



**KARAKTERISTIK MUTU KEFIR DENGAN VARIASI PENAMBAHAN  
EKSTRAK CASCARA DAN SUKROSA**

**SKRIPSI**

Oleh

**Faizah Yuski Zamzami**

**NIM 151710101009**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2019**



**KARAKTERISTIK MUTU KEFIR DENGAN VARIASI PENAMBAHAN  
EKSTRAK CASCARA DAN SUKROSA**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1) dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

**Faizah Yuski Zamzami**

**NIM 151710101009**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2019**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, puji syukur atas segala rahmat, hidayah, dan inayah-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik,
2. Ayahanda almarhum Sutrisno, ibunda Huriatul Mardiyah, adik Faiz Bilhaqqi Ridlo Maulana, adik Faris Iqbal Faidol Hanani, adik almarhum Muhammad Nur, dan keluarga besar saya yang tiada hentinya memberikan dukungan dan doa dalam menyelesaikan skripsi ini,
3. Dosen Pembimbing Utama Dr. Nurhayati, S.TP., M.P. dan Dosen Pembimbing Anggota Ir. Giyarto, M.Sc. yang telah membimbing dengan sabar dan meluangkan waktu dalam menyelesaikan skripsi ini,
4. Teman-teman seperjuangan angkatan 2015 yang telah berjuang bersama-sama selama masa perkuliahan hingga penelitian,
5. Almamater tercinta Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

## MOTO

Dan bahwa manusia hanya memperoleh apa yang telah diusahakannya dan sesungguhnya usahanya itu kelak akan diperlihatkan (kepadanya), kemudian akan diberi balasan kepadanya dengan balasan yang paling sempurna.

(terjemahan QS. An Najm ayat 39-41)<sup>\*)</sup>



---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *Al Qur'an dan Terjemahannya*. Bandung: CV Penerbit Dipenogoro.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

nama : Faizah Yuski Zamzami

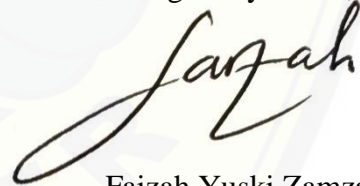
NIM : 151710101009

menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “Karakteristik Mutu Kefir dengan Variasi Penambahan Ekstrak *Cascara* dan Sukrosa” adalah benar-benar hasil karya sendiri dan bukan karya jiplakan. Sumber informasi berasal dari karya yang telah diterbitkan dari penulis lain yang telah disebutkan dalam teks dan dicatumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isi skripsi ini sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan tidak benar.

Jember, 3 Juli 2019

Yang menyatakan,



Faizah Yuski Zamzami  
NIM 151710101009

**SKRIPSI**

**KARAKTERISTIK MUTU KEFIR DENGAN VARIASI PENAMBAHAN  
EKSTRAK CASCARA DAN SUKROSA**

Oleh

Faizah Yuski Zamzami

NIM 151710101009

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Nurhayati, STP, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Giyarto, M.Sc

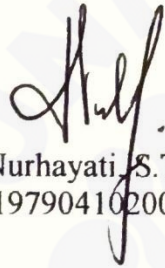
**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Karakteristik Mutu Kefir dengan Variasi Penambahan Ekstrak *Cascara* dan Sukrosa” karya Faizah Yuski Zamzami (151710101009) telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 7 Agustus 2019

tempat : Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember

Pembimbing Utama



Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si  
NIP 197904102003122004

Pembimbing Anggota



Ir. Giyarto, M. Sc  
NIP 196607181993031013

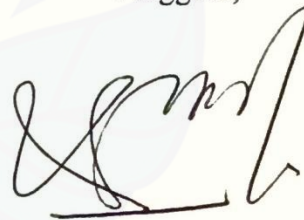
tim penguji:

Ketua,



Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc.  
NIP 196411091989021002

Anggota,



Ahmad Nafi, S.TP., M.P.  
NIP 197804032003121003

Mengesahkan

Dekan,



Dr. Suciyo Soekarno, S.TP., M.Eng.  
NIP 196809231994031009



## RINGKASAN

**Karakteristik Mutu Kefir dengan Variasi Penambahan Ekstrak *Cascara* dan Sukrosa**; Faizah Yuski Zamzami, 151710101009; 2019: 113 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Kefir merupakan produk fermentasi dengan rasa asam dan alkohol. Bakteri berperan menghasilkan komponen flavor dan asam laktat, sedangkan khamir dapat menghasilkan CO<sub>2</sub> dan etanol. Kefir bermanfaat sebagai probiotik yang dapat menekan pertumbuhan bakteri penyebab penyakit saluran pencernaan. Penentuan karakteristik mutu kefir dapat didasarkan dengan penambahan bahan tambahan seperti *cascara* dan sukrosa. *Cascara* merupakan kulit buah kopi yang dikeringkan dengan kandungan polifenol seperti kafein, tanin, dan lignin. Penambahan sukrosa diharapkan mampu memberikan nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak *cascara* dan sukrosa terhadap karakteristik mutu kefir yang dihasilkan.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor yaitu konsentrasi ekstrak *cascara* (0,5%; 1,0%; 1,5%) dan konsentrasi sukrosa (2,5%; 5,0%; 7,5%). Percobaan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Tahapan penelitian kefir yaitu pembuatan starter kerja kefir, pembuatan ekstrak *cascara*, dan pembuatan kefir *cascara*. Penelitian dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: pasteurisasi susu hingga mencapai suhu 80°C selama 1 menit. Susu pasteurisasi didinginkan kembali hingga mencapai suhu 30°C. Saat suhu turun, ditambahkan dengan sukrosa, ekstrak *cascara*, dan starter kerja kefir. Kefir diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kefir ekstrak *cascara* dilakukan pengujian sifat fisik, kimia, organoleptik, dan efektivitasnya. Parameter yang diamati meliputi warna (kecerahan dan kemerahan), total asam tertitrasi, kadar alkohol, total polifenol, dan sifat organoleptik (rasa asam, aroma asam, warna keputihan, dan kesukaan keseluruhan). Penentuan perlakuan terbaik dengan uji



efektivitas, dan hasil uji terbaik dilakukan pengujian pH, total bakteri asam laktat, dan total khamir.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak *cascara* dan sukrosa berpengaruh nyata terhadap kecerahan, kemerahan, total asam tertitrasi, total polifenol, dan kadar alkohol, namun tidak berpengaruh nyata terhadap uji organoleptik (warna, aroma, rasa, dan kesukaan keseluruhan). Kefir ekstrak *cascara* perlakuan terbaik diperoleh dengan penambahan ekstrak *cascara* 1,0% dan sukrosa 7,5% yang memiliki karakteristik dengan kecerahan 70,3 (L\*); kemerahan (a+) 6,63; total asam tertitrasi 0,467%; total polifenol 2,74 mg GAE/ml; kadar alkohol 1,08%; organoleptik aroma asam 4,73; rasa asam 4,48; warna putih susu 4,36; kesukaan keseluruhan netral 3,76; pH 3; aktivitas antioksidan 0,137%; populasi bakteri asam laktat 8,36 log<sub>10</sub>cfu/ml; dan populasi khamir 8,59 log<sub>10</sub>cfu/ml.

## SUMMARY

**Characteristics of Kefir Added with *Cascara* Extract and Sucrose;** Faizah Yuski Zamzami, 151710101009; 2019: 113 pages; Departement of Agricultural Products Technology, Faculty of Agricultural Technology, Universitas of Jember.

Kefir is fermented milk which has acidic and alcoholic flavor. Lactic acid bacteria produce flavor component and lactic acid, while yeast produces CO<sub>2</sub> and ethanol. Kefir is beneficial as a probiotic which suppress the growth of pathogenic bacteria in the digestive tract. The determination of kefir characteristics is affected by additional ingredients, such as *cascara* and sucrose. *Cascara* is a dried cheery coffee peel containing polyphenols compounds such as caffeine, tannin, and lignin. The addition of sucrose is expected to give nutrition for microorganism growth. The research was aimed to determine the effect *cascara* extract concentration and sucrose concentration on the characteristics of kefir.

This research used Completely Randomized Design (CRD) with two factors, that is *cascara* extract concentrations (0.5%; 1.0%; 1.5%) and sucrose concentrations (2.5%; 5.0%; 7.5%). Each treatment was repeated thrice. The stages of this research are making a bulk starter, *cascara* extract, and kefir *cascara*. The stages of making kefir *cascara*, as follows: milk pasteurization to 80°C in a minute and cooled to 30°C. When the temperature decreased, add sucrose, *cascara* extract, and bulk starter. Kefir was incubated for 24 hours at 37°C. The observed parameters included color (lightness and redness), total titrated acid, alcohol content, total polyphenols, and organoleptic (sour taste, sour aroma, whitish color, and overall preferences). Best treatment determined by effectiveness method and observed pH, total lactic acid bacteria and total yeast.

The results of this research showed that the *cascara* extract concentration and sucrose concentration has a significant effect on the lightness, redness, total acid, total polyphenols, and alcohol content, and has no significant effect on the organoleptic (color, aroma, taste and overall preferences). *Cascara* extract 1.0% and sucrose 7.5% was found on the best treatment with lightness (L\*) 70.3;

redness (a+) 6,63; total acid 0.467%; total polyphenols 2.74 mg GAE/ml; alcohol content 1.08%; acid aroma 4.73; sourness 4.48; brightness 4.36; overall preferences 3.76; pH 3.00; antioxidant activity 0.137%; population of lactic acid bacteria 8.36 log<sub>10</sub>cfu/ml; and population of yeast 8.59 log<sub>10</sub>cfu/ml.



## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT Yang Maha Esa atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penyusunan skripsi dengan judul “Karakteristik Mutu Kefir dengan Variasi Penambahan Ekstrak *Cascara* dan Sukrosa”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember.

Saya menyadari sepenuhnya dalam penyelesaian skripsi tidak terlepas dari dukungan, semangat, serta bimbingan dari berbagai pihak, baik yang bersifat moril maupun material. Oleh karena itu, saya ingin menyampaikan ucapan terima kasih antara lain kepada :

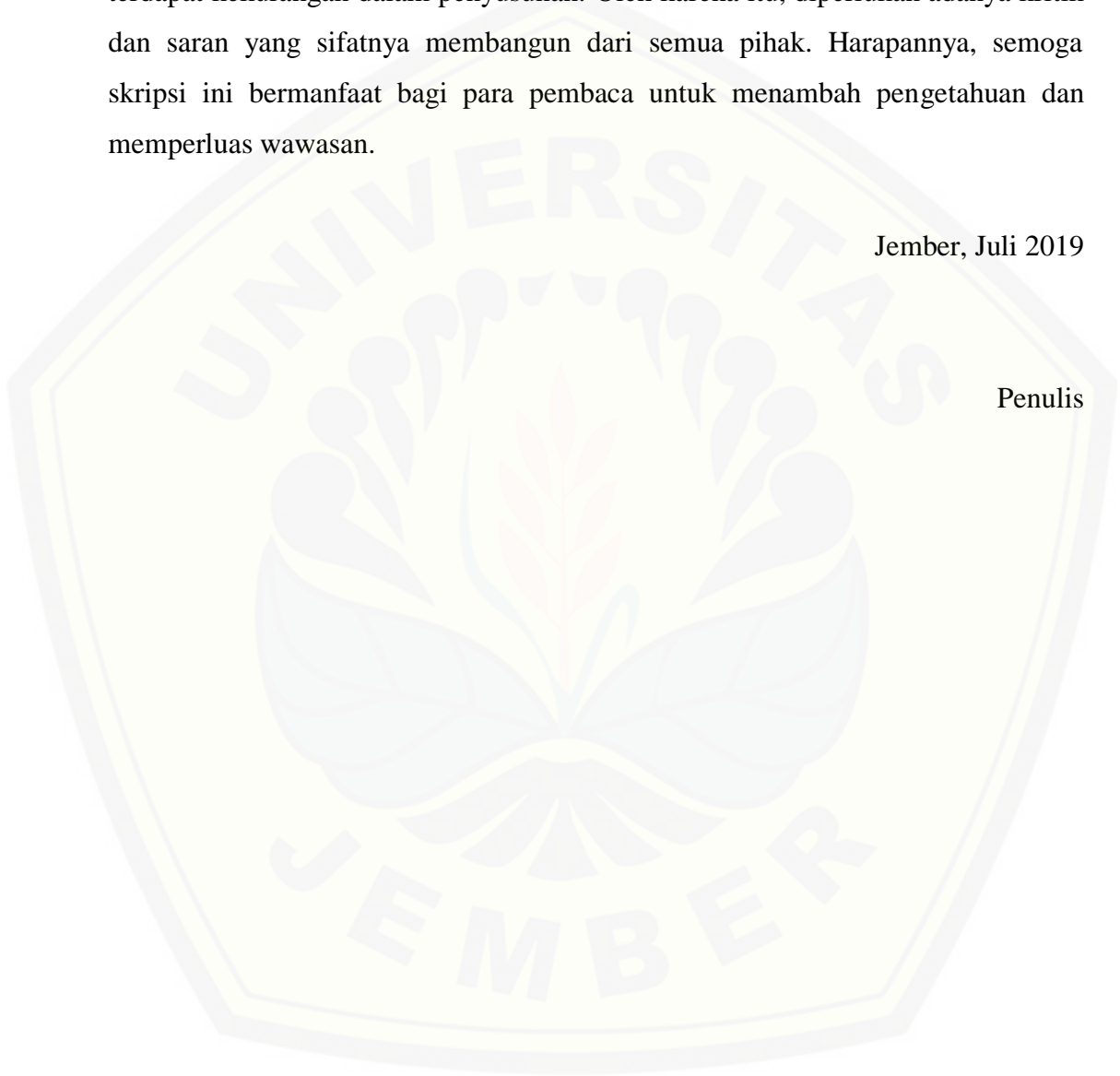
1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP, M.Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember,
2. Dr. Ir. Jayus selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember,
3. Dr. Nurhayati, S.TP, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan dukungan berupa biaya penelitian hingga terselesainya penulisan skripsi,
4. Ir. Giyarto, M.Sc selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan dukungan selama penulisan skripsi,
5. Ayahanda almarhum Sutrisno, ibunda Huriatul Mardiya, dan kedua adik tercinta yang selalu memberikan dukungan dan doa demi kelancaran terselesainya skripsi ini,
6. Keluarga besar Supardi yang telah memberikan dukungan berupa moril dan material selama kegiatan penelitian dalam terselesainya skripsi ini,
7. I Made Dwi Berta Wijaya yang telah mendampingi, memberikan saran maupun masukan, dan doanya selama kegiatan penelitian skripsi berlangsung,
8. Keluarga besar THP 2015 yang selalu menimba ilmu di Universitas Jember,

9. Pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu oleh penulis yang telah banyak memberikan bantuan sejak awal penelitian skripsi hingga selesainya skripsi ini disusun.

Penyusunan skripsi ini disusun dengan sebaik-baiknya, namun masih terdapat kekurangan dalam penyusunan. Oleh karena itu, diperlukan adanya kritik dan saran yang sifatnya membangun dari semua pihak. Harapannya, semoga skripsi ini bermanfaat bagi para pembaca untuk menambah pengetahuan dan memperluas wawasan.

Jember, Juli 2019

Penulis



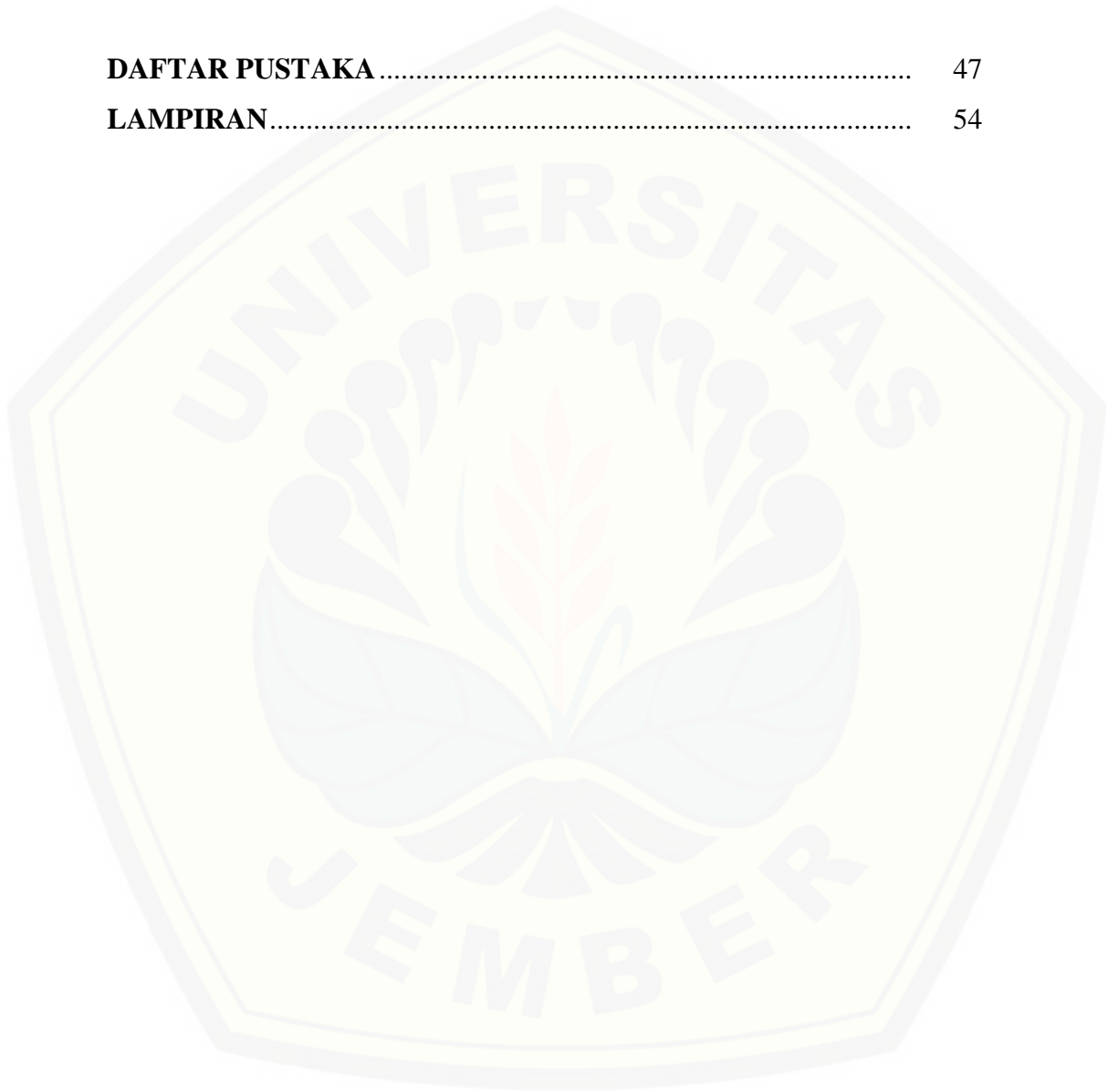
**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>SUMMARY</b> .....	ix
<b>PRAKATA</b> .....	xi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Kefir .....	4
2.2 Susu Sapi.....	6
2.3 Teh Kulit Buah Kopi Kering ( <i>cascara</i> ) .....	7
2.4 Sukrosa.....	9
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	15
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	15
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	15
3.3 Pelaksanaan Penelitian.....	15



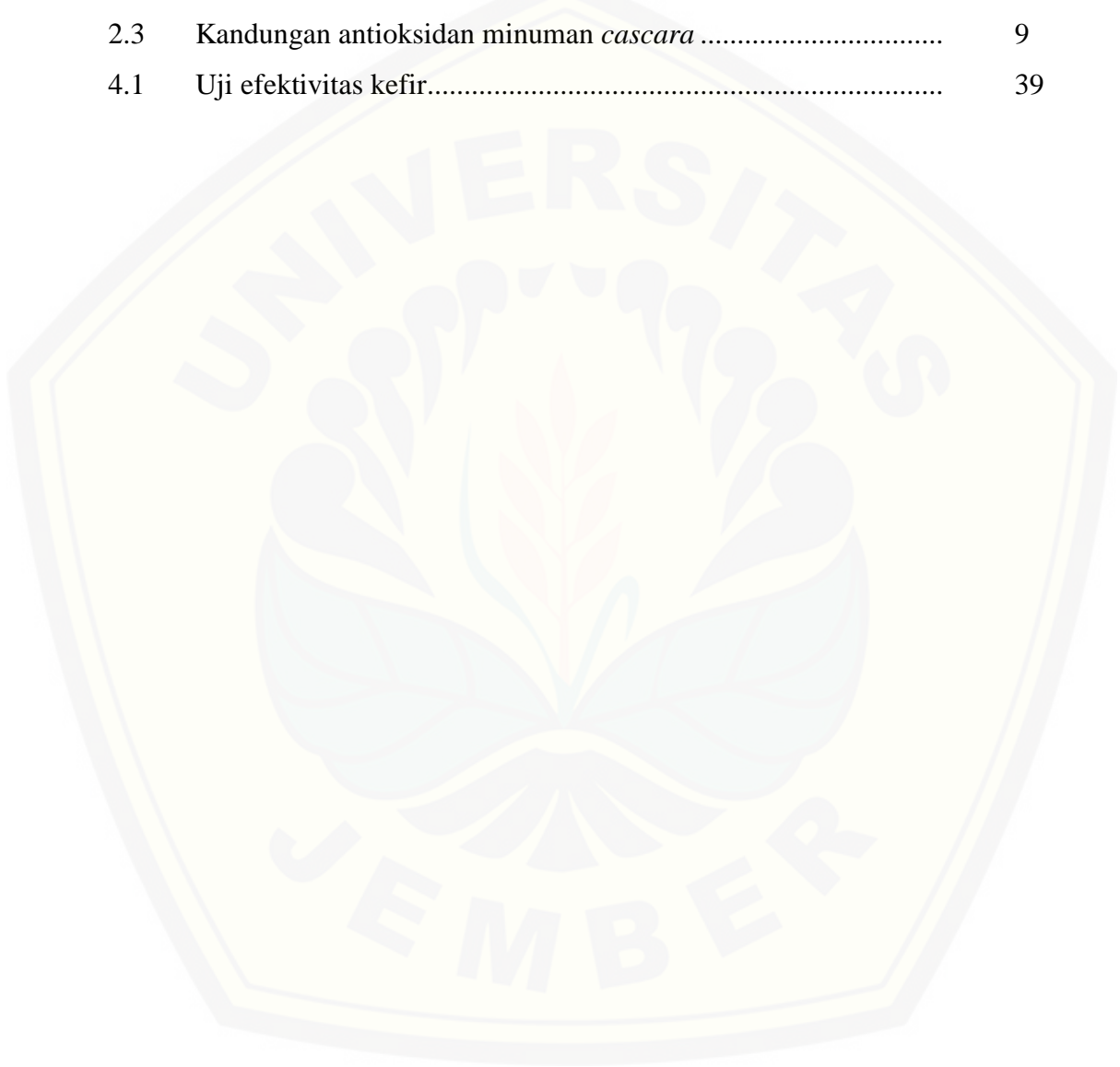
3.3.1 Rancangan Percobaan .....	15
3.3.2 Tahapan Penelitian.....	16
3.4 Parameter Pengamatan.....	18
3.5 Prosedur Analisis .....	18
3.5.1 Warna (kecerahan dan kemerahan).....	18
3.5.2 Total asam tertitrasi .....	19
3.5.3 Total polifenol.....	19
3.5.4 Kadar alkohol.....	20
3.5.5 Uji organoleptik .....	21
3.5.6 Analisis efektivitas.....	21
3.5.7 Nilai pH.....	22
3.5.8 Mikrobiologis.....	22
3.5.9 Aktivitas antioksidan .....	23
3.6 Analisis Data.....	24
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>25</b>
4.1 Warna Kefir .....	25
4.1.1 Nilai kecerahan kefir.....	25
4.1.2 Nilai kemerahan Kefir .....	27
4.2 Total Asam Tertitrasi Kefir.....	28
4.3 Total Polifenol Kefir .....	30
4.4 Kadar Alkohol Kefir .....	32
4.5 Organoleptik Kefir .....	34
4.5.1 Aroma masam kefir .....	34
4.5.2 Rasa asam kefir.....	35
4.5.3 Warna keputihan kefir .....	37
4.5.4 Kesukaan keseluruhan kefir.....	38
4.6 Efektivitas Kefir.....	39
4.7 Nilai pH.....	40
4.8 Mikrobiologis Kefir .....	42
4.8.1 Populasi bakteri asam laktat .....	42
4.8.2 Populasi khamir .....	43

4.9 Aktivitas Antioksidan .....	45
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	46
5.1 Kesimpulan .....	46
5.2 Saran .....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	47
<b>LAMPIRAN</b> .....	54



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Syarat mutu susu sapi segar menurut SNI 3141.1:2011.....	6
2.2 Komposisi susu sapi segar tiap 100 gram .....	7
2.3 Kandungan antioksidan minuman <i>cascara</i> .....	9
4.1 Uji efektivitas kefir.....	39



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Mekanisme reaksi fermentasi kefir .....	13
3.1 Diagram alir tahapan penelitian .....	17
4.1 Nilai kecerahan kefir .....	25
4.2 Nilai warna kemerahan kefir .....	27
4.3 Total asam tertitrasi (%) kefir .....	29
4.4 Total polifenol (mg GAE/ml) kefir .....	31
4.5 Kadar alkohol (%) kefir.....	32
4.6 Organoleptik aroma asam kefir .....	35
4.7 Organoleptik rasa asam kefir .....	36
4.8 Organoleptik warna keputihan kefir .....	38
4.9 Organoleptik kesukaan keseluruhan kefir .....	39
4.10 Populasi bakteri asam laktat (BAL) .....	42
4.11 Populasi khamir .....	44
4.12 Nilai pH .....	41

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
4.1 Hasil analisis kecerahan (L*) kefir .....	54
4.2 Hasil analisis warna kemerahan (a+) kefir.....	56
4.3 Hasil analisis total asam tertitiasi (%) kefir .....	58
4.4 Hasil analisis total polifenol (mg GAE/ml) kefir.....	60
4.5 Hasil analisis kadar alkohol (%) kefir.....	62
4.6 Hasil analisis aroma kefir.....	64
4.7 Hasil analisis rasa kefir .....	65
4.8 Hasil analisis warna kefir .....	66
4.9 Hasil analisis kesukaan keseluruhan kefir.....	67
4.10 Uji efektivitas.....	68
4.11 Nilai pH.....	69
4.12 Populasi bakteri asam laktat.....	69
4.13 Populasi khamir.....	70
4.14 Aktivitas antioksidan.....	70
4.15 Perhitungan .....	71
4.16 Analisis manual.....	78
4.17 Dokumentasi .....	84

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kefir merupakan produk fermentasi susu menggunakan bakteri asam laktat dan khamir yang memiliki rasa khas asam dan beralkohol. Kefir sudah lama dimanfaatkan sebagai minuman probiotik di Rusia, tetapi di Indonesia masih kurang dikenal oleh masyarakat. Fermentasi kefir dilakukan dengan menggunakan bakteri yang berperan menghasilkan asam laktat atau komponen flavor, sedangkan khamir dapat menghasilkan CO<sub>2</sub> dan etanol. Kefir mengandung 0,65-1,33 g/l CO<sub>2</sub>, 3,16-3,18% protein, 3,07-3,17% lemak, 1,8-3,8% laktosa, 0,5-1,5% etanol, dan 0,7-1,0% asam laktat (Ide, 2008). Susu fermentasi seperti kefir halal dikonsumsi meskipun etanol >1% sesuai Fatwa MUI No.4/2003 (batas kandungan etanol sebagai pelarut dalam pangan) karena etanol yang dihasilkan bukan dari industri khamir yang hukumnya haram dan tidak mengganggu fungsi akal dan raga seseorang (Kurniadi, 2016).

Standar CODEX No. 243 menyatakan bahwa bibit kefir mengandung *Lactobacillus kefiri*, spesies genus *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Acetobacter*, khamir yang dapat memfermentasi laktosa: *Kluyveromyces marxianus*, dan khamir yang tidak dapat memfermentasi laktosa: *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Saccharomyces exiguus*. Fermentasi menyebabkan terjadinya hidrolisis laktosa menjadi glukosa dan galaktosa yang mudah dicerna dan diserap oleh pencernaan, sehingga dapat mengurangi terjadinya *lactose intolerant*. Khamir pada kefir dapat menghasilkan etanol, tetapi dengan adanya bakteri asam laktat dapat menyebabkan penurunan senyawa etanol yang diproduksi oleh khamir.

Kefir mempunyai beberapa manfaat diantaranya sebagai probiotik yang dapat menekan pertumbuhan bakteri penyebab penyakit saluran pencernaan. Perkembangan riset dan teknologi menciptakan inovasi kefir dengan variasi penambahan berbagai komponen maupun komposisi. Kefir dipengaruhi oleh jenis mikroba starter, suhu, konsentrasi sukrosa, dan lama fermentasi. Jenis mikroorganisme *B. longum* merupakan bakteri yang potensial untuk digunakan



sebagai kombinasi starter dalam pembuatan kefir (Usmiati, 2007). Kombinasi suhu 30°C dan lama pemeraman 24 jam akan menghasilkan kefir yang memenuhi Standar Industri Indonesia dengan nilai pH 3,86 dan viskositas 157,5 cps (Evanuarini, 2010). Kefir dengan penggunaan kadar sukrosa 6% merupakan kefir yang paling disukai oleh panelis berdasarkan pengujian sensoris terhadap warna, aroma, kekentalan, dan cita rasa (Yelnetty, 2017).

Limbah kulit buah kopi jumlahnya berkisar antara 50-60% dari hasil panen (Efendi, 2014). Saat ini, kulit buah kopi hanya sebagai produk samping (*by product*) pertanian dan biasanya dibiarkan menumpuk di tempat pengolahan. Upaya yang biasa dilakukan yaitu membakar, membuang, atau dikembalikan ke lahan sebagai pupuk (Badarina, 2014). Hal tersebut, dikhawatirkan dapat menimbulkan masalah pencemaran lingkungan. Kulit buah kopi mengandung gula reduksi 12,4%, gula non reduksi 2,02%, senyawa pektat 6,52%, protein kasar 10,7%, serat kasar 20,8% (Pandley, 2000). Selain itu, kulit buah kopi mengandung beberapa senyawa yaitu kafein, tanin, flavonol, plavan-3-ol, asam hidroksimat, dan aldehid (Ramirez, 2004). Kulit buah kopi berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai minuman yang menyegarkan yaitu *cascara*. Minuman *cascara* mengandung 226 mg/L kafein, 283 mg GAE/L dari total polifenol, dan kapasitas antioksidan sebesar 8,9 mmol TE/L (Heeger, 2017). *Cascara* dapat dikembangkan menjadi bahan tambahan yang kaya polifenol pada minuman probiotik seperti kefir.

Karakteristik mutu kefir dapat ditentukan dengan penambahan bahan yang ditambahkan. Pembuatan kefir dengan penambahan ekstrak *cascara* diharapkan dapat memperbaiki mutu kefir dan menghasilkan produk yang disukai oleh konsumen. Namun, *cascara* dari kulit buah kopi mengandung senyawa anti nutrisi seperti kafein, tanin, lignin, dan senyawa polifenol yang berpotensi menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada kefir. Penambahan sukrosa diharapkan mampu memberikan nutrisi untuk pertumbuhan mikroorganisme kefir. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak *cascara* dan sukrosa terhadap karakteristik mutu kefir yang dihasilkan perlu dilakukan penelitian ini.

## 1.2 Perumusan Masalah

Karakteristik mutu kefir dapat ditentukan dengan penambahan bahan yang digunakan. Perkembangan riset dan teknologi menciptakan inovasi kefir dengan variasi penambahan berbagai komponen maupun komposisi seperti jenis mikroba starter, suhu, konsentrasi sukrosa, dan lama fermentasi. *Cascara* dapat ditambahkan pada kefir karena mengandung senyawa polifenol, namun bersifat antinutrisi yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Oleh sebab itu, dalam membuat kefir dengan penambahan ekstrak *cascara* dibutuhkan formulasi yang tepat dan perlu penambahan sumber karbon berupa sukrosa. Penambahan sukrosa dapat meningkatkan pertumbuhan sel mikroorganisme. Berdasarkan hal tersebut, untuk mengetahui penambahan ekstrak *cascara* dan sukrosa terhadap karakteristik mutu kefir perlu dilakukan penelitian ini.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh variasi penambahan konsentrasi ekstrak *cascara* dan sukrosa terhadap karakteristik mutu yang meliputi fisik, kimia, organoleptik, dan mikrobiologis.
2. Menentukan formulasi kefir terbaik berdasarkan nilai indeks efektivitas dengan penambahan ekstrak *cascara* dan sukrosa.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian yaitu:

1. Memberikan informasi mengenai karakteristik fisik, kimia, organoleptik, dan mikrobiologis serta formulasi terbaik dari pembuatan kefir ekstrak *cascara*.
2. Meningkatkan nilai guna dari *cascara* pada minuman probiotik.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kefir

Kefir diperoleh dari fermentasi susu pasteurisasi menggunakan starter biji kefir (kefir *grains/granule*). Nama kefir berasal dari kata bahasa Turki, “*keyif*” yang berarti “perasaan enak” untuk perasaan setelah meminumnya (Motilva dkk., 2013). Kefir dapat dibuat dari berbagai jenis susu, baik susu sapi, kambing, atau domba. Standar Nasional Indonesia untuk kefir masih belum ada, maka kefir disesuaikan dengan produk susu fermentasi lainnya yang hampir sama yaitu *yoghurt* (Rosiana, 2013). Kefir mempunyai rasa, warna, dan konsistensi yang mirip *yoghurt*, tetapi memiliki tekstur lebih encer, gumpalan susunya lebih lembut, dan aroma khas *yeast* (aroma seperti tape). Perbedaan kefir dan *yoghurt* terletak pada kultur bakteri yang digunakan. *Yoghurt* mengandung bakteri asam laktat seperti *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* (Hanzen, 2016), sedangkan kefir mengandung strain bakteri asam laktat dan khamir antara lain *Streptococcus*, *Lactobacillus* sp., dan *Acetobacter* sp. (Febrisiantosa, 2013).

Pembuatan kefir menggunakan susu sebagai bahan utama dan starter kefir untuk mendukung fermentasi. Susu merupakan suatu emulsi lemak di dalam air yang mengandung gula, garam-garam, mineral, dan protein dalam bentuk koloid. Flavor pada susu sangat ditentukan oleh lemak susu. Umumnya, bahan yang digunakan dalam pembuatan kefir adalah susu sapi atau susu kambing.

Biji kefir berbentuk butiran-butiran putih atau krem dari kumpulan bakteri antaralain *Streptococcus* sp., *Lactobacilli*, dan beberapa jenis ragi atau khamir nonpatogen (Usmiati, 2007). Spesies mikroorganisme pada biji kefir *Lactobacillus acidophilus*, *L. kefir*, *L. kefirgranum*, *L. parakefir* yang berfungsi pada pembentukan asam laktat dari laktosa. *Lactobacillus kefiranofaciens* sebagai pembentuk lendir (matrik butiran kefir), *Leuconostoc* sp. membentuk diasetil dari sitrat, dan *Candida kefir* pembentuk etanol dan karbon dioksida dari laktosa (Hidayat, 2006). CODEX (2003), menyatakan bahwa starter kefir mengandung *Lactobacillus kefir*, beberapa spesies dari *Leuconostoc*, *Lactococcus*, dan

*Acetobacter*. Selain itu, juga mengandung khamir yang memfermentasi laktosa (*Kluyveromyces marxianus*) dan khamir yang tidak memfermentasi laktosa (*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae*, dan *Saccharomyces exiguus*). Bentuknya seperti gumpalan kecil kembang kol dengan diameter berkisar antara 3-20 mm. Biji kefir tidak dapat larut dalam air maupun pelarut lainnya. Biji kefir mengandung bahan kering yang terdiri dari karbohidrat 56%, protein 32%, dan komponen lainnya 12% (Usmiati, 2007). Biji kefir mengandung bakteri asam laktat dan campuran khamir yang menggumpal bersama dengan kasein (protein susu) dan kompleks gula serta dilapisi matriks polisakarida (Smith, 2002). Mikroflora pada biji kefir sangat stabil dapat mempertahankan aktivitasnya selama bertahun-tahun jika diawetkan dan diinkubasi pada kondisi yang sesuai (Dick dkk., 2015).

Kefir memiliki banyak manfaat sehingga dijuluki sebagai *the champagne of cultured milk* (yang termewah dan paling berharga diantara susu fermentasi lainnya). Kefir dipercaya mampu mengobati berbagai penyakit seperti TBC dan kanker. Khasiat lainnya yaitu antitumor, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, antimikroba, dan antijamur. Kefir seperti susu fermentasi lainnya yang dapat meringankan gejala alergi susu (Widodo, 2002). Kefir bermanfaat untuk memenuhi nutrisi yang baik bagi tubuh dan memberikan efek kesehatan yaitu bermanfaat bagi pencernaan karena menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Zakaria, 2009). Kefir merupakan probiotik yang dapat menekan pertumbuhan bakteri penyebab penyakit saluran pencernaan karena terdapat bakteri asam laktat yang mampu memproduksi senyawa antimikroba yaitu bakteriosin, hidrogen peroksida, dan berbagai antibiotik (Hufidzoh, 2014).

Kefir merupakan salah satu produk makanan fungsional yang kaya nutrisi dan berkhasiat sebagai terapeutik karena mengandung komponen bioaktif sehingga berpotensi menjaga kesehatan tubuh. Aktivitas mikroba dalam kefir mampu menghasilkan komponen metabolit asam organik, protein, peptide aktif, dan polisakarida yang berperan sebagai komponen bioaktif yaitu antimikroba, antioksidan, dan menambah nilai tambah terhadap peningkatan fungsional produk (Kustiawan, 2010). Menurut Fornworth (2005), kefir bermanfaat dalam beberapa



hal yaitu menstimulasi sistem imun, menghambat pertumbuhan tumor, antimikroba, baik bagi penderita *lactose intolerance*, memperbaiki saluran pencernaan, dan menurunkan kadar kolesterol.

## 2.2 Susu Sapi

Komponen pada susu sapi yaitu protein (kasein 80% dan laktoglobulin 20%), lemak, gula (laktosa), mineral, air, dan vitamin (A, D, E, dan K). Rasa manis air susu disebabkan karena laktosa berkontribusi 40% kalori dari *whole milk*. Laktosa terdiri dari glukosa dan galaktosa. Laktosa hanya terdapat pada air susu dan beberapa jenis tanaman tertentu dalam jumlah sangat sedikit (Purwadi, 2010). Produk olahan susu sapi segar diantaranya *yoghurt*, kefir, keju, dadih, dan dali (Usmiati, 2009). Syarat mutu susu sapi segar dan komposisi susu segar dalam 100 gram dapat dilihat dalam Tabel 2.1 dan Tabel 2.2.

Tabel 2.1 Syarat mutu susu sapi segar menurut SNI 3141.1:2011

No	Karakteristik	Satuan	Syarat
1	Berat jenis (pada susu 27,5°C) minimum	g/ml	1,0270
2	Kadar lemak minimum	%	3,0
3	Kadar bahan kering tanpa lemak minimum	%	7,8
4	Kadar protein minimum	%	2,8
5	Warna, bau, rasa, kekentalan	-	tidak ada perubahan
6	Derajat asam	°SH	6,0-7,5
7	pH	-	6,3-6,8
8	Uji alkohol (70%) v/v	-	negatif
9	Cemaran mikroba maksimum:		
	1. <i>Total Plate Count</i>	cfu/ml	1,0x10 <sup>6</sup>
	2. <i>Staphylococcus aureus</i>	cfu/ml	1,0x10 <sup>2</sup>
	3. <i>Enterobacteriace</i>	cfu/ml	1,0x10 <sup>5</sup>
10	Jumlah sel somatis maksimum	Sel/ml	4,0x10 <sup>5</sup>
11	Residu antibiotika (golongan penisilin, tetrasiklin, aminoglikosida, makrolida)	-	negatif
12	Uji pemalsuan	-	negatif
13	Titik beku	°C	-0,520 s.d -0,560
14	Uji peroksidase	-	positif
15	Cemaran logam berat maksimum		
	1. Timbal (Pb)	µg/ml	0,02
	2. Merkuri (Hg)	µg/ml	0,03
	3. Arsen (As)	µg/ml	0,1

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (2011)

Tabel 2.2 Komposisi susu sapi segar tiap 100 gram

Komponen	Susu sapi
Kalori (kkal)	61,0
Protein (g)	3,20
Lemak (g)	3,50
Karbohidrat (g)	4,30
Kalsium (mg)	143,0
Fosfor (g)	60,0
Besi (g)	1,70
Vitamin A (IU)	130,0
Vitamin B1 (tiamin) (mg)	0,03
Vitamin C (mg)	1,0
Air (g)	88,33

Sumber: Nawangsari (2012)

Vitamin A merupakan nutrisi yang sangat penting bagi kesehatan mata, pertahanan tubuh, serta untuk pertumbuhan dan perkembangan jaringan tubuh. Kalium penting untuk kesehatan jantung. Pada tubuh manusia, kalium terdapat di dalam cairan sel dan sangat penting bagi keseimbangan cairan tubuh, kontraksi otot, konduksi syaraf juga mengoreksi fungsi jantung. Kandungan kalsium, protein, dan lemak pada air susu sapi jauh lebih tinggi daripada susu nabati seperti susu beras berturut-turut 15, 8, dan 4 kali lipat (Nawangsari, 2012).

### 2.3 Teh Kulit Buah Kopi Kering (*Cascara*)

Kulit buah kopi ceri hasil pengeringan disebut *cascara*. *Cascara* dapat dijadikan minuman herbal dengan warna dan cara penyeduhan yang sama dengan teh. Kandungan senyawa fenolik pada *cascara* berupa asam klorogenat sebanyak 2,6% dari berat keringnya dengan sifat antioksidan yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh manusia (Rifanti, 2018). Teh *cascara* merupakan teh kulit buah kopi yang dikeringkan dengan rasa *fruity* dengan perpaduan aroma mawar, *cherry*, kismis, mangga, dan tembakau menyatu pada seduhan *cascara* (Pabari, 2014).

Warna kecoklatan *cascara* akibat adanya perubahan warna kulit buah kopi ceri selama pengeringan (Yuliandri, 2016). Kulit buah kopi mengandung pigmen antosianin yang memberikan warna merah. Pengeringan menyebabkan stabilitas antosianin menurun, akibat adanya degradasi antosianin dari bentuk aglikon menjadi kalkon dan membentuk alfa diketon dengan warna coklat (Lydia, 2001).



Degradasi senyawa antosianin diawali dengan terbentuknya cincin aglikon membentuk kalkon dan selanjutnya berwarna coklat yang membentuk alfa diketon (Sari, 2005).

Minuman *cascara* mengandung 226 mg/L kafein, 283 mg GAE/L dari total polifenol, dan kapasitas antioksidan sebesar 8,9 mmol TE/L (Heeger, 2016). *Cascara* kulit buah kopi mengandung substansi anti nutrisi seperti kafein, tanin, lignin, dan senyawa polifenol (Orozco, 2008). Adanya tanin dan kafein akan menurunkan tingkat kesukaan dan palatabilitasnya bagi hewan ternak. Senyawa polifenol yang ada pada kulit buah kopi adalah flavan-3-ol, asam hidroksinamat, flavonol, antosianidin, katekin, epikatekin, rutin, tanin, dan asam ferulat (Esquivel, 2012). Warna merah pada *cascara* karena senyawa antioksidan alami seperti antosianin, betakaroten, polifenol, dan vitamin C (Heegar dkk., 2017).

*Cascara* bermanfaat sebagai menangkal radikal bebas, melindungi lambung, serta baik digunakan untuk kecantikan. Kandungan antioksidan pada *cascara* lebih tinggi delapan kali dibandingkan kadar blueberry. Kemampuan menangkal radikal bebas mampu mencegah pertumbuhan sel kanker sehingga dapat meningkatkan daya tahan tubuh. Kafein pada *cascara* sekitar 12-25% dari volume kopi (111,4 mg/L) lebih rendah dibandingkan kopi seduh yaitu 400-800 mg/L (Ciummo, 2014). Penyeduhan *cascara* dilakukan seperti penyeduhan teh yang menggunakan air panas dengan takaran 7 gram *cascara* dari 300 ml air panas (Rachmawati, 2016).

Pada 100g *cascara* mengandung 50% asupan harian biotin dan vitamin E yang direkomendasikan; 10% B1 dan B2; 13% *niacin*; 18% asam pantotenat; 35g serat, 19,6 g fruktosa; 16 g glukosa; 6,15 g protein; 0,2 g kafein; dan 0,85 g lemak (Jarvis, 2016). Nilai *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC) *cascara* sebesar 22.070  $\mu\text{mol TE}/100\text{g}$  sehingga menunjukkan 4 kali lebih besar dari nilai ORAC *blueberry*. *Cascara* berpotensi sebagai sumber antioksidan karena mengandung beberapa senyawa polifenol yaitu asam galat, asam *protocatechuic*, asam klorogenat, dan rutin (Heegar dkk., 2017). Asam *Protocatechuic* dan asam klorogenat adalah senyawa fenolik yang dominan dalam *cascara* dengan kadar

sebesar 85,0 dan 69,6 mg/L (Heegar dkk., 2017). Kandungan antioksidan minuman *cascara* dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Kandungan antioksidan minuman *cascara*

No	Kandungan	Jumlah
1	Kafein (mg/L)	226.4 ± 1.2
2	Fenol (mg/L)	
	2.1 asam galat	4.3 ± 0.5
	2.2 asam <i>protocatechuic</i>	85.0 ± 0.5
	2.3 asam klorogenat	69.6 ± 0.4
	2.4 rutin	6.1 ± 0.0
3	Aktivitas antioksidan	
	3.1 ORAC (mmol TE/L)	8.86 ± 0.186
	3.2 ABTS (mmol TE/L)	3.02 ± 0.006
	3.3 TPC (mg of GAE/L)	283 ± 12.0

Sumber: Heegar dkk. (2017)

## 2.4 Sukrosa

Sukrosa atau gula tebu merupakan disakarida yang paling manis, terdiri dari molekul glukosa dan fruktosa. Ikatan glikosida menghubungkan karbon ketal dan asetal yang bersifat  $\beta$  dari fruktosa maupun  $\alpha$  dari glukosa. Sukrosa mempunyai daya larut tinggi, dapat menurunkan aktivitas air ( $a_w$ ), dan meningkatkan air. Sukrosa adalah disakarida yang apabila dihidrolisis berubah menjadi dua molekul monosakarida yaitu glukosa dan fruktosa (Deman, 1997). Proses hidrolisis sukrosa dapat dipercepat dengan penambahan asam. Penggunaan sukrosa dalam industri pangan berpotensi sebagai penambah cita rasa dan bahan pengawet. Pada pangan fermentasi, sukrosa dimanfaatkan sebagai sumber energi bagi bakteri asam laktat dan meningkatkan antibakteri pada minuman fermentasi. Hal tersebut dikarenakan, perlakuan penambahan sukrosa diduga dapat memberikan nutrisi tambahan bagi bakteri asam laktat untuk metabolisme dan pertumbuhan sel. Tersedianya nutrisi yang optimal akan meningkatkan aktivitas bakteri asam laktat sehingga menyebabkan jumlah asam hasil metabolisme meningkat. Asam laktat dan asetaldehid dapat menyebabkan penurunan pH media fermentasi atau meningkatkan keasaman dan menimbulkan aroma khas (Spreer, 1998).

Bakteri asam laktat memanfaatkan sukrosa sebagai sumber energi untuk pertumbuhan. Bakteri tersebut menghasilkan metabolit berupa asam laktat selama

fermentasi. Mikroba akan merombak senyawa karbon (sukrosa/gula) menjadi energi untuk pertumbuhan dan asam laktat sebagai metabolitnya. Mikroba membutuhkan gula untuk aktivitas metabolisme dan perkembangbiakan sel. Hal tersebut, berkaitan dengan peningkatan jumlah sel bakteri. Semakin banyak sel bakteri yang ada maka sukrosa akan semakin banyak digunakan untuk metabolisme sel. Oberman (1998), menyatakan bahwa peningkatan jumlah bakteri menyebabkan peningkatan perombakan senyawa gula yang ada pada medium menjadi asam-asam organik.

Sukrosa merupakan sumber energi yang dibutuhkan mikroorganisme selama fermentasi berlangsung. Penggunaan level sukrosa pada pembuatan kefir dapat mempengaruhi kualitas kefir meliputi cita rasa dan sifat sensoris. Banyaknya sukrosa yang dimanfaatkan selama fermentasi tergantung pada jenis mikroba yang digunakan (Tamime, 2011). Penambahan sukrosa berpengaruh terhadap aroma yang dihasilkan, semakin banyak penambahan sukrosa maka aroma yang terbentuk semakin kuat. Aroma yang menyerupai tape disebabkan karena adanya alkohol dan ester yang tinggi (Usmiati, 2007). Sukrosa (gula) berpengaruh sebagai sumber energi pertumbuhan bakteri asam laktat. *Lactobacillus bulgaricus* berperan dalam menghasilkan asam laktat sedangkan *Streptococcus lactis* lebih berperan dalam pembentukan aroma dan flavor (cita rasa). Menurut Hartatie (2011), bahwa aroma pada produk fermentasi yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan produk tersebut. Berdasarkan penelitian Rumeen (2017), menunjukkan bahwa kefir dengan penggunaan level sukrosa 6% merupakan kefir yang paling disukai oleh panelis berdasarkan pengujian sensoris terhadap warna, aroma, kekentalan, dan cita rasa.

## 2.5 Pembuatan Kefir

Pembuatan kefir dimulai dengan melakukan pasteurisasi pada susu. Susu hasil pasteurisasi didinginkan hingga mencapai suhu sekitar  $\pm 28^{\circ}\text{C}$ . Penambahan starter kefir sebanyak 3% dari bahan dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $25-37^{\circ}\text{C}$ . Apabila sudah terbentuk gumpalan pada susu, dilakukan penyaringan untuk memisahkan dengan bibit kefirnya. Kefir yang diperoleh dapat langsung diminum

dengan atau tambahan pemanis (Usmiati, 2007). Pembuatan kefir secara industri pada dasarnya memiliki metode yang sama. Langkah pertama susu dihomogenisasikan dengan bahan kering hingga 8% dan dilakukan pasteurisasi dengan suhu 90-95°C selama 5-10 menit. Susu terpasteurisasi didinginkan hingga suhu 18-24°C dan diinokulasikan dengan biji kefir sebanyak 28% didalam tank dan diinkubasi selama 18 hingga 24 jam. Fermentasi dihentikan dengan memisahkan biji kefir. Kefir yang terbentuk didistribusikan ke dalam botol dan dilakukan pematangan pada suhu 12-14°C atau 3-10°C selama 24 jam. Kefir disimpan pada suhu 4°C (Koroleva dalam Otle, 2003). Kefir yang disimpan pada suhu 4°C masih berkualitas baik selama 14 hari (Harald, 2002).

Bakteri asam laktat akan menguraikan laktosa menjadi asam laktat yang menyebabkan penurunan pH sehingga menimbulkan rasa asam. Selama fermentasi, juga terjadi penguraian protein susu menjadi komponen yang lebih kecil yaitu asam amino yang dapat menurunkan pH (Bahar, 2008). Mekanisme fermentasi pada kefir yaitu mikroorganisme dalam biji kefir akan menghidrolisis laktosa menjadi glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim laktase. Unit-unit monosakarida akan mengalami glikolisis menjadi piruvat. Piruvat direduksi oleh bakteri asam laktat dengan enzim laktase dehidrogenase menjadi asam laktat, sedangkan khamir akan mereduksi asam piruvat menjadi alkohol (Hufidzoh, 2014).

Fermentasi susu menjadi kefir menghasilkan senyawa metabolit yaitu eksopolisakarida dan peptida bioaktif. Senyawa tersebut mampu menstimulasi sistem kekebalan tubuh. Senyawa lain yang terdapat pada kefir adalah  $\beta$ -galactosidase yang baik untuk penderita *laktose intolerant*. Komponen antibakteri juga dihasilkan selama fermentasi kefir seperti asam organik (asam laktat dan asetat), karbondioksida, hidrogen peroksida, etanol, diasetil, dan peptida (bakteriosin) yang tidak hanya berguna untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen maupun bakteri pembusuk selama pengolahan dan penyimpanan makanan, mampu pencegahan beberapa gangguan pencernaan maupun infeksi (Fornworth, 2006).



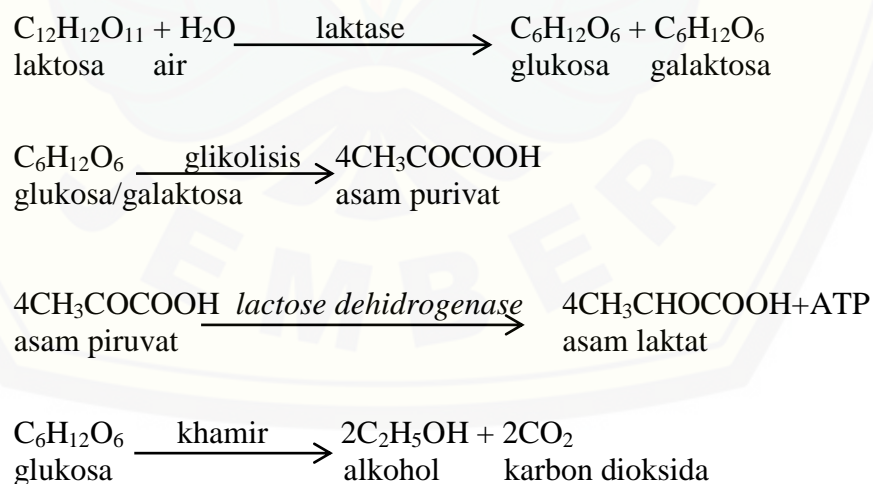
Pembuatan kefir meliputi pemanasan susu pada suhu 85°C selama 30 menit atau menggunakan suhu 95°C. Pemanasan bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme patogen pada bahan dan mendenaturasi protein, sehingga meningkatkan viskositas produk. Susu yang telah dipanaskan tersebut, didinginkan pada suhu kamar hingga mencapai suhu 22°C. Setelah itu, dilakukan penambahan butir kefir secukupnya dan diinkubasi pada suhu 23°C selama kurang lebih 20 jam atau pada suhu 10°C selama 2 hari. Pemisahan butir kefir dilakukan dengan cara penyaringan. Butir kefirnya disimpan untuk digunakan kembali, sedangkan filtratnya merupakan minuman kefir yang segar. Cairan kefir yang diperoleh didinginkan pada suhu 5°C selama 2-3 jam untuk proses pematangan. Pemanasan produk dalam botol atau wadah lainnya sesuai dengan kebutuhan (Saleh, 2004).

Pembuatan kefir susu sapi menggunakan 200 ml pada suhu 70-85°C. Pasteurisasi susu sapi untuk membunuh mikroba patogen dan mempersiapkan susu sapi sebagai media pertumbuhan bibit kefir. Suhu diturunkan hingga 30°C yang merupakan suhu optimum pertumbuhan bibit kefir dan susu diaduk. Setelah itu, diberi bibit kefir dan difermentasi. Proses pembuatan kefir digunakan berdasarkan modifikasi pada prosesnya. Susu segar terlebih dahulu dipasteurisasi pada suhu 70°C selama 15 detik. Susu ditambahkan bibit kefir sebanyak 5% dari total susu dan difermentasikan dalam toples yang ditutup menggunakan plastik wrap pada suhu ruang dan di tempat kedap cahaya. Penambahan lama fermentasi akan menyebabkan menurunnya total padatan terlarut dan kadar lemak. Kadar keasaman kefir akan semakin meningkat seiring pertambahan lama fermentasi, tetapi tidak berpengaruh pada tingkat viskositas kefir.

Pembuatan kefir susu sapi (Rumeen, 2017) meliputi beberapa tahapan diantaranya perbanyak *grain* kefir dilakukan dengan menambah susu sebagai media pertumbuhan kemudian di fermentasikan di suhu ruang selama 24 jam kemudian disaring dan ditambahkan susu kembali. Pasteurisasi susu UHT sebanyak 650 ml masing-masing dimasukkan ke dalam wadah dengan ditambahkan susu skim 2% dan sukrosa 2% hingga 8% diaduk kemudian dipasteurisasi *water bath* hingga mencapai 80°C selama 15 menit, dilakukan

pendinginan sampai mencapai suhu ruang  $\pm 28^{\circ}\text{C}$ . Setelah bahan kefir dingin dilakukan inokulasi dengan penambahan grain kefir masing-masing 5% ke dalam botol kaca steril sesuai dengan perlakuan yang ditetapkan. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang pada temperatur  $28^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam untuk memberi waktu kepada mikroba untuk berkembang biak dan menghasilkan hasil metabolit yang akan mempengaruhi rasa dan aroma dari kefir. Penyaringan susu yang telah difermentasikan kemudian disaring untuk memisahkan antara biji kefir dengan filtrat yang dihasilkan, pemisahan ini juga bertujuan supaya fermentasi yang dilakukan oleh kefir tidak berlanjut. Pendinginan dilakukan setelah penyaringan filtrat. Hasil penyaringan filtrat, didinginkan pada suhu  $10^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam.

Mekanisme fermentasi pada kefir yaitu mikroorganisme dalam biji kefir akan menghidrolisis laktosa menjadi glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim laktase. Unit-unit monosakarida akan mengalami glikolisis menjadi piruvat. Asam piruvat direduksi oleh bakteri asam laktat dengan enzim *lactose dehidrogenase* menjadi asam laktat, sedangkan khamir akan mereduksi asam piruvat menjadi alkohol (Julianto, 2016). Mekanisme reaksi fermentasi kefir dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Mekanisme reaksi fermentasi kefir



Proses fermentasi kefir dapat berlangsung sekitar 24 jam. Saat fermentasi berlangsung, bakteri asam laktat akan menguraikan laktosa menjadi asam laktat sehingga terjadi penurunan pH (Bahar, 2008). Selain terjadi penguraian laktosa, terjadi penguraian protein menjadi asam amino yang berkontribusi terhadap flavor. Ragi menghasilkan gas asam arang atau karbon dioksida dan sedikit alkohol. Hal tersebut, membuat rasa kefir asam, alkohol, dan bersoda (Usmiati, 2007).



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian; dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan dan Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Penelitian ini dimulai pada bulan September sampai Desember 2018.

### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk pembuatan kefir adalah termometer digital TP 101, spatula, dan jar. Alat-alat yang digunakan untuk analisis yaitu autoclave, oven memmert, bunsen, kuvet, *blue tip*, mikro pipet, *glass ware*, *hot plate*, spektrofotometer UV-Vis Genesys 10 S, *laminar air flow* 900S FL Espana, vortex maxi mix plus<sup>tm</sup>, pH meter model Phs-3C, neraca ohaus, timbangan digital Dever Instrumen M-310, *colour reader* Konika Minolta CR-10, *centrifuge* Medifriger, cawan *conway*, *Incubator Heraeus* B6200 Germany 27-25°C dan 35-45°C.

Bahan utama yang digunakan untuk pembuatan kefir adalah susu segar yang diperoleh dari Margo Utomo Eco Resort Kalibaru Banyuwangi. Bahan pembantu yang digunakan antara lain starter merek yogourmet (terdiri dari: *Lactobacillus lactis*, *L. cremoris*, *L. diacetylactis*, *L. acidophilus*, dan *yeast*) yang diperoleh dari toko online, sukrosa dengan merek Gulaku, dan *cascara* dari Margo Utomo Eco Resort (polifenol ekstrak *cascara* sebesar 5,72 mg GAE/ml). Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades, alkohol, metanol, NaCl, NaOH, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>CrO<sub>7</sub>, *follin-cioceltau*, asam galat, indikator *phenolphthalein*, DPPH (2,2-diphenil 1-pichylhydazyl), etanol 95%, dan etanol pa (pro analisis).

### 3.3 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.3.1 Rancangan Percobaan

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini ialah metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Faktor yang digunakan

dalam penelitian ini berupa konsentrasi sukrosa (A) dan konsentrasi ekstrak *cascara* (B). Faktor konsentrasi sukrosa terdiri dari 3 taraf yaitu A1 (2,5%), A2 (5,0%), dan A3 (7,5%), sedangkan konsentrasi *cascara* terdiri dari 3 taraf yaitu B1 (0,5%), B2 (1%), dan B3 (1,5%). Setiap kombinasi percobaan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Hasil kombinasi perlakuan terbaik 0 jam dan 24 jam dibandingkan dengan starter kerja. Hasil dilanjutkan analisis pertumbuhan mikroorganisme (populasi bakteri asam laktat dan populasi khamir), nilai pH, dan aktivitas antioksidan.

### 3.3.2 Tahapan Penelitian

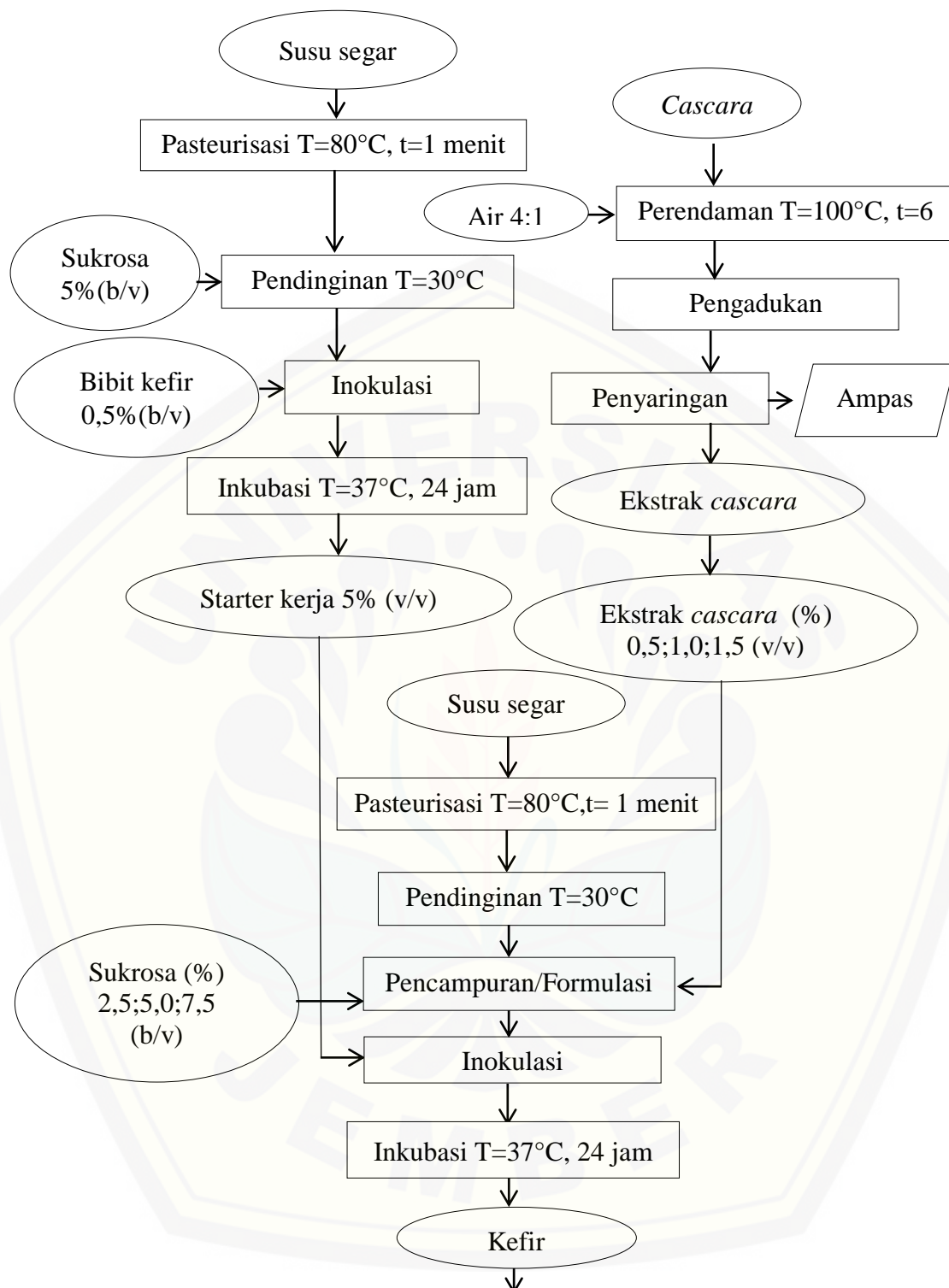
Tahapan penelitian meliputi pembuatan starter kerja kefir, pembuatan ekstrak *cascara*, dan pembuatan kefir dengan variasi penambahan ekstrak *cascara* dan sukrosa, serta pengujian kefir ekstrak *cascara*.

#### a. Pembuatan starter kerja kefir

Susu sapi segar sebanyak 1000 ml dipasteurisasi hingga mencapai suhu 80°C selama 1 menit untuk membunuh mikroba patogen. Susu hasil pasteurisasi didinginkan hingga suhu 30°C (suhu optimum pertumbuhan mikroba kefir) dan ditambahkan starter bubuk kefir 0,5% (b/v) maupun sukrosa 5% (b/v) sebagai nutrisi mikroba untuk tumbuh. Penambahan starter bubuk kefir menyesuaikan dengan ketentuan penggunaan pada kemasan produk. Fermentasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam karena merupakan waktu optimum pertumbuhan mikroba pada kefir (Modifikasi Rumeen, 2017).

#### b. Pembuatan ekstrak *cascara*

Pembuatan ekstrak *cascara* menggunakan 10 gram *cascara* yang ditambahkan dengan air mendidih 100°C dengan perbandingan air dan *cascara* adalah 4:1 (b/v). Penggunaan air mendidih bertujuan agar *cascara* dapat terekstrak dengan sempurna. Tahapan perendaman dilakukan selama 6 menit, kemudian dilanjutkan penyaringan untuk memisahkan ampas dengan fitrat. Hasil ekstraksi digunakan sebagai bahan tambahan pada pembuatan kefir (Modifikasi Rifanti, 2018).



- Analisis mutu fisik (kecerahan dan kemerahan)
- Analisis mutu kimia (total asam tertitrasi, total polifenol, kadar alkohol)
- Mutu organoleptik (warna, aroma, rasa, dan kesukaan keseluruhan)
- Nilai efektivitas
- Mikrobiologis (populasi BAL dan khamir), nilai pH, aktivitas antioksidan

Gambar 3.1 Diagram alir tahapan penelitian

### c. Pembuatan kefir

Pembuatan kefir menggunakan susu segar dengan variasi jumlah penambahan sukrosa dan ekstrak *cascara*. Susu segar dilakukan pasteurisasi pada suhu 80°C selama 1 menit. Susu hasil pasteurisasi didinginkan hingga mencapai suhu 30°C dan ditambahkan starter kefir 5%, sukrosa, ekstrak *cascara* sesuai dengan variasi setiap perlakuan. Fermentasi kefir dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, dianalisis sifat kefir yang meliputi mutu fisik, mutu kimia, uji organoleptik, uji efektivitas, dan mikrobiologis. Diagram alir tahapan penelitian selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 3.1 (Modifikasi Rumeen, 2017).

### 3.4 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan yang diamati pada masing-masing sampel diantaranya analisis mutu fisik (kecerahan dan kemerahan), analisis mutu kimia (total asam tertitrasi, total polifenol, dan kadar alkohol), uji organoleptik (aroma, rasa, warna, dan kesukaan keseluruhan), nilai efektivitas. Kefir dengan perlakuan kombinasi terbaik dan starter kerja dianalisis mikrobiologis (populasi bakteri asam laktat dan khamir), nilai pH, dan aktivitas antioksidan.

### 3.5 Prosedur Analisis

Prosedur analisis sampel meliputi analisis mutu fisik terdiri dari parameter warna menggunakan alat *colour reader* (Saito, 2004); analisis mutu kimia terdiri dari parameter total asam tertitrasi menggunakan metode titrasi (Wahyudi, 2006), total polifenol menggunakan metode *follin-cioceltau* (Chun, 2003), kadar alkohol menggunakan metode *cawan conway* (Wulandari, 2007); uji organoleptik kesukaan skoring dan deskriptif.

#### 3.5.1 Warna (kecerahan dan kemerahan)

Pengukuran mutu fisik warna dilakukan dengan menggunakan metode Saito (2004) menggunakan *colour reader*. Pengukuran perbedaan warna diukur dengan perbedaan warna melalui pantulan cahaya oleh permukaan sampel. Langkah pertama pengukuran, alat distandarkan dengan menggunakan nilai dL, da, dan db



pada papan keramik standar yang telah diketahui nilai L, a, dan b. Sampel diukur nilai dL, da, dan db yang dilakukan pada 5 titik yang berbeda. Derajat kecerahan, kemerahan, dan kekuningan diperoleh berdasarkan rumus:

$$L = (L \text{ standarisasi}) + dL$$

$$a^* = (a \text{ standarisasi}) - da$$

$$b^* = (b \text{ standarisasi}) - db$$

keterangan:

L = kecerahan warna, nilai berkisar 0-100 menunjukkan warna hitam hingga putih

a\* = nilai berkisar antara -80 - (+100) menunjukkan warna hijau hingga merah

b\* = nilai berkisar antara -50 - (+70) menunjukkan warna biru hingga kuning

### 3.5.2 Total asam tertitiasi

Perhitungan total asam tertitiasi menggunakan metode titrasi (Wahyudi, 2006). Pengujian keasaman menggunakan 10 ml sampel pada erlenmeyer 100 ml. Sampel ditera dengan menambahkan aquades hingga 50 ml dan ditambahkan indikator *fenolftalein* 2-3 tetes dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N. Proses titrasi dihentikan saat terbentuk warna merah muda dan warna tersebut tidak berubah selama 30 detik.

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

Keterangan : V1 = Volume NaOH (ml)

V2 = Berat sampel (gram)

N = Normalitas NaOH

FP = Faktor pengenceran

B = Berat molekul asam laktat

### 3.5.3 Total polifenol

Perhitungan total polifenol menggunakan metode *follin-cioceltau* (Chun, 2003). Tahapan perhitungan total polifenol yaitu pembuatan kurva standar dan pengukuran kadar polifenol. Pembuatan kurva standar, 5 mg asam galat dilarutkan pada 10 ml metanol, masing-masing dipipet 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, dan 225 µl. Larutan ditera hingga 5 ml menggunakan aquades dan ditambahkan dengan 0,5 ml *follin-cioceltau*, kemudian dilakukan homogenisasi dengan vortex. Larutan hasil homogenisasi didiamkan selama 5 menit, ditambahkan 1 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>



lalu dihomogenisasi dengan vortex. Tabung reaksi yang berisi larutan homogen, ditutup menggunakan aluminium foil dan didiamkan selama 60 menit. Pengukuran nilai absorbansi larutan standar dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm. Nilai absorbansi dihubungkan dengan konsentrasi asam galat ( $\mu\text{g/ml}$ ).

Pengukuran kadar polifenol menggunakan 0,05 ml sampel kefir *cascara*, diencerkan dan ditera hingga 5 ml menggunakan aquades. Larutan ditambahkan 0,5 ml *follin-cioceltau* lalu dihomogenisasi dengan vortex. Larutan didiamkan selama 5 menit dan ditambahkan 1 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  lalu dihomogenisasi dengan vortex. Tabung reaksi yang berisi larutan homogen, ditutup menggunakan aluminium foil dan didiamkan selama 60 menit. Konsentrasi polifenol sampel dihitung dari hasil pengukuran absorbansi sampel yang diplotkan dengan kurva standar asam galat.

#### 3.5.4 Kadar alkohol

Pengukuran kadar alkohol menggunakan metode *cawan conway* (Wulandari, 2007). Tahapan perhitungan total alkohol yaitu pembuatan kurva standar dan pengukuran kadar alkohol. Pembuatan kurva standar, 2 ml  $\text{K}_2\text{CrO}_7$  dan 1 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ditambahkan pada *cawan conway*. Setelah itu, alkohol 70% dipipet 50, 100, 150, 200  $\mu\text{l}$  dan ditera dengan aquades hingga 2 ml. *Cawan conway* digoyangkan supaya larutan homogen. Pendiaman dilakukan selama 60 menit supaya sampel dapat bereaksi dengan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , kemudian  $\text{K}_2\text{CrO}_7$  ditambahkan aquades 2 ml dan dipipet untuk dilakukan pengukuran nilai absorbansi. Pengukuran nilai absorbansi dengan panjang gelombang 605 nm. Nilai absorbansi dihubungkan dengan konsentrasi alkohol 70%.

Pengukuran kadar alkohol menggunakan 1 gram sampel, 2 ml  $\text{K}_2\text{CrO}_7$ , dan 1 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . *Cawan conway* digoyangkan supaya larutan homogen lalu didiamkan selama 60 menit. Setelah itu,  $\text{K}_2\text{CrO}_7$  ditambahkan aquades 2 ml dan dipipet untuk dilakukan pengukuran nilai absorbansi. Pengukuran nilai absorbansi dengan panjang gelombang 605 nm. Konsentrasi alkohol sampel diperoleh dari pengukuran absorbansi sampel yang diplotkan dengan kurva standar alkohol. Rumus kadar alkohol diperoleh berdasarkan rumus:

$$\text{Kadar alkohol (\%)} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

### 3.5.5 Uji organoleptik

Uji organoleptik yang dilakukan pada penelitian meliputi warna, aroma, rasa, dan kesukaan keseluruhan. Pengujian ini dilakukan dengan cara uji kesukaan atau penerimaan konsumen berdasarkan skoring dan deskriptif, panelis diminta mengungkapkan kesukaannya terhadap produk yang sudah disajikan (Setyoningsih, 2010). Panelis yang digunakan yaitu panelis tidak terlatih sejumlah 25 orang. Skor penilaian uji skoring kesukaan dan deskriptif dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Penilaian uji skoring kesukaan dan deskriptif

Skor	Kesukaan	Deskripsi			
		Warna	Aroma	Rasa	Kesukaan keseluruhan
1	sangat tidak suka	merah	sangat tidak asam	sangat tidak asam	sangat tidak suka
2	tidak suka	putih kemerahan	tidak asam	tidak asam	tidak suka
3	agak tidak suka	putih agak kemerahan	agak tidak asam	agak tidak asam	agak tidak suka
4	netral	putih susu	agak asam	agak asam	netral
5	agak suka	sangat putih susu	asam	asam	agak suka
6	suka	amat putih susu	sangat asam	sangat asam	suka
7	sangat suka	amat sangat putih susu	amat sangat asam	amat sangat asam	sangat suka

### 3.5.6 Analisis efektivitas

Analisis efektivitas dilakukan dengan metode indeks efektivitas (De Garma dkk., 1984). Tujuan uji efektivitas adalah untuk mengetahui formulasi terbaik dari semua parameter pengamatan. Pengujian efektivitas pada kefir dilakukan berdasarkan parameter pengujian sensoris. Menentukan bobot nilai pada masing-masing parameter dengan angka 0-1, bobot normal tergantung pada masing-masing parameter. Parameter yang dianalisis digolongkan menjadi dua kelompok, kelompok A terdiri dari parameter yang reratanya semakin tinggi semakin baik

dan kelompok B terdiri dari semakin rendah reratanya semakin baik. Rumus nilai efektivitas :

$$\text{Nilai efektivitas} = \frac{\text{Nilai perlakuan} - \text{nilai terendah}}{\text{Nilai tertinggi} - \text{nilai terendah}}$$

Pada parameter kelompok A, nilai terendah sebagai nilai terjelek sedangkan pada kelompok B, nilai tertinggi adalah nilai terjelek. Perhitungan nilai hasil (NH) semua parameter menggunakan rumus :

$$\text{Nilai Hasil (NH)} = \text{nilai efektivitas} \times \text{bobot normal parameter}$$

Menjumlahkan keseluruhan nilai hasil dari semua parameter dan kombinasi terbaik dipilih sebagai kombinasi perlakuan yang memiliki nilai hasil tertinggi. Perlakuan dengan nilai tertinggi dinyatakan dalam perlakuan terbaik. Kombinasi perlakuan terbaik dan starter kerja kefir dianalisis mikroorganisme yang terdiri dari parameter populasi bakteri asam laktat dan khamir. Analisis nilai pH menggunakan pH meter.

#### 3.5.7 Nilai pH

Pengukuran nilai pH dilakukan dengan menggunakan metode pH meter (AOAC, 2005). pH meter dinyalakan dan distabilkan selama 15-30 menit, distandarisasi dengan larutan buffer pada pH 4 dan 7. Suhu sampel diukur dan pengatur pH meter diatur pada suhu tersebut. Elektroda dibilas akuades dan dikeringkan dengan kertas filter kemudian dicelupkan ke dalam sampel, pH meter dibiarkan hingga menunjukkan suatu angka.

#### 3.5.8 Mikrobiologis

Analisis mikrobiologis meliputi perhitungan populasi bakteri asam laktat dan populasi khamir. Metode yang digunakan yaitu hitungan cawan (Maturin dan Peeler, 2001). Sampel 1 ml dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan fisiologi (pengenceran  $10^{-1}$ ). Larutan  $10^{-1}$  ditambahkan dengan larutan fisiologi 9 ml (pengenceran  $10^{-2}$ ), begitu seterusnya hingga pengenceran  $10^{-7}$ . Pada pengenceran  $10^{-5}$  hingga  $10^{-7}$  dicuplik ke dalam cawan petri secara duplo untuk perhitungan bakteri asam laktat dan khamir.

Pada perhitungan populasi bakteri asam laktat menggunakan media MRSA, sedangkan populasi khamir menggunakan media MEA. Media sebanyak 12 ml

sampai 15 ml media dituangkan pada cawan hingga dasar cawan tertutup dengan media. Media yang telah padat diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam untuk media MRS, sedangkan MEA diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Perhitungan populasi bakteri asam laktat dan khamir sesuai metode *Bacteriological Analytical Manual* (BAM)-FDA.

1. Cawan normal berisi 25-250 koloni, perhitungan termasuk semua koloni yang berukuran kecil
2. Cawan yang berisi lebih dari 250 koloni dicatat sebagai TBUD (Terlalu Banyak Untuk Dihitung). Jika tidak ada koloni yang tumbuh maka dicatat kurang dari 1 kali pengenceran terendah. Rumus perhitungannya yaitu :

$$N = \frac{\Sigma C}{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d}$$

Keterangan :

N = jumlah koloni

$\Sigma C$  = jumlah seluruh koloni yang dihitung

$n_1$  = jumlah cawan pada pengenceran 1

$n_2$  = jumlah cawan pada pengenceran

d = tingkat pengenceran

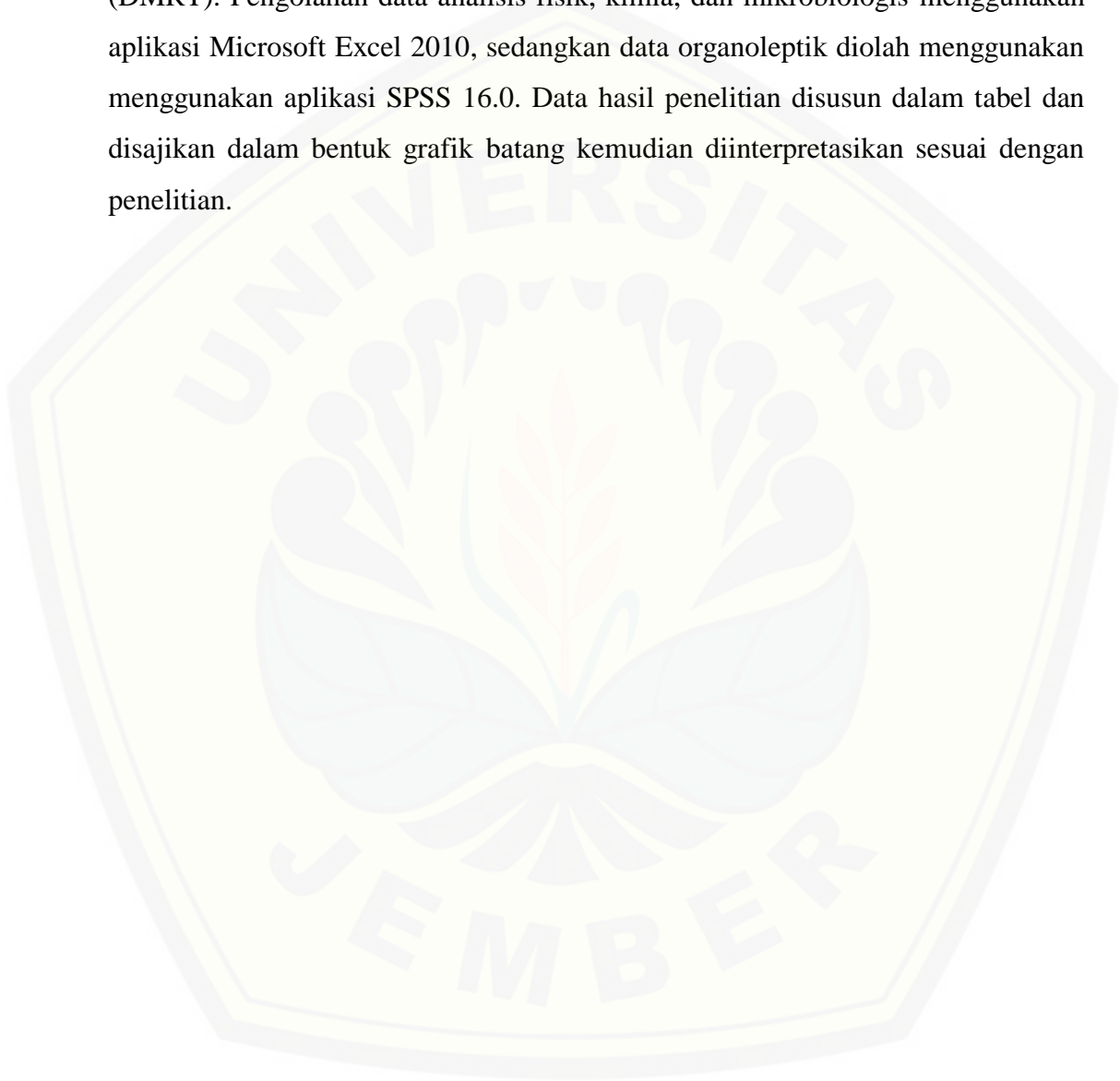
### 3.5.9 Aktivitas antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (Widagdha, 2015). Sampel 0,2 ml ditambahkan dengan 10 ml etanol 95% dan divortex untuk melarutkan sampel. Selanjtnya, disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit agar ekstrak antioksidan atau filtrat dengan endapan dapat terpisah. DPPH 0,2 mmol dilarutkan dalam etanol 95% dan diambil 1 ml larutan untuk ditambahkan dengan 4 ml filtrat. Pendiaman dilakukan selama 30 menit untuk menunjukkan efisiensi penangkapan radikal bebas. Pengukuran dilakukan pada absorbansi  $\lambda$  517 nm.

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

### 3.6 Analisis Data

Pengolahan data penelitian sifat fisik, kimia, dan organoleptik kefir menggunakan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikan 5%. Bila terdapat beda nyata maka dilanjutkan pengujian *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Pengolahan data analisis fisik, kimia, dan mikrobiologis menggunakan aplikasi Microsoft Excel 2010, sedangkan data organoleptik diolah menggunakan menggunakan aplikasi SPSS 16.0. Data hasil penelitian disusun dalam tabel dan disajikan dalam bentuk grafik batang kemudian diinterpretasikan sesuai dengan penelitian.





## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

1. Konsentrasi penambahan ekstrak *cascara* dan sukrosa berpengaruh nyata terhadap kecerahan, kemerahan, total asam tertitrasi, total polifenol, dan kadar alkohol. Namun tidak berpengaruh nyata terhadap uji organoleptik yaitu rasa, aroma, warna, dan kesukaan keseluruhan.
2. Perlakuan formulasi terbaik kefir dengan penambahan ekstrak *cascara cascara* 1,0% dan sukrosa 7,5% dengan karakteristik kecerahan 70,3; kemerahan 6,63; total asam tertitrasi 0,467%; total polifenol 2,74 mg GAE/ml; kadar alkohol 1,08%; sensoris aroma asam, rasa asam, warna putih susu, dan kesukaan keseluruhan netral. Nilai pH kefir yaitu 3 dengan aktivitas antioksidan 0,137%. Populasi bakteri asam laktat dan khamir pada kefir yaitu 8,36 log<sub>10</sub>cfu/ml dan 8,59 log<sub>10</sub>cfu/ml.

### 5.2 Saran

Saran berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, sebaiknya konsentrasi penambahan ekstrak *cascara* direndahkan dari 0,5% supaya nilai pH maupun kadar alkohol sesuai syarat minimal, dan populasi mikroba (populasi bakteri asam laktat dan khamir) memiliki *range* nilai yang tidak jauh lebih tinggi dari syarat minimal. Ekstrak *cascara* pada kefir berpotensi untuk menambah sifat fungsional antioksidatif karena mengandung senyawa polifenol sehingga dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai sifat fungsional antioksidatif pada kefir dengan penambahan ekstrak *cascara*.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Agustina, L., Setyawardani, T., dan Astuti, T. Y. 2013. Penggunaan Starter Biji Almeida, E. G., Rachid, C. C., dan Schwan, R. F. 2007. Microbial population present in fermented beverage 'cauim' produced by Brazilian Amerindians. *International Journal of Food Microbiology*. 120(1-2):146-151.
- Anugrah, S. T. 2005. Pengembangan Produk Kombucha Probiotik Berbahan Baku Teh Hitam (*Camelia sinensis*). *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ayuratri, M.K., dan J. Kusnadi. 2017. Aktivitas Antibakteri Kombucha Jahe (*Zingiber Officinale*) (Kajian Varietas Jahe dan Konsentrasi Madu). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 5(3): 95-107.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis*. Washington: Association of Official Analytical Chemists.
- Aristya, A. L., Legowo, A. M., dan Al-Baarri, A. N. 2013. Total Asam, Total Yeast, dan Profil Protein Kefir Susu Kambing dengan Penambahan Jenis dan Konsentrasi Gula yang Berbeda. *Jurnal Pangan dan Gizi*. 4(1).
- Badan Pusat Statistik. 2016. *Konsumsi Susu di Indonesia*. Jakarta: BPS.
- Badarina, I. Evvyernie D., Toharmat, T., Nina, E. 2014. Fermentabilitas Rumen dan Kecernaan *In vitro* Ransum yang disuplementasi Kulit Buah Kopi Produk Fermentasi Jamur *Pleurotus ostreatus*. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*. 9(2): 102-109.
- Bahar, B. 2008. *Kefir Minuman Susu Fermentasi dengan Segudang Khasiat untuk Kehidupan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Bhattacharya, S., Manna, P., Gachhui, R., and Sil, P. C. 2011. Protective effect of kombucha tea against tertiary butyl hydroperoxide induced cytotoxicity and cell death in murine hepatocytes. *NISCIR-CSIR*: 511-524.
- Cao, G., Sofic, E., dan Prior, R. L. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*. 22(5): 749-760.

- Ciummo, B. 2014. What is *Cascara*?. <http://www.freshcup.com/what-is-cascara/> [Diakses pada 8 Oktober 2018].
- Codex Alimentarius Commission. 2003. *CODEX Standard for Fermented Milks*. Codex Stan 243-2003.
- Deman, P., Suls, J., dan Sansen, W. 1997. Continuous Differential Monitoring of The Spent Dialysate Glucose Level: Clinical Evaluation. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 44(1-3): 304-308.
- Dick, M., Costa, T., Gomaa, A., Subirade, M., Rios, A., Flores, S. 2015. Edible Film Production from Chia Seed Mucilage: Effect of Glycerol Concentration on its Physicochemical and Mechanical Properties. *Carbohydr Polym.* (130): 198-205.
- Efendi, Z., dan Harta, L. 2014. Kandungan Nutrisi Hasil Fermentasi Kulit Kopi (Studi Kasus Desa Air Meles Bawah Kecamatan Curup Timur). *Jurnal BPTP Bengkulu*.
- Esquivel, P., dan Jimenez, V. M. 2012. Functional Properties of Coffee and Coffee by-Products. *Food Research International*. 46(2): 488-495.
- Evanuarini, H. 2010. Pengaruh Suhu dan Lama Pemeraman pada Inkubator Terhadap Kualitas Fisik Kefir. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 20(2): 8-13.
- Farnworth, E. R. 2006. Kefir—a complex probiotic. *Food Science and Technology Bulletin Fu*. 2(1): 1-17.
- Febrisiantosa, A., Purwanto, B. P., Widyastuti, Y., dan Arief, I. I. 2013. Febriyani, Farrah. 2013. Kajian Konsentrasi Koji *Lactobacillus plantarum* dan Suhu pada Proses Fermentasi Kering terhadap Karakteristik Kopi Varietas Robusta. *Skripsi*. Bandung: Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Teknik, Universitas Pasundan.
- Karakteristik Fisik, Kimia, Mikrobiologi Whey Kefir dan Aktivasinya Terhadap Penghambatan Angiotensin Converting Enzyme (ACE). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 24(2): 147.
- Hanzen, W. E., Hastuti, U. S., dan Lukiati, B. 2016. Kualitas Yoghurt dari Kulit Buah Naga Berdasarkan Variasi Spesies dan Macam Gula ditinjau dari

- Tekstur, Aroma, Rasa dan Kadar Asam Laktat. *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Enviromental, and Learning*. 13(1): 849-856.
- Harald J. Benson. 2002. *Microbiological Applications*. New York (Amerika): McGraw-Hill Higher Education.
- Hartatie, E.S. 2011. Kajian Formulasi (bahan baku, bahan pematap) dan Metode Pembuatan Terhadap Kualitas Es Krim. *GAMMA*. 7(1): 20-26.
- Heeger, A., Kosińska-Cagnazzo, A., Cantergiani, E., dan Andlauer, W. 2017. Bioactives of Coffee Cherry Pulp and its Utilisation for Production of Cascara Beverage. *Food chemistry*. 221: 969-975.
- Hidayat, N. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Andi Yogyakarta.
- Hufidzoh, N. Dan Rudiana Agustini. 2014. Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Bibit Kefir Terhadap Mutu Kefir Susu Sapi. *Jurnal of Chemistry*. 3(2): 53-57.
- Ide, P. 2008. *Health Secret of Kefir, Mengungkap Keajaiban Susu Asam untuk Penyembuhan Berbagai Penyakit*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Jarvis, J. 2016. The Many Faces of Cascara. <https://www.caravancoffeeroasters.co.uk/blogs/news/cascara>. [Diakses pada 18 Desember 2018].
- Julianto, B., dan Rossi, E. 2016. Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologi Kefir Susu Sapi dengan Penambahan Susu Kedelai. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Pertanian*. 3 (1): 1-11.
- Kunaepah, U. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Glukosa Terhadap Aktivitas Antibakteri, Polifenol Total dan Mutu Kimia Kefir Susu Kacang Merah. *Thesis*. Semarang: Universitas Dipenogoro.
- Kurniadi, M., dan Frediansyah, A. Halal Perspective of Microbial Bioprocess Based-Food Products. *Reaktor*. 16(3): 147-160.
- Kustiawan, E., Purnomo, H., dan Radiati, L. E. 2010. The Effect of Heating and Postfermentation on Lactoferrin of Fresh and Kefir Goat Milk. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak (JITEK)*. 5(2): 1-8.

- Lydia, S.W., Simon, B.W., dan Susanto, T. 2001. Ekstraksi dan Karakterisasi Pigmen dari Kulit Buah Rambutan (*Nephelium Lappaceum*). *Var. Binjai Biosain*. 1(2): 42-53.
- Magalhaes, K. T., Pereira, G. D. M., Dias, D. R., dan Schwan, R. F. 2010. Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 26(7): 1241-1250.
- Marshella. 2015. Optimasi Metode Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi Densitometri untuk Penetapan Kadar Asam Kafeat Hasil Hidrolisis Ekstrak Air Seduhan Biji Kopi Arabika (*Coffea arabica L.*). *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi. Universitas Sanata Dharma.
- Moat, S. J., Doshi, S. N., McDowell, I. F., Payne, N., Durrant, H. J., Lewis, M. J., and Goodfellow, J. 2002. Folic Acid Improves Endothelial Function in Coronary Artery Disease Via Mechanisms Largely Independent of Homocysteine Lowering. *Circulation*. 105(1): 22-26.
- Motilva, M. J., Serra, A., and Macia, A. 2013. Analysis of Food Polyphenols by Ultra High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Mass Spectrometry: An Overview. *Journal of Chromatography A*. 1292: 66-82.
- Musdholifah, M., dan Zubaidah, E. 2015. Studi Aktivitas Antioksidan Kefir Teh Daun Sirsak dari Berbagai Merk Dipasaran. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1): 29-39.
- Nawang Sari, D. N., Legowo, A. M., dan Mulyani, S. 2012. Kadar Laktosa, Keasaman dan Total Bahan Padat Whey Fermentasi dengan Penambahan Jus Kacang Hijau. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1(1).
- Ninan Lestario, L., Yoga, C., Wibowo, M. K., dan Ignatius Kristijanto, A. 2015. Stabilitas Antosianin Jantung Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca L*) terhadap Cahaya Sebagai Pewarna Agar-Agar (*Anthocyanin Stability of Banana Bract (Musa Paradisiaca L.) Toward Light for Jelly Colorant*. *Agritech: Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian UGM*. 34(4): 374-381.
- Nur, Y. M., S. Indrayati., Periadnadi., dan Nurmiat. 2018. Pengaruh Penggunaan Beberapa Jenis Ekstrak Tanaman Beralkaloid terhadap Produk Teh Kombucha. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 6(1): 55-6.



- Nurhayati, N., Jenie, B. S., dan Kusumaningrum, H. D. 2010. Fermentasi Sufu Rendah Garam dengan Menggunakan Beberapa Kapang Indigenus dan *Lactobacillus Plantarum* Kik. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 21(1).
- Oberman, H., dan Libudzisz, Z. 1998. Fermented Milks In Microbiology of fermented foods. *Springer*. 208-350.
- Orozco, A. L., Perez, M. I., Guevara, O., Rodriguez, J., Hernandez, M., Gonzalez-Vila, F. J., and Arias, M. E. 2008. Biotechnological Enhancement of Coffee Pulp Residues by Solid-State Fermentation with *Streptomyces*. Py–GC/MS analysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 81(2): 247-252.
- Otles, S., dan Cagindi, O. 2003. Kefir: a probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2 (2): 54-59.
- Pabari, S. 2014. *Cascara, The Coffe Cherry Tea with a How to Brew Guide*. Roater Pack.
- Pandey, A., Soccol, C. R., Nigam, P., Brand, D., Mohan, R., dan Roussos, S. 2000. Biotechnological Potential of Coffee Pulp and Coffee Husk for Bioprocesses. *Biochemical Engineering Journal*. 6(2): 153-162.
- Pelczar, M. J., and Chan, E. C. S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Powell, J. E. 2006. Bacteriocins And Bacteriocin Producers Present In Kefir And Kefir Grains. *Thesis*. Departemen of Food Science, Faculty of Agricience.
- Purwadi, P. 2010. Physical Quality of Mozzarella Cheese Produced by Lime Juice as an Acidifier. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak (JITEK)*. 5(2): 33-40.
- Rachman, A., Fardiaz, S., Rahaju, W. P., dan Nurwitri, C. C.1992. *Teknologi fermentasi susu*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi PAU Pangan dan Gizi IPB.
- Rachmawati, I. 2016. Mengenal *Cascara*, Teh dari Kulit Kopi di Banyuwangi. <https://travel.kompas.com/read/2016/10/27/092400327/mengenal.cascara.teh.dari.kulit.kopi.i.banyuwangi>. [Diakses pada 1 Desember 2018].

- Ramirez-Coronel, M. A., Marnet, N., Kolli, V. K., Roussos, S., Guyot, S., dan Augur, C. 2004. Characterization and estimation of proanthocyanidins and other phenolics in coffee pulp (*Coffea arabica*) by thiolysis-high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(5): 1344-1349.
- Rifanti, F. 2018. Valorisasi Kulit Ceri Kopi Menjadi *Cascara* sebagai Upaya Peningkatan Pendapatan Petani Kopi di Desa Cibeusi. <https://sith.itb.ac.id/id/valorisasi-kulit-ceri-kopi-menjadi-cascara-sebagai-upaya-peningkatan-pendapatan-petani-kopi-di-desa-cibeusi/> [Diakses pada 27 September 2018].
- Rosiana, E. 2013. Kadar Asam Laktat dan Derajat Asam Kefir Susu Kambing yang di Fermentasi dengan Penambahan Gula dan Lama Inkubasi yang Berbeda. *Jurnal Medika Veterinaria*. 7(2):87-90.
- Rumeen, S. F., Yelnetty, A., Tamasoleng, M., dan Lontaan, N. 2017. Penggunaan level sukrosa terhadap sifat sensoris kefir susu sapi. *ZOOTEC*. 38(1): 123-130.
- Rustan, I. R. 2013. Studi Isolasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.). *Skripsi*. Makasar: Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin.
- Saleh, E. 2004. *Teknologi Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Sari, P., Agustina, F., Komar, M., Unus, M. F., dan Lindriati, T. 2005. Ekstraksi dan Stabilitas Antosianin dari Kulit Buah Duwet (*Syzygium cumini*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 16(2): 142-150.
- Simanjuntak, M., Karo-Karo, T., dan Ginting, S. 2017. Pengaruh Penambahan Gula Pasir dan Lama Fermentasi Terhadap Mutu Minuman Ferbeet (*Fermented Beetroot*). *Jurnal Rekayasa Pangan dan Pertanian*. 5(1): 96-101.
- Siregar, M. 2005. Studi Perbandingan Kadar Tanin di dalam Tepung Terigu. *Skripsi*. Medan: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Smith, Wouters, J. T., Ayad, E. H., Hugenholtz, J. 2002. Microbes from Raw Milk for Fermented Dairy Products. *International Dairy Journal*. 12(2-3): 91-109.



- Spreer, E. 1998. *Market Milk, Milk Drinks and Cream Products*. U knjizi: Milk and Dairy Product Technology.
- Standarisasi Nasional Indonseia. 2001. *Syarat Mutu Susu Segar 3141.1.2011*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Sumarmono, J., Rahardjo, A. H. D., Sulistyowati, M., dan Widayaka, K. 2017. Kualitas Kimia, Fisik dan Sensori Kefir Susu Kambing yang disimpan Pada Suhu dan Lama Penyimpanan Berbeda. *Buletin Peternakan*. 41(3): 298-306.
- Tamime, A. Y., Wszolek, M., Bozanic, R., dan Ozer, B. 2011. Popular Ovine And Caprine Fermented Milks. *Small Ruminant Research*. 101(1-3): 2-16.
- Usmiati, S. 2007. Mikroba Susu Fermentasi Sejenis Kefir Menggunakan Starter Kombinasi Penyusun Granula Kefir dan *Bifidobacterium longum*. *JITV*. 10(1): 27-34.
- Usmiati, S., dan Bakar, A. 2009. *Teknologi pengolahan susu*. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Press.
- Widodo, W. 2002. *Bioteknologi Fermentasi Susu*. Malang: Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang.
- Wistiana, D., dan E. Zubaidah. 2015. Karakteristik Kimiawi dan Mikrobiologis Kombucha dari Berbagai Daun Tinggi Fenol Selama Fermentasi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3 (4): 1446-1457.
- Yuliandri, M.T. 2016. *Cascara: Teh dari Ceri Kopi*. <https://majalah.ottencoffee.co.id/cascara-teh-dari-ceri-kopi/>. [Diakses pada 10 Desember 2018].
- Zakaria, Y. 2009. Pengaruh Jenis Susu dan Persentase Starter Yang Berbeda Terhadap Kualitas Kefir. *Jurnal Agripet*. 9(1): 26-30.

LAMPIRAN

Lampiran 4.1 Hasil analisis kecerahan (L\*) kefir

Data analisis kecerahan (L\*) kefir

Sukrosa (%)	Cascara (%)	Ulangan			Σ	st dev
		1	2	3		
2,5	0,5	77,2	76,8	77,9	77,30	0,557
	1,0	71,8	72,2	71,6	71,87	0,306
	1,5	71,4	72,2	72,4	72,00	0,529
5	0,5	76,2	75,2	76	75,80	0,529
	1,0	71,8	72,1	70,8	71,57	0,681
	1,5	71,9	71,7	71,4	71,67	0,252
7,5	0,5	72,3	71,9	71,5	71,90	0,400
	1,0	70,8	69,6	70,6	70,33	0,643
	1,5	70,4	70,6	70,3	70,43	0,153

Tabel hasil sidik ragam pengaruh perlakuan terhadap kecerahan (L\*) kefir

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftabel
Perlakuan	8	136,37	17,05	73,52	
sukrosa (A)	2	39,11	19,56	84,35	3,55 BN
cascara (B)	2	81,70	40,85	176,20	3,55 BN
sukrosa.cascara (AB)	4	15,56	3,89	16,77	2,93 BN
Galat percobaan	18	4,17	0,23		
Total	26	140,55			

Tabel uji lanjut duncan pengaruh perlakuan terhadap kecerahan (L\*) kefir

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SQRT	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28
SSR	0	4,071	4,7	5,09	5,38	5,60	5,79	5,94	6,08
LSR	0,00	1,13	1,31	1,42	1,50	1,56	1,61	1,65	1,69

Tabel notasi perlakuan terhadap kecerahan (L\*) kefir

Konsentrasi sukrosa* konsentrasi <i>casara</i>	Rerata	LSR									Notasi	
		0,00	1,13	1,31	1,42	1,50	1,56	1,61	1,65	1,69		
7,5% * 1,0%	70,333	0,000										a
7,5% * 1,5%	70,433	0,100	0,000									ab
5,0% * 1,0%	71,567	1,233	1,133	0,000								bc
5,0% * 1,5%	71,667	1,333	1,233	0,100	0,000							bc
2,5% * 1,0%	71,867	1,533	1,433	0,300	0,200	0,000						c
7,5% * 0,5%	71,900	1,567	1,467	0,333	0,233	0,033	0,000					c
2,5% * 1,0%	72,000	1,667	1,567	0,433	0,333	0,133	0,100	0,000				c
5,0% * 0,5%	75,800	5,467	5,367	4,233	4,133	3,933	3,900	3,800	0,000			d
2,5% * 0,5%	77,300	6,967	6,867	5,733	5,633	5,433	5,400	5,300	1,500	0,000		d
		a	b	c	C	c	c	c	d	d		

**Lampiran 4.2 Hasil analisis warna kemerahan (a+) kefir**

Data analisis warna kemerahan (a+) kefir

Sukrosa (%)	Cascara (%)	Ulangan			$\Sigma$	st dev
		1	2	3		
2,5	0,5	6,2	6,1	6,0	6,0	0,100
	1,0	6,7	6,1	6,6	6,5	0,321
	1,5	6,2	6,3	5,7	6,1	0,321
5	0,5	6,7	5,9	6,2	6,3	0,404
	1,0	6,7	6,4	6,6	6,6	0,153
	1,5	6,5	6,1	6,1	6,2	0,231
7,5	0,5	6,3	6,1	6,5	6,3	0,200
	1,0	6,7	6,6	6,6	6,6	0,058
	1,5	6,6	6,4	6,0	6,3	0,306

Tabel hasil sidik ragam pengaruh perlakuan terhadap warna kemerahan (a+) kefir

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftabel
Perlakuan	8	1,07	0,13	2,04	
sukrosa (A)	2	0,29	0,14	2,18	3,55 TBN
cascara (B)	2	0,76	0,38	5,77	3,55 BN
sukrosa.cascara (AB)	4	0,03	0,01	0,10	2,93 TBN
Galat percobaan	18	1,19	0,07		
Total	26	2,26			

Tabel uji lanjut duncan pengaruh perlakuan terhadap warna kemerahan (a+) kefir

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SQRT	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
SSR	0	4,071	4,7	5,09	5,38	5,60	5,79	5,94	6,08
LSR	0,00	0,60	0,70	0,75	0,80	0,83	0,86	0,88	0,90





**Lampiran 4.3 Hasil analisis total asam tertitrasi (%) kefir**

Data analisis total asam tertitrasi (%) kefir

Sukrosa (%)	<i>Cascara</i> (%)	Ulangan			$\Sigma$	st dev
		1	2	3		
2,5	0,5	10,67	10,31	11,03	0,427	0,3600
	1,0	11,39	12,02	10,76	0,455	0,6300
	1,5	7,07	7,74	8,60	0,312	0,7668
5	0,5	10,58	10,98	10,78	0,431	0,2025
	1,0	12,15	11,75	11,03	0,466	0,5698
	1,5	10,49	10,08	10,85	0,419	0,3827
7,5	0,5	10,40	11,12	11,07	0,434	0,4033
	1,0	12,74	10,94	11,39	0,467	0,9367
	1,5	10,31	11,70	9,90	0,425	0,9443

Tabel hasil sidik ragam pengaruh perlakuan terhadap total asam tertitrasi (%) kefir

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftabel	
Perlakuan	8	0,0519	0,0065	10,2497		
sukrosa (A)	2	0,0109	0,0054	8,5997	3,5546	BN
<i>cascara</i> (B)	2	0,0272	0,0136	21,5139	3,5546	BN
sukrosa. <i>cascara</i> (AB)	4	0,0138	0,0034	5,4426	2,9277	BN
Galat percobaan	18	0,0114	0,0006			
Total	26	0,0633				

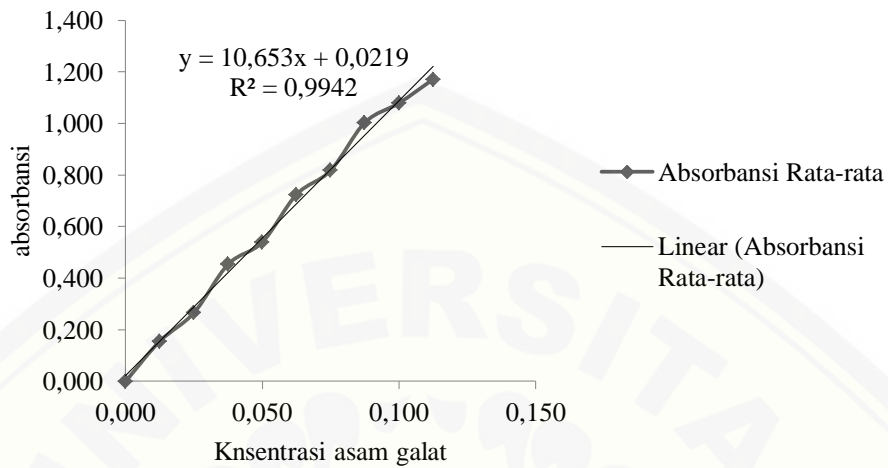
Tabel uji lanjut duncan pengaruh perlakuan terhadap total asam tertitrasi (%) kefir

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
SQRT	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
SSR	0	4,071	4,7	5,09	5,38	5,60	5,79	5,94	6,08
LSR	0,00	0,06	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,09	0,09



**Lampiran 4.4 Hasil analisis total polifenol (mg GAE/ml) kefir**

Kurva asam galat



mg asam galat	Absorbansi rata-rata
0,000	0,000
0,013	0,156
0,025	0,266
0,038	0,454
0,050	0,540
0,063	0,725
0,075	0,818
0,088	1,004
0,100	1,079
0,113	1,172

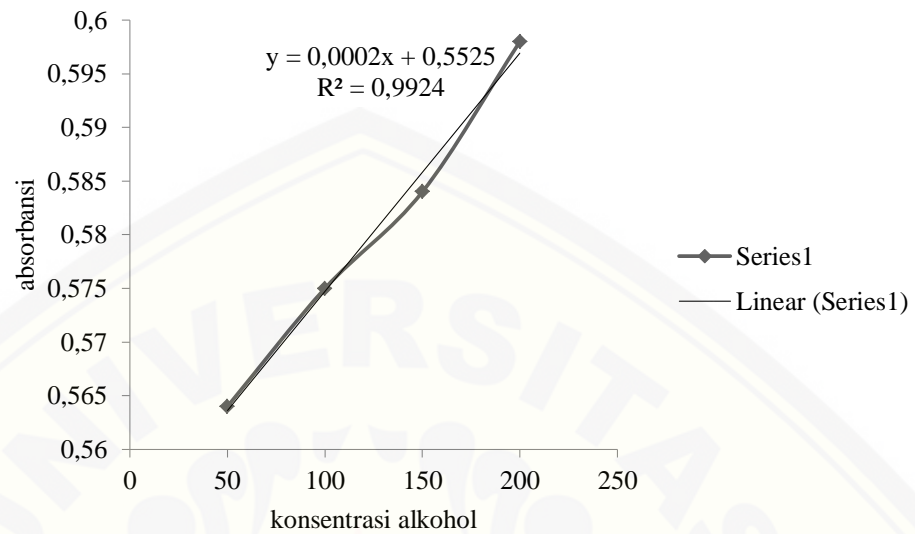
**Data analisis total polifenol (mg GAE/ml) kefir**

Sukrosa (%)	Casacara (%)	Ulangan			Σ	st dev
		1	2	3		
2,5	0,5	2,937	2,529	2,666	2,711	0,208
	1,0	3,371	3,523	3,112	3,335	0,208
	1,5	3,346	3,855	3,114	3,438	0,379
5	0,5	2,546	2,086	2,474	2,369	0,247
	1,0	3,092	3,525	2,989	3,202	0,284
	1,5	3,343	3,124	3,429	3,299	0,157
7,5	0,5	1,849	1,177	1,326	1,451	0,353
	1,0	2,547	2,667	3,007	2,740	0,239
	1,5	3,058	3,280	3,255	3,198	0,122



**Lampiran 4.5 Hasil analisis kadar alkohol (%) kefir**

Kurva alkohol 70%



ml alkohol 70%	Absorbansi rata-rata
0	0
50	0,442
100	0,453
150	0,462
200	0,476

**Data analisis kadar alkohol (%) kefir**

Sukrosa (%)	Cascara (%)	Ulangan			Σ	st dev
		1	2	3		
2,5	0,5	1,053	1,045	1,022	1,040	0,016
	1,0	1,029	1,002	1,059	1,030	0,028
	1,5	0,977	0,976	0,977	0,977	0,001
5	0,5	1,125	1,115	1,095	1,112	0,015
	1,0	1,013	1,045	1,035	1,031	0,016
	1,5	1,036	1,073	1,000	1,036	0,037
7,5	0,5	0,995	0,999	0,972	0,988	0,015
	1,0	1,008	1,063	1,013	1,028	0,031
	1,5	1,024	1,047	1,042	1,038	0,012





**Lampiran 4.6 Hasil analisis aroma kefir**

Data analisis aroma kefir

Panelis	kode sampel									Jumlah	Jumlah kuadrat
	147	135	257	386	832	152	218	951	743		
1	3	6	3	4	6	5	6	6	5	44	1936
2	4	5	5	4	6	5	5	5	5	44	1936
3	6	5	5	3	5	5	6	6	6	47	2209
4	3	5	4	6	6	6	5	6	6	47	2209
5	7	6	2	3	2	6	3	3	3	35	1225
6	5	3	6	3	6	6	2	6	4	41	1681
7	3	5	5	3	5	3	5	4	4	37	1369
8	3	3	5	3	4	6	3	5	5	37	1369
9	4	3	6	2	3	2	3	3	6	32	1024
10	1	2	5	4	5	6	4	3	6	36	1296
11	3	3	3	4	5	4	5	4	5	36	1296
12	7	5	6	4	4	4	1	3	2	36	1296
13	2	3	3	4	5	5	6	4	5	37	1369
14	3	3	2	5	5	1	3	5	6	33	1089
15	5	5	5	4	5	6	5	4	5	44	1936
16	2	2	6	6	6	4	5	5	5	41	1681
17	2	2	5	3	4	4	4	5	3	32	1024
18	7	7	6	6	6	7	7	7	7	60	3600
19	5	6	4	5	4	3	3	3	5	38	1444
20	3	3	6	4	3	6	4	4	6	39	1521
21	3	5	5	3	6	6	6	5	4	43	1849
22	2	3	2	4	5	6	6	5	4	37	1369
23	6	3	3	5	3	4	4	4	3	35	1225
24	4	2	2	4	4	5	3	6	4	34	1156
25	3	4	5	4	3	3	3	6	5	36	1296
jumlah	96	99	109	100	116	118	107	117	119		
rata-rata	3,8	3,9	4,3	4,0	4,6	4,7	4,3	4,7	4,8		

Tabel hasil sidik ragam pengaruh perlakuan terhadap kesukaan aroma kefir

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	127,093 <sup>a</sup>	32	3,972	2,486	
Intercept	4277,160	1	4277,160	2677,176	.000
Perlakuan	25,920	8	3,240	2,028	.045 TBN
Panelis	101,173	24	4,216	2,639	.000
Error	306,747	192	1,598		
Total	4711,000	225			
Corrected Total	433,840	224			

**Lampiran 4.7 Hasil analisis rasa kefir**

Data analisis rasa kefir

Panelis	kode sampel									Jumlah	Jumlah kuadrat
	147	135	257	386	832	152	218	951	743		
1	6	3	7	7	5	7	5	6	6	52	2704
2	7	7	7	7	5	5	5	7	5	55	3025
3	3	3	4	4	5	5	5	6	6	41	1681
4	6	5	5	6	6	6	6	6	6	52	2704
5	3	2	3	1	4	5	3	6	4	31	961
6	3	5	5	5	6	6	3	5	5	43	1849
7	6	7	7	7	7	7	6	7	7	61	3721
8	2	2	1	1	3	1	4	1	6	21	441
9	5	2	2	3	4	2	4	2	5	29	841
10	5	7	6	6	4	5	3	3	2	41	1681
11	3	3	4	3	3	5	4	4	4	33	1089
12	5	3	2	4	5	5	5	5	6	40	1600
13	2	3	3	2	2	3	6	5	3	29	841
14	3	2	6	2	3	1	5	2	3	27	729
15	3	2	3	2	4	1	4	5	3	27	729
16	2	2	7	4	3	6	5	4	4	37	1369
17	4	7	7	6	6	6	6	4	4	50	2500
18	3	3	2	2	2	2	2	7	4	27	729
19	5	7	6	5	3	3	3	2	2	36	1296
20	5	7	6	5	4	6	5	5	7	50	2500
21	4	7	6	5	4	6	5	2	7	46	2116
22	3	3	2	2	3	5	5	3	3	29	841
23	3	2	2	4	2	2	2	3	5	25	625
24	2	4	4	3	3	5	5	7	4	37	1369
25	5	2	4	3	5	7	3	4	3	36	1296
jumlah	98	100	111	99	101	112	109	111	114		
rata-rata	3,9	4,0	4,4	3,9	4,4	4,5	4,4	4,4	4,6		

Tabel hasil sidik ragam pengaruh perlakuan terhadap kesukaan rasa kefir

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Corrected Model	319,538 <sup>a</sup>	32	9,986	5,639		
Intercept	4053,444	1	4053,444	2288,884	0,000	
Perlakuan	13,316	8	1,664	0,940	0,485	TBN
Panelis	306,222	24	12,759	7,205	0,000	
Error	340,018	192	1,771			
Total	4713,000	225				
Corrected Total	659,556	224				

**Lampiran 4.8 Hasil analisis warna kefir**

Data analisis warna kefir

Panelis	kode sampel									Jumlah	Jumlah kuadrat
	147	135	257	386	832	152	218	951	743		
1	6	5	4	3	4	3	3	2	5	35	1225
2	5	4	5	4	5	5	5	5	5	43	1849
3	6	6	5	6	5	4	4	5	5	46	2116
4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	45	2025
5	6	6	5	6	5	6	6	6	6	52	2704
6	6	6	6	6	6	7	7	6	6	56	3136
7	6	6	2	6	2	3	3	4	5	37	1369
8	5	6	6	5	6	5	5	3	4	45	2025
9	4	5	4	4	4	3	3	3	4	34	1156
10	6	6	5	5	5	7	7	2	3	46	2116
11	5	5	5	6	5	3	3	3	2	37	1369
12	5	4	3	6	3	6	6	6	4	43	1849
13	4	3	5	5	5	3	3	6	2	36	1296
14	5	3	5	3	5	6	6	5	3	41	1681
15	5	5	4	4	4	5	5	5	5	42	1764
16	4	4	6	4	6	4	4	4	4	40	1600
17	6	6	5	6	5	5	5	4	5	47	2209
18	7	7	7	5	7	7	7	6	3	56	3136
19	5	3	3	3	3	3	3	3	3	29	841
20	3	4	4	3	4	4	4	3	5	34	1156
21	3	3	4	3	4	3	3	3	5	31	961
22	4	5	6	6	6	2	2	2	3	36	1296
23	4	6	3	6	3	5	5	6	5	43	1849
24	4	4	4	5	4	2	2	4	4	33	1089
25	4	4	5	4	5	3	3	3	2	33	1089
jumlah	123	121	116	119	116	109	109	104	103		
rata-rata	4,9	4,8	4,6	4,8	4,6	4,4	4,4	4,2	4,1		

Tabel hasil sidik ragam pengaruh perlakuan terhadap kesukaan warna kefir

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Corrected Model	160,533 <sup>a</sup>	32	5,017	4,598		
Intercept	4624,000	1	4624,000	4238,421	.000	
Perlakuan	17,200	8	2,150	1,971	0.052	TBN
Panelis	143,333	24	5,972	5,474	.000	
Error	209,467	192	1,091			
Total	4994,000	225				
Corrected Total	370,000	224				

**Lampiran 4.9 Hasil analisis kesukaan keseluruhan kefir**

Data analisa kesukaan keseluruhan kefir

Panelis	kode sampel									Jumlah	Jumlah kuadrat
	147	135	257	386	832	152	218	951	743		
1	4	3	5	4	5	4	3	5	3	36	1296
2	1	1	1	1	2	2	2	1	1	12	144
3	5	5	4	4	5	5	6	6	6	46	2116
4	4	5	4	4	4	4	4	3	5	37	1369
5	4	3	4	1	5	5	3	4	4	33	1089
6	5	3	6	5	5	6	5	6	5	46	2116
7	6	6	5	5	3	5	6	5	5	46	2116
8	2	2	2	2	2	3	3	2	2	20	400
9	5	2	2	3	4	2	4	2	5	29	841
10	2	2	3	4	3	5	6	5	6	36	1296
11	3	3	4	4	5	4	5	4	5	37	1369
12	7	5	4	4	5	4	5	4	6	44	1936
13	2	5	3	4	3	4	5	5	4	35	1225
14	3	3	5	6	3	5	5	3	5	38	1444
15	2	2	5	5	4	5	5	6	5	39	1521
16	3	3	5	6	3	4	4	3	4	35	1225
17	5	2	3	4	4	2	5	2	4	31	961
18	5	5	3	2	3	2	5	5	5	35	1225
19	2	3	3	3	4	4	2	2	2	25	625
20	6	4	6	4	6	2	5	6	2	41	1681
21	1	3	1	7	1	1	1	5	1	21	441
22	2	2	3	3	4	5	6	4	3	32	1024
23	6	5	4	4	5	5	4	4	3	40	1600
24	3	2	1	3	1	4	4	3	4	25	625
25	5	2	4	3	4	2	4	3	5	32	1024
jumlah	93	81	90	95	93	94	107	98	100		
rata-rata	3,7	3,2	3,6	3,8	3,7	3,8	4,3	3,9	4,0		

Tabel hasil sidik ragam pengaruh perlakuan terhadap kesukaan keseluruhan kefir

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Corrected Model	209,689 <sup>a</sup>	32	6,553	4,902		
Intercept	3218,671	1	3218,671	2407,983	0,000	
Perlakuan	16,249	8	2,031	1,520	0,153	TBN
Panelis	193,440	24	8,060	6,030	0,000	
Error	256,640	192	1,337			
Total	3685,000	225				
Corrected Total	466,329	224				

## Lampiran 4.10 Uji Efektivitas

Parameter	Bobot variabel	Bobot normal	Perlakuan								
			A1B1	A1B2	A1B3	A2B1	A2B2	A2B3	A3B1	A3B2	A3B3
Kemerahan (a+)	0,7	0,13	0,000	0,099	0,014	0,057	0,120	0,050	0,064	0,135	0,071
Total asam tertitrasi	0,5	0,10	0,071	0,089	0,000	0,074	0,095	0,066	0,076	0,096	0,070
Total polifenol	0,9	0,17	0,063	0,095	0,100	0,046	0,088	0,093	0,000	0,065	0,088
Kadar alkohol	0,6	0,12	0,054	0,045	0,000	0,115	0,046	0,039	0,010	0,044	0,052
Aroma	0,5	0,10	0,000	0,013	0,054	0,017	0,084	0,092	0,046	0,088	0,096
Rasa	0,5	0,10	0,000	0,012	0,078	0,006	0,018	0,084	0,066	0,078	0,096
Warna	0,5	0,10	0,096	0,087	0,063	0,077	0,063	0,029	0,029	0,005	0,000
Kesukaan keseluruhan	1,0	0,19	0,089	0,000	0,067	0,104	0,089	0,096	0,192	0,126	0,141
Total	5,20	1,00	0,373	0,439	0,376	0,495	0,603	0,549	0,483	0,636	0,614

\*

Perlakuan	Nilai efektifitas
2,5% sukrosa	0,5% <i>cascara</i>
2,5% sukrosa	1,0% <i>cascara</i>
2,5% sukrosa	1,5% <i>cascara</i>
5,0% sukrosa	0,5% <i>cascara</i>
5,0% sukrosa	1,0% <i>cascara</i>
5,0% sukrosa	1,5% <i>cascara</i>
7,5% sukrosa	0,5% <i>cascara</i>
7,5% sukrosa	1,0% <i>cascara</i>
7,5% sukrosa	1,5% <i>cascara</i>

**Lampiran 4.11 Nilai pH**

Data nilai pH

Ulangan	Susu	Starter kerja	Kefir ( <i>cascara</i> 1%; sukrosa 7,5%)
1	5,8	3,6	3,1
2	6,1	3,5	3,1
3	6,0	3,9	2,8
$\Sigma$	5,97	3,67	3,00
st. dev	0,15	0,21	0,17

**Lampiran 4.12 Populasi bakteri asam laktat**

Data populasi bakteri asam laktat

Perlakuan	Ulangan	Pengenceran					
		10 <sup>5</sup>		10 <sup>6</sup>		10 <sup>7</sup>	
starter kerja	1	6	9	64	36	26	35
	2	95	100	108	101	33	22
	3	116	110	53	30	31	33
kefir ( <i>cascara</i> 1%; sukrosa 7,5%)	1	295	333	203	231	63	33
	2	281	303	145	141	59	1
	3	189	162	180	203	170	152

Data analisis populasi bakteri asam laktat

Perlakuan	Ulangan	total	total (log <sub>10</sub> cfu/ml)	$\Sigma$	st dev.
starter kerja	1	0,7x10 <sup>8</sup>	7,86	7,92	0,14
	2	1,2x10 <sup>8</sup>	8,08		
	3	0,7x10 <sup>8</sup>	7,82		
Kefir kefir ( <i>cascara</i> 1%; sukrosa 7,5%) 0 jam	1	1,2x10 <sup>8</sup>	4,19	4,18	0,16
	2	0,8 x10 <sup>8</sup>	4,10		
	3	1,6 x10 <sup>8</sup>	4,26		
kefir ( <i>cascara</i> 1%; sukrosa 7,5%) 24 jam	1	2,4x10 <sup>8</sup>	8,38	8,36	0,16
	2	1,6 x10 <sup>8</sup>	8,20		
	3	3,2 x10 <sup>8</sup>	8,51		



**Lampiran 4.13 Populasi khamir**

## Data populasi khamir

Perlakuan	Ulangan	Pengenceran					
		10 <sup>5</sup>		10 <sup>6</sup>		10 <sup>7</sup>	
starter kerja	1	295	260	153	102	13	22
	2	238	242	55	54	22	25
	3	255	333	87	104	10	8
kefir ( <i>cascara</i> 1%; sukrosa 7,5%)	1	209	230	283	232	195	65
	2	381	330	241	290	175	163
	3	270	298	299	296	95	264

## Data analisis populasi khamir

Perlakuan	Ulangan	total	total (log <sub>10</sub> cfu/ml)	Σ	st dev.
starter kerja	1	1,3x10 <sup>8</sup>	8,12	8,01	0,12
	2	0,8x10 <sup>8</sup>	7,89		
	3	1,0x10 <sup>8</sup>	8,02		
<i>cascara</i> 1%; sukrosa 7,5%) 0 jam	1	1,8x10 <sup>8</sup>	4,28	4,30	0,04
	2	2,0x10 <sup>8</sup>	4,30		
	3	2,1x10 <sup>8</sup>	4,32		
kefir ( <i>cascara</i> 1%; sukrosa 7,5%) 24 jam	1	3,5x10 <sup>8</sup>	8,55	8,60	0,04
	2	4,0x10 <sup>8</sup>	8,60		
	3	4,3x10 <sup>8</sup>	8,64		

**Lampiran 4.14 Aktivitas antioksidan**

## Data aktivitas antioksidan

Ulangan	Nilai absorbansi	Absorbansi blanko
1	3,671	3,677
2	3,628	3,633
3	3,649	3,653

## Data analisis aktivitas antioksidan

Ulangan	Nilai absorbansi	Absorbansi blanko	Aktivitas antioksidan (%)	Σ	st dev.
1	3,671	3,677	0,163	0,137	0,027
2	3,628	3,633	0,138		
3	3,649	3,653	0,109		

**Lampiran 4.15 Perhitungan**

## 1. Analisis kecerahan (L\*) Kefir

P	L	Ulangan (dl)			Lightness			$\Sigma$	st. dev.
		1	2	3	1	2	3		
A1B1	84,6	-7,4	-7,8	-6,7	77,2	76,8	77,9	77,30	0,557
A1B2	82,9	-11,1	-12,4	-11,4	71,8	72,2	71,6	71,87	0,306
A1B3	82,9	-11,5	-12,4	-12,2	71,4	72,2	72,4	72,00	0,529
A2B1	82,9	-6,7	-9,4	-8,6	76,2	75,2	76,0	75,80	0,529
A2B2	85,1	-13,3	-12,4	-13,8	71,8	72,1	70,8	71,57	0,681
A2B3	85,1	-13,2	-12,9	-13,2	71,9	71,7	71,4	71,67	0,252
A3B1	85,1	-12,8	-12,7	-13,1	72,3	71,9	71,5	71,90	0,400
A3B2	85,1	-14,3	-15,0	-14,0	70,8	69,6	70,6	70,33	0,643
A3B3	85,1	-14,7	-14,0	-14,3	70,4	70,6	70,3	70,43	0,153

Nilai kecerahan (L\*) kefir dengan perlakuan penambahan sukrosa 2,5% dan *casara* 0,5% ulangan 1 yaitu :

L= kecerahan warna, nilai berkisar 0-100 menunjukkan warna hitam hingga putih

*Lighness* = L standarisasi + dL

$$= 84,6 + (-7,4)$$

$$= 77,2$$

## 2. Analisis kemerahan (a+)

P	a	Ulangan (dl)			Kemerahan			$\Sigma$	st. dev.
		1	2	3	1	2	3		
A1B1	1,5	-5,2	-4,4	-4,7	6,2	6,1	6,0	6,0	0,100
A1B2	1,6	-5,1	-4,6	-5,0	6,7	6,1	6,6	6,5	0,321
A1B3	1,6	-4,6	-4,8	-4,2	6,2	6,3	5,7	6,1	0,321
A2B1	1,6	-4,6	-4,6	-4,5	6,7	5,9	6,2	6,3	0,404
A2B2	1,7	-5,0	-5,1	-5,1	6,7	6,4	6,6	6,6	0,153
A2B3	1,7	-4,8	-4,6	-4,6	6,5	6,1	6,1	6,2	0,231
A3B1	1,7	-4,8	-4,6	-5,0	6,3	6,1	6,5	6,3	0,200
A3B2	1,7	-5,0	-4,9	-5,1	6,7	6,6	6,6	6,6	0,058
A3B3	1,7	-4,9	-4,9	-4,5	6,6	6,4	6,0	6,3	0,306

Nilai kemerahan (a+) kefir dengan perlakuan penambahan sukrosa 2,5% dan *cascara* 0,5% ulangan 1 yaitu :

$a^*$  = nilai berkisar antara -80 - (+100) menunjukkan warna hijau hingga merah

$a^*$  = a (standarisasi) - da

= 1,5 - (-5,2)

= 6,2

### 3. Analisis total asam tertitrasi

P	Volume NaOH (ml)			Total asam tertitrasi (%)			$\Sigma$	st. dev.
	U1	U2	U3	U1	U2	U3		
A1B1	23,7	22,9	24,5	0,427	0,412	0,441	0,427	0,0144
A1B2	25,3	26,7	23,9	0,455	0,481	0,430	0,455	0,0252
A1B3	15,7	17,2	19,1	0,283	0,310	0,344	0,312	0,0307
A2B1	23,5	24,4	23,95	0,423	0,439	0,431	0,431	0,0081
A2B2	27	26,1	24,5	0,486	0,470	0,441	0,466	0,0228
A2B3	23,3	22,4	24,1	0,419	0,403	0,434	0,419	0,0153
A3B1	23,1	24,7	24,6	0,416	0,445	0,443	0,434	0,0161
A3B2	28,3	24,3	25,3	0,509	0,437	0,455	0,467	0,0375
A3B3	22,9	26	22	0,412	0,468	0,396	0,425	0,0378

Total asam laktat tertitrasi kefir dengan perlakuan penambahan sukrosa 2,5% dan *cascara* 0,5% ulangan 1 yaitu :

$$\begin{aligned}
 \text{Total asam laktat (\%)} &= \frac{V_1 \times N \times B \times FP \times 100}{V_2 \times 1000} \\
 &= \frac{23,7 \times 0,1 \times 90 \times 0,2 \times 100}{10 \times 1000} \\
 &= \frac{4,266}{10000} \\
 &= 0,427 \%
 \end{aligned}$$

## 4. Analisis total polifenol

P	Absorbansi sampel			Absorbansi blanko			Total polifenol (mg GAE/ml)		
	U1	U2	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3
A1B1	1,975	1,764	1,866	0,393	0,397	0,399	2,93	2,53	2,71
	1,984	1,769	1,816	0,393	0,397	0,399	2,95	2,53	2,62
A1B2	2,220	2,306	2,086	0,393	0,397	0,399	3,39	3,54	3,13
	2,201	2,285	2,071	0,393	0,397	0,399	3,35	3,50	3,10
A1B3	2,167	2,488	2,088	0,393	0,397	0,399	3,29	3,88	3,13
	2,227	2,457	2,071	0,393	0,397	0,399	3,40	3,83	3,10
A2B1	1,790	1,500	1,772	0,393	0,397	0,399	2,58	2,03	2,54
	1,752	1,560	1,705	0,393	0,397	0,399	2,51	2,14	2,41
A2B2	2,089	2,230	2,002	0,393	0,397	0,399	3,14	3,72	2,97
	2,035	2,195	2,024	0,393	0,397	0,399	3,04	3,33	3,01
A2B3	2,221	2,119	2,277	0,393	0,397	0,399	3,39	3,19	3,48
	2,17	2,047	2,218	0,393	0,397	0,399	3,30	3,06	3,37
A3B1	1,416	1,047	1,146	0,393	0,397	0,399	1,88	1,18	1,36
	1,384	1,045	1,108	0,393	0,397	0,399	1,82	1,18	1,29
A3B2	1,786	1,846	2,004	0,393	0,397	0,399	2,57	2,68	2,97
	1,757	1,833	2,041	0,393	0,397	0,399	2,52	2,65	3,04
A3B3	2,054	2,167	2,144	0,393	0,397	0,399	3,08	3,28	3,23
	2,034	2,165	2,165	0,393	0,397	0,399	3,04	3,28	3,27

Total polifenol kefir dengan perlakuan penambahan sukrosa 2,5% dan *cascara* 0,5% ulangan 1 percobaan 1 yaitu :

diketahui :

$$\text{Sampel } 50 \mu\text{l} = 0,05 \text{ ml}$$

$$\text{Aquades } 4950 \mu\text{l} = 4,95 \text{ ml}$$

$$\text{NaCO}_3 (7\%) = 1 \text{ ml}$$

$$\text{follin-cioceltau} = 0,5 \text{ ml}$$

$$\text{Panjang gelombang} = 765 \text{ nm}$$

$$y = ax + b$$

$$y = 10,653x + 0,0219$$

$$R^2 = 0,9942$$

Total polifenol = absorbansi sampel – absorbansi blanko

$$= 1,975 - 0,393$$

$$= 1,582$$

$$\begin{aligned} \text{Total polifenol} &= \frac{\text{Absorbansi blanko}-b}{a} \\ &= \frac{0,393-0,0219}{10,653} \\ &= 0,146 \text{ mg GAE}/50\mu\text{l} \\ \text{mg GAE/ml} &= \frac{0,146}{0,05} \\ &= 2,93 \text{ mg GAE/ml} \end{aligned}$$

#### 5. Analisis kadar alkohol (%)

P	Absorbansi sampel			Absorbansi blanko			Kadar alkohol (%)		
	U1	U2	U3	U1	U2	U3	U1	U2	U3
A1B1	0,573	0,608	0,591	0,121	0,134	0,151	1,049	1,045	1,020
	0,575	0,608	0,592	0,121	0,134	0,151	1,054	1,045	1,023
	0,575	0,608	0,592	0,121	0,134	0,151	1,054	1,047	1,023
A1B2	0,564	0,650	0,607	0,121	0,134	0,151	1,029	0,998	1,059
	0,564	0,650	0,607	0,121	0,134	0,151	1,029	1,003	1,059
	0,564	0,650	0,607	0,121	0,134	0,151	1,029	1,005	1,059
A1B3	0,542	0,602	0,572	0,121	0,134	0,151	0,977	0,975	0,977
	0,542	0,602	0,572	0,121	0,134	0,151	0,977	0,977	0,977
	0,542	0,602	0,572	0,121	0,134	0,151	0,977	0,977	0,977
A2B1	0,608	0,615	0,612	0,121	0,134	0,151	1,131	1,117	1,091
	0,605	0,613	0,609	0,121	0,134	0,151	1,124	1,112	1,096
	0,604	0,614	0,609	0,121	0,134	0,151	1,121	1,115	1,098
A2B2	0,585	0,609	0,597	0,148	0,134	0,151	1,015	1,045	1,036
	0,584	0,609	0,597	0,148	0,134	0,151	1,012	1,047	1,034
	0,584	0,609	0,597	0,148	0,134	0,151	1,012	1,045	1,034
A2B3	0,567	0,580	0,582	0,121	0,134	0,151	1,036	1,036	1,001
	0,567	0,578	0,582	0,121	0,134	0,151	1,036	1,031	1,000
	0,567	0,579	0,582	0,121	0,134	0,151	1,036	1,033	1,000
A3B1	0,578	0,600	0,568	0,148	0,134	0,151	0,998	0,998	0,968
	0,576	0,600	0,572	0,148	0,134	0,151	0,994	1,001	0,976
	0,575	0,590	0,569	0,148	0,134	0,151	0,991	0,998	0,970
A3B2	0,583	0,593	0,588	0,148	0,134	0,151	1,010	1,066	1,015
	0,582	0,592	0,587	0,148	0,134	0,151	1,008	1,063	1,012
	0,582	0,591	0,587	0,148	0,134	0,151	1,008	1,061	1,011
A3B3	0,59	0,612	0,601	0,148	0,134	0,151	1,026	1,045	1,045
	0,589	0,611	0,600	0,148	0,134	0,151	1,024	1,047	1,043
	0,588	0,609	0,599	0,148	0,134	0,151	1,022	1,049	1,039



Kadar alkohol kefir dengan perlakuan penambahan sukrosa 2,5% dan *cascara* 0,5% ulangan 1 percobaan 1 yaitu :

diketahui :

Sampel 1 gram

Garam jenuh = 1 ml

$K_2CrO_7$  = 2 ml + aquades = 2 ml

Panjang gelombang = 605 nm

$$y = ax + b$$

$$y = 0,0002x + 0,4305$$

$$R^2 = 0,9924$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar alkohol} &= \text{absorbansi sampel} - \text{absorbansi blanko} \\ &= 0,573 - 0,121 \\ &= 0,452 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar alkohol} &= \frac{\text{Absorbansi blanko} - b}{a} \\ &= \frac{0,452 - 0,4305}{0,0002} \\ &= 1,049 \% \end{aligned}$$

#### 6. Analisis populasi bakteri asam laktat

Perlakuan	U	Pengenceran						Total	Total (log 10 cfu/ml)
		10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>10</sup>		
starter kerja	1	6	9	64	36	26	35	7,3x10 <sup>7</sup>	7,86
	2	95	100	108	101	33	22	1,2x10 <sup>8</sup>	8,08
	3	116	110	53	30	31	33	6,7x10 <sup>7</sup>	7,82
kefir ( <i>cascara</i> 1%; sukrosa 7,5%)	1	295	333	203	231	63	33	2,4x10 <sup>8</sup>	8,38
	2	281	303	145	141	59	1	1,6 x10 <sup>8</sup>	8,20
	3	189	162	180	203	170	152	3,2 x10 <sup>8</sup>	8,51

Total populasi bakteri asam laktat dengan perlakuan starter kerja ulangan 1 percobaan 1 yaitu :

$$N = \frac{\Sigma C}{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d}$$

Keterangan :

N = jumlah koloni

$\Sigma C$  = jumlah seluruh koloni yang dihitung

$n_1$  = jumlah cawan pada pengenceran 1

$n_2$  = jumlah cawan pada pengenceran

d = tingkat pengenceran

$$\begin{aligned} N &= \frac{(64+34)+(26+35)}{(1 \times 2) + (0,1 \times 2) \times 10^{-6}} \\ &= \frac{161}{2,2} \times 10^6 \\ &= 7,3 \times 10^7 \end{aligned}$$

$$\text{Log } 10 = 7,86 \log_{10} \text{ cfu/ml}$$

#### 7. Analisis populasi khamir

Perlakuan	U	Pengenceran						Total	Total (log 10 cfu/ml)
		10 <sup>5</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>10</sup>		
starter kerja	1	295	260	153	102	13	22	1,3x10 <sup>8</sup>	8,12
	2	238	242	55	54	22	25	7,1x10 <sup>7</sup>	7,89
	3	255	333	87	104	10	8	1,0x10 <sup>8</sup>	8,02
kefir ( <i>cascara</i> 1%; sukrosa 7,5%)	1	209	230	283	232	195	65	3,5x10 <sup>8</sup>	8,55
	2	381	330	241	290	175	163	4,0x10 <sup>8</sup>	8,60
	3	270	298	299	296	95	264	4,3x10 <sup>8</sup>	8,64

Total populasi bakteri asam laktat dengan perlakuan kefir *cascara* 1% dan sukrosa 7,5% ulangan 1 percobaan 1 yaitu :

$$N = \frac{\Sigma C}{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d}$$

Keterangan :

N = jumlah koloni

$\Sigma C$  = jumlah seluruh koloni yang dihitung

$n_1$  = jumlah cawan pada pengenceran 1

$n_2$  = jumlah cawan pada pengenceran

d = tingkat pengenceran

$$\begin{aligned}
 N &= \frac{(283+232)+(195+65)}{(1 \times 2) + (0,1 \times 2) \times 10^{-6}} \\
 &= \frac{775}{2,2} \times 10^6 \\
 &= 3,5 \times 10^8
 \end{aligned}$$

$$\text{Log } 10 = 8,55 \log_{10} \text{ cfu/ml}$$

### 8. Analisis nilai pH

Ulangan	Susu	Starter kerja	Kefir (cascara 1%; sukrosa 7,5%)
1	5,8	3,6	3,1
2	6,1	3,5	3,1
3	6,0	3,9	2,8
$\Sigma$	5,97	3,67	3,00
st. dev	0,15	0,21	0,17

Rata-rata nilai pH pada susu yaitu :

$$\begin{aligned}
 \Sigma &= \frac{U_1+U_2+U_3}{n} \\
 &= \frac{5,8+6,1+6,0}{3} \\
 &= 5,97
 \end{aligned}$$

### 9. Analisis aktivitas antioksidan

Ulangan	Nilai absorbansi	Absorbansi blanko	Aktivitas antioksidan (%)	$\Sigma$	st dev.
1	3,671	3,677	0,163	0,137	0,027
2	3,628	3,633	0,138		
3	3,649	3,653	0,109		

Perhitungan aktivitas antioksidan kefir ulangan 1 yaitu :

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas antioksidan} &= \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\% \\
 &= \frac{3,677 - 3,671}{3,677} \times 100\% \\
 &= 0,00163 \times 100\% \\
 &= 0,163\%
 \end{aligned}$$

**Lampiran 4.16 Analisis Manual**

Perhitungan analisis sidik ragam rancangan acak lengkap faktorial secara manual

Berikut analisis manual pada parameter total polifenol :

Data analisa total polifenol (mg GAE/ml) kefir

Sukrosa (%)	Cascara (%)	Ulangan		Total	Σ	
		1	2			
2,5	0,5	2,937	2,529	2,711	8,132	0,208
	1,0	3,371	3,523	3,335	10,006	0,208
	1,5	3,346	3,855	3,438	10,315	0,379
5	0,5	2,546	2,086	2,369	7,106	0,247
	1,0	3,092	3,525	3,202	9,606	0,284
	1,5	3,343	3,124	3,299	9,896	0,157
7,5	0,5	1,849	1,177	1,451	4,352	0,353
	1,0	2,547	2,667	2,740	8,221	0,239
	1,5	3,058	3,280	3,198	9,593	0,122
Total					77,23	

Jumlah Perlakuan (t) = 9

Jumlah Ulangan (r) = 3

Untuk membuat tabel anova dengan cara manual, terlebih dahulu mengetahui nilai Grand Total dan Faktor Koreksi.

Grand Total (GT) = 77,23

Faktor Koreksi (FK) = (Grand Total)<sup>2</sup>/ r.t

$$= (77,23)^2/3.9$$

$$= 5964,47/27$$

$$= 220,91$$

Tabel dua arah analisa total polifenol (mg GAE/ml) kefir

konsentrasi sukrosa	konsentrasi cascara			total	kuadrat
	0,5%	1,0%	1,5%		
2,5%	8,132	10,006	10,315	28,453	809,573209
5,0%	7,106	9,606	9,896	26,608	707,985664
7,5%	4,352	8,221	9,593	22,166	491,331556
total	19,59	27,83	29,804	77,227	2008,890429
kuadrat	383,7681	774,6759	888,2784	2046,722405	

Keterangan :

Sukrosa (A) = 3

Casacara (B) = 3

Tabel anova total polifenol (mg GAE/ml) kefir

SK	db	JK	KT	Fhit	Ftabel	
Perlakuan	8	9,7442	1,2180	18,4835		
sukrosa (A)	2	2,3208	1,1604	17,6090	3,5546	BN
<i>cascara</i> (B)	2	6,5244	3,2622	49,5033	3,5546	BN
sukrosa. <i>cascara</i> (AB)	4	0,8990	0,2248	3,4108	2,9277	BN
Galat percobaan	18	1,1862	0,0659			
Total	26	10,9304				

## 1. Derajat bebas (db)

- $db_{\text{Perlakuan}} = t-1 = 9-1 = 8$
- $db_{\text{faktor A}} = (A-1) = 3-1 = 2$
- $db_{\text{faktor B}} = (B-1) = 3-1 = 2$
- $db_{\text{interaksi A x B}} = (db_{\text{faktor A}} \times db_{\text{faktor B}}) = 2 \times 2 = 4$
- $db_{\text{Galat}} = A \times B \times (r-1) = 3 \times 3 \times (3-1) = 18$
- $db_{\text{Total}} = db_{\text{perlakuan}} + db_{\text{perlakuan}} = 18+8 = 26$

## 2. Jumlah Kuadrat (JK)

$$\begin{aligned} \text{a. } JK_{\text{Perlakuan}} &= \frac{\sum t_1^2 + \sum t_2^2 + \sum t_3^2 \dots + \sum 9^2}{r} - FK \\ &= \frac{8,132^2 + 10,006^2 + 10,315^2 \dots + 9,593^2}{3} - 220,91 \\ &= \frac{691,9}{3} - 220,9 \\ &= 9,7 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. } JK_{\text{Faktor A}} &= \frac{\sum A_1^2 + \sum A_2^2 + \sum A_3^2}{r.B} - FK \\ &= \frac{28,453^2 + 26,608^2 + 22,166^2}{3.3} - 220,91 \\ &= \frac{2008,89}{9} - 220,91 = 2,3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c. } JK_{\text{Faktor B}} &= \frac{\sum B_1^2 + \sum B_2^2 + \sum B_3^2}{r.A} - FK \\ &= \frac{19,59^2 + 27,83^2 + 29,804^2}{3.3} - 220,91 \\ &= \frac{2046,56}{9} - 220,91 = 6,5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{d. } JK_{\text{Interaksi Faktor A x B}} &= JK_{\text{Perlakuan}} - JK_{\text{Faktor A}} - JK_{\text{Faktor B}} \\ &= 9,7 - 2,3 - 6,5 = 0,9 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned}
 \text{e. } JK_{\text{Galat}} &= JK_{\text{Total}} - JK_{\text{Perlakuan}} \\
 &= 10,93 - 9,75 \\
 &= 1,18 \\
 \text{f. } JK_{\text{Total}} &= a^2 + b^2 + c^2 + \dots + n^2 - FK \\
 &= 2,93^2 + 2,52 + 2,71^2 + \dots + 3,19^2 - 220,91 \\
 &= 231,82 - 220,91 \\
 &= 10,9
 \end{aligned}$$

### 3. Kuadrat Tengah (KT)

$$\begin{aligned}
 \text{a. } KT_{\text{Perlakuan}} &= \frac{JK_{\text{perlakuan}}}{db_{\text{perlakuan}}} = 9,7/8 = 1,21 \\
 \text{b. } KT_{\text{Faktor A}} &= \frac{JK_{\text{Faktor A}}}{db_{\text{Faktor A}}} = 2,3/2 = 1,16 \\
 \text{c. } KT_{\text{Faktor B}} &= \frac{JK_{\text{Faktor B}}}{db_{\text{Faktor B}}} = 6,5/2 = 3,26 \\
 \text{d. } KT_{\text{Interaksi A x B}} &= \frac{JK_{\text{Interaksi A x B}}}{db_{\text{Interaksi A x B}}} = 0,9/4 = 0,22 \\
 \text{e. } KT_{\text{Galat}} &= \frac{JK_{\text{Galat}}}{db_{\text{Galat}}} = 1,18/18 = 0,06
 \end{aligned}$$

### 4. F hitung

$$\begin{aligned}
 \text{a. } F_{\text{hitung Perlakuan}} &= \frac{KT_{\text{perlakuan}}}{KT_{\text{Galat}}} = 1,21/0,06 = 18,48 \\
 \text{b. } F_{\text{hitung Faktor A}} &= \frac{KT_{\text{Faktor A}}}{KT_{\text{Galat}}} = 1,16/0,06 = 17,61 \\
 \text{c. } F_{\text{hitung Faktor B}} &= \frac{KT_{\text{Faktor B}}}{KT_{\text{Galat}}} = 3,26/0,06 = 49,51 \\
 \text{d. } F_{\text{hitung Interaksi A x B}} &= \frac{KT_{\text{Interaksi A x B}}}{KT_{\text{Galat}}} = 0,22/0,06 = 3,41
 \end{aligned}$$

### 5. F tabel

F tabel didapat dari tabel statistik titik-titik kritis sebaran dengan memperhatikan derajat bebas galat ( $db_{\text{galat}}$ ) dan derajat bebas perlakuan ( $db_{\text{Perlakuan}}$ ). Format f tabel disajikan dalam tingkat kesalahan 5% atau 0.05. Berikut tabel titik-titik kritis sebaran.

F tabel 5%

db galat	db perlakuan											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	1,49	2,45	2,41	2,38
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,37	2,34
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,34	2,31

sehingga diperoleh nilai dari f tabel sebagai berikut :

SK	db	F tabel
Suksosa (A)	2	3,55
Cascara (B)	2	3,55
Sukrosa.cascara (A.B)	-	2,93

#### 6. Notasi

Untuk menentukan notasi, mengikuti ketentuan sebagai berikut :

- Jika F hitung > F tabel 5%, maka notasinya “BN” (berbeda nyata)
- Jika F hitung < F tabel 5%, maka notasinya “TBN” (tidak berbeda nyata)

SK	F hitung	F tabel	Notasi
Suksosa (A)	17,61	3,55	BN
Cascara (B)	49,51	3,55	BN
Sukrosa.cascara (A.B)	3,41	2,93	BN

#### 7. Koefisien Keragaman (KK)

$$\begin{aligned}
 KK &= \frac{\sqrt{KT \text{ galat}}}{\sum x \text{ total}} \times 100 \% \\
 &= \frac{\sqrt{0,06}}{77,23} \times 100 \% \\
 &= 0,0032 \times 100\% \\
 &= 0,32 \%
 \end{aligned}$$

Dari perhitungan di atas didapatkan tabel sidik ragam sebagai berikut :

Sk	db	JK	KT	Fhit	Ftabel	Notasi
Perlakuan	8	9,7442	1,2180	18,4835		
Faktor A	2	2,3208	1,1604	17,6090	3,5546	BN
Faktor B	2	6,5244	3,2622	49,5033	3,5546	BN
Interaksi A*B	4	0,8990	0,2248	3,4108	2,9277	BN
Galat	18	1,1862	0,0659			
Total	26	10,9304				
FK	220,91					
KK	0,32%					

Perhitungan uji lanjut dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5%

1. Uji lanjut ini bisa dilakukan jika ada perlakuan yang mendapatkan nilai perbedaan yang signifikan dari setiap perlakuan. Contoh terdapat notasi yang berbeda nyata (BN) terhadap tabel sidik ragam yang diamati seperti pengaruh sukrosa dan *cascara* terhadap total polifenol yang menunjukkan pengaruh berbeda nyata (BN). Langkah-langkah uji lanjut DMRT dengan taraf 5% antara lain.
2. Menentukan  $db_{\text{perlakuan}}$  dan  $db_{\text{galat}}$  untuk menemukan titik sebaran pada tabel SSR 5%
3. Nilai SSR tabel ke 2 yaitu 4,071 dan ke 9 yaitu 6,08. Berikut tabel titik-titik kritis sebaran :

Tabel SSR 5%

db galat	Nilai								
	0	2	3	4	5	6	7	8	9
17	0.00	4,099	4,740	5,140	5,430	5,660	5,850	6,010	6,150
18	0.00	4,071	4,700	5,090	5,380	5,600	5,790	5,940	6,080
19	0.00	4,045	4,670	5,050	5,330	5,550	5,730	5,890	6,020

4.  $KT_{\text{galat}}$  yaitu 0.06 dan ulangan (r) yaitu 3, input pada rumus

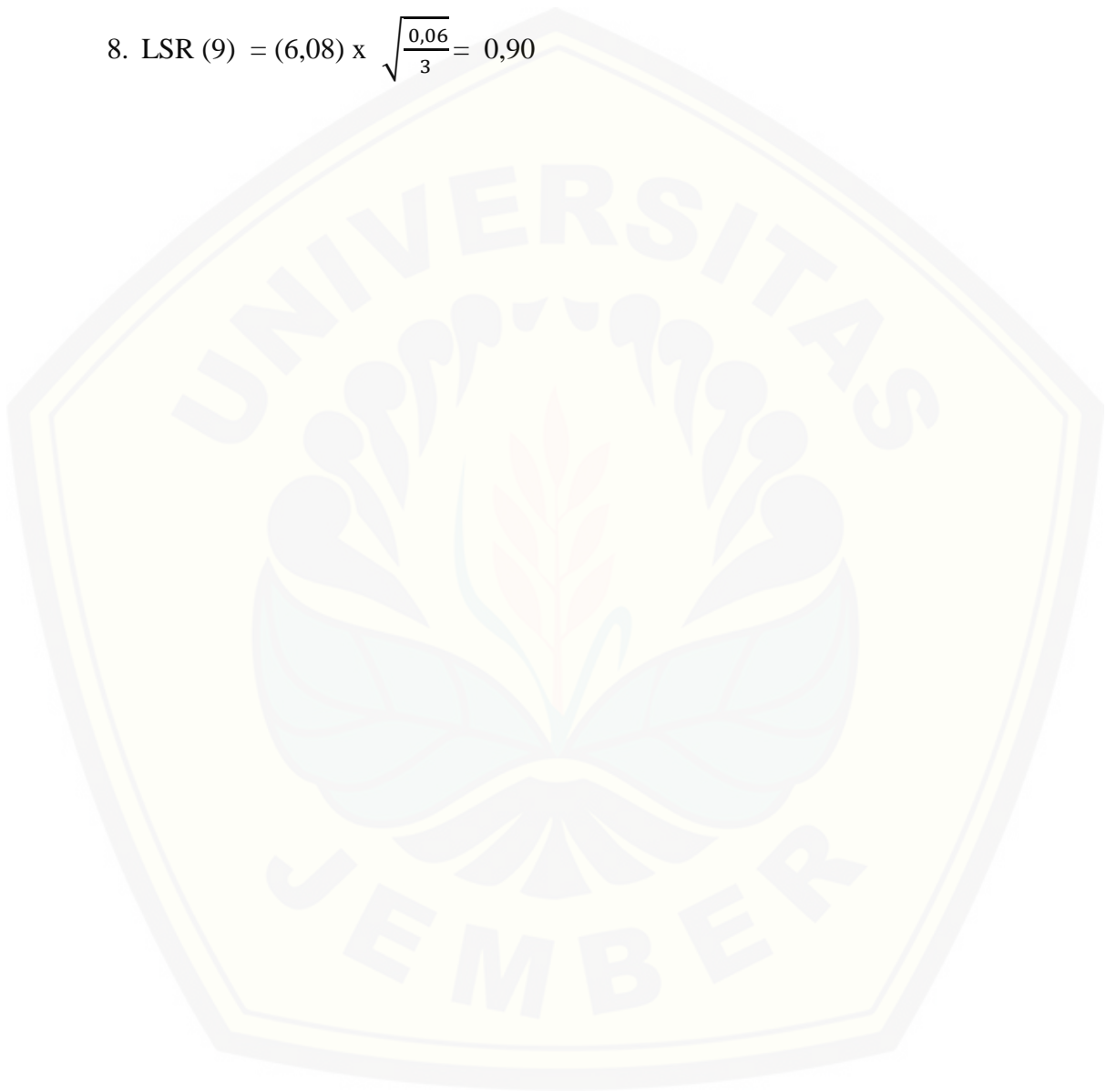
$$\sqrt{\frac{KT_{\text{galat}}}{r}} = \sqrt{\frac{0.06}{3}} = 0.14$$

5. Input pada rumus seutuhnya nilai DMRT 5%
6. Rumus perhitungan analisis DMRT 5%

$$LSR = SSR \text{ Tabel} \sqrt{\frac{KTG}{r}}$$

$$7. LSR (2) = (4,07) \times \sqrt{\frac{0,06}{3}} = 0,60$$

$$8. LSR (9) = (6,08) \times \sqrt{\frac{0,06}{3}} = 0,90$$



Lampiran 4.17 Dokumentasi

1. Pembuatan sampel kefir



Bahan susu segar Margo Utomo



Starter kefir yougourmet



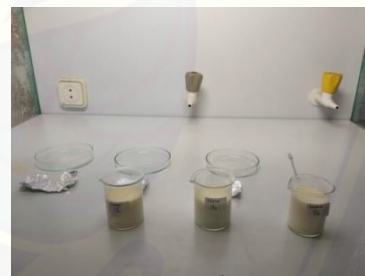
cascara



Sukrosa Gulaku



Pemanasan susu



Inokulasi



Inkubasi starter



Inkubasi sampel kefir



2. Analisis warna



Sampel untuk uji warna

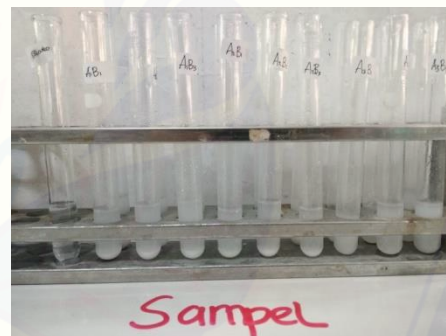


Pengujian warna menggunakan *colour reader*

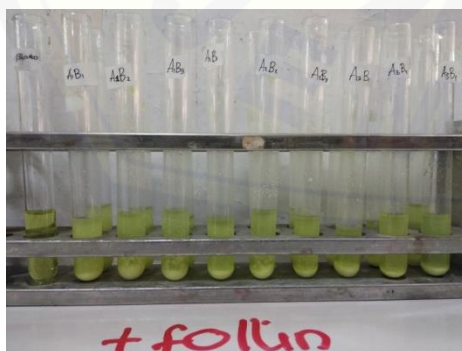
3. Analisis polifenol



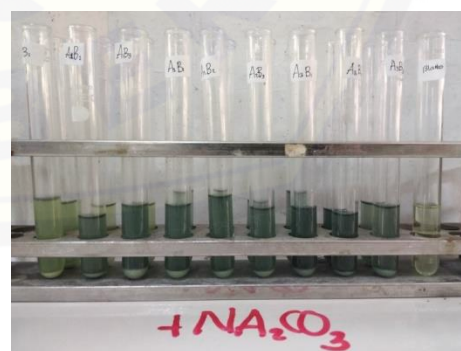
Bahan analisis polifenol



Sampel analisis polifenol



Penambahan *follin* pada sampel



Penambahan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  pada sampel

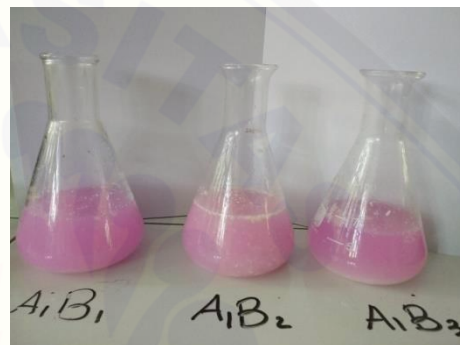
## 4. Analisis total asam tertitrasi



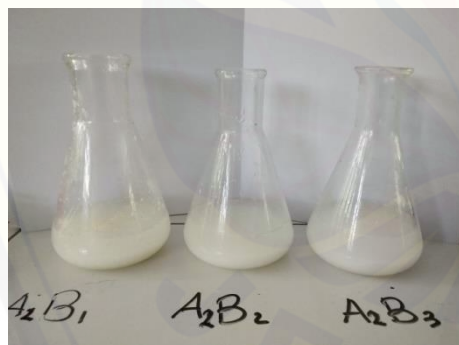
Bahan pengujian total asam tertitrasi



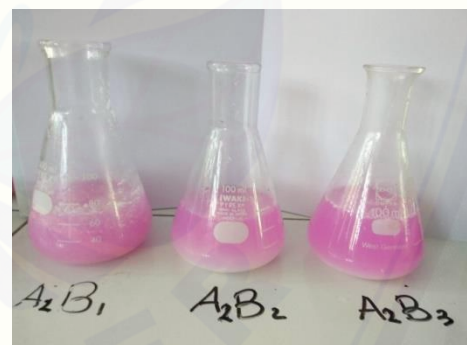
Sebelum titrasi (A1B1; A1B2; A1B3)



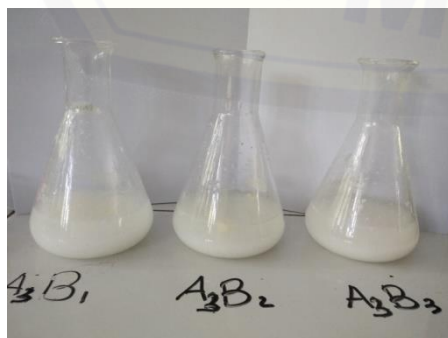
Setelah titrasi (A1B1; A1B2; A1B3)



Sebelum titrasi (A2B1; A2B2; A2B3)



Setelah titrasi (A2B1; A2B2; A2B3)

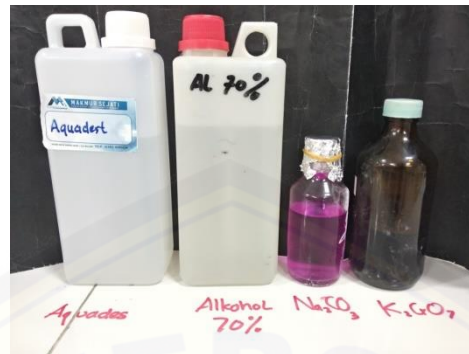


Sebelum titrasi (A3B1; A3B2; A3B3)

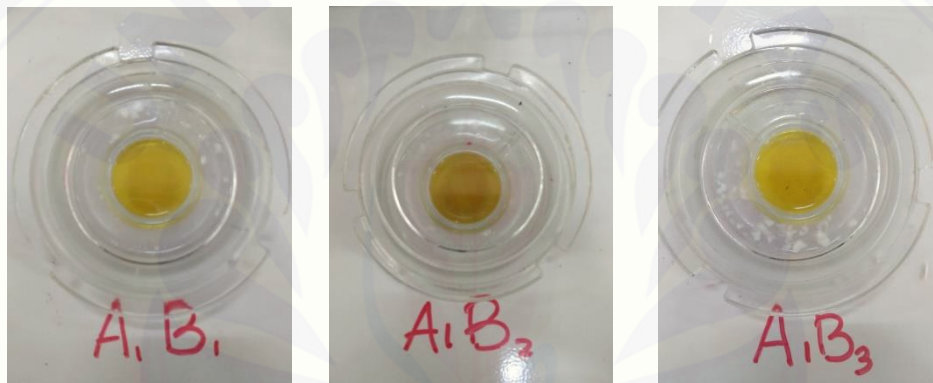


Setelah titrasi (A3B1; A3B2; A3B3)

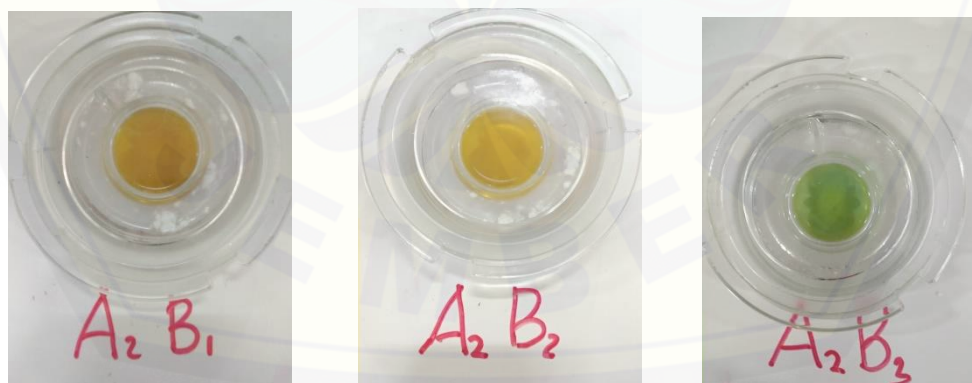
## 5. Analisis kadar alkohol



Bahan pengujian total alkohol



Sampel (A1B1; A1B2; A1B3)

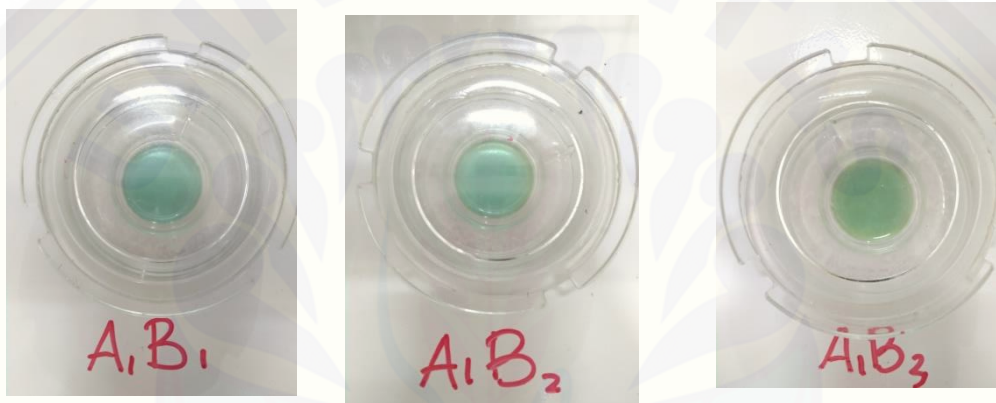


Sampel (A2B1; A2B2; A2B3)

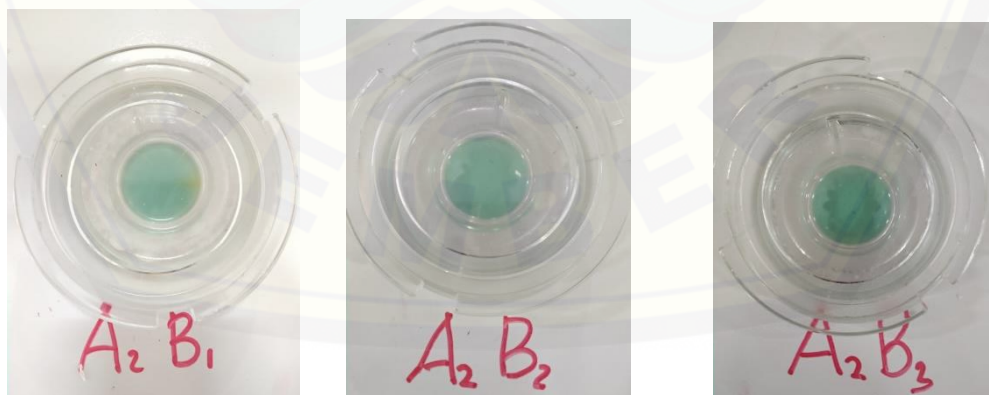




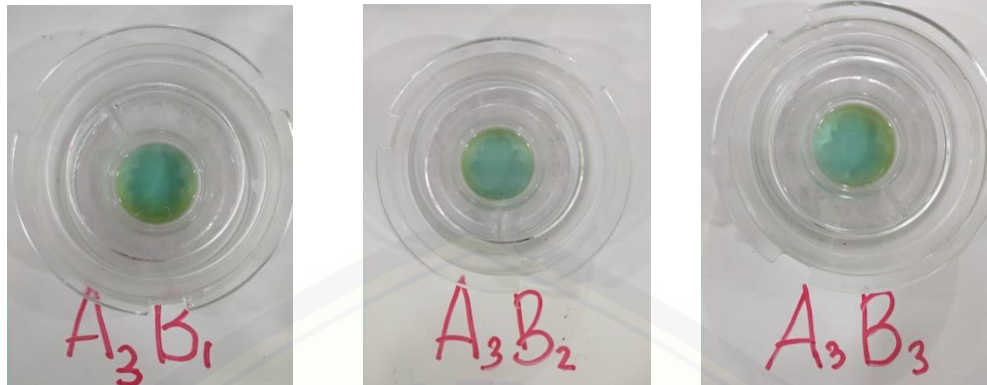
Sampel ( $A_3B_1$ ;  $A_3B_2$ ;  $A_3B_3$ )



Hasil analisis ( $A_1B_1$ ;  $A_1B_2$ ;  $A_1B_3$ )



Hasil analisis ( $A_2B_1$ ;  $A_2B_2$ ;  $A_2B_3$ )

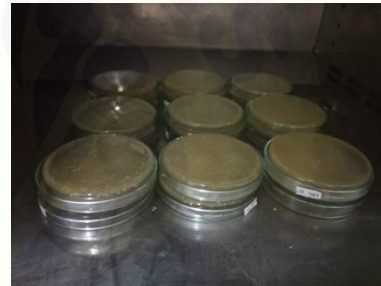


Hasil analisis (A3B1; A3B2; A3B3)

6. Analisis populasi bakteri asam laktat



Media MRS agar



Inkubasi



Sampel starter kerja ulangan 1

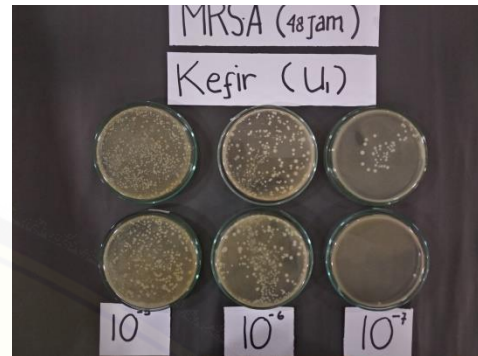


Sampel kerja ulangan 2

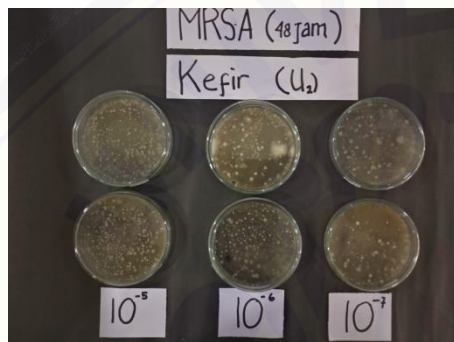




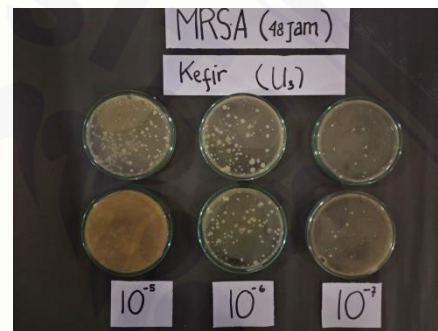
Sampel starter kerja ulangan 3



Sampel kefir ulangan 1

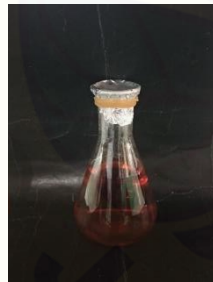


Sampel kefir ulangan 2

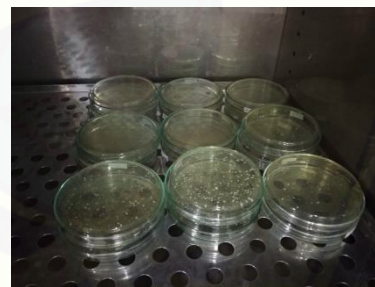


Sampel kefir ulangan 3

7. Analisis populasi khamir



Media MEA



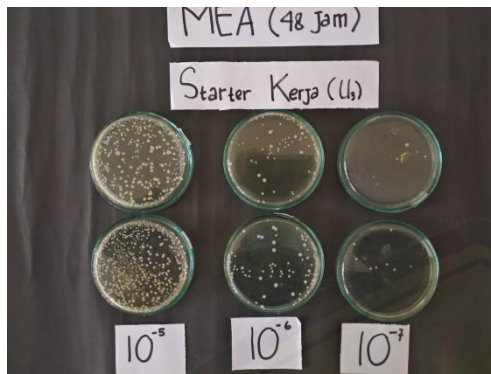
Inkubasi



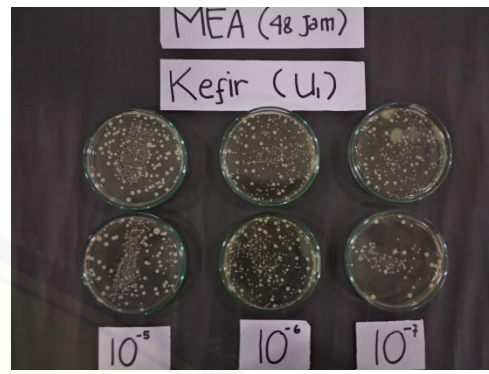
Sampel starter kerja ulangan 1



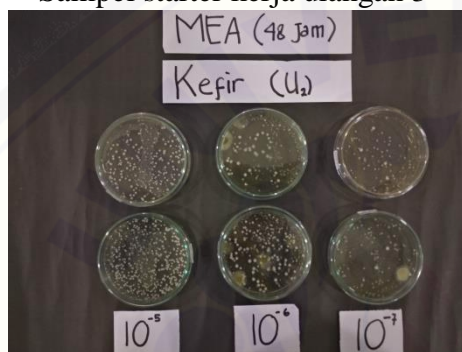
Sampel starter kerja ulangan 2



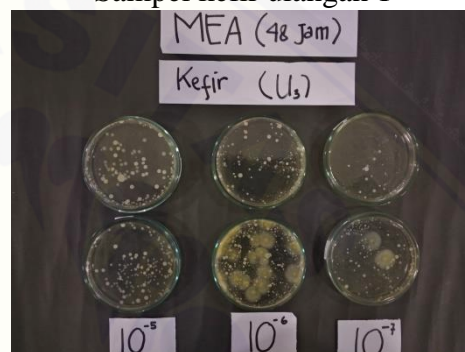
Sampel starter kerja ulangan 3



Sampel kefir ulangan 1



Sampel kefir ulangan 2



Sampel kefir ulangan 3

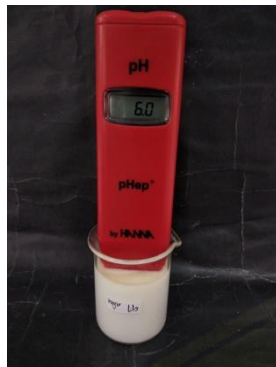
8. Analisis nilai pH



Susu ulangan 1



Susu ulangan 2



Susu ulangan 3



Starter ulangan 1



Starter ulangan 2



Starter ulangan 3



Kefir ulangan 1



Kefir ulangan 2



Kefir ulangan 3



9. Analisis aktivitas antioksidan



Sampel



Sampel + DPPH



DPPH

10. Uji organoleptik



Wadah sampel uji organoleptik



Ruang pengujian organoleptik



Sampel

Dibagikan kepada peserta 9 sampel Koffi Ekstrik Cusuma, saudara diminta untuk memberikan penilaian parameter warna, aroma, rasa, kehalusan (viskositas), dan penentuan kehalusan berdasarkan keviskosan.

**INTRUKSI**

1. Penilaian dilakukan secara berurutan dari kiri ke kanan
2. Penilaian dilakukan dengan melingkar skor pada masing-masing kode sampel
3. Penilaian parameter warna dilakukan dengan melihat loncatan warna pada sampel secara bergantian dengan menggunakan sendok masing-masing sampel, kemudian diberi skor penilaian sesuai dengan keviskosan
4. Penilaian parameter aroma dilakukan dengan melihat menghirup aroma pada sampel secara bergantian, kemudian diberi skor penilaian sesuai dengan keviskosan
5. Penilaian parameter rasa dilakukan dengan merasa sampel secara bergantian, kemudian diberi skor penilaian sesuai dengan keviskosan
6. Penilaian parameter kehalusan (viskositas) dilakukan dengan mencocoli sampel secara bergantian dengan menggunakan sendok masing-masing sampel, kemudian diberi skor penilaian sesuai dengan keviskosan
7. Penilaian parameter kehalusan dilakukan dengan merasa secara kehalusan dari semua parameter, kemudian diberi skor penilaian sesuai dengan keviskosan
8. Sebelum melakukan penilaian parameter rasa maka saudara diminta untuk berharus terlebih dahulu dengan air yang disediakan

Terdapat sudah tersedia lembar pengisian dan melakukan penilaian terhadap sampel kaffi ekstrik cusuma.

Nama :		Tanggal :						
Jenis kelamin :		Usia :						
WARNA								
Code 147	Code 137	Code 207	Code 286	Code 832	Code 120	Code 218	Code 951	Code 748
1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	2	2	2	2	2	2	2	2
3	3	3	3	3	3	3	3	3
4	4	4	4	4	4	4	4	4

Kuisisioner

