

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2016 – Agustus 2016 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian, dan Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro, Semarang.

#### **3.1. Materi**

Bahan yang digunakan dalam pembuatan tepung talas fermentasi adalah umbi talas yang diperoleh dari pasar induk, Bogor, kapur tohor yang diperoleh dari CV. Batu Gunung, Semarang, asam sitrat yang diperoleh dari toko kimia indrasari, Semarang, starter bakteri *Lactobacillus plantarum* dan *Aspergillus oryzae* yang diperoleh dari Laboratorium Agrotekno, Balitbang Yogyakarta.

Alat yang digunakan meliputi *inkubator*, timbangan analitik, oven, *grinder* tepung, gelas ukur, wadah penampang, sendok, alumunium foil, loyang, *stopwatch*, pipa Ostwald, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan porsenin, cawan petri, *microtubes*, sentrifugasi, *waterbath* dan *autoclave*.

#### **3.2. Metode**

Metode penelitian terdiri dari rancangan percobaan, prosedur penelitian, uji parameter, dan analisis data yang diperoleh dari hasil percobaan.

### 3.2.1. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen menggunakan uji *t* atau *t-student* dengan variasi perlakuan yang berbeda, yaitu (T0) tepung talas tanpa proses fermentasi dan (T1) tepung talas dengan proses fermentasi, yang akan dibandingkan antara hasil kedua perlakuan tersebut. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 10 kali ulangan. Menurut Sugiyono (2000) menguji hipotesis komparatif berarti menguji parameter populasi yang berbentuk perbandingan, uji *t* merupakan pengujian dengan sampel kecil ( $n < 30$ ). Skema sampel dan hasil ulangan tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Desain Percobaan Penelitian

Ulangan	Perlakuan	
	T0	T1
U1	T0U1	T1U1
U2	T0U2	T1U2
U3	T0U3	T1U3
U4	T0U4	T1U4
U5	T0U5	T1U5
U6	T0U6	T1U6
U7	T0U7	T1U7
U8	T0U8	T1U8
U9	T0U9	T1U9
U10	T0U10	T1U10

Desain penelitian statistik pada penelitian ini menggunakan pengujian uji *t* (*t-test*), yaitu membandingkan sifat fisikokimia dan mikrobiologis antara tepung talas fermentasi dan tepung talas tidak fermentasi.

Model matematis rancangan percobaan yang digunakan adalah :

$$t = \frac{|\bar{x} - \mu|}{s \sqrt{n}} \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

- t = Luas daerah yang dicapai
- $\bar{x}$  = Rata – rata hasil pengujian
- $\mu$  = Parameter hipotesis
- s = Simpangan baku
- n = Jumlah sampel

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

Ho : Tidak terdapat pengaruh perbedaan tepung dengan fermentasi dan tepung tanpa fermentasi dari profil variabel tepung.

Hi : Terdapat perbedaan minimal satu atau sepasang dari tepung dengan fermentasi dan tepung tanpa fermentasi dari profil variabel tepung.

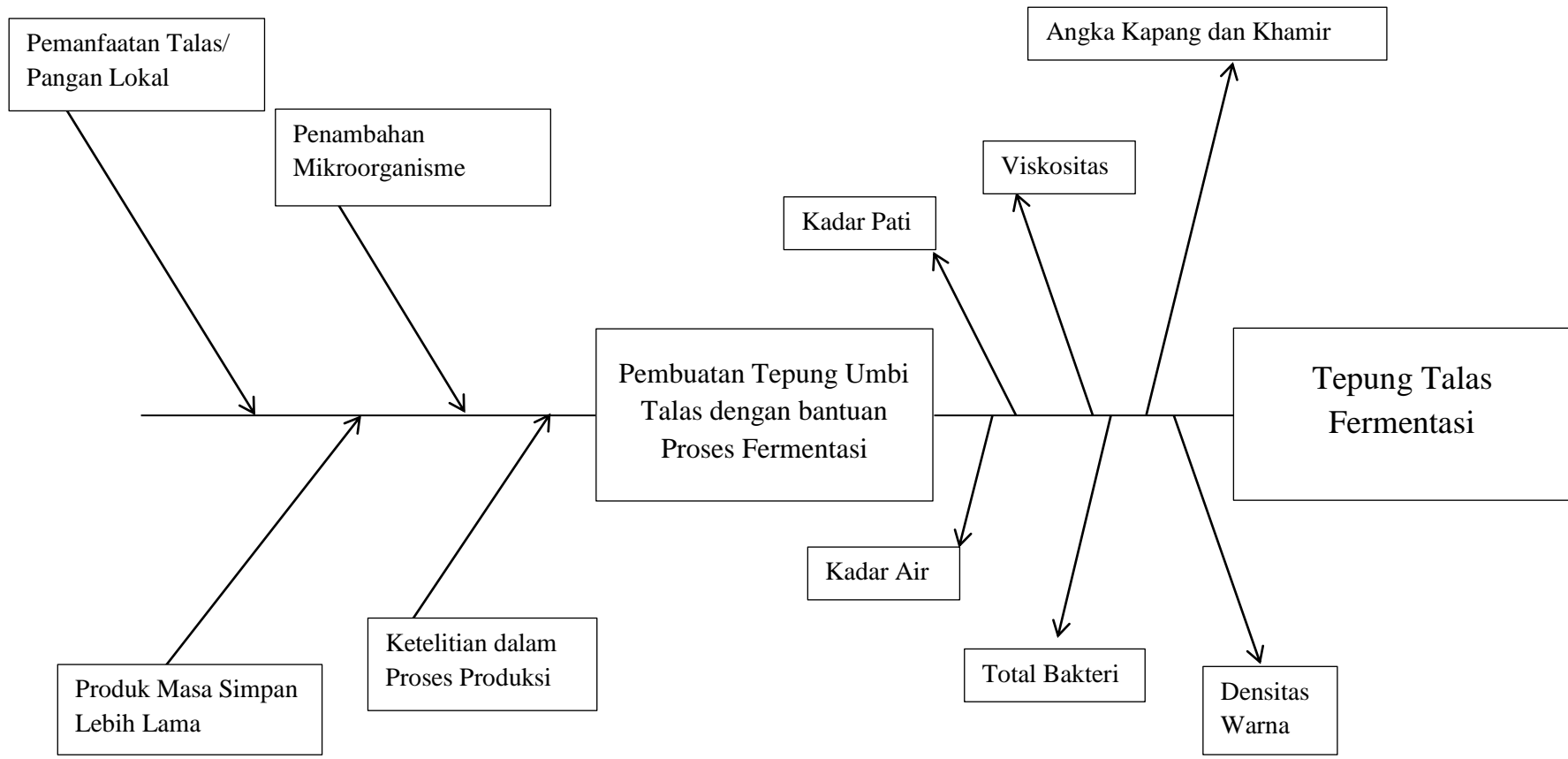
Prosedur pengolahan data selanjutnya yaitu melakukan penentuan nilai kritis dengan menggunakan *degree of freedom* (df) dan tingkat taraf signifikan ( $\alpha$ ) yaitu 5%, lalu melakukan uji perbedaan dua rata-rata untuk mengetahui pengaruh hasil sifat fisikokimia dan mikrobiologis tepung talas fermentasi dan tepung talas tidak fermentasi. Hal ini untuk mengetahui perbedaan dua rata-rata ini menggunakan uji satu pihak (uji t). Setelah itu dilakukan pengambilan keputusan dengan membandingkan t hitung dengan t tabel dan berdasarkan probabilitas yaitu dengan signifikansi 5%.

Maka kriteria pengujian analisis data yang digunakan adalah sebagai berikut:

Jika  $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ , maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima, atau

$F_{hitung} < F_{tabel}$ , maka  $H_0$  diterima dan  $H_1$  ditolak

Perlakuan fermentasi dalam penelitian proses pembuatan tepung talas dimaksudkan untuk meningkatkan sifat fisik dan kimia pada tepung. Dimulai dari mengidentifikasi penyebab masalah awal, menganalisis masalah, hingga masalah itu terselesaikan dengan berbagai manufaktur dan metode. Sehingga tepung talas fermentasi yang dibuat diharapkan memiliki sifat fisik dan kimia lebih baik dibandingkan dengan tepung talas biasa. Rangkaian penelitian pembuatan tepung talas fermentasi dapat dilihat pada diagram *fish bone* pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Diagram *Fish Bone* Rangkaian Penelitian

### 3.2.2. Prosedur Penelitian

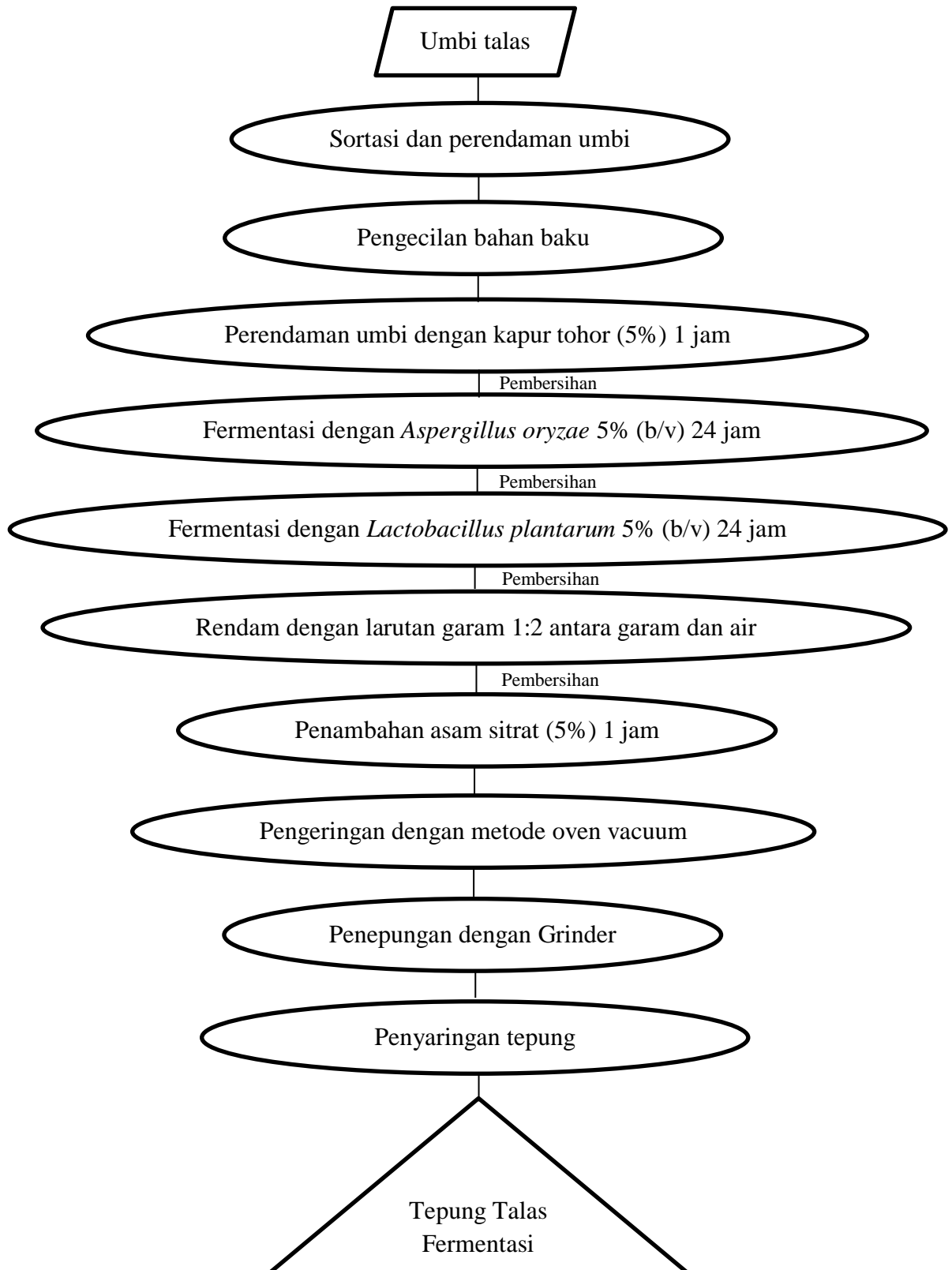
Prosedur yang dilakukan dalam penelitian terdiri dari pembuatan starter, pembuatan tepung umbi talas, dan melakukan fermentasi tepung.

#### a) Pembuatan Starter

Pembuatan tepung talas modifikasi dilakukan dengan penambahan bakteri ke dalam tepung. Pada tahap awal pembuatan tepung talas fermentasi adalah pembuatan starter bakteri dengan menggunakan kapang *Aspergillus oryzae* dan bakteri *Lactobacillus plantarum*. Pada starter *Aspergillus oryzae* didapatkan dari Laboratorium Agroteknologi, Yogyakarta dalam bentuk bubuk sehingga bisa langsung untuk ditambahkan ke dalam umbi talas untuk proses fermentasi. Penambahan starter kerja yang digunakan ke dalam umbi talas untuk proses fermentasi sebanyak 5% (b/v). Pembuatan starter kerja bakteri *Lactobacillus plantarum* dengan proses peremajaan sebanyak 2 kali dari starter indukan (F1), sehingga starter kerja yang digunakan untuk pembuatan tepung talas fermentasi adalah starter kerja (F3). Pembuatan starter kerja dari indukan (F1) dengan dimasukan ke dalam MRSB untuk mendapatkan F2 dan dilakukan inkubasi pada suhu 37°C didiamkan selama 1x24 jam. Setelah didapatkan starter F2 dilakukan peremajaan kembali sampai dapat starter kerja (F3) dengan cara yang sama dari starter F2 kedalam media MRSB sehingga didapatkan starter kerja (F3). Penambahan starter kerja yang digunakan ke dalam umbi talas untuk proses fermentasi sebanyak 5% (v/v).

## b) Pembuatan Tepung Umbi Talas

Pembuatan tepung talas dilakukan dengan menyiapkan umbi talas segar yang didapatkan dari pasar induk, Bogor. Umbi talas harus sudah melewati proses pemilihan bahan yaitu umbi yang segar, dan tidak berbau busuk. Setelah itu umbi dicuci dengan air bersih untuk membersihkan kotoran yang masih tertinggal pada umbi, setelah itu talas dilakukan pengecilan ukuran agar dapat mempermudah proses perendaman dan fermentasi pada proses selanjutnya. Selanjutnya dilakukan proses perendaman dengan kapur tohor sebanyak 5% selama 1 jam, perendaman selanjutnya dilakukan fermentasi dengan campuran kapang jenis *Aspergillus oryzae* sebanyak 5% (b/v) dan bakteri *Lactobacillus plantarum* sebanyak 5% (v/v), diamkan selama masing-masing  $\pm 24$  jam. Setelah itu umbi dibersihkan dengan air dan air garam, hal ini bermaksud menghentikan proses fermentasi berlangsung. Proses selanjutnya dilakukan perendaman dengan asam sitrat sebanyak 5% selama 1 jam, hal ini berguna untuk memperbaiki penampilan warna putih pada umbi, setelah itu dilakukan pengeringan umbi dengan oven, pemanasan dilakukan pada suhu  $115^{\circ}\text{C}$  selama 2-3 jam sehingga kadar air sudah berkurang dan talas sudah terlihat kering dan keras. Umbi talas setelah dikeringkan dilakukan proses penepungan dengan menghancurkan umbi menjadi ukuran sangat kecil dan disaring sehingga didapatkan tepung umbi talas fermentasi. Diagram alir pembuatan tepung talas fermentasi terdapat pada Ilustrasi 2.



Ilustrasi 2. Diagram Alir Proses Pembuatan Tepung Talas Fermentasi



### c) Fermentasi Tepung

Tepung talas modifikasi dilakukan dengan proses fermentasi pada umbi hingga menjadi tepung talas fermentasi. Proses fermentasi dilakukan dengan menambahkan *Aspergillus oryzae* sebanyak 5% (b/v) dan bakteri *Lactobacillus plantarum* sebanyak 5% (v/v). Fermentasi dilakukan dengan cara merendam umbi talas yang sudah dipotong kecil dan tipis dan didiamkan selama 24 jam sehingga proses fermentasi lebih efektif.

### 3.2.3. Uji Parameter

Parameter dalam penelitian pembuatan tepung talas fermentasi adalah uji kadar pati, kadar air, viskositas, total bakteri, total kapang khamir, dan uji densitas warna. Uji-uji tersebut disajikan sebagai berikut.

#### a) Kadar Pati

Pengujian kadar pati dilakukan dengan metode gravimetrik hidrolisa asam (FAO, 2002) yaitu sampel sebanyak 10g dicampur dengan larutan 8% KOH sebanyak 50ml lalu sentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 2000 rpm, endapan ditambahkan dengan 5ml etanol 95%, aduk secara merata dengan di sentrifugasi pada kecepatan 2000 rpm selama 5 menit supernatant diambil dan tambahkan 50ml HCl di aduk secara merata untuk melarutkan pati bahan di diamkan selama beberapa jam dan saring sampel dengan kertas saring hingga terpisah antara cairan dan padatan. Padatan dilakukan proses pemanasan yaitu di oven pada suhu 75°C

selama 30 menit, berat padatan dihitung residu sebelum dan sesudahnya.

Perhitungan kadar pati dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar Pati (\%)} = \frac{100 (A-B)(FK)}{S}$$

Keterangan:

- A = berat kertas saring sebelum pemanasan (gr)
- B = berat kertas saring sesudah pemanasan (gr)
- FK = faktor koreksi, Pengenceran (5)
- S = berat sampel (gr)

#### b) **Kadar Air**

Pengujian kadar air dilakukan dengan metode oven, dimana pemanasan menggunakan oven pada suhu 105°C selama ±3 jam (AOAC, 2005). Sampel ditimbang sebanyak 3g dimasukan ke dalam cawan porselin yang sebelumnya sudah panaskan dengan oven, kemudian keringkan sampel dalam oven pada suhu 105°C selama ±3 jam, setelah itu dinginkan dalam desikator dan ditimbang. Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan. Perhitungan kadar air dapat dihitung dengan rumus:

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

Keterangan:

- A = berat cawan
- B = berat sampel
- C = berat konstan (setelah di oven)

### c) Viskositas

Pengujian viskositas merupakan pengukuran fisik kekentalan suatu bahan. Pengujian tingkat viskositas dilakukan dengan metode okswald, yaitu dengan menggunakan pipa okswald dan satuan pengukuran yang digunakan adalah 'cP' (*centi poise*). Pengukuran viskositas dilakukan sesuai metode Sutiah *et al.*, (2008). Viskositas dihitung dengan mengencerkan 10g sampel tepung dengan aquades sebanyak 90ml. Aquades dan sampel masing-masing sebanyak 10ml dimasukan ke dalam piknometer dan ditimbang berat jenis sampel dengan timbangan analitik, kemudian sampel dimasukan ke dalam pipa okswald dan dihisap bagian tera bagian atas secara bergantian. Waktu turun sampel sampai tera bagian bawah dihitung. Viskositas dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Viskositas} = \frac{(\rho \text{ tepung}) t \text{ tepung} \times \eta \text{ air}}{(\rho \text{ air}) t \text{ air}}$$

$$\text{Dimana, } \rho \text{ tepung} = \frac{m' - m}{v}$$

Keterangan :

m	= massa piknometer kosong (g)
m'	= massa piknometer + tepung (g)
v	= volume piknometer (ml)
$\eta$ air	= viskositas air (1,0 cP)
$\rho$ tepung	= berat jenis tepung (g/ml)
t tepung	= waktu alir tepung (detik)
$\rho$ air	= berat jenis air (1,0 g/ml)
t air	= waktu alir air (detik)

**d) Pengujian Jumlah Bakteri TPC (Total Plate Count)**

Pengujian jumlah bakteri dilakukan dengan metode *pour plate* (cawan tuang). Sampel yang diencerkan dari pengenceran  $10^1$ - $10^9$  sampel pada angka pengenceran  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$  dimasukkan ke dalam cawan petri steril (AOAC, 1995). Masing-masing cawan petri diisi dengan media Natrium Agar sekitar 10ml, kemudian sampel dimasukkan kedalam cawan petri lalu digoyang membentuk angka delapan, dengan tujuan bakteri menyebar rata. Cawan dimasukan ke dalam inkubator dengan posisi terbalik pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 2 x 24 jam.

**e) Pengujian Analisa Kapang Khamir**

Pengujian kapang khamir dilakukan dengan mengencerkan sampel tepung sebanyak 1g dan dilarutkan dengan larutan NaCl 0,85% sebanyak 9ml, sampel yang diencerkan nilai dari  $10^1$ - $10^3$ . Tuangkan 1ml sampel pada cawan petri lalu tuangkan sebanyak 10ml medium PDA, kemudian masukan sampel kedalam cawan petri dan digoyang membentuk angka delapan, dengan tujuan suspensi menyebar rata (AOAC, 1995). Cawan dimasukan ke dalam inkubator pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$  selama 2 x 24 jam, dan menghitung jumlah koloni pada cawan.

**f) Pengujian Densitas Warna**

Pada pengujian densitas warna digunakan dengan alat *colorimeter* yaitu dengan mangukur dalam unit L'a'b. Pada perhitungan pengujian ini hanya digunakan konversi L saja dimana melihat tingkat *Lightness*. Nilai dari L berkisar

antara 0 sampai 100. Semakin tinggi nilai konversi L maka dinyatakan bahwa sampel semakin cerah berwarna putih (Leon *et al.*, 2006).

#### **3.2.4. Analisis Data**

Data hasil uji kadar pati, kadar air, viskositas, total bakteri, analisa kapang khamir, dan uji densitas warna dilakukan uji normalitas data menggunakan uji Shapiro-Wilk karena jumlah sampel kurang dari 30 (Shapiro *et al.*, 1968). Setelah itu data dianalisis statistik dengan menggunakan uji t atau *t-student* dengan variasi perlakuan yang berbeda dan membandingkan antara perlakuan. Pengujian ini diuji pada selang kepercayaan 95% (Levene, 1960).