

BAB III

METODE PENELITIAN

1.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

1.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian eksperimental sejati (*true eksperimental design*) digunakan untuk penelitian ini. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suatu perlakuan terhadap perlakuan lain dalam kondisi laboratorium. Penelitian eksperimental sejati dibedakan berdasarkan penggunaan kelompok kontrol yang dipilih secara acak dari populasi yang diteliti.

1.1.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial sebagai metodologi penelitiannya. Terdapat 4 perlakuan berbeda dalam penelitian ini, dengan total 6 kali pengulangan per kelompok. Menurut Nurhalim (2019), cara penentuan jumlah pengulangan menggunakan rumus sebagai berikut:

Untuk menghitung jumlah replikasi (ulangan): $(t-1)(r-1) \geq 15$

Untuk menghitung jumlah percobaan: $n = t \times r$

Keterangan:

n = ukuran sampel

t = treatment (perlakuan)

r = replikasi (pengulangan)

Perhitungan

Untuk menentukan jumlah ulangan dengan menggunakan rumus:

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

$$n = t \times r$$

$$(r-1)(4-1) \geq 15$$

$$= 6 \times 4$$

$$(r-1)(3) \geq 15$$

$$= 24$$

$$(3r-3) \geq 15$$

$$3r \geq 18$$

$$r \geq 6$$

Dari rumus tersebut penelitian ini diketahui jumlah ulangan yang akan dilakukan sebanyak 4 kali. Sedangkan jumlah sampel yang digunakan yaitu 24 sampel.

Adapun cara penentuan rancangan ini dilakukan dengan cara random (acak). Sehingga diperoleh rancangan denah penelitian seperti pada Gambar 3.1

A_0U_2	A_3U_3	A_0U_1	A_3U_1
A_2U_1	A_3U_3	A_0U_4	A_3U_1
A_2U_3	A_2U_2	A_2U_4	A_2U_1
A_3U_6	A_3U_3	A_2U_2	A_3U_1
A_0U_3	A_1U_1	A_1U_6	A_1U_3
A_2U_5	A_3U_3	A_0U_5	A_3U_0

Keterangan :

U : Ulangan

A0 : Sari kulit pisang kepok 0%

A1 : Sari kulit pisang kepok 25%

A2 : Sari kulit pisang kepok 50%

A3 : Sari kulit pisang kepok 75%

Gambar 3 1 Gambar 3.1 Denah Rancangan Acal Lengkap (RAL)

1.2 Tempat dan waktu Penelitian

Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang di Jl. Dusun Raya Notojoyo Gondang di Tegal Gondo, Kab. Malang adalah tempat penelitian nata de dragon dilakukan. Laboratorium Gizi Universitas Muhammadiyah Malang melakukan penelitian terhadap kualitas nata de dragon. Penelitian dilakukan pada tanggal 5 Juli 2023.

1.3 Populasi dan Sampel dan Teknik Sampling

1.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca*) yang didapatkan dari pasar tradisional di Malang.

1.3.2 Sampel

Sampel dalam penelitian ini ialah kulit pisang kepok dalam bentuk sari dengan berbagai konsentrasi 0%, 25%, 50%, 75%.

1.3.3 Teknik Sampling

Teknik sampling digunakan untuk memilih sampel penelitian untuk diteliti. Sebagaimana diungkapkan peneliti, “dilakukan secara acak tanpa memperhatikan strata dalam populasi” menggambarkan metode pemilihan partisipan penelitian dari populasi (Arieska & Herdiani, 2018).

1.4 Jenis Variabel

1.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat diubah untuk melihat pengaruhnya terhadap fenomena yang diteliti. Konsentrasi sari ampas kulit pisang kepok (0%, 25%, 50%, 75%) merupakan variabel bebas dalam penelitian ini.

1.4.2 Variabel Terikat

Konsentrasi antioksidan, konsentrasi serat, kekentalan nata de dragon, dan uji organoleptik (rasa, penciuman, penglihatan, dan peraba) menjadi variabel terikat dalam penelitian ini.

1.4.3 Variabel Kontrol

PH, fermentasi, suhu penyimpanan (28-310C), sterilitas peralatan, dan pemberian filtrat kulit pisang (*Musa paradisiaca*) menjadi variabel kontrol dalam penelitian ini.

1.5 Definisi Operasional Variabel

- a) Secara nutrisi kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca*) memiliki kandungan karbohidrat, lemak, protein, Vitamin B, dan air (Julfan, 2016). Pisang memiliki konsentrasi vitamin B6 yang tinggi dan konsentrasi kolesterol yang trendah. Pisang matang mengandung 373 miligram potasium per 100 gram pisang, 250-335 miligram Vitamin A per 100 gram pisang dan 125 miligram per 100 gram pisang.
- b) Nata merupakan makanan sehat karena mengandung serat (Hammad, Hidayah, Solekhah, & Septhea, 2017). Nata dapat digunakan untuk memperbaiki proses pencernaan. Selulosa dalam nata merupakan polimer glukosa alami yang tidak bercabang yang dihubungkan oleh ikatan 1,4- β -glikosidik.
- c) Uji kualitas atau analisis proksimat adalah metode analisis kimia yang digunakan untuk menentukan kandungan lemak, karbohidrat, protein, serat, air, dan abu suatu zat pangan dari pakan atau bahan pangan (Musfiroh et al., 2016).
- d) Kuantitas Antioksidan Untuk menetralsir radikal bebas, antioksidan mendonasikan elektronnya (Santosa et al., 2019).
 - a. Konsentrasi serat dalam suatu bahan atau kemanjuran suatu prosedur dapat dievaluasi dengan cara ini (Musfiroh et al., 2016).
 - b. Uji organoleptik merupakan uji rasa yang tidak hanya mencakup lima rasa dasar (asin, manis, asam, pahit, dan gurih), tetapi juga rasa, tekstur, warna, dan aroma (Gusnadi et al., 2021)
 - c. Ketebalan nata de dragon merupakan salah satu indikator yang digunakan untuk mengevaluasi produk jadi dalam penyelidikan ini. Kemampuan *Acetobacter xylinum* dalam mengubah gula menjadi selulosa meningkat seiring dengan kekentalan nata, begitu pula sebaliknya (Rizal, 2013)

1.6 Prosedur Penelitian

Ada tiga fase dalam proyek penelitian: perencanaan, pelaksanaan pekerjaan sebenarnya, dan analisis hasil.

1.6.1 Tahap Persiapan

Bahan dan instrumen yang diperlukan untuk melakukan penelitian harus dipersiapkan terlebih dahulu. Langkah awal dalam pembuatan jus kulit pisang kepok adalah mengumpulkan, mencuci, memotong kecil-kecil, dan memblender kulit pisang yang sudah dikumpulkan. Jus dan substrat kemudian disaring. Berikut adalah beberapa alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini:

- a) Wadah media, gelas ukur, talenan, lampu bunsen, pisau, koran, kertas saring, karet, kompor, dan wajan hanyalah beberapa perlengkapan yang dibutuhkan untuk membuat nata de dragon.
- b) Gelas takar, ayakan, pisau, blender, dan talenan semuanya diperlukan untuk membuat jus kulit pisang kepok.

Bahan yang digunakan untuk penelitian, bahan yang digunakan sebagai berikut:

- a) Sari kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*)
- b) Sari kulit buah pisang (*Musa paradisiaca*)
- c) Stater (bibit nata)
- d) Gula

1.6.2 Tahap Pelaksanaan

Persiapan, inokulasi, fermentasi, pengendalian, pemanenan, dan pasca fermentasi dilakukan sebelum fase ini. Menurut Hamad, A. (2014), ada tiga langkah utama dalam pembuatan nata:

- a. Tahap Preparasi

Tahap preparasi ini terdiri atas aktivitas sebagai berikut:

- 1) Penyaringan

Prosesnya diharapkan dapat memisahkan lumpur dan air kelapa. Anda dapat menggunakan kain saring untuk melakukan penyaringan ini. Saat menambahkan air kelapa ke dalam panci berisi air mendidih, airnya disaring.

2) Penambahan gula pasir dan ZA

Keberhasilan pembuatan nata sangat bergantung pada keseimbangan antara tambahan gula dan ZA yang tepat. Dengan asumsi air kelapa diukur dalam mililiter (ml), harus ditambahkan gula pasir minimal 2,5% dan ZA 0,5%. Jika air kelapa sudah mendidih, masukkan gula pasir dan ZA, aduk hingga gula larut merata.

3) Perebusan

Kepanikan digunakan untuk mendidihkan air. Setelah air mendidih, biarkan mendidih selama 5-10 menit. Hal ini dilakukan untuk melarutkan gula pasir dan ZA, serta memastikan mikroorganisme yang ada telah mati.

4) Penambahan sari kulit pisang kepok

Setelah perebusan, ditambahkan dalam berbagai konsentrasi setelah campuran dididihkan dan diaduk hingga rata. Selanjutnya, bahan tersebut dituang dalam wadah dengan volume yang sama yaitu 500 ml.

5) Pendinginan

Proses pendinginan digunakan untuk mendeteksi keberadaan kontaminan. Yang terbaik adalah membiarkannya dingin semalaman.

b. Inokulasi, Fermentasi, dan Pengendalian

Tahapan yang harus dilakukan adalah sebagai berikut:

1) Pemberian Bibit

Benih disebarkan setelah campuran air kelapa mendingin. Media fermentasi satu liter senilai lima atau enam nampan dapat diisi dari satu botol.

2) Fermentasi atau Pemeraman

Setelah benih disemai pada suatu media, dibutuhkan waktu sekitar satu minggu agar media tersebut terfermentasi dan menghasilkan nata. Proses fermentasi memerlukan sejumlah pertimbangan yang cermat, termasuk fakta bahwa baki tidak boleh dibuka atau dipindahkan kapan pun.

a. Pemanenan dan pascafermentasi

1) Pemanenan

Setelah media fermentasi mencapai nata, pemanenan dapat dimulai. Saat panen, lembaran nata dikumpulkan dan dicuci dalam ember besar. Tujuh hingga delapan

hari adalah jangka waktu panen yang umum, dengan empat belas hari merupakan waktu paling lambat.

2) Pascafermentasi

Adapun tahapan pascafermentasi yaitu sebagai berikut:

a) Pembersihan dan Pengirisan

Setelah nata terkumpul, nata dicuci lalu lapisan terluar dan terdalam dikupas. Anda bisa menggosoknya, atau mengikisnya dengan pisau. Kemudian nata yang sudah dicuci dipotong-potong dengan panjang sekitar satu sentimeter. Kemudian lakukan pemotongan.

b) Pemanasan

Setelah diiris kemudian melakukan perebusan. Ini berfungsi untuk menurunkan kadar asam asetat dan membunuh bakteri *Acetobacter xylinum* yang tersisa.

1.6.3 Tahap Pengamatan

Tahap yang diamati setelah melakukan percobaan atau penelitian yaitu uji kualitas *nata de dragon* yang meliputi kadar air, kadar serat, uji organoleptik serta uji ketebalan.

1.7 Teknik Pengambilan Data

Observasi digunakan sebagai metode pengumpulan data. Tindakan observasi bersifat multifaset, melibatkan komponen fisik dan mental (Sugiyono, 2010). Berikut adalah beberapa kriteria yang dapat digunakan untuk menilai kualitas *nata de dragon*:

- 1) Metode DPPH digunakan untuk menghitung kadar antioksidan seperti yang di jelaskan oleh Purwata (2016) dalam artienya menjelaskan tentang pengujian makanan dan minuman.

Kemampuan DPPH untuk menangkap radikal bebas diukur dengan mengamati sejauh mana rona ungu-merah pada 517 + 20 nm berkurang. Absorbansi pada puncak 517 merupakan indikator yang baik untuk kapasitas anti radikal bebas, sehingga kita

$$\left(1 - \frac{\text{absorbansi hitung sampel}}{\text{absorbansi hitung DPPH}}\right) \times 100\%$$

dapat menggunakan persamaan berikut untuk menentukan berapa banyak radikal DPPH yang mampu kita serap:

Absorbansi hitung sampel dan DPPH pada puncak 517 nm dapat dihitung menggunakan persamaan berikut ini :

$$A_{517} = \frac{A_{497} + A_{537}}{2}$$

Nol menunjukkan tidak adanya aktivitas anti radikal bebas, seratus menunjukkan eliminasi total, dan pengujian lebih lanjut dengan mengencerkan sampel diperlukan untuk menetapkan batas konsentrasi aktivitas. Jika persentase reduksinya lebih besar atau sama dengan 50% maka bahan tersebut dapat dikatakan efektif sebagai anti radikal bebas.

Persiapan Larutan DPPH:

Kristal DPPH diukur dan akan dilarutkan dalam etanol dengan konsentrasi 0,004% untuk digunakan sesegera mungkin. Mereka akan disimpan di tempat yang gelap dan sejuk, jauh dari cahaya.

Alat dan Bahan : pipet, kuvet, spektrofotometer, etil asetat, etanol, sampel

Berikut adalah prosedur yang harus diikuti:

- a) Pertama, pembuatan larutan DPPH 0,004 %. Spektrum cahaya tampak (360-720 nanometer) harus diambil segera setelah memipet 600 μ l etil asetat ke dalam kuvet dan menambahkan 3 ml larutan DPPH. Absorbansi diukur antara 497 dan 337 nanometer.
- b) Pengukuran kemampuan bahan uji dalam menangkap radikal bebas dilakukan dengan memipet 600 μ l larutan uji ke dalam kuvet, menambahkan (merekasikan) 3 ml larutan DPPH, diaduk rata dengan pipet, kemudian dibuat spektrum cahaya tampak (360-720 nm) di kertas yang sama. Apakah kurva puncak sigmoid (normal) masih terlihat antara 497 dan 537 nm Absorbansi diukur pada 497, 517, dan 337 nm pada menit 5 dan 60 pasca reaksi.
- c) Perhitungan Atenuasi warna ungu-merah DPPH, khususnya puncak 517 nm, digunakan untuk menghitung kapasitas anti radikal bebas senyawa menggunakan

persamaan 1, sedangkan kapasitas anti radikal bebas dinyatakan sebagai persentase redaman serapan pada puncak yang sama menggunakan persamaan 2.

2) Kadar serat kasar (*Deffating dan Digestion*)

Sebanyak Dua gram pasta nata, dihaluskan jadi satu. Masukkan nata ke dalam Erlemeyer 600 mililiter dan tambahkan 200 mililiter H₂SO₄ 1,25%. Rebus selama 30 menit, lalu saring melalui kertas saring dan air suling panas ke dalam gelas Erlemeyer yang terpasang di pendingin Liebig. Bilas residu dengan 200 ml NaOH 1,25 persen hingga residu masuk ke dalam Erlemeyer yang terbuat dari kaca. Biarkan mendidih selama setengah jam. Dengan menggunakan kertas saring yang beratnya diketahui, disaring. Buang sisa residu dengan air suling panas dan alkohol 96% setelah pencucian pertama dengan K₂SO₄ 10%. Keringkan kertas saring pada suhu 80 derajat Celcius dengan menempatkannya dalam wadah yang massanya diketahui. Masukkan ke dalam desikator hingga dingin. Kemudian, teruskan penimbangan hingga tercapai berat stabil. Gunakan rumus untuk menentukan kandungan serat:

$$\text{Presentase kadar serat} = \frac{c - b}{a} \times 100\%$$

Keterangan:

a = bobot sampel (g)

b = bobot kertas saring awal (g)

c = bobot kertas saring akhir (g)

3) Ketebalan

Ketebalan nata yang diproduksi merupakan salah satu metrik yang menjadi fokus penelitian ini. Ketika lebih banyak gula tersedia untuk bakteri *Acetobacter xylinum* untuk diubah menjadi selulosa, lebih banyak serat yang terbentuk (Hammad, Hidayah, Solekhah, & Septhea, 2017). Kaliper digunakan untuk menentukan ketebalan. Keempat sisi lembaran nata diukur, lalu hasilnya dirata-rata.

4) Uji Organoleptik

Cuci Nata dengan air bersih dan potong dadu. Nata perlu direbus selama tiga menit penuh. Dalam penelitian organoleptik, rasa dan bau digunakan untuk menghasilkan nilai kesukaan pada setiap perlakuan. Sepuluh panelis yang telah diinstruksikan cara mengenali ciri-ciri nata tertentu mengisi kuesioner uji kesukaan (Lampiran) untuk mengumpulkan data yang digunakan dalam analisis ini. Satu poin menunjukkan bahwa anda sangat tidak setuju, dua poin menunjukkan anda tidak setuju tetapi bersedia memberikannya kesempatan, tiga poin menunjukkan bahwa anda menyukai, empat poin menunjukkan bahwa anda sangat menyukai, dan lima poin menunjukkan bahwa anda menyukai. Berikut tahapan evaluasi organoleptik:

1) Tahap Persiapan

a. Mempersiapkan panelis dengan syarat panelis sesuai SNI 01-2346-2006 petunjuk pengujian organoleptic atau sensori, sebagai berikut:

1. Terbuka untuk mengikuti penelitian organoleptik
2. Tidak mempunyai penyakit serius apa pun, antara lain buta warna, penyakit telinga, hidung, tenggorokan atau penyakit jiwa.
3. Tidak ada seorangpun di panel yang menderita flu atau infeksi mata.
4. Panelis diminta untuk menghindari makan apa pun yang pedas pada hari menjelang pengujian.
5. Tidak mempunyai alergi makanan dan tidak menolak terhadap makanan yang diuji.
6. Panelis tidak sedang menggunakan riasan apapun termasuk lipstick, parfum, dan mencucitangan dengan air mengalir tanpa sabun.
7. Makan dan minuman beroma tidak boleh dikonsumsi dalam waktu satu jam setelah waktu pengujian oleh panelis.
8. Panelis disarankan untuk berkumur dengan air putih sebelum dan sesudah melakukan uji rasa.
9. Keputusan yang diambil oleh panelis harus konsisten.
10. Mempersiapkan bahan yang akan diuji
11. Meletakkan bahan pada wadah dan melakukannya diatas meja

2) Tahap Pelaksanaan

1. Informasikan kepada panelis mengenai apa yang akan diuji, bagaimana pengujian tersebut akan dilakukan, dan mengapa pengujian tersebut dilakukan.
2. Mempersilahkan panelis untuk mencicipi rasa, aroma dan menilai keadaan *nata* yang sudah dikenai perlakuan.
3. Untuk menghilangkan atau menetralsir rasa sebelumnya, panelis bersiap berkumur dengan air suling setelah pencicipan selesai.
4. Setiap peserta panelis akan diminta mengisi kuesioner.

1.8 Metode Analisis Data

Analisis data konsentrasi kulit pisang kepok dan kulit buah naga dianalisis menggunakan metode kuantitatif. Uji normalitas (*Shapiro-Wilk*) dilakukan sebagai langkah awal dalam prosedur pengolahan data untuk memastikan apakah data yang diperoleh mengikuti distribusi normal atau tidak. Uji Levene, yang memeriksa homogenitas, dapat digunakan untuk melihat apakah data yang dikumpulkan sesuai dengan deskripsi ini. Uji ANOVA 1 arah dilakukan untuk mengetahui apakah hipotesis ditolak atau diterima pada taraf 5% (0,05) jika data berdistribusi normal dan homogen. Jika hipotesis diterima, maka dilanjutkan pada uji Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dan menentukan perlakuan terbaik. Uji *Kruskal-Wallis* digunakan untuk menganalisis data dari evaluasi organoleptik. Data dianalisis menggunakan SPSS 26.0 for Windows dari Statistical Product and Service Solution. Berikut beberapa hal yang harus dilakukan saat menganalisis data:

1.8.1 Uji Kenormalan Data

Uji normalitas merupakan langkah pertama yang dilakukan saat analisis data untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak. Uji *Shapiro-Wilk* adalah metode uji normalitas yang paling umum digunakan untuk membuat keputusan yang akurat, dan dasar pengambilan keputusannya adalah bahwa jika nilai sig lebih dari 0,05, maka data berdistribusi normal, dan jika nilai sig kurang dari 0,05, maka data berdistribusi tidak normal.

1.8.2 Uji Homogenitas

Test Levene untuk homogenitas digunakan untuk menentukan apakah varian dari beberapa populasi sama atau tidak. Nilai signifikansi atau nilai probabilitas data dianggap homogen jika varian dari dua atau lebih kelompok populasi data sama atau identik. Sebaliknya, jika nilai probabilitas atau nilai signifikansi kurang dari 0,05, data tersebut dianggap tidak homogen.

1.8.3 Uji Anova

Analisis varians satu arah dapat digunakan untuk melanjutkan pengujian apakah data berdistribusi normal dan homogen. Jika Anda ingin mengetahui apakah perlakuan anda berbeda secara signifikan satu sama lain, atau apakah rata-rata perlakuan anda memberikan hasil yang berbeda, uji ANOVA adalah cara yang tepat. Hipotesis akan diuji dengan menggunakan ANOVA satu arah pada tingkat signifikansi 5% (0,05).

1.8.4 Uji Duncan

Jika hipotesis nol ditolak, uji Duncan dapat digunakan untuk membandingkan kemanjuran terapi alternatif dan memilih terapi yang paling efektif. Uji Duncan dengan taraf signifikansi atau nilai 0,05 juga menentukan rerata perlakuan mana yang berbeda signifikan.

3.8.4 Uji *Kruskal-Wallis*

Pengujian signifikansi statistik antara kelompok variabel independen dengan variabel dependen dapat dilakukan dengan uji *Kruskal-Wallis*, yaitu uji statistik non parametrik. H_0 diterima jika dan hanya jika probabilitas lebih besar dari tingkat signifikansi (0,05). Sebaliknya H_0 ditolak jika probabilitasnya lebih kecil dari tingkat signifikansi (0,05).