

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

#### **3.1. Materi Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada Bulan November – Desember 2016 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan untuk pembuatan produk, menguji total bakteri asam laktat, uji nilai pH dan uji organoleptik. Uji kadar serat pangan dilaksanakan di Balai Besar Industri Agro, Bogor.

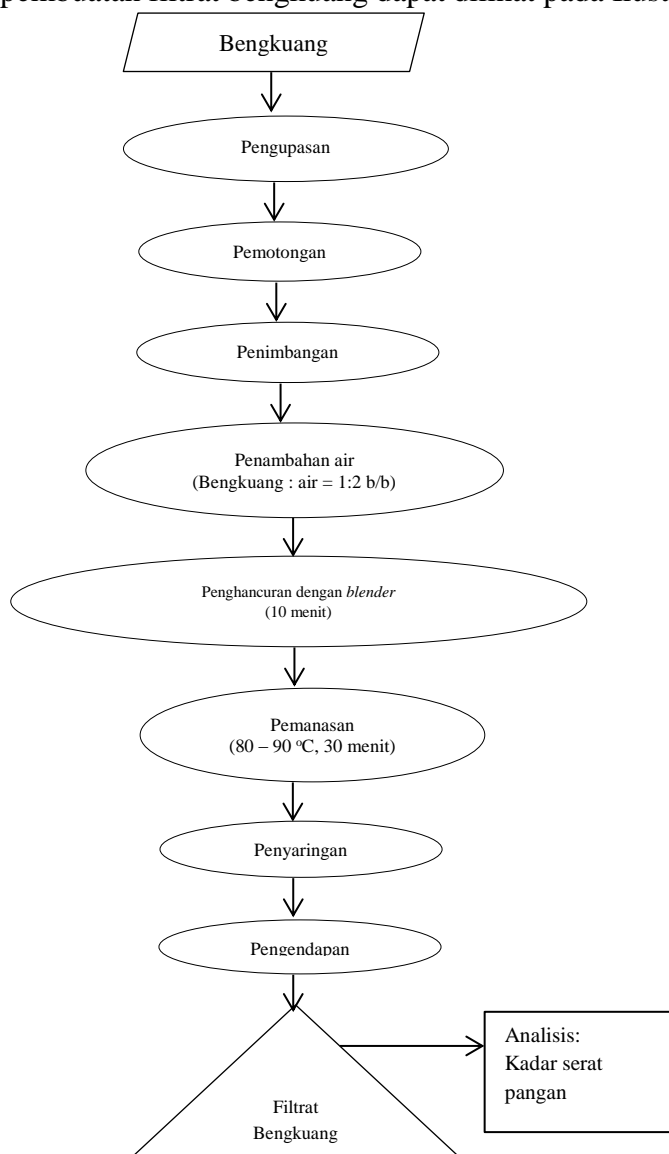
Materi yang digunakan adalah umbi bengkuang, inokulum *Lactobacillus fermentum*, MRS agar, air, susu skim, sukrosa, *buffer* pepton, aquades, *buffer* pH 7 dan *buffer* pH 4. Peralatan yang digunakan adalah *blender*, timbangan analitik, *buffer* fosfat 0,1 M ph 6, enzim  $\alpha$ -amilase, HCl, enzim pepsin, NaOH, enzim pankreatin, *celite* kering, etanol 90%, oven, pompa vakum, tanur, cawan pengabuan, eksikator, panci, pisau, termometer, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, pengaduk, *microtip*, *micropipet*, rak tabung reaksi, kompor, pipet tetes, gelas beker, kain saring, gelas ukur, inkubator, buret, aluminium foil, dan pH meter.

#### **3.2. Metode Penelitian**

##### **Pembuatan Filtrat Bengkuang**

Tahap pertama dilakukan dengan cara umbi bengkuang ditimbang sebanyak 2,2 kg kemudian dikupas dan dicuci, lalu ukurannya dicecilkan dengan

pemotongan lalu ditimbang kembali sebanyak 2 kg. Kemudian diblender dengan perbandingan bengkuang: air 1:2 b/v dengan air setelah itu dipanaskan pada suhu 80 – 90°C selama 30 menit. Bengkuang yang sudah halus kemudian disaring dan dipisahkan antara filtrat dan ampasnya, filtrat yang sudah didapat kembali diendapkan. Proses pembuatan filtrat bengkuang dapat dilihat pada Ilustrasi 1.

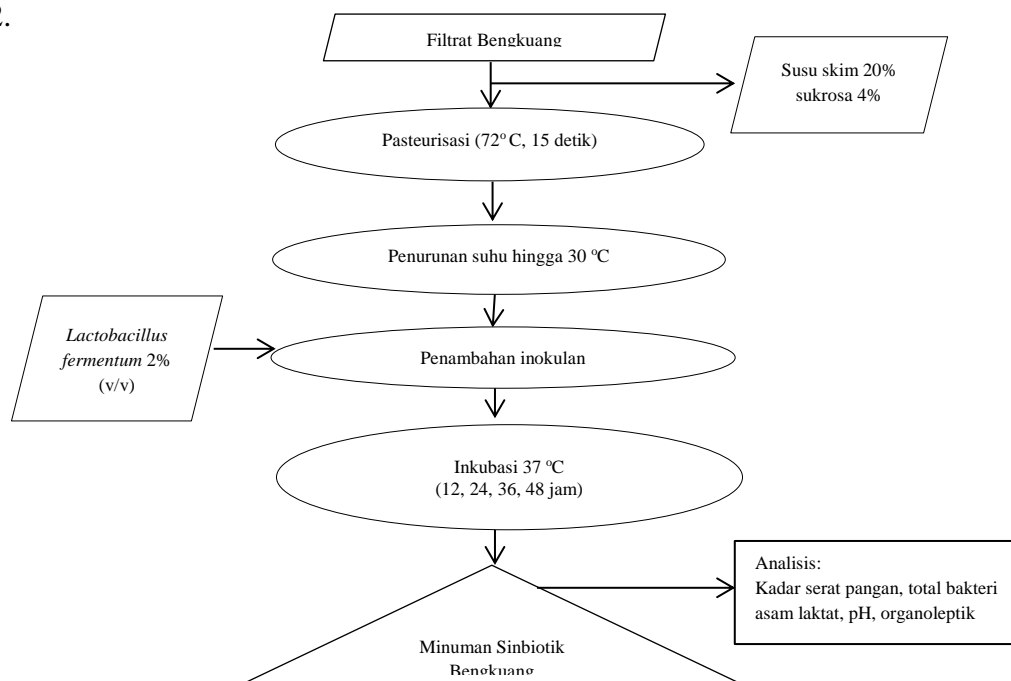


Ilustrasi 1. Metode Pembuatan Filtrat Bengkuang

## Minuman Sinbiotik Bengkuang

Filtrat bengkuang yang sudah bebas dari ampasnya kemudian ditambahkan susu skim yang telah diencerkan dengan perbandingan susu skim dan air 2:1 sebanyak 20% (v/v), lalu ditambahkan sukrosa 4% (b/v) kemudian semuanya dicampurkan dan dipasteurisasi dengan suhu 72°C selama 15 detik. Filtrat yang sudah dipasteurisasi kemudian dilakukan penurunan suhu hingga mencapai suhu 30°C kemudian ditambahkan inokulan *Lactobacillus fermentum* dengan konsentrasi 2% dengan perbandingan (v/v). Kemudian filtrat diinkubasi pada suhu 42°C masing-masing selama 12, 24, 36 dan 48 jam. Minuman sinbiotik bengkuang yang sudah diinkubasi kemudian dilakukan pengujian berupa uji kadar serat pangan, uji total bakteri asam laktat, uji pH dan uji organoleptik. Diagram alir proses pembuatan minuman sinbiotik bengkuang dapat dilihat pada Ilustrasi

2.



Ilustrasi 2. Metode Pembuatan Minuman Sinbiotik Bengkuang

### 3.3. Desain Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 4 perlakuan dan 5 ulangan yaitu, perlakuan lama fermentasi 12 jam, perlakuan lama fermentasi 24 jam, perlakuan lama fermentasi 36 jam, dan lama fermentasi 48 jam. Kombinasi perlakuan dan ulangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Perlakuan Penelitian Minuman Sinbiotik Bengkuang

Ulangan (U)	Perlakuan lama fermentasi			
	T1	T2	T3	T4
1	T1U1	T2U1	T3U1	T4U1
2	T1U2	T2U2	T3U2	T4U2
3	T1U3	T2U3	T3U3	T4U3
4	T1U4	T2U4	T3U4	T4U4
5	T1U5	T2U5	T3U5	T4U5

Keterangan:

T1 : Lama fermentasi 12 jam

U1 : Ulangan 1

U5: Ulangan 5

T2 : Lama fermentasi 24 jam

U2 : Ulangan 2

T3 : Lama fermentasi 36 jam

U3 : Ulangan 3

T4 : Lama fermentasi 48 jam

U4 : Ulangan 4

### 3.4. Hipotesis

Hipotesis empiris yang digunakan dalam pengujian total bakteri asam laktat, pH, kadar serat pangan dan organoleptik tersaji dibawah ini:

H<sub>0</sub> : Tidak terdapat pengaruh lama fermentasi terhadap kadar serat pangan, total bakteri asam laktat, nilai pH dan organoleptik minuman sinbiotik bengkuang.

H<sub>1</sub> : Setidaknya terdapat satu pengaruh lama fermentasi terhadap kadar serat pangan, total bakteri asam laktat, nilai pH dan organoleptik minuman sinbiotik bengkung.

Untuk menguji hipotesis empirik tersebut, diperlukan hipotesis statistik. Kriteria pengujian analisis statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

$F_{hitung} < F_{tabel}$ , maka H<sub>0</sub> diterima dan H<sub>1</sub> ditolak

$F_{hitung} \geq F_{tabel}$ , maka H<sub>0</sub> ditolak dan H<sub>1</sub> diterima

### 3.5. Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang dilakukan pada minuman sinbiotik bengkung dengan waktu inkubasi yang berbeda adalah kadar serat pangan, total bakteri asam laktat, nilai pH, dan organoleptik.

#### Kadar Serat Pangan

Kadar serat pangan larut *air/soluble dietary fiber* (SDF) dilakukan pengujian dengan metode gravimetri enzimatis, dengan cara bengkung dihaluskan dan ditimbang sebanyak 1 g. Bengkung kemudian diekstraksi dengan petroleum eter agar kandungan lemak hilang, selanjutnya dipindahkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan 25 ml buffer fosfat 0,1 M pH 6, dan diaduk sampai terdispersi merata. Kemudian ditambahkan 0,1 ml enzim  $\alpha$ -amilase dan erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil, kemudian diinkubasikan pada suhu 80°C dalam *waterbath* selama 15 menit sambil diaduk sesekali, selanjutnya diangkat dan diturunkan suhunya hingga 30°C.

Sampel kemudian ditambahkan 20 ml air aquades dan pH diatur menjadi 1,5 dengan penambahan larutan HCl. Enzim pepsin ditambahkan sebanyak 0,1 g, erlenmeyer ditutup kembali dengan alumunium foil dan diinkubasikan dalam *shaker waterbath* dengan suhu 40°C selama 60 menit. Setelah itu ditambahkan 20 ml air aquades dan pH diatur menjadi 6,8 dengan larutan NaOH. Lalu ditambahkan 0,1 g enzim pankreatin, ditutup dengan alumunium foil dan diinkubasikan dalam *shaker waterbath* dengan suhu 40°C selama 60 menit. Setelah itu pH diatur menjadi 4,5 menggunakan larutan HCl, kemudian disaring menggunakan kertas saring yang mengandung 0,5 gram *celite* kering dan telah diketahui bobot tetapnya (KS1) dengan dibantu pompa vakum, terakhir dicuci dengan 2x10 ml etanol 90%.

Filtrat yang diperoleh berupa serat pangan larut diatur volumenya dengan air aquades hingga 100 ml. Etanol 90% hangat (60 °C) sebanyak 400 ml ditambahkan dan didiamkan semalam, kemudian disaring menggunakan kertas saring yang mengandung 0,5 gram *celite* kering dan telah diketahui bobot tetapnya (KS3) dengan dibantu pompa vakum, terakhir dicuci dengan 2x10 ml etanol 90% dan 2x10 ml aseton. Kemudian kertas saring beserta residunya dikeringkan dalam oven bersuhu 105°C hingga beratnya konstan dan ditimbang (KS4). Kemudian dimasukkan dalam cawan pengabuan yang telah diketahui bobot tetapnya (CW3) lalu diarangkan dan diabukan dalam tanur suhu 550°C, kemudian didinginkan dalam eksikator lalu ditimbang beratnya (CW4). Blanko diperoleh dengan cara serupa tapi tanpa menggunakan sampel dan nilai blanko

sesekali perlu diperiksa ulang terutama jika menggunakan enzim dari kemasan yang baru (AOAC, 1995).

$$\text{SDF (\% berat sampel kering)} = \frac{(\text{KS4-KS3}) - (\text{CW4-CW3}) - \text{B}}{\text{Berat sampel}} \times 100$$

Keterangan : KS3 = Kertas saring kosong (g)  
 KS4 = Kertas saring + residu serat (g)  
 CW3 = Cawan pengabuan kosong (g)  
 CW4 = Cawan pengabuan + abu (g)  
 B = Blanko bebas serat (g)

### **Total Bakteri Asam Laktat**

Total bakteri asam laktat dilakukan pengujian dengan cara sampel diambil sebanyak 10 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 90 ml larutan NaCl fisiologis steril. Pengenceran dilakukan hingga  $10^{-7}$ . Diambil masing-masing 1 ml dari tiga pengenceran terakhir yaitu  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ , dan  $10^{-7}$  dan dituang ke dalam cawan petri steril serta dituang media MRS Agar. Tiap pengenceran dibuat duplo. Setelah media memadat, diinkubasi pada suhu  $38^{\circ}\text{C}$  selama 24, 36 dan 48 jam (Purwaningsih, 2008). Jumlah koloni per ml dapat dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Koloni per ml} = \text{koloni rata-rata} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

### **Nilai pH**

Nilai pH dilakukan pengujian dengan menggunakan pH meter. Sampel diambil sebanyak 30 ml dan ditempatkan pada gelas beker ukuran 50 ml. sebelum digunakan, pH meter dikalibrasi menggunakan larutan *buffer* pH 7 dan pH 4 lalu

elektroda dibersihkan dengan aquades selanjutnya dilakukan pengukuran nilai pH sampel (Primurdia dan Kusnadi, 2014).

### Organoleptik

Organoleptik dilakukan pengujian dengan uji sensori dan uji tingkat kesukaan (hedonik) dengan menggunakan 25 orang panelis tidak terlatih dengan parameter uji cita rasa dan kesukaan *overall*. Panelis memberikan penilaian berupa skor pada blangko uji organoleptik minuman sinbiotik bengkung (Umam *et al.*, 2012). Parameter dan skor uji cita rasa dan kesukaan disajikan pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 4. Skala Numerik Uji Cita Rasa

Skala	Skala Numerik
Tidak asam	1
Kurang asam	2
Agak asam	3
Asam	4
Sangat asam	5

Tabel 5. Skala Numerik Uji Kesukaan

Skala	Skala Numerik
Sangat tidak suka	1
Tidak suka	2
Biasa	3
suka	4
Sangat suka	5

### 3.6. Analisis Data

Data hasil pengukuran total bakteri asam laktat, dan nilai pH yang diperoleh diuji dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) pada taraf signifikansi 5% dan jika terjadi perbedaan dilanjutkan dengan Uji Wilayah Ganda



Duncann untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Naifular *et al.*, 2014). Data kadar serat pangan minuman sinbiotik bengkung akan dilakukan analisis secara deskriptif, data hasil pengujian organoleptik cita rasa dan kesukaan *overall* diuji normalitasnya, apabila normal dianalisis dengan varian dan bila tidak normal diuji dengan *non parametic Kruskal Wallis* dengan taraf signifikansi 5% (Yanti, 2010). Semua data dianalisis dengan bantuan aplikasi SPSS *for window* 21.0.