**III BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN**

Bab ini akan menguraikan mengenai : (1) Bahan dan Alat yang Digunakan, (2) Metode Penelitian dan (3) Deskripsi Percobaan.

**3.1. Bahan dan Alat Yang Digunakan**

Bahan-bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun katuk hijau dengan umur panen setiap 30-45 hari, jeruk lemon, sukrosa, *Carboxyl Methyl Cellulosa* (CMC) dan air.

 Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah formalin 40%, Kalium Oksalat, *Phenolptalein*, NaOH 0,1 N, aquadest, Luff, HCl 9,5 N, H2SO4, KI, Na2S2O3 0,1 N, amylum, NaOH 30%, *Buffer Peptone Water*, Na2CO3, folin-ciocalteau dan metanol.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, pipet, erlenmeyer, spektrofotometri, alat sentrigugasi, gelas kimia, tabung reaksi, saringan, pemeras jeruk, labu ukur, cawan petri, timbangan, buret, statif, pipet volumetri, corong, lemari pendingin, kompor, kertas saring, panci dan inkubator.

**3.2. Metode Penelitian**

**3.2.1.Penelitian Pendahuluan**

Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk menentukan perlakuan-perlakuan yang paling baik untuk *mix juice* daun katuk dengan jeruk lemon yang kemudian akan digunakan pada penelitian utama. Adapun yang dilakukan dalam penelitian pendahuluan adalah menentukan jumlah perbandingan filtrat daun katuk dengan filtrat jeruk lemon. Penelitian pendahuluan ini akan dilakukan respon pengamatan secara uji organoleptik dengan menggunakan metode hedonik oleh 15 orang panelis, untuk menentukan jumlah perbandingan filtrat daun katuk dengan filtrat jeruk lemon terhadap warna, aroma dan rasa yang terbaik dan analisis kandungan kimia seperti protein dan senyawa polifenol. Hasil dari pengujian tersebut pada penelitian pendahuluan ini kemudian ditetapkan jumlah perbandingan filtrat daun katuk dengan filtrat jeruk lemon yang terbaik untuk penelitian utama.

**3.2.2.Penelitian Utama**

Penelitian utama ini terdiri dari rancangan perlakuan, rancangan percobaan, rancangan analisis, dan rancangan respon.

3.2.1.1. Rancangan Perlakuan

Pada penelitian utama ditentukan pengaruh jumlah penambahan sukrosa untuk mendapatkan *mix juice* yang baik. Jumlah penambahan sukrosa yang digunakan adalah (s1) 10%, (s2) 15%, (s3) 20%, sedangkan untuk pengaruh lama penyimpanan adalah (p1) 1 minggu , (p2) 2 minggu, (p3) 3 minggu dan (p4) 4 minggu.

3.2.2.2. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan faktorial 3 x 4 dengan 2 kali pengulangan, sehingga diperoleh 24 kali kombinasi perlakuan.

Faktor S : Pengaruh jumlah sukrosa terdiri dari 3 taraf adalah sebagai berikut :

s1 = 10%

s2 = 15%

s3 = 20%

Faktor P : Lama penyimpanan *mix juice* terdiri dari 4 taraf adalah sebagai berikut:

p1 = 1 minggu

p2 = 2 minggu

p3 = 3 minggu

p4 = 4 minggu

Matriks Percobaan Rancangan Acak Kelompok Faktorial 3 x 3 dan denah (*lay out*) perlakuan percobaan dalam mengumpulkan data dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 6. Matriks Percobaan Rancangan Acak Kelompok Faktorial

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Jumlah sukrosa (S)** | **Lama Penyimpanan (P)** | **Kelompok** |
| **1** | **2** |
| s1(10%) | p1p2 p3 p4 | s1p1 s1p2 s1p3s1p4 | s1p1 s1p2 s1p3s1p4 |
| s2(15%) | p1p2 p3 p4 | s2p1 s2p2 s2p3s2p4 | s2p1 s2p2 s2p3s2p4 |
| s3(20%) | p1p2 p3 p4 | s3p1 s3p2 s3p3s3p4 | s3p1 s3p2 s3p3s3p4 |
| **Total Perlakuan** |  |  |  |

(Sumber : Gaspersz, 1995)

Model statistik yang digunakan adalah :

Yijk = µ + Kk + Ai + Bj + (AB)ij + ∑ijk

Dimana :

Yijk = Hasil pengamatan dari kelompok ke-i yang memperoleh taraf ke-i dari

 faktor A (jumlah sukrosa pada *mix juice*)

 dan taraf ke-j dari faktor B (lama penyimpanan).

µ = Rata-rata umum yang sebenarnya

Kk = Efek taraf kelompok ke-k

Ai = Efek taraf ke-i faktor jumlah sukrosa

Bj = Efek taraf ke-j faktor lama penyimpanan

(AB)ij  = Efek interaksi antara taraf ke-i faktor jumlah sukrosa dan taraf ke-j lama penyimpanan.

∑ijk = Efek galat percobaan pada kelompok ke-k yang memperoleh taraf ke-i

 faktor A (jumlah sukrosa)

 dan taraf ke-j faktor B (lama penyimpanan)

i = 1, 2, 3 untuk variasi penambahan jumlah sukrosa

j = 1, 2, 3,4 untuk lama penyimpanan

Tabel 7. Denah (*Lay Out*)Rancangan Acak Kelompok Faktorial 3 x 4

Kelompok Ulangan I

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| s1p3 | s1p1 | s1p4 | s1p2 |
| s2p1 | s2p4 | s2p2 | s2p3 |
| s3p2 | s3p3 | s3p1 | s3p4 |

Kelompok Ulangan II

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| s1p1 | s1p4 | s1p3 | s1p2 |
| s2p1 | s2p4 | s2p2 | s2p3 |
| s3p4 | s3p2 | s3p3 | s3p1 |

3.2.2.3. Rancangan Analisis

Menggunakan data yang telah dikumpulkan dari hasil analisis diatas dapat dibuat tabel analisis varians (ANAVA), selanjutnya ditentukan daerah penolakan hipotesis, yaitu :

1. Ho ditolak, jika F hitung < F tabel, apabila jumlah sukrosa dan lama penyimpanan tidak berpengaruh terhadap karakteristik *mix juice*, sehingga tidak perlu dilakukan uji lanjut.
2. Ho diterima, jika F hitung > F tabel, apabila jumlah sukrosa dan lama penyimpanan berpengaruh terhadap karakteristik *mix juice*, sehingga perlu dilakukan uji lanjut untuk mengetahui sejauh mana perbedaan dari masing-masing perlakuan dengan menggunakan uji Duncan taraf 5 % (LSR *Test*) untuk mengetahui mana yang berbeda nyata (Gaspersz, 1995).

Tabel 8. Analisis Varians (Anava)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Sumber****Varians** | **db** | **JK** | **KT** | **F hitung** | **F tabel 5 %** |
| Kelompok | r – 1 | JKK | KTK | - | - |
| PerlakuanABAB | ab-1a-1b-1(a-1)(b-1) | -JK (A)JK (B)JK (AB) | -KT (A)KT (B)KT (AB) | -KT(A)/KTGKT(B)/KTGKT(AB)/KTG | ---- |
| Galat | (r-1)(ab-1) | JKG | KTG | - | - |
| Total | rab-1 | JKT | - | - | - |

Sumber : Gaspersz (1995)

Keterangan :

r = replikasi (ulangan)

t = perlakuan

A = jumlah sukrosa

B = lama penyimpanan

DB = derajat bebas

JK = jumlah kuadrat

KT = kuadrat tengah

Tabel 9. Uji Jarak Berganda Duncan

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **SSR** | **LSR** | **Rata-rata Perlakuan** | **Perlakuan** | **Taraf nyata** |
| 5 % | 5 % | Kode | rata-rata | 1 | 2 | 5 % |
|  |  |  |  |  |  |  |

(Sumber : Gaspersz, 1995).

Standar kekeliruan (Sy) = **

Σ perlakuan

Langkah-langkah perhitungan Uji Duncan adalah sebagai berikut:

1. Nilai tengah perlakuan disusun dalam urutan menaik.
2. Dihitung galat baku dari nilai tengah perlakuan.
3. Dihitung “wilayah nyata terpendek” (*shortest significant ranges*) untuk berbagai wilayah (*ranges*) dari nilai tengah.
4. Nilai tengah perlakuan dikelompokkan menurut nyata secara statistik.

3.2.2.4. Rancangan Respon

 Rancangan respon yang dilakukan pada penelitian ini meliputi :

1. Respon kimia

 Respon kimia yang dilakukan adalah analisis protein dengan metode formol, analisis gula total dengan metode *Luff Schrool* dan analisis polyfenol metode spektrofotmetri.

2. Respon mikrobiologi

Respon mikrobiologi dilakukan untuk mengetahui penentuan jumlah total mikroba dengan menggunakan metode *Total Plate Count* terhadap *mix juice* (Fardiaz, 1992).

3. Uji Organoleptik

 Uji organoleptik dilakukan untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis ibu-ibu menyusui terhadap *mix juice* daun katuk dengan jeruk lemon berdasarkan uji hedonik terhadap warna, aroma dan rasa. Uji organoleptik ini dilakukan dengan menggunakan metode *preference* (uji kesukaan) dimana kriteria pernilaiannya dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 10. Uji Organoleptik

|  |  |
| --- | --- |
| **Skala Hedonik** | **Skala Numerik** |
| Sangat disukaiDisukaiBiasaTidak disukaiSangat tidak disukai | 54321 |

(Sumber : Kartini, dkk., 1988).

 Penilaian panelis dicantumkan dalam formulir pengisian untuk uji organoleptik dan kemudian data yang didapat tersebut diolah dengan menggunakan perhitungan statistik non parameterik.

**3.3. Prosedur Percobaan**

Prosedur percobaan pada penelitian pembuatan *mix juice* daun katuk dan jeruk lemon adalah sebagai berikut :

* Daun katuk
1. Pemilihan bahan baku (sortasi)

 Daun katuk yang akan digunakan untuk pembuatan *mix juice* jenis daun katuk hijau muda dengan umur panen setiap 30-45 hari dan harus dalam keadaan baik dan segar. Tujuan sortasi ini adalah untuk memisahkan bahan yang baik dan tidak baik yang akan digunakan untuk pembuatan *mix juice*.

1. *Trimming*

 Daun katuk di *trimming* terlebih dahulu. Proses *trimming* bertujuan untuk memisahkan daun dengan tangkainya.

1. Pencucian

 Pencucian daun katuk dengan menggunakan air bersih. Tujuan pencucian untuk membersihkan daun dari kotoran-kotoran yang menempel di daun katuk.

1. *Blanching*

 *Blanching* daun katuk dilakukan dengan menggunakan suhu 70-800C selama 2 menit. Tujuan *blanching* ini untuk menghilangkan aroma yang tidak enak pada daun katuk tersebut.

1. Penghancuran

 Penghancuran daun katuk dilakukan dengan menggunakan blender untuk mendapatkan bubur daun katuk dengan ditambahkan perbandingan air 1 : 2.

1. Penyaringan

 Penyaringan bubur daun katuk dilakukan dengan menggunakan kain monil yang berukuran 10 mesh, untuk memisahkan sari atau filtrat dari ampasnya.

1. Pencampuran

 Pencampuran merupakan proses yang penting dalam pembuatan *mix juice*, karena pada proses ini semua bahan utama dan penunjang disatukan. Pencampuran filtrat daun katuk dengan filtrat jeruk lemon dan penambahan sukrosa dengan variasi 10%, 15% dan 20% dan CMC.

* Filtrat Jeruk Lemon
* Pemilihan bahan baku (sortasi)

 Jeruk lemon yang akan digunakan untuk pembuatan *mix juice* harus dalam keadaan baik dan segar. Tujuan sortasi ini adalah untuk memisahkan bahan yang baik dan tidak baik yang akan digunakan untuk pembuatan *mix juice*.

* Pemotongan

 Jeruk lemon dilakukan pemotongan menjadi dua bagian terlebih dahulu. Proses pemotongan ini bertjuan untuk memudahkan pada saat pemerasan.

* Pemerasan

 Pemerasan dilakukan untuk mendapatkan sari buah jeruk lemon. Pemerasan dilakukan dengan menggunakan alat pemeras jeruk.

* Penyaringan

 Penyaringan sari buah jeruk lemon dilakukan dengan menggunakan kain monil berukuran 10 mesh, untuk memisahkan sari atau filtrat dari ampas yang terbawa saat pemerasan.

1. Pasteurisasi

Pasteurisasi dilakukan untuk memperpanjang daya simpan dengan jalan mematikan bakteri dan menonaktifkan enzim dengan menggunakan suhu 700C selama 10 menit.

1. Penyimpanan

 Penyimpanan dengan menggunakan suhu 100C selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu, untuk melihat lama penyimpananya layak atau tidak untuk dikonsumsi.

|  |
| --- |
|  |

Gambar 3. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Proses Pembuatan *Mix Juice* Daun Katuk dan Jeruk Lemon

|  |
| --- |
|  |

Gambar 4. Diagram Alir Penelitian Utama Proses Pembuatan *Mix Juice* Daun Katuk dan Jeruk Lemon