**III METODE PENELITIAN**

Bab ini akan menguraikan mengenai : (1) Bahan-Bahan yang Digunakan, (2) Alat-Alat yang Digunakan, (3) Metode Penelitian dan (4) Deskripsi Penelitian.

**3.1. Bahan yang Digunakan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kopi Arabica segar dari daerah pangalengan, Ragi *Saccharomyces cereviseae*, Bakteri *Bacillus Substilis* dan Kapang *Aspergillus oryzae.*

Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kimia adalah larutan H2SO4 1:9, Kloroform, KOH 1%, MgO dan aquadest.

**3.2. Alat yang Digunakan**

Alat yang digunakan untuk proses penelitian ini adalah wadah fermentasi , *ricecooker* , tray plastik, inkubator, roaster, thermometer, ayakan 80 mesh, neraca, labu takar 100 ml, Erlenmeyer 250 ml, pipet volume 25 ml dan 10 ml, pipet volume 5 m, pipet tetes, batang pengaduk, gelas kimia100 ml, statif dan buret.

**3.3. Metode Penelitian**

3.3.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian tahap pertama membuat koji dari mikroorganisme *Saccharomyces cereviceae, Bacillus substilis* dan *Aspergillus oryzae,* kemudian penelitian tahap kedua menentukan jenis koji yang akan dipilih pada penelitian utama berdasarkan kadar kafein terendah yang dihasilkan dari proses fermentasi kopi varietas arabika*.* Diagram alir penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Gambar 1, 2, 3 dan 4.

3.3.2. Penelitian Utama

Penelitian utama dilakukan untuk menentukan konsentrasi koji  *Aspergillus oryzae* dan lama fermentasi terbaik kopi varietas arabika. Diagram alir penelitian utama dapat dilihat pada Gambar 5.

3.3.2.1. Rancangan Perlakuan

Rancangan perlakuan yang digunakan pada penelitian utama terdiri dari dua faktor yaitu, konsentrasi koji dengan tiga taraf (k1 :1%, k2 : 2% dan k3: 3%)dan waktu fermentasi dengan tiga taraf, yaitu (t1 :12 jam, t2: 24 jam ,t3 :36 jam).

3.3.2.2. Rancangan Percobaan

Rancangan Percobaaan yang digunakan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok yang terdiri dari 2 faktor.

Faktor I : Koji (k)

k1=1%

k2= 2 %

k3= 3 %

Fakor II : Lama Fermentasi (t)

t1= 12 jam

t2= 24 jam

t3= 36 jam

.

Tabel 2. Model Pola Faktorial 3x3 dengan 3 kali Ulangan dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Konsentrasi  koji (A) | Waktu Fermentasi (B) | | |
| 12 Jam  (b1) | 24 Jam  (b2) | 36 Jam  (b3) |
| (a1)  1% | a1b1 | a1b2 | a1b3 |
| a1b1 | a1b2 | a1b3 |
| a1b1 | a1b2 | a1b3 |
| (a2)  2% | a2b1 | a2b2 | a2b3 |
| a2b1 | a2b2 | a2b3 |
| a2b1 | a2b2 | a2b3 |
| (a3)  3% | a3b1 | a3b2 | a3b3 |
| a3b1 | a3b2 | a3b3 |
| a3b1 | a3b2 | a3b3 |

Berdasarkan model pola faktorial diatas dapat dibuat *layout* percobaan 3x3 pada tabel 3.

Tabel 3. *Layout* Rancangan Percobaan Faktorial 3x3 dengan 3 kali Ulangan dalam Rancangan Acak Kelompok

Kelompok Ulangan I

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| a2b2 | a1b1 | a1b3 | a3b2 | a3b1 | a1b2 | a2b3 | a2b1 | a3b3 |

Kelompok Ulangan II

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| a3b2 | a2b1 | a3b1 | a1b2 | a1b3 | a2b2 | a2b3 | a3b3 | a1b1 |

Kelompok Ulangan III

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| a1b3 | a3b1 | a3b3 | a2b1 | a1b2 | a2b3 | a1b1 | a3b2 | a2b2 |

3.3.2.3 Rancangan Analisis

Rancangan analisis dilakukan untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan percobaan yang telah dilakukan terhadap respon yang diamati, yang disusun pada Tabel Analisis Variasi (ANAVA) untuk mendapatkan kesimpulan dari hasil perlakuan. Hasil rancangan percobaan di atas maka disusun tabel sidik ragam, yang tertera pada Tabel 3.

Kemudian dilakukan penentuan daerah penolakan hipotesis, yaitu :

(1) Jika F hitung ≥ F tabel pada taraf 5%, maka konsentrasi koji dan lama fermentasi berpengaruh terhadap karakteristik kopi varietas arabika yang dihasilkan. Demikian hipotesis diterima, kemudian akan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan untuk mengetahui perbedaan sampel.

(2) Jika F hitung< F tabel pada taraf 5%, maka konsentrasi koji dan lama fermentasi tidak berpengaruh terhadap karakteristik kopi varietas arabika yang dihasilkan. Dengan demikian hipotesis penelitian ditolak (Gaspersz, 1995).

Tabel 4. Analisis Variansi Konsentrasi Koji dan Lama fermentasi Terhadap Kopi Varietas Arabika

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Sumber Keragaman | Derajat Bebas (db) | Jumlah Kuadrat (JK) | Kuadrat Tengah (KT) | F Hitung | F Tabel (5%) |
| Kelompok | r-1 | JKK | KTK | - |  |
| Perlakuan | ab-1 | JKP | - | - |  |
| Faktor A | a – 1 | JK(A) | KT (A) | KT(A)/KTG |  |
| Faktor B | b– 1 | JK(B) | KT (B) | KT(B)/KTG |  |
| Interaksi AB | (a-1)(b-1) | JK (AxB) | KT (AxB) | KT(AxB)/KTG |  |
| Galat | (r-1)(ab-1) | JKG | KTG |  |  |
| Total | rab-1 | JKT |  |  |  |

3.3.2.4. Rancangan Respon

Rancangan respon yang dilakukan pada penelitian utama, terdiri dari respon kimia dan respon organoleptik.

Respon kimia yang diuji pada penelitian ini yaitu:

1. Uji kadar kafein ditentukan dengan metode Bailey-Andrew (AOAC, 2005)
2. Kadar air ditentukan dengan menggunakan metode Gravimetri (AOAC, 2005).

Rancangan respon organoleptik terhadap kopi Arabika dilakukan dengan uji Hedonik, parameter uji hedonik meliputi warna, aroma dan rasa air seduhan kopi akan dilakukan untuk mengurutkan kesukaan panelis dalam rangka memilih sampel terbaikterhadap kopi Arabika.

**3.4. Deskripsi Penelitian**

Pelaksanaan percobaan pada penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.

3.4.1. Deskripsi Penelitian Pendahuluan pembuatan koji.

1. Perendaman

Proses ini bertujuan untuk meningkatkan kandungan air pada beras sehingga dapat ditumbuhi oleh mikroba pada saat inokulasi.

1. Pengukusan

Proses pengukusan dilakukan untuk sedikit mematangkan beras dan meningkatkan kandungan air dalam beras yang akan digunakan sebagai bahan koji .Beras dikukus dengan suhu 80OC selama 30 menit.

1. *Tempering*

Beras yang telah dikukus selanjutnya didinginkan agar pada saat inokulasi mikroba tidak mati akibat panas yang cukup tinggi.

1. Pembuatan suspensi

Suspensi dibuat agar mikroba dapat diinokulasikan pada bahan koji. Pembuatan suspensi dilakukan dengan cara *Saccharomyces cereviseae, Bacillus substilis,*  dan *Aspergillus oryzae*yang telah dibiakan dalam tabung reaksi diambil dengan kawat oase secara aseptis, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi dengan air steril.

1. Inokulasi

inokulum ditambahkan pada bahan koji yang telah dingin menggunakan alas nampan yang telah disterilkan. Proses ini harus steril dan merata agar pertumbuhan ragi tidak terkontaminasi. Proses inokulasi dilakukan dengan menambahkan 2 tabung suspensi *Saccharomyces cereviseae, Bacillus substilis,*  dan *Aspergillus oryzae*pada setiap 250 gram bahan koji.

1. Fermentasi

Suhu fermentasi disesuaikan dengan suhu optimal *Saccharomyces cereviseae*pada suhu 32 OC selama 24 jam *, Bacillus substilis* pada suhu 45 OC selama 18 jam *,*  dan *Aspergillus oryzae*pada suhu 32OC selama 72 jam.

1. Pengeringan

Proses pengeringan dilakukan menggunakan *tunnel dryer* pada suhu 40OC - 50 OC selama 12 jam agar didapatkan koji yang kering. Suhu harus tetap dijaga agar ragi yang telah tumbuh tidak mati akibat pemanasan pada proses pengeringan.

1. Penggilingan

Proses penggilingan bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel koji sehingga diperoleh koji yang halus.

3.4.2. Deskripsi Penelitian Pendahuluan (Fermentasi).

a. Sortasi

Sortasi dilakukan secara manual dengan menggunakan tangan, sortasi dimaksudkan untuk memisahkan buah kopi matang dengan buah kopi belum matang.

b. Fermentasi

Pada proses fermentasi ini terdapat penambahan Koji*Saccharomyces cerevisiae, Bacillus substilis* dan*Aspergillus oryzae* . Fermentasi ini dilakukan dengan waktu selama 12 jam, yang dimana tujuan fermentasi ini untuk melepaskan lendir yang masih melekat pada daging buah kopi.

c. Pencucian

Proses pencucian bertujuan untuk melepaskan lendir yang telah terpisah dari daging buah.

d. Penirisan

Biji kopi yang telah direndam kemudian ditiriskan terlebih dahulu sebelum dilakukan proses pengeringan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam biji kopi selama proses pencucian agar proses pengeringan berjalan lancar.

e. Pengeringan

Proses ini bertujuan untuk menurunkan kadar air biji kopi dari 53 sampai 55% menjadi 11 sampai 12% sehingga kopi tidak mudah terserang jamur dan tidak mudah pecah ketika pengupasan. Proses pengeringan dilakukan pada suhu 50 sampai 550C selama 12 jam dengan mesin pengering seperti *tunnel dryer*.

f. Penyangraian

Penyangraian bertujuan untuk mengurangi kadar air, menimbulkan perubahan warna dan membentuk aroma spesifik. Indikator selesainya proses penyangraian adalah munculnya aroma khas kopi. Penyangraian akan dilakukan dengan alat konvensional dengan waktu yang 90 menit.

g. Penggilingan

Penggilingan bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel biji kopi sehingga diperoleh kopi bubuk yang merata ukurannya.

h. Pengayakan

Pengayakan kopi yang telah digiling bertujuan untuk menyamakan ukuran partikel kopi bubuk yang telah digiling agar ukurannya seragam menggunakan pengayak 80 mesh.

i. Analisa Kadar Kafein

Proses analisa kadar kafein pada metode penelitian pendahuluan untuk menentukan koji yang paling optimum dalam menurunkan kafein pada proses fermentasi.

3.4.3. Deskripsi Penelitian Utama.

a. Sortasi dan pengupasan

Sortasi dilakukan secara manual dengan menggunakan tangan, sortasi dimaksudkan untuk memisahkan buah kopi matang dengan buah kopi belum matang, kemudian buah kopi dikupas.

b. Fermentasi

Pada proses fermentasi ini terdapat penambahan koji*Aspergillus oryzae*.Fermentasi ini dilakukan dengan waktu 12 jam , 24 jam dan 36 jam, yang dimana tujuan fermentasi ini untuk melepaskan lendir yang masih melekat pada daging buah kopi.

c. Pencucian

Proses pencucian bertujuan untuk melepaskan lendir yang telah terpisah dari daging buah.

d. Penirisan

Biji kopi yang telah direndam kemudian ditiriskan terlebih dahulu sebelum dilakukan proses pengeringan untuk mengurangi kadar air yang terkandung dalam biji kopi selama proses pencucian agar proses pengeringan berjalan lancar.

e. Pengeringan

Proses ini bertujuan untuk menurunkan kadar air biji kopi dari 53 sampai 55% menjadi 11 sampai 12% sehingga kopi tidak mudah terserang jamur dan tidak mudah pecah ketika pengupasan. Proses pengeringan dilakukan pada suhu 50 sampai 550C selama 12 jam dengan mesin pengering seperti *tunnel dryer*.

f. Penyangraian

Penyangraian bertujuan untuk mengurangi kadar air, menimbulkan perubahan warna dan membentuk aroma spesifik. Indikator selesainya proses penyangraian adalah munculnya aroma khas kopi. Penyangraian akan dilakukan dengan alat konvensional dengan waktu yang 90 menit.

g. Penggilingan

Penggilingan bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel biji kopi sehingga diperoleh kopi bubuk yang merata ukurannya.

h. Pengayakan

Pengayakan kopi yang telah digiling bertujuan untuk menyamakan ukuran partikel kopi bubuk yang telah digiling agar ukurannya seragam menggunakan pengayak 80 mesh.



Gambar 1. Diagram Alir Pendahuluan Pembuatan Koji *Saccharomyces cerviceae*



Gambar 2. Diagram Alir Pendahuluan Pembuatan Koji *Aspergillus oryzae*



Gambar 3. Diagram Alir Pendahuluan Pembuatan Koji *Bacillus substilis*

Gambar 4. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan (Fermentasi kopi)



Gambar 5. Diagram Alir Penelitian Utama