

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan Penelitian ialah menggunakan pola faktorial 4 x 4 dalam Rancangan Acak Lengkap dan ulangan yang dilakukan sebanyak empat kali

Faktor pertama: konsentrasi sukrosa (A):

A1 : Konsentrasi sukrosa 0%

A2 : Konsentrasi sukrosa 6%

A3 : Konsentrasi sukrosa 8%

A4 : Konsentrasi sukrosa 10%

Faktor kedua: konsentrasi sari kulit (L):

L1 : Perbandingan air dengan sari kulit pisang 1:1 (100 mL air : 100 mL sari kulit pisang)

L2 : Perbandingan air dengan sari kulit pisang 1:2 (67 mL air : 133 mL sari kulit pisang)

L3 : Perbandingan air dengan sari kulit pisang 1:3 (50 mL air : 150 mL sari kulit pisang)

L4 : Perbandingan air dengan sari kulit pisang 1:4 (40 mL air : 160 mL sari kulit pisang)

Berdasarkan kedua faktor tersebut diperoleh kombinasi perlakuan sebagai berikut:

A \ L	L1	L2	L3	L4
A1	A1L1	A1L2	A1L3	A1L4
A2	A2L1	A2L2	A2L3	A2L4
A3	A3L1	A3L2	A3L3	A3L4
A4	A4L1	A4L2	A4L3	A4L4

Keterangan :

1. A1L1 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 0% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:1 (100 mL air : 100 mL sari kulit pisang)
2. A1L2 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 0% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:2 (67 mL air : 133 mL sari kulit pisang)
3. A1L3 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 0% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:3 (50 mL air : 150 mL sari kulit pisang)
4. A1L4 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 0% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:4 (40 mL air : 160 mL sari kulit pisang)
5. A2L1 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 6% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:1 (100 mL air : 100 mL sari kulit pisang)
6. A2L2 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 6% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:2 (67 mL air : 133 mL sari kulit pisang)
7. A2L3 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 6% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:3 (50 mL air : 150 mL sari kulit pisang)
8. A2L4 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 6% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:4 (40 mL air : 160 mL sari kulit pisang)
9. A3L1 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 8% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:1 (100 mL air : 100 mL sari kulit pisang)

10. A3L2 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 8% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:2 (67 mL air : 133 mL sari kulit pisang)
11. A3L3 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 8% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:3 (50 mL air : 150 mL sari kulit pisang)
12. A3L4 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 8% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:4 (40 mL air : 160 mL sari kulit pisang)
13. A4L1 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 10% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:1 (100 mL air : 100 mL sari kulit pisang)
14. A4L2 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 10% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:2 (67 mL air : 133 mL sari kulit pisang)
15. A4L3 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 10% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:3 (50 mL air : 150 mL sari kulit pisang)
16. A4L4 : Kombinasi Konsentrasi sukrosa 10% dan konsentrasi sari kulit pisang 1:4 (40 mL air : 160 mL sari kulit pisang)

3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini ialah terdiri 2 macam meliputi:

1. Variabel bebas dalam penelitian ini ialah konsentrasi sukrosa dengan 4 perlakuan yakni 0%, 6%, 8% dan 10% dan konsentrasi sari kulit buah dengan perlakuan 1:1, 1:2, 1:3, 1:4.
2. Variabel terikat dalam pembuatan minuman sinbiotik dari sari kulit pisang ini ialah: Sifat kimia, terdiri dari total keasaman, pH, serat kasar, Sifat fisika, terdiri dari warna, aroma, rasa dan tekstur, Mikrobiologi : total koloni bakteri.

3.3 Waktu dan Tempat penelitian

Pengambilan data dilaksanakan pada bulan Juni 2014. Dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Biokimia Juras Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah pipet ukur, tip, hot plate, beacker glass, pengaduk, gelas ukur, pisau, gunting, timbangan analitik, water bath, bunsen, autoclave, jarum ose, tabung reaksi, mikropipet, inkubator, refrigator, labu ukur, labu takar, blender, rotary shaker, pH meter, kompor, panci, bak plastik, blender.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan ialah kulit pisang kepok yang sudah masak, Bakteri asam laktat campuran (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) dari perusahaan Rumah Yoghurt Junrejo Batu Malang, susu skim, sukrosa, MRSA, air, alkohol 70%, etanol 80%, indikator fenolftelin, NaOH, H₂SO₄.

3.5 Langkah kerja

3.5.1 Pembuatan stater

1. Disterilisasi alat-alat yang akan digunakan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C dan tekanan 15 psi selama 15 menit
2. Dibuat media MRSA dan disterilisasi

3. Dibuat stok kultur bakteri dari biakan isolat campuran *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* dalam MRSA diposisikan miring dalam tabung sebanyak 100 mL dengan cara digoreskan dengan jarum ose
4. Diinkubasi kultur selama 48 jam pada 37°C dalam inkubator
5. Disiapkan kulit buah pisang, kulit buah diblanching 80°C selama 3 menit kemudian diiris kecil-kecil ditambang air perbandingan 40% dihaluskan dengan blender dan disaring
6. Dipindah hasil inkubasi kultur bakteri kedalam 1000 mL media steril sari kulit pisang

3.5.2 Pembuatan minuman sinbiotik sari kulit pisang

1. Sterilisasi alat-alat yang akan digunakan
2. Disiapkan sari kulit buah pisang murni 4000 ml, dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing kelompok 700 ml dan dilakukan perbandingan air dengan sari kulit buah pisang murni dalam proporsi 1:1, 1:2, 1:3, 1:4
3. Ditambahkan susu skim 6% (b/v)
4. Ditambahkan sukrosa dengan variasi 0%, 6%, 8% dan 10% dari b/v dalam masing-masing 4 kelompok
5. Dihomogenkan dengan pengaduk selama 15 menit dengan stirer dan dipanaskan 85°C selama 15 menit dan pendinginan hingga suhu 37°C
6. Ditambahkan kultur stater sebanyak 2% dari b/v secara aseptis
7. Diinkubasi pada suhu ruang 37°C selama 24 jam
8. Dianalisa parameter fisika dan kimia

3.5.3 Uji total keasaman

Nilai keasaman dihitung dengan metode Mann's acid Test (Hadiwiyoto, 1983). Sampel dimasukkan ke Erlenmeyer sebanyak 10 ml ditambahkan lima tetes indikaor fenolftalin 1 % kemudian ditirasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N sampai berwarna pink. Jumlah larutan NaOH 0,1 N yang dibutuhkan untuk mentitrasi sample dicatat.

Rumus Total Asam (%):

$$\text{Total Asam (\%)} = \frac{\text{mL NaOH} \times \text{N NaOH} \times 90 \times 10^{-3}}{\text{Volume sampel}} \times 100\%$$

Keterangan :

N NaOH = 0,0981 N

BM NaOH = 10^{-3}

3.5.4 Uji pH

Tahap-tahap penetapan pH secara umum adalah sebagai berikut (Apriantono, 1989): (dilakukan pada pH meter yang telah dikalibrasi)

1. Diukur suhu sampel, set pengatur suhu pH meter pada suhu terukur.
2. Dinyalakan pH meter, biarkan sampai stabil (15-30 menit).
3. Dibiilas elektroda dengan aquades (jika menggunakan aquades, keringkan elektroda dengan kertas tissue).
4. Dimasukkan elektroda pada larutan sampel, set pengukur pH.
5. Dibiarkan elektroda tercelup beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil.
6. Dicatat pH sampel.

3.5.5 Analisa Total Koloni bakteri asam laktat

Pada interval tertentu dilakukan analisis jumlah bakteri. Penentuan jumlah sel minuman fermentasi secara kuantitatif dilakukan dengan perhitungan bakteri tidak langsung menggunakan metode hitungan cawan atau Total Plate Count (Yutono, et al., 1983). Pada penentuan jumlah sel dengan metode hitungan cawan ini dilakukan seri pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-7} Suspensi yang ditumbuhkan pada media MRS agar adalah pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} dan 10^{-7} sebanyak 0,1 ml dengan cara taburan permukaan (surface plate method).

3.5.6 Uji Organoleptik

Uji organoleptik bertujuan untuk mengetahui tingkat penerimaan konsumen terhadap minuman sinbiotik. Uji organoleptik diujikan pada panelis sebanyak 15 orang dengan taraf 5 tingkat, yakni, pada taraf 1 (sangat tidak suka), taraf 2 (tidak suka), 3 (biasa), 4 (suka), 5 (sangat suka). Penilaian organoleptik ini mencakup warna produk, rasa, aroma, dan tekstur produk. (Widowati, 2002)

Tahapan dalam pengujian parameter fisika (produk, rasa, aroma dan tekstur) ialah sebagai berikut:

1. Tahap persiapan
 - a. Disiapkan panelis 15 orang yang suka dengan minuman yoghurt
 - b. Disiapkan bahan yang akan diujikan
 - c. Bahan penguji diletakkan dalam wadah plastik kecil
2. Tahap pelaksanaan
 - a. Dijelaskan kepada panelis tentang prosedur pengujian

- b. Panelis disilahkan mencicipi rasa, mencium aroma, merasakan tekstur dan melihat warna dari produk
- c. Uji organoleptik menggunakan pilihan nilai bentuk skala 4
- d. Panelis mengisi angket yang telah tersedia

3.5.7 Analisis Data

Data yang diperoleh hasil pengujian secara kimia dan mikrobiologi dengan menggunakan ANOVA dua jalur dan untuk mengetahui kombinasi perlakuan terbaik, dilanjutkan uji BNJ (0,05) (beda nyata Jujur) (Idris, 1994).

