**III. METODOLOGI PENELITIAN**

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

* 1. **Bahan dan Alat Penelitian**
		1. **Bahan-bahan yang Digunakan**

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah *Black Mulberry (Morus nigra L.)* yang didapat dari daerah Cibodas Bandung, gula rendah kalori yaitu stevia 5%, pektin, Na Benzoat 1000 ppm, Asam sitrat 0,1% dan garam dapur 0,1 M sebagai bahan penunjang.

Bahan kimia yang digunakan dalam analisis kimia adalah untuk pengujian vitamin C yaitu iodin 0,01 N dan amilum, dan untuk pengujian mikroba total yaitu PCA (*Plate Count Agar*).

* + 1. **Alat-alat yang Digunakan**

Alat-alat yang digunakan dalam proses pembuatan minuman sari buah *Black Mulberry (Morus nigra L.*) yaitu *Juicer*, meja, panci, kompor, sendok, neraca digital, mangkuk, dan spatula kayu.

Alat-alat yang digunakan dalam analisis kimia adalah timbangan digital, pipet, gelas ukur, labu *Erlenmeyer*, botol timbang, filler, gelas kimia, labu ukur, pH meter, dan pendingin (kulkas).

* 1. **Metode Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini meliputi 2 tahap, yaitu Penelitian Pendahuluan dan Penelitian Utama.

* + 1. **Penelitian Pendahuluan**

Penelitian pendahuluan ini dilakukan dengan pembuatan minuman sari buah *black mulberry* untuk mendapatkan suhu pasteurisasi yang sesuai diantara suhu pasteurisasi 700C dan 650C dengan waktu masing-masing 20 menit. Dari penelitian ini dilakukan pengamatan respon kimia (penentuan vitamin C) dan organoleptik (warna dan rasa) hingga produk sudah tidak dapat diterima lagi oleh konsumen.

* + 1. **Penelitian Utama**

Penelitian utama merupakan penelitian lanjutan dari pendahuluan. Penelitian utama terdiri dari rancangan perlakuan, rancangan percobaan, rancangan analisis, dan rancangan respon.

* + - 1. Rancangan Perlakuan

Rancangan perlakukan pada penelitian utama adalah menentukan umur simpan dari minuman sari buah *black mulberry* yang dikemas oleh 3 jenis kemasan yang berbeda diantaranya yaitu : Gelas, HDPE, dan PET, dengan suhu pasteurisasi yang sebelumnya telah ditentukan pada penelitian pendahuluan.

3.2.2.2. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah mencari umur simpan minuman sari buah *black mulberry* dengan suhu penyimpanan di suhu 50C, 150C, dan 250C. Pengamatan dan analisa kimia dilakukan selama 6 hari setiap 2 hari sekali meliputi respon kimia (Vitamin C), respon mikrobiologi (total mikroba) dan respon fisik (pH). Setelah itu dilakukan perhitungan dengan menggunakan metode *Arrhenius*.

Tabel 5. Hasil Analisis Kimia dan Analisis Mikrobiologis

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Lama Penyimpanan (Hari) | Vitamin C (%) | Total Mikroba |
| 50C | 150C | 250C | 50C | 150C | 250C |
| 0 |  |  |  |  |  |  |
| 2 |  |  |  |  |  |  |
| 4 |  |  |  |  |  |  |
| 6 |  |  |  |  |  |  |

Hasil dari data dalam tabel tersebut kemudian di plot kedalam bentuk kurva sehingga akan didapatkan regresi liniernya, persamaan regresi linier :

Persamaan regresi linier :

Y = a + bx

Keterangan :

y = nilai analisis

a = nilai analisis pada saat mulai disimpan

b = laju nilai analisis (k)

x = waktu simpan (hari)

Dengan demikian, untuk penyimpanan pada suhu 50C dan 240C persamaan regresinya adalah :

Suhu 50C : y = a + bx

Suhu 240C : y = a + bx

Selanjutnya apabila nilai-nilai k ini diterapkan dalam rumus Arrhenius, yaitu:

ln k= ln k0- Ea/RT

Karena ln k0 dan - E/R merupakan bilangan konstanta, maka persamaan tersebut dapat dituliskan sebagai berikut:

ln k= A + B (1/T)

Sehingga apabila setiap nilai k dan 1/T diplotkan dalam sebuah grafik, maka akan diperoleh gambar sebagai berikut:

ln k= ln k0 – Ea/R (1/T)

lnk

 ln k= A –B (1/T)

1/T

Dengan demikian besarnya nilai Ea dapat diperoleh, yaitu sebagai berikut:

-Ea/R = B

Dimana nilai slope B dihasilkan dari persamaan regresi linier antara ln k dan 1/T, dan nilai k0 diperoleh sebagai berikut:

ln k0 = A

Dengan demikian model atau persamaan untuk laju penurunan mutu tersebut adalah:

k= k0 e-B/RT

Dimana :

k = konstanta penurunan mutu

ko = konstanta (tidak tergantung pada suhu)

Ea = energi aktivasi

T = suhu mutlak (0C + 273)

Penentuan nilai ts (umur simpan) dengan mengikuti reaksi ordo satu, menggunakan persamaan sebagai berikut :

ts = umur simpan (hari)

Ao = nilai mutu awal

At = nilai batas kritis

k = konstanta penurunan mutu pada suhu T (Syarief, R dan H. Halid, 1993).

* + - 1. Rancangan Analisis

Berdasarkan rancangan percobaan diatas, maka rancangan analisis yang dilakukan pada minuman sari buah *black mulberry* ini adalah pendugaan umur simpan berdasarkan data yang diperoleh dari hasil analisis kimia dan analisis mikrobiologi dengan metode *Arrhenius* sehingga didapat konstanta penurunan mutu (k).

* + - 1. Rancangan Respon

Rancangan respon yang dilakukan pada pembuatan minuman sari buah *black mulberry* ini terdiri dari rancangan respon kimia (Vitamin C), respon fisika (pH), dan mikrobiologi (total mikroba).

* + - * 1. Respon Kimia Minuman Sari Buah *Black Mulberry*

Analisis yang dilakukan terhadap minuman sari buah *black mulberry* diantaranya adalah :

1. Vitamin C

Analisis kadar vitamin C terhadap minuman sari buah *black mulberry* dilakukan dengan metode titrasi iodin menggunakan larutan baku iodin 0,01 N dengan indikator amilum. Akhir titrasi ditandai dengan terjadinya warna biru dari iod amilum (Sudarmadji, 2010).

* + - * 1. Respon Fisika Minuman Sari Buah *Black Mulberry*

Respon fisika yang dilakukan terhadap minuman sari buah *black mulberry* yaitu pengujian pH menggunakan pH meter.

* + - * 1. Respon Mikrobiologi Minuman Sari Buah *Black Mulberry*

Respon mikrobiologi yang dilakukan terhadap minuman sari buah *black mulberry* yaitu analisis total mikroba menggunakan metode *Total Plate Count* dengan media PCA (*Plate Count Agar*).

* + - * 1. Respon Organoleptik Minuman Sari Buah *Black Mulberry*

Respon organoleptik ini dilakukan terhadap 30 orang panelis dengan atribut penilaian warna dan rasa dengan skala penilaian yaitu sebagai berikut :

1 = Sangat tidak suka

2 = Tidak suka

3 = Agak tidak suka

4 = Agak suka

5 = Suka

6 = Sangat suka

|  |  |
| --- | --- |
| Sampel | Atribut |
| Warna | Rasa |
| 710 |  |  |
| 625 |  |  |

* 1. **Prosedur Penelitian**

Prosedur penelitian pembuatan minuman sari buah *black mulberry* dilakukan dalam dua tahap yaitu prosedur penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

* + 1. Prosedur Penelitian Pendahuluan

Prosedur penelitian pendahuluan pembuatan minuman sari buah *black mulberry* adalah sebagai berikut :

1. Persiapan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan minuman sari buah *black mulberry* adalah *black mulberry*, air minum, gula rendah kalori yaitu stevia, pektin, Natrium benzoat, Asam sitrat, dan garam dapur.

1. Pencucian

Proses pencucian ini dilakukan kepada buah *black mulberry*. Dimana *black mulberry* dicuci dengan menggunakan air bersih yang ditampung didalam wadah untuk menghilangkan kotoran pada buah yang akan digunakan sebagai minuman sari buah.

1. Penghancuran

Buah *black mulberry* yang telah dilakukan pencucian kemudian dilakukan penghancuran dengan menggunakan alat penghancur berupa *juicer*.

1. Penyaringan

Sari buah yang dihasilkan dari penghancuran kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain saring. Proses ini bertujuan untuk mendapatkan sari buah yang maksimal tanpa adanya ampas dan endapan yang tersisa.

1. Pencampuran

Proses pencampuran ini dilakukan 3 kali yaitu pencampuran 1, pencampuran 2 dan pencampuran 3. Dimana untuk pencampuran 1 yaitu pencampuran antara sari buah dengan air minum, pencampuran kedua yaitu pencampuran dengan gula stevia konsentrasi 5% dan pencampuran ke 3 yaitu hasil pencampuran 1 dan 2 ditambahkan bahan penunjang seperti natrium benzoat 1000 ppm, asam sitrat 0,1 %, pektin dan garam dapur 0,1 M.

1. Pasteurisasi

Sari buah *black mulberry* ini kemudian dilakukan proses pasteurisasi dengan menggunakan panci *stainless steel* pada suhu 700C selama 20 menit dan suhu 650 selama 20 menit. Dimana pasteurisasi bertujuan untuk membunuh bakteri pathogen yang berbahaya ditinjau dari kesehatan masyarakat, sedangkan sporanya masih hidup. Pasteurisasi juga bertujuan untuk memperpanjang daya simpan dengan jalan mematikan bakteri dan menonaktifkan enzim pada sari buah.

1. Pengemasan

Proses pengemasan dilakukan menggunakan tiga macam jenis kemasan yaitu botol gelas. Adapun diagram alir prosedur penelitian utama pembuatan minuman sari buah *black mulberry* dapat dilihat pada gambar 3.

* + 1. Prosedur Penelitian Utama

Prosedur penelitian utama pembuatan minuman sari buah *black mulberry* adalah sebagai berikut :

1. Persiapan Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan minuman sari buah *black mulberry* adalah *black mulberry*, air minum, gula rendah kalori yaitu stevia, pektin, Natrium benzoat, Asam sitrat, dan garam dapur

1. Pencucian

Proses pencucian ini dilakukan kepada buah *black mulberry*. Dimana *black mulberry* dicuci dengan menggunakan air bersih yang ditampung didalam wadah untuk menghilangkan kotoran pada buah yang akan digunakan sebagai minuman sari buah.

1. Penghancuran

Buah *black mulberry* yang telah dilakukan pencucian kemudian dilakukan penghancuran dengan menggunakan alat penghancur berupa *juicer*.

1. Penyaringan

Sari buah yang dihasilkan dari penghancuran kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kain saring. Proses ini bertujuan untuk mendapatkan sari buah yang maksimal tanpa adanya ampas dan endapan yang tersisa.

1. Pencampuran

Proses pencampuran ini dilakukan 3 kali yaitu pencampuran 1, pencampuran 2 dan pencampuran 3. Dimana untuk pencampuran 1 yaitu pencampuran antara sari buah dengan air minum, pencampuran kedua yaitu pencampuran dengan gula stevia konsentrasi 5% dan pencampuran ke 3 yaitu hasil pencampuran 1 dan 2 ditambahkan bahan penunjang seperti natrium benzoat 1000 ppm, asam sitrat 0,1 %, pektin dan garam dapur 0,1 M.

1. Pasteurisasi

Sari buah *black mulberry* ini kemudian dilakukan proses pasteurisasi dengan menggunakan panci *stainless steel*. Dimana pasteurisasi bertujuan untuk membunuh bakteri pathogen yang berbahaya ditinjau dari kesehatan masyarakat, sedangkan sporanya masih hidup. Pasteurisasi juga bertujuan untuk memperpanjang daya simpan dengan jalan mematikan bakteri dan menonaktifkan enzim pada sari buah.

1. Pengemasan

Proses pengemasan dilakukan menggunakan tiga macam jenis kemasan yaitu botol gelas, HDPE, dan PET. Adapun diagram alir prosedur penelitian utama pembuatan minuman sari buah *black mulberry* dapat dilihat pada gambar 4.

Setelah didapatkan minuman sari buah *black mulberry* maka dilakukan penyimpanan selama 6 hari dan setiap 2 hari dilakukan pengamatan dan analisis respon kimia (vitamin), respon fisika (pH), respon mikrobiologi (total mikroba), dan respon organoleptik (warna dan rasa)

Pencucian

Penghancuran

Penyaringan I

Pencampuran I

Pencampuran II

Pencampuran III

Pasteurisasi

T1 = 700C, 20 menit

T2 = 650C, 20 menit

Pengemasan

Sterilisasi

Gambar 3. Diagram Alir Prosedur Penelitian Pendahuluan Minuman Sari Buah *Black Mulberry*

Respon kimia : vitamin C

Respon organoleptik : warna dan rasa

----------

Gambar 6. Diagram Alir Prosedur Penelitian Pendahuluan Minuman Sari Buah *Black Mulberry*

Pencucian

Penghancuran

Penyaringan I

Pencampuran I

Pencampuran II

Pencampuran III

Pasteurisasi

Pengemasan

Penyimpanan hari ke :

0, 2, 4, dan 6

Pengujian :

Respon fisik : pH

Respon kimia : vitamin C

Respon mikrobiologi : total mikroba

Gambar 3. Diagram Alir Prosedur Penelitian Pendahuluan Minuman Sari Buah *Black Mulberry*

----------

Sterilisasi

Gambar 7. Diagram Alir Prosedur Penelitian Utama Minuman Sari Buah *Black Mulberry*