

**SIFAT FISIKOKIMIA DAN MIKROBIOLOGI KEFIR WHEY
SUSU SAPI YANG DITAMBAHKAN PENSTABIL
PEKTIN KULIT JERUK (*Citrus sp.*)**

SKRIPSI

Oleh

IEZ ANINDYA



**PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026**

SIFAT FISIKOKIMIA DAN MIKROBIOLOGI KEFIR WHEY
SUSU SAPI YANG DITAMBAHKAN PENSTABIL
PEKTIN KULIT JERUK (*Citrus sp.*)

Oleh

IEZ ANINDYA
NIM: 23020122140113

Salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknologi Pangan pada Program Studi S-1 Teknologi Pangan
Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro

PROGRAM STUDI S-1 TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS PETERNAKAN DAN PERTANIAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2026

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Iez Anindya
N I M : 23020122140113
Program Studi : S1-Teknologi Pangan

dengan ini menyatakan sebagai berikut :

1. Skripsi yang berjudul: **Sifat Fisikokimia dan Mikrobiologi Kefir Whey Susu Sapi yang Ditambahkan Penstabil Pektin Kulit Jeruk (*Citrus sp.*)** dan penelitian yang terkait dengan skripsi ini merupakan karya penulis sendiri.
2. Setiap ide atau kutipan dari karya orang lain berupa publikasi atau bentuk lainnya dalam skripsi ini, telah diakui sesuai dengan standar prosedur disiplin ilmu.
3. Penulis juga mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu: **Dr. Heni Rizqiati, SPt., M.Si.** dan **Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc.**

Apabila di kemudian hari dalam skripsi ini ditemukan hal-hal yang menunjukkan telah dilakukannya kecurangan akademik maka penulis bersedia gelar sarjana yang telah penulis dapatkan ditarik sesuai dengan ketentuan dari Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Mei 2026

Penulis,



Iez Anindya

Mengetahui:

Pembimbing Utama

Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si.

Pembimbing Anggota

Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : SIFAT FISIKOKIMIA DAN
MIKROBIOLOGI KEFIR WHEY SUSU SAPI
YANG DITAMBAHKAN PENSTABIL
PEKTIN KULIT JERUK (*Citrus sp.*)

Nama Mahasiswa : IEZ ANINDYA

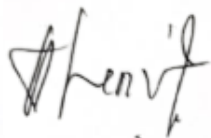
Nomor Induk Mahasiswa : 23020122140113

Program Studi/Departemen : S1 TEKNOLOGI PANGAN / PERTANIAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal ... **21 MAY 2026**

Pembimbing Utama



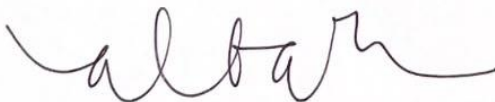
Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si.

Pembimbing Anggota



Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc.

Ketua Program Studi



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



Swastika Dewi, S.T.P., M.Sc.



Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D.

Ketua Departemen



Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.Pt., M.P., Ph.D.

RINGKASAN

IEZ ANINDYA. 23020122140113. 2026. Sifat Fisikokimia dan Mikrobiologi Kefir Whey Susu Sapi yang Ditambahkan Penstabil Pektin Kulit Jeruk (*Citrus sp.*). (Pembimbing: **HENI RIZQIATI** dan **NURUL HASNIAH**).

Kefir whey adalah cairan bening yang terbentuk pada saat proses pemisahan susu oleh kefir grain, yang memiliki kandungan laktosa dan protein yang berpotensi sebagai minuman fungsional. Karakteristik kefir whey yang mudah rusak selama penyimpanan menyebabkan kefir whey membutuhkan agen penstabil untuk menjaga kualitas kefir whey. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pektin kulit jeruk (*Citrus sp.*) sebagai penstabil terhadap sifat fisikokimia berupa *water holding capacity*, viskositas, total padatan terlarut, total dan asam tertitiasi serta mikrobiologi yaitu total bakteri asam laktat pada kefir whey susu sapi. Penelitian dilaksanakan selama 2 bulan yaitu dari November–Desember 2025 di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang.

Penelitian dilakukan untuk menguji faktor perlakuan berdasarkan konsentrasi pektin kulit jeruk yaitu 0%; 0,02%; 0,04%; 0,06%; dan 0,08% yang dihitung dari total volume kefir whey. Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh faktor tersebut terhadap sifat fisikokimia berupa *water holding capacity*, viskositas, total padatan terlarut, total asam, dan mikrobiologi total bakteri asam laktat. Materi yang digunakan adalah susu sapi segar (Memoory Dairy), kefir grain (Pusat Produksi Kefir Kab Semarang), pektin kulit jeruk/*Citrus pectin* HMP (E-Commerce Victopedia), aquades, indikator phenolphthalein (PP), NaOH 0,1 N, NaCl fisiologi 0,85%, CaCO₃, media MRSA (*deMan Rogosa Sharpe Agar*). Metode pembuatan kefir whey susu sapi meliputi tahap pasteurisasi pada suhu 70°C selama 15 detik, fermentasi susu dengan kefir grain sebanyak 5% (b/v) selama 24 jam, Kefir yang sudah jadi kemudian diambil grainnya dan dilakukan penyaringan whey kefir, whey yang sudah dipisahkan kemudian ditambahkan pektin sesuai dengan perlakuan. Whey kefir dengan penambahan pektin disimpan selama 24 jam untuk fermentasi kedua pada suhu 25°C–30°C kemudian diujikan. Metode pengujian viskositas menggunakan viskometer *Brookfield*, WHC menggunakan metode sentrifugasi, total padatan terlarut menggunakan alat *hand refraktometer*, total asam menggunakan uji kadar asam laktat dilakukan menggunakan metode titrasi, dan total BAL menggunakan metode TPC.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pektin kulit jeruk berpengaruh meningkatkan *water holding capacity*, viskositas, total padatan terlarut, dan total asam. Sedangkan pada total bakteri asam laktat, pektin kulit jeruk tidak berpengaruh dengan diketahui bahwa total bakteri asam laktat tidak meningkat ataupun menurun. Penambahan pektin kulit jeruk pada kefir whey susu sapi berpotensi meningkatkan kualitas fisikokimia stabilitas dan menjaga mikroorganisme BAL dalam produk.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Swt. yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi dengan judul “Sifat Fisikokimia dan Mikrobiologi Kefir Whey Susu Sapi yang Ditambahkan Penstabil Pektin Kulit Jeruk (*Citrus sp.*)” tepat pada waktunya. Skripsi disusun melalui rangkaian kegiatan penelitian dari bulan November-Desember 2025 di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, arahan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Heni Rizqiati, S.Pt., M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama dan Nurul Hasniah, S.T.P., M.Sc selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan, masukan, kesempatan, dan motivasi yang diberikan selama membimbing penulis dalam proses penyusunan skripsi.
2. Kedua orang tua dan kakak penulis yang tersayang yang selalu mendoakan penulis di setiap doa-doanya, memberikan dukungan moral serta material, dan kepercayaan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini dengan hasil yang membanggakan keluarga.
3. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas bagi penulis selama melaksanakan perkuliahan, penelitian, hingga penyusunan skripsi.
4. Ir. Ahmad Ni'matullah Al-Baarri, S.PT., M.P., Ph.D., Selaku Ketua Departemen Pertanian dan Ketua Program Studi S-1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan penulis melaksanakan penelitian serta arahan selama perkuliahan.

5. Setya Budi Muhammad Abduh, S.Pt., M.Sc., Ph.D. dan drh. Siti Susanti, Ph.D selaku Koordinator Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian serta Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan yang telah memberikan izin dan fasilitas laboratorium sehingga dapat mendukung penelitian penulis.
6. Dr. Sri Mulyani, S.Pt., M.Si selaku Dosen Wali yang telah memberikan motivasi dan bimbingan kepada penulis selama masa perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini.
7. Dr. Bhakti Etza Setiani, S.Pt. M.Sc. dan Fariz Nurmita Aziz, S.T.P., M.Sc., selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan saran, kritik, dan masukan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyempurnakan penulisan skripsi.
8. Hega Bintang Pratama Putra S.T.P., M.Sc., selaku Dosen Panitia Ujian Akhir yang telah memberikan masukan dan arahan dalam penulisan skripsi ini.
9. Bapak dan Ibu dosen Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro. Terutama Bapak dan Ibu dosen Prodi Teknologi Pangan yang telah mendidik, dan membimbing penulis selama masa perkuliahan.
10. Seluruh staf Akademik dan Tata Usaha Prodi, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro yang telah membantu dan memudahkan segala urusan administrasi penulis dalam skripsi ini.
11. Seseorang dengan inisial FRR, yang hadir menemani setiap proses penulis dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Yang selalu meluangkan waktu, tenaga, pikiran, mendukung, menghibur dan selalu mendengarkan cerita perjalanan penulis, serta memberikan semangat untuk maju meraih apa yang menjadi impian penulis.
12. Siti Sofia Ranti dan Hikma Fajariyani sebagai teman dekat penulis, serta teman-teman penulis yang telah menjadi tempat berdiskusi, saling menyemangati, dan mendukung selama proses perkuliahan dan penyelesaian skripsi.
13. Teman-teman mahasiswa Program Studi Teknologi Pangan Universitas Diponegoro Angkatan 2022 yang telah berjuang bersama selama ini.

14. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dalam pengambilan data dan penyusunan skripsi.
15. Diriku sendiri, perempuan yang selalu berjuang tanpa henti, perempuan yang sederhana dengan impian yang besar, yaitu Iez Anindya. Apresiasi sebesar-besarnya karena sudah bertanggung jawab menyelesaikan yang sudah dimulai. Terimakasih sudah kuat dan tidak menyerah. Bersyukur, bergembira, dan rayakan setiap langkah serta pencapaian yang dilalui. Semoga Allah selalu memberikan keberkahan dan menjaga dalam lindungan-Nya.

Penulis menyadari bahwa di dalam proses penyusunan skripsi ini memiliki kekurangan, sehingga penulis mengharapkan kritik, saran dan masukan yang bersifat membangun untuk perbaikan kedepannya. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak baik bagi penulis, bagi perusahaan ataupun bagi para pembaca umumnya.

Semarang, Mei 2026

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR ILUSTRASI	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Susu Sapi	4
2.2. Kefir Whey	6
2.3. Pektin Kulit Jeruk Mandarin (<i>Citrus sp.</i>)	7
2.4. <i>Water Holding Capacity</i> (WHC)	9
2.5. Viskositas	10
2.6. Total Padatan Terlarut	11
2.7. Total Asam Titrasi	12
2.8. Total Bakteri Asam Laktat	13
BAB III MATERI DAN METODE	15
3.1. Materi	15
3.2. Metode	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1. <i>Water Holding Capacity</i> (WHC)	24

4.2. Viskositas	26
4.3. Total Padatan Terlarut	29
4.4. Total Asam Titrasi	31
4.5 Total Bakteri Asam Laktat	34
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	36
5.1. Simpulan	36
5.2. Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	47
RIWAYAT HIDUP	59

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Kandungan Penyusun Utama Susu Segar	4
2. Syarat Mutu Susu Segar	5
3. Rincian Perlakuan dan Ulangan	16
4. Rincian Formulasi Produk	16
5. Hasil Pengujian <i>Water Holding Capacity</i> (WHC)	24
6. Hasil Pengujian Viskositas	27
7. Hasil Pengujian Total Padatan Terlarut	29
8. Hasil Pengujian Total Asam Titrasi	32
9. Hasil Pengujian Total Bakteri Asam Laktat	34

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Diagram Alir Pembuatan Kefir Whey Susu Sapi dengan Penambahan Pektin	19

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Data Uji <i>Water Holding Capacity</i> (WHC)	47
2. Hasil Uji <i>Water Holding Capacity</i> (WHC)	48
3. Data Uji Viskositas	49
4. Hasil Uji Viskositas	50
5. Data Uji Total Padatan Terlarut	51
6. Hasil Uji Total Padatan Terlarut	52
7. Data Uji Total Asam Titrasi	53
8. Hasil Uji Total Asam Titrasi	54
9. Data Uji Total Bakteri Asam Laktat	55
10. Hasil Uji Total Bakteri Asam Laktat	56
11. Sertifikat Analisis (CoA) Pektin Kulit Jeruk	57
12. Dokumentasi Penelitian di Laboratorium	58

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Whey merupakan hasil samping dari proses pengolahan susu seperti dalam proses produksi keju dan kefir yang berpotensi sebagai pangan fungsional. Whey mengandung protein whey sebesar 0,85%, laktosa 4,74%, lemak 0,7%, dan mineral (Khirzin *et al.*, 2024). Kandungan protein whey seperti β -laktoglobulin dan α -laktalbumin, laktosa, dan mineral dan vitamin dapat meningkatkan imunitas dan kesehatan otot (Sinthary dan Arief, 2023). Whey memiliki kandungan BOD (*biological oxygen demand*) yang tinggi berkisar 30.000–50.000 ppm, menunjukkan kandungan organik yang tinggi (Uribe-Velázquez *et al.*, 2026). Pemanfaatan whey salah satunya yaitu berasal dari kefir whey susu sapi. Kefir whey didapatkan dari proses fermentasi starter kefir grain yang membentuk bagian padatan (*curd*) dan whey. Proses fermentasi menghasilkan asam laktat dari BAL dan ragi akan menguatkan profil rasa (Sionek *et al.*, 2023). Meskipun memiliki nilai fungsional, pemanfaatan kefir whey susu sapi mengalami kendala stabilitas rendah saat penyimpanan. Kefir whey mengalami sineresis, pemisahan fase, agregasi protein, dan tekstur encer (Majdiyyah dan Farida, 2023). Kondisi tersebut menunjukkan perlunya penstabil untuk meningkatkan karakteristik fisikokimia.

Penstabil memiliki kemampuan memodifikasi struktur kimia khususnya jenis hidrokoloid pektin dapat membentuk karakteristik reologi dan struktur produk sehingga membentuk kestabilan sistem (Goff dan Guo, 2019). Peningkatan *water*

holding capacity dapat mengurangi terjadinya sineresis, memperbaiki tekstur dan konsistensi menjadi kental dan stabil (El Fihry *et al.*, 2026). Jenis bahan penstabil berupa hidrokoloid seperti pektin, gum arab, CMC, karagenan, alginat, gelatin, xanthan gum (Zhang *et al.*, 2021). Pektin merupakan hidrokoloid dengan rantai asam galakturonat yang dapat mencegah agregasi dan pengendapan sistem yang baik pada lingkungan asam melalui pembentukan jaringan tiga dimensi (Hu *et al.*, 2023). Pektin aman digunakan karena berasal dari bahan alami. Pemanfaatan kulit jeruk sebagai pektin akan meningkatkan nilai ekonomi dan mengurangi pencemaran lingkungan. Limbah kulit jeruk salah satu sumber alami pektin terbesar yang menyumbang 20–25% limbah organik (Arumuganainar *et al.*, 2025). Rendemen pektin kulit jeruk berkisar antara 16,32–32,61% tergantung metode ekstraksi (Kesuma *et al.*, 2018). Pektin kulit jeruk termasuk pektin metoksil tinggi (*high methoxyl pectin*) kemampuannya menjaga stabilitas sistem dan efisiensi pembentukan gel dalam suasana asam dan terdapat gula (Song *et al.*, 2026).

Pektin dapat menjaga stabilitas sensori produk whey keju fermentasi dengan ditandai stabilitas visual produk menjadi lebih jernih dan homogen pada saat penyimpanan, sebagaimana telah diteliti oleh Al-Baarri *et al.* (2023). Selain itu penelitian Han *et al.* (2025), menunjukkan pektin dapat meningkatkan sifat fisikokimia pada yogurt *drinks* melalui perubahan sifat reologi kemampuan penahanan air, dan kualitas tekstur. Namun, penelitian menggunakan pektin kulit jeruk pada kefir whey masih terbatas, terutama pada sifat fisikokimia dan mikrobiologi. Penelitian ini diharapkan dapat mengetahui pengaruh pektin kulit jeruk terhadap stabilitas fisikokimia dan mikrobiologi kefir whey.

1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pektin kulit jeruk terhadap sifat fisikokimia dan mikrobiologi whey kefir susu sapi seperti viskositas, WHC, padatan terlarut, total asam, dan total bakteri asam laktat. Penelitian ini diharapkan memberi manfaat sebagai data ilmiah yang komprehensif mengenai pengaruh kadar pektin alami kulit jeruk terhadap karakteristik fisikokimia dan mikrobiologi pada kefir whey serta mampu mengevaluasi karakteristik pektin yang ditambahkan pada produk whey kefir susu sapi dalam menjaga stabilitasnya dengan memanfaatkan limbah agroindustri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Susu Sapi

Susu segar merupakan komponen utama atau bahan baku dalam pembuatan produk keju. Susu segar dapat diperoleh dari ambung hewan ternak mamalia seperti sapi atau kambing. Susu segar adalah susu yang diperoleh dari proses pemerahan yang sesuai dari ambung hewan yang sehat dan bersih yang tidak mengalami proses apapun sehingga tidak mengubah kandungannya kecuali pendinginan untuk mempertahankan masa simpan susu (Indonesia, 2011). Kualitas susu sapi ditinjau secara fisik, kimia, dan mikrobiologi nya. Aspek kualitas tersebut dapat mempengaruhi penerimaan konsumen terhadap susu segar yang dihasilkan. Susu segar juga dapat ditinjau dari aspek kandungan mutu kimiawi seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Penyusun Utama Susu

No.	Kandungan	Jumlah(%)
1.	Air	87,9
2.	Protein	3,5
3.	Lemak	3,5–4,2
4.	Vitamin dan mineral	0,85

Sumber: Wahyuningsing dan Pezra, 2022

Tabel 2. Syarat Mutu Susu Segar

No.	Kriteria	Satuan	Syarat
1.	Berat jenis	g/ml	1,028
2.	Kadar lemak	%	2,8
3.	Kadar bahan kering tanpa lemak	%	8
4.	Kadar laktosa	%	4,2
5.	Kadar protein murni	%	2,7
6.	Titik beku	°C	-0,52-0,56
7.	Derajat keasaman		6,0-7,5
8.	pH		6,3-6,8
9.	Uji alkohol (70%) v/v	-	Negatif
10.	Cemaran mikroba, maks	CFU/ml	
	a. <i>Total Plate Count</i>		1×10^6
	b. <i>Staphylococcus aureus</i>		1×10^2
	c. <i>Enterobacteriaceae</i>		1×10^3
11.	Jumlah sel somatic maksimum	Sel/ml	4×10^5
12.	Residu antibiotika (Golongan penisilin, tetrasiklin, aminoglikosida, makrolida)	-	Negatif
13.	Uji pemalsuan	-	Negatif
14.	Uji peroxidase	-	Positif
15.	Cemaran logam berat, maks	µg/ml	
	a. Timbal (Pb)		0,02
	b. Merkuri (Hg)		0,03
	c. Arsen (As)		0,1

Sumber: Badan Standarisasi Nasional, 2011

Kualitas fisik merupakan hal yang paling mudah ditinjau dalam melihat kualitas dari susu. Sifat fisik pada susu antara lain rasa, aroma, warna, konsistensi, berat jenis, pH, dan kandungan asam laktat. Susu segar biasanya memiliki rasa yang gurih dan sedikit manis. Rasa gurih pada susu berasal dari kandungan kadar mineral dari Na dan Cl, sedangkan rasa manis susu berasal dari laktosa susu. Warna susu umumnya berwarna kuning kemasam yang berasal dari warna lemak susu. Bahan kering susu akan menentukan berat jenis susu. Penambahan bahan kering tanpa lemak atau pengurangan lemak akan meningkatkan berat jenis susu, sebaliknya apabila penambahan lemak. Sifat

kimia susu berhubungan dengan kandungan lemak, protein, laktosa, dan senyawa asam seperti asam sitrat, asam fosfat, asam amino, dan karbon dioksida larut. Berdasarkan SNI kandungan lemak susu berkisar antara 3–4%, kandungan protein susu minimum 2,7%, dan kandungan laktosa susu minimum, sebesar 4%. Syarat susu segar telah diatur oleh Badan Standarisasi Nasional. Kriteria syarat mutu susu segar dapat dilihat pada Tabel 2.

2.2. Kefir Whey

Kefir merupakan salah satu produk fermentasi yang menggunakan bahan baku susu segar seperti susu sapi, susu kambing, atau susu domba. Starter yang digunakan dalam pembuatan kefir yaitu berupa kefir grains atau bibit kefir berwarna putih kekuningan yang menggerombol seperti granula tak beraturan dengan diameter 2–3 mm (Wood, 2012). Kefir grains memiliki kandungan berupa bakteri asam laktat dan khamir dengan berbagai jenis bakteri di dalamnya seperti *lactobacillus lactis* dan *lactobacillus kefirgranum* sebagai pembentuk asam laktat, *lactobacillus kefiranofaciens* yang berperan dalam proses penggumpalan, dan *candida kefir* sebagai pembentuk senyawa etanol dan CO₂. Aktivitas mikroorganisme starter akan mengubah laktosa susu menjadi asam laktat yang mengubah susu menjadi asam dan mengandung sedikit alkohol.

Kefir whey berbentuk cairan yang terbentuk dari pemisahan kefir optima, sedangkan padatnya disebut kefir prima. Kefir whey adalah minuman bening yang terbentuk pada saat proses pemisahan susu oleh kefir grain menjadi dua yaitu curd dan whey (Jaya, 2019). Kandungan kimia dalam kefir terdiri dari asam laktat

berkisar 0,8-1,1%, alkohol 0,25- 0,5%, sedikit gas karbondioksida, kelompok vitamin B serta diasetil dan asetaldehid. Kandungan nutrisi kefir whey adalah air 89,5%, lemak 1,5%, protein 3,5%, abu 0,6 %, laktosa 4,5% dengan nilai pH 4,6 (Utomo *et al.*, 2017). Protein whey utama adalah β -laktoglobulin (β -lg), α -laktalbumin (α -la) serum albumin, dan imunoglobulin. Protein tersebut kaya akan asam amino esensial seperti leusin, isoleusin, dan triptofan. Selain itu, terdapat asam amino bercabang (*Branched Chain Amino Acids/ BCAA*). Whey kefir memiliki kandungan laktosa dan protein yang baik sehingga dapat menjadi potensi suatu produk pangan fungsional (Yusrina *et al.*, 2019). Namun, sifat whey kefir selama penyimpanan yang kurang stabil menyebabkan whey mudah rusak. Penurunan pH selama penyimpanan menyebabkan penggumpalan dan agregasi protein, sehingga produk yang terbentuk mempunyai rasa lebih asam, tekstur partikel kecil, halus, kurang kompak, dan mudah pecah (Supriatna *et al.*, 2020).

2.3. Pektin Kulit Jeruk Mandarin (*Citrus sp.*)

Pektin adalah komponen utama penyusun dinding sel kulit jeruk yang berbentuk serat struktural dinding sel primer dan lapisan intraseluler. Pektin adalah polisakarida kompleks pada dinding sel tumbuhan yang terdiri dari residu asam galakturonat dan kompleksitas strukturalnya tergantung sumber tanaman dan metode ekstraksi (Pasarini *et al.*, 2023). Metode ekstraksi tersebut meliputi ekstraksi asam konvensional, ekstraksi enzim, ekstraksi gelombang mikro, ekstraksi ultrasonik, dan ekstraksi air subkritis (Arumuganainar *et al.*, 2025). Karakteristik pektin berpengaruh terhadap sifat fungsionalnya dalam pembentukan gel dan

pengemulsi khususnya dalam fermentasi kefir. Aplikasi pektin berkaitan dengan sifat biokimia dan strukturalnya sebagai agen pembentuk gel, sebagai penstabil dalam emulsi, dan mampu menambah nilai produk dari kandungan yang terkandung dalam pektin (Wang *et al.*, 2020). Berdasarkan derajat esterifikasinya pektin dibedakan menjadi 2 yaitu pektin metoksil rendah dengan derajat metil-esterifikasi <50% yang membentuk gel dari ion polivalen (Liang dan Luo, 2020). Sedangkan, pektin metoksil tinggi memiliki derajat metil-esterifikasi >50% yang membentuk gel dengan media asam dan gula yang membentuk stabilitas jaringan rantai melalui interaksi hidrofobik (Chan *et al.*, 2017).

Pektin kulit jeruk mandarin merupakan salah satu penghasil pektin dengan kandungan metoksil tinggi yaitu > 7% dengan derajat esterifikasi >50% atau disebut pektin metoksil tinggi. Pektin kulit jeruk secara alami telah memiliki kandungan metoksil tinggi untuk membentuk struktur buah jeruk. Kulit dari buah jeruk yang baru saja dipanen mengandung sekitar 70% air, 6–8% gula, dan asam organik (Khan *et al.*, 2015). Selain itu juga mengandung 30% pektin dalam basis kering. Pektin kulit jeruk memiliki kemampuan yang baik dalam meningkatkan viskositas dan menstabilkan sistem dengan membentuk jaringan 3 dimensi melalui pembentukan kompleks protein pektin, ikatan hidrogen, dan interaksi hidrofobik. Kulit jeruk sebagai sumber pektin yang potensial karena mengandung senyawa karbohidrat berupa pektin, selulosa dan hemiselulosa yang mampu membentuk gel dan memberikan efek stabilitas pada makanan tertentu (Ani dan Abel, 2018).

2.4. *Water Holding Capacity (WHC)*

Water holding capacity (WHC) atau daya ikat air merupakan kemampuan suatu zat dalam mengikat dan menahan air dalam suatu produk pangan. Nilai WHC yang semakin tinggi mampu menahan lebih banyak air bebas pada suatu produk seperti yogurt (Prayitno *et al.*, 2020). WHC dapat diukur menggunakan metode sentrifugasi menggunakan alat sentrifugasi. Faktor yang mempengaruhi WHC seperti pH dan total padatan terlarut seperti gula, polisakarida, dan protein. Penambahan padatan bahan penstabil akan menyebabkan peningkatan nilai WHC sehingga dapat memperkecil terjadinya sineresis pada produk (Dewi *et al.*, 2019). WHC yang rendah menyebabkan daya terjadinya pelepasan molekul air pada permukaan gel sehingga terjadi fenomena sineresis (Setiadi *et al.*, 2023). WHC dan sineresis memiliki keterkaitan berbanding terbalik, apabila WHC tinggi maka kemampuan pengikatan air yang semakin optimal (Krisnaningsih *et al.*, 2018).

Whey kefir dengan WHC yang tinggi sangat diperlukan selama penyimpanan untuk mencegah kehilangan air yang menyebabkan penurunan kualitas tekstur. Berdasarkan penelitian Yuliarti *et al.* (2019), minuman susu asam yogurt drink yang ditambahkan dengan pektin metoksil tinggi 0,0–0,8% dengan penyimpanan selama 7 hari menghasilkan *serum separation* yang rendah seiring dengan penambahan jumlah pektin ke dalamnya. Hal tersebut menandakan bahwa stabilitas whey kefir semakin meningkat. Pektin membantu meningkatkan WHC whey kefir dengan pembentukan matriks gel hidrofobik antara protein whey dan air. Kekencangan yogurt yang ditambahkan *gum gellan* dan *gum konjak* meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi polisakarida (Ge *et al.*, 2022).

2.5. Viskositas

Viskositas adalah kekentalan suatu zat cair yang menggambarkan ketahanan fluida terhadap suatu aliran. Daya alir semakin besar apabila viskositas semakin rendah begitupun sebaliknya viskositas yang tinggi memiliki kekentalan lebih besar sehingga daya alir semakin rendah (Ratnasari dan Kasasiah, 2018). Viskositas diukur menggunakan viskometer untuk menentukan kekentalan (Regina *et al.*, 2018). Salah satu jenis viskometer yaitu viskometer *Brookfield* yang bekerja dengan mengukur kecepatan rotasi yang ditentukan sesuai dengan ukuran *spindle* hingga menunjukkan rentang pengukuran tertentu (Puspitasari, 2023). Satuan dalam pengukuran viskositas yaitu diukur dalam centipoise (cP) (Nasir, 2020). Faktor yang berpengaruh terhadap viskositas yaitu seperti tekanan, suhu, berat volume dan kekuatan antar molekul (Astuti *et al.*, 2022).

Karakteristik whey kefir dengan penambahan pektin sebagai penstabil digunakan untuk membentuk viskositas dengan tekstur lebih kuat dan struktur jaringan yang stabil. Semakin lama masa penyimpanan akan memberikan tekstur kenyal dan kestabilan yang lebih tinggi (Ge *et al.*, 2022). Tingkat viskositas whey dengan tekstur yang kenyal biasanya akan memberikan sensorik yang lebih baik karena tidak terlalu cair dan memiliki visual yang lebih baik. Produk minuman fermentasi berbasis whey menunjukkan bahwa penggunaan hidrokoloid dapat meningkatkan kekentalan dan memiliki kestabilan produk. Whey dengan penambahan pektin memiliki viskositas berkisar antara 0,90–0,96 cp (Bayu *et al.*, 2017). Pektin difungsikan untuk dapat meningkatkan viskositas dan dapat memperbaiki sensori dan visual dari whey kefir.

2.6. Total Padatan Terlarut

Jumlah zat organik atau anorganik yang terlarut dalam suatu volume tertentu disebut sebagai total padatan terlarut. Total padatan terlarut adalah parameter yang menunjukkan suatu bahan terlarut dalam suatu kandungan produk seperti total gula, pigmen, asam organik dan protein (Ismawati *et al.*, 2016). Total padatan terlarut dapat digunakan untuk menginterpretasikan jumlah gula yang terkandung pada bahan. Interpretasi jumlah gula yang terkandung dalam susu merupakan jenis laktosa yang dapat diukur menggunakan total padatan terlarut dari hasil perombakan proses fermentasi (Adrianto *et al.*, 2020). Total padatan terlarut dapat diukur menggunakan refraktometer dan dinyatakan dalam satuan derajat Brix ($^{\circ}\text{Brix}$). Pengukuran refraktometer didasarkan pembiasan cahaya dalam larutan hasil satuan $^{\circ}\text{Brix}$ (Rahman, 2022). Skala brix dinyatakan untuk sediaan *liquid*, 1% brix setara dengan 1-gram gula sukrosa dalam 100-gram air (Saputra dan Irsyad, 2022). Kompleksitas kandungan dalam cairan dari kandungan gula dan komponen terlarut lainnya akan mempengaruhi derajat brix. Total gula pada suatu bahan meliputi gula reduksi dan non reduksi, berbagai asam organik, pektin, garam, dan protein yang berpengaruh pada $^{\circ}\text{Brix}$ (Megavitry *et al.*, 2019).

Karakteristik yang dihasilkan kefir whey dengan adanya penambahan pektin mampu meningkatkan padatan terlarut dengan tujuan menciptakan kestabilan yang lebih optimal. Pektin dapat memperbaiki sifat fisikokimia seperti padatan terlarut dengan meningkatkan interaksi dengan protein yang (Feng *et al.*, 2021). Total padatan terlarut yang dihasilkan pada whey kefir dengan perbedaan lama fermentasi berdasarkan penelitian Firdaus dan Rizqiati (2019), yaitu sekitar 7,22–7,58 $^{\circ}\text{Brix}$.

Jumlah padatan terlarut yang semakin tinggi dapat mengurangi sineresis dan meningkatkan tekstur dari whey kefir. Peningkatan total padatan akan meningkatkan kemampuan menahan air sehingga mengurangi sineresis (Setyawardani *et al.*, 2021).

2.7. Total Asam Tertitrasi

Total asam tertitrasi berhubungan dengan kandungan total asam yang ada pada suatu bahan pangan. Total asam laktat dan asam organik seperti asam asetat, asam butirat, dan asam propionate merupakan komponen total asam (Meilina *et al.*, 2022). Total asam dalam jumlah asam laktat biasanya terbentuk dari proses fermentasi. Asam laktat pada proses fermentasi adalah hasil dari perombakan senyawa metabolit menjadi asam organik salah satunya asam laktat oleh bakteri asam laktat (Prastujati *et al.*, 2018). Bakteri asam laktat tumbuh pH 3,2 –9,6 yang membentuk aktivitas mikroorganisme pada suatu proses dan mampu meningkatkan rasa asam produk (Meilina *et al.*, 2022). Pengukuran kandungan asam dilakukan dengan metode titrasi menggunakan basa standar hingga terjadi perubahan warna dan titik ekuivalen yang telah terlampaui (Leba *et al.*, 2022).

Total asam whey kefir berhubungan dengan pH dan sifat sensori seperti rasa asam. Sehingga total asam pada whey kefir dipastikan memberikan rasa asam yang tidak terlalu tajam. Standar Codex STAN 243-2003 menyatakan bahwa total asam kefir minimal 0,6%. Berdasarkan penelitian Andaru *et al.* (2019), total asam pada whey kefir dengan lama fermentasi berbeda menghasilkan total asam antara 0,48–1,59%. Semakin lama fermentasi total asam mengalami kenaikan yang sebanding.

Sehingga total asam berada pada keadaan optimal sekitar 0,6—1,5% dengan menambahkan pektin untuk menjaga level keasamannya. Penambahan pektin dapat meningkatkan total asam pada sistem. Hal tersebut sesuai dengan penelitian El Fihry *et al.* (2026), nilai total asam yogurt tanpa lemak dengan penambahan pektin kulit jeruk sebesar 0,1%–0,5% mengalami kenaikan yang signifikan.

2.8. Total Bakteri Asam Laktat

Proses fermentasi kefir merupakan proses yang melibatkan berbagai mikroorganisme untuk melakukan perubahan biokimia yang kompleks. Kefir dibuat menggunakan starter kefir grain yang memiliki berbagai jenis bakteri asam laktat, ragi, dan polisakarida yang mampu menyusun pembentukan rasa dan aroma khas kefir. BAL merupakan probiotik atau mikroorganisme hidup yang memberikan manfaat baik bagi tubuh. Bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* dan *Leuconostoc* pada fase awal fermentasi berperan untuk merombak laktosa sebagai energi utama dalam fermentasi (Kurniawan *et al.*, 2025). Komponen laktosa sebagai substrat yang mendukung pertumbuhan BAL karena laktosa akan dirombak menjadi asam laktat sehingga memberikan rasa asam khas kefir. Aktivitas tersebut meningkatkan total bakteri asam laktat selama perombakan berlangsung sehingga mendukung terbentuknya efek sinbiotik pada produk fermentasi kefir.

Bakteri asam laktat menjadi hal pokok dalam produksi asam organik seperti asam laktat. Bakteri asam laktat yang terdapat pada produk whey kefir dapat diidentifikasi menggunakan metode *pour plate* yang menumbuhkan bakteri pada media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) (Mubin dan Zubaidah, 2016).

Selama proses fermentasi kefir pertumbuhan BAL tergantung dengan berbagai faktor yang dapat mempengaruhinya. Jumlah BAL yang tumbuh selama fermentasi tergantung pada jenis susu, komposisi susu, perbedaan konsentrasi starter, suhu fermentasi, dan kultur starter (Dahlan *et al.*, 2024).

Standar total BAL pada produk kefir atau kefir whey belum ditentukan secara khusus oleh SNI. Kefir whey berpotensi sebagai produk probiotik karena mengandung BAL hidup yang bermanfaat bagi tubuh. Penentuan standar total BAL dapat menggunakan SNI pada produk fermentasi seperti yogurt, yaitu jumlah bakteri starter adalah minimal 10^7 cfu/ml (BSN, 2009). Berdasarkan penelitian Andaru *et al.* (2019), total BAL pada kefir whey dengan perbedaan lama fermentasi berkisar $6,65 \times 10^8$ – $4,91 \times 10^9$ cfu/ml. Penambahan pektin mempertahankan BAL dengan menciptakan lingkungan yang stabil dan melindungi bakteri dari kondisi penyimpanan yang kurang optimal.

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Materi Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada November–Desember 2025 di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian yang dilakukan yaitu pembuatan kefir whey susu sapi, preparasi sampel, pengujian *water holding capacity* (WHC), viskositas, total padatan terlarut, total asam, dan total bakteri asam laktat (BAL).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu sapi segar (Memoory Dairy), kefir grain (Pusat Produksi Kefir Kab Semarang), pektin kulit jeruk/*citrus pectin* HMP (*E-Commerce* Victopedia), Bahan-bahan uji yang digunakan adalah aquades, indikator phenolphthalein (PP), NaOH 0,1 N, NaCl fisiologi 0,85%, CaCO₃, media MRSA (*de Man Rogosa Sharpe Agar*). Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat titrasi, centrifuge, centrifuge tube, viskometer *Brookfield*, spindle, *refractometer*, cawan petri, incubator bakteri, *colony counter*.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian ini terdiri dari beberapa rancangan penelitian, hipotesis, prosedur penelitian, pengujian parameter, dan analisis data yang diperoleh berdasarkan hasil pengujian. Urutan metode penelitian diuraikan secara ringkas sebagai berikut:

3.2.1. Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan metode eksperimental dengan faktor konsentrasi pektin kulit jeruk yang terdiri dari 4 kali ulangan pada setiap parameter yang diukur pada setelah fermentasi kedua selama 24 jam pada suhu 25°C–30°C. Rincian perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rincian Perlakuan dan Ulangan

Ulangan	Perlakuan				
	P0	P1	P2	P3	P4
U1	P0U1	P1U1	P2U1	P3U1	P4U1
U2	P0U2	P1U2	P2U2	P3U2	P4U2
U3	P0U3	P1U3	P2U3	P3U3	P4U3
U4	P0U4	P1U4	P2U2	P4U4	P4U4

Perlakuan variasi yang digunakan yaitu pada perbedaan konsentrasi pektin, sedangkan komponen lainnya seperti whey dan gula pasir dibuat secara tetap. Rincian formulasi produk dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rincian Formulasi Produk

Perlakuan	Kefir Whey (ml)	Pektin (g)	Gula Pasir (g)
P0	300	0	10
P1	300	0,06	10
P2	300	0,12	10
P3	300	0,18	10
P4	300	0,24	10

Keterangan:

P0: Konsentrasi pektin kulit jeruk 0%

P1: Konsentrasi pektin kulit jeruk 0,02%

P2: Konsentrasi pektin kulit jeruk 0,04%

P3: Konsentrasi pektin kulit jeruk 0,06%

P4: Konsentrasi pektin kulit jeruk 0,08%

Hipotesis empiris yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

H0: tidak ada pengaruh konsentrasi pektin kulit jeruk terhadap sifat fisikokimia dan mikrobiologi total BAL kefir whey susu sapi.

H1: ada pengaruh konsentrasi pektin kulit jeruk terhadap sifat fisikokimia dan mikrobiologi total BAL kefir whey susu sapi.

Model matematis yang digunakan dalam rancangan percobaan penelitian ini adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \Sigma_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = Hasil angka pengamatan dari perlakuan ke-i pada ulangan ke-j

μ = nilai umum rata-rata hasil pengamatan perlakuan

α_i = pengaruh perlakuan pada taraf ke-i

Σ_{ij} = pengaruh komponen galat (error) pada perlakuan ke-i (P1, P2, P3, P4) dan ulangan ke-j (1, 2, 3,4)

Secara statistik, hipotesis empiris tersebut dapat dijabarkan sebagai berikut:

H0: $\mu_0 = \mu_1 = \mu_2$

H1: $\mu_0 \neq \mu_1 \neq \mu_2$, sekurang-kurangnya ditemukan satu pengaruh kadar pektin kulit jeruk terhadap sifat fisikokimia dan mikrobiologis total BAL kefir whey susu sapi.

Kriteria pengujian analisis statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

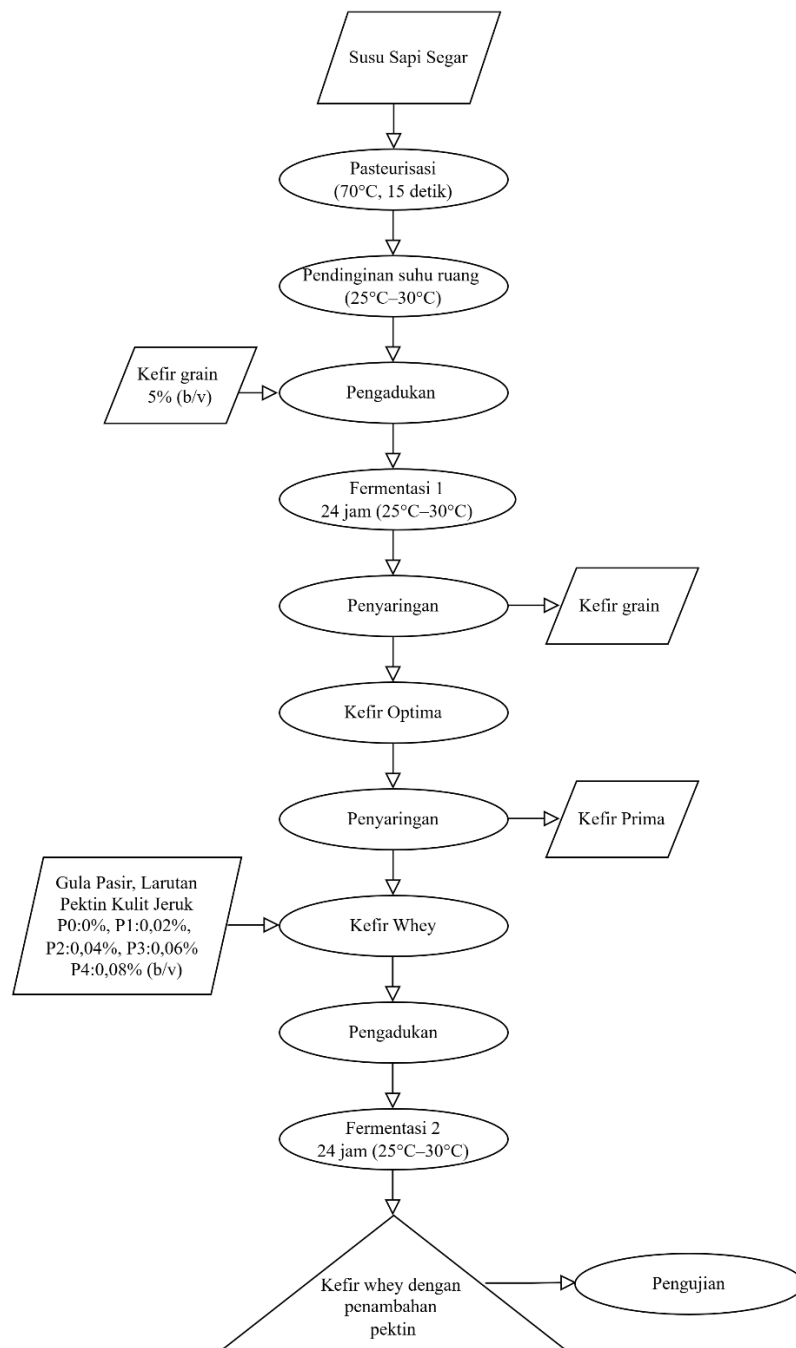
Jika $p > \alpha$ (0,05), maka H0 diterima dan H1 ditolak.

Jika $p \leq \alpha$ (0,05), maka H0 ditolak dan H1 diterima.

3.2.2. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan Kefir Whey dengan Penambahan Pektin

Pembuatan kefir whey mengacu pada penelitian Rizqiati *et al.* (2021), dengan modifikasi. Pembuatan whey diawali dengan menyiapkan susu sapi segar yang berasal dari Memoory Dairy, susu kemudian di pasteurisasi pada suhu 70°C selama 15 detik kemudian suhu diturunkan hingga mencapai suhu 25°C–30°C. Selanjutnya kefir grain ditambahkan sebesar 5% (b/v) dari total susu. Susu dan kefir selanjutnya diaduk. Proses fermentasi dilakukan dalam wadah yang ditutup dengan rapat dan disimpan pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah fermentasi dilakukan penyaringan kefir grain menggunakan saringan untuk memisahkan dengan kefir optima. Kemudian kefir whey disaring kembali menggunakan kain mori untuk memisahkannya dari kefir prima, kefir whey yang dihasilkan selanjutnya ditambahkan pektin kulit jeruk sesuai dengan perlakuan 0% (P0), 0,02% (P1), 0,04% (P2), 0,06% (P3), 0,08% (P4) (b/v) yang sudah dilarutkan terlebih dahulu menggunakan 50 ml kefir whey dan dilarutkan pada suhu 70°C. Whey dengan penambahan pektin dilakukan fermentasi kedua pada suhu 25°C–30°C selama 24 jam untuk mendapatkan pH yang menurun secara bertahap dari metabolisme bakteri asam laktat pada fermentasi ke dua dan mencapai kondisi kestabilan awal pembentukan gel oleh pektin kulit jeruk. Setelah itu dilakukan pengujian terhadap parameter masing-masing. Diagram alir dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Diagram Alir Pembuatan Kefir Whey Susu Sapi dengan Penambahan Pektin

b. Pengujian WHC (*Water Holding Capacity*)

Pengujian WHC atau daya ikat air terhadap kefir whey susu sapi diukur menggunakan metode sentrifugasi seperti dalam penelitian oleh Prayitno *et al.* (2020), dengan modifikasi. Tabung sentrifugasi ditimbang terlebih dahulu untuk memperoleh berat tabung kosong. Sampel kefir whey diaduk terlebih dahulu supaya kompen lebih homogen, kemudian sampel kefir whey dimasukkan sebanyak 10 ml dan ditimbang kembali untuk memperoleh berat tabung dan sampel. Sampel dimasukkan ke dalam alat sentrifus secara seimbang dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Sentrifugasi menghasilkan bagian cairan (supernatan) dan endapan atau fraksi yang mengikat air. Supernatan dikeluarkan terlebih dahulu dari tabung hingga menyisakan bagian endapan kemudian ditimbang untuk memperoleh berat tabung dan endapan. WHC dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{WHC (\%)} = \frac{\text{Berat air yang ditahan}}{\text{Berat total air awal}} \times 100\%$$

Keterangan:

Berat air yang ditahan : (berat tabung dan endapan) – (berat tabung)

Berat total air awal: (berat tabung dan sampel) – (berat tabung)

c. Pengujian Viskositas

Viskositas kefir whey susu sapi dapat diukur menggunakan viskometer *Brookfield* seperti yang dilakukan dalam penelitian Setyawardani *et al.* (2021), dengan modifikasi. Sebelum digunakan alat ditempatkan pada permukaan yang

datar supaya data yang dihasilkan akurat. Alat Viskometer *Brookfield* dikalibrasi terlebih dahulu, sehingga nilai standar mendekati 100% FSR. Sampel sebanyak 250 ml dimasukkan ke dalam gelas beker dan dikondisikan pada suhu 30°C pada saat pengujian. Pengukuran dilakukan menggunakan spindel nomor 1 dengan kecepatan putar 30 rpm/min. Spindel dipasang pada alat viskometer kemudian dicelupkan perlahan ke dalam sampel sampai menyentuh garis batas spindel. Spindel diputar hingga berputar stabil dan menghasilkan nilai pembacaan. Nilai pembacaan kemudian dikalikan dengan faktor pengali spindle nomor 1 dan kecepatan 30 rpm yaitu 2, sehingga diperoleh nilai viskositas sampel dalam satuan centipoise (cP).

d. Pengujian Total Padatan Terlarut

Uji total padatan terlarut dilakukan menggunakan alat refraktometer yang mengacu pada penelitian Firdaus dan Rizqiaty, (2019). *Refractometer* dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan aquades hingga menunjukkan nilai 0 °Brix. Langkah awal pengujian yaitu prisma *refractometer* dibersihkan menggunakan aquades dan lalu diseka menggunakan tisu, Bagian prisma dipastikan bahwa tidak ada sisa cairan atau kotoran yang menempel pada prisma supaya pembacaan akurat. Sampel kefir whey diaduk terlebih dahulu supaya total padatan tersebar merata. Sampel ditetaskan sebanyak 1–2 tetes di bagian prisma *refractometer* hingga menutupi permukaan prisma. Hasil pengujian dapat dilihat pada skala pembacaan dalam satuan °Brix. Prisma dibersihkan kembali menggunakan aquades dan dikeringkan sebelum digunakan untuk sampel berikutnya.

e. Pengujian Total Asam Tertitrasi

Pengujian total asam tertitrasi dilakukan dengan menghitung kadar asam dengan metode titrasi menurut Savitry *et al.* (2018). Larutan NaOH 0,1 N sebagai titran dimasukkan ke dalam buret hingga tidak ada gelembung udara di dalam buret. Sampel sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditetaskan indikator phenolphthalein (PP) 1 % sebanyak 2 tetes. Indikator PP digunakan untuk menunjukkan titik akhir titrasi melalui perubahan warna larutan. Proses titrasi dilakukan dengan ditetaskan NaOH 0,1 N secara perlahan ke dalam erlenmeyer yang berisi sampel dan digoyangkan perlahan-lahan sampai terlihat warna merah muda konstan. Volume NaOH yang dipakai kemudian dicatat, kemudian nilai total asam tertitrasi dihitung menggunakan rumus:

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

Keterangan:

V1: Volume NaOH (ml)

V2: Volume sampel (ml)

N: Normalitas NaOH (0,1N)

B: Berat molekul asam laktat (90)

f. Pengujian Total Bakteri Asam Laktat

Pengujian total bakteri asam laktat (BAL) mengacu pada penelitian Purba *et al.* (2018), yaitu dengan cara pengenceran 1 ml sampel dengan larutan 9 ml NaCl fisiologi 0,85%, kemudian dilanjutkan pengenceran hingga 10^{-6} kali. Alat dan

media yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu untuk mencegah kontaminasi mikroba. Alat seperti cawan dan erlenmeyer disterilisasi menggunakan oven pada suhu 170°C selama 1 jam. Media MRSA yang sudah dilarutkan dengan aquades 300 ml dan ditambahkan CaCO₃ sebanyak 1% (b/v), kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 120°C selama 20 menit. Pengenceran bertingkat yang telah dilakukan sebelumnya diambil tiga seri pengenceran terakhir. Sampel diambil masing masing 1 ml dan dilakukan secara duplo dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Sebanyak 15 ml media MRSA (*deMan Rogosa Sharpe Agar*) dituang ke dalam cawan petri dan cawan digoyangkan membentuk angka delapan. Cawan diinkubasi dengan menggunakan inkubator bersuhu 37°C selama 24 jam dalam posisi cawan terbalik. Jumlah koloni dihitung pada cawan petri yang memiliki jumlah koloni sebanyak 30–300 koloni yang ditandai dengan adanya lingkaran bening pada bulatan koloninya. Angka total bakteri asam laktat dalam 1 ml adalah dengan mengalikan jumlah koloni pada cawan petri dibagi dengan faktor pengenceran dinyatakan dalam satuan log CFU/ml. Mikrobiologi Hasil dilaporkan analisis dengan menggunakan Total Plate Count (TPC).

3.2.3. Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil uji meliputi WHC, viskositas, total padatan terlarut, total asam, total BAL yang diperoleh dianalisis uji pengaruh menggunakan *Analysis of Varian* (Anova) dengan taraf signifikansi 5% dan apabila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Data tersebut dianalisis dengan aplikasi SPSS for Windows 22.