III METODOLOGI PENELITIAN

Bab ini akan menguraikan mengenai : (1) Bahan dan Alat, (2) Metode Penelitian, (3) Prosedur Penelitian, dan (4) Jadwal Penelitian.

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1. Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah naga dengan jenis buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan umur panen buah 1,5-2 tahun, gula stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*), penstabil yaitu pektin dan CMC, air, dan asam sitrat.

Bahan-bahan yang akan digunakan untuk analisis dalam minuman fungsional kulit buah naga merah yaitu methanol, larutan induk 1000 ppm, 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml, larutan DPPH, aquadest, larutan standar 0,0 ml, 0,2 ml, 0,4 ml, 0,6 ml, HPO3, larutan DFIF, larutan Luff Schoorl, H₂SO₄ 6N, KI, amilum, Na₂S₂O₃ 1N baku, HCl pekat, indikator pp, NaOH 30%, HCl 9,5%N, agar cair steril, dan pengencer Butterfield's Phosphate Buffered.

3.1.2. Alat

Alat-alat proses yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, blender, kertas saring, sarung tangan plastik, sendok makan, pengaduk, botol, gelas ukur, timbangan, talenan, dan *hotplate stirrer*.

Alat-alat analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, labu ukur, pipet volumetri, pipet tetes, erlenmeyer, buret, labu takar, spektrofotometer, tabung reaksi, penangas, gelas kimia 250 mL, kertas saring,

eksikator, cawan petri, inkubator, tabung *lauryl tryptose Broth* (LTB), tabung durham, *hand refraktometer* dan jarum ose.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian dilakukan dalam dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

3.2.1. Penelitian Pendahuluan

1. Analisis Bahan Baku

Analisis bahan baku yang dilakukan yaitu analisis aktivitas antioksidan pada kulit buah naga merah. Hal ini dilakukan agar dapat diketahui kandungan aktivitas antioksidan yang terdapat pada kulit buah naga merah dan agar dapat mengetahui perubahan aktivitas antioksidan pada bahan baku dan setelah menjadi produk kulit buah naga merah.

2. Jenis Penstabil Terbaik

Penentuan jenis penstabil yang akan digunakan dalam pembuatan minuman fungsional kulit buah naga merah menggunakan penstabil CMC dan pektin. Parameter respon yang diuji pada penelitian pendahuluan penentuan jenis penstabil terbaik adalah dengan uji organoleptik uji hedonik atau kesukaan terhadap rasa, warna, dan kenampakan penstabil terpilih akan digunakan untuk penelitian utama. Pengujian dilakukan oleh 30 panelis dengan skala kategori tersebut.

Penelitian pendahuluan yang dilakukan bertujuan untuk mendapatkan perlakuan terbaik yang akan digunakan pada penelitian utama. Perlakuan tersebut

yaitu pengujian bahan baku dengan pengujian vitamin C dan antioksidan serta pemilihan jenis penstabil terbaik.berikut skala hedonik pada Tabel 9.

Tabel 9. Kriteria Skala Hedonik

Skala Hedonik	Skala Numerik
Sangat Suka	6
Suka	5
Agak Suka	4
Agak Tidak Suka	3
Tidak Suka	2
Sangat Tidak Suka	1

(Sumber: Kartika dkk., 1988).

3.2.2. Penelitian Utama

Penelitian utama yang akan dilakukan merupakan kelanjutan dari penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi penstabil dan konsentrasi gula stevia pada pembuatan minuman fungsional kulit buah naga merah yang disukai dalam menghasilkan minuman dengan karakteristik yang paling diterima oleh konsumen.

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

3.2.2.1.Rancangan Perlakuan

Rancangan perlakuan pada penelitian utama minuman fungsional kulit buah naga merah terdiri dari 2 faktor yaitu konsentrasi penstabil dan konsentrasi gula stevia. Faktor (A) konsentrasi penstabil, yaitu :

a1 = 0.2 % (w/v)

a2 = 0.3 % (w/v)

a3 = 0.4 % (w/v)

Faktor (B) yaitu konsentrasi gula stevia, yaitu :

b1 = 0.06 % (w/v)

b2 = 0.11 % (w/v)

b3 = 0.16 % (w/v)

3.2.2.2.Rancangan Percobaan

Model rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pola faktorial dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK). Penelitian utama memiliki faktorial 3x3 dengan 3 kali ulangan, sehingga diperoleh 27 satuan percobaan.

Untuk membuktikan adanya pengaruh perlakuan dan interaksinya terhadap respon parameter yang diamati, maka dilakukan analisis data sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan:

i = 1,2,3 (banyaknya variasi konsentrasi penstabil a_1,a_2,a_3).

j = 1,2,3 (banyaknya variasi konsentrasi gula stevia b_1,b_2,b_3)

k = 1,2,3 (banyaknya ulangan)

 Y_{ijk} = nilai pengamatan dari kelompok ke-k, yang memperoleh taraf ke-I dari faktor (A), taraf ke-j dari faktor (B).

A_i = pengaruh pelakuan taraf ke-i Faktor konsentrasi penstabil (B)

B_i = pengaruh perlakuan taraf ke-j Faktor konsentrasi gula stevia (A)

(AB)_{ii} = pengaruh interaksi antara perlakuan ke-i dan ke-j.

 K_k = pengaruh aditif dari kelompok ke-k.

 ε_{iik} = pengaruh galat karena kombinasi perlakuan ij

μ = Nilai rata-rata sebenarnya

Tabel 10. Rancangan Acak Kelompok 3 x 3 dengan 3 kali ulangan

Kosentrasi Penstabil	Konsentrasi Gula Stevia	Ulangan			
(A)	(B)	1	2	3	
	0,06% (b1)	a_1b_1	a_1b_1	a_1b_1	
0,2% (a1)	0,11% (b2)	a_1b_2	a_1b_2	a_1b_2	
	0,16% (b3)	a_1b_3	a_1b_3	a_1b_3	
0,3% (a2)	0,06% (b1)	a_2b_1	a_2b_1	a_2b_1	
	0,10% (b2)	a_2b_2	a_2b_2	a_2b_2	
	0,16% (b3)	a_2b_3	a_2b_3	a_2b_3	
	0,06% (b1)	a_3b_1	a_3b_1	a_3b_1	
0,4% (a3)	0,11% (b2)	a_3b_2	a_3b_2	a_3b_2	
	0,16% (b3)	a ₃ b ₃	a ₃ b ₃	a ₃ b ₃	

Berdasarkan rancangan diatas dapat dibuat denah (lay out) percobaan

faktorial 3 x 3 dengan 3 kali ulangan sebagai berikut :

Denah (Layout) Rancangan Acak Kelompok (RAK) 3 x 3

			Kelon	npok Ulai	ngan I			
a ₃ b ₃	a_1b_2	a_2b_1	a_1b_1	a_2b_2	a_1b_3	a_3b_2	a_3b_1	a_2b_3

			Kelon	pok Ulan	igan II			
a_3b_1	a_2b_2	a_1b_1	a_3b_3	a_2b_1	a_2b_3	a_1b_2	a_3b_2	a_1b_3

Kelompok Ulangan III								
a_1b_1	a_3b_1	a_1b_2	a_2b_1	a_3b_3	a_2b_3	a_2b_2	a_1b_3	a_3b_2

(Sumber: Gaspersz, 2006).

3.2.2.3.Rancangan Analisis

Rancangan analisis dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan yang dicobakan terhadap repon yang diteliti, yang disusun pada tabel Analisis Variasi (ANAVA). Analisa ragam pengaruh terhadap repon yang diteliti dapat dilihat pada Tabel 11. Selanjutnya ditentukan daerah penolakan hipotesis, yaitu:

Ho ditolak, jika F hitung < F tabel

Ho diterima, jika F hitung \geq F tabel

Kesimpulan hipotesis ditolak bila tidak terdapat perbedaan yang nyata mengenai rata-rata pengaruh tiap perlakuan dan hipotesis diterima jika terdapat perbedaan yang nyata mengenai rata-rata pengaruh tiap perlakuan.

Rancangan percobaan dilakukan apabila terdapat perbedaan nyata antara rata-rata dan masing-masing perlakuan (Fhitung ≥ Ftabel) adalah melakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Duncan untuk mengetahui mana yang berbeda nyata.

Jumlah Kuadrat F Sumber Derajat Kuadrat Tengah F Hitung Tabel keragaman Bebas (db) (JK) (KT) 5% Kelompok r-1 JKK KTK KT(A) KT(A)/KTG a-1 JK(A) A В KT (B)/KTG b-1 JK(B) KT (B) Galat (r-1) (a-1) JKG KTG Total Ra-1 JKT

Tabel 11. Analisis Variansi (ANAVA)

(Sumber: Gaspersz, 2006).

Keterangan:

r = Replikasi

t = Perlakuan

A = Konsentrasi Penstabil

B = Konsentrasi Gula Stevia

DB = Derajat Bebas

JK = Jumlah Kuadrat

KT = Kuadrat Tengah

3.2.2.4. Rancangan Respon

Rancangan respon dalam penelitian ini adalah:

1. Respon Organoleptik

Respon organoleptik yang dilakukan adalah menganalisis tingkat kesukaan atau penerimaan panelis terhadap produk minuman fungsional kulit buah naga merah yang dihasilkan dengan kriteria rasa, warna, dan kenampakan. Uji organoleptik ini dilakukan dengan menggunakan skala hedonik, kriteria penentuan berdasarkan tingkat kesukaan panelis dalam melakukan penilaian dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Kriteria Skala Hedonik

Skala Hedonik	Skala Numerik
Sangat Suka	6
Suka	5
Agak Suka	4
Agak Tidak Suka	3
Tidak Suka	2
Sangat Tidak Suka	1

(Sumber: Kartika dkk., 1988)

2. Respon Kimia

Respon kimia pada penelitian utama terhadap minuman fungsional kulit buah naga merah untuk semua sempel adalah analisis vitamin C dengan metode *Spektrofotometri*, sedangkan untuk sampel terpilih adalah analisis antioksidan, dan analisis gula reduksi.

3. Respon Fisik

Respon fisik pada penelitian utama terhadap minuman fungsional kulit buah naga merah untuk sampel terpilih adalah uji kestabilan dengan menggunakan metode TSS.

4. Respon Mikrobiologi

Respon Mikrobiologi pada penelitian utama terhadap minuman fungsional kulit buah naga merah untuk sampel terpilih adalah pengujian TPC dan bakteri *Escherichia coli*.

3.3. Deskripsi Penelitian

Penelitian dalam pembuatan minuman fungsional kulit buah naga merah dilakukan dengan beberapa tahapan. Tahap pelaksanaan penelitian dan cara kerja penelitian dilakukan dalam 2 tahap, yaitu tahap penelitian pendahuluan dan tahap penelitian utama.

Tahap penelitian pendahuluan dilakukan analisis bahan baku kulit buah naga merah dan untuk mengetahui jenis penstabil, sedangkan penelitian utama dilakukan untuk mengetahui konsentrasi penstabil dan konsentrasi gula stevia.

3.3.1. Penelitian Pendahuluan

Deskripsi penelitian pendahuluan yaitu untuk menentukan jenis penstabil yang terbaik dengan menggunakan penstabil CMC dengan konsentrasi 0,3% dan pektin dengan konsentrasi 0,2% (w/v) yang akan digunakan untuk pembuatan minuman fungsional kulit buah naga merah meliputi beberapa tahap, yaitu :

1. Sortasi

Buah naga yang dipilih adalah buah naga yang siap panen dan tidak busuk.

2. Pencucian

Pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada buah naga merah. Pencucian buah naga dilakukan dengan cara dialiri air bersih dan menggunakan tangan.

3. Pengupasan

Pengupasan bertujuan untuk membuang bagian kulit luar dari buah naga merah tanpa membuang kulit lapisan dalam dari buah naga merah. Pengupasan dilakukan menggunakan pisau.

4. Pemisahan

Proses ini dilakukan untuk memisahkan antara kulit lapisan dalam dengan daging buah dari buah naga merah . Pengupasan dilakukan menggunakan pisau.

5. Penghancuran

Penghancuran dengan penambahan air bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel bahan baku, penghancuran dilakukan menggunakan blender dengan waktu selama 3 menit. Saat pencampuran ditambahkan air agar memudahkan dalam penghancuran kulit buah naga.

6. Penyaringan

Proses penyaringan merupakan proses pemisahan antara ampas dengan filtrat yang akan digunakan untuk proses pencampuran dengan menggunakan kain kertas saring.

7. Penimbangan

Setelah proses penyaringan, kemudian filtrat kulit buah naga ditimbang sesuai berat yang dibutuhkan.

8. Pencampuran

Proses pencampuran dilakukan untuk mencampurkan filtrat kulit buah naga merah dengan gula stevia, penstabil, serta asam sitrat.

9. Pemasakan

Setelah semua tercampur lalu dilakukan pemasakan menggunakan *hotplate* Stirrer dengan suhu 70°C selama 20 menit. Pemasakan menggunakan *hotplate* Stirrer dilakukan dengan adanya pengadukan sehingga sampel dapat lebih homogen.

10. Pengemasan

Pengemasan minuman fungsional kulit buah naga merah menggunakan botol kaca yang sudah di sterilkan sebelumnya.

11. Respon Organoleptik

Respon organoleptik yang dilakukan adalah menganalisis tingkat kesukaan atau penerimaan panelis terhadap produk minuman fungsional kulit buah naga merah dengan menggunakan 2 jenis penstabil yang dihasilkan dengan atribut rasa, warna, dan kenampakan. Uji organoleptik ini dilakukan dengan menggunakan skala hedonik.

3.3.2. Penelitian Utama

Deskripsi penelitian utama yaitu untuk menentukan konsentrasi penstabil dengan menggunakan konsentrasi 0,2 %, 0,3%, dan 0,4% (w/v) serta untuk mengetahui konsentrasi gula stevia dengan menggunakan konsentrasi 0,06%, 0,11%, dan 0,16% (w/v) yang akan digunakan untuk pembuatan minuman fungsional kulit buah naga merah meliputi beberapa tahap, yaitu :

1. Sortasi

Buah naga yang dipilih adalah buah naga yang siap panen dan tidak busuk.

2. Pencucian

Pencucian bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada buah naga merah. Pencucian buah naga dilakukan dengan cara dialiri air bersih dan menggunakan tangan.

3. Pengupasan

Pengupasan bertujuan untuk membuang bagian kulit luar dari buah naga merah tanpa membuang kulit lapisan dalam dari buah naga merah. Pengupasan dilakukan menggunakan pisau.

4. Pemisahan

Proses ini dilakukan untuk memisahkan antara kulit lapisan dalam dengan daging buah dari buah naga merah . Pengupasan dilakukan menggunakan pisau.

5. Penghancuran

Penghancuran dengan penambahan air bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel bahan baku, penghancuran dilakukan menggunakan blender

dengan waktu selama 3 menit. Saat pencampuran ditambahkan air agar memudahkan dalam penghancuran kulit buah naga.

6. Penyaringan

Proses penyaringan merupakan proses pemisahan antara ampas dengan filtrat yang akan digunakan untuk proses pencampuran dengan menggunakan kain kertas saring.

7. Penimbangan

Setelah proses penyaringan, kemudian filtrat kulit buah naga ditimbang sesuai berat yang dibutuhkan.

8. Pencampuran

Proses pencampuran dilakukan untuk mencampurkan filtrat kulit buah naga merah dengan asam sitrat, gula stevia dengan konsentrasi 0,06%, 0,11%, dan 0,16% (w/v), penstabil 0,2%, 0,3%, dan 0,4% (w/v).

9. Pemasakan

Setelah semua tercampur lalu dilakukan pemasakan menggunakan *hotplate* Stirrer dengan suhu 70°C selama 20 menit. Pemasakan menggunakan *hotplate* Stirrer dilakukan dengan adanya pengadukan sehingga sampel dapat lebih homogen.

10. Pengemasan

Pengemasan minuman fungsional kulit buah naga merah menggunakan botol kaca yang sudah di sterilkan sebelumnya.

11. Pengujian Organoleptik

Pengujian organoleptik yang dilakukan adalah menganalisis tingkat kesukaan atau penerimaan panelis terhadap produk minuman fungsional kulit buah naga merah yang dihasilkan dengan atribut rasa, warna, dan kenampakan. Uji organoleptik ini dilakukan dengan menggunakan skala hedonik.

12. Analisis

Analisis yang dilakukan pada produk minuman fungsional kulit buah naga merah meliputi respon kimia yaitu analisis vitamin C dan antioksidan, respon fisik yaitu uji kestabilan, dan uji mikrobiologi yaitu TPC dan *Escherichia coli*.

3.4. Jadwal Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan, Jalan Dr. Setiabudhi No. 193 Bandung, mulai bulan November 2017 sampai selesai.