

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu susu sapi segar yang diperoleh dari Kelompok Studi Ternak Perah Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang, *kefir grains* yang diperoleh dari Rumah Kefir Ungaran, NaOH 0,1 N, *Phenolphthalein* (PP) 1%, H₂SO₄, isoamil alkohol, dan aquades. Alat-alat yang digunakan adalah toples, gelas, pengaduk, termometer, saringan, *plastic wrap*, panci, kompor, gelas ukur, erlenmeyer, *hand-refractometer*, alat titrasi, tabung Gerber, *waterbath*, vortex, dan pipa Ostwald.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian terdiri dari rancangan percobaan, hipotesis, preparasi kefir optima, uji parameter kefir optima, dan analisis data.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lama fermentasi yang berbeda yaitu T1 untuk 12 jam, T2 untuk 24 jam, T3 untuk 36 jam, dan T4 untuk 48 jam. Masing-masing perlakuan akan dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan.

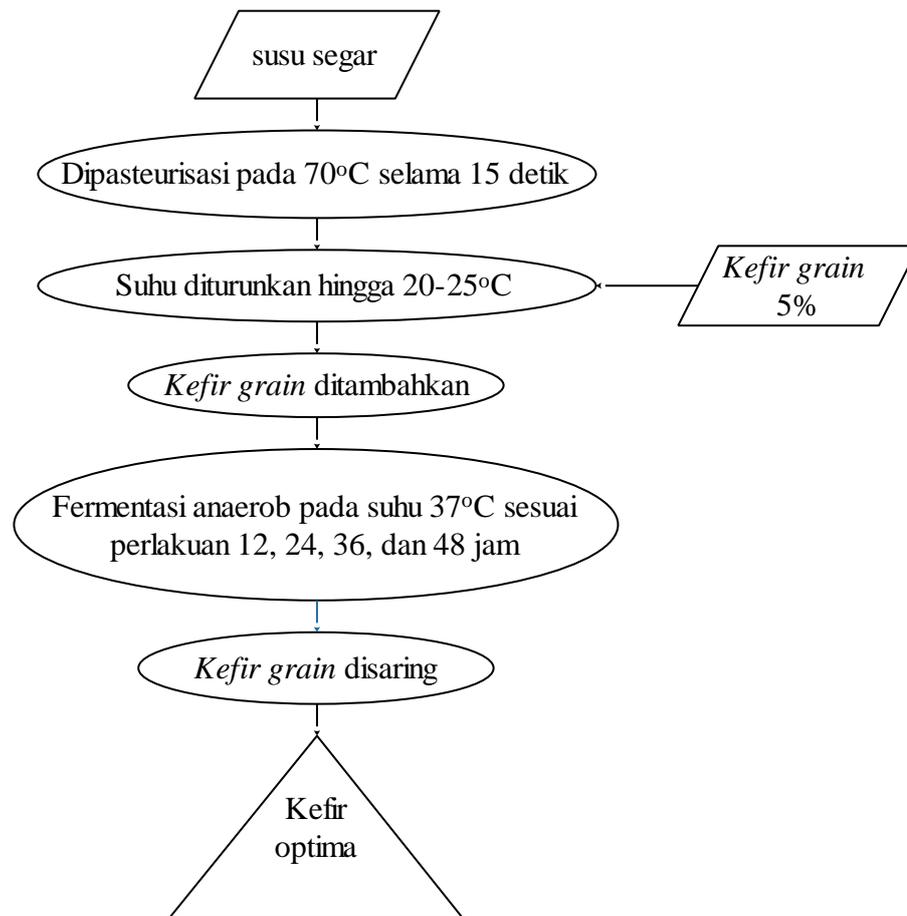
3.2.2. Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- H0 : Tidak terdapat pengaruh perbedaan lama fermentasi terhadap kadar laktosa, keasaman, kadar lemak, dan tingkat viskositas kefir optima
- H1 : Terdapat pengaruh perbedaan lama fermentasi terhadap kadar laktosa, keasaman, kadar lemak, dan tingkat viskositas kefir optima.

3.2.3. Preparasi Kefir Optima

Pembuatan kefir diawali dengan proses pasteurisasi susu sapi segar pada suhu 70°C selama 15 detik kemudian dilakukan penurunan suhu hingga mencapai suhu ruang (20-25°C). Tahap selanjutnya yaitu jumlah susu yang akan digunakan pada setiap percobaan di setiap perlakuan diukur, kemudian ditambahkan *kefir grains* sebanyak 5% dari volume susu yang digunakan dalam liter dan diaduk perlahan hingga merata. Kemudian difermentasi menggunakan toples yang ditutup dengan *plastic wrap* pada suhu ruang dan di tempat yang kedap cahaya. Lama fermentasi kefir yaitu sesuai dengan perlakuan yang meliputi 12 jam (T1), 24 jam (T2), 36 jam (T3), dan 48 jam (T4) serta dilakukan penyaringan *kefir grains* setelah selesai proses fermentasi. Selanjutnya dilakukan pengamatan sesuai parameter yang telah ditentukan. Diagram alir pembuatan kefir ditunjukkan pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Diagram Alir Pembuatan Kefir Optima (Agustina *et al.*, 2013 dengan modifikasi)

3.2.4. Uji Parameter Kefir Optima

Uji parameter yang dilakukan dalam penelitian ini adalah total padatan terlarut, keasaman, kadar lemak, dan tingkat viskositas.

3.2.4.1. Uji Total Padatan Terlarut (Wahyudi dan Dewi, 2017)

Pengujian total padatan terlarut dilakukan dengan menggunakan *hand-refractometer* (Wahyudi dan Dewi, 2017). Prisma refraktometer terlebih dahulu

dibilas dengan aquades dan diseka dengan kain yang lembut. Sampel diteteskan ke atas prisma refraktometer dan diukur derajat Brix-nya.

3.2.4.2. Uji Keasaman (Jannah *et al.*, 2014)

Tahapan pengujian kadar keasaman kefir optima dilakukan dengan metode titrasi untuk mengetahui kadar asam laktat yang terbentuk selama fermentasi kefir optima (Jannah *et al.*, 2014). Sampel diambil sebanyak 20 ml dan ditetesi indikator Phenolphtalein (PP) 1% sebanyak tetes. Sampel dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna sampel menjadi merah muda konstan. Kadar keasaman kemudian dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar asam (\%)} = \frac{V_1 \times N \times B}{V_2 \times 1000} \times 100\%$$

Keterangan :

V1 : Volume NaOH yang dibutuhkan (ml)

V2 : Volume sampel (ml)

N : Normalitas NaOH (0,1 N)

B : Bobot molekul asam laktat (90)

3.2.4.3. Uji Kadar Lemak (Nielsen, 2010)

Tahapan pengujian kadar lemak meliputi 10 ml H₂SO₄ dimasukkan ke dalam tabung Gerber, 11 ml sampel dituangkan ke dalam tabung Gerber, kemudian dilanjutkan dengan ditambahkan 1 ml isoamil alkohol, tutup tabung Gerber dipasang dan dikencangkan, tabung Gerber dibolak-balik agar larutan

tercampur merata, disentrifugasi selama 4 menit, dan diletakkan di *water bath* pada suhu 60-63 °C selama 5 menit. Kadar lemak kemudian dibaca.

3.2.4.4. Uji Tingkat Viskositas (Safitri dan Swarastuti, 2013).

Tahapan uji tingkat viskositas kefir dilakukan dengan cara sampel diencerkan dulu sampai 5 kali pengenceran, kemudian dihisap menggunakan pipa Ostwald sampai tanda tera bagian atas dan dihitung waktu turun sampel sampai tanda tera bagian bawah. Waktu alir dari sampel yang diuji dibandingkan dengan waktu yang dibutuhkan bagi cairan lain yang sudah diketahui viskositasnya. Untuk pengukuran massa jenis sampel, digunakan piknometer. Viskositas kemudian diukur dengan rumus :

$$\text{Kekentalan} = \frac{\rho \text{ sampel} \times t \text{ sampel} \times \eta \text{ air} \times \text{faktor pengenceran}}{\rho \text{ air} \times t \text{ air}}$$

$$\rho \text{ sampel} = \frac{m' - m}{v}$$

Keterangan :

m : massa piknometer kosong (g)

m' : massa piknometer + sampel (g)

v : volume piknometer (ml)

η : viskositas air (1 cP)

ρ : massa jenis (g/ml) (air = 1 g/ml)

t : waktu (s)

3.2.5. Analisis Data

Data uji parameter yang diperoleh selanjutnya diolah dengan menggunakan sidik ragam yaitu dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh jenis kefir. Apabila ada pengaruh nyata, untuk mengetahui perbedaan perlakuan tersebut maka dilanjutkan dengan metode Uji Wilayah Ganda Duncan dengan taraf 5% (Gomez dan Gomez, 1995).