

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2016 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan Universitas Diponegoro, Semarang untuk pembuatan ekstrak bunga kecombrang dan pembuatan gula semut kelapa. Pengujian jumlah khamir, pH, total asam, kadar air dilakukan di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Universitas Diponegoro, Semarang. Pengujian kadar gula total dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

3.1. Materi Penelitian

Materi yang digunakan untuk proses ekstraksi bunga kecombrang adalah bunga kecombrang dan akuades. Materi yang digunakan untuk proses pembuatan gula semut kelapa yaitu nira kelapa. Bunga kecombrang didapatkan dari pasar modern Bintaro, Tangerang Selatan dan nira kelapa diambil dari petani nira kelapa di Dusun Karadenan, Magelang. Alat – alat yang digunakan untuk proses ekstraksi bunga kecombrang yaitu timbangan analitik, pisau, talenan, blender, stirer, oven pengering, kain saring, erlenmeyer, corong, loyang, pengaduk. Alat yang digunakan untuk proses pembuatan gula semut kelapa yaitu kompor gas, wajan, pengaduk, ayakan, loyang, kertas label. Alat yang digunakan untuk menganalisis sifat mikrobiologis gula semut kelapa adalah cawan petri, kertas pembungkus, erlenmeyer, gelas ukur, gelas gelas beker, tabung reaksi, oven,

autoklaf, bunsen, meja laminar, kertas label, pipet ukur, pipet tetes, mikro pipet, plastik wrap, kapas.

3.2. Metode Penelitian

Penelitian ini meliputi penelitian persiapan dan penelitian utama. Penelitian persiapan yaitu berupa pembuatan ekstrak bunga kecombrang. Penelitian utama yaitu membuat gula semut kelapa dengan cara nira kelapa yang telah ditambahkan dengan ekstrak bunga kecombrang (sesuai perlakuan).

3.2.1. Desain Percobaan

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimen dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 kali ulangan dengan variasi penambahan konsentrasi ekstrak bunga kecombrang yaitu 0% untuk T0 sebagai kontrol, 3% untuk T1, 6% untuk T2, dan 9% untuk T3 dari 500 ml nira kelapa. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan.

Model matematis rancangan percobaan yang diterapkan adalah:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \Sigma_{ij} \dots \dots \dots (1)$$

Keterangan:

Y_{ij} = Angka pengamatan dari perlakuan ke-i {penambahan variasi ekstrak bunga kecombrang yaitu 0%, 3%, 6%, 9% (1,2,3,4,5).}

μ = Nilai tengah perlakuan.

A = Pengaruh perlakuan ke-i (penambahan variasi ekstrak bunga kecombrang yaitu 0%, 3%, 6%, 9%)

Σ_{ij} = Pengaruh galat substitusi perlakuan ke-i dan ulangan ke-j (1,2,3,4,5)

3.2.2. Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

Ho : Tidak terdapat pengaruh perlakuan terhadap kadar gula total, jumlah khamir, nilai pH, dan total asam antara kualitas gula semut kelapa yang diberikan penambahan ekstrak bunga kecombrang dengan yang tidak diberikan penambahan ekstrak bunga kecombrang.

Hi : Terdapat pengaruh perlakuan terhadap kadar gula total, jumlah khamir, nilai pH, dan total asam minimal satu dari kualitas gula semut kelapa yang diberikan penambahan ekstrak bunga kecombrang dengan yang tidak diberikan penambahan ekstrak bunga kecombrang.

Secara statistik, hipotesis empirik diatas dapat dijabarkan sebagai berikut:

H0 : $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$

H1 : $\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$, atau setidaknya-tidaknya ada satu perbedaan nilai tengah (μ)

Kriteria pengujian analisis statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

F hitung < F tabel, maka H0 diterima dan H1 ditolak

F hitung \geq F tabel, maka H0 ditolak dan H1 diterima

3.2.3. Prosedur Penelitian

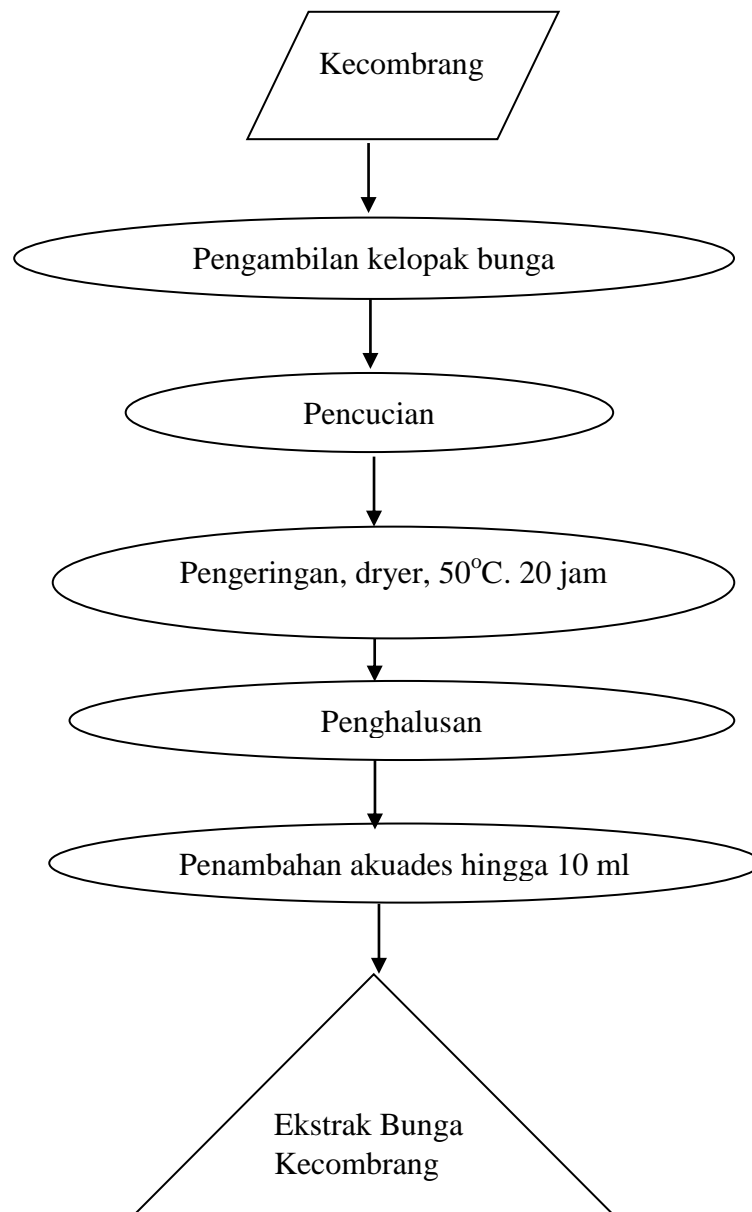
Ekstrak bunga kecombrang diperoleh dari bunga kecombrang yang sudah dikeringkan menggunakan *dryer* selama 20 jam dengan suhu 50°C sampai dengan kadar airnya < 10%, dihaluskan menggunakan blender, setelah itu bubuk bunga kecombrang diekstraksi menggunakan akuades dengan perbandingan 1:10 (b/v) lalu disaring menggunakan kertas saring (Naufalin *et al.*, 2013). Metode pembuatan ekstrak bunga kecombrang dapat dicermati dalam Ilustrasi 1. Kemudian dilakukan penambahan ekstrak bunga kecombrang berbagai konsentrasi. Penambahan konsentrasi ekstrak bunga kecombrang yaitu 0% untuk T0 sebagai kontrol, 3% untuk T1, 6% untuk T2 dan 9% untuk T3 dari 500 ml nira kelapa. Karakteristik dari nira kelapa yang digunakan dapat dilihat di Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Nira Kelapa yang Digunakan (Haryanti *et al.*, 2012).

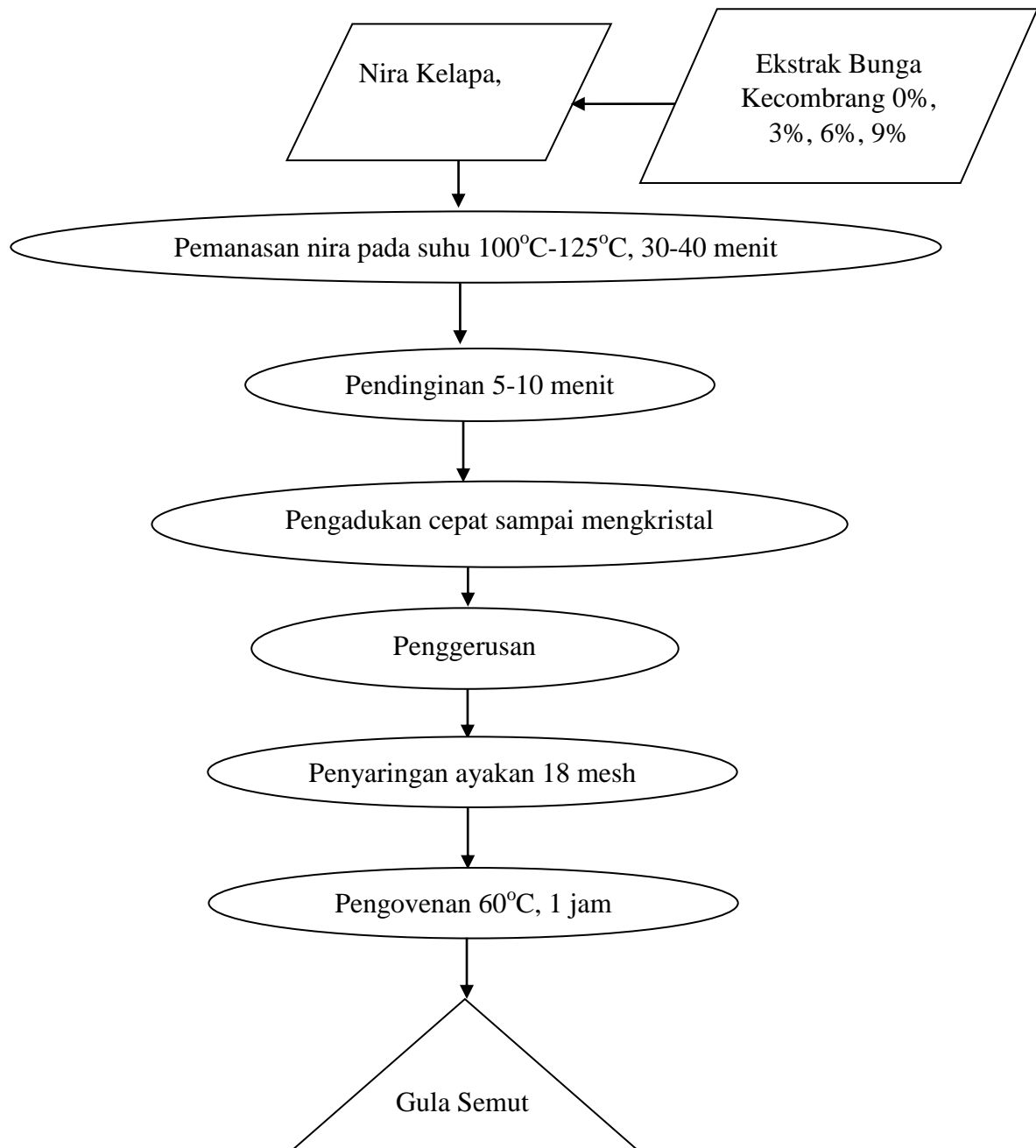
Komposisi Kimia	Jumlah
Sukrosa (%)	12,03-14,85
Kadar Air (%)	88,4
Total Padatan (%)	15,2-19,7
Karbohidrat (%)	14,35
Protein (%)	0,1
Lemak (%)	0,17
Abu (%)	0,66
Total asam (%)	62,50
Nilai pH	6,00-7,00

Kemudian setelah memberikan ekstrak bunga kecombrang ke nira kelapa dengan perlakuan variasi konsentrasi nira tersebut disimpan selama 3 jam setelah itu gula semut kelapa dibuat dengan cara nira kelapa yang telah ditambahkan dengan ekstrak bunga kecombrang (sesuai perlakuan) dimasak pada kisaran suhu 100°C-125°C sekitar 30-40 menit sambil dilakukan pengadukan secara konstan.

Setelah dimasak nira yang telah matang didinginkan dan dilakukan pengadukan secara konstan sampai terbentuk kristal gula dan jika ada kristal gula yang berbentuk agak besar dilakukan penggerusan. Kemudian dilakukan pengayakan dengan menggunakan ayakan. Setelah didapatkan gula semut dengan ukuran yang diinginkan dilakukan pengeringan dengan suhu 60°C selama 1 jam sampai kadar air gula semut < 3% (Haryanti *et al.*, 2012). Masing – masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Parameter yang diuji yaitu jumlah khamir, nilai pH, total asam, kadar air dan kadar gula total. Pengujian dilakukan setelah 5 hari penyimpanan gula semut kelapa di suhu ruang. Metode pembuatan gula semut kelapa dapat dicermati dalam Ilustrasi 2.



Ilustrasi 1. Diagram Alir Pembuatan Ekstrak Bunga Kecombrang (Naufalin *et al.*, 2013 yang dimodifikasi)



Ilustrasi 2. Diagram Alir Pembuatan Gula Semut Kelapa (Haryanti *et al.*, 2012 yang dimodifikasi).

3.2.4. Pengujian Variabel

Sifat-sifat mikrobiologis yang diuji pada pembuatan gula semut kelapa adalah angka khamir. Sifat – sifat kimiawi yang diuji pada pembuatan gula semut kelapa adalah pH, total asam kadar air dan total gula.

a) Pengujian Khamir

Uji khamir bertujuan untuk melihat jumlah khamir yang ada dalam produk akhir gula semut kelapa untuk mengetahui perbedaan antara produk yang diberi perlakuan pemberian pengawet alami dan yang tidak diberikan. Pengujian menggunakan metode cawan agar tuang (Fardiaz, 1992). Sampel yang diujikan adalah gula semut kelapa yang diencerkan dengan akuades menggunakan perbandingan 1:2 (b/v). Media yang digunakan adalah media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) yang dicampur dengan 4 ml asam tartarat. Pengenceran dilakukan dengan perbandingan 1:10 antara sampel dengan larutan pengencer NaCl fisiologis, pengenceran ini dilakukan sampai 10^{-5} . Kemudian dilakukan penuangan sampel ke cawan dengan menggunakan mikropipet dari setiap pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . Pengujian dilakukan duplo untuk setiap pengenceran. Kemudian ditambahkan 15-20 ml SDA yang sudah dingin ke dalam cawan. Setelah media menjadi padat, pertumbuhan mikroorganisme dihitung setelah sampel diinkubasikan dalam media agar pada suhu 22-25°C selama 5 hari.

$$\text{Koloni per g} = \text{jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

b) Pengujian nilai pH

Uji pH menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi dengan larutan buffer pada pH 4 dan 7. Sampel yang diujikan adalah 10 ml nira kelapa. pH meter dinyalakan dan didiamkan hingga stabil dengan waktu antara 15 – 30 menit. Elektroda pada pH meter dibilas akuades lalu keringkan menggunakan tissue. Setelah itu elektroda dicelupkan ke dalam larutan sampel dan diatur pengukuran untuk pH. Elektroda biarkan tercelup dalam larutan dan diamkan beberapa menit sampai muncul angka yang stabil tidak berubah – ubah lagi. Kemudian sampel pH dicatat (Apriyantono *et al.*, 1989).

c) Pengujian Total Asam

Uji total asam dilakukan dengan menghitung kadar keasaman yang ada suatu produk pangan dengan cara titrasi (Hadiwiyoto, 1994). Pada metode ini gula semut kelapa dilarutkan dengan akuades dengan perbandingan 1:2 (g/v) untuk dilakukan dititrasi, sampel ditetesi terlebih dahulu oleh indikator PP 1% sebanyak 2 tetes kemudian dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N sampai sampel terlihat mengalami perubahan warna kemudian menghitung total asam tertirtasinya.

$$\text{Rumus Total Asam} = \frac{V \times N \times B \times P}{G \times 1000} \times 100 \%$$

Keterangan:

V = Volume NaOH (ml)

G = Berat gula semut (g)

N = Normalitas NaOH (0,1 N)

B = Berat molekul asam asetat (60)

P = Faktor Pengencer (2)

d) Pengujian Kadar Air

Pengujian kadar air dilakukan dengan cara metode oven. Cawan porselin dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam, kemudian dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang beratnya. Sampel ditimbang sebanyak 5 g dan diletakkan di cawan porselin kemudian dioven pada suhu 105°C selama 3 jam. Sampel dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit lalu ditimbang beratnya. Proses pengeringan dilakukan sampai didapat berat yang konstan. Setelah didapat berat konstan, kadar air dihitung menggunakan rumus (Sudarmadji, 1984). Rumus perhitungannya adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Air} = \frac{x+y-z}{y} \times 100\%$$

Keterangan:

x = Berat cawan porselin (g)

y = Berat sampel (g)

z = Berat sampel dan cawan porselin setelah dikeringkan (g)

e) **Pengujian Total Gula**

Pengujian kadar gula total dilakukan dengan metode Luff Schoorl. Tahap pertama adalah filtrat dari gula semut kelapa dipipet sebanyak 50 ml, lalu dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan larutan 5 ml larutan HCL 25%, kemudian dipanaskan hingga suhu 60° sampai 70°C dan diinversikan selama 10 menit dan didinginkan. Tahap selanjutnya adalah menetralkan dengan larutan NaOH 50% dengan indikator PP 0,1 N sampai warna larutan menjadi merah jambu, kemudian ditambahkan dengan akuades sampai tanda tera lalu dikocok. Selanjutnya, 10 ml dr larutan filtrat tersebut dipipet dimasukkan ke dalam erlenmeyer ukuran 500 ml ditambahkan dengan 15 ml akuades dan 25 ml larutan Luff kemudian dipanaskan pada pendingin selama 10 menit, tunggu sampai mendidih dan setelah mendidih larutan didinginkan pada air mengalir, setelah larutan dingin ditambahkan dengan 15 ml larutan KI 30%, kemudian lakukan titrasi dengan larutan No - tiosulfat 0,1 N dengan indikator kanji (AOAC, 1970).

$$\text{Kadar Gula Total} = \frac{\text{Bobot gula (mg)} \times \text{FP}}{\text{Bobot Contoh (mg)}} \times 0,95 \times 100 \%$$

Keterangan:

FP = Faktor Pengenceran

3.2.5. Analisis Data

Data hasil pengukuran kadar gula total, total khamir, nilai pH dan total asam yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (Anova) pada taraf signifikansi 5% dan jika terdapat pengaruh perlakuan dilanjutkan dengan Uji Wilayah Ganda Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan (Gomez dan Gomez, 1995). Data hasil pengukuran kadar gula total yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.