

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1.Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September-Oktober 2022 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara, Jalan Dr. T. Mansur No.9, Padang Bulan, Kec. Medan Baru, Kota Medan, Sumatera Utara 20222.

3.2.Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah: autoklaf, inkubator, ruang pendingin (kulkas), tabung reaksi, cawan petri, wadah ukuran sedang, kertas label, bunsen, rak tabung reaksi, erlenmeyer, spatula, *beaker glass*, gelas ukur, timbangan digital, kompor, baskom ukuran sedang, parutan kelapa, saringan, dandang ukuran sedang, tabung ukur, jangka sorong, *hot plate*, pinset, *Digital Food Thermometer*, perforator, *colony count*.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah: santan, madu, starter (probiotik instan Biokul), media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA), kertas pH universal.

3.3.Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian, yaitu: parutan daging kelapa tua yang di peras sehingga mengeluarkan sari-sari dari daging kelapa yang sering disebut dengan santan kelapa. Madu yang digunakan berasal dari daerah Belilas, Pangkalan Kasai, Seberida, Kabupaten Indragiri Hulu, *Riau*.

3.4. Prosedur Kerja

3.4.1. Persiapan Sample Penelitian

3.4.1.1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Peralatan yang akan dipakai dibersihkan dengan detergen dan dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian dilakukan pengeringan dan hindarkan dari kotoran ataupun debu lainnya. Setelah kering, peralatan gelas (tabung reaksi, cawan petri elemeyer, spatula, gelas ukur) disterilkan dengan bantuan autoklaf. Tabung reaksi dan tabung reaksi terlebih dahulu di tutup dengan menggunakan kapas dan plastik, pada gelas ukur, spatula, dan cawan petri di bungkus menggunakan kertas, sedangkan erlemeyer di tutup menggunakan aluminium foil dan plastik. Alat yang akan digunakan dibersihkan dengan cara dicuci kemudian disterilkan menggunakan autoklaf dan oven. Pada oven temperature yang digunakan 150-170 °C selama minimal 1 jam, sedangkan jika sterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Andriani, 2016)

3.4.1.2. Pembuatan Yoghurt Santan Sinbiotik

Adapun cara pembuatan yoghurt santan yaitu dengan cara parut daging buah kelapa yang sudah tua letakkan di dalam baskom ukuran sedang, kemudian timbang parutan kelapa tersebut sebanyak 100 gr dan air kelapa dari kelapa tua tersebut sebanyak 100 ml, jadi perbandingannya 1:1. Selanjutnya, peras dan saring parutan kelapa sehingga didapatkan santan kelapa, lalu penambahan pada air kelapa dan proses pemerasan dilakukan secara bertahap (Su'i, dkk, 2021). Santan kelapa yang sudah diperas, dimasukkan kedalam dandang lalu panaskan di atas kompor dengan api sedang.

Penambahan madu dilakukan saat pemanasan santan kelapa serta penambahan madu dan sukrosa dilakukan sesuai perlakuan yaitu 0% dan 12%, kemudian aduk dengan menggunakan spatula supaya santan tidak menggumpal dan madu dapat terlarut, pasteurisasi dilakukan sampai suhu 80-85°C selama 15 menit. Kemudian suhu diukur dengan *Digital Food Thermometer* sampai suhu mencapai 40-45 °C. Inokulasikan starter (probiotik instan) sebanyak 25% dari jumlah santan (Octaviani, dkk, 2021). kemudian masing-masing wadah di tutup rapat dan di

inkubasi selama 12 jam pada suhu ruang. Setelah inkubasi pada suhu ruang selesai, Yoghurt sinbiotik yang dihasilkan di simpan dalam lemari pendingin (kulkas).

3.5.Pembuatan Media dan Preaksi

3.5.1. Media *deMann Rogosa Sharpe Agar* (MRSA)

Pembuatan media MRSA dilakukan dengan penimbangan serbuk MRSA sebanyak 60 gr dan dimasukkan kedalam *beaker glass*. Kemudian, media tersebut ditambahkan aquades sebanyak 1 liter dan di aduk hingga larut dengan sempurna. selanjutnya, tuangkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml, lalu di tutup kembali bagian atas tabung reaksi dengan menggunakan kapas, plastik dan kertas, setelah itu dimasukkan kedalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit untuk di sterilisasi (Himawa, dkk, 2017).

3.6.Pengolahan Sample

3.6.1. Perhitungan Total Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bagian perhitungan total bakteri asam laktat (BAL) dihitung pada media *de Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA). Perhitungan koloni bakteri asam laktat pada penelitian ini menggunakan metode hitungan cawan (*Total Plate Count*), metode ini menggunakan pengenceran yang di kehendaki, sampel di ambil sebanyak 1 ml ke dalam cawan petri dengan menggunakan pipet ukur sebanyak 1 ml, lalu medium MRSA steril yang sudah di dinginkan sampai suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$ di masukkan ke dalam cawan petri yang sudah steril. Ketika menuangkan medium, tutup cawan tidak boleh di buka terlalu lebar agar tidak terjadi kontaminasi dari luar yang akan mengganggu pengamatan. Setelah penuangan, cawan petri tersebut letakkan di atas meja secara hati-hati, lalu gerakkan dengan bentuk angka 8, agar sel-sel bakteri asam laktat menyebar secara merata. Setelah medium MRSA memadat, cawan-cawan tersebut di inkubasi didalam inkubator dengan suhu 41°C posisi cawan petri diletakkan dengan cara terbalik lalu di bungkus dengan kertas dan biarkan selama 48 jam. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah bakteri asam laktat (CFU/ml) dengan alat *colony counter* (Jannah, dkk. 2014)

3.6.2. Pengukuran pH

Alat pH universal ialah suatu alat yang digunakan untuk mengetahui nilai pH suatu larutan. Adapun cara kerjanya yaitu kertas pH dimasukkan kedalam 10 ml larutan, lalu amati perubahan warna pada kertas pH universal selama 30 detik, lalu di cocokkan dengan warna standar pH universal (Masengi, dkk, 2020).

3.6.3. Uji Organoleptik

Mutu hedonik dan uji hedonik di gunakan dalam pengujian karakteristik organoleptik. Adapun fungsi uji mutu hedonik ini di gunakan untuk identifikasian dari karakteristik sensori yang penting dalam suatu produk sekaligus memberikan informasi yang berkenaan dengan intensitas atau tingkat dari karekteristik tersebut. Sedangkan, uji hedonik berfungsi untuk mengetahui respon para penalis terhadap sift-sifat kesukaan yang lebih spesifik terhadap rasa, aroma, kekentalan dan rasa. Uji hedonik dan mutu hedonik dari produk yang dihasilkan dalam penelitian ini perlakuan tersebut berdasarkan pengamatan Jonathan, dkk, (2022), yang menggunakan sampel saji yang diletakkan dalam *cup* plastik dengan takaran yang seragam. Penalis dalam uji ini terdiri dari 5 orang penalis yang tidak terlatih, terdapat empat karakteristik yang di nilai pada pengujian hedonik dan mutu hedonik yaitu aroma, warna, rasa dan kekentalan. Data form yang dilakukan pada uji hedonik dan mutu hedonik disusun penilaian dari skala 1 sampai 5, pada setiap karakteristik produk yang di nilai.

3.7. Analisis Data

Analisi data meggunakan aplikasi SPSS versi 27, dengan metode Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RAL Faktorial), terdapat 3 kali ulangan pada setiap perlakuan. Data pertumbuhan bakteri asam laktat pada yoghurt santan kelapa saat penyimpanan 1 hari, 7 hari, 14 hari, dan 21 hari dan 28 hari, dapat di analisis secara statistik dengan menggunakan Kruskal Wallis non parametrik.