

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Sentra Ilmu Hayati Universitas Brawijaya dan Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Universitas Brawijaya. Penelitian akan dilaksanakan selama 4 bulan, dari Desember 2014 sampai Maret 2015.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah air nira siwalan yang didapat langsung dari Pasuruan dan biji kefir air yang diperoleh dari Diana Water Kefir. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisa kimia dan mikrobiologi yaitu NaOH 0,1 N, buffer pH 4 dan buffer pH 7, indikator PP, alkohol 70%, aquades, H₂SO₄ pekat, anthrone, kertas saring Whatman no.2, CaCO₃, Pb-asetat, Na-oksalat, MRSA, pepton, PDA, aluminium foil dan plastik.

Alat yang digunakan antara lain botol kaca dan tutup, saringan, beaker glass, pH meter, timbangan digital (METTLER TOLEDO), pipet tetes, pipet ukur, cawan petri, labu ukur, corong, bunsen, erlenmeyer, buret, tabung reaksi, spatula, buret, LAF, spektrofotometer (Spectro20D plus), inkubator (Binder), autoklaf, mikropipet 1 ml, blue tip dan kompor listrik.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan dua faktor yaitu perlakuan pasteurisasi serta proporsi penambahan *kefir grains*. Faktor I terdiri dari dua level dan faktor II terdiri dari tiga level, sehingga didapatkan enam kombinasi perlakuan, berikut penjelasan rincinya.

Faktor I : Perlakuan Pasteurisasi

P1: Pasteurisasi (70° C, 10 menit)

P2: Non pasteurisasi

Faktor II : Proporsi penambahan *kefir grains*

K1: 5%

K2: 7,5%

K3: 10%

Dari kedua faktor diatas, diperoleh 6 kombinasi perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali, sehingga didapatkan 18 satuan percobaan.

Tabel Kombinasi Perlakuan

	K1	K2	K3
P1	P ₁ K ₁	P ₁ K ₂	P ₁ K ₃
P2	P ₂ K ₁	P ₂ K ₂	P ₂ K ₃

Keterangan :

P₁K₁ = Perlakuan pasteurisasi dengan penambahan *kefir grains* sebesar 5%

P₁K₂ = Perlakuan pasteurisasi dengan penambahan *kefir grains* sebesar 7,5%

P₁K₃ = Perlakuan pasteurisasi dengan penambahan *kefir grains* sebesar 10%

P₂K₁ = Perlakuan non-pasteurisasi dengan penambahan *kefir grains* sebesar 5%

P₂K₂ = Perlakuan non-pasteurisasi dengan penambahan *kefir grains* sebesar 7,5%

P₂K₃ = Perlakuan non-pasteurisasi dengan penambahan *kefir grains* sebesar 10%

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Analisis Bahan Baku (Nira Siwalan)

1. Total Gula
2. Analisa pH

3.4.2 Pembuatan Kefir Air sebagai Kontrol (Modifikasi Penalver, 2004)

1. Air mineral / aquades sebanyak 250 ml dipasteurisasi suhu 85° C selama 10 menit
2. Didinginkan dengan cepat dan dimasukkan ke dalam wadah
3. Ditambahkan kefir *grain* sebanyak 5% (b/v)
4. Difermentasikan selama 12 jam suhu 37° C
5. Hasil fermentasi kemudian dianalisa total BAL, total khamir, total pH

3.4.3 Pembuatan Kefir Nira Siwalan (Modifikasi Penalver, 2004)

1. Nira siwalan bersih (setelah disaring) dimasukkan ke dalam beaker glass sebanyak 300 ml
2. Dipasteurisasi suhu 70° C selama +- 10 menit
3. Didinginkan pada suhu ruang kemudian dianalisa bahan baku (Total gula, pH)
4. Dimasukkan kefir *grain* pada masing-masing pengenceran nira siwalan sebanyak 5% b/v (15 gram)
5. Diinkubasikan dengan 25° C selama 24 jam)
7. Hasil fermentasi kemudian disaring dan siap untuk dianalisa

3.4.4 Pengamatan Penelitian

Pengamatan penelitian dilakukan terhadap filtrat hasil fermentasi kefir nira siwalan. Parameter yang diamati meliputi:

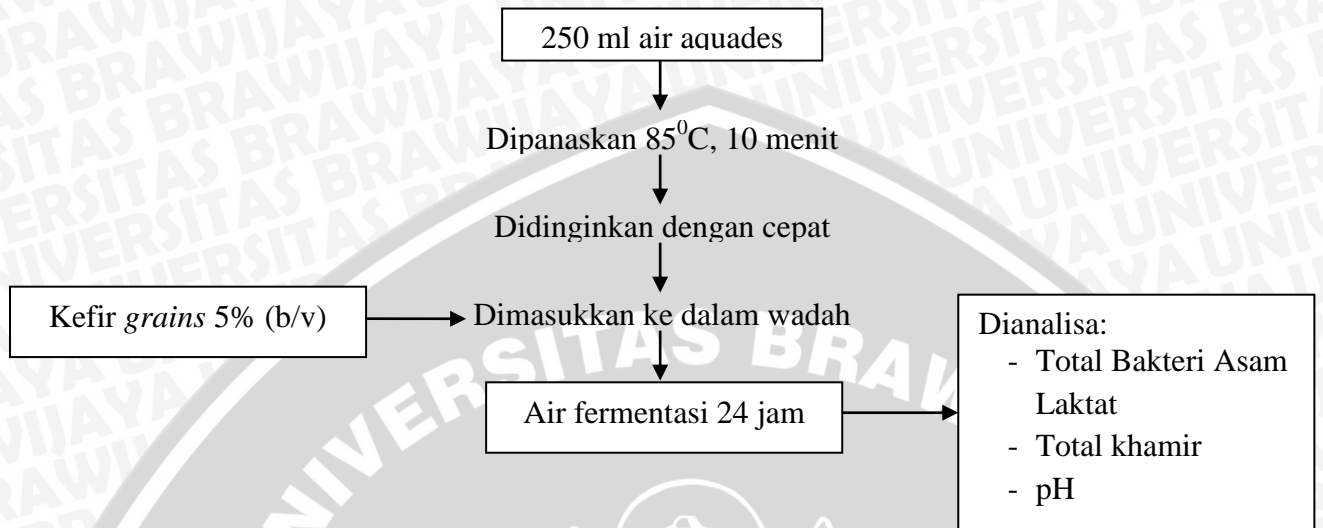
1. Total Gula
2. Total pH
3. Total Asam
4. Kadar Alkohol
5. Total BAL
6. Total Khamir
7. Uji Organoleptik

3.5 Analisis Data

Analisis data yang akan dilakukan yaitu dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA). dilanjutkan dengan uji DMRT (Duncan Multiple Range Test) jika terdapat interaksi antara kedua faktor atau dilakukan uji lanjut BNT dengan selang kepercayaan 5%. Penentuan perlakuan terbaik dengan menggunakan metode Zeleny (1982). Perbandingan antara perlakuan terbaik dengan kontrol menggunakan uji t dengan selang kepercayaan 5%.

3.6 Diagram Alir Penelitian

3.1 Diagram Alir Pembuatan Kefir Air sebagai Kontrol

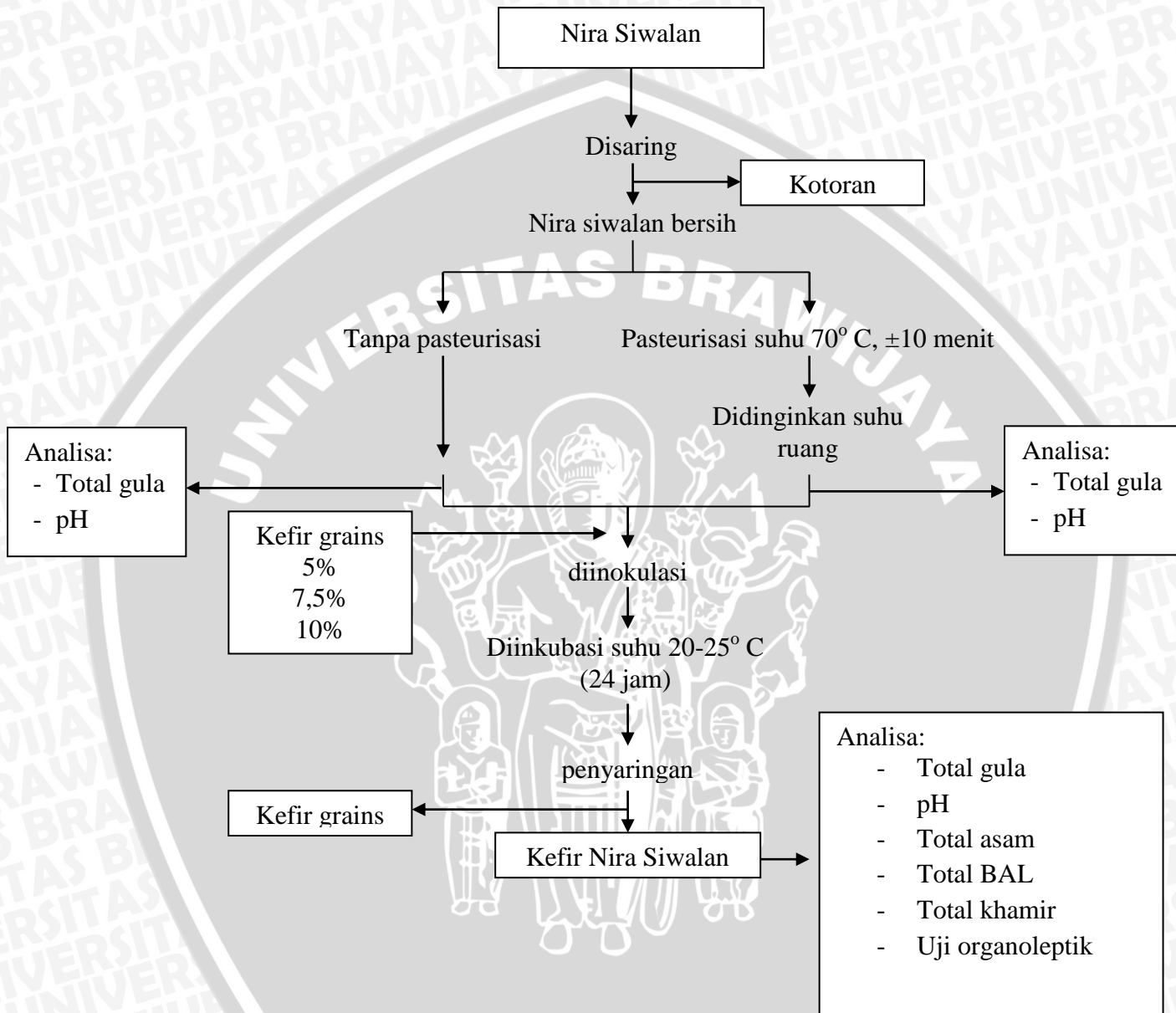


Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Kefir Air (Modifikasi Penalver, 2004)



3.2 Diagram Alir Pembuatan Kefir Nira Siwalan

Analisa inti



Gambar 3.2 Diagram Alir Pembuatan Kefir Nira Siwalan (Modifikasi Penalver, 2004)