

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan, serta Laboratorium Pengolahan dan Rekayasa Proses Pangan dan Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan mulai Februari 2017 hingga Juni 2017.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada proses pembuatan kombucha dari salak Suwaru adalah timbangan digital (Metler Denver AA 200), termometer, gelas ukur, *beaker glass* 500 ml, pipet ukur, blender, spatula, corong, kompor listrik, pengaduk, toples kaca, kain katun putih, kain saring, karet gelang dan sarung tangan. Alat yang digunakan untuk analisa produk kombucha adalah spektrofotometer (Unico, UV-2100 *Spectrophotometer*), timbangan analitik (Ohaus), autoklaf (TOMMY), inkubator (Binder), *color reader* (Minolta CR-10), oven (Binder), mikropipet 100 μ l (Gilson), mikropipet 1000 μ l (Gilson), mikrotip (*bluetip*, *yellowtip*), pH meter (Hanna), *colony counter* (WTW BZG 30), *laminar air flow* (Lokal), kompor listrik (Maspion), buret dan statif, vortex, labu ukur 100 ml, labu ukur 50 ml, labu ukur 10 ml, erlenmeyer 250 ml, tabung reaksi, *beaker glass*, pipet ukur, pipet tetes, dan kertas saring.

3.2.2 Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah salak yang didapatkan dari Desa Suwaru, Kecamatan Gondanglegi, Kabupaten Malang. Sedangkan untuk kontrol, bahan baku yang digunakan adalah teh hitam merek "Goalpara". Bahan untuk pembuatan kombucha dari salak Suwaru yaitu gula pasir merek "Gulaku" dan starter kombucha yang dibeli dari Indokombucha Bandung. Mikroorganisme yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri, yaitu *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Bahan yang digunakan untuk analisa adalah *Nutrient Agar*, *Nutrient Broth*, *Potato Dextrose Agar* yang

diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya Malang, akuades, indikator PP, alkohol 70%, buffer pH 4,0, buffer pH 7,0 yang diperoleh dari Toko Kridatama, sukrosa, reagen Folin ciocalteau, $AlCl_3$, $NaNO_2$, aluminium foil, plastik yang diperoleh dari Toko Kimia Amani Malang, asam oksalat, $NaOH$ 0,1 N, H_2SO_4 , anthrone, Na_2CO_3 yang diperoleh dari Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang menggunakan 2 faktor, yaitu konsentrasi gula dan konsentrasi kultur. Faktor konsentrasi gula terdiri dari 2 variasi, yaitu gula 7,5% (b/v), dan 10% (b/v). Sedangkan untuk faktor konsentrasi kultur terdiri dari 3 variasi, yaitu 5% (v/v), 7,5% (v/v) dan 10% (v/v). Sehingga diperoleh 6 kombinasi dengan 3 kali ulangan dan diperoleh 18 satuan percobaan.

Faktor I = Konsentrasi gula (G)

G1 = gula 7,5% (b/v)

G2 = gula 10% (b/v)

Faktor II = Konsentrasi Kultur (K)

K1 = kultur 5% (v/v)

K2 = kultur 7,5% (v/v)

K3 = kultur 10% (v/v)

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Dua Faktor

| Perlakuan | K1 | K2 | K3 |
|-----------|------|------|------|
| G1 | G1K1 | G1K2 | G1K3 |
| G2 | G2K1 | G2K2 | G2K3 |

Dari kedua faktor tersebut maka diperoleh kombinasi sebagai berikut:

G1K1: Kombinasi konsentrasi gula 7,5% (b/v) dengan konsentrasi kultur 5% (v/v)

G1K2: Kombinasi konsentrasi gula 7,5% (b/v) dengan konsentrasi kultur 7,5% (v/v)

G1K3: Kombinasi konsentrasi gula 7,5% (b/v) dengan konsentrasi kultur 10% (v/v)

G2K1: Kombinasi konsentrasi gula 10% (b/v) dengan konsentrasi kultur 5% (v/v)

G2K2: Kombinasi konsentrasi gula 10% (b/v) dengan konsentrasi kultur 7,5% (v/v)

G2K3: Kombinasi konsentrasi gula 10% (b/v) dengan konsentrasi kultur 10% (v/v)

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Tahapan pembuatan kombucha dari salak Suwaru adalah sebagai berikut (modifikasi Zubaidah dan Dewantari, 2016):

1. Salak Suwaru dikupas, biji dan kulitnya dibuang. Kemudian daging buah salak dicuci dengan air mengalir.
2. Salak Suwaru ditimbang sebanyak 400 gram menggunakan timbangan.
3. Salak Suwaru dimasukkan ke dalam blender, lalu ditambahkan aquades sebanyak 400 ml dan diblender selama 25 detik.
4. Bubur buah salak Suwaru disaring dengan kain saring untuk memisahkan ampas salak dengan cairannya, dimana ampas nya dibuang sedangkan cairannya digunakan untuk tahap proses selanjutnya, sehingga didapatkan sari salak Suwaru.
5. Sari salak Suwaru diambil sebanyak volum tertentu sesuai perlakuan dan dimasukkan ke dalam gelas beaker 500 ml. Kemudian ditambahkan gula pasir dengan jumlah konsentrasi sesuai perlakuan (7,5% dan 10%) dan diaduk hingga larut. Jumlah sari salak Suwaru dan gula yang digunakan dapat dilihat pada **Tabel 3.2**.
6. Campuran sari salak Suwaru dan gula dipasteurisasi dengan suhu 65°C selama 30 menit menggunakan kompor listrik.
7. Sari salak didinginkan pada suhu ruang hingga suhunya mencapai sekitar 25±2°C. Kemudian sari salak dimasukkan ke dalam toples kaca.
8. Ditambahkan kultur cair kombucha dengan konsentrasi sesuai perlakuan (5%, 7,5%, dan 10%). Jumlah kultur yang ditambahkan dapat dilihat pada **Tabel 3.2**.
9. Toples kaca ditutup dengan kain putih dan diikat dengan karet gelang.
10. Difermentasi selama 14 hari pada suhu ruang. Selama fermentasi produk tidak boleh digoyang-goyang, dipindah-pindah, dan terkena sinar matahari langsung.

Tabel 3.2 Jumlah Sari Salak Suwaru, Gula, dan Kultur yang Digunakan Pada Setiap Perlakuan

| Perlakuan | Sari Salak Suwaru (ml) | Gula (g) | Kultur (ml) |
|-----------|------------------------|----------|-------------|
| G1K1 | 437,5 | 37,5 | 25 |
| G1K2 | 425 | 37,5 | 37,5 |
| G1K3 | 412,5 | 37,5 | 50 |
| G2K1 | 425 | 50 | 25 |
| G2K2 | 412,5 | 50 | 37,5 |
| G2K3 | 400 | 50 | 50 |

3.5 Pengamatan dan Analisa Data

3.5.1 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan pada kombucha salak meliputi :

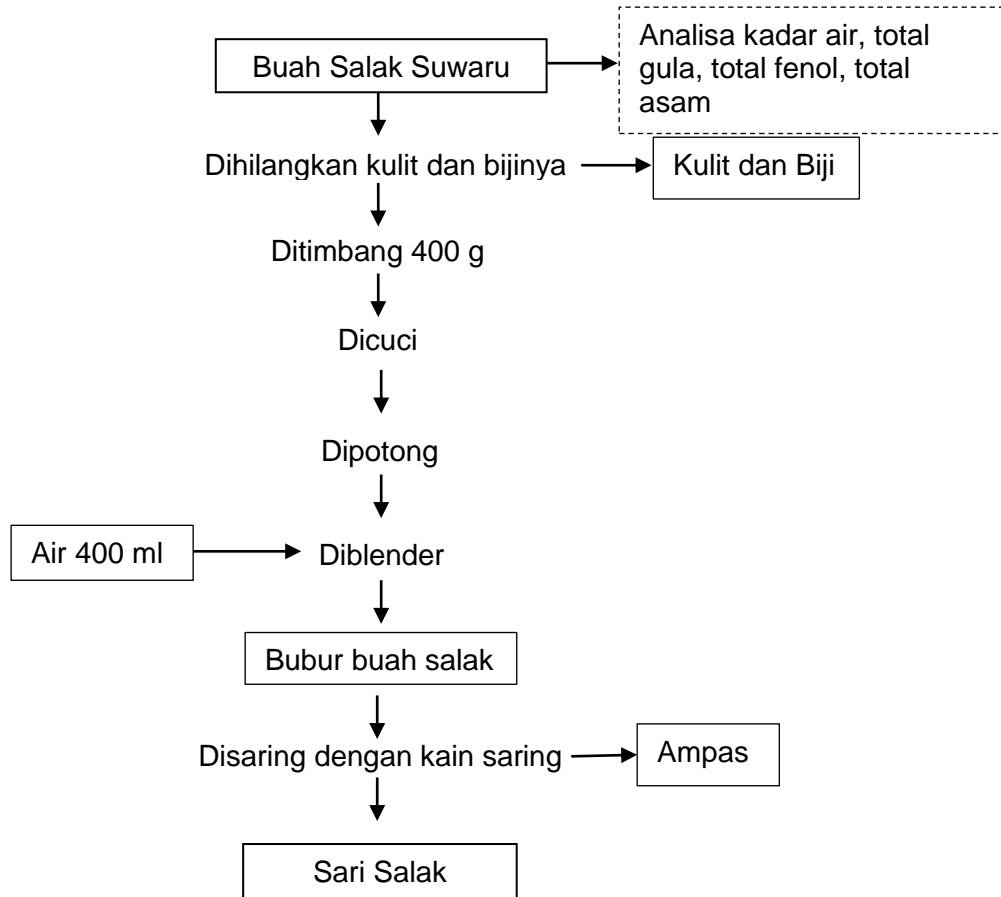
1. Analisa total asam (Apriyantono *et al.*, 1989)
2. Analisa total bakteri dan khamir (Fardiaz, 1992)
3. Analisa pH (Apriyantono *et al.*, 1989)
4. Analisa total gula (Apriyantono *et al.*, 1989)
5. Analisa total fenol (Prangdimurti, 2009)
6. Analisa total flavonoid (Atanassova *et al.*, 2011)
7. Analisa antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (modifikasi Wolf dan Gibbon, 1996)
8. Analisa warna (Yuwono dan Susanto, 1998)
9. Uji organoleptik (Rahayu, 2001)

3.5.2 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisa menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) metode RAK faktorial dengan menggunakan *software* minitab 16. Apabila hasil uji menunjukkan terdapat beda nyata, maka dilakukan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) atau DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dengan selang kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Pemilihan perlakuan terbaik menggunakan metode *Multiple Attribute Zeleny* (Zeleny, 1992). Perbandingan nilai antara perlakuan terbaik dan kontrol dianalisis menggunakan uji T dengan taraf 95%.

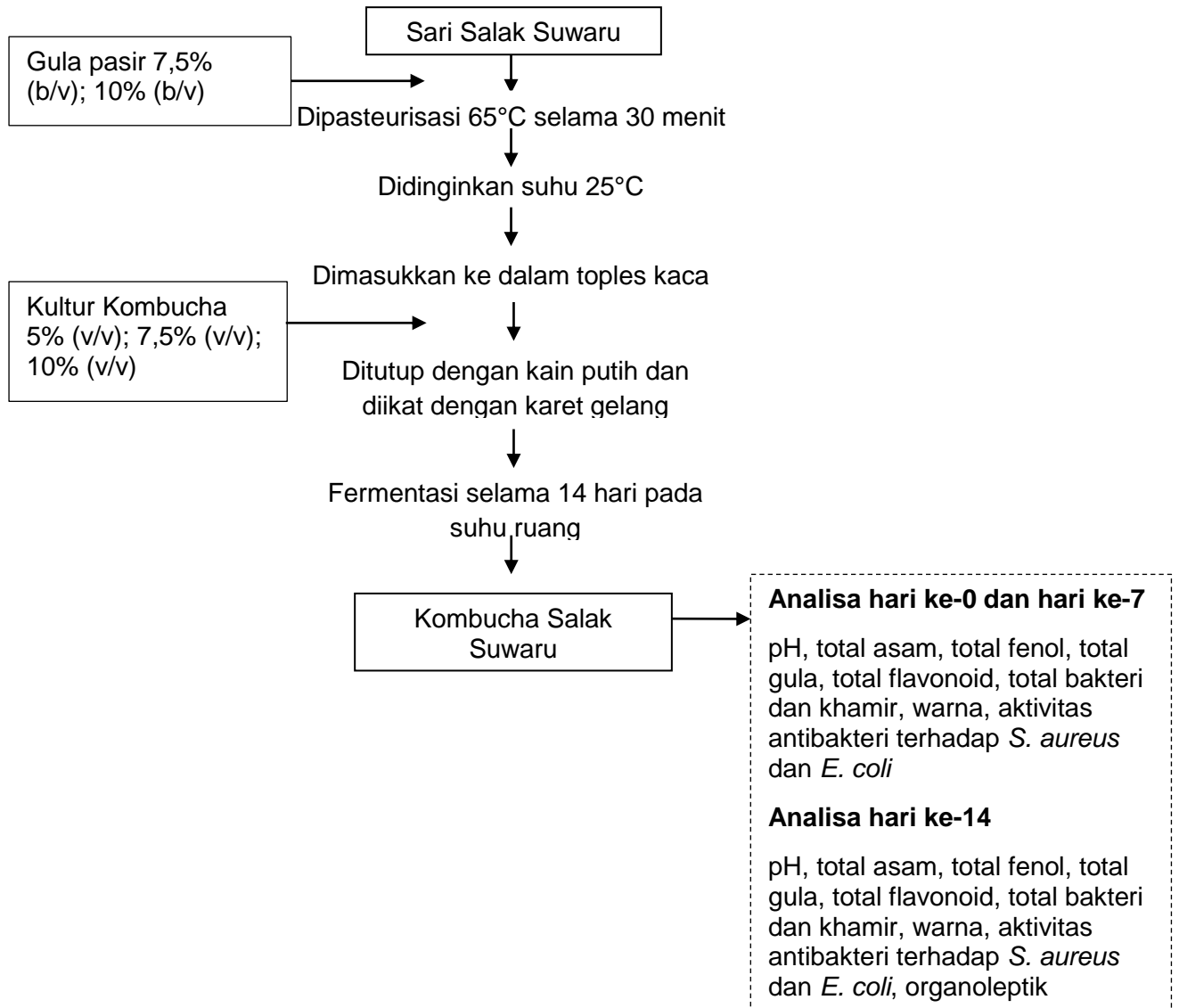
3.6 Diagram Alir

3.6.1 Pembuatan Sari Salak



Gambar 3.1 Pembuatan Sari Salak Suwaru (Modifikasi Zubaidah dan Dewantari, 2016)

3.6.2 Pembuatan Kombucha Salak Suwaru



Gambar 3.2 Pembuatan Kombucha dari Sari Salak Suwaru (Modifikasi Zubaidah dan Dewantari, 2016)