

BAB III

MATERI DAN METODE

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

3.1. Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam pembuatan *yeast* segar dari buah sirsak antara lain buah sirsak, tepung terigu merk Cakra Kembar, mentega merk Blue Band Cake and Cookies, susu bubuk merk Dancow, gula, telur, garam diperoleh dari Superindo Ngesrep Tembalang, aquades, alkohol 80% dan NA (*Nutrient Agar*) diperoleh dari Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan Universitas Diponegoro Semarang. Alat yang digunakan adalah labu *kjedhal*, pisau, baskom, timbangan digital, piknometer, mikro pipet, mikrotube, gelas ukur, pH-meter, sendok, cawan petri, pipet ukur, gelas beker, saringan, toples kaca, bunsen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung destilasi, erlemeyer, kertas pembungkus, autoklaf, *box styrofoam*, destilator dan *box* untuk mengukur volume adonan.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian meliputi rancangan percobaan, uji variabel penelitian, prosedur penelitian dan analisis data. Uraian berikut menjabarkan tiap sub-sub bab tersebut.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen dengan menggunakan monofaktor Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variasi

waktu fermentasi pada *yeast* alami berbahan dasar buah sirsak T0 : penambahan *yeast* segar buah sirsak pada adonan roti sebesar 50% dengan lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak selama 0 jam, T1 : penambahan *yeast* segar buah sirsak pada adonan roti sebesar 50% dengan lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak selama 24 jam, T2 : penambahan *yeast* segar buah sirsak pada adonan roti sebesar 50% dengan lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak selama 48 jam, T3 : penambahan *yeast* segar buah sirsak pada adonan roti sebesar 50% dengan lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak selama 72 jam dan T4 : penambahan *yeast* segar buah sirsak pada adonan roti sebesar 50% dengan lama fermentasi *yeast* alami selama 96 jam. Menurut Ko (2012) penambahan *yeast* segar buah sirsak pada adonan roti 50% dari berat tepung terigu yang dipakai. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 4 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA dan jika terdapat perbedaan maka dilakukan dengan Uji Wilayah Ganda Duncan.

Adapun taraf perlakuan yang digunakan adalah sebagai berikut:

- T0 = penambahan *yeast* segar buah sirsak pada adonan roti sebesar 50% dengan lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak selama 0 jam
- T1 = penambahan *yeast* segar buah sirsak pada adonan roti sebesar 50% dengan lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak selama 24 jam
- T2 = penambahan *yeast* segar buah sirsak pada adonan roti sebesar 50% dengan lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak selama 48 jam
- T3 = penambahan *yeast* segar buah sirsak pada adonan roti sebesar 50% dengan lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak selama 72 jam
- T4 = penambahan *yeast* segar buah sirsak pada adonan roti sebanyak 50% dengan lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak selama 96 jam

Model matematika rancangan percobaan adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan : Y_{ij} : angka dari perlakuan dari perlakuan ke $-i$ ($i = 1, 2, 3, 4, 5$) dan ulangan ke- j ($j = 1, 2, 3, 4$)

μ : rata-rata umum hasil pengamatan perlakuan

α_i : pengaruh perlakuan ke- i

ε_{ij} : pengaruh galat yang timbul pada perlakuan ke i dan ulangan ke- j .

Hipotesis yang diuji dalam penelitian ini adalah adanya pengaruh lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak terhadap variabel yang ditetapkan yaitu : mutu kimia (pH, kadar alkohol, gas yang dihasilkan), fisik (daya kembang adonan) dan mikrobiologis (viabilitas mikroba segar buah sirsak) hasil fermentasi *yeast* segar buah sirsak.

H_0 : Tidak ada pengaruh lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak terhadap mutu kimia, fisik dan mikrobiologis pada hasil fermentasi *yeast* segar buah sirsak buah sirsak.

H_1 : Ada satu pengaruh lama fermentasi *yeast* segar buah sirsak terhadap mutu kimia, fisik dan mikrobiologis pada hasil fermentasi *yeast* segar buah sirsak.

Secara statistik, hipotesis empirik di atas dapat dijabarkan ke dalam hipotesis statistik sebagai berikut:

$$H_0 : \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$$

$$H_1 : \mu_0 \neq \dots \neq \mu_4$$

Kriteria pengujian analisis yang digunakan adalah sebagai berikut:

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

$F_{hitung} \geq F_{tabel}$ artinya H_0 ditolak dan H_1 diterima

3.2.2. Variabel Penelitian

Variabel kualitas *yeast* segar buah sirsak yang diamati terdiri dari uji viabilitas mikroba, pengukuran nilai pH, volume adonan roti yang dihasilkan, alkohol yang dihasilkan, daya kembang adonan roti, produksi gas yang dihasilkan. Sub-sub berikut menyajikan analisis atau uji variabel tersebut :

a. Analisis Viabilitas Mikroba

Prinsip pengujian viabilitas mikroba dilakukan dengan metode TPC (*Total Plate Count*) yaitu dengan menginkubasi sampel *yeast* pada media NA (*Nutrient Agar*) untuk mengetahui jumlah mikroba yang bertahan hidup dan menghitung jumlah *yeast* tersebut. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Ferdiaz (1992) yang menyatakan bahwa untuk menguji mikrobiologi dapat dilakukan dengan metode TPC. Langkah awal dalam uji TPC adalah dengan sterilisasi alat terlebih dahulu dengan membungkus cawan petri dan pengaduk dengan kertas pembungkus kemudian di oven dengan suhu 180°C selama 1 jam. Dan untuk gelas beker yang tidak tahan terhadap panas disterilisasikan dengan autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15 menit (Paliling *et al.*, 2015). Langkah selanjutnya adalah menyiapkan media NA yaitu dengan menimbang NA sebanyak 5 g dan dilarutkan dalam aquades 250 ml yang dipanaskan, media yang sudah jadi di sterilisasikan dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm (Suhermawan, 2013).

Selanjutnya mengambil sampel sebanyak 1 ml sampel diencerkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml aquades yang telah disterilisasikan (10^1) Pengenceran dilakukan hingga pengenceran (10^7) cawan petri digoyang-goyangkan. Media dituangkan di masing-masing cawan dan ditunggu hingga padat dan posisi cawan dibalik posisinya. Masukkan cawan kedalam inkubator pada suhu 35°C selama 24-48 jam. Setelah di inkubasi media, amati jumlah koloni pada masing-masing cawan dan dihitung. Kemudian sampel dihitung setelah diinkubasi selama 24 jam-48 jam dengan jumlah koloni yang diterima yaitu 30-300 koloni. Nilai TPC dapat dihitung dengan rumus perhitungan koloni :

$$\text{Jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

b. Analisis Uji Nilai pH

Menurut Handayani (2016) uji nilai pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Mengambil sampel *yeast* segar buah sirsak sebanyak 10 ml kemudian diencerkan dengan aquades sebanyak 90 ml. Sampel yang telah diencerkan dihitung nilai pHnya dengan pH meter yang terlebih dahulu dikalibrasi menggunakan larutan *buffer* pH 4 dan 7 agar didapatkan hasil pengujian yang akurat (Apriyanto *et al*, 1989). Elektroda dibersihkan terlebih dahulu dengan aquades dan dikeringkan dengan menggunakan tissue, kemudian dicelupkan pada larutan *buffer* dan dicelupkan ke sampel yang akan diuji tunggu beberapa saat hingga pH meter berhenti pada angka pH yang stabil.

c. Analisis Kadar Alkohol

Menurut Anisa (2016) metode untuk menguji kadar alkohol menggunakan metode piknometer dengan prinsip menghitung berat jenis alkohol. Piknometer yang digunakan untuk menghitung kadar alkohol adalah piknometer dengan ukuran 10 ml. Pengujian melakukan destilasi terhadap sampel sebanyak 100 ml dan dimasukkan kedalam labu *kjeldhal* dan dihubungkan dengan alat destilator kemudian dipanaskan dengan suhu 80°C. Hasil destilasi kemudian ditampung pada erlemeyer sebanyak 80 ml. Hasil destilat dimasukkan kedalam piknometer yang telah diketahui berat kosongnya. Sampel dimasukkan kedalam piknometer hingga penuh sebelum ditimbang terlebih dahulu piknometer dibersihkan dengan menggunakan *tissue* untuk membersihkan sisa sampel yang tersisa di bagian luar piknometer agar perhitungan kadar alkohol menjadi akurat. Melakukan metode yang sama menggunakan aquades sebagai pembanding untuk mengetahui Berat Jenis (BJ) kadar alkohol sampel. Berat jenis alkohol dapat dihitung dengan rumus:

$$\frac{(\text{berat piknometer} + \text{destilat}) - \text{berat piknometer kosong}}{(\text{berat piknometer} + \text{aquades}) - \text{berat piknometer kosong}}$$

Sampel yang telah diketahui berat jenisnya kemudian dikonversikan dalam tabel berat jenis alkohol untuk menentukan kadar alkohol yang diperoleh.

d. Daya Kembang Adonan

Uji daya kembang adonan dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 125 gr adonan roti sebelum di fermentasi kemudian dimasukkan kedalam kotak persegi yang telah diketahui ukurannya kemudian diukur panjang dan juga

tingginya. Melakukan metode yang sama pada adonan setelah difermentasi selama 2 jam. Perhitungan volume adonan menggunakan rumus :

Volume : panjang x lebar x tinggi

Prinsip perhitungan daya kembang adonan adalah dengan menghitung selisih daya kembang adonan yang telah difermentasi dikurangi dengan daya kembang adonan sebelum difermentasi sehingga dapat dirumuskan :

Volume akhir adonan : $V_2 - V_1$

Keterangan :

V1: Volume adonan sebelum difermentasi

V2 : Volume adonan setelah difermentasi

e. Volume Gas yang Dihasilkan

Pengujian volume gas yang dihasilkan dalam fermentasi menggunakan prinsip perhitungan kenaikan volume air. Mengambil sampel adonan sebanyak 125 gr yang belum difermentasikan kemudian dimasukkan kedalam gelas ukur 1 L yang telah diisi air sebanyak 500 ml kemudian dihitung jumlah air yang telah diberi sampel. Metode serupa dilakukan pula untuk mengukur volume gas pada adonan yang telah difermentasi. Besarnya produksi gas dapat diukur dengan menghitung selisih volume awal dan volume akhir. Produksi gas dinyatakan dalam satuan ml (Datar *et al*, 2004).

Rumus perhitungan volume gas sebagai berikut :

$$\text{Volume gas} : V2 - V1$$

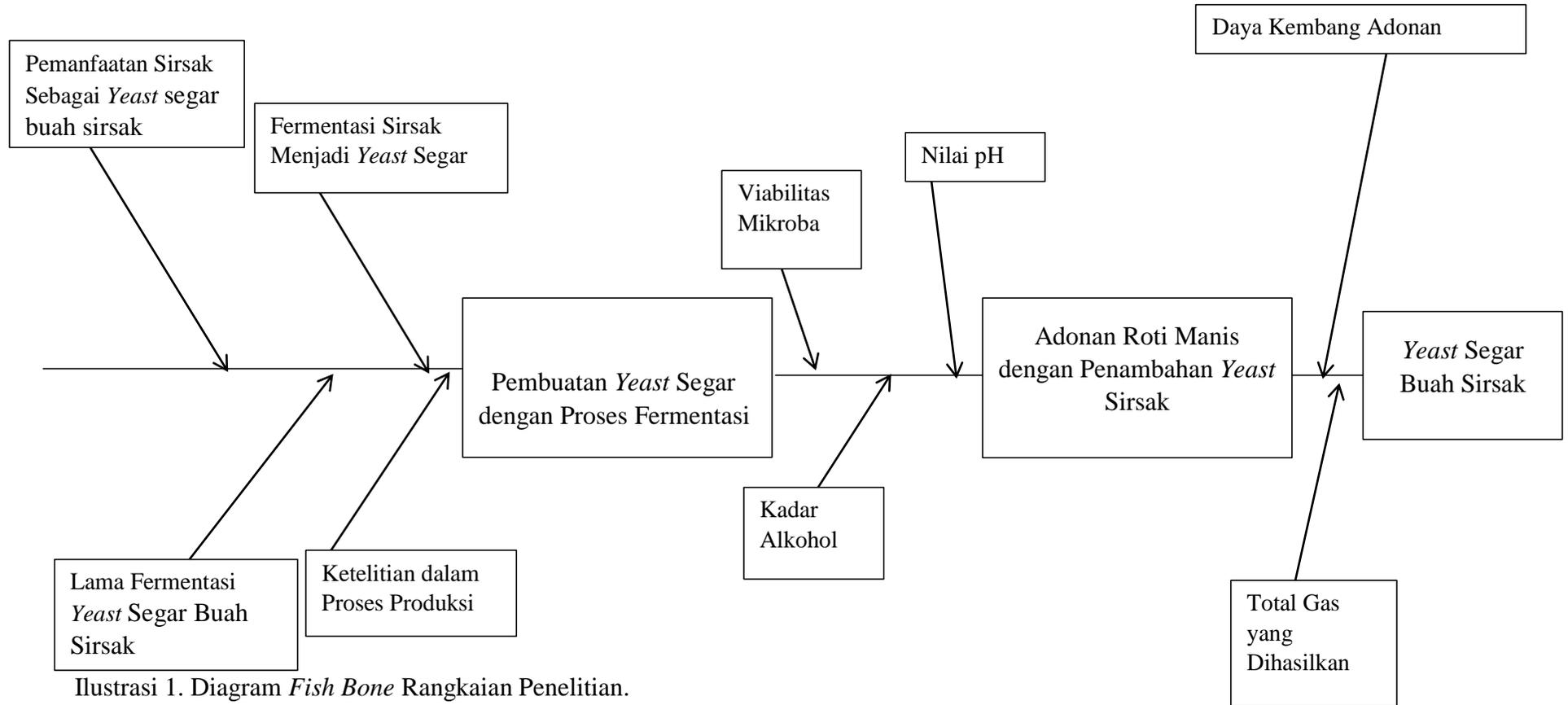
Keterangan :

V1 : Volume gas pada adonan sebelum difermentasi

V2 : Volume gas pada adonan yang telah mengalami fermentasi

3.2.3. Diagram *fish bone*

Perlakuan fermentasi dalam penelitian ini dimaksudkan untuk mengoptimalkan pemanfaatan buah sirsak sebagai *yeast* segar buah sirsak sebagai alternatif pengganti *yeast* instan dalam pembuatan adonan roti dan kemudian dianalisis viabilitas mikroba, nilai pH, kadar alkohol, volume adonan dan daya kembang adonan. Penelitian dimulai dengan mengidentifikasi permasalahan, menganalisis masalah, dan menyelesaikan permasalahan dengan berbagai metode. Dengan begitu diharapkan *yeast* segar buah sirsak dapat dimanfaatkan pengaplikasiannya pada proses pembuatan adonan roti sehingga dapat mengurangi penggunaan *yeast* instan. Rangkaian penelitian pembuatan *yeast* segar buah sirsak disajikan dalam diagram *fish bone* pada Ilustrasi 1 .



3.2.4. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan *Yeast* Segar (Starter)

Metode pembuatan *yeast* segar buah sirsak dilakukan sesuai dengan metode Ko (2012) yaitu menyiapkan sirsak yang telah matang. Sirsak dikupas dan dihilangkan biji hanya diambil daging buahnya saja. Toples kaca yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu dengan cara direbus selama 5 menit untuk membunuh bakteri lain yang kemungkinan terdapat didalam toples kaca yang akan digunakan untuk fermentasi sehingga tidak akan mengkontaminasi saat fermentasi. Sirsak yang telah dikupas dimasukkan kedalam toples kaca sebanyak 100 gr ditambahkan 250 ml aquades dan 30 gr gula pasir dan kemudian di fermentasikan selama 0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam dan 96 jam dan dimasukkan kedalam *box Styrofoam* untuk menjaga suhunya stabil. Diagram alir proses pembuatan *yeast* segar buah sirsak disajikan pada Lampiran 1.

b. Pembuatan *Yeast* Induk Adonan Roti Manis

Yeast segar buah sirsak yang telah difermentasikan siap untuk dijadikan *yeast* induk pada adonan roti manis. Pembuatan *yeast* induk bertujuan agar *yeast* segar buah sirsak akan semakin kuat agar dan tidak mudah mati . Pembuatan *yeast* induk di mulai dengan menyaring *yeast* yang telah siap ambil sebanyak 100 ml. Perbandingan antara tepung dan *yeast* adalah 100 ml *yeast* ditambahkan pada 100 gr tepung terigu dan difermentasikan selama 18 jam. Setelah 18 jam fermentasi

dilakukan kembali fermentasi yang kedua dengan mengambil *yeast* fermentasi pertama sebanyak 100gr kemudian ditambahkan 100 ml aquades, 100 gr tepung terigu dan 2 gr garam dan difermentasikan selama 18 jam. Pembuatan *yeast* induk dimaksudkan untuk memperkuat *yeast* yang telah dibuat (Ko, 2012). Diagram alir proses pembuatan *yeast* induk adonan roti manis disajikan pada Lampiran 2.

c. Pembuatan Adonan Roti Manis

Proses pembuatan adonan roti dimulai dari menyiapkan tepung terigu sebanyak 130 gr , 65 gr *yeast* induk, 18 gr gula, ½ butir telur, 30 ml aquades dan 15 gr susu bubuk. Semua bahan dicampur secara merata kemudian diuleni hingga kalis dan difermentasikan selama 2 jam (Ko, 2012). Diagram alir proses pembuatan adonan roti manis dengan penambahan *yeast* alami buah sirsak disajikan pada Lampiran 3.

3.2.5. Analisis Data

Data yang didapatkan dari uji kadar alkohol, uji pengukuran gas, uji daya kembang, uji viabilitas mikroba dan uji pH diolah dengan menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan tingkat kepercayaan 95%. Data yang didapatkan kemudian dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA (*Analysis Of Varian*) menggunakan SPSS 16.0 *Statistic Software* pada taraf signifikansi 5%. Apabila terjadi pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji lanjut Wilayah Ganda

Duncan untuk mengetahui perbedaan perlakuannya, hipotesis penelitian apabila P (P value) pada hasil analisis $< \text{sig } 0,05$.