

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Laboratorium Bioteknologi, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan serta Laboratorium Pengolahan Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan mulai April hingga Juli 2017.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan untuk membuat kombucha kulit apel adalah loyang, *cabinet dryer*, toples kaca, kompor listrik, timbangan digital, termometer, saringan teh, aluminium foil. Alat yang digunakan untuk analisa kombucha adalah enlenmeyer 500 ml, falkon, mikropipet 100 µl, mikropipet 1000 µl, cawan petri, *bluetip*, *yellowtip*, ose, tabung reaksi, bunsen, *color reader*, vortex, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, buret, pH meter, spektrofotometer, timbangan digital, *beaker glass*, kertas saring halus, pipet tetes, pipet ukur 1 ml, pipet ukur 10 ml, bulb, labu ukur 10 ml, labu ukur 100 ml, masker, sarung tangan, plastik sterilisasi, karet dan korek api.

3.2.2 Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit apel manalagi kering. Bahan yang digunakan untuk membuat kombucha kulit apel adalah starter kombucha yang diperoleh dari Indokombucha daerah Bandung (Jawa Barat), gula pasir (sukrosa), teh hitam sebagai kontrol, dan air. Bahan yang digunakan dalam analisa adalah sukrosa, aquades, aluminium foil, plastik, alkohol 70%, asam oksalat, indikator PP, etanol 96%, H₂SO₄, anthrone, NaOH 0,1 N, buffer pH4,0, buffer pH 7,0, DPPH 0,2 mM dalam etanol, Na₂CO₃, reagen folin ciocalteau, kertas coklat yang didapat dari Laboraturium Kimia dan Biokimia Pangan Jurusan

Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Toko Kridatama dan Toko Kimia Makmur Sejati Malang.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang menggunakan 2 faktor yaitu penambahan kulit apel yang terdiri dari 3 level (2,5%, 5,0%, dan 7,5%) dan penambahan gula yang terdiri dari 2 level (10% dan 12,5%). Sehingga diperoleh 6 kombinasi perlakuan dengan 3 kali ulangan dan didapatkan 18 satuan percobaan.

Faktor I : Penambahan Kulit Apel (K)

K1 = 2,5%

K2 = 5,0%

K3 = 7,5%

Faktor II : Penambahan Gula (G)

G1 = 10%

G2 = 12,5 %

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Dua Faktor

Perlakuan	G1	G2
K1	K1G1	K1G2
K2	K2G1	K2G2
K3	K3G1	K3G2

Dari kedua faktor tersebut maka diperoleh kombinasi sebagai berikut:

K1G1 : Kombinasi penambahan kulit apel 2,5% dengan penambahan gula 10%

K1G2 : Kombinasi penambahan kulit apel 2,5% dengan penambahan gula 12,5%

K2G1 : Kombinasi penambahan kulit apel 5,0% dengan penambahan gula 10%

K2G2 : Kombinasi penambahan kulit apel 5,0% dengan penambahan gula 12,5%

K3G1 : Kombinasi penambahan kulit apel 7,5% dengan penambahan gula 10%

K3G2 : Kombinasi penambahan kulit apel 7,5% dengan penambahan gula 12,5%

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Kombucha Kulit Apel

Tahapan dalam membuat kombucha kulit apel yaitu sebagai berikut (modifikasi Naland, 2004) :

1. Limbah kulit apel manalagi dicuci dan dipotong kecil-kecil, kemudian dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* selama 6 jam \pm 5 menit.
2. Air 1 liter direbus hingga mendidih. Perebusan bertujuan untuk membunuh mikroorganisme yang ada dalam air.
3. Kulit apel kering sesuai dengan perlakuan (2,5%, 5,0% dan 7,5%) dimasukkan kedalam air mendidih dan didiamkan selama 20 menit. Pendiaman selama 20 menit bertujuan agar komponen dalam kulit apel dapat terekstraksi.
4. Seduhan kulit apel kemudian disaring untuk memisahkan air seduhan dengan kulit apel, dimana kulit apel dibuang dan cairannya digunakan untuk tahap proses selanjutnya.
5. Tambahkan gula kedalam air seduhan sesuai dengan perlakuan (10% dan 12,5%) kedalam seduhan kulit apel dan dilakukan pengadukan hingga gula larut.
6. Seduhan kulit apel kemudian didinginkan pada suhu $25\pm 2^{\circ}\text{C}$. Pendinginan bertujuan untuk memberikan suhu yang tepat bagi starter kombucha sehingga dapat tumbuh dan melakukan fermentasi.
7. Seduhan kulit apel selanjutnya dipindahkan kedalam toples kaca steril dan dimasukkan starter kombucha cair 10% (v/v).
8. Toples kaca ditutup dengan kain bersih agar terhindar dari kotoran, nyamuk, lalat dan debu. Kemudian diikat dengan karet gelang.
9. Fermentasi dilakukan pada suhu ruang hingga hari ke 10, kemudian dianalisis. Selama proses fermentasi toples kaca sebaiknya tidak digoyang-goyang, tidak terkena panas dan tidak dipindah-pindah.
10. Setelah fermentasi selesai, kombucha disaring dan siap untuk dikonsumsi. Penyaringan dilakukan untuk memisahkan cairan dengan nata yang terbentuk selama proses fermentasi.

3.4.2 Pengamatan

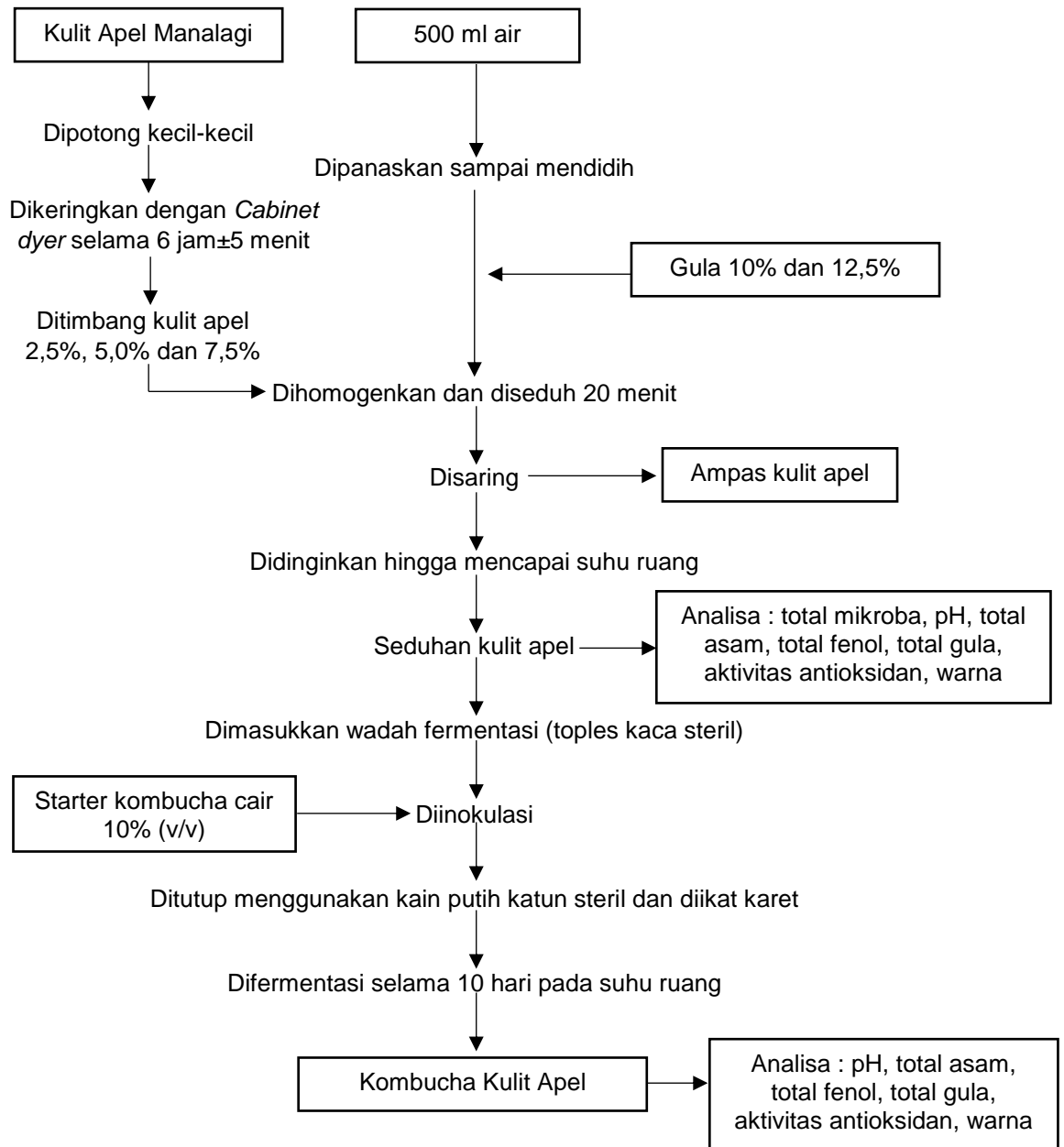
Pengamatan yang dilakukan pada kombucha dari kulit apel meliputi :

1. Analisa pH (Apriyantono *et al.*, 1989)
2. Analisa total asam (modifikasi Apriyantono *et al.*, 1989)
3. Analisa total fenol (Strycharz dan Shetty, 2002)
4. Analisa total gula (modifikasi Apriyantono *et al.*, 1989)
5. Analisa aktivitas antioksidan metode DPPH (Hatano *et al.*, 1989)
6. Analisa warna (Yuwono dan Susanto, 1998)
7. Uji Organoleptik (Rahayu, 2001)

3.5 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisa ragam menggunakan ANOVA dengan selang kepercayaan 5% kemudian dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) apabila beda nyata dan jika terdapat interaksi antara kedua faktor maka dilanjutkan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*). Pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode Zeleny. Perbandingan nilai antara perlakuan terbaik dengan kontrol dianalisis menggunakan uji T dengan taraf 5%.

3.6 Diagram Alir Pembuatan Kombucha dari Kulit Apel



Gambar 3.1 Diagram alir proses pembuatan kombucha dari kulit apel (modifikasi Naland, 2004)