

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mutu fisik, pengujian pH, angka lempeng total, angka kapang/khamir dan kadar air dari permen coklat probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.). Adapun tahapan pelaksanaan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pembuatan permen coklat probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.), pengujian mutu fisik, pengujian pH, pengujian angka lempeng total, pengujian angka kapang/khamir dan pengujian kadar air dari permen coklat probiotik sirsak gunung dan tahap terakhir yaitu membuat hasil analisis dan kesimpulan.

#### **3.2 Populasi dan Sampel**

Populasi pada penelitian ini adalah permen coklat probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) sedangkan sampel pada penelitian ini adalah sebagian permen coklat probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.) yang digunakan untuk uji mutu fisik, uji pH, uji angka lempeng total, uji angka kapang/khamir dan kadar air.

#### **3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Lokasi dari penelitian ini di Laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang dan waktu penelitian pada bulan November 2020 sampai terselesainya penelitian ini.

### 3.4 Defenisi Operasional Variabel

Defenisi operasional variabel pada penelitian ini yaitu mutu fisik permen coklat probiotik sirsak gunung, angka lempeng total, angka kapang/khamir dan kadar air permen coklat probiotik sirsak gunung.

**Tabel 3.1 Operasional variabel**

Variabel	Sub Variabel	Devinisi variabel	Alat ukur	Hasil ukur
Mutu fisik permen coklat probiotik sirsak gunung	Uji organoleptik	Pengujian dengan menggunakan indra manusia sebagai alat utama untuk pengukuran daya terima terhadap produk yang dihasilkan meliputi warna, tekstur, aroma dan rasa	Pancra indra bau, rasa dan warna	Ditetapkan SNI permen bukan jelly Bau : Normal Rasa : Normal ( sesuai label ) Warna : Normal (sesuai label)
	Uji pH	Pengujian yang dilakukan untuk mengetahui derajat keasaman suatu zat	pH meter	4,5 – 6 (Lees dan Jackson, 1983)
Angka Lempeng Total		Jumlah koloni yang ada pada permen coklat probiotik sirsak gunung	Uji kuantitatif dengan metode TPC	Ditetapkan SNI maks $5 \times 10^{-2}$ koloni/g

Kapang/khamir		Jumlah kapang/khamir yang terdapat dalam permen coklat probiotik sirsak gunung	Uji kuantitatif dengan metode hitungan cawan	Ditetapkan SNI permen bukan jelly jumlah kapang/khamir maks $1 \times 10^{-2}$ koloni/g
Kadar air		Pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kadar air dalam permen probiotik sirsak gunung	Uji kuantitatif dengan metode oven	Ditetapkan SNI permen bukan jelly jumlah kadar air maks 7,5 %

### 3.5 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian yang dimaksudkan adalah alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini.

#### 3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut. Timbangan analitik, erlenmyer, batang pengaduk, gelas ukur, cawan petri, oven, autoklaf, wadah aluminium, blender, kain saring, kompor, desikator, gelas arloji, inkubator, rak tabung reaksi, tabung reaksi, pipet, dan pH meter.

#### 3.5.2 Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah permen coklat probiotik sirsak gunung (*Annona montana* Macf.), *Buffered Peptone Water*, Aquadest steril, *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan *Plate Count Agar* (PCA)

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Pembuatan Sari Buah Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.) (Fidyasari, 2017)

1. Dikumpulkan buah sirsak gunung yang telah berwarna kuning dan tampilan fisik baik.
2. Dibersihkan dari kotoran pada bagian luar buah sirsak kuning.
3. Dicuci buah hingga bersih, kupas kulitnya, dan di buang bijinya
4. Ditimbang sebanyak 250 gram buah segar.
5. Dimasukan dalam blender dan ditambahkan air sebanyak 500 ml.
6. Dipisahkan antara sari menggunakan kain saring.

#### 3.6.2 Fermentasi Minuman Probiotik Sari Buah Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.) (Fidyasari, 2017)

1. Disiapkan sari buah sisak gunung 250 ml.
2. Dimasukkan dalam dalam wadah alumunium kemudian dilakukan proses pasteurisasi dengan suhu 72<sup>0</sup>C selama 15 menit
3. Ditambahkan gula sebanyak 10 gram ke dalam wadah alumunium yang berisi sari sirsak gunung
4. Dimasukan starin bakteri *Lactobacillus casei* dari produk komersial sebanyak 90 mL
5. Diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C dengan dalam inkubator selama 24 jam

#### 3.6.3 Pembuatan Permen Cokelat Probiotik Sirsak Gunung (*Annona montana* Macf.)

1. Disiapkan gula pasir sebanyak 60 gram
2. Dimasukkan ke dalam wadah alumunium
3. Ditambahkan sari buah sirsak gunung sebanyak 30 gram
4. Ditambahkan glucose cair 30 gram
5. Proses mixing pada suhu 105<sup>0</sup> C hingga mendidih

6. Dilakukan proses cooking suhu 140<sup>0</sup> C sampai hampir terjadi proses kristalisasi
7. Diturunkan suhu hingga 80<sup>0</sup> C
8. Dimasukkan minuman probiotik sebanyak 30 gram dan dihomogenisasi
9. Dimasukkan cokelat blok sebanyak 5 gram yang telah dicairkan
10. Dilakukan proses cooling selama 10 menit
11. Dimasukkan dalam cetakan permen (cetakan karet) sebelumnya diolesi minyak
12. Dilakukan pengemasan jika sudah mengeras.

### 3.6.4 Pengujian Mutu Fisik Permen Cokelat Probiotik Sirsak Gunung (BSN, 2008)

#### 3.6.4.1 Uji organoleptis

##### 3.6.4.1.1 Bau

1. Diambil sampel uji (permen cokelat probiotik sirsak gunung) sebanyak 1 buah dan diletakan diatas gelas arloji yang bersih dan kering
2. Dicum sampel uji untuk mengetahui baunya

##### 3.6.4.1.2 Rasa

1. Diambil sampel uji (permen cokelat probiotik sirsak gunung) sebanyak 1 buah dan diletakan diatas gelas arloji yang bersih dan kering
2. Dirasakan sampel uji dengan lidah

##### 3.6.4.1.3 Warna

1. Diambil sampel uji (permen cokelat probiotik sirsak gunung) sebanyak 1 buah dan diletakan diatas gelas arloji yang bersih dan kering
2. Dilihat warna sampel uji

#### 3.6.4.2 Pengujian pH

1. Diambil 1 gram permen cokelat probiotik sirsak gunung

2. Dilarutkan dengan larutan NaCl fisiologis sebanyak 10 ml
3. Disiapkan alat dan sampel
4. Dinyalakan pH meter dengan larutan buffer pH 4 kemudian buffer pH 7
5. Dibilas elektroda pH meter dengan menggunakan akuades lalu dikeringkan dengan tisu
6. Diukur larutan sampel uji ( permen coklat probiotik sirsak gunung) setelah pH meter dikalibrasi
7. Dichelup pH meter pada sampel lalu biarkan angka pH meter stabil

### 3.6.5 Pembuatan Media ( Nurmila dan Kusdiyanti, 2018)

#### 3.6.5.1 Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

1. Dilarutkan PDA dengan aquadest dalam erlenmeyer
2. Dipanaskan hingga mendidih untuk melarutkan media PDA
3. Ditunggu sebentar hingga hangat-hangat kuku
4. Ditutup dengan kapas + kertas coklat
5. Disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit

#### 3.6.5.2 Media *Plate Count Agar* (PCA)

1. Dilarutkan PCA dengan aquadest dalam erlenmeyer
2. Dipanaskan hingga mendidih untuk melarutkan media PCA
3. Ditunggu sebentar hingga hangat-hangat kuku
4. Ditutup dengan kapas + kertas coklat
5. Disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit

### 3.6.5.3 Uji Angka Lempeng Total ( Nurmila dan Kusdiyanti, 2018)

1. Ditimbang 1 g sampel uji (permen coklat probiotik sirsak gunung)
2. Dimasukan dalam erlenmeyer yang telah berisi larutan pengencer sebanyak 9 ml sehingga diperoleh pengenceran 1 : 10
3. Dilakukan homogenisasi. Sampel yang telah homogen disebut pengenceran  $10^{-1}$
4. Dibuat tingkat pengenceran dari pengenceran  $10^{-1}$  diambil 1 ml dimasukan ke dalam 9 ml larutan pengencer *Buffered Peptone Water*
5. Dihomogenisasi dengan vortex (pengenceran  $10^{-2}$ )
6. Dilakukan pengenceran berseri sampai didapatkan  $10^{-5}$
7. Dipipet masing-masing 1 mL dari pengenceran  $10^{-1} - 10^{-5}$  ke dalam cawan petri steril
8. Dituangkan media *Plate Count Agar* (PCA) yang masih cair dengan suhu  $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  kedalam masing-masing cawan petri
9. Digoyangkan cawan petri dengan hati-hati sampai homogen
10. Dibiarkan sampai campuran dalam cawan petri memadat
11. Diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam dengan posisi terbalik
12. Setelah diinkubasi, dhitung jumlah koloni yang tumbuh

### 3.6.5.4 Uji Kapang/khamir ( Nurmila dan Kusdiyanti, 2018)

1. Diambil sampel uji Ditimbang 1 g sampel uji (permen coklat probiotik sirsak gunung)
2. Dimasukan dalam erlenmeyer yang telah berisi larutan pengencer sebanyak 9 ml sehingga diperoleh pengenceran 1 : 10 ( pengenceran  $10^{-1}$ )
3. Pengenceran yang dilakukan dihomogenkan dengan vortex
4. Hasil homogenisasi dipipet sebanyak 1 ml

5. Dituangkan ke dalam cawan petri yang berisi media *Potato Dextrose Agar* (PDA) yang dibuat duplo
6. Hasil homogenisasi diratakan hingga merata
7. Dibiarkan sampai campuran dalam cawan petri memadat
8. Diinkubasi selama 5 hari dengan suhu 26 - 27°C dengan posisi terbalik
9. Dicatat jumlah koloni kapang/khamir yang tumbuh.

#### 3.6.5.5 Uji Kadar Air (Sudarmadji, 2003)

1. Menghaluskan bahan yang akan dianalisis.
2. Memasukkan cawan porselen ke dalam oven  $\pm 3 - 4$  jam untuk menstabilkan beratnya, lalu memasukkan cawan porselen ke dalam desikator selama 15 menit sampai beratnya konstan saat ditimbang.
3. Menimbang cawan porselen dan mencatat beratnya, lalu menimbang bahan 2 gram.
4. Setelah itu, memasukkan cawan porselen yang berisi bahan ke dalam oven dan dipanaskan dalam oven selama  $\pm 5$  jam untuk bahan segar dengan suhu 105°C.
5. Memasukkan cawan porselen yang berisi bahan ke dalam desikator selama 15 menit, lalu menimbang cawan dan mencatatnya.
6. Menghitung kadar air bahan dengan rumus (SNI, 2008) :

$$\text{Kadar air}(\%) = \frac{(W_1 - W_2)}{W_1 - W_0} \times 100 \%$$

Keterangan :

W0 = Bobot cawan kosong dan tutupnya, (g)

W1 = Bobot cawan, tutupnya dan sampel sebelum dikeringkan, (g)

W2 = Bobot cawan, tutupnya dan sampel setelah dikeringkan, (g)



### **3.7 Analisis Data**

Setelah dilakukan pengujian mutu fisik, pH, angka lempeng total, angka kapang/khamir dan kadar air pada permen coklat probiotik sirsak gunung kemudian data dianalisis secara deskriptif berdasarkan pengamatan yang sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) permen lunak bukan jelly.