

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

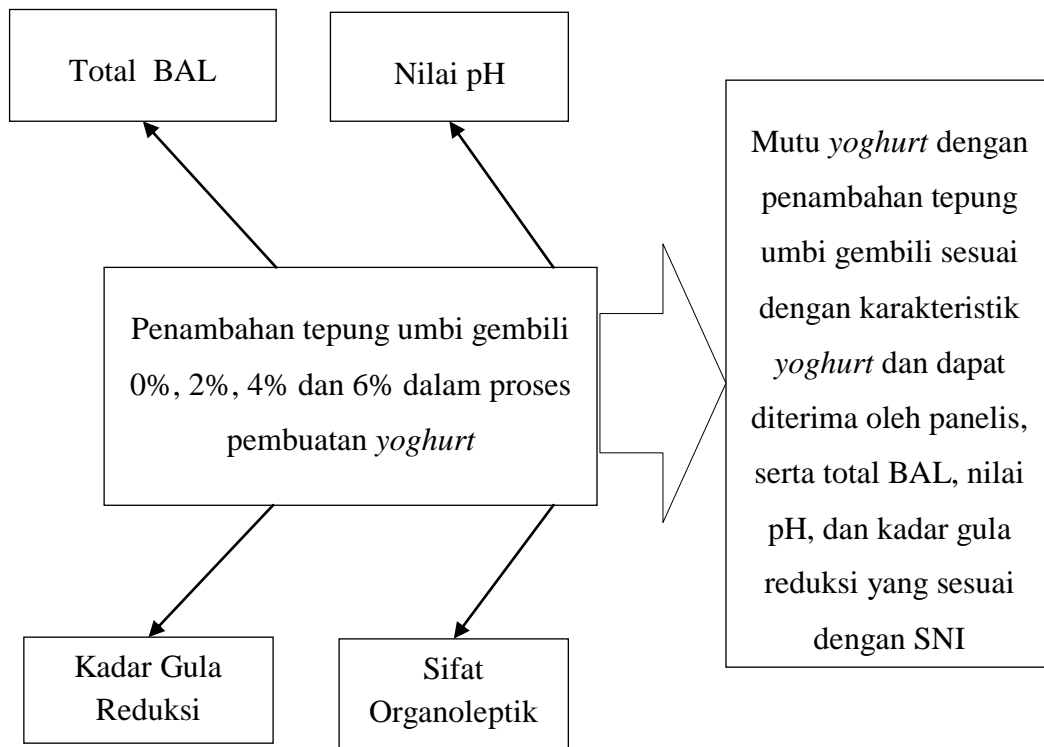
#### **3.1. Materi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Rekayasa Pangan, Departemen Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2018 dan pengolahan data dilakukan pada bulan Desember 2018 hingga Januari 2019.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi gembili yang dibeli dari Pasar Doro, Pekalongan pada 3 November 2018. Susu segar diperoleh dari peternakan di Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro. Starter bakteri campuran yaitu *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* dan *L. acidophilus*, larutan garam fisiologis, aquades, reagen Cu alkalis, reagen Arsenomolibdat dan MRSA. Alat yang digunakan adalah inkubator, inkubator khusus bakteri, oven, timbangan analitik, panci, kompor gas, pH meter, gelas ukur, tabung reaksi, erlenmeyer, cawan petri, termometer, bunsen, *refrigerator*, pipet mikro, spektrofotometer, kuvet dan autoklaf.

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

Metode penelitian meliputi perancangan penelitian, hipotesis, pelaksanaan penelitian, uji parameter dan analisis data yang diperoleh dari hasil percobaan.



Ilustrasi 1 Diagram *Fishbone Yoghurt* dengan Penambahan Tepung Umbi Gembili

### 3.2.1. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan variasi penambahan tepung umbi gembili yang meliputi T1 : 0%, T2 : 2%, T3 : 4%, dan T4 : 6% dari volume susu segar dengan masing-masing perlakuan mendapat 5 kali pengulangan. Desain penelitian dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Desain Penelitian

Ulangan (U)	Perlakuan Variasi Konsentrasi Tepung Gembili			
	T1	T2	T3	T4
U1	T1U1	T2U1	T3U1	T4U1
U2	T1U2	T2U2	T3U2	T4U2
U3	T1U3	T2U3	T3U3	T4U3
U4	T1U4	T2U4	T3U4	T4U4
U5	T1U5	T2U5	T3U5	T4U5

Keterangan :

T1 : Penambahan 0% tepung umbi gembili dari volume susu (b/v)

T2 : Penambahan 2% tepung umbi gembili dari volume susu (b/v)

T3 : Penambahan 4% tepung umbi gembili dari volume susu (b/v)

T4 : Penambahan 6% tepung umbi gembili dari volume susu (b/v)

U1 : Ulangan ke-1

U2 : Ulangan ke-2

U3 : Ulangan ke-3

U4 : Ulangan ke-4

U5 : Ulangan ke-5

Model Matematis rancangan percobaan yang diterapkan adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \Sigma_{ij}$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  = Angka pengamatan dari perlakuan ke-i (T1, T2, T3, T4) dan ulangan ke-j (1, 2, 3, 4, 5)

m = Nilai tengah perlakuan

$\alpha_i$  = Pengaruh perlakuan ke-i (T1, T2, T3, T4)

$\Sigma_{ij}$  = Pengaruh galat perlakuan ke-i (T1, T2, T3, T4) dan ulangan ke-j (1, 2, 3, 4, 5)

### 3.2.1. Hipotesis

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

H0 : tidak terdapat pengaruh penambahan tepung gembili terhadap total BAL, nilai pH, kadar gula reduksi dan sifat organoleptik pada *yoghurt*.

H1 : terdapat pengaruh penambahan tepung gembili terhadap total BAL, nilai pH, kadar gula reduksi dan sifat organoleptik pada *yoghurt*.

### 3.2.2. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan pembuatan tepung gembili, pembuatan *yoghurt*, pengujian tiap parameter, analisis data.

### 3.2.3. Pembuatan Tepung Gembili

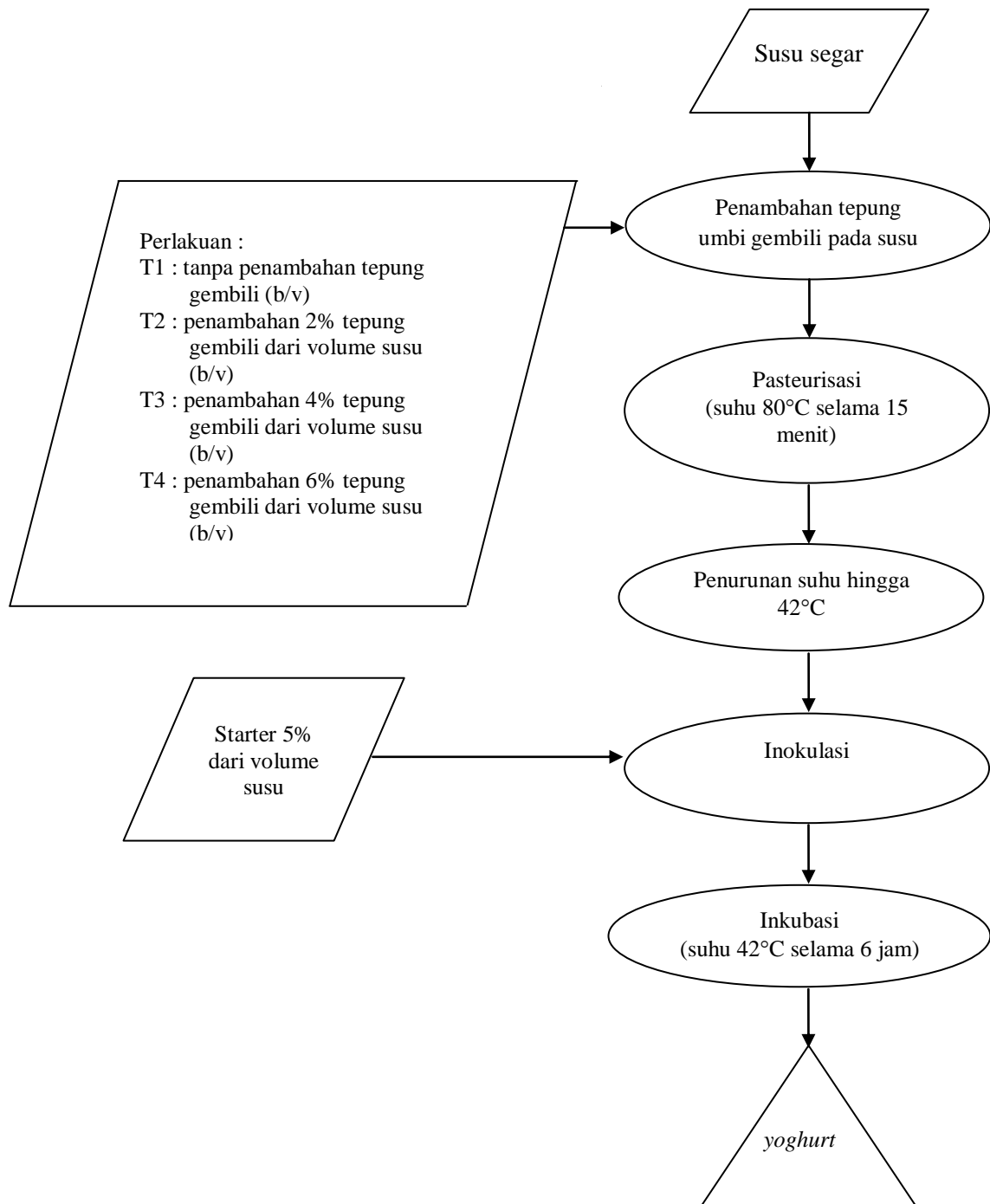
Pembuatan tepung gembili dilakukan dengan cara disiapkan umbi gembili sebanyak 3 kg. Dilakukan pengupasan dan pencucian umbi gembili. Lalu umbi gembili diiris tipis dan direndam dengan garam untuk menghilangkan rasa gatal akibat adanya kandungan senyawa kalsium oksalat. Kemudian dilakukan pengovenan pada suhu 60°C selama 6-8 jam hingga kering merata. Setelah kering dihaluskan menggunakan grinder dan diayak menggunakan siever ukuran 80 mesh (Utami *et al.*, 2013).

### 3.2.4. Metode Pembuatan *Yoghurt*

Starter *yoghurt* (campuran bakteri *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* dan *L. acidophilus*) bubuk disiapkan. Pembuatan starter F1 dilakukan dengan cara disiapkan susu yang telah dipasteurisasi sebanyak 500 ml lalu diinokulasi 1 *sachet* starter *yoghurt*. Kemudian diinkubasi pada suhu 43°C selama 8 jam. Setelah inkubasi starter F1 selesai, kemudian dibuat starter F2. Pembuatan starter F2 dilakukan dengan cara 25 ml starter F1 diinokulasikan ke dalam 500 ml susu yang telah dipasteurisasi lalu diinkubasi pada suhu 43°C selama 6 jam (Puspitasari *et al.*, 2014).

Pembuatan *yoghurt* diawali dengan susu segar sebanyak 10 liter dibagi menjadi 4 perlakuan dengan masing-masing perlakuan memiliki 5 ulangan sehingga diperoleh 20 unit sampel. Setiap unit sampel sebanyak 0,5 liter susu. Penambahan tepung umbi gembili dilakukan dengan cara tepung dicampurkan kedalam susu sesuai dengan perlakuan yaitu T0: tanpa penambahan tepung umbi gembili, T1 : penambahan 2% tepung umbi gembili dari jumlah susu (b/v), T2: penambahan 4% tepung umbi gembili dari jumlah susu (b/v), T3: penambahan 6% tepung umbi gembili dari jumlah susu (b/v). Susu segar yang telah ditambahkan tepung gembili dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 15 menit kemudian didinginkan hingga mencapai suhu 42°C (Jannah *et al.*, 2014). Susu yang telah dipasteurisasi dilakukan inokulasi dengan starter F2 *yoghurt* sebanyak 5% dari volume susu dengan kepadatan  $\geq 10^6$  CFU/ml sesuai dengan SNI (2981:2009). Kemudian diinkubasi pada suhu 42°C selama 6 jam. *Yoghurt* yang telah jadi

dilakukan proses penyimpanan pada suhu 5°C untuk menghambat proses fermentasi. Diagram alir pembuatan *yoghurt* dapat dilihat pada Ilustrasi 2.



Ilustrasi 2 Diagram Alir Pembuatan *Yoghurt*

### 3.2.5. Total BAL

Total BAL dihitung menggunakan metode tuang (*pour plate*). Sampel dipipet sebanyak 1 ml yang dimasukkan dalam erlenmeyer yang berisi larutan garam fisiologis 0.85% sebanyak 9 ml untuk pengenceran  $10^{-1}$  dan dilakukan seterusnya hingga  $10^{-8}$ . Selanjutnya sampel yang telah diencerkan diambil 1 ml dengan menggunakan pipet mulai dari pengenceran  $10^{-6}$  hingga pengenceran  $10^{-8}$  dimasukkan ke dalam cawan petri secara duplo. Cawan petri kemudian dituangkan media *de man Rogosa Sharpe Agar* (MRSA). Tahap selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dalam inkubator dengan posisi cawan terbalik dengan tujuan untuk menghindari tetesan air (Fardiaz, 1993). Jumlah BAL dinyatakan dalam CFU/ml (*Colony Forming Unit*) dengan rumus:

$$\text{Total BAL} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

### 3.2.6. Nilai pH

Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. pH meter diatur dengan larutan buffer sampai nilai 7, kemudian mencelupkan pH meter ke dalam sampel sehingga terbaca nilai pHnya (Hadiwiyoto, 1983).

### 3.2.7. Kadar Gula Reduksi

Pengujian kadar gula reduksi dilakukan dengan metode Nelson-Somogyi secara spektrofotometri. Pengujian diawali dengan pembuatan kurva standar. Larutan standar dibuat larutan glukosa dengan variasi 0, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30,

40 ppm (*part permillion*). Disiapkan 9 tabung reaksi bersih. Delapan tabung reaksi diisi masing-masingnya 1 ml standar glukosa dan tabung satunya lagi diisi dengan akuades blanko. Ditambahkan Reagen Cu alkalis (Campuran reagen Nelson A dan B) sebanyak 1 ml ke dalam masing-masing tabung dan semua tabung dipanaskan diatas *waterbath* dengan suhu 100°C selama 20 menit. Semua tabung diambil dan segera didinginkan dalam gelas piala berisi air dingin hingga suhu tabung mencapai 25°C.

Setelah semua tabung cukup dingin, ditambahkan 1 ml Reagen Arsenomolibdat dan dikocok hingga endapan yang terbentuk larut kembali. Setelah endapan larut sempurna, ditambahkan 7 ml aquades dan dikocok sampai homogen. Larutan tersebut dimasukkan kuvet dan diukur penyerapan cahaya tampak (*visible*) pada panjang gelombang 540 nm. Dibuat kurva standar yang menunjukkan hubungan konsentrasi glukosa dan absorban.

Penentuan gula reduksi pada sampel dilakukan dengan cara 1 ml sampel disiapkan dan ditambahkan 1 ml reagen Nelson selanjutnya diperlakukan seperti pada larutan kurva standar. Jumlah gula reduksi dapat ditentukan berdasarkan serapan larutan sampel dan kurva standar.

### **3.2.8. Organoleptik**

Pengujian terhadap sifat organoleptik meliputi cita rasa asam dan tekstur kental *yoghurt* dilakukan dengan panelis agak terlatih sebanyak 25 orang dengan ketentuan skor 1 sampai 5. Panelis diberikan lembar skor penilaian yang dapat dilihat pada Tabel 5 dan Tabel 6 yang mengacu pada Hidayat *et al.* (2013).



Tabel 5. Skala Numerik Cita Rasa Asam

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

Tabel 6. Skala Numerik Kekentalan

Skala Sensori	Skala Numerik
Sangat Tidak kental	1
Tidak Kental	2
Agak Kental	3
Kental	4
Sangat Kental	5

### 3.2.9. Analisis Data

Data hasil uji meliputi total BAL dan nilai pH yang diperoleh, dilakukan uji normalitas untuk dapat mengetahui data sudah terdistribusi normal, dianalisis uji pengaruh menggunakan *Analysis of Variance* (Anova) dengan taraf signifikansi 5% dan apabila terdapat pengaruh dilanjutkan dengan Uji Wilayah Ganda Duncan. Data kadar gula reduksi dianalisis secara deskriptif. Data pengujian organoleptik dianalisis dengan Uji Kruskal-Wallis kemudian dilanjutkan dengan Uji Man-Whitney. Data tersebut dianalisis dengan aplikasi SPSS 16.0. dan Ms. Excel.