

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September sampai Oktober 2013 di Laboratorium Patologi, Entomologi, dan Mikrobiologi Fakultas Pertanian dan Peternakan Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.

B. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas laboratorium, penggiling (blender), kertas saring, mangkuk, alumunium foil, oven, *rotary evaporator*, timbangan digital, pH meter, *vortexs*, bunsen, desikator, inkubator, *auto clave*, batang pengaduk, batang L dan cawan petri.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua yang berada di tengah-tengah tangkai ranting dan berwarna hijau, tahu putih, aquades, NaCl 0,85% dan air bersih.

C. Cara Kerja Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji

500 gr daun jambu biji dicuci dan dibersihkan, kemudian dikering anginkan selama 2 minggu di dalam ruangan tanpa terkena sinar matahari langsung. Daun yang telah kering kemudian diblender, hingga daun hancur.

Simplisia kemudian di maserasi disertai pengadukan selama 1 minggu, lalu disaring menggunakan kain kasa steril dan kertas saring.

Larutan hasil maserasi yang telah disaring kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga larutan pelarut berhenti menetes dan ekstrak menjadi pekat menandakan pelarut yang digunakan telah habis atau etanol telah hilang.

2. Pembuatan larutan Stok

Sebanyak 12,5 gr ekstrak ditimbang, kemudian dimasukkan di dalam labu ukur 500 ml. Lalu ditambahkan air aquades ke dalam labu hingga tanda batas. Dalam perlakuan ini didapatkan ekstrak dengan konsentrasi 25 mg/ml.

3. Pengenceran Konsentrasi Ekstrak

Larutan stok yang telah dibuat kemudian diencerkan konsentrasinya dengan perhitungan :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Dimana: V_1 = Volum awal

M_1 = Konsentrasi awal (25 mg/ml)

V_2 = Volum akhir (yang diinginkan)

M_2 = Konsentrasi akhir (1, 2, dan 3 mg/ml)

Adapun konsentrasi yang akan dibuat yaitu konsentrasi 1 mg/ml, 2 mg/ml dan konsentrasi 3 mg/ml.

4. Perendaman Tahu

Tahu direndam di dalam mangkuk yang sudah berisi ekstrak daun jambu biji dengan konsentrasi masing-masing 1mg/ml, 2mg/ml dan 3mg/ml masing-masing sebanyak 100 ml. Tahu direndam selama 2 hari, 4 hari dan 6 hari.

5. Pengamatan Mutu Tahu

a. Penentuan Kadar Air

Penentuan kadar air pada tahu dilakukan dengan cara tahu yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 2 gram dalam cawan pengering yang telah diketahui beratnya. Penentuan kadar air pada tahu dilakukan pada saat sebelum dan sesudah tahu diberikan perlakuan, yaitu tahu sebelum direndam perasan daun jambu biji (tahu kontrol) dan sesudahnya. Lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105⁰C selama 3 jam. Selanjutnya didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Kemudian dipanaskan kembali dalam oven selama 30 menit dan didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Perlakuan diulang sampai tercapai berat konstan (selisih penimbangan berturut – turut kurang dari 0,2 mg).

Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan :

$$\text{Kadar air} = \frac{A-B}{C} \times 100$$

Dimana A = Berat Cawan + Sampel Awal

B = Berat Cawan + Sampel yang telah konstan

C = Berat Sampel Awal

b. Penilaian pH

Sampel tahu sebanyak 10 gram dihaluskan dengan menggunakan mortar kemudian ditambahkan 10 ml air aquades, lalu elektroda pH meter dicelupkan ke dalam larutan sampel. Nilai pH diketahui setelah diperoleh pembacaan yang stabil dari pH meter.

c. Penilaian Mikrobiologi

Uji mikrobiologi yang dilakukan dengan cara sampel tahu dihancurkan dan dilarutkan menggunakan NaCl 0,85%. Larutan tahu sebanyak 1 ml ditambahkan ke dalam larutan pengencer NaCl 0,85% sebanyak 9 ml, dikocok hingga homogen menggunakan *vortexs*. Sampel yang telah homogen disiapkan dan dilakukan pengenceran sampai 10^3 . Sampel yang telah diencerkan kemudian dipipet secara aseptis sebanyak 1 ml ke dalam cawan petri steril dengan metode tuang, dimana agar yang digunakan adalah EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*) yang merupakan agar spesifik untuk penentuan jumlah bakteri *e.coli*. Prinsip kerja dari media agar ini adalah menghambat pertumbuhan bakteri lain dan menghasilkan warna hijau metalik apabila terdapat bakteri *e.coli* didalamnya. Kemudian larutan yang telah diencerkan dimasukkan di dalam cawan petri dan diinkubasi dalam posisi terbalik pada suhu 37°C selama dua hari.

Perhitungan jumlah koloni bisa di lakukan dengan menggunakan metode *Standart Plate Count* dengan rumus :

$$\text{Jumlah koloni per ml} = \text{jumlah koloni per cawan} \times (1/Fp)$$

Keterangan : Fp = Faktor Pengenceran

d. Penilaian warna, rasa, tekstur dan aroma tahu (uji organoleptik)

Uji organoleptik dilakukan kepada 30 orang panelis yang meliputi penilaian warna, rasa, aroma dan tekstur tahu dengan skala (5) sangat suka, (4) suka, (3) netral, (2) tidak suka, (1) sangat tidak suka. Uji ini dilakukan dengan cara mengamati perubahan warna, rasa, aroma dan tekstur tahu pada hari ke 2, 4, dan 6. Untuk uji rasa tahu, sampel tahu terlebih dahulu digoreng dan di ujikan kepada panelis.

Tabel III.1. Tabel Uji Organoleptik Tahu.

Skala Hedonik	Konsentrasi		
	1	2	3
Sangat Suka			
Suka			
Netral			
Tidak Suka			
Sangat Tidak Suka			

6. Rancangan Percobaan

Percobaan dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan dua faktor, faktor I yaitu konsentrasi daun jambu biji (*Psidium Guajava L.*) dan faktor II adalah lama perendaman. Masing-masing faktor terdiri atas tiga level, dan akan diperoleh sembilan kombinasi perlakuan dengan pengulangan sebanyak 3

kali. Sehingga akan didapatkan 27 satuan percobaan secara lengkap rancangan penelitiannya adalah sebagai berikut :

Faktor I.

C1 = Konsentrasi Ekstrak 1 mg/ml

C2 = Konsentrasi Ekstrak 2 mg/ml

C3 = Konsentrasi Ekstrak 3 mg/ml

Faktor II.

H1 = Lama Perendaman 2 hari

H2 = Lama Perendaman 4 hari

H3 = Lama Perendaman 6 hari

Dari kedua faktor tersebut diperoleh kombinasi :

C1H1 = Konsentrasi Ekstrak 1mg/ml dengan lama perendaman 2 hari.

C1H2 = Konsentrasi Ekstrak 1mg/ml dengan lama perendaman 4 hari.

C1H3 = Konsentrasi Ekstrak 1mg/ml dengan lama perendaman 6 hari.

C2H1 = Konsentrasi Ekstrak 2mg/ml dengan lama perendaman 2 hari.

C2H2 = Konsentrasi Ekstrak 2mg/ml dengan lama perendaman 4 hari.

C2H3 = Konsentrasi Ekstrak 2mg/ml dengan lama perendaman 6 hari.

C3H1 = Konsentrasi Ekstrak 3mg/ml dengan lama perendaman 2 hari.

C3H2 = Konsentrasi Ekstrak 3mg/ml dengan lama perendaman 4 hari.

C3H3 = Konsentrasi Ekstrak 3mg/ml dengan lama perendaman 6 hari.

7. Analisis Data

Data hasil analisis yang didapat akan diolah menggunakan uji ragam (ANOVA) dua arah untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh atau beda nyata antar perlakuan. Apabila terdapat perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji *Tukey,s HSD* untuk mengetahui dan membandingkan perbedaan pengawet setiap waktu serta antar pengawet setiap waktu pengamatan, sehingga didapatkan tabel sebagai berikut :

Tabel III.2. Tabel Rata-Rata Kadar Air, pH dan Total Bakteri *E.Coli* pada Tahu.

C \ H	2	4	6
1			
2			
3			

Teknik analisis anova dua arah dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut¹ :

1. Memasukkan data yang diperoleh kedalam tabel perhitungan Anova
2. Menghitung derajat kebebasan

$$dk JK_t = N - 1$$

$$dk JK_a = pq - 1$$

$$dk JK_d = N - pq$$

$$dk JK_A = p - 1$$

$$dk JK_B = q - 1$$

$$dk JK_{AB} = dk JK_A \times dk JK_B$$

¹Hartono, Statistik untuk penelitian, Lembaga studi filsafat, kemasyarakatan, kependidikan dan perempuan, yogyakarta, 2006. hlm. 222.

ket :

dk JK_t = derajat kebebasan Jumlah Kuadrat Total

dk Jk_a = derajat kebebasan Jumlah Kuadrat Antar Kelompok

dk JK_d = derajat kebebasan Jumlah Kuadrat Dalam

dk JK_A = derajat kebebasan Jumlah Kuadrat Antar Kelompok A

dk JK_B = derajat kebebasan Jumlah Kuadrat Antar Kelompok B

dk JK_{AB} = derajat kebebasan Jumlah Kuadrat Antar Kelompok A dan B

N = Banyaknya sampel keseluruhan

P = Banyaknya Kelompok Faktor A

q = Banyaknya Kelompok Faktor B

3. Perhitungan Jumlah Kuadrat

$$a. JK_t = X^2 - \frac{G^2}{N}$$

Ket : X = Jumlah Nilai

G = Jumlah Skor Keseluruhan

$$b. JK_a = \frac{AB^2}{n} - \frac{G^2}{N}$$

$$c. JK_d = JK_t - JK_a$$

$$d. JK_A = \frac{A^2}{qn} - \frac{G^2}{N}$$

$$e. JK_B = \frac{B^2}{pn} - \frac{G^2}{N}$$

$$f. JK_{AB} = JK_a - JK_A - JK_B$$

4. Perhitungan Rata-rata Kuadrat (RK)

a. Perhitungan dalam kelompok

$$RK_d = \frac{JK_d}{dk JK_d}$$

b. Perhitungan dalam kelompok A

$$RK_A = \frac{JK_A}{dkJK_A}$$

c. Perhitungan dalam kelompok B

$$RK_B = \frac{JK_B}{dkJK_B}$$

d. Perhitungan dalam kelompok AB

$$RK_{AB} = \frac{JK_{AB}}{dkJK_{AB}}$$

5. Perhitungan F ratio

a. F ratio kelompok A

$$F_A = \frac{RK_A}{RK_d}$$

b. F ratio kelompok B

$$F_B = \frac{RK_B}{RK_d}$$

c. F ratio kelompok A dan B

$$F_{AB} = \frac{RK_{AB}}{RK_d}$$

6. Kemudian jika nilai Fhitung > F tabel, dilakukan uji tukey's HSD dengan

rumus :

$$HSD = q \frac{\overline{RKd}}{n}$$

Ket : n = banyaknya sampel perkelompok

q = *the studentized range statistic*

Tabel III.4. Rata-Rata Kesukaan Panelis Terhadap Uji Organoleptik Tahu.

C \ H	2				4				6			
	W	R	A	T	W	R	A	T	W	R	A	T
1												
2												
3												

Ket : W = Warna

R = Rasa

A = Aroma

T = Tekstur