

**PENGARUH PENAMBAHAN MADU KLANCENG (*Trigona sp.*) DAN
LAMA SIMPAN TERHADAP KUALITAS FISIK
SUSU SAPI PASTEURISASI**

SKRIPSI

Oleh

KUNTI RAFIKA MAULIDA



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

PENGARUH PENAMBAHAN MADU KLANCENG (*Trigona sp.*) DAN
LAMA SIMPAN TERHADAP KUALITAS FISIK
SUSU SAPI PASTEURISASI

Oleh

KUNTI RAFIKA MAULIDA
NIM : 230010120130214

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

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

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Kunti Rafika Maulida
N I M : 23010120130214
Program Studi : S-1 Peternakan

dengan ini menyatakan sebagai berikut :

1. Skripsi yang berjudul: **Pengaruh Penambahan Madu Klanceng (*Trigona sp.*) dan Lama Simpan terhadap Kualitas Fisik Susu Sapi Pasteurisasi** 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 mengakui bahwa skripsi ini dapat dihasilkan berkat bimbingan dan dukungan penuh dari Pembimbing yaitu : **Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM.** dan **Dr. Ari Prima, S.Pt., M.Si.**

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 Peternakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro.

Semarang, Juni 2026

Penulis,



Kunti Rafika Maulida

Mengetahui :

Pembimbing Utama

Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM.

Pembimbing Anggota

Dr. Ari Prima, S.Pt., M.Si.

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : PENGARUH PENAMBAHAN MADU
KLANCENG (*Trigona sp.*) DAN LAMA
SIMPAN TERHADAP KUALITAS FISIK
SUSU SAPI PASTEURISASI

Nama Mahasiswa : KUNTI RAFIKA MAULIDA

Nomor Induk Mahasiswa : 23010120130214

Program Studi/Departemen : S-1 PETERNAKAN / PETERNAKAN

Fakultas : PETERNAKAN DAN PERTANIAN

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji
dan dinyatakan lulus pada tanggal **2.9. JUN 2026**.

Pembimbing Utama



Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM.

Pembimbing Anggota



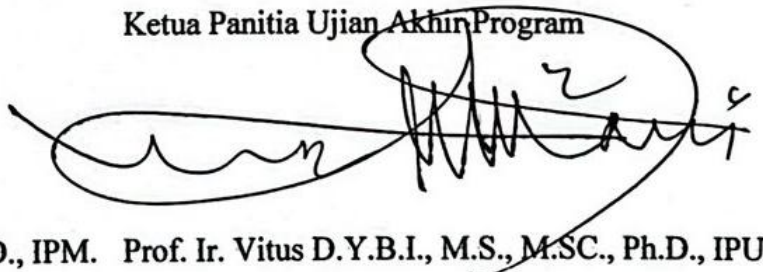
Dr. Ari Prima, S.Pt., M.Si.

Ketua Program Studi



Ir. Rudy Hartanto, S.Pt., M.P., Ph.D., IPM.

Ketua Panitia Ujian Akhir Program



Prof. Ir. Vitus D.Y.B.I., M.S., M.Sc., Ph.D., IPU.

Dekan



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

Ketua Departemen



Dr. Ir. Sri Sumarsih, S.Pt., M.P., IPM.

RINGKASAN

KUNTI RAFIKA MAULIDA. 23010120130214. 2026. Pengaruh Penambahan Madu Klanceng (*Trigona sp.*) dan Lama Simpan terhadap Kualitas Fisik Susu Sapi Pasteurisasi. (Pembimbing: **RUDY HARTANTO** dan **ARI PRIMA**).

Penelitian dilaksanakan selama satu bulan pada bulan Juni 2024 di Laboratorium Produksi Ternak Potong dan Perah, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati dan mengevaluasi pengaruh penambahan madu klanceng (*Trigona sp.*) dan lama simpan pada susu pasteurisasi berdasarkan pengujian kualitas fisik (uji pH, reduktase dan alkohol).

Percobaan dilakukan berdasarkan RAL Split Plot In Time, petak utama adalah level kadar penambahan madu klanceng (0%; 4%; 8%; dan 12%), serta anak petak adalah lama simpan susu pasteurisasi (0 hari, 5 hari, 10 hari, dan 15 hari). Materi yang digunakan selama penelitian meliputi 4 L susu sapi yang dipasteurisasi dan madu klanceng. Metode pasteurisasi susu menggunakan *High Temperature Short Time* (HTST) dengan pemanasan pada suhu 72°C selama 15 detik. Susu kemudian dipasteurisasi dan didinginkan, selanjutnya diberi empat perlakuan penambahan madu klanceng dengan konsentrasi 0%, 4%, 8%, dan 12%. Sampel disimpan dalam botol plastik tertutup di dalam showcase bersuhu 5°C. Pengujian kualitas fisik meliputi uji pH, uji reduktase, dan uji alkohol dilakukan pada hari ke-0, 5, 10, dan 15. Data hasil pengujian dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai pH, angka reduktase, dan uji alkohol susu sapi pasteurisasi dipengaruhi oleh konsentrasi madu klanceng, lama penyimpanan, serta interaksi keduanya. Peningkatan konsentrasi madu berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap penurunan nilai pH, tetapi di sisi lain waktu reduktase semakin panjang karena aktivitas antibakteri madu yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Lama waktu penyimpanan juga berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap penurunan nilai pH dan angka reduktase pada semua perlakuan, meskipun laju penurunan cenderung lebih lambat seiring peningkatan konsentrasi madu. Uji alkohol menunjukkan hasil positif pada P2 dan P3 sejak hari ke-0 akibat interaksi keasaman madu dengan kasein susu, bukan karena kerusakan mikrobiologis.

Secara keseluruhan, disimpulkan bahwa penambahan madu klanceng 12% merupakan perlakuan terbaik dalam mempertahankan kualitas fisik susu sapi pasteurisasi selama 15 hari penyimpanan, tetapi penambahan madu klanceng 4% dipilih karena mempertahankan kualitas fisik dengan rasa yang tidak terlalu asam yang disukai konsumen.

KATA PENGANTAR

Susu sapi merupakan salah satu produk peternakan yang memiliki nilai gizi tinggi dan banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia sebagai sumber protein hewani. Susu sapi mudah mengalami kerusakan akibat aktivitas mikroorganisme sehingga diperlukan penanganan yang tepat salah satunya melalui proses pasteurisasi untuk memperpanjang masa simpan dan menjaga keamanannya. Madu klanceng (*Trigona* sp.) merupakan bahan alami yang memiliki sifat antibakteri berkat kandungan hidrogen peroksida, flavonoid, dan senyawa fenolik yang berpotensi dimanfaatkan sebagai pengawet alami pada produk susu pasteurisasi. Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji sejauh mana penambahan madu klanceng pada berbagai konsentrasi dan lama penyimpanan yang berbeda dapat mempertahankan kualitas fisik susu sapi pasteurisasi.

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah Swt. yang telah melimpahkan segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Skripsi dengan judul Pengaruh Penambahan Madu Klanceng (*Trigona* sp.) dan Lama Simpan terhadap Kualitas Fisik Susu Sapi Pasteurisasi. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ir. Rudy Hartanto S.Pt., M.P., Ph.D., IPM. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ketua Program Studi S-1 Peternakan serta Dr. Ari Prima, S.Pt. M.Si. selaku Dosen Pembimbing Anggota dan Koordinator Laboratorium Produksi Ternak Potong dan Perah yang telah memberikan segenap ilmu, waktu, bimbingan, dan masukan selama penyusunan skripsi kepada penulis;
2. Prof. Sugiharto, S.Pt., M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro; Dr. Ir. Sri Sumarsih, S.Pt., M.P., IPM. selaku Ketua Departemen Peternakan Fakultas Peternakan dan Pertanian; serta Ir. Daud Samsudewa, S.Pt., M.Si., Ph.D., IPM. selaku Sekretaris Program Studi S-1 Peternakan yang telah memberikan izin kepada penulis;

3. Ir. Teysar Adi Sarjana, S.Pt., M.Si., IPM., selaku Dosen Wali yang telah memberikan ilmu, saran, bimbingan, dan dukungan kepada penulis;
4. Seluruh Dosen dan Tenaga Pendidikan khususnya di Program Studi S-1 Peternakan, serta umumnya di Fakultas Peternakan dan Pertanian Undip yang telah membantu dalam proses belajar maupun pengurusan administrasi;
5. Bapak Marmin Juwantoro dan (Almh) Ibu Umi Kalsum selaku orang tua tercinta penulis yang senantiasa memberikan doa, dukungan, kesabaran, dan kepercayaan kepada penulis. Skripsi ini dapat menjadi bukti dari kerja keras, tanggung jawab, cinta, dan kasih sayang untuk membuat orang tua bangga;
6. My Endless Love, Mas Harjuno Abdul Aziz yang selalu mengusahakan, Adik Arimbi Aghnia Hakim dan Adik Faiq Husein Wibisono yang selalu mendoakan, menjadi penyemangat dan alasan penulis untuk tetap berjuang;
7. Tante Triwis, Om Dedy, Pakde, Bude, Om, Tante serta seluruh keluarga besar yang selalu mendoakan serta mendukung secara moral dan material;
8. Farwah, Nadila, Bapak Mundhoa yang telah membantu selama penelitian;
9. Warih, Ferna, Ana, Didut, Silvi, April, Deby, Apreza, Ari, Wildan, Abni, Sandi, Raihan, yang bersedia mendengarkan dan memberikan semangat;
10. Teman-teman S-1 Peternakan yang menjadi bagian perjalanan penulis selama di kampus, serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebut satu-persatu;
11. Kunti Rafika Maulida, penulis sendiri. Terima kasih untuk tidak menyerah, meski langkah sering terasa berat. Di balik lembar demi lembar ini tersimpan keraguan yang datang silih berganti. Namun ternyata, di balik segala keterbatasan ada kekuatan yang jauh lebih besar. Alhamdulillah, ia selalu ada – tumbuh diam-diam, sampai di titik ini, menemani sampai akhir.

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

Semarang, Maret 2026

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
RINGKASAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Susu Sapi.....	5
2.2. Susu Sapi Pasteurisasi	7
2.3. Madu Klanceng atau <i>Trigona sp.</i>	10
2.4. Uji Kualitas Fisik	13
2.4.1. Uji pH.....	15
2.4.2. Uji Reduktase	16
2.4.3. Uji Alkohol	17
BAB III. MATERI DAN METODE.....	19
3.1. Materi	19
3.2. Metode	19
3.2.1. Rancangan Percobaan	19
3.2.2. Prosedur Penelitian	20

3.2.3. Analisis Data	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1. Uji pH.....	25
4.2. Uji Reduktase	30
4.3. Uji Alkohol	35
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	39
5.1. Simpulan	39
5.2. Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN.....	47
RIWAYAT HIDUP.....	67

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Syarat mutu susu pasteurisasi	9
2. Hasil Uji pH Susu Sapi Pasteurisasi.....	25
3. Hasil Uji Reduktase Susu Sapi Pasteurisasi	30
4. Persentase Hasil Negatif dari Uji Alkohol.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Analisis Data Uji pH.....	47
2.	Analisis Data Uji Reduktase.....	56
3.	Analisis Data Uji Alkohol.....	65
4.	Hasil Uji Hedonik.....	66

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Susu merupakan salah satu bahan makanan sumber nutrisi yang tinggi dengan kandungan gizi lengkap dan seimbang seperti protein, lemak, vitamin, mineral, dan memiliki rasa yang enak. Pentingnya konsumsi susu bagi masyarakat sebagai salah satu dari sekian sumber protein hewani menjadikan permintaan susu sapi di Indonesia terus mengalami peningkatan sejalan dengan pertumbuhan penduduk. Namun di sisi lain, susu merupakan bahan makanan yang rentan terhadap kontaminasi bakteri yang menyebabkan bahan tersebut mudah rusak dan basi. Hal tersebut berakibat pada keterbatasan ekspedisi susu karena masa simpannya menjadi terlalu singkat. Kandungan gizi yang banyak pada susu dapat menjadi media yang baik bagi pertumbuhan bakteri yang dapat merusak kualitas susu dengan cepat (Kinteki *et al.*, 2019).

Upaya untuk memperpanjang daya tahan susu agar kualitas susu tetap terjaga menjadi sangat penting, salah satunya dengan pasteurisasi. Pengolahan susu pasteurisasi dari susu segar menjadi salah satu upaya untuk menambah masa simpan susu, dengan tidak banyak merubah sifat fisiknya (Kristanti, 2017). Pengolahan ini cukup mudah dilakukan, menggunakan suhu dan waktu yang telah ditentukan. Menurut Rohmania (2017) proses pasteurisasi bertujuan guna membunuh bakteri pathogen dengan tidak merubah bentuk, rasa, komposisi, dan kandungan nutrisinya. Suhu untuk pasteurisasi yaitu 72°C selama 15 detik atau 63-66°C selama 30 menit.

Susu yang telah mengalami proses pasteurisasi dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Umumnya, di Indonesia susu pasteurisasi hanya bertahan 7 hari penyimpanan. Bahkan negara lain, seperti Amerika Serikat masa simpan susu pasteurisasi masih layak minum berkisar 16-18 hari dan negara di Eropa umumnya masa simpan susu pasteurisasi pada kisaran 10-14 hari (Maryana *et al.*, 2022). Pada dasarnya, proses pasteurisasi tidak dapat mematikan bakteri secara keseluruhan. Bakteri spora *thermophilic* yang tahan panas akan tetap hidup meskipun sudah dipasteurisasi. Hanya saja, proses perkembangan bakteri ini sangat lambat. Maka dari itu, setelah dipasteurisasi, susu dapat dimodifikasi dengan penambahan bahan aditif yang berasal dari alam, dengan tujuan untuk menambah daya simpan.

Madu klanceng, yang dikenal sebagai madu yang berkualitas tinggi memiliki sifat antibakteri dan antioksidan yang dapat membantu dalam meningkatkan daya tahan produk makanan, termasuk susu. Penelitian milik Nasri *et al.* (2023) menunjukkan hasil analisis bahwa pada madu trigona positif mengandung senyawa flavonoid, yang merupakan senyawa antioksidan yang berfungsi dapat menangkal radikal bebas yang ada di dalam tubuh dan mencegah penyakit. Kandungan kimia pada Madu Trigona berupa flavonoid sebesar 159,62 ppm (Syamsul *et al.*, 2022). Penelitian lain terkait penggunaan madu trigona pada produk makanan oleh Ningrum *et al.* (2022), mendapatkan hasil bahwa penambahan madu trigona menunjukkan nilai pH tertinggi pada konsentrasi penambahan 0% dan pH terendah pada konsentrasi penambahan 10%, menurunnya pH karena semakin tinggi konsentrasi penambahan madu serta sejalan dengan peningkatan total BAL dan asam laktat.

Penambahan madu klanceng pada susu sapi pasteurisasi diharapkan dapat

menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen dan memperlambat proses kerusakan, sehingga daya simpan susu dapat ditingkatkan. Peningkatan daya simpan ini sebagai acuan layak atau tidaknya susu dapat dikonsumsi. Kualitas fisik ini dapat diketahui melalui beberapa uji, di antaranya uji pH, uji reduktase, dan uji alkohol. Uji reduktase bertujuan untuk mengetahui seberapa cepat susu pasteurisasi terkontaminasi oleh mikroorganisme. Pengawetan yang baik akan meningkatkan waktu yang digunakan dalam proses reduktase. Uji pH untuk mengetahui tingkat keasaman susu yang dapat memengaruhi stabilitas, sehingga madu klanceng diharapkan mampu mempertahankan pH dalam rentang yang sesuai untuk susu yang baik kualitasnya. Uji alkohol bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri asam laktat yang dapat merusak kualitas susu, diharapkan penambahan madu klanceng dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan pembentukan alkohol.

Secara keseluruhan, pengujian ini sebagai media evaluasi mengenai pengaruh penambahan madu klanceng terhadap kualitas fisik susu sapi pasteurisasi, serta apakah madu klanceng dapat efektif sebagai pengawet alami atau tidak. Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa penambahan madu pada susu sapi pasteurisasi dapat meningkatkan kualitas fisik, termasuk di dalamnya pada pengujian organoleptik. Susu sapi pasteurisasi yang ditambahkan madu secara alami akan mengalami perubahan pada rasa, aroma, tekstur, serta tingkat kesukaan dibandingkan susu sapi pasteurisasi yang tidak diberi tambahan bahan apapun. Namun, di samping itu masih ditemukan adanya batasan dalam pemahaman yang lebih spesifik mengenai pengaruh perbedaan lama simpan pada susu sapi

pasteurisasi yang diberi tambahan madu klanceng terhadap kualitas fisik susu sapi pasteurisasi. Oleh karena itu, penelitian ini memiliki tujuan dan penting dilakukan guna mencari tahu tentang pengaruh penambahan madu klanceng dan lama simpan terhadap kualitas fisik susu sapi pasteurisasi melalui uji pH, uji reduktase, dan uji alkohol.

1.2. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Berdasar hal tersebut di atas, tujuan dilakukannya penelitian ini untuk mengkaji pengaruh penambahan madu klanceng dengan taraf dan lama simpan yang berbeda terhadap kualitas fisik susu sapi pasteurisasi melalui uji reduktase, pH, dan alkohol. Manfaat dilakukannya penelitian ini untuk memberikan informasi ilmiah bagi masyarakat selaku konsumen tentang penggunaan bahan dari alam yang sehat dan alami untuk pengawetan minuman, serta upaya peningkatan kualitas dengan pemanfaatan madu klanceng sebagai bahan tambahan susu sapi pasteurisasi. Selain itu, penelitian ini juga relevan berkontribusi memberikan informasi kepada industri susu selaku produsen dalam pemahaman untuk pengembangan produk yang lebih beragam dan lebih tahan lama serta memiliki kualitas yang lebih tinggi. Sehingga penelitian ini memiliki implikasi praktis yang signifikan di antara keduanya. Hipotesis penelitian ini adalah terdapat pengaruh interaksi antara level penambahan madu klanceng dan lama simpan susu sapi pasteurisasi terhadap kualitas fisik susu.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Susu Sapi

Susu adalah cairan berwarna putih yang keluar dari ambing sapi perah pada proses pemerahan yang memiliki kandungan gizi yang tinggi karena kandungan zat makanan yang lengkap dan seimbang (Christi *et al.*, 2020). Menurut Hadiwiyoto, (1994) yang dikutip oleh Navyanti dan Adriyani (2015), susu secara istilah diartikan sebagai cairan yang berwarna putih yang berasal dari manusia, pemerahan sapi atau hewan lain yang menyusui yang dapat diminum atau digunakan sebagai bahan yang menyehatkan serta tidak dikurangi komponennya atau ditambah dengan bahan yang lain. Susu segar yang baik harus memenuhi persyaratan mutu yang telah ditetapkan dalam Standar Nasional Indonesia (SNI) 3141.1:2011, yang meliputi sifat fisik, kimia, dan batas cemaran mikroorganisme yang masih dapat ditoleransi. Zat gizi yang terkandung dalam susu sapi membuat susu memiliki banyak khasiat bagi tubuh antara lain untuk pertumbuhan, pemeliharaan, kesehatan, dan juga kecerdasan (Achroni dan Dawud, 2013). Kandungan gizi yang tinggi pada susu juga menjadi sumber nutrisi dan makanan utama pedet setelah kelahirannya, berupa kolostrum yang merupakan air susu dari ambing sapi yang baru melahirkan. Hal ini karena kandungan kolostrum yang mencakup protein, lemak, laktosa, kalsium, dan mineral lainnya yang berperan penting dalam imunitas, pertumbuhan dan perkembangan sistem pencernaan pedet (Kolo *et al.*, 2023).

Susu sebagai bahan pangan tinggi protein memiliki kandungan kalori 66 kkal,

protein 3,2 gr, lemak 3,7 gr, laktosa 4,6 gr, zat besi 0,1 mg, kalsium 120 mg, dan vitamin A 100 IU (Navyanti dan Adriyani, 2015). Kalsium merupakan mineral utama pada susu yang berlimpah, yang berperan penting dalam pembentukan tulang, gigi, serta fungsi otot dan saraf (Juwita *et al.*, 2024). Protein yang terkandung dalam susu berupa kasein dan whey (Kisnawaty *et al.*, 2024), sedangkan karbohidrat utamanya berupa laktosa hanya bisa ditemukan dalam susu dengan kadar sekitar 5,3 gram per 100 gram (Zahra *et al.*, 2024). Berbagai kandungan gizi tersebut menjadikan susu sapi sebagai salah satu bahan pangan pilihan yang memberikan manfaat lengkap bagi kesehatan tubuh manusia (Putri *et al.*, 2024).

Secara fisik, susu sapi segar normalnya berwarna putih hingga putih kekuningan, beraroma khas susu segar, bertekstur cair agak kental, serta memiliki rasa sedikit manis akibat kandungan laktosa di dalamnya (Shodiq *et al.*, 2023). Berat jenis susu segar menurut SNI 3141.1:2011 ditetapkan pada kisaran 1,0270 hingga 1,0350 g/ml, sedangkan nilai pH normalnya berkisar antara 6,3 hingga 6,8. Susu sapi tergolong bahan makanan yang mudah sekali mengalami kerusakan. Kandungan gizi yang tinggi pada susu dapat menjadi media yang baik bagi pertumbuhan bakteri yang dapat menyebabkan kerusakan pada susu menjadi lebih cepat (Kinteki *et al.*, 2019). Susu segar akan dengan mudah mengalami cemaran bakteri. Nutrisi yang tinggi dalam susu justru rentan dapat digunakan oleh bakteri sebagai media pertumbuhan yang dapat mengurangi manfaat yang baik dari susu tersebut, sehingga susu cepat rusak apabila tidak segera ditangani dengan baik (Harjanti *et al.* (2016). Kerusakan pada susu karena tercemar bakteri dalam jumlah yang tinggi berpotensi membahayakan kesehatan konsumen (Fahril *et al.*, 2024).

Maka dari itu, pencegahan perlu dilakukan melalui upaya higienis proses penanganan, pemilihan ternak yang sehat, pemeliharaan yang bersih guna mencegah pencemaran pada susu segar oleh mikroba (Rahmi *et al.*, 2024).

Kualitas susu sapi sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor, mulai dari bangsa sapi dan kondisi kesehatan ternak, manajemen pakan yang diberikan, periode laktasi, waktu pemerahan, hingga kondisi lingkungan tempat ternak dipelihara. Pemeliharaan dan perlindungan kesehatan pemerah dan ternak yang diperah, sanitasi susu dengan perlindungan susu terhadap adanya kontaminasi selama proses pengolahan, penyajian dan penyimpanan, kebersihan peralatan yang digunakan, serta pengelolaan pembuangan limbah dan kotoran (Navyanti dan Adriyani, 2015). Penelitian Mustaqim *et al.* (2021) yang mengkaji komposisi susu sapi Friesian Holstein (FH) di Sukoharjo menemukan bahwa pemberian pakan suplemen berpengaruh terhadap kandungan laktosa dan lemak susu meski tidak secara signifikan. Hal ini mempertegas bahwa manajemen pakan yang baik merupakan kunci utama dalam menjaga konsistensi kualitas susu yang dihasilkan. Selain faktor pakan, sanitasi kandang dan higienitas proses pemerahan juga menjadi faktor kritis yang secara langsung berpengaruh pada jumlah cemaran bakteri dalam susu segar (Wijanarko *et al.*, 2023).

2.2. Susu Pasteurisasi

Susu pasteurisasi merupakan susu segar yang telah melalui proses pemanasan pada suhu dan durasi tertentu dengan tujuan membunuh organisme patogen seperti bakteri, protozoa, kapang, dan khamir serta memperpanjang umur konsumsi susu

(Muchlis *et al.*, 2022). Hal ini perlu dilakukan karena susu memiliki umur simpan yang relatif singkat dan mudah mengalami kerusakan akibat cemaran mikroorganisme apabila tidak ditangani dengan baik (Budi *et al.*, 2023). Menurut Kristanti (2017) susu pasteurisasi dari susu segar merupakan salah satu upaya untuk menambah masa simpan susu, dengan tidak banyak merubah sifat fisiknya. Ditambahkan oleh Rohmania (2017) bahwa tujuan dari proses pasteurisasi guna membunuh bakteri pathogen dengan tidak merubah bentuk, rasa, komposisi, dan kandungan nutrisinya. Pasteurisasi dilakukan dengan pemanasan di bawah titik didih susu (Kristanti, 2017). Menurut Triwidyastuti *et al.* (2019) terdapat 2 metode pasteurisasi yaitu *Low Temperature Long Time* (LTLT) pemanasan pada temperature 63-66°C selama 30 menit, dan metode *High Temperature Short Time* (HTST) pemanasan pada temperature 72 °C selama waktu 15 detik. Sementara itu, metode UHT menggunakan suhu sangat tinggi hingga 131°C selama 0,5 detik sehingga menghasilkan produk dengan umur simpan yang jauh lebih panjang (Angelina *et al.*, 2023). Metode LTLT dan HTST masing-masing memiliki tujuan pengolahan yang penggunaannya disesuaikan dengan kapasitas industri pengujian,

Salah satu keunggulan proses pasteurisasi dibandingkan sterilisasi yaitu kemampuan pasteurisasi dalam mempertahankan nilai gizi dan karakteristik sensoris susu secara lebih baik, dan prosesnya mudah. Sebagian besar protein susu, terutama kasein dan protein whey, relatif lebih stabil terhadap panas pasteurisasi dan tetap memiliki nilai biologis tinggi setelah proses berlangsung. Kandungan kalsium, fosfor, dan vitamin B kompleks yang merupakan komponen utama gizi susu juga umumnya tidak mengalami perubahan yang berarti. Meski

demikian, vitamin C dan beberapa vitamin yang bersifat termolabil dapat mengalami penurunan kadar, namun susu memang bukan sumber utama vitamin tersebut sehingga dampaknya terhadap nilai gizi keseluruhan tidak signifikan (Angelina *et al.*, 2023).

Setelah proses pasteurisasi, susu harus segera didinginkan dan disimpan pada suhu rendah, umumnya di bawah 4°C, untuk mencegah pertumbuhan kembali bakteri yang tersisa. Umur simpan susu pasteurisasi pada kondisi penyimpanan dingin yang baik umumnya berkisar antara 7 hingga 14 hari, tergantung pada kebersihan proses produksi, jenis kemasan yang digunakan, dan suhu penyimpanan selama distribusi (Ismiarti dan Sumarmono, 2023). Kualitas susu pasteurisasi diuji menggunakan beberapa parameter seperti uji pH, uji reduktase, dan uji alkohol, yang masing-masing menggambarkan perubahan kondisi susu seiring bertambahnya waktu simpan. Uji pH menggambarkan kondisi susu seiring bertambahnya waktu penyimpanan (Karni *et al.*, 2023), sedangkan uji reduktase menggambarkan tingkat cemaran bakteri berdasarkan lama waktu reduksi yang menyebabkan perubahan warna menggunakan methylene blue, serta uji alkohol menggambarkan kestabilan protein susu (Qossam *et al.*, 2025). Penelitian Ismiarti dan Sumarmono (2023) juga menunjukkan bahwa penambahan bahan alami dengan sifat antimikroba pada susu pasteurisasi berpengaruh nyata terhadap kestabilan nilai pH dan ketahanan susu selama penyimpanan dingin. Hal ini menjadi peluang di mana pemanfaatan bahan fungsional alami seperti madu klanceng sebagai bahan tambahan yang dapat memperpanjang daya simpan susu pasteurisasi dapat dilakukan.

Syarat mutu susu pasteurisasi disajikan Tabel 1 (SNI, 1995) sebagai berikut.

Karakteristik	Syarat		Cara Pengujian
	A	B	
Bau	has	has	Organoleptik
Rasa	has	has	Organoleptik
Warna	has	has	Organoleptik
Kadar lemak, % (bobot/bobot) min.	2,80	1,50	SP-SMP-248- 1980
Kadar padatan tanpa lemak, % (bobot/bobot) min.	7,7	7,5	SP-SMP-249- 1980
Uji reductase dengan methylene biru	0	0	SP-SMP-251- 1980
Kadar protein, % (bobot/bobot) min.	2,5	2,5	SP-SMP- 79- 1975
Uji fosfatase	0	0	SP-SMP-250- 1980
T.P.C. (Total Plate Count), ml, maks.	3 x 10 ⁴	3 x 10 ⁴	SP-SMP- 93- 1975
Coliform presumptiw MPH/ml, maks.	10	10	SP-SMP- 94- 1975
Logam berbahaya :			
As, (ppm) maks.	1	1	SP-SMP-193- 1977 Depkes S.I. 7
Pb, (ppm) maks	1	1	SP-SMP-197- 1977 Depkes S.I. 7
Cu, (ppm) maks.	2	2	SP-SMP-247- 1980
Zn, (ppm) maks.	5	5	SP-SMP-190- 1977 AOAC 25136-25142
Bahan pengawet	Sesuai dengan Peraturan Menteri Kesehatan R.I. No. 235/Men. Kes/Per/IV/79		

Catatan: A = Susu pasteurisasi tanpa penyedap cita rasa

B = Susu pasteurisasi diberi penyedap cita rasa

Sumber : BSN, 1995

2.3. Madu Klanceng (*Trigona sp.*)

Madu klanceng merupakan madu yang dihasilkan oleh lebah tanpa sengat dari genus *Trigona* spp. yang dalam kehidupan sehari-hari masyarakat Indonesia lebih dikenal dengan sebutan “klanceng”, “lanceng”, atau di beberapa daerah disebut “kalulut” dan “galo-galo”. Keberadaan lebah ini sudah lama dimanfaatkan secara

tradisional oleh masyarakat pedesaan di Indonesia, terutama yang tinggal di sekitar kawasan hutan tropis (Fadiah dan Supriyatna, 2023). Madu memiliki asam organik seperti asam laktat, madu juga mengandung antibiotic aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* (Fatoni *et al.*, 2008; Pramugari, 2019). Madu klanceng dihasilkan oleh lebah yang bentuk tubuhnya kecil, yaitu lebah madu klanceng (*Trigona sp.*) yang berperan dalam penyerbukan tanaman, tidak menyengat, tergolong jinak dan mudah dibudidayakan bahkan di lingkungan pemukiman, dan harga madu serta propolisnya cukup tinggi (Karnan *et al.*, 2021). Sihombing (2005), menyatakan sistematika lebah *Trigona sp.* Sebagai berikut.

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Phylum	: <i>Artropoda</i>
Sub Phylum	: <i>Mandibulata</i>
Kelas	: <i>Insecta (Hexapoda)</i>
Ordo	: <i>Hymenoptera</i>
Sub Ordo	: <i>Apocrita</i>
Famili	: <i>Apidae</i>
Sub Famili	: <i>Meliponinae</i>
Genus	: <i>Trigona</i>
Spesies	: <i>Trigona Sp</i>

Ciri khas rasa madu klanceng berbeda karena berasal dari lebah yang berbeda dari lebah pada umumnya, memiliki rasa yang lebih masam karena kandungan kadar air lebih banyak yaitu berkisar 30-35% dan berwarna cokelat keruh (Handika

et al., 2023). Madu klanceng cenderung bertekstur lebih cair, berwarna lebih gelap, dan memiliki rasa khas perpaduan antara manis dan asam yang menjadi daya tarik tersendiri bagi konsumen (Zahra *et al.*, 2021). Penambahan madu klanceng pada kefir dengan komposisi perlakuan 4% dan 8% meningkatkan keasaman, kandungan kadar air, kadar alkohol, sineresis, serta menurunkan nilai pH dan viskositas kefir, penambahan madu klanceng 8% menghasilkan kenaikan kualitas mikrobiologis dan sensoris kefir (Prasetyo *et al.*, 2023). Penambahan madu trigona menunjukkan nilai pH tertinggi pada konsentrasi penambahan 0% dan pH terendah pada konsentrasi penambahan 10%, menurunnya pH karena semakin tinggi konsentrasi penambahan madu serta sejalan dengan peningkatan total BAL dan asam laktat (Ningrum *et al.*, 2022).

Dari segi komposisi, madu klanceng mengandung berbagai senyawa bioaktif yang memiliki nilai tinggi baik gizi ataupun medis. Lebah madu klanceng memiliki sifat anti mikroba yang sangat tinggi (Awwaly *et al.*, 2023). Madu klanceng terkenal akan sifat antibakteri, anti-inflamasi, dan antioksidan alami yang tinggi (Fadiah dan Supriyatna, 2023). Madu trigona memiliki komposisi yang terdiri dari karbohidrat (87,41%), kadar air (10,90%), kadar serat (0,90%), kadar abu (0,57%), protein (0,155), lemak (0,06%), dan pH (4,0) (Nur *et al.*, 2019). Selain itu, madu klanceng juga kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid yang bertindak sebagai antioksidan alami, di mana kadarnya dilaporkan lebih tinggi dibandingkan madu dari lebah bersengat (Fatmawati *et al.*, 2024). Komposisi kimia pada Madu Trigona, mengandung polifenol sebesar 133,52 ppm, flavonoid sebesar 159,62 ppm, vitamin C sebanyak 0,15%, dan madu juga mengandung protein sebesar 1,32%, gula

sebesar 56,36%, energi 4060 cal/gr, betacaroten 10,61 ppm, calsium 273,23 ppm, magnesium 338,94 ppm, dan zink 12,49 ppm (Syamsul *et al.*, 2022).

Kandungan asam organik pada madu klanceng, khususnya asam glukonat yang cukup tinggi menjadi salah satu penyebab rasa asam yang menjadi ciri khas madu ini. Selain itu, madu klanceng memiliki kandungan enzim, vitamin, mineral dan senyawa bioaktif lain yang bermanfaat karena potensi madu klanceng sebagai imunomodulator, bahan penyembuh luka, hingga agen antidiabetes berkat kandungan polifenol yang mampu memengaruhi metabolisme glukosa dalam tubuh, yang meskipun jumlah produksi madunya lebih sedikit dibandingkan lebah *Apis sp.*, harga jual madu klanceng di pasaran justru lebih mahal karena madu ini dipercaya memiliki khasiat kesehatan yang lebih beragam (Fadiah dan Supriyatna, 2023). Hal ini mendorong peningkatan minat masyarakat untuk membudidayakan lebah klanceng sebagai sumber pendapatan alternatif pada wilayah dengan kekayaan hayati yang melimpah (Astuti dan Laksmi, 2022), yang perkembangan budidaya lebah madu telah berlangsung di antaranya di wilayah Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Sumatera, sampai Nusa Tenggara (Sari *et al.*, 2020).

2.4. Uji Kualitas Fisik Susu

Susu pasteurisasi merupakan produk olahan susu segar yang telah melalui proses pemanasan pada suhu dan waktu tertentu, guna mematikan sebagian besar mikroorganisme patogen, dengan tetap mempertahankan nilai gizinya. Jaminan atas kualitas susu perlu diperhatikan, seperti halnya dalam proses pemerahan sapi sampai pengolahan susu yang pada akhirnya menjadi produk siap konsumsi

(Dwitania dan Swacita, 2013). Hal itu ditujukan untuk memastikan produk susu yang dihasilkan aman, sehat, berkualitas, serta dapat memenuhi harapan ketika sampai di tangan konsumen. Pengujian fisik dilakukan untuk mengetahui kualitas fisik suatu bahan makanan, dan menjadi salah satu kriteria dalam penentuan baik atau buruknya kualitas. Pengujian ini tidak hanya penting dilakukan segera setelah proses pasteurisasi, tetapi juga selama masa penyimpanan, mengingat susu merupakan produk yang sangat rentan mengalami perubahan kualitas seiring berjalannya waktu (Wijanarko *et al.*, 2023).

Kualitas fisik susu pasteurisasi dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain kondisi susu saat masih segar, metode dan suhu proses pasteurisasi, jenis dan konsentrasi bahan tambahan yang digunakan, serta kondisi penyimpanan setelah proses pasteurisasi. Penambahan bahan alami dengan sifat antimikroba pada susu pasteurisasi terbukti mampu mempengaruhi nilai pH dan total asam susu selama penyimpanan (Ismiarti dan Sumarmono, 2023). Sifat fisik dapat terbentuk akibat fermentasi laktosa dan gula memproduksi asam laktat yang dihasilkan oleh aktivitas bakteri asam laktat menyebabkan adanya penurunan derajat keasaman susu yang memengaruhi perubahan fisik susu hingga mengalami penggumpalan karena protein kasein yang terganggu dan menjadi tidak stabil (Nugroho *et al.*, 2023). Parameter kualitas fisik yang umum digunakan dalam evaluasi susu pasteurisasi mencakup nilai pH, angka reduktase, dan uji alkohol dan mengacu pada SNI 3951:2018. Pengujian sifat fisik ini penting untuk menentukan apakah susu masih layak dikonsumsi atau telah mengalami kerusakan sehingga menjadi tidak aman untuk dikonsumsi (Pitaloka, 2025).

2.4.1. Uji pH

Uji pH dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman dan menentukan kondisi susu pasteurisasi. pH susu dalam keadaan baik berada pada kisaran 6,3-6,6 (SNI, 1998). Indikator nilai pH menjadi salah satu parameter yang paling mudah dan cepat dalam hal menilai kondisi susu. Status perubahan pH pada susu dapat menunjukkan adanya suatu kontaminasi oleh bakteri yang menyebabkan kerusakan pada susu, bakteri pembentuk asam akan memfermentasi laktosa menjadi asam laktat sehingga nilai pH akan berangsur menurun. Ketika pH lebih rendah, terjadi pengurangan kelarutan protein dan kasein, sehingga menyebabkan terjadinya interaksi antar protein yang lebih banyak sedangkan interaksi antara protein dan air menjadi rendah (Berlianti *et al.*, 2022). Penurunan pH ini menjadi penanda awal bahwa kualitas susu mulai menurun dan perlu segera diperhatikan (Asmaq dan Marisa, 2020).

Penelitian milik Wijanarko *et al.* (2023) pada susu segar di Kecamatan Mijen, Kota Semarang, menunjukkan rata-rata nilai pH susu berada pada angka 6,37, yang masih masuk dalam kisaran normal sesuai SNI 3141.1:2011. Sementara itu, penelitian dari Ismiarti dan Sumarmono (2023) bahwa penambahan bahan alami pada susu pasteurisasi berpengaruh nyata terhadap nilai pH, terutama pada hari ke-0 dan ke-7 penyimpanan. Hal ini menunjukkan bahwa bahan tambahan dengan sifat asam, seperti madu klanceng yang memiliki kandungan asam glukonat dengan pH sekitar 3,5 hingga 4,5, berpotensi menurunkan nilai pH susu saat pertama kali ditambahkan (Zahra *et al.*, 2021). Nilai pH susu pasteurisasi tidak hanya dipengaruhi oleh bahan tambahan yang masuk ke dalamnya apapun bentuknya,

tetapi juga dipengaruhi oleh lamanya waktu simpan. Penurunan pH susu selama masa penyimpanan berhubungan langsung dengan meningkatnya aktivitas bakteri asam laktat yang masih bertahan setelah proses pasteurisasi, sehingga keasaman susu semakin meningkat seiring berjalannya penyimpanan (Shodiq *et al.*, 2023).

2.4.2. Uji Reduktase

Uji reduktase menunjukkan kemampuan bakteri dalam mengoksidasi senyawa tertentu pada susu. Uji reduktase dilakukan dengan menggunakan zat warna methylen blue (Arjadi *et al.*, 2017). Uji reduktase atau yang lebih dikenal dengan uji metilen biru (*Methylene Blue Reduction Test/MBRT*) merupakan metode tidak langsung untuk memperkirakan jumlah populasi bakteri dalam susu. Prinsip kerja uji reduktase adalah memanfaatkan kemampuan bakteri dalam mereduksi zat warna metilen biru menjadi tidak berwarna akibat aktivitas enzim reduktase yang dilepaskan selama proses metabolisme. Berdasarkan SNI 3951:2011, susu pasteurisasi yang berkualitas baik harus memiliki waktu reduktase minimal 5 jam. Artinya, semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk mengubah warna *methylene blue*, semakin sedikit bakteri yang ada dan semakin baik kualitas susu tersebut. Semakin tinggi jumlah bakteri di dalam susu, perubahan warna akan semakin cepat terjadi (Arini dan Ifalahma, 2021).

Uji reduktase banyak dipilih dalam penelitian karena prosedurnya yang sederhana dan dapat memberikan gambaran umum mengenai beban mikroba susu dalam waktu yang relatif singkat (Satria *et al.*, 2019). Didukung oleh penelitian milik Maya *et al.* (2023) dalam kajian kualitas susu di Koperasi Laras Ati

Kabupaten Kuningan juga menggunakan uji MBRT sebagai salah satu standar penerimaan susu di tingkat koperasi. Kaitannya dengan penambahan madu klanceng pada susu pasteurisasi, aktivitas antimikroba pada madu berpotensi memperlambat pertumbuhan bakteri sehingga waktu reduktase susu dapat menjadi lebih lama. Cahyadi *et al.* (2019) telah membuktikan bahwa madu klanceng dari lebah *Trigona sp.* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri secara nyata melalui uji *in vitro*. Dengan demikian, semakin tinggi konsentrasi penambahan madu klanceng, diduga angka reduktase susu juga akan semakin baik, meskipun hal ini perlu dibuktikan lebih lanjut melalui penelitian.

2.4.3. Uji Alkohol

Uji alkohol merupakan uji kesegaran susu yang paling umum dan praktis digunakan, baik di lapangan maupun di laboratorium. Prosedur uji alkohol dilakukan dengan mencampurkan susu dan larutan alkohol 70% secara merata dengan perbandingan 1:1, kemudian mengamati apakah terbentuk gumpalan atau tidak. Jika muncul butiran atau gumpalan, maka susu dinyatakan positif atau tidak layak terima; sebaliknya, susu yang tidak menggumpal dinyatakan negatif dan masih dalam kondisi baik (Shodiq *et al.*, 2023). Mekanisme terjadinya koagulasi pada uji alkohol berkaitan erat dengan kestabilan protein kasein dalam susu. Ketika susu mengalami peningkatan keasaman akibat aktivitas bakteri, kasein mulai tidak stabil sehingga mudah terdenaturasi oleh alkohol. Dengan demikian, hasil positif pada uji alkohol mengindikasikan bahwa susu telah mengalami penurunan pH yang cukup signifikan dan tidak tahan terhadap perlakuan panas (Wijanarko *et al.*, 2023).

Penelitian Asmaq dan Marisa (2020) yang mengkaji karakteristik fisik susu segar di Medan Sunggal ditemukan fakta bahwa beberapa sampel susu menunjukkan hasil positif pada uji alkohol, yang berkorelasi dengan nilai pH yang rendah dan angka reduktase yang buruk pada sampel yang sama. Temuan ini mempertegas keterkaitan antara ketiga parameter fisik tersebut dalam menggambarkan kualitas susu secara keseluruhan. Pada konteks penelitian ini, penambahan madu klanceng yang bersifat asam diperkirakan dapat memengaruhi hasil uji alkohol, terutama pada konsentrasi tinggi, serta seiring bertambahnya lama simpan. Pada uji alkohol, susu yang pecah ditunjukkan dengan hasil positif mengindikasikan kualitas susu yang rendah sehingga tidak layak untuk dikonsumsi karena sifat asam yang terkandung dalam susu tinggi (Sutrisna *et al.*, 2014).

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan selama satu bulan pada bulan Juni 2024 di Laboratorium Produksi Ternak Potong dan Perah Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Proses ini meliputi keseluruhan pembuatan, pengujian kualitas fisik yang meliputi uji pH, uji reduktase, dan uji alkohol dengan lama simpan 0, 5, 10, dan 15 hari, serta pengambilan data.

3.1. Materi

Materi yang digunakan selama penelitian meliputi 4L susu sapi yang dipasteurisasi dan madu klanceng. Beberapa alat dan bahan yang digunakan antara lain alkohol 70% dan *methylene blue*. Alat yang digunakan selama penelitian meliputi gelas beaker, gelas ukur, tabung reaksi, *waterbath*, pipet ukur, pipet tetes, coolbox, es batu, thermometer, pengaduk, sendok, panci, kompor dan gas, oven, wadah, alat uji pH meter, alat tulis, gelas kaca, corong, dan 48 botol plastik ukuran 100ml.

3.2. Metode

3.2.1. Rancangan Percobaan

Penelitian dilaksanakan menggunakan bentuk percobaan berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) berpola *split plot in time* menggunakan 2 faktor dan terdiri dari 3 ulangan dengan jumlah unit percobaan 48.

Petak utama, perlakuan penambahan madu klanceng sebagai berikut:

P0 = tanpa penambahan madu klanceng atau penambahan madu klanceng 0%

P1 = dengan penambahan madu klanceng 4%

P2 = dengan penambahan madu klanceng 8%

P3 = dengan penambahan madu klanceng 12%

Anak petak, lama penyimpanan susu pasteurisasi:

W0 = 0 hari

W1 = 5 hari

W2 = 10 hari

W3 = 15 hari

3.2.2. Prosedur Penelitian

Metode pasteurisasi susu dilakukan dengan *High Temperature Short Time* (HTST) yaitu pemanasan selama 15 detik pada suhu 72°C yang tujuannya untuk menonaktifkan enzim *phosphatase* dan membunuh bakteri patogen. Susu didapat dari *Teaching Farm* FPP UNDIP, kemudian dibawa menggunakan *cooling box* menuju Laboratorium Produksi Ternak Potong dan Perah FPP. Susu diletakkan pada panci kemudian dipanaskan atau dipasteurisasi. Saat proses pasteurisasi ini, susu terus diaduk agar panasnya merata dan terkontrol. Susu sapi yang telah dipasteurisasi selanjutnya segera didinginkan dengan cara susu beserta wadah direndam pada wadah panci yang berisi air dingin atau air yang ditambah dengan es batu selama beberapa menit sampai susu menjadi dingin. Setelah susu dingin, susu yang sudah dipasteurisasi kemudian dikeluarkan dari dalam panci dan segera

diberi 4 perlakuan yaitu susu pasteurisasi dengan penambahan madu klanceng 0%, dengan penambahan madu klanceng 4%, dengan penambahan madu klanceng 8%, dan dengan penambahan madu klanceng 12%.

Setelah diberi perlakuan dengan penambahan madu klanceng dengan taraf yang berbeda, susu kemudian dipindahkan ke dalam botol-botol plastik kecil yang tertutup rapat sebanyak 48 botol untuk kemudian diberi kode sampel dan disimpan dalam lemari pendingin sesegera mungkin. Susu sapi pasteurisasi ini disimpan pada lemari pendingin *showcase* bersuhu 5°C. Susu disimpan sampai waktu uji dilakukan. Selama waktu penyimpanan, susu pasteurisasi tidak dibuka tutup botolnya ataupun dikeluarkan dari dalam *showcase*. Hal itu untuk menghindari adanya kontaminasi dan menjaga suhu susu agar tetap konsisten sehingga tidak ada faktor yang memengaruhi kualitas susu yang disimpan yang asalnya dari luar.

3.2.3. Pengujian Fisik

Untuk mengetahui kualitas fisik dari susu sapi pasteurisasi yang telah diberikan perlakuan selanjutnya dilakukan pengujian fisik pada hari 0, 5, 10, dan 15 untuk melihat apakah susu pasteurisasi masih dalam keadaan baik dan layak dikonsumsi atau sebaliknya. Pengujian fisik meliputi uji pH, uji reduktase, dan uji alkohol.

Uji pH dilakukan menggunakan pH meter digital mengacu pada metode yang digunakan oleh Mutaqin et al. (2021). Sebelum digunakan, pH meter dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan buffer standar pH 4 dan pH 7 untuk memastikan hasil pengukuran yang akurat nantinya. Sampel susu dituangkan ke

dalam wadah bening secukupnya, kemudian elektroda pH meter dicelupkan ke dalam sampel hingga angka pada layar alat menunjukkan nilai yang stabil. Nilai pH yang tertera pada layar pH meter kemudian dicatat sebagai hasil pengukuran pengujian. Elektroda dibersihkan menggunakan cairan aquades dan dikeringkan dengan tisu kering setiap kali sebelum ganti ke sampel berikutnya untuk menghindari kontaminasi antar sampel.

Uji reduktase dilakukan untuk mengetahui perkiraan jumlah bakteri dalam susu pasteurisasi berdasarkan kemampuan bakteri dalam mereduksi zat warna methylene blue (Rusidah *et al.*, 2022). Sampel susu sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril, lalu ditambahkan 2 ml larutan methylene blue 1% dan dikocok pelan hingga tercampur rata. Tabung reaksi kemudian ditutup rapat dan dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setiap 30 menit pada jam pertama, lalu setiap 2 jam berikutnya dicek sampai warna biru pada larutan berubah menjadi putih. Waktu yang dibutuhkan sampai warna biru hilang itulah yang dicatat sebagai angka reduktase. Semakin cepat warna biru berubah menjadi putih, maka semakin banyak bakteri yang ada di dalam susu tersebut. Hasil pengujian kemudian dibandingkan dengan standar mutu susu pasteurisasi sesuai SNI 3951:2018 dan metode pengujian mengacu pada SNI 2897:2008.

Uji alkohol pada susu sapi pasteurisasi setelah diberi perlakuan penambahan madu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan alkohol 1:1. Tabung dikocok secara perlahan sampai isinya homogen antara susu dan alkohol. Setelah homogen, akan terlihat hasil apakah susu dalam keadaan baik atau

pecah. Uji alkohol dinyatakan positif apabila terjadi gumpalan atau terdapat endapan, dan dinyatakan negatif apabila tidak terjadi gumpalan atau endapan.

3.2.3. Analisis Data

Hasil yang diperoleh dari setiap uji pH dan reduktase kemudian diuji dengan analisis ragam berdasarkan RAL dengan *analysis of variance* (ANOVA) dengan model sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \delta_{ik} + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ij} = pengaruh penambahan madu klanceng pada petak percobaan ke k yang memperoleh kombinasi perlakuan ij (taraf ke I dari penambahan madu klanceng dan taraf ke j dari lama simpan)

μ = nilai tengah umum rata-rata

α_i = pengaruh faktor penambahan madu klanceng ke-i

δ_{ik} = pengaruh galat yang muncul pada taraf ke-I dari penambahan madu klanceng dalam kelompok ke-k (galat petak utama (galat a))

β_j = pengaruh faktor waktu simpan ke-j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = pengaruh interaksi faktor penambahan madu klanceng ke I dan waktu simpan ke j

ε_{ijk} = pengaruh galat percobaan pada petak percobaan ke k yang memperoleh taraf ke-I dari faktor penambahan madu klanceng dan taraf ke-j dari macam-macam waktu simpan, (galat anak petak (galat b)).

Hipotesis statistik sebagai berikut :

$H_0 : (\alpha\beta)_{ij} = 0$ (tidak ada pengaruh interaksi antara penambahan madu klanceng dan waktu simpan susu sapi pasteurisasi terhadap kualitas fisik)

$H_1 : (\alpha\beta)_{ij} \neq 0$ (minimal ada satu pengaruh interaksi antara penambahan madu klanceng dan waktu simpan susu sapi pasteurisasi terhadap kualitas fisik)

$H_0 : \alpha_i = 0$ (tidak ada pengaruh penambahan madu klanceng terhadap kualitas fisik susu sapi pasteurisasi)

$H_1 : \alpha_i \neq 0$ (minimal ada satu pengaruh penambahan madu klanceng terhadap kualitas fisik susu sapi pasteurisasi)

$H_0 : \beta_j = 0$ (tidak ada pengaruh waktu simpan terhadap kualitas fisik susu sapi pasteurisasi)

$H_1 : \beta_j \neq 0$ (minimal ada satu pengaruh waktu simpan terhadap kualitas fisik susu sapi pasteurisasi)

Kriteria uji:

H_0 diterima, apabila $F_{hitung} < F_{tabel}$

H_1 diterima, apabila $F_{hitung} \geq F_{tabel}$

Jika pada hasil uji ANOVA terdapat pengaruh yang nyata dari perlakuan maka dilanjutkan uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Selanjutnya untuk data uji alkohol dianalisis secara deskriptif kualitatif, dengan menghitung persentase hasil negatif pada keseluruhan hasil uji berdasarkan ada atau tidaknya endapan yang terbentuk sebagai indikator stabilitas protein susu.