

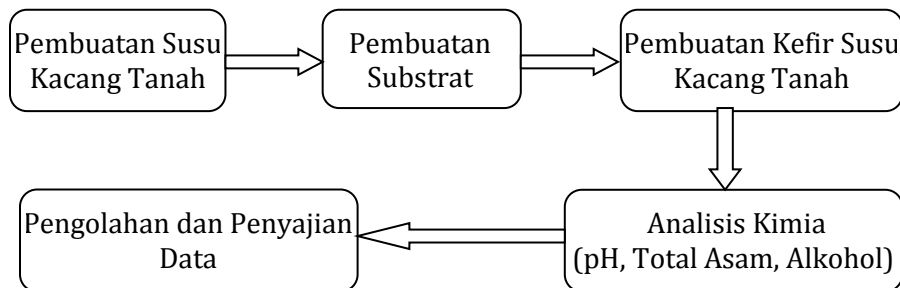
BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Pendekatan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Menurut Wiersma (seperti dikutip dalam Emzir, 2008), eksperimen didefinisikan sebagai situasi penelitian yang memiliki minimal satu variabel bebas, yang sengaja dimanipulasi oleh peneliti. Gay (seperti dikutip dalam Emzir, 2008), menyatakan bahwa metode penelitian eksperimental merupakan satu-satunya metode penelitian yang dapat menguji secara benar hipotesis menyangkut hubungan kausal (sebab akibat). Dalam studi eksperimental, peneliti memanipulasi paling sedikit satu variabel, mengontrol variabel lain yang relevan dan mengobservasi pengaruhnya terhadap satu atau lebih variabel terikat.

Jenis pendekatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pendekatan eksperimental laboratorium. Pelaksanaan penelitian dilakukan melalui lima tahap, yaitu pembuatan susu kacang tanah, pembuatan substrat, pembuatan susu kacang tanah, analisis kimia (pH, total asam dan alkohol) dan pengolahan dan penyajian data. Diagram alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Diagram Alur Penelitian

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai September 2016 pada dua tempat yang berbeda, yaitu:

1. Tempat penelitian untuk produksi kefir kacang tanah, uji kadar asam laktat dengan metode titrasi dan uji pH dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.
2. Tempat penelitian untuk uji kadar alkohol dengan metode piknometer dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan untuk membuat starter adalah pemanas listrik, tabung reaksi, labu erlenmeyer, pengaduk kaca, pipet ukur, timbangan analitik digital, autoklaf dan inkubator, *beaker glass*, corong, lampu bunsen, dan alumunium foil. Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan susu kacang tanah adalah kompor gas, panci, blender, saringan, dan gelas ukur. Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan kefir susu kacang tanah adalah labu erlenmeyer 250 ml, timbangan analitik digital, gelas ukur 25 ml, labu bunsen, dan alumunium foil. Alat-alat yang digunakan dalam analisis mutu kimia adalah biuret, labu erlenmeyer, labu ukur 100 ml, pipet tetes, pipet ukur 10 ml, labu destilasi, piknometer, dan pH meter

2. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang tanah, susu skim, glukosa, inokulum kefir yang diperoleh dari *home industry* Omah Kefir, Ungaran, Semarang. Bahan-bahan yang digunakan dalam analisis mutu kimia adalah kefir susu kacang tanah, NaOH 0,1 dan indikator PP (*Phenol Ptyalin*).

D. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Pembuatan Susu Kacang Tanah
 - a. Kacang tanah sebanyak 7500 g disortasi, dicuci lalu direndam dalam air dingin pada suhu ruang (26° - 28°C) dengan perbandingan larutan perendaman dan kacang tanah 3:1 selama 8 jam.
 - b. Kulit kacang dikupas, dihancurkan dengan blender, perbandingan air : kacang tanah adalah 8 liter air : 1 kg kacang tanah.
 - c. Kacang disaring dengan kain saring untuk memperoleh filtrat atau susu kacang yang murni.
2. Pembuatan Subtrat Fermentasi Kefir Susu Kacang Tanah
 - a. Susu kacang tanah sebanyak 1710 ml, 1620 ml, dan 1530 ml, masing-masing ditambahkan 90 ml, 180 ml, dan 270 ml susu skim (Aini, Suranto, dan Setyaningsih, 2003)
 - b. Susu kacang tanah dan susu skim dicampur menggunakan pengaduk plastik sehingga masing-masing diperoleh volume campuran susu kacang tanah dan susu skim sebesar 1800 ml.
 - c. Campuran susu kacang tanah dan susu skim diaduk agar tercampur rata.

- d. Susu kacang tanah dipasteurisasi selama 5 menit dengan suhu 95°C untuk membunuh patogen (Aini, 2003).
3. Pembuatan Kefir Susu Kacang Tanah
 - a. Inokulum kefir diinokulasikan sebanyak 2%, 4%, dan 6% ke dalam masing-masing botol kaca yang berisi 200 ml substrat fermentasi susu kacang tanah yang telah didinginkan pada suhu 22°C .
 - b. Substrat fermentasi dan inokulum yang telah tercampur diinkubasi selama 20 jam.
 - c. Dilakukan pengamatan sampel (Kosikowski, 1982).
4. Pengukuran Kadar Asam Laktat Kefir Susu Kacang Tanah

Kadar asam laktat diukur menggunakan tetrimeter (Hadiwiyoto, 1982)

 - a. Sampel sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml.
 - b. Sampel ditambahkan aquades sampai tanda batas lalu dihomogenkan dan disaring.
 - c. Filtrat diambil 10 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan indikator PP 2 – 3 tetes.
 - d. Filtrat tersebut dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N (yang telah distandarisasi terlebih dahulu dengan Asam Oksalat dan diperoleh hasil NaOH 0,1058 N) sampai terbentuk warna merah muda. Pembacaan skala dilakukan pada saat warna

merah muda terbentuk yang pertama kali dan bertahan sampai beberapa saat. Kadar total asam diperoleh dari rumus perhitungan di bawah ini:

$$\text{Total Asam (\%)} = \frac{\text{volume NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \frac{100}{10} \times 90}{\text{Volume bahan (ml)}} \times 100\%$$

5. Pengukuran Kadar Alkohol Kefir Susu Kacang Tanah

Kadar alkohol dianalisis menggunakan piknometer (Anonim, 1990)

- a. Sampel sebanyak 25 ml ditambahkan 50 ml aquades dan dimasukkan ke dalam labu destilasi.
- b. Wadah penampung diisi 10 ml aquades.
- c. Destilasi dilakukan sampai volume di wadah penampung terisi 20 ml kemudian dilakukan pengukuran berat jenis sampel :

$$\text{Berat jenis} = \frac{X2 - X1}{X3 - X1}$$

Keterangan :

X1 : berat piknometer kosong

X2 : berat piknometer + sampel

X3 : berat piknometer + aquades

6. Pengukuran pH Kefir Kacang Tanah

pH kefir kacang tanah diukur menggunakan pH meter (Apriyanto *et al.*, 1989).

- a. Alat pH meter dinyalakan dan dibiarkan 15-30 menit.
- b. Pengatur suhu pH meter diatur sesuai dengan suhu larutan buffer.
- c. Elektroda pH meter dibilas dengan larutan buffer atau aquades kemudian dikeringkan dengan kertas tisu jika digunakan aquades.
- d. Elektroda dicelupkan dalam larutan buffer, pH meter diatur pada pengukuran pH.
- e. pH meter dibiarkan beberapa saat sampai jarum stabil.
- f. Tombol kalibrasi diputar sampai jarum pH meter menunjukkan angka yang sama dengan pH larutan buffer.
- g. Standarisasi dilakukan pada pH 4 dan 7 kemudian dilakukan pengukuran pH contoh.
- h. Suhu contoh (kefir susu kacang tanah) diukur dan pengatur pH meter diatur pada suhu terukur.
- i. Elektroda dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan kertas tisu.
- j. Elektroda dicelupkan pada contoh dan pH meter diatur pada pengukuran pH.
- k. Elektroda dibiarkan beberapa saat sampai jarum pH meter stabil.
- l. Jarum pH meter menunjukkan pH contoh.

E. Desain Eksperimen

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap pola faktorial 3×3 dengan 2 kali ulangan. Faktor A adalah variasi bahan baku (5% v/v, 10% v/v, 15% v/v) dan Faktor B adalah inokulum (2%, 4% dan 6%). Faktor A dan B kemudian dikombinasi sehingga diperoleh rancangan percobaan seperti pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Rancangan Percobaan

Variasi Bahan Baku	Inokulum			
		F1	F2	F3
	G1	G1F1	G2F1	G3F1
	G2	G1F2	G2F2	G3F2
	G3	G1F3	G2F3	G3F3

Keterangan:

G1F1: Konsentrasi variasi bahan baku 5% v/v konsentrasi inokulum 2 %

G1F2: Konsentrasi variasi bahan baku 5% v/v konsentrasi inokulum 4 %

G1F3: Konsentrasi variasi bahan baku 5% v/v konsentrasi inokulum 6 %

G2F1: Konsentrasi variasi bahan baku 10% v/v konsentrasi inokulum 2 %

G2F2: Konsentrasi variasi bahan baku 10% v/v konsentrasi inokulum 4%

G2F3: Konsentrasi variasi bahan baku 10% v/v konsentrasi inokulum 6 %

G3F1: Konsentrasi variasi bahan baku 15% v/v konsentrasi inokulum 2 %

G3F2: Konsentrasi variasi bahan baku 15% v/v konsentrasi inokulum 4 %

G3F3: Konsentrasi variasi bahan baku 15% v/v konsentrasi inokulum 6 %

F. Analisis Data

Berdasarkan hasil pengukuran rata-rata asam laktat, alkohol dan pH yang dihasilkan dari variasi kadar susu skim pada bahan baku dan inokulum kefir kacang tanah, data tersebut dimasukkan padatable data sebagai berikut:

Tabel 3.2 Analisis Data terhadap Mutu Kimia (pH, Kadar Asam Laktat, dan Kadar Alkohol) Kefir Kacang Tanah (Hanafiah, 2008)

Variasi Bahan Baku (G)	Inokulum (F)	Ulangan		Jumlah Perlakuan	Rataan Perlakuan
		1	2		
G1	F1	...	...	...	...
	F2	...	...	...	...
	F3	...	...	...	...
G2	F1	...	...	...	...
	F2	...	...	...	...
	F3	...	...	...	...
G3	F1	...	...	...	...
	F2	...	...	...	...
	F3	...	...	...	...
Jumlah Umum (G)					...
Rataan Umum					...

Data yang telah diambil kemudian dianalisis dengan analisis sidik ragam (ANOVA). ANOVA merupakan suatu uji yang dilakukan untuk membandingkan tiga atau lebih kelompok data kontinu atau independen. ANOVA ini dimaksudkan untuk menguji hipotesis tentang pengaruh variasi kadar susu skim pada bahan baku, konsentrasi inokulum serta interaksinya

terhadap keragaman data hasil percobaan yaitu mutu kimia (pH, kadar asam laktat, dan kadar alkohol) kefir kacang tanah. Apabila hasil uji F dinyatakan signifikan maka perlu dilakukan pengujian selanjutnya yaitu *Uji Jarak Ganda Duncan* (UJGD) pada taraf 5% (Gomez dan Gomez, 1995). Serangkaian perhitungan yang dibutuhkan untuk menganalisa data adalah sebagai berikut:

1. Analisis Varians

Dalam memudahkan pengujian, maka ANOVA ini dilakukan dalam suatu daftar ANOVA sebagai berikut:

Tabel 3.3 Daftar Analisis Varians Pengaruh Variasi Susu Skim pada Bahan Baku dan Konsentrasi Inokulum Kefir Kacang Tanah menurut RAL Faktorial

Sumber Keragaman	Derajat bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F tabel	
					5%	1%
Perlakuan	$ab - 1$					
Variasi Bahan Baku (A)	$a - 1$					
Inokulum (B)	$b - 1$					
Interaksi AB	$(a - 1)(b - 1)$					
Galat	$(r - 1)ab$					
Umum	$rab - 1$					

Sumber: Gomes and Gomes, 1995

Keterangan :

a : banyaknya perlakuan variasi bahan baku

b : banyaknya perlakuan inokulum

r : banyaknya kelompok / ulangan

Tabel 3.4 Hasil Kombinasi Perlakuan Faktorial 3 x 3 dari Tiga Taraf Susu Skim dan Tiga Taraf Inokulum Kefir Kacang Tanah

Variasi Bahan Baku (A)	Inokulum (B)			Jumlah A	Rataan A
	F1	F2	F3		
G1	8,900	9,000	8,500	26,400	4,400
G2	9,300	9,300	9,300	27,900	4,650
G3	9,000	8,800	8,700	26,500	4,417
Jumlah B	27,200	27,100	26,500	80,800	
Rataan B	4,533	4,517	4,418		

Berdasarkan tabel diatas dapat dihitung sebagai berikut:

a Faktor Koreksi

$$FK = \frac{(G)^2}{abr}$$

b Jumlah Kuadrat (JK)

$$JK \text{ Umum} = \sum X^2 - FK$$

$$JK \text{ Perlakuan} = \frac{\sum T^2}{r} - FK$$

$$JK \text{ Galat} = JK \text{ umum} - JK \text{ perlakuan}$$

$$JK \text{ Variasi Bahan Baku (A)} = \frac{\sum A^2}{rb} - F.K$$

$$JK \text{ Inokulum (B)} = \frac{\sum B^2}{ra} - F.K$$

$$JK \text{ Interaksi AB} = JK \text{ perlakuan} - JK A - JK B$$

c KT = Kuadrat Tengah

$$KT \text{ Perlakuan} = \frac{JK \text{ perlakuan}}{db \text{ perlakuan}}$$

$$KT \text{ Galat} = \frac{JKGalat}{dbGalat}$$

$$KT A = \frac{JK A}{db a}$$

$$KT B = \frac{JK B}{db b}$$

$$KT \text{ Interaksi AB} = \frac{JKAB}{dbAB}$$

d F_{hitung}

$$F_{hitung} \text{ Perlakuan} = \frac{KT \text{ perlakuan}}{KT \text{ Galat}}$$

$$F_{hitung} \text{ Variasi Bahan Baku (A)} = \frac{KT A}{KT \text{ Galat}}$$

$$F_{hitung} \text{ Inokulum (B)} = \frac{KT B}{KT \text{ Galat}}$$

$$F_{hitung} \text{ Interaksi AB} = \frac{KT AB}{KT \text{ Galat}}$$

e Koefisien keragaman (kk)

$$Kk = \frac{\sqrt{KT_{galat}}}{Rataan\ umum} \times 100$$

2. Uji Jarak Ganda Duncan (UJGD)

Prosedur UJGD ini adalah:

- a. Menentukan nilai KTG dan derajat bebasnya yang diperoleh dari Tabel Analisis Ragam
- b. Menentukan nilai kritisnya dari tabel wilayah nyata student yang didasarkan pada derajat bebas galat dan banyaknya perlakuan yang akan dibandingkan
- c. Menghitung wilayah nyata terpendek (R_p)

$$R_p = \frac{(r_p) \cdot (S^{-d})}{\sqrt{2}} , \text{ nilai } S^{-d} = \sqrt{\frac{2 \cdot KTG_{Galat}}{rb}}$$

G. Definisi Operasional

1. Optimal

Indikator optimal dalam setiap uji apabila (a) pH dalam kisaran 4 – 4,65, (b) kadar asam laktat dalam kisaran 0,3% - 1,3%, (c) kadar alkohol dalam kisaran 0,5% - 1,0%.

2. Koefisien Keragaman (KK)

Jika KK semakin kecil maka derajat kejutuan dan keandalan data akan semakin tinggi.

3. Kefir Kacang Tanah

Kefir kacang tanah adalah hasil fermentasi dari variasi bahan baku yang terdiri susu kacang tanah dan susu skim. Fermentasi ini menggunakan bibit kefir (inokulum).

4. Susu Skim

Susu skim digunakan sebagai variasi bahan baku pembuatan kefir kacang tanah dengan perbedaan perlakuan yaitu 5%, 10%, dan 15% dari volume kefir kacang tanah.

5. Inokulum

Inokulum merupakan kultur mikroba yang jumlahnya sekitar 40-60 jenis mikroba yang diinokulasikan ke dalam medium fermentasi kefir kacang tanah. Perbedaan perlakuan yang digunakan sebanyak 2%, 4%, dan 6% dari volume kefir kacang tanah.

6. Kadar Asam Laktat

Persentase asam laktat yang terdapat pada kefir kacang tanah yang diukur menggunakan titrasi, dalam persen.

7. Kadar Alkohol

Persentase alkohol yang diukur dengan metode destilasi, dalam persen.

8. pH

pH kefir kacang tanah yang diukur dengan menggunakan alat pH meter.