

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Materi

Penelitian ini terdiri dari proses pembuatan kefir dan pengujian parameter yang meliputi kadar alkohol, kadar lemak, total padatan terlarut dan total mikroba. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2019. Pengujian parameter kefir susu kerbau dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu susu kerbau segar, *kefir grain*, aquades, eter, NaCl fisiologis 0,85% dan media *Plate Count Agar* (PCA). Alat-alat yang digunakan adalah panci, kompor, termometer, baskom, pengaduk, toples, *plastic wrap*, saringan, aluminium foil, destilator, *hand-refractometer*, erlenmeyer, piknometer, gelas ukur, neraca analitik, labu lemak, oven, desikator, kertas saring, kapas, tabung soxhlet, pemanas listrik, pipet, cawan petri, laminar dan inkubator.

3.2. Metode

Metode penelitian ini terdiri dari rancangan percobaan, prosedur penelitian, pengujian parameter dan analisis data. Urutan metode tersebut diuraikan seperti berikut ini.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah secara eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan konsentrasi *Kefir grain* yaitu 2,5%; 5%; 7,5% dan 10% dari volume susu yang digunakan untuk fermentasi. Masing-masing perlakuan akan dilakukan 5 kali pengulangan. Desain percobaan pembuatan kefir susu kerbau dengan konsentrasi *Kefir grain* yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Desain Penelitian Pembuatan Kefir Susu Kerbau dengan Konsentrasi *Kefir Grain* yang berbeda

Ulangan (U)	Perlakuan (T)			
	T1	T2	T3	T4
1	T1U1	T2U1	T3U1	T4U1
2	T1U2	T2U2	T3U2	T4U2
3	T1U3	T2U3	T3U3	T4U3
4	T1U4	T2U4	T3U4	T4U4
5	T1U5	T2U5	T3U5	T4U5

Keterangan :

T1 : konsentrasi *Kefir grain* 2,5% dari volume susu (b/v)

T2 : konsentrasi *Kefir grain* 5% dari volume susu (b/v)

T3 : konsentrasi *Kefir grain* 7,5% dari volume susu (b/v)

T4 : konsentrasi *Kefir grain* 10% dari volume susu (b/v)

Hipotesis

H0 : Tidak terdapat pengaruh perbedaan konsentrasi *kefir grain* terhadap kadar alkohol, kadar lemak, total padatan terlarut dan total mikroba kefir susu kerbau

H1 : Terdapat pengaruh perbedaan konsentrasi *kefir grain* terhadap kadar alkohol, kadar lemak, total padatan terlarut dan total mikroba kefir susu kerbau

Kriteria pengujian analisis statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

Secara statistik, hipotesis empiris diatas dapat dijabarkan sebagai berikut:

$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$

$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5$ atau setidaknya ada satu perbedaan nilai tengah (μ)

Kriteria pengujian analisis statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

Signifikansi $> 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak

Signifikansi $< 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima

3.2.2. Prosedur Penelitian

Pembuatan kefir diawali dengan persiapan susu kerbau segar terlebih dahulu dengan pengukuran kebutuhan susu kerbau untuk setiap percobaan. Susu yang telah diukur masing-masing ditambahkan *kefir grain* sesuai perlakuan yaitu sebanyak 2,5%, 5%, 7,5% dan 10% dari volume susu yang digunakan untuk fermentasi dan diaduk hingga merata. Kemudian difermentasi menggunakan toples yang ditutup dengan *plastic wrap* dan disimpan pada suhu ruang serta di tempat kedap cahaya. Lama fermentasi dilakukan selama 24 jam dan dilakukan penyaringan *kefir grain* setelah fermentasi selesai. Selanjutnya dilakukan pengamatan sesuai parameter yang telah ditentukan Diagram alir pembuatan kefir ditunjukkan pada Ilustrasi 1.

3.2.3. Pengujian Parameter

Parameter yang diamati pada kefir susu kerbau adalah uji kadar alkohol, kadar lemak, total padatan terlarut dan total mikroba. Uji parameter diuraikan sebagai berikut.

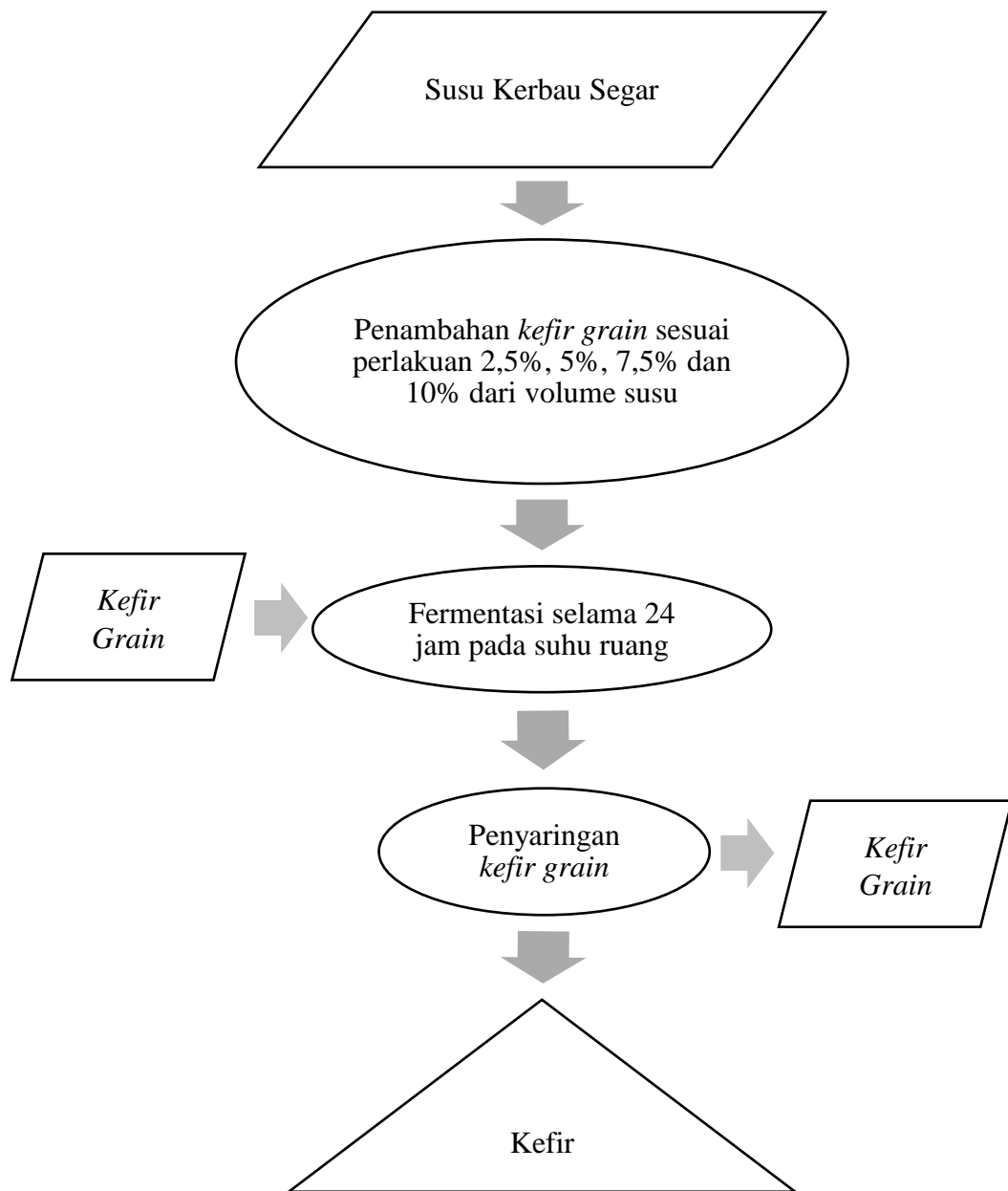
3.2.3.1.Kadar Alkohol

Perhitungan kadar alkohol dilakukan dengan metode piknometer (Ningsih *et al.*, 2018) yaitu sampel sebanyak 100 ml dimasukan ke dalam labu destilasi Kjeldahl, kemudian ditambahkan dengan aquades sebanyak 100 ml. Selanjutnya didestilasi pada suhu 80°C. Destilat ditampung di dalam erlenmeyer hingga volume 50 ml. Destilat tersebut kemudian dimasukan ke dalam piknometer yang telah ditimbang sebelumnya. Destilat dimasukan hingga memenuhi piknometer. Piknometer yang berisi destilat ditimbang dan beratnya dicatat sebagai pembanding. Berdasarkan hasil perhitungan berat jenis alkohol dapat diketahui kadar alkoholnya dengan mengonversi menggunakan tabel konversi BJ alkohol.

$$Bj \text{ alkohol} = \frac{(\text{berat destilat+piknometer})-\text{berat piknometer kosong}}{(\text{berat aquades+piknometer})-\text{berat piknometer kosong}}$$

3.2.3.2.Kadar Lemak

Kadar lemak pada kefir dapat diukur menggunakan metode soxhlet (AOAC, 2005). Metode ini dilakukan dengan cara sampel ditimbang sebanyak 2 gram dan dicatat sebagai berat A kemudian dibungkus kertas saring. Sampel yang sudah terbungkus kertas saring dipanaskan dengan oven bersuhu 100°C selama 4 jam. Setelah 4 jam sampel dimasukkan ke desikator selama ± 15 menit lalu ditimbang sebagai berat B. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam alat ekstraksi soxhlet kemudian dituangkan larutan eter. Kondensor dipasang dengan baik, labu pemanas dihubungkan dengan sumber pemanas (masukkan ke dalam waterbath dengan suhu $\pm 50^\circ\text{C}$) selama 6 jam atau lebih.



Ilustrasi 1. Diagram Alir Pembuatan Kefir

Kemudian sampel tersebut dikeringkan dengan menggunakan oven selama 1 jam dengan suhu 100°C, lalu ditimbang sebagai berat C.

$$\text{Kadar lemak} = \frac{\text{Berat B} - \text{Berat C}}{\text{Berat A}} \times 100\%$$

Keterangan :

Berat A : berat sampel awal

Berat B : berat sampel sebelum ekstraksi

Berat C : berat sampel setelah ekstraksi

3.2.3.3.Total Padatan Terlarut

Pengujian total padatan terlarut dilakukan dengan menggunakan hand refractometer. Prisma refraktometer terlebih dahulu dibilas dengan aquades dan diseka dengan kain yang lembut. Sampel ditetaskan ke atas prisma refraktometer dan diukur derajat Brix-nya (Bayu *et al.*, 2017).

3.2.3.4.Total Mikroba

Pengujian untuk total mikroba dilakukan menggunakan metode hitungan cawan (Fardiaz, 1993). Metode hitungan cawan paling banyak digunakan untuk menghitung jumlah mikroba pada bahan pangan. Prinsip metode hitungan cawan adalah jika sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Sampel sebanyak 1 ml diencerkan dengan NaCl fisiologis 0,85% 9 ml. Pengenceran dilakukan hingga mencapai 10^{-7} . Sebanyak 1 ml sampel yang telah diencerkan, dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian media PCA dituang pada suhu 50°C sebanyak 15-20 ml. Cawan petri digerakkan diatas meja dengan gerakan melingkar atau membentuk angka delapan agar bakteri merata. Penuangan media maksimum 15 menit setelah sampel dituangkan, kemudian cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

$$\text{Jumlah } \frac{\text{mikroba}}{\text{ml}} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{pengenceran}}$$

3.2.4. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian kadar alkohol, kadar lemak, total padatan terlarut dan total mikroba dianalisis dengan menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf signifikansi 5% dan karena terdapat pengaruh maka dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji wilayah ganda Duncan. Semua data dianalisis dengan aplikasi SPSS *for windows* 25.0.