

BAB III

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan September – Desember 2015 di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro dan Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu segar yang berasal dari peternakan yang berada di Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro Semarang, kultur starter bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan bakteri *Streptococcus thermophilus* dalam bentuk bubuk dan karagenan yang berasal dari Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan dan buah alpukat segar. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator, plastik wrap, timbangan elektrik, nampan aluminium, *mixer*, *cabinet dryer* dengan kisaran suhu yang dapat diatur dari rentang 40 sampai 80°C, *juicer*, pipa *ostwald*, gelas beker, *stopwacth*, pH meter, autoclave, refrigerator, termometer, gelas ukur, tabung erlenmeyer, tabung reaksi, aluminium foil, 3M™ Petrifilm Aerobic Count Plates, paper clip, plastik vakum, mikro pipet, mikro tube, alat penepung.

3.2. Metode

Beberapa tahapan penelitian ini terdiri dari pembuatan starter yogurt, pembuatan ekstrak buah alpukat, pembuatan yogurt, pengeringan yogurt dan rehidrasi yogurt bubuk.

3.2.1. Pembuatan Starter Yogurt

Langkah persiapan untuk membuat starter yogurt adalah dengan melarutkan 3,5 g bibit yogurt (dalam bentuk serbuk) dengan 25 ml air steril di dalam erlemeyer. Selanjutnya diinkubasi selama 12 jam pada suhu 41°C. Setelah itu ditambahkan susu skim UHT sebanyak 500 ml dan diinkubasi lagi selama 6 jam pada suhu 41°C untuk mendapatkan starter F1. Kemudian starter F1 diambil 25 ml dan dicampur dengan 500 ml susu skim UHT lalu diinkubasi selama 6 jam pada suhu 41°C untuk mendapatkan starter F2. Langkah selanjutnya adalah pembuatan starter kerja (bulk starter) dengan cara menginokulasi 30 ml starter F2 ke dalam 600 ml susu skim UHT dan diinkubasi selama 6 jam pada suhu 41°C (Hartati, 2011).

3.2.2. Pembuatan Ekstrak Buah Alpukat

Pembuatan ekstrak buah alpukat dengan cara melakukan pencucian buah alpukat dengan air mengalir dan kemudian dikupas kulitnya. Daging buah alpukat dipotong lalu ditimbang sebanyak 250 g untuk dimasukkan ke dalam alat *juicer*. Cairan yang dihasilkan dari alat tersebut dinamakan ekstrak buah alpukat yang kemudian disimpan dalam *freezer* pada suhu -20°C.

3.2.3 Pembuatan Yogurt

Pembuatan yogurt bubuk dilakukan dengan susu segar 500 ml dipasteurisasi pada suhu 72-80°C selama 15 menit, kemudian didinginkan

hingga suhu 43°C selanjutnya memasukkan starter sebanyak 5 % (v/v) kemudian diinkubasi selama 6 jam pada suhu 42°C (Legowo *et al.*, 2009). Penambahan ekstrak buah alpukat sebanyak 5 % dari volume yogurt dilakukan pada jam ke-3 kemudian diinkubasi lagi selama 3 jam pada 42°C sehingga total inkubasi yogurt adalah 6 jam. Setelah inkubasi selesai yogurt disimpan dalam lemari pendingin selama 15 menit untuk menghentikan proses fermentasi. Kemudian yogurt ditambahkan karagenan dengan variasi konsentrasi 1, 2, dan 3 % (b/v), kemudian dihomogenisasi dengan cara pengadukan manual secara perlahan-lahan selama 2 menit. Mengenai pembuatan yogurt bubuk pada penambahan karagenan, sebelum ditambahkan karagenan terlebih dahulu disterilisasi menggunakan sinar ultraviolet selama 5 jam kemudian ditambahkan kedalam yogurt segar.

3.2.4. Pengeringan Yogurt

Pengeringan yogurt dilakukan setelah yogurt selesai ditambahkan karagenan dan dihomogenisasi. Pengeringan yogurt menggunakan *cabinet dryer*. Yogurt dituang ke dalam nampan *stainless steel* steril dengan luas penampang 30X28 cm, dengan luas penampang yang lebar diharapkan proses pengeringan dapat berlangsung lebih cepat. Kemudian nampan yang berisi yogurt dimasukkan ke dalam *cabinet dryer* dengan menggunakan suhu 50°C selama ±24 jam. Yogurt yang sudah kering dengan kadar air yang berkurang kemudian yogurt diambil dari nampan lalu disimpan dalam kemasan yang kedap udara untuk menjaga yogurt

tetap kering. Selanjutnya dilakukan proses penepungan dengan alat penepung *Beaterbar miller* Maksindo FCT-Z300 selama 45 detik. Yogurt bubuk yang terbentuk kemudian dikemas vakum dan disimpan dilemari pendingin.

3.2.5. Rehidrasi Yogurt Bubuk

Proses rehidrasi yogurt bubuk dilakukan dengan cara menimbang yogurt bubuk sebanyak 10 g kemudian ditambahkan aquades sebanyak 90 ml lalu diaduk sampai larut sehingga didapatkan larutan 100 ml *rehydrated* yogurt. Larutan yang terbentuk seperti yogurt *drink* dan siap digunakan untuk pengujian. Prinsip rehidrasi adalah mengembalikan kebentuk semula tanpa mengurangi atau menambah jumlah padatan dan zat gizi. Metode pembuatan yogurt bubuk secara sistematis dapat dilihat di Lampiran 1.

3.3. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan pola Split Plot yang terdiri dari main plot yaitu penambahan alpukat dan tanpa penambahan alpukat dan sub plot yaitu perlakuan penambahan karagenan 1, 2, 3% (b/v). Masing-masing perlakuan diulangi sebanyak 4 kali ulangan sehingga terdapat 24 unit percobaan.

Model matematika rancangan percobaan yang digunakan adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \tau I + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} : hasil pengamatan dari perlakuan dan ulangan ke-j
 μ : nilai tengah seluruh perlakuan
 τ_i : pengaruh perlakuan ke-i
 ϵ_{ij} : pengaruh galat yang timbul pada perlakuan ke-I dan ulangan ke-j
 i : perlakuan (1,2,3,4,5,6)
 j : ulangan (1,2,3,4)

Hipotesis yang digunakan dalam pengujian viskositas, pH, kestabilan emulsi dan viabilitas BAL tersaji dibawah ini :

H_0 = Tidak terdapat pengaruh perlakuan terhadap viskositas, pH, kestabilan emulsi dan viabilitas BAL.

H_1 = Terdapat pengaruh perlakuan terhadap viskositas, pH, kestabilan emulsi dan viabilitas BAL.

3.4. Prosedur Pengujian Viskositas

Viskositas yogurt bubuk dapat diukur dengan alat viskosimeter pipa Ostwald dan satuan yang digunakan adalah “centipoise” (cP). Pengujian viskositas dengan menggunakan alat pipa Ostwald. Cara pengujiannya dengan 10 ml larutan yogurt bubuk dimasukkan kedalam pipa Ostwald kemudian dihisap sampai tera di bagian atas kemudian waktu turun tanda tera dihitung sampai bawah dengan *stopwatch* (Sutiah, *et al.*, 2008). Kemudian viskositas yogurt bubuk dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Viskositas} = \frac{(\rho \text{ yogurt}) \times t \text{ yogurt} \times \eta \text{ air}}{(\rho \text{ air}) t \text{ air}}$$

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

Keterangan :

m = massa piknometer kosong (g)
 m' = massa piknometer + yogurt (g)
 v = volume piknometer (ml)

η air	= viskositas air (1,0 cP)
ρ yogurt	= berat jenis yogurt (g/ml)
t yogurt	= waktu alir yogurt (detik)
ρ air	= berat jenis air (1,0 g/ml)
t air	= waktu alir air (detik)

3.5. Prosedur Pengujian Nilai pH

Pengujian nilai pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Cara pengujian pH adalah pH meter dikalibrasi dengan bufer pada pH 4 dan pH 7 terlebih dahulu. Kemudian elektroda pH meter dicelupkan kedalam larutan yogurt sebanyak 10 ml (AOAC, 1995).

3.6. Prosedur Pengujian Kestabilan Emulsi

Pengujian kestabilan emulsi dilakukan dengan 10 ml sampel *rehydrated* yogurt bubuk dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian tabung reaksi diletakkan kedalam rak tabung reaksi supaya posisi tabung reaksi tegak lurus. Selanjutnya stabilitas emulsi diukur dengan mengukur tinggi pemisahan yang terbentuk setiap 1 jam selama 4 jam menggunakan penggaris dengan satuan centimeter. Kemudian dihitung volume pemisahan yang terbentuk dengan menggunakan rumus volume tabung $V=\pi.r^2.t$ (Hartomo dan Widiatmoko, 1993). Hasil perhitungan volume kemudian dikonversi dalam bentuk persen. Yogurt bubuk memiliki kestabilan emulsi yang baik jika setelah direhidrasi tidak cepat terjadi pemisahan (Oxana *et al.*, 2014).

3.7. Prosedur Pengujian Viabilitas Bakteri Asam Laktat (BAL)

Pengujian viabilitas BAL dilakukan dengan menggunakan petrifilm 3M. Pengujian viabilitas BAL dilaksanakan dengan melakukan pengenceran menggunakan test tube steril sebanyak 6 kali pengenceran dengan menggunakan NaCl fisiologis 0,85% steril sebagai pengencer. Pengenceran tersebut menggunakan sampel sebanyak 100 mikroliter yang dilarutkan dengan 900 mikroliter NaCl fisiologis 0,85% steril. Pada pengenceran terakhir diambil 100 mikroliter dan diteteskan pada permukaan petrifilm kemudian permukaan petrifilm ditekan menggunakan penekan plastik berbentuk lempengan bulat yang bertujuan untuk menjaga supaya terfokus pada lingkaran petrifilm. Kemudian petrifilm dimasukkan dalam platik vakum supaya lingkungan menjadi anaerob. Selanjutnya petrifilm diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Perhitungan koloni dengan menghitung zona merah yang muncul pada permukaan petrifilm (Kailasapathy *et al.*, 2007).

3.8. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian dianalisis uji pengaruh menggunakan Anova (*Analysis of Variance*) pada taraf signifikansi 5% dan jika terdapat pengaruh dilanjutkan dengan Uji Wilayah Ganda Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Gomez dan Gomez, 1995).