

IV. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian dilakukan pada bulan Januari sampai Maret 1994.

B. Bahan dan Alat

Bahan - bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Bakteri *Streptococcus thermophilus*.
2. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus*.
3. Susu sapi segar.
4. Gula pasir (Sukrosa).
5. Larutan NaOH 0, 1 N.
6. Aquadest.
7. Larutan Phenolphthalein 1 %.
8. Medium Nutreïn Agar (NA).
9. Air pepton 0,1 %.

Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Botol.
2. Erlenmeyer.
3. Cawan petri.
4. pH meter.
5. Pipet.

6. Inkubator.
7. Stirrer dan pemanas.
8. Almari es.
9. Timbangan.
10. Tabung titrasi dan statif.
11. Aluminium foil.
12. Gelas ukur 100 ml dan 1000 ml.

C. Cara Kerja

1. Pembuatan Starter

Starter yang digunakan sebagai inokulum dalam penelitian ini adalah dua species biakan murni dalam agar miring NA yaitu *S. thermophilus* dan *L. bulgaricus* yang berumur 2 x 24 jam. Disiapkan 2 erlenmeyer yang masing - masing diisi dengan susu yang telah dipasteurisasi sebanyak 150 ml. Kemudian diinokulasi masing - masing dengan 1 - 2 ose biakan murni tersebut. dan diinkubasi 24 jam pada suhu kamar.

2. Jumlah total bakteri dari starter.

Jumlah total bakteri dari starter ini dihitung dengan menggunakan TPC, langkah - langkahnya yaitu :

a. Dibuat suatu seri pengenceran dari starter dengan kelipatan 10 sebagai berikut :

a.1. Diambil 1 ml stater, dimasukkan kedalam 9 ml air pepton 0,1 % (pengenceran 10^{-1}).

a.2. Diinokulasi 1 ml air pepton 0,1 % (pengenceran 10^{-2}), dengan demikian

seterusnya sampai pengenceran yang dikehendaki.

- b. Membuat medium NA (Nutrien Agar), medium diencerkan dan disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit dengan temperatur 121°C dan kemudian didinginkan.
- c. Dari suspensi pengenceran yang dikehendaki diambil 1 ml dengan pipet ukur steril secara aseptik; dimasukkan di dalam cawan petri. Tiap pengenceran dengan dua cawan petri (duplo) kemudian cawan tersebut dituangi medium NA yang telah agak dingin lalu digoyang dengan hati-hati, agar suspensi bahan bercampur merata dengan medium.
- d. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam atau 48 jam.
- e. Sebagai kontrol, dibuat medium NA dengan air pepton 0,1 % yang telah disterilkan.
- f. Jumlah koloni yang tumbuh dari masing-masing pengenceran dihitung. Kemudian dengan rumus-rumus yang ada akan didapat jumlah total bakteri.

(Hendarko Sriani dan Kusdiyanti, 1992)

3. Pembuatan Yoghurt.

- a. Susu sebanyak 3,2 liter dipasteurisasi pada suhu $85,5^{\circ}\text{C}$ selama 5 - 10 menit dan dibagi-bagi dalam 16 botol steril (@200 ml) yang terbagi dalam 4 kelompok :

- Kel. 1 tidak ditambah dengan gula (0 %).
- Kel. 2 ditambahkan gula dengan kadar 4 %.
- Kel. 3 ditambahkan gula dengan kadar 8 %.
- Kel. 4 ditambahkan gula dengan kadar 12 %.

Kemudian dilakukan pengadukan sehingga menjadi homogen.

- b. Susu yang telah dipasteurisasi dan ditambah gula (a) didinginkan sehingga temperaturnya + 43°C.
 - c. Susu tersebut (b) diinokulasi dengan starter dari kultur *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus* dengan perbandingan 1 : 1.
 - d. Masing - masing botol ditutup dengan aluminium foil.
 - e. Selanjutnya tiap kelompok (@ 4 botol) diinkubasi pada temperatur 43°C dengan lama waktu yang berbeda yaitu 4 jam, 6 jam, 8 jam dan 10 jam.
 - f. Pekerjaan a sampai e diulang sebanyak 3 kali.
4. Analisa kadar asam (Hadiwiyoto, 1982).

Kadar asam dihitung dengan menggunakan metode "MANN'S ACID TEST" yaitu sebagai berikut : sebanyak 17,5 ml substrat fermentasi dimasukkan kedalam erlenmeyer, diencerkan dengan aquadest dan ditambah dengan 2 - 3 tetes larutan phenolphthalein 1 % sebagai indikator, kemudian dititrasi berubah menjadi kemerah - merahan. Total asam (laktat)

dihitung sebagai persen dengan rumus :

$$\text{Kadar asam (laktat)} = \frac{\text{ml NaOH} \times 0,009 \times 100 \%}{\text{ml sampel}}$$

5. Pengukuran pH.

pH substrat fermentasi diukur dengan menggunakan pH meter, sebagai berikut :

- a. pH meter dihidupkan dengan memutar tombol kearah ON dan bagian kepala elektrode dicelupkan ke substrat fermentasi, dibiarkan beberapa lama agar angka pH konstan.
- b. Kemudian dicatat pH yang tertera.

6. Uji cita rasa yoghurt (Soekarto, 1985).

Pengujian cita rasa yoghurt dilakukan dengan uji organoleptik yaitu uji kesukaan atau hedonik, langkah - langkahnya sebagai berikut :

Panelis sebanyak 25 orang, satu per satu merasakan yoghurt yang telah jadi. Kemudian panelis dimintakan tanggapan pribadinya tentang kesukaan atau sebaliknya ketidaksukaan dengan tingkat kesukaannya yaitu :

Skala Hedonik	Skala Numerik
Amat sangat suka	6
Sangat suka	5
Suka	4
Agak suka	3
Netral	2
Tidak suka	1

D. Rancangan Percobaan dan Metode Analisis.

Dalam penelitian ini digunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAKF). Percobaan ini diulang 3 kali. Sedang faktor yang digunakan dalam percobaan ini meliputi :

1. Kadar gula dengan 4 tingkat :
 - a. G_0 : Tanpa penambahan gula.
 - b. G_1 : Penambahan gula dengan kadar 4 %.
 - c. G_2 : Penambahan gula dengan kadar 8 %.
 - d. G_3 : Penambahan gula dengan kadar 12 %.
2. Lama waktu inkubasi dengan 4 tingkat :
 - a. W_1 : Waktu inkubasi selama 4 jam.
 - b. W_2 : Waktu inkubasi selama 6 jam.
 - c. W_3 : Waktu inkubasi selama 8 jam.
 - d. W_4 : Waktu inkubasi selama 10 jam.

Rancangan percobaan ini dapat digambarkan sebagai berikut :

Kelompok I				Kelompok II			
G0W1	G1W1	G2W1	G3W1	G0W1	G1W1	G2W1	G3W1
G0W2	G1W2	G2W2	G3W2	G0W2	G1W2	G2W2	G3W2
G0W3	G1W3	G2W3	G3W3	G0W3	G1W3	G2W3	G3W3
G0W4	G1W4	G2W4	G3W4	G0W4	G1W4	G2W4	G3W4

Kelompok III

G0w1	G1w1	G2w1	G3w1
G0w2	G1w2	G2w2	G3w2
G0w3	G1w3	G2w3	G3w3
G0w4	G1w4	G2w4	G3w4

Kemudian data yang telah diperoleh selanjutnya dianalisis dengan menggunakan Analisa Sidik Ragam, apabila menunjukkan hasil yang nyata maka dilanjutkan dengan uji lanjutan yaitu Uji Beda Nyata Jujur dan Analisa Regresi.

