alkohol 0,5 – 1,0%, asam laktat 0,9 – 1,1 % dan gas CO₂. Biji kefir kemudian dipisahkan dari produk, dicuci dan dipersiapkan untuk produksi selanjutnya. Untuk meningkatkan stabilitas maka kefir didinginkan pada suhu 5°C selama beberapa jam untuk pematangan sehingga diperoleh kefir yang baik mutunya (El Golli-Bennour dkk., 2018).

Kefir merupakan produk fermentasi yang unik dari susu dengan penambahan starter kefir grain yang terdiri dari beberapa jenis bakteri asam laktat (BAL) dan yeast nonpatogen yang tergabung dalam ikatan matriks polisakarida, sehingga menghasilkan asam laktat dan alkohol. Kefir termasuk pangan fungsional karena konsumsinya memberi manfaat bagi kesehatan. Bakteri probiotik dalam kefir dapat memberi efek positif bagi kesehatan pencernaan manusia dengan menjaga

keseimbangan mikroflora dalam usus dan menekan pertumbuhan bakteri patogen. Kefir dapat menurunkan kadar kolesterol darah selain dapat menurunkan High Density Lipoprotein (HDL). Kandungan kimia dalam kefir terdiri dari asam laktat berkisar 0,8-1,1%, alkohol 0,5-2,5%, sedikit gas karbondioksida, kelompok vitamin B serta diasetil dan asetaldehid (Lynch dkk., 2021).

Tabel 2.2. Kandungan Nutrisi dari Water Kefir per 100 g

Zat Gizi	Jumlah
Jumlah Energi	160 kkal
Karbohidrat	8 g
Protein	14 g
Lemak	3 g
Natrium	90 mg
Kalsium	300 mg
Vitamin A	500 IU
Vitamin D	1000 IU

(Sumber: Sawitri, 2011)

Komposisi kimiawi kefir tergantung pada bahan baku yang digunakan. Untuk bahan baku dari susu komposisi kimiawi meliputi protein 3,91%, laktosa 2,88%, lemak 2,57% dan etanol 0,94% serta kefir memiliki pH 3,77 – 4,19 dengan derajat keasaman 1% (Sawitri, 2011).

Kefir grains memfermentasikan laktosa pada susu. Kefir dibuat dari susu dapat memberikan aktivitas antioksidan dan antimutagenik, yang berguna untuk mengobati tuberkulosis, penyakit saluran cerna dan kanker (El Golli-Bennour dkk., 2018).

Water kefir selain memiliki cita rasa yang khas dan unik, juga kaya akan nutrisi antara lain air 89,5%; lemak 1,5%; protein 3,5%; abu 0,6%; dengan nilai pH 4,6. Selain itu, kadar asam laktat water kefir berkisar 0,8-1,1%, alkohol 0,5-2,5%, sedikit gas karbondioksida, kelompok vitamin B serta diasetil dan asetaldehid (Srianta, 2015). *Water kefir* juga memiliki manfaat yang besar bagi tubuh yaitu menjaga kesehatan pencernaan, Namun, manfaat yang paling utama dari water kefir yaitu membantu menyehatkan usus (Tumiwa-Bachrens, 2019).

Badan Standar Nasional Indonesia memberi beberapa persyaratan yang harus dipenuhi oleh berbagai macam olahan susu fermentasi sebelum dipasarkan. Beberapa parameter tersebut dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2.3. SNI Minuman Susu Fermentasi Berperisa

No	Parameter	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan		
	1.1. Penampakan		Cair
	1.2. Bau		Normal/khas
	1.3. Rasa		Asam/khas
	1.4. Homogenitas		Homogen
2	Lemak (b/b)	%	Min 0,6 Maks 0,5
3	Protein (Nx6,34) (b/b)	%	Min 1,0
4	Keasaman Titrasi (b/b)	%	0,2 s.d 0,9
5	Cemaran Mikroorganisme		
	5.1. Bakteri <i>Coliform</i>	APM/ml	Maks. 10
	5.2. <i>Salmonella sp/ 25 ml</i>	-	Negatif
	5.3. <i>Listeria monocytogens/ 25 ml</i>	-	Negatif
6	Kultur starter	Koloni/ml	Min 1×10^{-6}

(Sumber : SNI-7552:2009)

2.3.Mikroorganisme Kefir

Menurut Purba dkk., (2018), kefir adalah produk susu yang difermentasikan dengan menggunakan bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, dan ragi jenis khamir dalam proses fermentasi tersebut menghasilkan asam dan alkohol. Pada tahap akhir proses dilakukan dalam kemasan tertutup untuk produksi karbonat dari proses fermentasi bakteri dan khamir.

Butir kefir memiliki komposisi spesies mikroorganisme yang kompleks seperti dominasi bakteri asam laktat, bakteri asetat, khamir, dan jamur (Pogačić dkk., 2013). Secara umum, kelompok mikroorganisme ditemukan dalam butiran *water kefir* adalah *lactobacillus*, *lactococcus*, dan *yeasts*. Mikroorganisme yang terdapat di dalam butir kefir meliputi *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus kefiranofaciens*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus parakefir*, *Saccharomyces cerevisiae*,

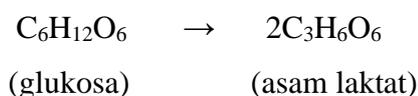
Saccharomyces unisporus, *Leuconostoc mesenteroides*, *Acetobacter sp.*, *Saccharomyces sp.*, *Lactococcus lactis ssp. lactis biovar diacetylactis*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus kefir* (Londero dkk., 2012; Hamet dkk., 2013; dan Diosma dkk., 2014).

2.4. Proses Fermentasi

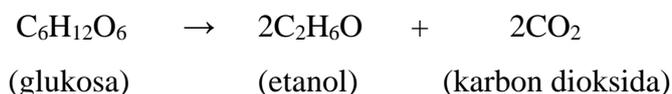
Produksi water kefir harus berlangsung dalam kondisi tertentu, seperti suhu fermentasi antara 25 dan 30°C. Selain itu, pH turun selama proses fermentasi, dari pH awal sekitar 7 hingga kisaran akhir 3,0 sampai 4,5 (Abigail dkk., 2017). Biasanya kandungan alcohol pada kondisi akhir berkisar 0,5% atau lebih rendah. Apabila semua kondisi ini terpenuhi, water kefir yang diproduksi memiliki kualitas yang diharapkan (Stavros dkk., 2016).

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi proses fermentasi dan yield kefir yang dihasilkan, diantara lain komposisi substrat sebagai media tumbuh bakteri, suhu fermentasi, pH, ketersediaan oksigen, dan jenis Mikroorganisme yang digunakan. Kefir memfermentasikan gula menjadi beberapa produk fermentasi seperti asam laktat oleh bakteri asam laktat, alcohol oleh khamir dan asam asetat oleh bakteri asam asetat (Purba dkk., 2018). Reaksi fermentasi glukosa oleh kefir adalah sebagai berikut:

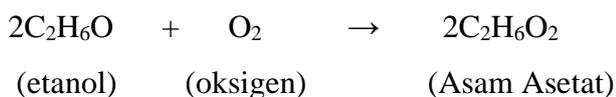
- Reaksi Fermentasi Asam Laktat (Bintsis, 2018)



- Reaksi Fermentasi Etanol (Maicas, 2020)



- Reaksi Fermentasi Asam Asetat (Nguyen dkk., 2015 dan Marsh dkk., 2014)



Dari ketiga reaksi fermentasi tersebut, reaksi fermentasi asam asetat memiliki kondisi yang sedikit berbeda dengan 2 reaksi fermentasi sebelumnya. Reaksi fermentasi asam asetat terjadi dengan kehadiran oksigen (aerob) yang mengoksidasi etanol yang terbentuk dari hasil fermentasi oleh khamir (Nguyen dkk., 2015 dan Marsh dkk., 2014).

2.5. Hal-hal yang Mempengaruhi Proses Fermentasi

Hasil dari fermentasi terutama tergantung pada beberapa faktor yaitu jenis bahan pangan (substrat), macam mikroorganisme dan kondisi di sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme tersebut. Mikroorganisme yang bersifat fermentatif dapat mengubah karbohidrat dan turunan-turunannya terutama menjadi alkohol, asam dan CO₂. Mikroorganisme proteolitik dapat memecah protein dan komponen-komponen nitrogen sehingga menghasilkan bau busuk yang tidak diinginkan, sedangkan mikroorganisme lipolitik akan memecah atau menghidrolisa lemak, fosfolipida dan turunannya dengan menghasilkan bau yang tengik (Gaman, 1992). Apabila alkohol dan asam yang dihasilkan oleh mikroorganisme fermentatif cukup tinggi maka pertumbuhan mikroorganisme proteolitik dan lipolitik dapat dihambat. Prinsip fermentasi adalah mengaktifkan pertumbuhan dan metabolisme dari mikroorganisme pembentuk alkohol dan asam dan menekan pertumbuhan Mikroorganisme proteolitik dan lipolitik. Faktor – faktor yang mempengaruhi fermentasi yaitu jumlah Mikroorganisme, lama fermentasi, pH (keasaman), substrat (medium), suhu, alkohol, oksigen, garam dan air.

a. Mikroorganisme

Fermentasi dilakukan dengan menggunakan kultur murni atau starter. Mikroorganisme sebagai inokulum yang ditambahkan berkisar 3 – 10% dari volume medium fermentasi. Inokulum adalah kultur mikroorganisme yang diinokulasikan ke dalam medium fermentasi pada saat kultur mikroorganisme tersebut berada pada fase eksponensial.

Penggunaan inokulum yang bervariasi ini menyebabkan proses fermentasi dan mutu produk berubah-ubah. Inokulum adalah kultur mikroorganisme yang diinokulasikan ke dalam medium fermentasi pada saat kultur mikroorganisme tersebut berada pada fase eksponensial. Kriteria untuk kultur mikroorganisme

agar dapat digunakan sebagai inokulum dalam proses fermentasi adalah sehat dan berada dalam keadaan aktif sehingga dapat mempersingkat fase adaptasi, tersedia cukup sehingga dapat menghasilkan inokulum dalam takaran yang optimum, berada dalam bentuk morfologi yang sesuai, bebas kontaminasi, dapat mempertahankan kemampuannya membentuk produk (Malaka, 1995).

Mikroorganisme yang digunakan dalam proses fermentasi kefir antara lain bakteri *Lactobacillus bulgaricus* yang termasuk ke dalam golongan Bakteri Asam Laktat (BAL) dan khamir *Candida kefir*.

1. Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri Asam Laktat (BAL) dikelompokkan sebagai bakteri gram positif, bentuk kokus atau batang yang tidak berspora dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat. BAL terdiri dari empat genus yaitu *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* dan *Pediococcus*.

BAL merupakan bakteri yang sering digunakan sebagai starter kultur untuk susu fermentasi dan berpotensi sebagai antikolesterol. Hal tersebut diduga karena adanya Ekspolisakarida/EPS (Malaka, 2005). BAL mampu untuk bersaing dengan bakteri lain dalam proses fermentasi alami karena memiliki ketahanan terhadap pH yang tinggi sampai rendah. Bakteri ini juga dinyatakan sebagai bakteri asidurik atau asidofilik, karena memerlukan pH yang relatif rendah (sekitar 5,4–4,6) supaya tumbuh dengan baik. *Lactobacillus bulgaricus* memproduksi asetaldehida yang membentuk aroma pada yoghurt BAL dibagi menjadi dua kelompok yaitu bakteri homofermentatif dan bakteri bakteri heterofermentatif. Bakteri homofermentatif dengan produk utama adalah asam laktat yang diperoleh melalui proses glikolisis dan bakteri heterofermentatif yang memproduksi asam laktat dan sejumlah etanol, asam asetat, melalui jalur 6-phosphoglukanat/phosphoketolase (Rahman, 1992).

Lactobacillus bulgaricus termasuk dalam kelompok bakteri asam laktat (BAL) homofermentatif dengan asam laktat sebagai produk utama fermentasi karbohidrat melalui fermentasi 1 mol glukosa menjadi 2 mol

asam laktat. *Lactobacillus bulgaricus* merupakan bakteri gram positif, bentuk kokus atau batang yang tidak berspora. Suhu optimum pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* adalah 40 - 45 (Malaka, 2005).

2. Khamir

Khamir adalah organisme uniseluler yang bereproduksi secara aseksual dengan spora. Khamir mempunyai peran penting dalam industri pangan dengan memproduksi enzim yang membantu terjadinya reaksi kimia seperti pembentukan alkohol sebagai metabolit primer maupun senyawa antibakteri sebagai metabolit sekunder. Khamir menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme lain seperti asam amino, vitamin dan mengkondisikan pH. Sebagian besar khamir memerlukan oksigen untuk pertumbuhannya. Substrat yang utama diperlukan selain oksigen adalah gula. Khamir menghasilkan etanol dan gas karbon dioksida dari gula sederhana. Khamir pada umumnya toleran terhadap asam dan dapat tumbuh pada pH 4,0 – 4,5. Rentang suhu pertumbuhan khamir sangat luas yaitu dari 0°C – 50°C, dengan suhu optimum 20°C – 30°C (Rahman, 1992).

Khamir pada kefir belum banyak dipelajari dibanding dengan bakteri pada kefir. Salah satu jenis khamir yang terdapat pada kefir antara lain *Candida kefir*. *Candida kefir* dalam bentuk aseksual adalah *Kluyveromyces marxianus* yang digunakan untuk memproduksi enzim laktase, termasuk jenis khamir yang dapat memfermentasi laktosa (Farnworth, 2005).

b. Lama Fermentasi

Menurut Purba dkk., (2018), apabila suatu sel mikroorganisme diinokulasikan pada media nutrisi agar, pertumbuhan yang terlihat mula – mula adalah suatu pembesaran ukuran, volume dan berat sel. Ketika ukurannya telah mencapai kira-kira dua kali dari besar sel normal, sel tersebut membelah dan menghasilkan dua sel. Sel-sel tersebut kemudian tumbuh dan membelah diri menghasilkan empat sel. Selama kondisi memungkinkan, pertumbuhan dan pembelahan sel berlangsung terus sampai sejumlah besar populasi sel terbentuk.

Waktu antara masing-masing pembelahan sel berbeda-beda, tergantung dari spesies dan kondisi lingkungannya, tetapi untuk kebanyakan bakteri berkisar antara 10 – 60 menit. Tipe pertumbuhan yang cepat ini disebut pertumbuhan logaritmik atau eksponensial karena bila log jumlah sel digambarkan terhadap waktu dalam grafik akan menunjukkan garis lurus. Kenyataannya tipe pertumbuhan eksponensial ini tidak langsung terjadi pada saat sel dipindahkan ke medium pertumbuhan dan tidak terjadi secara terus menerus (Rahman, 1992).

c. pH

Makanan yang mengandung asam pada dasarnya dapat bertahan lama. Hal tersebut akan berbanding terbalik apabila jumlah oksigen dalam kadar yang cukup dan kapang dapat tumbuh serta fermentasi berlangsung terus, maka daya awet dari asam tersebut akan hilang. Dalam kondisi ini Mikroorganisme proteolitik dan lipolitik dapat berkembang biak. Contohnya susu segar pada umumnya akan ditumbuhi dengan beberapa macam Mikroorganisme, mula-mula adalah *Streptococcus lactis* akan menghasilkan asam laktat (Fanworth, 2005).

Pertumbuhan selanjutnya dari bakteri *Streptococcus lactis* akan terhambat oleh keasaman yang dihasilkannya sendiri. Bakteri yang terhambat akan menjadi inaktif sehingga akan tumbuh bakteri jenis *Lactobacillus* yang lebih toleran terhadap asam. *Lactobacillus* juga akan menghasilkan asam lebih banyak lagi sampai jumlah tertentu yang dapat menghambat pertumbuhannya. Selama pembentukan asam tersebut pH susu akan turun sehingga terbentuk “curd” susu. Pada keasaman yang tinggi *Lactobacillus* akan mati dan kemudian tumbuh ragi dan kapang yang lebih toleran terhadap asam. Kapang akan mengoksidasi asam sedangkan ragi akan menghasilkan hasil-hasil akhir yang bersifat basa dari reaksi proteolisis, sehingga keduanya akan menurunkan asam sampai titik dimana bakteri pembusuk proteolitik dan lipolitik akan mencerna curd dan menghasilkan gas serta bau busuk (Rahman, 1992).

d. Suhu

Setiap mikroorganisme memiliki suhu pertumbuhan maksimal, minimal dan optimal, yaitu suhu yang memberikan pertumbuhan terbaik dan perbanyak tercapat. Mikroorganisme dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok

berdasarkan pertumbuhan yang diperlukannya yaitu golongan psikrofil, tumbuh pada suhu dingin dengan suhu optimal 10 - 20, golongan mesofil tumbuh pada suhu sedang dengan suhu optimal 20 – 45 dan golongan termofil tumbuh pada suhu tinggi dengan suhu optimal 50 – 60°C. Suhu fermentasi dapat menentukan macam Mikroorganisme yang dominan selama fermentasi (Gaman, 1992).

Bakteri bervariasi dalam hal suhu optimum untuk pertumbuhan dan pembentukan asam. Bakteri dalam kultur laktat mempunyai suhu optimum 30°C, tetapi beberapa kultur dapat membentuk asam dengan kecepatan yang sama pada suhu 37°C, maupun 30°C. Suhu yang lebih tinggi dari 40°C dapat menurunkan kecepatan pertumbuhan dan pembentukan asam oleh bakteri asam laktat (Rahman, 1992).

e. Oksigen

Oksigen menjadi faktor utama dalam pertumbuhan mikroorganisme. Jamur bersifat aerobik sedangkan khamir dapat bersifat aerobik atau anaerobik tergantung pada kondisinya. Bakteri diklasifikasikan menjadi empat kelompok berdasarkan ketersediaan oksigen, yaitu aerob obligat (tumbuh jika persediaan oksigen banyak), aerob fakultatif (tumbuh jika oksigen cukup, juga dapat tumbuh secara anaerob), anaerob obligat (tumbuh jika tidak ada oksigen) dan anaerob fakultatif (tumbuh jika tidak ada oksigen juga dapat tumbuh secara aerob) (Gaman, 1992).