

Optimalisasi Fermentasi Etanol “Teratai Salju” dengan *Palm Sugar* dan Variasi Sukrosa

Optimization of “Teratai Salju” Ethanol Fermentation with Palm Sugar and Sucrose Variations

Jonathan Puji Sarwoko*, Boy Rahardjo Sidharta, Exsyupransia Mursyanti

Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta, Yogyakarta 55281, Indonesia

*corresponding author, Email: jonathanpuji7@gmail.com

Rekam Jejak Artikel:

Diterima : 29/05/2024

Disetujui : 11/03/2025

Abstract

"Teratai Salju" is a symbiotic community of bacteria and yeast. One of the fermentation results of "teratai salju" was alcohol that is useful as a solvent such as cosmetics, disinfectants, and fuels. This research aims to determine the genus of microorganisms and the maximum ethanol content produced by "teratai salju" using palm sugar and sucrose variations 15, 45 and 85 grams in 250 ml water with 5 repetitions. Stages of research including growth and maintenance of "snow lotus", observation of colonies morphology, yeast staining, negative staining, Gram staining, dry weight measurement, total acid number, pH measurement, and ethanol content measurement. Data analysis was performed by Analysis of variance (ANOVA) followed by a duncan multiple range test with a 95% confidence level with SPSS 15.0. This research was conducted with a Completely Randomized Design (CRD). The results obtained show that ethanol content of "teratai salju" optimized at the addition of 85 gram sucrose at 0,22-0,86%.

Key Words : Ethanol, Fermentation, Sucrose Variation, “Teratai salju”.

Abstrak

“Teratai salju” merupakan komunitas simbiotik bakteri dan yeast. Salah satu hasil fermentasi “teratai salju” adalah alkohol yang bermanfaat sebagai pelarut seperti kosmetik, desinfektan, dan bahan bakar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar etanol yang tertinggi pada fermentasi “teratai salju” dengan gula aren dan variasi sukrosa 15, 45, dan 85 gram dalam 250 ml air dengan pengulangan sebanyak 5 kali. Tahapan penelitian meliputi pertumbuhan dan pemeliharaan “teratai salju”, pengukuran berat akhir, pengukuran total asam, pengukuran pH, dan pengukuran kadar etanol. Analisis data dilakukan dengan *Analysis of variance* (ANOVA) dilanjutkan duncan *multiple range test* tingkat kepercayaan 95% dengan SPSS 15.0. Penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kadar etanol “teratai salju” tertinggi dengan penambahan sukrosa 85 gram sebesar 0,22-0,86%.

Kata kunci : Etanol, Fermentasi, Teratai salju, Variasi Sukrosa.

PENDAHULUAN

“Teratai salju” (*Saussurea involucrata*) atau bunga *Tian Shan Xue Lian* merupakan salah satu tanaman yang tumbuh di pegunungan *Tian Shan* dan *A'er Tai* dengan suhu yang sangat dingin. Bunga dari famili *Asteraceae* ini telah lama digunakan sebagai obat herbal tradisional di Cina (Lv *et al.*, 2010). “Teratai salju” yang difermentasi akan memiliki komunitas mikroorganisme terdiri dari yeast (*Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, dan *Pichia*), bakteri asam laktat (BAL) (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, dan *Streptococcus*), dan terkadang bakteri asam asetat (Bengoa *et al.*, 2019). “Teratai salju” memiliki karakteristik serupa dengan *Kefir Grains*, *Tibetan Mushrooms* dan *Grains of the Prophet Mohamed*. “Teratai salju” merupakan nama dagang dari daerah Tibet, China serta memiliki nama lain *Tibetan Kefir Grains* dan *Kristal Alga* (Richard, 2016).

“Teratai salju” umumnya dibuat menggunakan gula aren (Sulistiani dan Zen, 2015). Gula aren digunakan karena mengandung sukrosa untuk

pertumbuhan mikrobia “teratai salju”, sumber antioksidan (vitamin C, E, dan β -karoten), dan mineral seperti fosfor (Pontoh, 2019). Selain itu, gula pasir (sukrosa) juga dapat digunakan karena mengandung glukosa (Madigan *et al.*, 2015). Gula pasir mengandung 100% basis basah (bb) sukrosa sedangkan sukrosa gula aren 77% basis basah (bb), air 10%bb, abu 2%bb, gula reduksi 10%bb, dan bagian tidak larut air (bahan pengotor seperti ranting atau bunga) 1%bb (Heryani, 2016).

Fermentasi “teratai salju” menghasilkan alkohol, asam piruvat, dan asam laktat (Duran *et al.*, 2022). Manfaat filtrat “teratai salju” antara lain penghasil alkohol atau etanol, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, meningkatkan kesehatan pencernaan, memiliki efek antitumoral, dan antioksidan (Azizi *et al.*, 2021). Etanol yang dihasilkan dari fermentasi “teratai salju” bermanfaat sebagai pelarut seperti kosmetik, desinfektan (Istianah *et al.*, 2018). Etanol juga dapat digunakan

sebagai bahan bakar (Putri et al., 2020). Berdasarkan uraian diatas penelitian bertujuan untuk mengetahui kadar etanol “teratai salju” dari perlakuan variasi sukrosa 15, 45, dan 85 gram.

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknobia-Industri Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta dan pengukuran kadar etanol di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gajah Mada dengan kromatografi gas *Shimadzu GC-2010 Plus series*. Penelitian dilakukan pada bulan Januari-Maret 2019.

Penelitian dilaksanakan menggunakan metode eksperimental, dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan gula aren (83,33 g) dan variasi bobot sukrosa (15, 45, dan 85 g) dengan 5 ulangan. Variabel bebas berupa gula aren dan sukrosa sedangkan variabel terikatnya berupa kemampuan pembentukan etanol. Parameter utama berupa kadar etanol, parameter pendukungnya berupa karakteristik “teratai salju” bobot akhir, derajat keasaman (pH), dan total asam laktat. Data dianalisis menggunakan ANOVA dilanjutkan DMRT pada tingkat kepercayaan 95% berbantu SPSS 15.0 (Sarwoko et al., 2024). Adapun prosedur penelitian meliputi:

Pertubuhan dan Pemeliharaan “Teratai Salju”

“Teratai salju” dari Laboratorium Teknobia-Industri Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta. “Teratai salju” dicuci dengan akuades hingga bersih dan dimasukkan ke dalam botol selai. “Teratai salju” ditimbang sebanyak 15 g dan gula pasir (15, 45 dan 85 g) kemudian dimasukkan ke dalam botol selai berukuran 350 ml. Botol selai ditambah air 250 ml, kemudian botol selai ditutup serta diinkubasi pada suhu 27°C selama 7 hari. Fermentasi “teratai salju” disaring dengan kertas saring menggunakan corong ke dalam gelas beker (Gunawan et al., 2015). Kontrol dibuat dengan fermentasi “teratai salju” 16,67 g ditambah 83,33 g gula aren dan 250 ml air (Sulistiani dan Zen, 2015).

Pengukuran Berat Akhir

“Teratai salju” disaring dengan kertas saring, kemudian ditimbang dan dimasukkan ke cawan porselin. “Teratai salju” dimasukkan oven selama 3 jam dengan suhu 105 °C, kemudian dimasukkan eksikator 10 menit dan ditimbang. Pengukuran berat akhir dihitung dengan rumus (Rizqiati et al., 2020):

$$\text{Berat Akhir} = \text{Berat kering (hari ke-7)} - \text{Berat kering (hari ke-0)}$$

Pengukuran Total Asam Laktat

Filtrat fermentasi “teratai salju” diambil 10 ml, lalu dimasukkan labu ukur 100 ml. Filtrat ditambah akuades hingga batas tanda serta divortex. Filtrat

diambil 10 ml dimasukkan erlenmeyer 100 ml kemudian phenolptalein ditambah 2-4 tetes dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N. Titrasi sampai larutan berwarna merah muda tetap. Perhitungan total asam laktat dilakukan dengan rumus sebagai berikut (Pertiwi et al., 2023):

$$\text{Total Asam Laktat (\%)} = (\text{Volume NaOH} \times \text{N NaOH} \times 9 \times 100 \%) / (\text{Volume Bahan (ml)})$$

Pengukuran pH

Alat pH meter dinyalakan, kemudian elektroda dikonstantkan dengan buffer (Merck) pH 4 dan 7. Elektroda dikeringkan dengan kertas tissue, lalu dicelupkan ke dalam sampel sampai pembacaan skala stabil. Elektroda harus dicelup akuades selama proses menunggu sampel (Sulmiyati et al., 2018).

Pengukuran kadar etanol

Filtrat “teratai salju” yang sudah didestilasi diambil sebanyak 400 mikroliter, kemudian ditambah 200 mikroliter asetonitril. Kadar etanol dan asetonitril diukur dengan kromatografi gas, dan hasil dicatat. Sampel diambil sebanyak 0,4 mikroliter, kemudian diinjeksikan ke alat. Klik *start* dan tunggu sampai menit ke-13. Klik menu *analyzed*, kemudian klik *display-peak report* dan *save* (Setiawati dan Yuniarta, 2018).

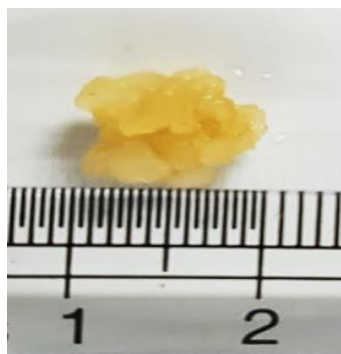
HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik “Teratai Salju”

Karakterisasi “teratai salju” yang digunakan dalam penelitian ini meliputi warna, bentuk, ukuran, dan bau. Hasil karakteristik “teratai salju” yang didapatkan yaitu putih kekuningan, transparan, berbau asam, rapuh, berukuran 0,3-1 cm, dan bentuk tidak beraturan seperti agar. Menurut penelitian Prastujati et al. (2020), bahwa karakteristik kefir grains yaitu berwarna putih sampai putih kekuningan, bentuk seperti bunga kol, bentuk tidak teratur, diameter 2-3 cm. Hasil yang didapat juga sesuai penelitian Gunawan et al. (2015), “teratai salju” berbau masam, mudah rapuh, dan berbentuk menyerupai agar. Karakteristik “teratai salju” seperti pada Gambar 1.

Berat Akhir “Teratai Salju”

Hasil pengukuran berat kering dan berat basah “teratai salju” (Tabel 1), menunjukkan hasil beda nyata pada pemberian sukrosa 85 g. Kemudian hasil pertambahan berat kering “teratai salju” tertinggi sukrosa 85 g sebesar 5,0897 g dan terendah pada sukrosa 15 g sebesar 1,34 g. Hasil pertambahan berat kering “teratai salju” berkisar antara 1,34-5,09 g. Hasil sesuai penelitian Gunawan et al. (2015), berat kering kristal alga dengan penambahan sukrosa 15 g



Gambar 1. Morfologi “Teratai Salju”: Berwarna Putih Kekuningan, Transparan, Berbau Asam, Rapuh, Bentuk Tidak Beraturan, Berukuran 0,3-1 cm, dan Bentuk seperti Agar.

sebesar 0,40 g, sukrosa 45 g sebesar 1,59 g, dan sukrosa 85 g sebesar 3,58 g. Hasil pengukuran berat kering “teratai salju” dapat disebabkan mikroba “teratai salju” merombak gula pada medium untuk pertumbuhan dan produksi metabolit. Semakin banyak gula yang diberikan maka semakin meningkat produksi biomassa “teratai salju”. Selain itu terpenuhinya kebutuhan nutrisi sukrosa untuk pertumbuhan mikrobia di dalam “teratai salju” (Moradi *et al.*, 2023).

Hasil pengukuran berat basah “teratai salju” (Tabel 1), tertinggi pada sukrosa 85 g sebesar 5,87 g dan terendah sukrosa 15 g sebesar 1,99 g. Hasil penelitian berat basah “teratai salju” berkisar 1,99-5,87 g. Hasil ini sesuai penelitian Gunawan *et al.* (2015), bahwa fermentasi kristal alga berat basah dengan penambahan sukrosa 15 g sebesar 0,66 g,

sukrosa 45 g sebesar 1,09 g, dan sukrosa 85 g sebesar 1,55 g. Penambahan berat basah dapat dipengaruhi oleh penambahan konsentrasi nutrisi terutama sukrosa yang digunakan mikroba untuk proses produksi biomassa (Yuliana, 2018).

Berat basah “teratai salju” dengan sukrosa 15 g lebih rendah dibandingkan kontrol dapat disebabkan gula aren memiliki bagian tidak larut air (bahan pengotor seperti ranting atau bunga) 1% sedangkan gula pasir mengandung 100% sukrosa (Heryani, 2016). Selain itu kontrol dibuat dengan fermentasi “teratai salju” 16,67 g ditambah 83,33 g gula aren sehingga memiliki kandungan sukrosa yang lebih besar (Sulistiani dan Zen, 2015). Berat kering “teratai salju” gula aren terendah dapat disebabkan gula aren mengandung polisakarida dalam bentuk lain berupa dextran sebesar 3,41% (Pontoh, 2019), sehingga mikrobia “teratai salju” membutuhkan proses lebih lama untuk menggunakan gula aren dalam fermentasi.

Total Asam “Teratai Salju”

Hasil pengukuran total asam “teratai salju” (Tabel 2), memiliki hasil tidak beda nyata pada setiap variasi sukrosa. Hal ini dapat disebabkan penambahan sukrosa pada medium fermentasi sudah mencukupi kebutuhan nutrisi bagi mikrobia “teratai salju” untuk pembentukan asam laktat (Moradi *et al.*, 2023). Kontrol memiliki total asam tertinggi dapat disebabkan gula aren mengandung asam organik seperti piroglutamat, malat, dan askorbat (Setiawan, 2020). Hal ini menyebabkan total asam kontrol semakin tinggi karena adanya tambahan asam organik dari hasil fermentasi mikroba “teratai salju”.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Berat Akhir (gram) “Teratai salju” dengan Variasi Sukrosa selama 7 Hari.

Variasi Sukrosa	Berat Basah	Berat Kering	Persentase penurunan
Kontrol (Gula aren)	2,32±1,82 ^a	1,05±0,89 ^a	55,02% ^a
15	1,99±1,80 ^a	1,34±0,22 ^a	32,73% ^a
45	2,71±1,16 ^a	2,10±1,56 ^a	22,58% ^a
85	5,87±1,89 ^b	5,09±1,72 ^c	13,39% ^c

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Total Asam “Teratai Salju”

Variasi Sukrosa	Hari ke-0	Hari ke-2	Hari ke-4	Hari ke-7	Rata-Rata
Kontrol (Gula aren)	9,18±9%	14,4±0,90%	20,52±2,15%	29,52±4,29%	18,41% ^a
15 g	1,8±0%	2,16±0,49%	3,24±0,49%	6,84±0,49%	3,51% ^b
45 g	1,8±0%	2,34±0,49%	3,96±0,49%	7,38±0,40%	3,87% ^b
85 g	1,8±0%	2,52±0,40%	5,22±0,75%	8,1±0,64%	4,41% ^b

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Tabel 3. Hasil Pengukuran pH “Teratai Salju”

Variasi Sukrosa	Hari ke-2	Hari ke-4	Hari ke-7	Rata-Rata
Kontrol (Gula aren)	3,62	3,24	2,38	3,08 ^a
15 g	6,21	4,87	4,60	5,23% ^b
45 g	5,46	4,53	4,01	4,67% ^c
85 g	4,88	4,08	3,84	4,27% ^c

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Kadar Etanol “Teratai Salju”

Variasi Sukrosa	Hari ke-2	Hari ke-4	Hari ke-7	Rata-Rata
Kontrol (Gula aren)	0,61%	4,03%	6,30%	3,65% ^a
15 g	0,12%	0,28%	0,54%	0,31% ^b
45 g	0,16%	0,47%	0,72%	0,45% ^b
85 g	0,22%	0,43%	0,86%	0,50% ^b

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata pada tingkat kepercayaan 95%.

pH “Teratai Salju”

Hasil pH perlakuan sukrosa terendah “teratai salju” (Tabel 3) adalah 85 g sukrosa 3,84-4,88 dan tertinggi dengan 15 g sukrosa 4,60-6,21. pH “teratai salju” penelitian ini berkisar antara 3,84-6,21. Hasil pengukuran pH sesuai penelitian Gunawan *et al.* (2015), pH kefir 3,83-4,04. Penurunan pH dapat disebabkan mikrobial pada “teratai salju” menggunakan gula aren dan sukrosa untuk pembentukan asam organik, apabila asam laktat terakumulasi semakin banyak maka pH medium akan semakin menurun (Farnworth, 2008).

Hasil pengukuran pH “teratai salju” (Tabel 3), memiliki hasil beda nyata pada 15 g sukrosa dengan 45 dan 85 g sukrosa. Hal ini dapat disebabkan mikrobial “teratai salju” akan menggunakan sukrosa dan gula aren sebagai sumber energi untuk menghasilkan asam organik seperti asam laktat melalui jalur glikolisis (Anggraeni dan Rosida, 2023). Kontrol lebih rendah dapat disebabkan larutan gula aren memiliki pH awal 6 (Assah dan Makalalag, 2021), sedangkan larutan sukrosa memiliki pH awal 7,2-7,4 (Husna, 2023). Hal ini diperkuat dengan pengukuran total asam pada Tabel 2, bahwa larutan gula aren memiliki total asam 9,18%. Sehingga menyebabkan semakin rendahnya pH fermentasi “teratai salju” gula aren karena produksi asam organik dari fermentasi “teratai salju”.

Kadar Etanol “Teratai Salju”

Berdasarkan perlakuan variasi sukrosa (Tabel 4), diperoleh kadar etanol “teratai salju” tertinggi adalah 85 g sukrosa sebesar 0,22-0,86% dan terendah dengan 15 g sukrosa sebesar 0,12-0,54%. Kadar etanol “teratai salju” penelitian ini berkisar 0,12-

0,86%. Hasil penelitian Gunawan *et al.* (2015), kristal alga memiliki kadar etanol 0,55-0,62%. Peningkatan kadar etanol dipengaruhi peningkatan kadar sukrosa yaitu semakin banyak gula dalam medium maka proses fermentasi terus terjadi dan meningkatkan produksi metabolit seperti alkohol oleh yeast “teratai salju” (Yuliana, 2018).

Hasil pengukuran etanol “teratai salju” memiliki hasil tidak beda nyata pada setiap variasi sukrosa. Hal ini disebabkan sukrosa merupakan gula siap pakai yang dapat langsung diubah menjadi glukosa dan fruktosa oleh enzim invertase oleh mikrobial “teratai salju” sehingga sumber karbon semakin tinggi menyebabkan tingginya biomassa yang dihasilkan. Kadar sukrosa tinggi menyebabkan sel mengubah sukrosa dalam jalur glikolisis kemudian asam piruvat digunakan dalam siklus kreb dan menghasilkan zat antara untuk sintesis lemak dan asam amino seperti asam sitrat untuk perbanyakan sel (Vogel dan Todaro, 1996).

Fermentasi “teratai salju” dengan gula aren memiliki kadar etanol tertinggi dapat disebabkan total asam organik terlalu tinggi sehingga mudah berdifusi ke dalam sel mikrobial dan berdisosiasi menghasilkan ion hidrogen di dalam sitoplasma. Sel mikrobial untuk mempertahankan homeostasis pH internal akan memompa kelebihan proton H⁺ melalui membran plasma-translokasi ATPase menggunakan ATP (adenosin trifosfat) untuk aktivitasnya. ATP yang diperlukan untuk produksi massa sel disalurkan untuk pemeliharaan pH homeostasis di dalam sel daripada pertumbuhan dan produksi etanol meningkat untuk memenuhi kebutuhan ATP (Narendranath *et al.*, 2001).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian optimalisasi fermentasi etanol “teratai salju” dengan variasi sukrosa, dapat disimpulkan bahwa kadar etanol “teratai salju” paling optimal dengan 85 g sukrosa sebesar 0,22-0,86%.

DAFTAR REFERENSI

- Anggraeni, Z. D., & Rosida, D. F. 2023. Kajian Lama Fermentasi dan Konsentrasi Ekstrak Daun Maja (*Crescentia cujete* Linn.) terhadap Karakteristik Kefir Susu Kambing. *Jurnal Sains Peternakan*. 11 (1), pp. 31–44. doi: <https://doi.org/10.21067/jsp.v11i1.8035>
- Assah, Y. F., & Makalalag, A. K. 2021. Karakteristik Kadar Sukrosa, Glukosa dan Fruktosa pada Beberapa Produk Gula Aren. *Indonesian Journal of Industrial Research*. 13 (1), pp. 37–42. doi: [10.33749/jpti.v13i1.7444](https://doi.org/10.33749/jpti.v13i1.7444)
- Azizi, N. F., Kumar, M.R., Yeap, S. K., Abdullah, J. O., Khalid, M., Umar, A. R., Osman, M. A., Mortadza, S. A. S., Alitheen, N. B. 2021. Kefir and its biological activities. *Foods*. 10 (6), pp. 1210. doi: <https://doi.org/10.3390/foods10061210>
- Bengoa, A. A., Iraporda, C., Garrote, G. L., Abraham, A. G. 2019. Kefir micro-organisms: their role in grain assembly and health properties of fermented milk. *Journal of Applied Microbiology*. 126 (3): 686–700. doi: <https://doi.org/10.1111/jam.14107>
- Duran, F.E., Özdemir, N., Güneşer, O., Kök-Taş, T. 2022. Prominent strains of kefir grains in the formation of volatile compound profile in milk medium; the role of *Lactobacillus kefiranofaciens* subsp. *kefiranofaciens*, *Lentilactobacillus kefiri* and *Lentilactobacillus parakefiri*. *European Food Research and Technology*. 248 (4), pp. 975-989. doi: <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03936-2>
- Farnworth, E. R. 2008. Handbook Of Fermented Functiononal Food Second Edition. Boca Ranton: CRC Press.
- Gunawan, G. A., Atmodjo, P. K., Sidharta, B. R. 2015. Variasi kismis dan sukrosa terhadap pertumbuhan, asam laktat, dan alkohol kristal alga. *Jurnal Teknobiologi*. <http://e-journal.uajy.ac.id/id/eprint/7674.pdf>.
- Heryani, H. 2016. Keutamaan Gula Aren dan Strategi Pengembangan Produk. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Husna, A., Putri, D. N., Manshur, H. A. 2023. Performance Analysis of Sugar Production in Ngadirejo Sugar Factory. *Jurnal Agroindustri Halal*. 9 (3), pp. 278-288. doi: <https://doi.org/10.30997/jah.v9i3.6513>
- Istianah, N., Wardani, A. K., and Heppy, F. S. 2018. Teknologi Bioproses. Malang: UB Press.
- Lv, Y. L., Zhang, F. S., Chen, J., Cui, J. L., Xing, Y. M., Li, X. D., Guo, S. X. 2010. Diversity and antimicrobial activity of endophytic fungi associated with the alpine plant *Saussurea involucrata*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 33(8), pp. 1300-1306.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Buckley, D. H. and Stahl, D. A. 2015. Brock Biology of Microorganisms Fourteenth Edition. England: Pearson Education limited.
- Moradi, S., Zeraatpisheh, F., Yazdi, F.T. 2023. Investigation of lactic acid production in optimized dairy wastewater culture medium. *Biomass Conversion Biorefinery*. 13 (16), pp. 14837-14848. doi: <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03230-5>
- Narendranath, N. V., Thomas, K. C., Ingledew, W. M. 2001. Effects of acetic acid and lactic acid on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in a minimal medium. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 26 (3), pp. 171-177.
- Pertiwi, A. F., Taufik, E., Arief, I. I. 2023. Karakteristik Kefir Susu Sapi Dengan Penambahan Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea*). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 28 (1), pp. 34-45. doi: [10.18343/jipi.28.1.34](https://doi.org/10.18343/jipi.28.1.34)
- Pontoh, J. 2019. Penentuan kandungan sukrosa pada gula aren dengan metode enzimatik. *Chemistry Progress*. 6 (1), pp. 26-33. doi: <https://doi.org/10.35799/cp.6.1.2013.2068>
- Prastujati, A. U., Khirzin, M. H., Lusiana, D., Rosidi, A. 2020. Pengaruh Konsentrasi VCO terhadap Profil Asam Lemak, Aktivitas Antibakteri, dan Antioksidan Kefir. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan Tropis*. 7 (3), pp. 166-173. doi: <http://dx.doi.org/10.33772/jitro.v7i2.8642>
- Putri, Y. S., Kushyaryati, D. F., Pramono, H. 2020. Kualitas Yoghurt Dengan Penambahan *Bifidobacterium* Sp. Bb2e. *Bioeksakta: Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*. 2 (1), pp. 49-55. doi: <https://doi.org/10.20884/1.bioe.2020.2.1.1802>
- Richard, B. 2016. A Whole New Generation of Milk Kefir Grains Formed From Freeze-dried Starter Cultures A Fascinating Insight Into a Hidden World. <https://hal.archives->

- ouvertes.fr/HAL-01253250/ [Diakses 1 Juni 2018].
- Rizqiati, H., Nurwantoro, N., Febrisiantosa, A., Shauma, C. A., Khasanah, R. 2020. Pengaruh isolat protein kedelai terhadap karakteristik fisik dan kimia kefir bubuk. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 8 (3), pp. 111-121.
- Sarwoko, J. P., Sumardi., Tugiyono., Susanto, G. N., Irawan, B. 2024. Pola Distribusi Mikroba Dan Pengaruhnya Terhadap Pembenuhan Larva Udang Vanamei Di Hatchery Pantai Ketang Lampung. *Jurnal Ekologi, Masyarakat Dan Sains*. 5 (1), pp. 39-45. doi: <https://doi.org/10.55448/f9ymg556>.
- Setiawan, Y. 2020. Analisis fisikokimia gula aren cair. *Agroscience*. 10 (1), pp. 69-78. <https://pdfs.semanticscholar.org/269d/a5b5a9bba9c25ff2f4973770e33f044b517.pdf>
- Setiawati, A. E., Yuniarta, Y. 2018. Kajian Analisis Suhu Dan Lama Penyimpanan Terhadap Karakteristik Kadar Alkohol Kefir Susu Sapi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 6 (4), pp.77-86.
- Sulistiani, W. S., Zen, S. 2015. Analisis nilai gizi hasil fermentasi larutan gula aren menggunakan teratai salju (*Saussurea involucrata*). *Jurnal Pendidikan Matematika dan IPA*. 6 (2), pp. 49-56. doi: <http://dx.doi.org/10.26418/jpmipa.v6i2.17339>
- Sulmiyati., Said, N. S., Fahrodi, D. U., Malaka, R., Fatma. 2018. Perbandingan Kualitas Fisiokimia Kefir Susu Kambing dengan Kefir Susu Sapi. *Jurnal Veteriner*. 19 (2), pp. 263-268. doi: 10.19087/jveteriner.2018.19.2.263
- Vogel, H. C. and Todaro, C. M. 1996. Fermentation and Biochemical Engineering Handbook 2nd Edition. Waltham: William Andrew Publishing.
- Yuliana, N. 2018. Teknologi Fermentasi Asam Laktat Hasil-Hasil Pertanian. Yogyakarta: Graha Ilmu.