

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian dan Design Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian kualitatif dan desain Difusi. Menurut Sugiyono (2021) metode penelitian kualitatif adalah metode penelitian yang berlandaskan pada filsafat *postpositivisme* atau *enterpretif*, digunakan untuk meneliti pada kondisi objek yang eksperimental ,dimana peneliti adalah sebagai instrumen kunci dan hasil penelitian lebih menekankan pada makna dari pada generalisasi.

Metode difusi digunakan untuk menentukan sensitivitas mikroba uji terhadap agen antimikroba. Metode ini dilakukan dengan menggunakan kertas cakram. dalam media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri dimasukkan kertas cakram dan diisi dengan senyawa uji. Area jernih pada permukaan media agar mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba.

B. Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah produk minuman fungsional fermentasi kulit kopi arabika.

C. Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu dalam bentuk apapun yang ditetapkan oleh peneliti. Digunakan untuk memperoleh informasi tentang hal tersebut dan diambil kesimpulannya (Sugiyono, 2013). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, dan variabel terikat.

1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi penyebab atau yang mempengaruhi perubahannya atau munculnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2013). Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah Produk minuman fungsional Fermentasi kulit kopi arabika.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah diameter daya hambat produk minuman fungsional fermentasi

kulit kopi arabica terhadap (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella typhi*).

D. Defini Operasional

Kulit buah kopi arabica adalah kulit dari tanaman kopi arabika (*Coffea arabica L.*) yang diambil dari Desa Jenawi, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* adalah bakteri Gram positif yang diperoleh dari laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.

E. Alat Dan Bahan

1. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :
corong gelas ukur botol kaca airlock kompor beaker gelas pipet volum selang kertas saring tabung reaksi saringan api bunsen dan ose.
2. Bahan-bahan yang digunakan adalah :
Kulit kopi kering (*cascara*) *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *salmonella Typhi*, Media MHA (*Muller Hinton Agar*) gula pasir air mineral disk antibiotic aquabidest.

F. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dicuci hingga bersih dengan air suling, kemudian alat-alat gelas dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas dan disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 180 °C selama 2 jam. Alat-alat gelas yang berskala dan tidak tahan terhadap pemanasan dan yang terbuat dari plastik disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit. Ose disterilkan dengan cara dipijarkan pada lampu spiritus.

G. Prosedur Penelitian

1. Proses Pengeringan Kulit Kopi

Buah kopi jenis arabica hasil pemetikan disiapkan . kemudian buah kopi disortir antara kopi yang masih mengkal, dan kopi yang sudah masak. Buah kopi dicuci dengan menggunakan air bersih untuk menghilangkan kotoran, kemudian ditiriskan hingga tidak ada air sisa. Selanjutnya buah kopi dikupas (*pulping*) secara manual. Untuk

memisahkan antara kulit dan biji kopi. Kemudian dicuci dengan air mengalir, jemur atau ditiriskan dibawah sinar matahari secara tidak langsung. Kulit kopi kering (*cascara*).

2. Pembuatan Minuman Fungsional

Menurut penelitian Kresnadiyapana *et al.* (2022), Menyiapkan tempat untuk semua kegiatan yang tidak terkena gangguan air atau pun terkena sinar matahari langsung dan kegiatan pembuatan minuman dilakukan secara aseptis. sterilkan alat yang digunakan dalam autoclave atau panci kukus/rebus. Menimbang *cascara*, gula, dan air dengan perbandingan 1 : 5 : 10 dengan penghitungan 1 liter air ditambah 5% gula dan 1% *cascara*. Ragi ditimbang sesuai dosis yang tertera pada kemasan ragi (2 gram untuk 10 liter larutan). Pengerjaan dilakukan secara aseptis. Menyiapkan peralatan yang sudah disteriliasi secara aseptis. *cascara* yang sudah ditimbang dengan air mendidih sebanyak 2 kali dari berat seluruh *cascara*. Selanjutnya menyaring hasil seduhan menggunakan saringan dan corong. Melarutkan gula dengan air panas dan ragi dengan air hangat (suhu 30-41°C) ditunggu 15-20 menit. Mencampur seluruh bahan tersebut secara merata dilakukan secara aseptis di dalam botol kaca yang sudah disterilisasi. Menutup rapat botol kaca tersebut dengan airlock untuk mengontrol tekanan udara pada waktu proses fermentasi berlangsung. Proses fermentasi berlangsung selama 7 hari.

3. Proses Evaporasi

Proses ekstraksi dilakukan selama 3 hari dengan 3 jam sekali pengadukan dengan tujuan untuk memaksimalkan proses pengambilan senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada sampel produk minuman fungsional fermentasi. Ekstrak yang diperoleh dievaporasi pada suhu 60 °C dengan tujuan agar zat yang terkandung di dalam pelarut tidak rusak pada suhu tinggi.

4. Penyiapan Uji Bakteri

Peremajaan kultur murni bakteri uji berupa bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* diambil masing -masing satu ose kemudian diinokulasikan secara aseptis dengan cara digoreskan pada Media MHA

(*Muller Hinton Agar*) miring Kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37 °C .

5. **Buatan Suspensi Bakteri**

Bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*, dalam biakan murni diambil satu ose dan dimasukan disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9 % dalam tabung reaksi steril dan dihomogenkan, kemudian kekeruhannya dilihat dengan membandingkan kekeruhan standar 0,5 Mc. Farland.

6. **Penguji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)**

Penentuan KHM dilakukan dengan cara membuat beberapa konsentrasi sampel yang aktif menghambat bakteri uji *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan masing-masing konsentrasi 8 %, 10 %, 12 %, 14 % di dalam cawan petri, masing-masing dimasukkan bakteri uji. Diinkubasi pada suhu 37 °C selama \pm 24 jam (bakteri) untuk melihat ada tidaknya pertumbuhan mikroorganisme. Larutan yang tampak jernih setelah diinkubasi menunjukkan nilai KHM.

7. **Penguji Aktivitas Antibakteri Difusi**

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan memasukkan 10 mL medium MHA (*Muller Hinton Agar*) ke dalam cawan petri steril kemudian ditambahkan suspensi bakteri uji *Escherichia.coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella Typhi* sebanyak 20 µl dan dibiarkan memadat, kemudian dimasukkan paper disk yang telah direndam selama 15 menit dengan ekstrak biji kopi arabika dengan konsentrasi berdasarkan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM). Dentire, 2016. Dimetil Sulfoksida DMSO sebagai kontrol negatif dan amoxicilin sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 30%. Diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Dilakukan pengamatan dan pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk.

8. **Uji Kualitatif**

a. Uji Flavanoid

Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 1 ml sampel ekstrak tambahkan dengan 0,5 gram serbuk magnesium dan

10 tetes HCL pekat. Hasil positif akan menunjukkan warna jingga.

b. Uji Tanin

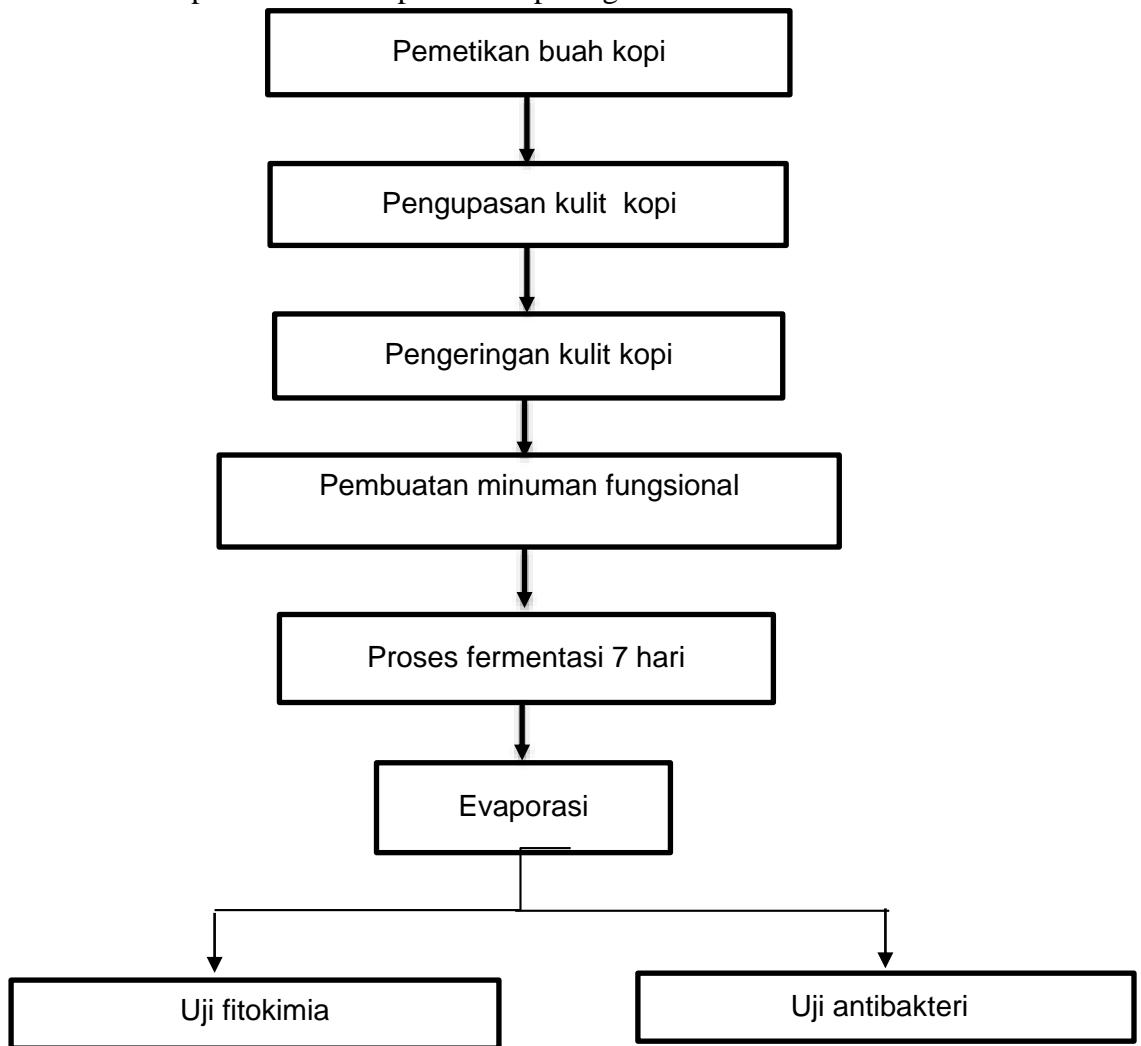
Pengujian dilakukan dengan cara mengambil 1 ml sampel ekstrak tambahkan 10 tetes larutan FeCl_3 1%. Untuk pengujian tersebut positif jika hasil menunjukkan warna hijau, merah, ungu atau hitam maka hasil positif tanin.

c. Uji saponin

Pengujian dengan cara mengambil sampel ekstrak 0,5 gram kemudian tambahkan 10 ml air panas, kocok selama 1 menit . Tambahkan 1 tetes HCL 2N . Hasil positif jika menunjukkan adanya buih buih.

H. Alur penelitian

Alur penelitian ini dapat dilihat pada gambar 3



Gambar 3. 1 Alur penelitian