

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. Latar Belakang**

Kefir adalah salah satu produk hasil fermentasi susu yang mengalami perubahan kimiawi penting, di mana laktosa diubah menjadi asam laktat, alkohol, dan karbon dioksida (CO<sub>2</sub>). Sebagai minuman probiotik, kefir mengandung mikroorganisme menguntungkan seperti bakteri asam laktat dan khamir yang memanfaatkan laktosa sebagai sumber energi (Sholichah *et al.*, 2019). Asam laktat yang dihasilkan selama fermentasi memberikan rasa asam yang khas pada kefir, sementara alkohol dan karbon dioksida berkontribusi terhadap tekstur yang berkarbonasi serta menghasilkan aroma yang khas (Sulmiyati *et al.*, 2018). Selain itu, senyawa-senyawa ini turut berperan dalam menjaga keseimbangan microflora di dalam saluran pencernaan. Adanya berbagai manfaat probiotik tersebut, kefir sebagai produk fungsional semakin diminati oleh konsumen yang mulai menyadari pentingnya kesehatan (Hardiansyah dan Kusuma, 2022). Namun, kualitas kefir dapat bervariasi bergantung pada beberapa faktor, seperti jenis susu yang digunakan dan bahan tambahan lainnya (Sumarmono *et al.*, 2017).

Susu kambing dipilih sebagai bahan utama untuk pembuatan kefir dalam penelitian ini karena susu kambing memiliki komposisi nutrisi yang kaya dan manfaat kesehatan yang berbeda dibandingkan dengan susu sapi. Susu kambing mengandung protein sekitar 4,36%, lemak 2,5%, serta karbohidrat (laktosa) 6,86% serta vitamin B1 yang lebih tinggi dibandingkan susu sapi (Arief *et al.*, 2018). Susu

kambing diketahui memiliki asam lemak rantai pendek dan protein yang lebih mudah dicerna oleh manusia, serta memiliki profil alergen yang lebih rendah, sehingga lebih cocok dikonsumsi untuk orang yang memiliki intoleransi terhadap susu sapi (Hardiansyah, 2020). Selain itu, susu kambing juga mengandung lebih banyak mineral seperti magnesium, kalsium, kalium, fosfor, mangan, dan klorin yang berkontribusi pada nilai gizi kefir yang dihasilkan (Sihombing *et al.*, 2023). Maka dari itu, penggunaan susu kambing diharapkan dapat menghasilkan kefir dengan kualitas yang lebih unggul, baik dari segi nutrisi maupun manfaat kesehatan.

Kefir memiliki ciri khas berwarna putih kekuningan yang dapat diadaptasi agar memiliki tampilan produk yang lebih menarik serta optimasi kandungan nutrisi dengan menambahkan unsur lain (Triana *et al.*, 2022). Penambahan ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) dalam kefir merupakan salah satu inovasi yang bertujuan untuk meningkatkan kualitas fungsional dan estetika produk. Bunga telang mengandung senyawa antosianin sebagai pigmen alami yang memberikan warna biru keunguan pada produk, serta memiliki sifat antioksidan yang dapat melindungi tubuh dari kerusakan akibat oksidasi (Sumartini, 2020). Selain menambah nilai estetika yang menarik, ekstrak bunga telang juga dapat meningkatkan manfaat kesehatan dari kefir, dengan potensi anti-inflamasi dan perlindungan terhadap penyakit kronis (Marpaung, 2020). Integrasi bahan alami seperti bunga telang ke dalam produk kefir sejalan dengan *life style* konsumen saat ini yang sedang gencar-gencarnya dalam mengonsumsi produk pangan yang menyehatkan dan bernutrisi.

Proses fermentasi kefir membutuhkan sumber energi yang memadai agar dapat berjalan optimal dan menghasilkan kefir dengan kualitas yang baik. Gula sebagai sumber karbon utama, menyediakan energi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan menghasilkan berbagai senyawa metabolit yang khas (Rossi *et al.*, 2016). Adanya penambahan gula akan mempercepat waktu fermentasi dan meningkatkan kualitas produk akhir. *High Fructose Syrup* (HFS) digunakan dalam penelitian ini sebagai pemanis alternatif yang memiliki karakteristik berbeda dibandingkan dengan gula konvensional seperti sukrosa (Cahyani *et al.*, 2019). HFS memiliki indeks glikemik yang lebih rendah, sehingga lebih disukai sebagai pemanis dalam berbagai produk makanan dan minuman, terutama bagi orang yang ingin mengontrol kadar gula darah (Surja *et al.*, 2019). Namun, penggunaan HFS dalam kefir susu kambing dengan ekstrak bunga telang memerlukan penelitian lebih lanjut karena pemanis ini dapat mempengaruhi karakteristik fermentasi kefir dan daya terima konsumen. Oleh karena itu, meninjau dari potensi dampak yang ditimbulkan, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk memahami bagaimana variasi konsentrasi HFS dapat mengoptimalkan kualitas dan karakteristik kefir susu kambing ekstrak bunga telang.

## **1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi HFS pada kefir susu kambing ekstrak bunga telang terhadap total asam, nilai pH, total khamir dan sifat organoleptik. Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi HFS yang optimal dalam pembuatan kefir susu kambing

ekstrak bunga telang dengan karakteristik terbaik serta sebagai acuan dalam pengembangan produk pangan fungsional yang inovatif dan bernilai jual tinggi di masa depan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Kefir

Kefir adalah minuman fermentasi berbasis susu yang berasal dari wilayah pegunungan Kaukasus dan telah menjadi bagian dari tradisi kesehatan selama berabad-abad (Insani *et al.*, 2018). Minuman ini terkenal karena karakteristik uniknya, yaitu berwarna putih kekuningan, rasa asam yang khas, konsistensi lembut seperti krim, dan sedikit berbuih. Kefir dihasilkan melalui fermentasi susu dengan menggunakan *grain* kefir, yang merupakan matriks kompleks dari protein, lipid, dan polisakarida yang berfungsi sebagai media pertumbuhan bagi mikroorganisme (Mubin dan Zubaidah, 2016). *Grain* kefir ini mengandung berbagai jenis mikroorganisme, yaitu BAL, khamir, dan terdapat juga bakteri asam asetat, yang semuanya berperan penting dalam proses fermentasi (Rohmah dan Estiasih, 2018).

Kefir kaya berbagai nutrisi penting yang meliputi protein, lemak, vitamin seperti B1, B12, dan K, mineral seperti kalsium, magnesium, dan fosfor, serta asam organik seperti asam asetat dan asam suksinat (Farg *et al.*, 2020). Proses fermentasi dalam pembuatan kefir meningkatkan ketersediaan nutrisi-nutrisi ini, sehingga lebih mudah diserap oleh tubuh. Terdapat kandungan senyawa bioaktif di dalam kefir berupa peptida yang memiliki potensi sebagai agen antioksidan, anti-mikroorganisme, dan anti-inflamasi (Saleem *et al.*, 2023). Selain itu, kefir termasuk produk yang tinggi probiotik, yaitu mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat kesehatan terutama dalam mendukung kesehatan saluran pencernaan dan

sistem kekebalan tubuh. Konsumsi kefir telah dibuktikan dapat mengurangi peradangan, menurunkan kadar kolesterol, dan memberikan efek positif pada asupan gula darah, sehingga menjadi pilihan yang baik bagi individu dengan riwayat diabetes (Ostadrahimi *et al.*, 2015).

Proses fermentasi pada kefir melibatkan berbagai mikroorganisme yang bekerja secara sinergis (Novia *et al.*, 2022). BAL seperti *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactococcus lactis*, dan *Leuconostoc mesenteroides* memiliki peran dalam menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan pH kefir dan memberikan rasa asam yang khas, sedangkan khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae* dan *Candida kefir* berkontribusi dalam memproduksi etanol dan karbon dioksida, yang menciptakan tekstur berkarbonasi dan sedikit rasa alkohol pada kefir (Tania dan Parhusip, 2022). Interaksi antar mikroorganisme ini juga menghasilkan polisakarida kompleks yaitu kefiran, yang memberikan konsistensi kental dan stabil (Nursiwi *et al.*, 2015).

Kualitas kefir dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti jenis susu yang digunakan, kondisi fermentasi (suhu dan waktu), serta jenis dan proporsi mikroorganisme dalam *grain* kefir (Berlianti *et al.*, 2022). Susu yang digunakan dapat berasal dari sumber yang berbeda, seperti susu sapi, kambing, atau domba, yang masing-masing memberikan karakteristik nutrisi dan sensorik yang berbeda pula pada kefir. Penggunaan bahan tambahan seperti buah, madu, atau ekstrak tumbuhan juga dapat dilakukan untuk mempengaruhi profil sensori dan kandungan nutrisi kefir. Kondisi fermentasi seperti suhu dan waktu, turut berperan dalam menentukan hasil akhir kefir; fermentasi pada suhu yang lebih tinggi atau waktu

yang lebih lama dapat meningkatkan keasaman kefir dan mengubah profil sensorinya, seperti rasa dan tekstur (Sari *et al.*, 2020). Selain itu, variasi komposisi mikroorganisme dalam *grain* kefir dapat menyebabkan perbedaan kualitas kefir, yang berdampak pada stabilitas, rasa, dan nilai nutrisi produk (Indriasari *et al.*, 2022).

## **2.2. Kefir Susu Kambing**

Susu kambing memiliki sejumlah keunggulan dibandingkan susu sapi terutama dalam hal karakteristik sensorinya yang khas, berupa aroma *goaty* yang dihasilkan dari asam lemak rantai pendek seperti asam kaproat, kaprilat, dan kaprat (Hakim *et al.*, 2021). Meskipun aroma ini mungkin kurang disukai oleh sebagian orang, susu kambing tetap menawarkan manfaat kesehatan yang signifikan. Protein dalam susu kambing memiliki struktur yang lebih halus, membuatnya lebih mudah dicerna oleh tubuh, serta bersifat kurang alergenik bagi sebagian orang sehingga diindikasikan lebih aman untuk dikonsumsi oleh mereka yang memiliki sensitivitas atau alergi terhadap susu sapi yang disebut dengan intoleransi laktosa (Hendrawati dan Isyunani, 2017).

Susu kambing diketahui mengandung jumlah gizi yang lengkap, yaitu mineral penting seperti kalsium, fosfor, magnesium yang berperan dalam kesehatan tulang dan fungsi tubuh lainnya, serta vitamin A, E, B kompleks, yang mendukung fungsi metabolisme dan kesehatan kulit (Anggraeni dan Rosida, 2023). Selain itu, susu kambing juga memiliki globula lemak yang lebih kecil dan warna yang lebih putih. Komposisi rata-rata susu kambing mencakup 87,0% air, 4,25% lemak, 4,27%

laktosa, 3,52% protein, 0,86% abu, dan 13,0% total bahan padat (Nisriinaa dan Nurainy, 2024). Berkat karakteristik ini, susu kambing memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai minuman kesehatan, salah satunya melalui pengolahan menjadi kefir susu kambing.

### **2.3. Bunga Telang (*Clitoria ternatea*)**

Bunga telang (*Clitoria ternatea*) merupakan tanaman yang berasal dari daerah Ternate, Maluku dan dapat tumbuh subur di wilayah tropis seperti Asia, sehingga penyebarannya meluas hingga ke Amerika Selatan, Afrika, Brazil, Pasifik Utara, dan Amerika Utara (Ikhwan *et al.*, 2022). Tanaman ini dikenal dengan berbagai nama, seperti *butterfly pea* dalam bahasa Inggris, bunga teleng di Jawa, dan Mazerion Hidi dalam bahasa Arab. Bunga telang memiliki ciri khas sebagai bunga majemuk dengan kelopak berwarna ungu dan merupakan tanaman merambat yang sering ditemukan di pekarangan rumah, perkebunan, maupun di pinggir sawah (Zahara, 2022).

Bunga telang biasanya dimanfaatkan untuk berbagai tujuan seperti tanaman hias sebagai obat mata, ramuan herbal dengan cara merebus bunganya secara langsung, dan pewarna makanan tradisional (Mahendra, 2022). Selain bunganya yang berwarna biru keunguan, tanaman ini juga menghasilkan buah berbentuk polong berwarna hijau, yang kemudian berubah menjadi hitam ketika matang, sehingga termasuk dalam keluarga polong-polongan. Secara taksonomi, bunga telang termasuk ke dalam kingdom Plantae (Haerani *et al.*, 2024). Tumbuhan ini tergolong ke dalam divisi Tracheophyta, dengan daun yang tidak lengkap serta



memiliki tangkai dan helai daun. Bunga telang memiliki akar tunggang yang terdiri dari empat bagian, yaitu leher, batang, ujung, dan serabut akar. Bunga telang termasuk dalam infradivisi angiospermae dan merupakan tanaman monokotil dari kelas Magnoliopsida dengan ordo Fabales (Angriani, 2019). Adanya bentuk polong yang dimiliki tanaman ini sehingga digolongkan dalam famili Fabaceae (Suarna dan Wijaya, 2021).

Komponen utama bunga telang yang memiliki peran sebagai pewarna disebabkan oleh kandungan pigmen antosianin yang berwarna merah hingga ungu pekat (Fitriandita *et al.*, 2023). Antosianin ini memiliki struktur cincin aromatik dengan komponen polar dan residu glikosil, sehingga dapat menghasilkan molekul polar yang membuatnya menjadi lebih mudah larut dalam air dibandingkan dengan pelarut non-polar. Bunga telang juga mengandung senyawa fitokimia lain seperti flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, alkaloid, dan steroid (Cahyaningsih *et al.*, 2019). Flavonoid yang terkandung dalam bunga telang berperan sebagai sumber antioksidan. Aktivitas antioksidan bunga telang tergolong sangat tinggi, dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 87,86 ppm, membuat bunga telang menjadi agen potensial dalam melawan radikal bebas yang merusak sel-sel tubuh, sehingga membantu mencegah penyakit degeneratif seperti kanker dan penyakit kardiovaskular. Selain itu, bunga telang memiliki efek antiinflamasi, yang dapat membantu mengurangi peradangan dalam tubuh, serta sifat antibakterinya yang efektif melawan infeksi mikroorganisme (Nurhayati *et al.*, 2024). Penelitian juga menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang dapat berfungsi sebagai agen antidiabetes dengan kemampuan menurunkan kadar gula darah (Octavini, 2023).

Pemanfaatan bunga telang dalam industri pangan telah dilakukan di beberapa negara. Misalnya, di Malaysia, warna biru yang dihasilkan oleh bunga telang digunakan sebagai pewarna alami untuk ketan, sementara di Kerala (India) dan Filipina, bunga ini dikonsumsi sebagai sayuran (Handayani *et al.*, 2024). Pewarna alami dari bunga telang dapat diaplikasikan pada produk kefir, yang selain memberi warna biru yang khas, juga berkontribusi terhadap peningkatan nilai gizi kefir, sehingga meningkatkan nilai fungsional produk tersebut. Kefir dengan penambahan bunga telang, baik dalam bentuk bubuk maupun ekstrak, menunjukkan perbedaan karakteristik yang signifikan dalam aspek warna, komposisi kimia, fisik, dan mikrobiologinya. Adanya penambahan bunga telang pada kefir tidak hanya meningkatkan atribut mutu terhadap warna yang lebih menarik, tetapi juga memaksimalkan kandungan antioksidan serta manfaat kesehatannya (Hanum *et al.*, 2021). Hal ini membuka peluang untuk meningkatkan minat konsumen terhadap kefir susu kambing yang diperkaya ekstrak bunga telang, hingga menjadi produk unggulan yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan dan dipasarkan dalam industri makanan dan minuman.

#### **2.4. *High Fructose Syrup* (HFS)**

*High Fructose Syrup* (HFS) adalah pemanis yang dihasilkan dari proses pengolahan pati, umumnya dari jagung (Qonitah *et al.*, 2016). Produk ini memiliki komposisi yang mengandung campuran glukosa dan fruktosa, dengan konsentrasi fruktosa yang bervariasi antara 42% hingga 55%, tergantung pada jenis HFS yang diproduksi. HFS sering dimanfaatkan dalam industri makanan dan minuman

sebagai pengganti sukrosa karena kemampuannya untuk memberikan rasa manis yang lebih kuat dan meningkatkan palatabilitas produk secara keseluruhan (Cahyani *et al.*, 2019). Hal ini menjadikannya pilihan yang populer di kalangan produsen makanan.

Proses pembuatan HFS dimulai dengan hidrolisis pati menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase, yang memecah rantai panjang pati menjadi oligosakarida (Natori *et al.*, 2022). Kemudian, oligosakarida tersebut diubah menjadi glukosa dengan menggunakan enzim amiloglikosidase. Untuk meningkatkan proporsi fruktosa, glukosa yang dihasilkan kemudian diisomerisasi melalui enzim glukosa isomerase, yang mengonversi sebagian dari glukosa menjadi fruktosa (Surja *et al.*, 2019). Proses ini menghasilkan HFS yang memiliki tingkat kemanisan lebih tinggi dibandingkan glukosa murni, sehingga pemakaian HFS dalam produk makanan dapat diminimalkan untuk mencapai rasa manis yang diinginkan (Ramandhani *et al.*, 2022).

Dalam industri makanan dan minuman, HFS memiliki berbagai aplikasi. Pemanis ini sering ditemukan dalam minuman ringan, permen, makanan olahan, serta produk olahan susu. Salah satu keuntungan utama dari HFS adalah kemampuannya untuk meningkatkan rasa manis tanpa menambah kalori secara signifikan dan mudah larut (Khasanah, 2024). HFS yang tergolong ke dalam fruktosa ini juga berfungsi sebagai humektan sehingga membantu mempertahankan kelembapan produk dan memperpanjang masa simpan (Singh *et al.*, 2017).

## **2.5. Total Asam**

Total asam merupakan salah satu parameter kunci dalam evaluasi kualitas produk makanan dan minuman, khususnya pada produk fermentasi seperti kefir, yogurt, dan jus buah. Total asam merujuk pada jumlah asam organik yang terdapat dalam suatu sampel, yang umumnya diukur dalam bentuk asam laktat, asam asetat, atau asam sitrat, tergantung pada jenis produk yang dianalisis (Failasufa *et al.*, 2015). Pengukuran total asam sering dilakukan melalui metode titrasi, di mana sampel diuji dengan larutan basa standar hingga mencapai titik ekuivalen, yang ditandai dengan perubahan warna pada indikator (Erwanto *et al.*, 2018).

Dalam kefir susu kambing, total asam berfungsi sebagai indikator penting untuk menilai kualitas dan stabilitas produk. Selama proses fermentasi, mikroorganisme seperti bakteri asam laktat dan ragi menghasilkan asam laktat sebagai produk utama (Yelnetty *et al.*, 2023). Peningkatan kadar total asam selama fermentasi menandakan aktivitas mikroorganisme yang baik, serta berkontribusi pada rasa asam pada kefir, yang umumnya diinginkan oleh konsumen (Isty *et al.*, 2023). Oleh karena itu, pengukuran total asam sering kali digunakan untuk memantau kemajuan proses fermentasi dan memastikan bahwa produk akhir memenuhi standar kualitas yang telah ditetapkan.

## **2.6. Nilai pH**

Nilai pH adalah salah satu parameter penting yang sering digunakan untuk mengevaluasi kualitas produk makanan dan minuman. Nilai pH mengukur tingkat

keasaman atau kebasaaan suatu larutan, yang merupakan indikator penting dalam banyak proses biokimia yang terjadi dalam produk fermentasi seperti kefir, yogurt, dan minuman berbasis susu lainnya (Steinegger *et al.*, 2020). Nilai pH berperan dalam menentukan karakteristik sensorik, stabilitas, serta keamanan pada produk fermentasi. Kadar pH yang tepat sangat penting untuk menjaga aktivitas mikroorganisme penghasil asam, seperti bakteri asam laktat, yang berperan dalam proses fermentasi (Mubin dan Zubaidah, 2016).

Perubahan nilai pH sering kali terjadi seiring berjalannya proses fermentasi khususnya pada produk fermentasi seperti kefir. Pada awal fermentasi, nilai pH biasanya berada pada kisaran yang lebih tinggi, tetapi seiring waktu dan meningkatnya produksi asam laktat oleh mikroorganisme, nilai pH justru cenderung menurun (Kartika *et al.*, 2019). Penurunan pH ini menunjukkan keberhasilan fermentasi dan dapat berkontribusi pada rasa asam yang diinginkan oleh konsumen (Sun *et al.*, 2018). Selain itu, pH yang rendah juga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen, sehingga meningkatkan keamanan produk akhir.

## **2.7. Total Khamir**

Total khamir adalah parameter penting dalam evaluasi kualitas produk makanan dan minuman, khususnya pada produk fermentasi. Khamir, sebagai mikroorganisme yang terlibat dalam proses fermentasi, memainkan peran krusial dalam pengembangan karakteristik rasa, aroma, dan tekstur produk (Cahyaningsih *et al.*, 2024). Total khamir yang umumnya terkandung di dalam

produk fermentasi mengacu pada jumlah sel khamir yang dapat diisolasi dan dihitung dari sampel produk, yang biasanya diukur menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) pada media pertumbuhan tertentu, seperti *Potato Dextrose Agar* (PDA) (Wulandari *et al.*, 2017).

Proses fermentasi yang dilakukan oleh khamir tidak hanya menghasilkan alkohol, tetapi juga senyawa-senyawa volatil yang memberikan aroma khas pada produk (Ginting *et al.*, 2019). Dalam produk seperti kefir, jumlah total khamir berfungsi sebagai indikator keberhasilan proses fermentasi dan dapat memengaruhi karakteristik sensori dari produk akhir. Peningkatan jumlah khamir selama fermentasi menunjukkan aktivitas fermentasi yang baik, yang berkontribusi pada kualitas organoleptik kefir, seperti rasa dan aroma yang diinginkan (Anggoro *et al.*, 2022). Oleh karena itu, peninjauan total khamir menjadi aspek penting untuk memastikan produk memenuhi standar kualitas yang diharapkan.

## **2.8. Sifat Organoleptik**

Sifat organoleptik merupakan aspek penting dalam penilaian kualitas produk makanan dan minuman, yang mencakup rasa, aroma, warna, tekstur, dan sensasi lainnya yang dapat dirasakan oleh indra manusia (Wijaningsih *et al.*, 2024). Sifat organoleptik ini sangat dipengaruhi oleh aktivitas mikroorganisme selama proses fermentasi. Mikroorganisme seperti bakteri dan khamir, menghasilkan berbagai senyawa yang memberikan karakteristik unik pada produk akhir, sehingga penilaian organoleptik menjadi sangat relevan (Muizuddin dan Zubaidah, 2015).

Salah satu parameter organoleptik yang krusial adalah rasa, yang dihasilkan dari interaksi kompleks antara asam, gula, dan senyawa volatil (Maulina dan Hasdar, 2024). Dalam kefir susu kambing yang diformulasi dengan bahan tambahan seperti bunga telang, adanya perubahan rasa dapat terjadi akibat penambahan komponen tersebut. Penelitian yang dilakukan oleh Gracelia dan Dewi (2022) menunjukkan bahwa penambahan ekstrak bunga telang dapat meningkatkan rasa dan aroma produk, menciptakan keseimbangan antara rasa asam dari fermentasi dan keharuman bunga telang. Oleh karena itu, analisis rasa tidak hanya penting untuk mengidentifikasi preferensi konsumen, tetapi juga untuk memahami bagaimana formulasi dapat memengaruhi kualitas produk.

Atribut aroma memiliki peran signifikan dalam menentukan sifat organoleptik. Senyawa aromatik yang dihasilkan oleh mikroorganisme selama fermentasi memberikan kontribusi besar terhadap pengalaman sensorik konsumen (Maharani dan Soeka, 2023). Perubahan dalam jumlah dan jenis mikroorganisme dapat memengaruhi profil aroma kefir. Keseimbangan antara aroma kefir dan bahan tambahan seperti bunga telang sangat penting untuk menciptakan produk yang disukai konsumen (Amanah dan Suryani, 2024).

Warna dan tekstur juga merupakan elemen penting dalam sifat organoleptik (Gul *et al.*, 2018). Warna dapat memberikan petunjuk visual tentang kualitas dan kesegaran produk, sementara tekstur memengaruhi *mouth taste* dan pengalaman konsumsi. Faktor tekstur pada produk kefir dapat dipengaruhi oleh komposisi susu, serta jumlah dan jenis kultur yang digunakan dalam fermentasi (Tania dan Parhusip, 2022). Pengujian sifat organoleptik sering dilakukan dengan

melibatkan panelis semi terlatih yang memberikan penilaian berdasarkan skala hedonik, yang memungkinkan peneliti untuk memahami preferensi konsumen dengan lebih baik (Setyawardani *et al.*, 2017).



## BAB III

### MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2024 – April 2025. Penelitian ini dilakukan pada waktu tersebut agar mendapatkan hasil yang maksimal, disesuaikan dengan kondisi bahan serta lingkungan laboratorium yang mendukung berjalannya proses analisis. Penelitian dilakukan di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian serta Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

#### 3.1. Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu susu kambing murni yang didapatkan dari peternakan kambing pribadi di Gunungpati milik Ibu Lis, *grain* kefir, bunga telang kering dibeli melalui *online shop* “Aydaa Store Snack & Cemilan” di Surakarta, HFS 55% dibeli melalui *online shop* “Powder Bubble Blast” di Bekasi, *chloramphenicol bernofarm* kapsul 250 mg dibeli melalui *online shop* “Apotek Bintang Farma K24” di Bekasi dengan resep dokter, indikator fenolftalein (PP) 1%, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), spirtus, *aquadest*, air mineral botol, NaCl fisiologis 0,85%, NaOH 0,1 N, dan alkohol 70%.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *refrigerator* (GEA, China), *freezer*, timbangan analitik, rak tabung reaksi, tip mikropipet, *laminar air flow*, *autoclave* (Hirayama, Jepang), *grinder* (Maksindo, Indonesia), *hot plate* (IKA, Jerman), *vortex* (DLAB, USA), mikropipet (DragonLab, China), aluminium foil,

spatula logam, inkubator (Memmert, Jerman), *magnetic stirrer*, toples plastik, plastic PE, kompor, tabung reaksi, baskom, nampan, ayakan 60 *mesh*, kain saring, sendok, *plastic wrap*, kapas, *cup* plastik, gelas ukur (Herma, Jerman), gelas beaker (Pyrex, Perancis), erlenmeyer (Pyrex, Perancis), labu ukur (Pyrex, Perancis), panci, termometer, cawan petri (Pyrex, Perancis), pipet tetes, *sentrifuge tube*, bunsen, buret, dan pH meter Ohaus, korek api, masker, dan spidol.

### 3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian ini terdiri dari rancangan percobaan, prosedur penelitian, pengujian parameter dan analisis data yang diperoleh dari hasil percobaan. Urutan metode tersebut diuraikan sebagai berikut:

#### 3.2.1. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang menggunakan 5 perlakuan dengan 4 ulangan sehingga diperoleh 20 unit percobaan. Perlakuan yang diberikan, yaitu perbedaan konsentrasi HFS sebesar 0% (P<sub>0</sub>), 2,5% (P<sub>1</sub>), 5% (P<sub>2</sub>), 7,5% (P<sub>3</sub>), dan 10% (P<sub>4</sub>) (v/v) pada pembuatan kefir susu kambing ekstrak bunga telang.

Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan model sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \pi_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

$Y_{ij}$  = angka pengamatan dari perlakuan perbedaan konsentrasi HFS ke-i (1, 2, 3, 4, 5) pada ulangan ke-j (1, 2, 3, 4)  
 $\mu$  = nilai tengah perlakuan  
 $\pi_i$  = pengaruh perlakuan ke-i (P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>)  
 $\varepsilon_{ij}$  = galat (*error*) dari perlakuan perbedaan konsentrasi HFS pada taraf ke-i (P<sub>0</sub>, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub>) dan ulangan ke-j (U<sub>1</sub>, U<sub>2</sub>, U<sub>3</sub>, U<sub>4</sub>)

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu:

H0 : perbedaan konsentrasi HFS pada kefir susu kambing ekstrak bunga telang tidak berpengaruh nyata terhadap total asam, nilai pH, total khamir dan sifat organoleptik

H1 : perbedaan konsentrasi HFS pada kefir susu kambing ekstrak bunga telang berpengaruh nyata terhadap total asam, nilai pH, total khamir dan sifat organoleptik

Secara statistik, hipotesis empiris di atas dapat dijabarkan sebagai berikut:

H0 :  $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

H1 :  $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4$ , atau terdapat satu pengaruh perlakuan

Kriteria pengujian analisis statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

Jika  $P \geq \text{sig } 0,05$  (dengan  $\alpha = 0,05$ ), maka H0 diterima dan H1 ditolak

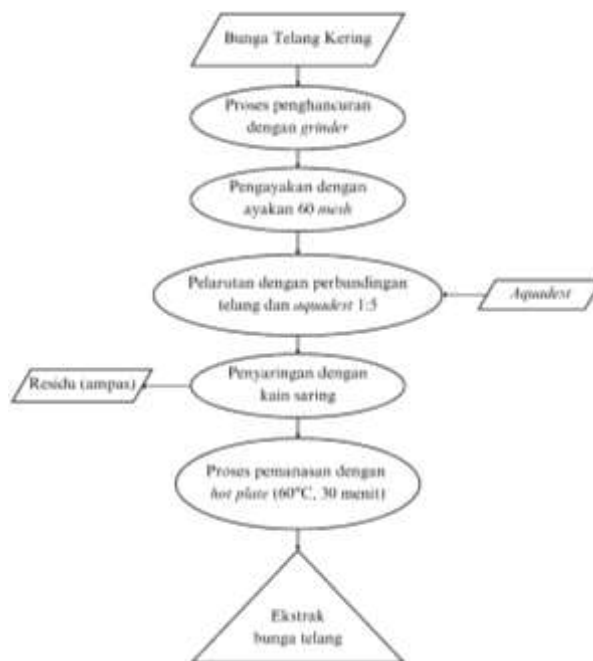
Jika  $P < \text{sig } 0,05$  (dengan  $\alpha = 0,05$ ), maka H0 ditolak dan H1 diterima

### **3.2.2. Prosedur Penelitian**

Prosedur penelitian dilakukan dalam 3 tahapan, yaitu pembuatan ekstrak bunga telang, dilanjutkan dengan pembuatan kefir susu kambing ekstrak bunga telang dengan perbedaan penambahan konsentrasi HFS, lalu tahapan terakhir yaitu pengujian parameter.

**3.2.2.1. Pembuatan Ekstrak Bunga Telang.** Pembuatan ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea*) mengacu pada metode Turang *et al.* (2023) dengan modifikasi. Proses awal yaitu menghancurkan bunga telang yang sudah kering menggunakan alat *grinder* hingga menjadi partikel halus seperti tepung. Bunga telang yang telah

halus disaring terlebih dahulu menggunakan ayakan 60 *mesh*. Saringan bunga telang dilarutkan dalam *aquadest* dengan perbandingan bunga telang dan *aquadest* adalah 1:5. Larutan disaring menggunakan kain saring hingga benar-benar kering. Hasil saringan berupa ekstrak bunga telang ini dipanaskan menggunakan *hot plate* pada suhu 60°C selama 30 menit untuk membantu melarutkan senyawa aktif dan mengurangi kadar air sehingga ekstrak lebih stabil. Setelah itu, ekstrak didinginkan dan ditutup menggunakan *plastic wrap*. Diagram alir proses pembuatan ekstrak bunga telang dapat dilihat pada Ilustrasi 1.

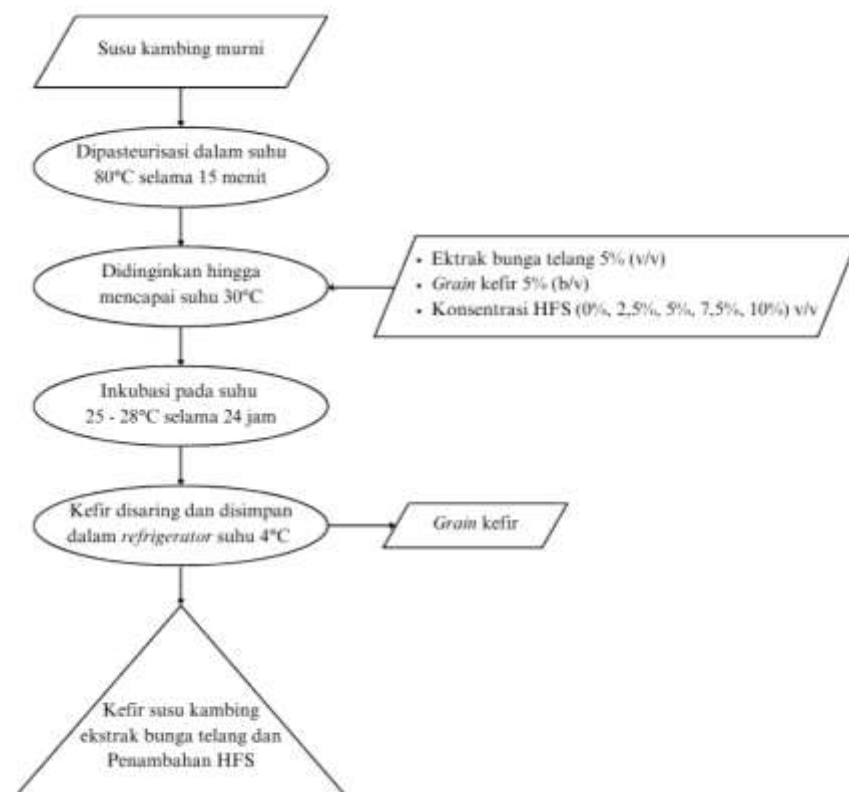


Ilustrasi 1. Diagram Alir Proses Pembuatan Ekstrak Bunga Telang

### 3.2.2.2. Kefir Susu Kambing Ekstrak Bunga Telang dan Penambahan HFS.

Pembuatan kefir susu kambing ekstrak bunga telang dengan perbedaan penambahan konsentrasi HFS dilakukan berdasarkan metode Supriatna *et al.* (2022) dengan modifikasi. Tahap awal dimulai dengan proses pasteurisasi pada susu kambing dalam suhu 80°C selama 15 menit. Susu kambing didinginkan beberapa saat hingga suhunya

mencapai 30°C lalu dipindahkan ke dalam wadah dan diberikan ekstrak bunga telang 5% (v/v). Larutan diaduk secara merata dengan dimasukkan *grain kefir* sebanyak 5% (b/v) dan dipisahkan menjadi lima sampel. Masing-masing sampel diberikan konsentrasi HFS berdasarkan perlakuan yang telah ditentukan, yaitu 0%; 2,5%; 5%; 7,5%; 10% (v/v). Proses selanjutnya berupa inkubasi yang berlangsung pada suhu ruang antara 25 – 28°C selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan penyaringan untuk memisahkan *grain kefir* dari hasil produknya. Kefir susu kambing yang telah diberi ekstrak bunga telang dan tambahan HFS kemudian disimpan dalam *refrigerator* bersuhu 4°C. Diagram alir pembuatan kefir susu kambing ekstrak bunga telang dan tambahan HFS dapat dilihat pada Ilustrasi 2.



Ilustrasi 2. Diagram Alir Proses Pembuatan Kefir Susu Kambing Ekstrak Bunga Telang dan Penambahan HFS

### 3.2.3. Pengujian Parameter

Tahap ketiga yang dilakukan pada penelitian ini setelah dihasilkan kefir susu kambing ekstrak bunga telang dengan perbedaan penambahan konsentrasi HFS yaitu dilanjutkan pengujian parameter. Pengujian yang dilakukan yaitu pengujian total asam, pengujian nilai pH, pengujian total khamir, dan pengujian sifat organoleptik.

**3.2.3.1. Pengujian Total Asam.** Pengujian total asam dilakukan dengan metode titrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N. Langkah pertama, harus melakukan pengenceran sampel terlebih dahulu karena konsistensi kefir yang terlalu kental menimbulkan proses berjalannya titrasi menjadi tidak optimal dan tidak terjadi perubahan nyata warna yang diinginkan. Sebanyak 10 ml sampel tiap perlakuan dimasukkan ke dalam gelas ukur, kemudian dipindahkan ke labu ukur ukuran 100 ml. Labu ukur yang telah terisi sampel ditambahkan *aquadest* untuk dilakukan pengenceran hingga batas garis meniskus. Setelah itu, dilakukan penggojokan larutan agar homogen. Larutan 100 ml tersebut diambil 20 ml ke dalam erlenmeyer sebagai volume titrasi pada masing-masing perlakuan.

Sebelum titrasi dijalankan, harus membilas buret menggunakan *aquadest* agar tidak terdapat residu larutan lain yang dapat mengganggu hasil akhir titrasi. Buret yang telah dibilas diisi dengan larutan NaOH. Pengujian dapat dimulai dengan menambahkan 2 hingga 3 tetes indikator fenolftalein (PP) 1% ke dalam erlenmeyer dan digoyang pelan agar tercampur. Sampel kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N dengan menggerakkan buret secara perlahan-lahan hingga

terjadi perubahan warna menjadi merah muda yang stabil (usahakan jangan sampai *over* titrasi). Prosedur ini mengacu pada standar SNI 2981:2009 dan metode yang telah dimodifikasi dari beberapa penelitian sebelumnya (Pertiwi *et al.*, 2023). Keasaman titrasi dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Total Asam (\%)} = \frac{V1 \times N \times B \times FP}{V2 \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan:

V1 = Volume larutan NaOH (ml);

V2 = Volume awal sampel untuk pengenceran (ml);

N = Normalitas larutan NaOH;

B = Berat molekul asam laktat (90);

FP = Faktor Pengenceran 100/20 (Volume total larutan pengenceran/volume titrasi)

**3.2.3.2. Pengujian Nilai pH.** Pengujian nilai pH dilakukan menggunakan alat pH meter digital (Ohaus), yang mengacu pada metode yang dilakukan oleh Setiadi dan Husni (2024). Pertama, *probe* dibersihkan dengan *aquadest* terlebih dahulu dan dikeringkan menggunakan *tissue* untuk setiap pengukuran sampel kefir. Sampel uji yang telah dipersiapkan sebanyak 60 ml ditempatkan dalam *beaker glass*. *Probe* yang telah dibersihkan sebelumnya lalu dicelupkan ke dalam sampel, tetapi ujungnya jangan sampai menyentuh dasar (hingga batas garis kuning). Apabila telah tercelup sempurna dan dikencangkan, tekan *Read/Enter* pada alat pH *electrode*. Elektroda ditunggu beberapa saat dalam larutan sampel hingga angka yang ditampilkan stabil dan hasil pH dapat dibaca. Selanjutnya, *probe* diangkat dan dibersihkan kembali sisa-sisa sampel yang menempel.

**3.2.3.3. Pengujian Total Khamir.** Pengujian total khamir dilakukan dengan metode pengenceran dan menggunakan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) sebagai medium pertumbuhan (Kinteki *et al.*, 2019). Untuk menghambat

pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan selama pengujian total khamir, media PDA diperkaya dengan antibakteri berupa kloramfenikol sebanyak 50 mg/L (Cempaka *et al.*, 2024). Penggunaan antibakteri ini sangat krusial untuk memastikan bahwa jumlah koloni yang dihitung murni berasal dari khamir, sehingga tidak terpengaruh oleh kontaminasi bakteri yang dapat mengganggu akurasi hasil pengujian.

Pengujian total khamir mengacu pada metode yang dilakukan oleh Rohman *et al.* (2019). Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan ke dalam 9 ml larutan NaCl fisiologis 0,85% dan dihomogenkan menggunakan *vorteks*. Proses pengenceran dilakukan secara bertahap hingga pengenceran  $10^{-4}$ . Pada 3 pengenceran terakhir, 1 ml suspensi dimasukkan ke dalam cawan petri secara duplo dan ditutup agar tidak terjadi adanya kontaminasi, lalu ditambahkan 15 ml medium PDA steril bersuhu 50°C dengan dibuka sedikit. Cawan petri digerakkan perlahan membentuk angka delapan untuk menyebarkan sel khamir secara merata. Setelah media memadat, cawan petri diinkubasi dalam posisi terbalik pada suhu 25°C selama 48 jam. Apabila proses inkubasi telah selesai, jumlah koloni khamir dihitung menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC), dengan memperhatikan koloni yang berjumlah antara 30 hingga 300 pada setiap seri pengenceran. Data jumlah koloni khamir yang diperoleh kemudian ditransformasikan ke dalam bentuk  $\log_{10}$  (nilai CFU/mL) sebelum dianalisis secara statistik.

$$\text{Total Khamir (CFU/mL)} = \text{Jumlah koloni (rata-rata)} \times \frac{1}{\text{Faktor Pengenceran (FP)}}$$



**3.2.3.4. Pengujian Sifat Organoleptik.** Atribut organoleptik yang dinilai dalam pengujian ini meliputi warna, aroma, rasa, tekstur, dan sensasi soda. Formulir uji organoleptik dapat dilihat pada Lampiran 1. Pengujian organoleptik dilakukan menggunakan kefir segar yang ditambahkan ekstrak bunga telang tepat sebelum pengujian, untuk memastikan kualitas produk tetap terjaga (Prastiwi *et al.*, 2018). Pengujian ini melibatkan 30 panelis yang semi terlatih. Sebagai langkah untuk mengurangi subjektivitas, setiap sampel diberi kode 3 digit secara acak. Panelis menerima kuisisioner berisi instruksi, informasi pribadi, dan rincian pengujian, termasuk tanggal dan sampel yang diuji. Selama pengujian, tersedia air minum gelas untuk menetralkan rasa antara sampel. Kuisisioner ini dirancang secara komprehensif untuk mengumpulkan data penilaian sensori dari setiap panelis. Selain skala penilaian untuk atribut yang dinilai, kuisisioner juga menyertakan pertanyaan terbuka yang memungkinkan panelis memberikan komentar tambahan dan masukan tentang produk yang diuji.

### **3.3. Analisis Data**

Data yang diperoleh dari pengujian total asam, nilai pH, dan total khamir dilakukan analisis menggunakan uji parametrik *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan bantuan aplikasi SPSS for Windows 26.0 pada  $P < \text{sig } 0,05$ , dan apabila terdapat pengaruh perlakuan dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui adanya perbedaan nyata antar perlakuan. Analisis data uji organoleptik yang meliputi atribut rasa, tekstur, aroma, dan warna menggunakan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis*, apabila

perlakuan berpengaruh dilakukan pengujian lanjut dengan *Mann-Whitney U Test* (Rizqiati *et al.*, 2021).