

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat deskriptif dengan tujuan untuk mengetahui viabilitas bakteri asam laktat pada yoghurt daun kelor (*Moringa oleifera*) dan lidah buaya (*Aloe vera*). Starter yang digunakan yaitu kultur campuran *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* yang didapatkan dari produk yoghurt *Greenfields* original yang ada di pasaran dengan komposisi starter yang sama. Tahap penelitian ini meliputi preparasi daun kelor dan lidah buaya, pembuatan fermentasi yoghurt, penambahan starter, selanjutnya dilakukan pengujian viabilitas bakteri asam laktat menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*). Penelitian ini dilakukan replikasi 3 kali dengan tujuan untuk memperoleh data yang valid. Selanjutnya yang terakhir dilakukan analisis data dari hasil percobaan.

3.2. Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah yoghurt daun kelor dan lidah buaya.

3.2.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian sebanyak 1 mL yoghurt daun kelor dan lidah buaya.

3.3. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang pada bulan November 2018 sampai dengan Juli 2019.

3.4. Definisi Operasional Variabel

Adapun variabel yang akan diamati adalah sebagai berikut :

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Variabel	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Yoghurt daun kelor dan lidah buaya	Yoghurt daun kelor dan lidah buaya merupakan hasil fermentasi susu dengan penambahan daun kelor dan lidah buaya dengan menggunakan kultur campuran <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dan <i>Streptococcus thermophilus</i> .	Glassware	Mili Liter	Nominal
Viabilitas Starter <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dan <i>Streptococcus thermophilus</i>	Kemampuan starter <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dan <i>Streptococcus thermophilus</i> untuk bertahan hidup dalam yoghurt daun kelor dan lidah buaya yang ditandai dengan jumlah total BAL yang tumbuh pada media MRS Agar.	Colony Counter	Jumlah koloni	Nominal

3.5. Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Glassware (*Pyrex*), Timbangan analitik (*Ohaus*), Vortex (*Barnstead type 37600*), Api bunsen, Kawat kasa, Blutip, Mikro pipet, Inkubator (*Memert*), Colony counter (*Funke Gerber*), Oven (*Memert*), Autoclaf (*Allamericant no serial 10018974*), Laminaf

Air Flow (*Mascotte model LH-S*), Blender (*Maspion type MT-1217*), Termometer, Penangas Air.

3.5.2 Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun kelor, lidah buaya, produk yoghurt *Greenfields* original yang ada di pasaran dengan komposisi starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*, susu sapi murni, larutan NaCl 0,9 %, media MRS (*deMan Rogosa and Sharpe*) Agar, Aquadest.

3.6. Prosedur Kerja

Adapun prosedur kerja dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.6.1 Prosedur ekstraksi lidah buaya dengan cara perebusan (infusa)

Diambil lidah buaya, kemudian dibersihkan dari kotoran dengan menggunakan air mengalir atau biasa disebut sortasi basah kemudian ditiriskan. Dipisahkan antara daging dan kulitnya. Ditimbang daging lidah buaya sebanyak 125 gram. Diblender hingga halus semua daging lidah buaya. Didiamkan hingga busanya menghilang kemudian dibuat infusa dengan ditambahkan air sebanyak 250 mL dilakukan perebusan selama 15 menit terhitung saat suhu telah mencapai 90°C dengan sesekali diaduk. Infusa yang diperoleh kemudian diserkai dengan kain flanel (Adriyan dan Aminah, 2012) prosedur ekstraksi lidah buaya terdapat di lampiran 4.

3.6.2 Prosedur ekstraksi daun kelor dengan cara perebusan (infusa)

Ditimbang daun kelor segar yang akan digunakan sebanyak 125 gram kemudian dibuat infusa dengan ditambahkan air sebanyak 250 mL dilakukan perebusan selama 15 menit terhitung saat suhu telah mencapai 90°C dengan

sesekali diaduk. Infusa yang diperoleh kemudian diserkai dengan menggunakan kain flanel (Yuliani dan Dienina, 2015) prosedur ekstraksi daun kelor terdapat di lampiran 4.

3.6.3 Pembuatan yoghurt daun kelor dan lidah buaya

Disiapkan bahan baku susu sapi murni, dipasteurisasi selama 30 menit pada suhu 60°C (menggunakan termometer), hal ini bertujuan untuk menghilangkan bakteri lain yang hidup dalam susu agar tidak mengganggu pertumbuhan bakteri asam laktat. Kemudian dibiarkan susu hingga suhu turun agar bakteri asam laktat dapat berkembang biak dengan baik, dimasukkan kedalam wadah selanjutnya ditambahkan starter *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* yang didapatkan dari produk yoghurt *Greenfields* original yang ada di pasaran dengan komposisi starter yang sama. Kemudian dicampurkan infusa daun kelor dan infusa lidah buaya, lalu diinkubasi yoghurt pada suhu 37°C selama 20-24 jam dalam keadaan tertutup rapat. Setelah diinkubasi, dikeluarkan dari inkubator dan disimpan dalam lemari pendingin (Fatmawati dkk, 2013) prosedur pembuatan yoghurt terdapat di lampiran 5.

Adapun formula dalam pembuatan yoghurt daun kelor dan lidah buaya sebagai berikut :

Tabel 3.2 Formula Pembuatan Yoghurt Daun Kelor Dan Lidah Buaya

Formula	mL
Infusa daun kelor	25 %
Infusa lidah buaya	25 %
Starter <i>Lactobacillus bulgaricus</i> dan <i>Streptococcus Thermophilus</i>	5 %
Susu sapi murni	add 100 mL

(Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 3)

3.6.4 Uji viabilitas bakteri asam laktat

Dilakukan pembuatan seri pengenceran. Diambil 1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 7 mL NaCl 0,9 % kemudian dihomogenasi dengan vortex. Sampel yang telah homogen disebut pengenceran 10^{-1} . Dari pengenceran 10^{-1} diambil 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 7 mL NaCl 0,9 % dan dihomogenasi dengan vortex (pengenceran 10^{-2}). Dari pengenceran 10^{-2} diambil 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 7 mL NaCl 0,9 % berikutnya. Dengan cara yang sama didapatkan pengenceran 10^{-3} dst. Lakukan pengenceran berseri sampai didapatkan pengenceran 10^{-9} . Kemudian cawan petri yang telah berisi 1 mL sampel ditambahkan media MRS (*deMan Rogosa and Sharpe*) Agar. Dilakukan inkubasi pada suhu 37°C , untuk bakteri selama 24 jam. Kemudian hitung jumlah koloni yang tumbuh dengan colony counter. Tentukan jumlah koloni mikroba per mL (Putri, 2017) prosedur uji viabilitas bakteri asam laktat terdapat di lampiran 7.

3.7. Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini diambil dari hasil perhitungan jumlah koloni bakteri asam laktat yoghurt daun kelor dan lidah buaya dengan menggunakan *colony counter*, kemudian data tersebut dianalisis secara deskriptif.