

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat eksperimen karena terdapat suatu pengendalian perlakuan untuk memanipulasi objek penelitian disertai dengan adanya kontrol (Nazir, 1988).

B. Desain Penelitian

Penelitian dilakukan dalam dua tahap perlakuan. Tahap pertama yaitu tahap pengujian dengan *pretreatment* pada sari sampah dan tahap kedua adalah pengujian dengan *pretreatment* pada bubur sampah.

Rancangan dasar penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) untuk perlakuan perbedaan konsentrasi ragi. Untuk perlakuan pertama dan kedua dilakukan dengan 30 perlakuan kombinasi dengan 4 replikasi (Gomez, 1995). Perbedaan dari kedua tahap ini adalah, pada tahap pertama sebelum dilakukan fermentasi sari sampah diberikan perlakuan secara fisik dengan pemanasan pada suhu 100⁰ C selama 30 menit. Sedangkan untuk tahap kedua pemanasan dilakukan pada tahap bubur sampah, setelah itu sari sampah diekstrak dari bubur sampah tersebut.

Adapun perlakuan yang diberikan pada tahap pertama dan kedua adalah sebagai berikut :

T0 : Kontrol (tanpa ragi)

T1 : Ditambah ragi Tape 1%

T2 : Ditambah ragi Tape 2%

T3 : Ditambah ragi Tape 3%

T4 : Ditambah ragi Tape 4%

T5 : Ditambah ragi Tape 5%

Sedangkan untuk kadar gula (G) yang dipakai adalah 0 % , 2,5 % , 5 % , 7,5 % , dan 10% . Sehingga rancangan perlakuannya adalah sebagai berikut.

	T0	T1	T2	T3	T4	T5
G0						
G2,5						
G5						
G7,5						
G10						

Penempatan sampel dilakukan secara acak berdasarkan pengundian. Konsentrasi ragi yang ditambahkan, ditentukan berdasarkan konsentrasi ragi yang dipakai pada uji pendahuluan, yakni konsentrasi ragi tape 3%. Konsentrasi lebih rendah dan lebih tinggi ditentukan agar dapat diketahui konsentrasi yang optimum. Lama waktu fermentasi ditentukan berdasarkan lama waktu fermentasi yang dipakai pada uji pendahuluan pembuatan alkohol sari sampah sebelumnya yaitu 6 hari. Pengujian parameter pH, kadar glukosa, dan kadar alkohol dilakukan setiap 2 hari sekali.

Analisis kadar alkohol dilakukan dengan metode titrasi asam basa. Prosedur titrasi yang dilakukan mengikuti prosedur titrasi asam basa untuk penentuan kadar alkohol dari Hidayat (1995). Titrasi alkohol ini berdasarkan metode standar untuk penentuan kadar alkohol pada suatu substrat dengan menambahkan anhidrat asetat dan phenolftalein pada substrat, kemudian campuran tersebut dititrasi dengan NaOH. Jumlah NaOH yang ditambahkan kemudian dibandingkan dengan jumlah NaOH yang dibutuhkan untuk mentitrasi alkohol standar yang telah dibuat sebelumnya. Kurva standar alkohol menyatakan hubungan antara kebutuhan NaOH sebagai sumbu x dan kadar alkohol sebagai sumbu y.

Sedangkan untuk mengukur kadar gula pereduksi digunakan metode *Somogyi-Nelson*. Kurva baku glukosa menyatakan hubungan antara konsentrasi glukosa dengan kerapatan optik (panjang gelombang 520 nm). Kurva ini dibuat untuk menentukan harga konsentrasi larutan glukosa dengan pengukuran transmisi cahaya menggunakan spektrofotometer dengan metode *Somogyi-Nelson* (Kusnadi, 2001).

C. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah semua sampah sayur dan buah-buahan yang berasal dari pasar Ciroyom Bermartabat Bandung, sedangkan yang dijadikan sampel adalah sari-sari sampah sayur yang digunakan dalam proses fermentasi.

D. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium PGSM dan Laboratorium Mikrobiologi dan Genetika Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA UPI Jalan Dr. Setiabudhi No.229 Bandung. Waktu penelitian dilakukan dari bulan November 2009-Januari 2010.

E. Alat dan Bahan

1. Alat – alat

Tabel 3.1. Alat – alat Penelitian

No	Alat-alat	Spesifikasi	Jumlah
1.	Destilator	Merk SIBATA	Satu unit
2.	Botol Fermentasi	-	120 buah
3.	Blender	Merk Nasional	Satu unit
4.	<i>Cuvete</i>	-	Dua buah
5.	Panci Penangas	-	Dua unit
6.	Alkoholmeter	Produksi KSU Agromakmur	Satu buah
7.	Gelas Beaker; labu Erlenmeyer 100 ml, 250ml, 500 mL; labu ukur 100 mL; gelas ukur 25 mL, 100 mL, 500 ml; lampu Spirtus	Merek Pyrex	20 buah
8	Kantung plastik steril	-	Tiga pak
9	Ember	-	Lima buah
10	<i>Magnetic stirrer with hot plate</i>	Eyela magnetic stirrer RCH-3	Satu unit
11	Lumpang dan alu	-	Satu unit
12	Kain penyaring	-	Lima buah
13	Termometer Alkohol	-	Dua buah
14	<i>Sprektofotometer</i>	Milton Rey Spectronic 20 D	Satu unit
15.	Buret dan Statif	-	Satu buah
16.	Pipet tetes dan volum	-	Enam buah
17.	Plastik buram/ bening	-	Satu pak
18.	Plastik wrap	-	Satu gulung

19.	Kompor gas	-	Satu unit
20.	Kertas label	-	Satu bungkus
21.	Tabung reaksi	Pyrex 16 ml	30 buah

2. Bahan

Tabel 3.2. Bahan - bahan penelitian

No	Bahan – bahan	Spesifikasi	Jumlah
1.	Sampah organik	-	35 kg
2.	Urea	-	250 gram
3.	Aquades.	Medilabs	30L
4.	Gula pasir	-	4 kg
5.	NaOH 1 M	PA	18 liter
6.	NPK	-	250 gram
7.	Ragi Tape	-	600 Gram
8.	Alkohol 96%	PA	100 ml
9.	PHenolftalein 1%	PA	200 ml
10.	Anhidrat asetat	PA	4 liter
11.	Reagen Somogyi I	PA	4 liter
12.	Reagen Somogyi II	PA	4 liter
13.	Reagen Nelson	PA	4 liter

F. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi beberapa tahapan:

1. Uji pendahuluan, meliputi:

- a. Penentuan jenis ragi terbaik
- b. Penentuan lama waktu fermentasi terbaik

2. Penelitian utama

- a. Tahap pra penelitian, meliputi:
 - 1). Pembuatan Kurva Alkohol standar
 - 2). Pembuatan Kurva Baku Glukosa

3). Penghancuran dan pengambilan sari-sari sampah

b. Tahap penelitian, meliputi:

- 1). *Pretreatment* panas
- 2). Persiapan Bahan
- 3). Proses Fermentasi
- 4). Fermentasi Lanjutan (Skala Pilot Plan)

c. Pengolahan Data

G. Cara Kerja

1. Uji pendahuluan

Uji pendahuluan dalam penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, yakni penentuan jenis ragi dan penentuan lama fermentasi.

a. Penentuan Jenis Ragi Terbaik

1). Aktivasi Ragi

Ragi roti (R) dan Ragi tape (T) ditimbang masing-masing sebanyak 1 gram (T1), 2 gram (T2), 3 gram (T3) dan 4 gram (T4). Kemudian ditambahkan 1 gram gula putih kedalam 10 ml air hangat ($\pm 40^{\circ}$ C). Ditambahkan ragi kedalam larutan glukosa tersebut, kemudian larutan tersebut dimasukkan kedalam plastik dalam kondisi anaerob. Biakan ragi disimpan selama 24 jam, setelah itu ragi bisa dipakai untuk fermentasi sari sampah.

2). Proses fermentasi

Kedalam fermentor dimasukan ragi roti dan ragi tape yang telah diaktivasi sebelumnya. Kemudian sari sampah dimasukan ke dalam 20 botol fermentor masing-masing sampai volumenya mencapai 100 ml. Kemudian. Dilakukan pengukuran kadar Alkohol, Glukosa, dan pH pada hari ke 0, 2, 4 dan 6

b. Penentuan Lama Fermentasi Terbaik

1). Aktivasi Ragi

Ragi tape (T) ditimbang masing-masing sebanyak 12,5 gram. 6,25 gram gula putih ditambahkan kedalam 125 ml air hangat ($\pm 40^{\circ} \text{C}$) .Ditambahkan ragi kedalam larutan glukosa tersebut, kemudian larutan dimasukan kedalam erlenmeyer dalam kondisi anaerob Biakan ragi disimpan selama 24 jam, setelah itu ragi bisa dipakai untuk fermentasi sari sampah.

2). Proses fermentasi

Kedalam fermentor dimasukan ragi tape sebanyak 1%, 2%, 3%, dan 4% yang telah diaktivasi sebelumnya. Kemudian sari sampah dimasukan ke dalam 20 botol fermentor masing-masing sampai volumenya mencapai 100 ml. Dilakukan pengukuran kadar Alkohol, Glukosa, dan pH pada hari ke 0, 3, 6, 9 dan 12

2. Penelitian Utama

a. Tahap pra penelitian

1). Pembuatan Kurva Standar Alkohol

Kadar alkohol pada sampel ditentukan dengan cara titrasi asam basa.

Untuk mengetahui kadar alkohol pada sampel terlebih dahulu dibuat kurva standar alkohol yang menyatakan hubungan antara kebutuhan NaOH sebagai sumbu x dan kadar alkohol sebagai sumbu y.

Penentuan jumlah alkohol pada perlakuan selanjutnya ditentukan berdasarkan nilai regresi linier antara jumlah NaOH yang terpakai dan kadar alkohol. Prosedur titrasi adalah sebagai berikut:

- Pembuatan Larutan Blanko

Satu ml aquades dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian dimasukkan satu ml asam anhidrida asetat dan dua tetes phenolftalein. Selanjutnya NaOH 1M dari buret diteteskan secara hati-hati ke dalam erlenmeyer tersebut sambil digoyang-goyangkan sampai warnanya berubah (dari tidak berwarna menjadi warna merah muda). Kemudian dicatat kedudukan skala pada buret.

- Pengujian Larutan Alkohol Standar

Satu ml larutan alkohol standar (1-10%) dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan satu ml asam anhidrida asetat dan dua tetes phenolftalein. Sambil digoyang-goyangkan, ke dalam erlenmeyer tersebut ditambahkan NaOH 1 M sampai

terjadi perubahan warna (dari tidak berwarna menjadi warna merah muda). Kemudian dicatat kedudukan skala pada buret.

2). Pembuatan Kurva Baku Glukosa

Sebelum dilakukan analisis kadar gula pereduksi pada sampel, maka terlebih dahulu dibuat kurva baku glukosa. Kurva baku glukosa menyatakan hubungan antara konsentrasi glukosa dengan kerapatan optik (panjang gelombang 520 nm). Kurva ini dibuat untuk menentukan harga konsentrasi larutan glukosa dengan pengukuran transmisi cahaya menggunakan spektrofotometer dengan metode Somogyi-Nelson (Kusnadi, 2001).

Pembuatan kurva baku glukosa dimulai dengan menimbang glukosa murni sebanyak 200 mg dan dilarutkan dalam 1000 ml aquades dan dikocok sampai homogen. Dengan mikropipet larutan tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml; 0,8 ml; 1,0 ml; 1,2 ml; 1,4 ml; 1,6 ml; 1,8 ml dan 2,0 ml. Selanjutnya ke dalam tabung reaksi tersebut ditambahkan aquades masing-masing sebanyak 1,8 ml; 1,6 ml; 1,4 ml; 1,2 ml; 1,0 ml; 0,8 ml; 0,6 ml; 0,4 ml; 0,2 ml; dan 0 ml sehingga volume masing-masing tabung 2 ml. Maka pada masing-masing tabung diperoleh konsentrasi glukosa 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 mg/ml.

Larutan Somogyi I sebanyak 1,6 ml dan Somogyi II sebanyak 0,4 ml ditambahkan ke dalam masing-masing tabung reaksi yang telah berisi larutan glukosa. Larutan tersebut dikocok dan ditutup dengan kelereng. Kemudian dimasukkan ke dalam penangas air mendidih selama 10 menit, lalu diangkat dan didinginkan dalam penangas es sampai mencapai suhu $\pm 20^{\circ}\text{C}$. Kemudian ditambahkan 2 ml larutan Nelson dan 4 ml aquades, maka volume total adalah 10 ml. Tabung reaksi ditutup dengan ibu jari dan dikocok dengan baik dan kuat, hingga gas CO_2 tidak keluar lagi. Masing-masing larutan diukur *optical density* (OD) dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm. Nilai absorbansi dari kadar glukosa standar dibuat dengan grafik linier, kemudian kurva baku glukosa dapat dibuat dan diperoleh persamaan yang akan digunakan dalam penentuan kadar gula pereduksi dari sampel.

3). Penyiapan substrat Sampah

Sampah organik berupa sampah sayuran dan buah-buahan dibersihkan dan dihancurkan dengan menggunakan blender. Sampah kemudian disaring dan diperas untuk kemudian diambil sari sampahnya, kemudian sari sampah dipanaskan pada suhu 100°C selama 30 menit (Perlakuan pertama). Sedangkan untuk perlakuan kedua sampah dihaluskan sampai bubur sampah kemudian bubur sampah dipanaskan pada suhu 100°C selama 30 menit. Setelah itu

bubur sampah disaring sampai didapatkan sari sampahnya. setelah terbentuk sari sampah kemudian ditambahkan urea dan NPK masing-masing sebanyak 10 gram/Liter. Sari sampah sebelum dan sesudah dipanaskan diambil sampel sebanyak 100 ml untuk diukur kandungan karbohidratnya di Balai Besar Selulosa.

b. Tahap Penelitian Utama (Fermentasi sari sampah dan bubur sampah)

1). *Pretreatment* Panas

Sampah organik berupa sampah sayuran dan buah-buahan dibersihkan dan dihancurkan dengan menggunakan blender. Sampah kemudian disaring dan diperas untuk kemudian diambil sari sampahnya, kemudian sari sampah dipanaskan pada suhu 100°C selama 30 menit (Perlakuan pertama). Sedangkan untuk perlakuan kedua sampah dihaluskan sampai bubur sampah kemudian bubur sampah dipanaskan pada suhu 100°C selama 30 menit. Setelah itu bubur sampah disaring sampai didapatkan sari sampahnya. Pemanasan dilakukan dengan menggunakan panci dan dipanaskan pada kompor gas elpiji (modifikasi pretreatment fisik)

2). Persiapan bahan

Ragi tape ditimbang masing-masing sebanyak 1, 2, 3, 4, 5 gram, dibuat larutan gula 75 % dengan cara melarutkan 75 gram gula sampai volume 100 ml. Kemudian larutan gula dipanaskan sampai semua gula larut.

3). Proses fermentasi

Sari sampah dimasukkan ke dalam 120 botol fermentor masing-masing sebanyak 100 ml. Kemudian kedalam fermentor tersebut dimasukkan ragi tape yang sebanyak 0 %, 2.5 %, 5 %, 7.5 %, dan 10 % dengan 4 kali pengulangan untuk tiap konsentrasi. Setelah itu dimasukkan larutan gula sebanyak masing-masing 0%, 2.5%, 5%, 7.5%, dan 10% sesuai dengan rancangan perlakuannya. Dilakukan pengukuran kadar Alkohol, Glukosa, dan pH pada hari ke 0, 2, 4, dan 6.

4). Fermentasi Lanjutan (Skala Pilot)

- Persiapan Alat dan Bahan

Alat-alat berupa tabung Erlenmeyer besar (2L), gelas ukur, tabung reaksi, dan lain-lain, disterilisasi dengan cara merendam alat-alat tersebut dengan detergen selama 12 jam, lalu dibersihkan bagian dalam dan luarnya, setelah dibilas, botol-botol tersebut direndam dengan larutan desinfektan selama 30 menit lalu dibilas dengan Aquadest steril dan ditiriskan.

- Perlakuan

Sebanyak 4 kg sampah dicuci dan dihaluskan (diblender) sampai halus. Kemudian 2 kg bubur diperas untuk diambil sarinya kemudian dipanaskan. Sedangkan 2 kg lagi buburnya langsung dipanaskan dan kemudian diambil sarinya. Tambahkan gula 5% sebanyak 100 ml (75g dalam 100 ml aquadest) kedalam larutan,

homogenkan. Masukkan dalam labu Erlenmeyer, setelah dingin masukan ragi 3 % (60g ragi tape) lalu masukan dalam inkubator suhu 30°C.

c. Pengolahan Data

Pengolahan data dilakukan untuk mengetahui kadar alkohol terbaik dari perlakuan. Serta untuk melihat perbedaan diantara perlakuan. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan *software SPSS 16.0 for windows*.

Untuk olah data sari sampah yang dipanaskan dan bubur sampah yang dipanaskan ini untuk treatment kadar gula terdiri dari beberapa faktor, yaitu 0%, 2.5%, 5%, 7.5%, dan 10%. Treatment lama waktu fermentasi terdiri dari beberapa faktor, yaitu 0 hari, 2 hari, 4 hari, dan 6 hari. Dan treatment kadar ragi, terdiri dari beberapa faktor, yaitu 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%.

Untuk itu dilakukan tahapan pengujian, yaitu:

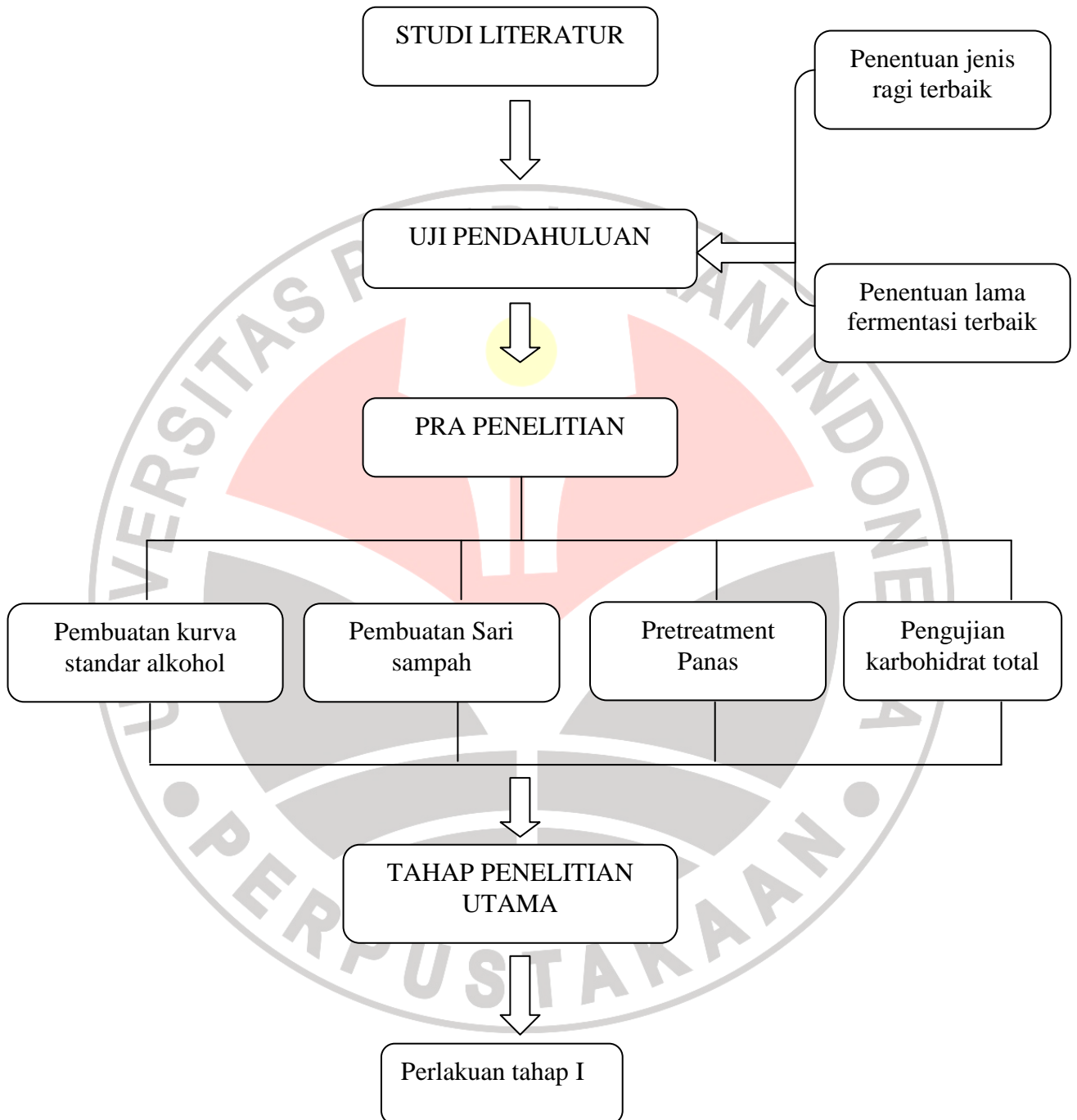
1. Uji Normalitas dan Homogenitas
2. Uji Anova Dua jalur (*TwoWay ANOVA*), untuk menentukan bahwa terdapat perbedaan banyaknya kadar alkohol yang diperoleh dari faktor-faktor dari setiap treatment yang diberikan, yaitu lama hari, kadar gula awal, dan kadar ragi.
3. Uji lanjutan dengan menggunakan Uji Tukey, untuk menentukan faktor-faktor dari treatment mana saja yang menghasilkan kadar alkohol paling banyak,

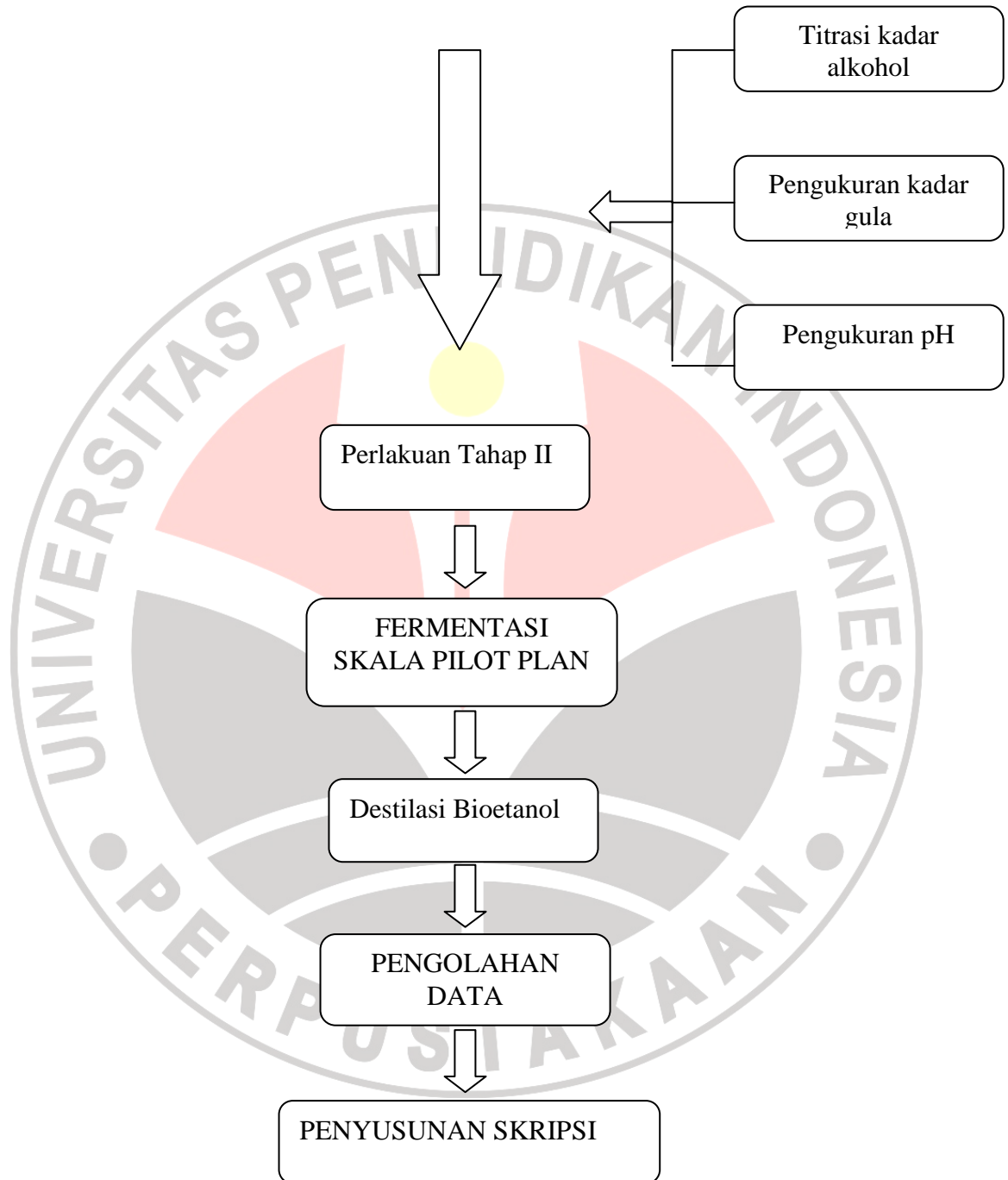
4. Analisis Korelasi, untuk melihat tingkat signifikansi pengaruh antara kadar gula dan kadar alkohol, kadar pH dan kadar alkohol, serta kadar pH dan kadar gula.

Selanjutnya dilakukan pengujian untuk melihat perbedaan hasil antara pemanasan sari sampah dan pemanasan bubur sampah. Pengujian ini dilakukan untuk menentukan antara sari sampah atau bubur sampah yang dapat menghasilkan kadar alkohol terbesar. Langkah-langkah pengujiannya adalah sebagai berikut:

1. Uji homogenitas varians, asumsi yang dipakai untuk pengujian 2 buah rata-rata.
2. Uji perbedaan 2 buah rata-rata, untuk menentukan perlakuan mana yang menghasilkan kadar alkohol paling banyak diantara 2 buah perlakuan.

H. Alur Penelitian





Gambar 3.1 Bagan alir Penelitian