

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan April - Juli 2013. Penelitian dan Pengujian parameter dilakukan di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian serta Laboratorium Fisiologi dan Biokimia Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro Semarang.

3.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu segar 10 liter, kuning telur, krim, gula, *Carboxyl Methyl Cellulose/CMC* (penstabil), ubi jalar ungu, kultur starter (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus termophilus*, dan *Lactobacillus acidophilus*), *de Man Ragosa and Sharpe* (MRS), alkohol 70%, NaOH 0,1N, agar, larutan fenolftalein 1% dan spirtus.

Peralatan yang digunakan antara lain *ice cream maker*, *mixer*, *refrigerator*, *freezer*, blender, inkubator, timbangan elektrik, termometer, *autoclave*, *stirrer*, oven, cawan petri, kapas, aluminium foil, *colony counter* dan lembar kuisioner.

3.2. Metode

Metode yang digunakan pada penelitian pembuatan es krim sinbiotik yang dibuat dari kombinasi susu segar dan ubi jalar ungu adalah menggunakan metode penelitian analisa di laboratorium dan uji organoleptik dengan menghadirkan panelis agak terlatih sejumlah 25 orang.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL), dengan 4 perlakuan dan 5 kali pengulangan. Perlakuan dapat dituliskan sebagai berikut:

T_0 = Komposisi adonan es krim ekonomi dengan proporsi kadar lemak 10% dan BPTL 12,5% + Skim 7,98 gram

T_1 = Komposisi adonan es krim lunak dengan proporsi kadar lemak 5% dan BPTL 12,5% + Ubi Jalar 74,19 gram

T_2 = Komposisi adonan es krim ekonomi dengan proporsi kadar lemak 10% dan BPTL 12,5% + Ubi Jalar 47,39 gram

T_3 = Komposisi adonan es krim premium dengan proporsi kadar lemak 15% dan BPTL 12,5% + Ubi Jalar 15,74 gram

Model matematika yang digunakan adalah:

$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Keterangan : X_{ij} : Angka pengamatan dari perlakuan ke-I (T_0, T_1, T_2, T_3) dan ulangan ke-j (1,2,3,4,5)

μ : nilai tengah seluruh perlakuan

α_i : Pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} : Pengaruh galat yang timbul secara acak pada perlakuan ke-i dan ulangan ke-j

i : Jumlah perlakuan es krim sinbiotik ubi jalar ungu (T_0, T_1, T_2, T_3)

j : Jumlah ulangan es krim sinbiotik ubi jalar ungu (1,2,3,4,5)

Hipotesis yang diujikan dalam penelitian ini adalah dugaan adanya pengaruh berbagai komposisi adonan es krim terhadap karakteristik mikrobiologi (total bakteri asam laktat dan total asam).

H_0 : Tidak terdapat pengaruh berbagai komposisi adonan es krim sinbiotik dari susu segar yang dikombinasi dengan ubi jalar ungu terhadap karakteristik mikrobiologi yaitu total bakteri asam laktat, total asam dan tekstur

H_1 : Ada pengaruh berbagai komposisi adonan es krim sinbiotik dari susu segar yang dikombinasi dengan ubi jalar ungu terhadap karakteristik mikrobiologi yaitu total bakteri asam laktat, total asam dan tekstur

Kriteria pengujian analisis statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

$F_{hitung} < F_{tabel}$, H_0 diterima dan H_1 ditolak

$F_{hitung} \geq F_{tabel}$, H_0 ditolak dan H_1 diterima

3.2.2. Prosedur pelaksanaan penelitian

Prosedur pelaksanaan penelitian meliputi tahap persiapan, penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Prosedur penelitian dibagi dengan tiga tahapan agar penelitian bisa berjalan dengan baik.

Tahap persiapan meliputi pengujian kadar air, kadar lemak dan bahan kering ubi jalar selanjutnya dilakukan perhitungan komposisi adonan es krim baik untuk es krim ekonomi, lunak dan premium serta melakukan pengecekan semua peralatan, pembersihan, sterilisasi alat, menyiapkan semua bahan dan pembuatan kultur.

Tabel 2. Komposisi Adonan Berbagai Jenis Es Krim

Komponen	Komposisi Adonan			
	T0 (Es Krim jenis Ekonomi + Skim)	T1 (Es Krim jenis lunak + ubi jalar)	T2 (Es Krim jenis Ekonomi + Ubi jalar)	T3 (Es Krim jenis Premium + Ubi jalar)
Susu Segar (ml)	261,67	248,6	214,02	200
Ubi jalar (g)	-	74,19	47,39	15,74
Skim (g)	7,98	-	-	-
Krim (g)	80,35	27,81	81,11	134,26
Pemanis (g)	48	48	48	48
Penstabil (g)	2	2	2	2

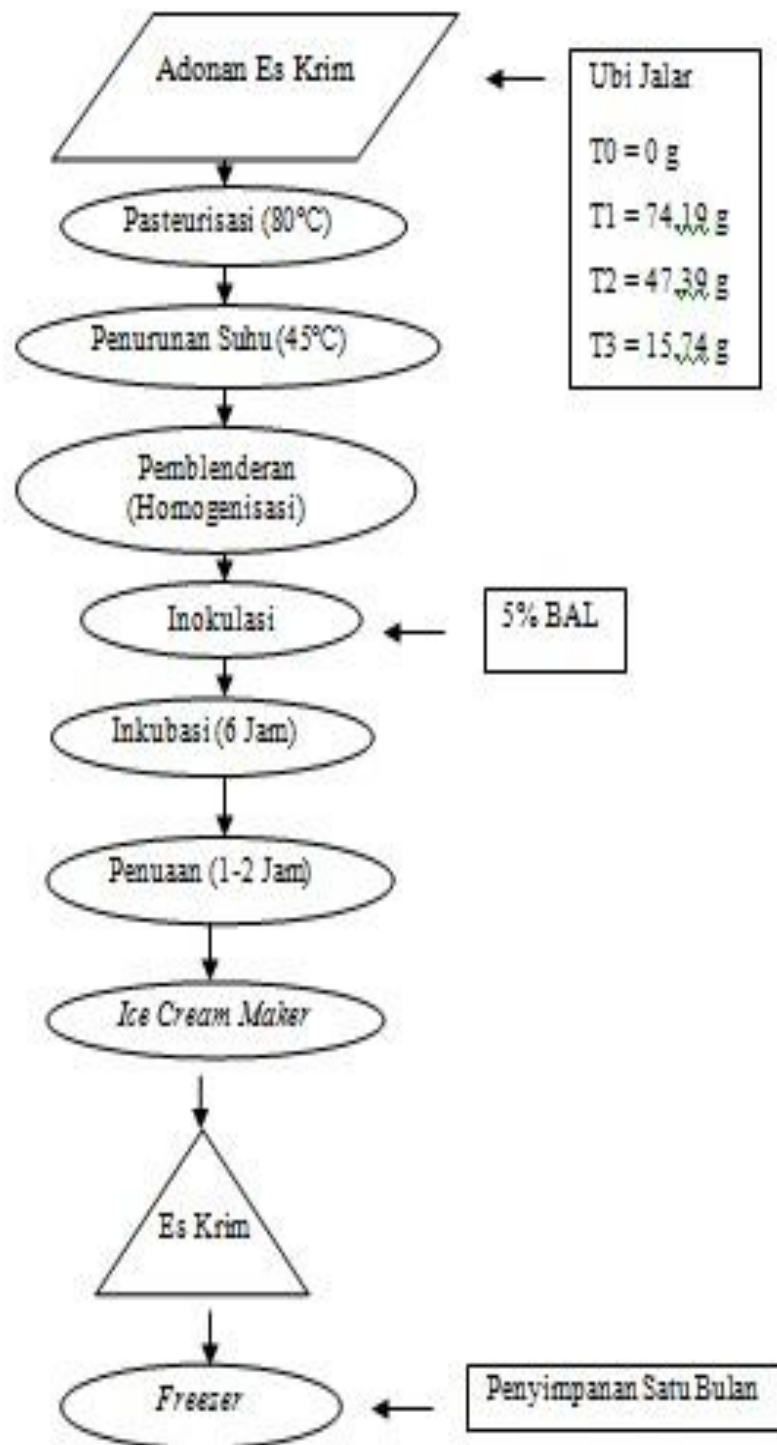
Penelitian pendahuluan meliputi tahap pembuatan es krim sinbiotik dengan komposisi sesuai perhitungan yang dapat dilihat pada Lampiran 1. Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk mengoptimalkan perhitungan komposisi adonan es krim sinbiotik. Komposisi adonan es krim untuk masing-masing pelakuan sesuai dengan tabel 2. Penelitian pendahuluan ini juga bertujuan untuk mengoptimalkan starter pada adonan es krim sinbiotik dengan menghentikan proses inkubasi pada jam ke-6. Inkubasi pada jam ke-6 telah menghasilkan pH untuk T0, T1, T2 dan T3 berturut-turut adalah 5,16; 5,65; 5,36 dan 5,21. Total asam yang dihasilkan pada inkubasi pada jam ke-6 sebesar 0,648% untuk T0, 0,47% untuk T1, 0,567% untuk T2 dan 0,603%. Proses inkubasi dihentikan pada jam ke-6 sebab pH dan total asam telah memenuhi standar kualitas es krim sinbiotik.

Tahapan pada penelitian utama yaitu pembuatan es krim sinbiotik dengan menerapkan perlakuan sesuai dengan rancangan percobaan. Komposisi adonan untuk setiap unit percobaan sesuai pada Lampiran 1. Setelah itu dilakukan

pengujian terhadap variabel yang diteliti dan data yang diperoleh kemudian dianalisis.

3.2.3. Pembuatan es krim sinbiotik

Pembuatan es krim sinbiotik mengacu pada Legowo *et al.* (2009) yaitu pencampuran bahan, pasteurisasi, pemblenderan, pendinginan, inokulasi, pemeraman, pembekuan dan penyimpanan yang dapat dilihat pada Ilustrasi 1. Pembuatan Es krim sinbiotik dimulai dari adonan es krim yang terdiri dari susu segar, kuning telur, krim, *Carboxyl Methyl Cellulose* (CMC), gula dan ubi jalar yang telah dikukus dan dihaluskan kemudian dicampur hingga homogen. Adonan tersebut dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 15 detik lalu didinginkan hingga suhu 45°C. Adonan yang telah diturunkan suhunya tersebut kemudian diblender agar homogen. Adonan es krim yang telah homogen kemudian diinokulasi dengan ditambahkan kultur starter sebanyak 5% (v/v) dan wadah ditutup dengan aluminium foil untuk menciptakan kondisi anaerob dan setelah itu diinkubasi. Proses inkubasi dihentikan pada jam ke-6. Selanjutnya adonan dimasukkan ke dalam *refrigerator* untuk penuaan selama 1 - 2 jam, lalu adonan es krim dimasukkan ke dalam *ice cream maker* selama 20 menit dan es krim yang sudah jadi dimasukkan ke dalam *freezer* untuk pembekuan.



Ilustrasi 1. Diagram Alir Pembuatan Es Krim Simbiotik Legowo *et al.*, 2009) yang Dimodifikasi

3.2.4. Pengujian variabel penelitian

Pengujian variabel penelitian yang dilaksanakan meliputi pengujian total bakteri asam laktat, pengujian total asam dan pengujian tekstur es krim. Ketiga variabel penelitian tersebut sebagai indikator kualitas es krim sinbiotik.

Metode hitung cawan (*total plate count*) digunakan untuk menentukan total BAL menurut Fardiaz (1993) perhitungan total BAL dilakukan dengan menghitung total BAL yang tumbuh pada media biakan *de Man Rogosa Sharpe* (MRS). Perhitungan total bakteri asam laktat diawali dengan sampel diencerkan dengan perbandingan 1:9. Pengenceran dilakukan dari $10^1 - 10^7$ pengenceran pertama dilakukan dengan 1 ml sampel dimasukkan ke dalam 9 ml aquades steril, pengenceran ke dua dan seterusnya dilakukan dengan cara yang sama seperti pengenceran pertama.

Pencawanan dilakukan dengan menggunakan media biakan MRS. Pembuatan MRS agar 100 ml dilakukan dengan cara melarutkan 5,22 g MRS Broth dan 2 g agar ke dalam 100 ml aquades, kemudian larutan MRS agar disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C . Pencawanan dilakukan dengan cara duplo dari pengenceran $10^5 - 10^7$. Kemudian di dalam cawan tersebut dituangkan kultur bakteri yang telah diencerkan lalu dituangkan medium MRS agar yang sebelumnya telah didinginkan sampai suhu $47 - 50^{\circ}\text{C}$ sebanyak 10ml. Setelah dituangkan, cawan petri digerakan diatas meja dengan gerakan seperti angka 8. Setelah memadat cawan tersebut diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam kemudian dilakukan dengan perhitungan jumlah mikroba

dengan *colony counter* (CFU/ml), rumus perhitungan total bakteri (Fardiaz, 1993) adalah :

Pengujian keasaman dilakukan dengan menghitung kadar asam setara asam laktat dengan metode Man's Acid Test. Es krim yang akan diukur keasamannya diambil sampelnya sebanyak 10ml untuk dititrasi. Sebelum dititrasi sampel ditetesi penolptalein 1% sebanyak 2 tetes, setelah itu sampel dititrasi dengan NaOH 0,1N sampai terlihat warna merah muda konstan. Menurut Hadiwiyoto (1994), kadar asam dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar asam} = \frac{V1 \times N \times B \times P}{V2 \times 1000} \times 100\%$$

V1 = Volume NaOH (ml)

B = BM Asam Laktat (90)

N = Normalitas NaOH

P = Faktor Pengenceran

V2 = Volume es krim sinbiotik

Pengujian tekstur es krim sinbiotik dilakukan dengan panelis. Panelis diminta tanggapannya tentang sampel yang diuji secara organoleptik, yaitu tekstur dari es krim dan mengemukakan tingkat penilaiannya. Panelis yang digunakan adalah panelis agak terlatih. Jumlah panelis agak terlatih berkisar antara 15 - 25 orang (Soekarto, 2000). Kisaran skor yang diberikan adalah 1 – 4 Panelis akan

menerima formulir uji tekstur dan menuliskan hasil penilaian terhadap sampel es krim dalam formulir tersebut.

Tabel 3. Formulir Pengujian Tekstur Es Krim Sinbiotik

Skor	Tekstur Es krim Sinbiotik
1	Tidak lembut
2	Agak lembut
3	Lembut
4	Sangat lembut

3.2.5. Analisis data

Hasil tabulasi data kemudian dianalisis dengan sidik ragam pada galat 5% untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Apabila ada pengaruh nyata pada total bakteri asam laktat dan terdapat pengaruh nyata pada total asam es krim sinbiotik maka data hasil pengamatan total asam dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan (Sugandi dan Sugiarto, 1993), sedangkan untuk pengujian tekstur es krim diuji menggunakan analisis statistik non parametrik Kruskal Wallis untuk mengetahui pengaruh perlakuan dan jika data hasil pengamatan terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan Uji Mann-Whitney.