

III BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN

Bahan dan alat yang digunakan yaitu untuk proses pembuatan tepung, biskuit dan untuk analisis kimia. Metode penelitian terdiri dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama dengan rancangan perlakuan konsentrasi koji *Bacillus subtilis* dan waktu fermentasi, rancangan percobaan sebanyak tiga kali ulangan, rancangan analisis menggunakan analisis korelasi dengan regresi linier, dan rancangan respon meliputi respon kimia, fisikokimia, dan organoleptik.

3.1. Bahan dan Alat

3.1.1. Bahan

Bahan baku utama yang digunakan dalam pembuatan tepung ubi jalar yang dimodifikasi secara fermentasi yaitu ubi jalar yang dibeli dari pasar tradisional sebanyak 30 kg, biakan murni *Bacillus subtilis* sebanyak 2 tabung, dan beras. Bahan-bahan untuk pembuatan biskuit adalah tepung ubi jalar hasil modifikasi, gula tepung, margarin, susu bubuk *cream*, garam Iodium, natrium bikarbonat, dan air.

Bahan-bahan untuk analisis kimia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Na_2SO_4 anhidrat, selenium, aquadest, larutan NaOH 30 %, larutan HCl 0,1 N, larutan NaOH 0,1 N, larutan H_2SO_4 6 N, KI, larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 N, larutan HCl 9,5 N, indikator phenolphthalien, larutan HCl pekat 37,5 N dan larutan amilum 5%.

3.1.2. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik, pisau, *slicer*, baskom, *tunnel dryer*, *tray*, ayakan 80 mesh, inkubator, termometer, lumpang dan alu, pipet tetes, pipet volumetri, pembakar bunsen, labu kjeldahl, elenmeyer, labu takar, labu bundar, kondensor, adaptor, buret, lakmus merah, tabung reaksi, gelas kimia, spektrofotometer, corong, oven, eksikator, kaca alroji, penjepit tabung, labu ukur 100 ml, *mixer*, dan oven

3.2. Metode Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan meliputi 2 tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

3.2.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan yang akan dilakukan yaitu:

1. Pembuatan tepung ubi jalar tanpa modifikasi dengan menggunakan ubi jalar putih dan ubi jalar kuning. Tepung yang dihasilkan selanjutnya dilakukan analisis meliputi kadar air, kadar pati, kadar protein, dan sifat fisiko-kimia kedua jenis tepung tersebut
2. Penentuan jumlah penambahan konsentrasi tepung ubi jalar yang paling baik dalam koji dengan konsentrasi 1%, 2%, dan 3%. Selanjutnya dilakukan fermentasi selama 24 jam dan dihitung jumlah sel hidup/ml. Koji dengan jumlah sel hidup/ml terbanyak digunakan untuk fermentasi pada penelitian utama.
3. Pemilihan jenis ubi jalar yang akan digunakan untuk penelitian utama berdasarkan hasil analisis kimia dan sifat fisiko-kimia.

3.2.2. Penelitian Utama

Jenis ubi jalar yang terpilih pada penelitian pendahuluan akan digunakan pada penelitian utama dalam pembuatan tepung ubi jalar yang dimodifikasi secara fermentasi. Selanjutnya pada penelitian utama ini sebagai perlakuan adalah konsentrasi koji *Bacillus subtilis* dan lama fermentasi pada tepung ubi jalar yang dimodifikasi.

Penelitian utama terdiri dari rancangan perlakuan, rancangan percobaan, rancangan analisis, dan rancangan respon.

1. Rancangan Perlakuan

Rancangan perlakuan pada penelitian utama yaitu konsentrasi koji *Bacillus subtilis* (A), lama fermentasi (B), dan masing-masing faktor dengan taraf sebagai berikut:

1) Faktor pertama adalah konsentrasi koji *Bacillus subtilis* (A)

$a_1 = 0,25 \text{ \% b/b}$

$a_2 = 0,50 \text{ \% b/b}$

$a_3 = 0,75 \text{ \% b/b}$

2) Faktor kedua adalah lama fermentasi (B)

$b_1 = 12 \text{ jam}$

$b_2 = 24 \text{ jam}$

$b_3 = 36 \text{ jam}$

2. Rancangan Percobaan

Rancangan Percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Regresi Linier sederhana dengan ulangan sebanyak tiga kali.

Metode percobaan untuk penelitian ini adalah sebagai berikut :

$$Y = a + b X$$

Koefisien – koefisien regresi a dan b untuk regresi linier dapat dihitung dengan menggunakan rumus yang dijelaskan oleh Sudjana (2005) dan Yuni (2007) :

$$a = \frac{(\sum Yi)(\sum Xi^2) - (\sum Xi)(\sum XiYi)}{n \sum Xi^2 - (\sum Xi)^2}$$

$$b = \frac{n \sum XiYi - (\sum Xi)(\sum Yi)}{n \sum Xi^2 - (\sum Xi)^2}$$

Denah layout percobaan dan data hasil pengamatan dicatat dalam bentuk tabel variabel tak bebas dan variabel bebas seperti pada Tabel 6 dan Tabel 7.

Tabel 6. Denah Layout Percobaan

Ulangan I								
a ₃ b ₁	a ₃ b ₂	a ₁ b ₂	a ₂ b ₁	a ₃ b ₃	a ₂ b ₂	a ₂ b ₃	a ₁ b ₁	a ₁ b ₃
Ulangan II								
a ₁ b ₁	a ₁ b ₃	a ₂ b ₃	a ₃ b ₃	a ₃ b ₂	a ₂ b ₂	a ₃ b ₁	a ₁ b ₂	a ₂ b ₁
Ulangan III								
a ₂ b ₃	a ₃ b ₁	a ₁ b ₁	a ₂ b ₂	a ₃ b ₂	a ₁ b ₂	a ₂ b ₁	a ₁ b ₃	a ₃ b ₃

Tabel 7. Variabel Tidak Bebas dan Variabel Bebas

Variabel tidak bebas (Y)	Variabel bebas (X)
Y ₁	X ₁
Y ₂	X ₂
Y _n	X _n

Sumber : Sudjana, 2005

3. Rancangan Analisis

Hubungan antara variabel bebas terhadap variabel tidak bebas akan dilakukan dengan cara menghitung korelasi antara kedua variabel tersebut

terhadap respon yang diukur. Nilai koefisien korelasi atau r dapat dihitung dengan rumus yang dijelaskan oleh Sudjana (2005) dan Yuni (2007) :

$$r = \frac{n \sum XY - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{n \sum X^2 - n \sum (X)^2 \cdot n \sum Y^2 - n \sum (Y)^2}}$$

4. Rancangan Respon

Rancangan respon yang akan dilakukan pada penelitian pendahuluan meliputi

1. Pengujian tepung ubi jalar tanpa modifikasi yaitu kadar air dengan metode gravimetri (AOAC, 1995), kadar pati dengan *Luff Schoorl* (AOAC, 1997), kadar protein dengan metode Mikro-Kjedahl (AOAC,1995), kadar amilosa dengan metode spektrofotometri (Juliano, 1971), dan sifat amilografi dengan metode *Rapid Visco Analyzer*.
2. Menghitung jumlah sel hidup dengan metode *Counting Chamber* (Fardiaz, 1992).

Rancangan respon yang akan dilakukan pada penelitian utama meliputi:

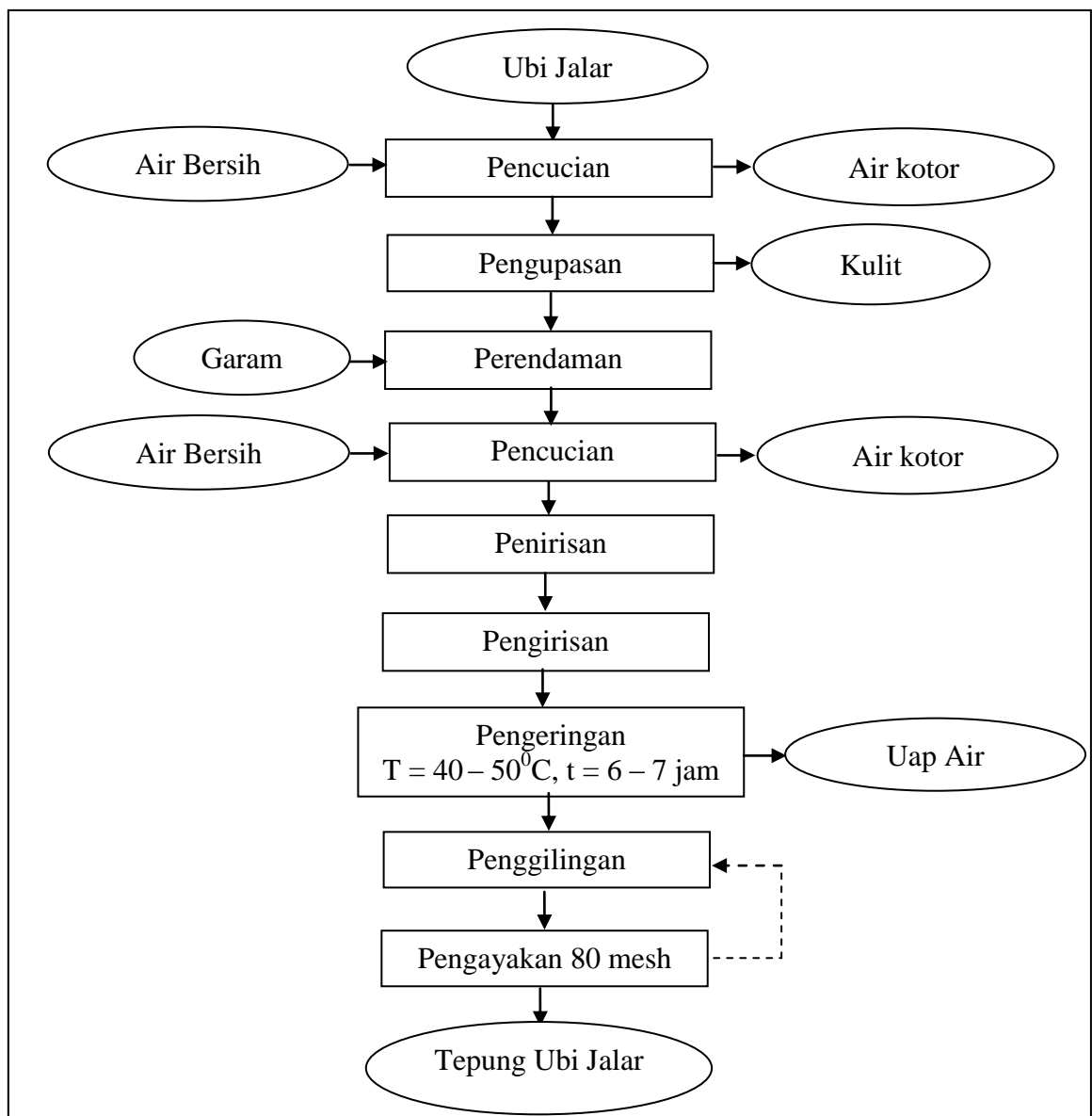
1. Pengujian pada tepung hasil modifikasi yaitu kadar air dengan metode gravimetri (AOAC, 1995), kadar pati dengan *Luff Schoorl* (AOAC, 1997), kadar protein dengan metode Mikro-Kjedahl (AOAC,1995), kadar amilosa dengan metode spektrofotometri (Juliano, 1971), dan sifat amilografi dengan metode *Rapid Visco Analyzer*.
2. Pengujian pada biskuit yaitu kadar air dengan metode gravimetri (AOAC, 1995), kadar pati dengan *Luff Schoorl* (AOAC, 1997), kadar protein dengan metode Mikro-Kjedahl (AOAC,1995), dan respon organoleptik yang meliputi aroma, rasa, dan tekstur.

3.3. Deskripsi Percobaan

3.3.1. Penelitian Pendahuluan

3.3.1.1. Pembuatan Tepung Ubi Jalar Tanpa Modifikasi

Proses pembuatan tepung ubi jalar tanpa modifikasi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Pembuatan Tepung Ubi Jalar

Deskripsi percobaan pembuatan tepung ubi jalar tanpa modifikasi adalah sebagai berikut:

1. Pencucian

Sebelum dilakukan pengolahan terhadap ubi jalar yang akan digunakan sebagai bahan untuk pembuatan tepung, terlebih dahulu ubi jalar tersebut dicuci dengan tujuan untuk menghilangkan atau memisahkan kotoran atau tanah yang menempel pada permukaan kulit ubi jalar.

2. Pengupasan

Ubi jalar yang telah dicuci selanjutnya dikupas pada bagian kulit ubi, tujuannya adalah untuk memisahkan kulit ubi yang kotor dengan bagian daging ubi yang akan diproses. Dalam melakukan proses pengupasan sebaiknya mengupas bagian kulitnya saja jangan sampai terlalu banyak mengenai daging ubi karena akan banyak mengurangi berat ubi tersebut.

3. Perendaman

Setelah dikupas ubi direndam di air dan diberi garam secukupnya dengan tujuan untuk mencegah terjadinya perubahan warna (*browning*), ubi tersebut harus seluruhnya terendam oleh air garam selama 15 – 30 menit.

4. Pencucian

Ubi yang telah direndam dengan air garam harus dicuci dengan air bersih dengan tujuan untuk menetralkan ubi tersebut. Perendaman dengan air garam akan menyebabkan air garam menyerap ke dalam ubi dan rasa ubi tersebut akan terasa asin. Cuci ubi hingga benar-benar bersih untuk mengembalikan rasa ubi tersebut.

5. Penirisan

Ubi yang sudah bersih dilakukan proses selanjutnya yaitu penirisan, penirisan ini dilakukan untuk tujuan memisahkan ubi dengan air. Apabila ubi tidak ditiriskan dahulu maka pada saat proses pengeringan akan memakan waktu yang lebih lama.

6. Pengirisan

Setelah dikupas dengan bersih, ubi jalar diiris tipis-tipis sebesar 2 - 3 mm dengan menggunakan alat (*slicer*) bila tidak tersedia alat pemotong bisa juga menggunakan pisau yang tajam, hal ini dilakukan untuk mempercepat proses pengeringan.

7. Pengeringan

Ubi jalar lalu dikeringkan dalam *tunnel dryer* dengan suhu pengeringan 40-50⁰C selama 6 – 7 jam. Umumnya pengeringan dengan alat pengering berlangsung lebih cepat dibandingkan dengan penjemuran dan dapat lebih mempertahankan warna bahan yang dikeringkan.

8. Penggilingan

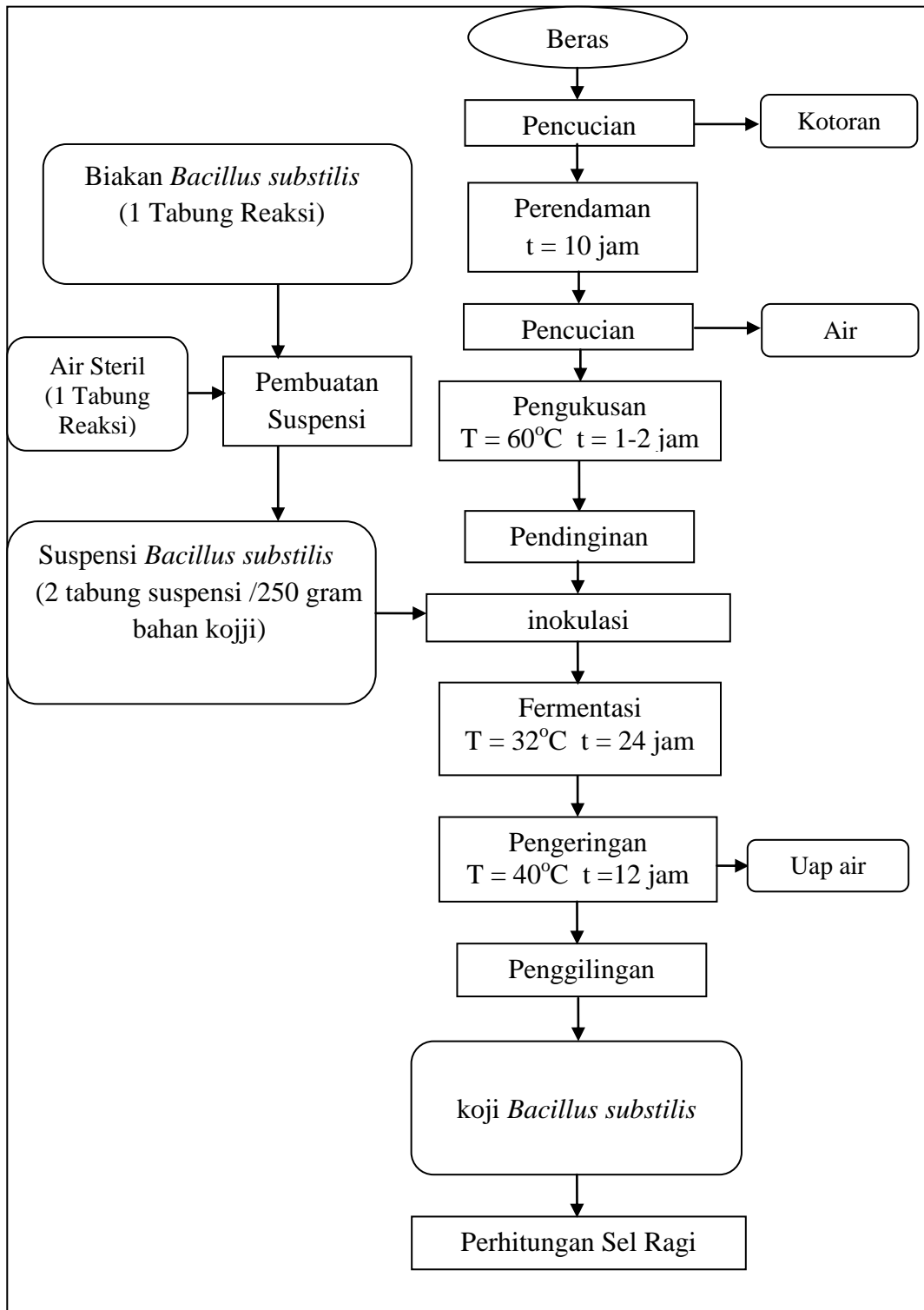
Setelah kering irisan ubi jalar digiling dengan blender untuk mendapatkan ukuran yang halus menyerupai tepung.

9. Pengayakan

Ubi jalar yang telah halus kemudian dilakukan proses pengayakan dengan saringan 80 mesh, dengan tujuan ukuran ubi lebih seragam dan halus. Selain dari itu dapat memisahkan juga kotoran – kotoran yang ikut terbawa dalam proses ini, sehingga tepung yang dihasilkan bersih dan ukurannya sama.

3.3.1.2. Pembuatan Koji *Bacillus subtilis*

Proses Pembuatan Koji dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram Alir Pembuatan Koji

Deskripsi percobaan pembuatan koji *Bacillus subtilis* adalah sebagai berikut:

a. Pencucian

Proses pencucian secara manual dilakukan pada beras dengan tujuan untuk membersihkan beras dari kotoran yang ada.

b. Perendaman

Proses ini bertujuan untuk meningkatkan kandungan air pada beras sehingga dapat ditumbuhi oleh mikroba pada saat inokulasi. Proses perendaman dilakukan selama 10 jam pada suhu ruangan yaitu sekitar 27°C. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan kadar air pada beras sehingga mikroba dapat berkembangbiak.

c. Pencucian

Proses pencucian ini bertujuan untuk membuang air hasil rendaman beras sehingga didapatkan beras yang bersih, terhindar dari kontaminan dan siap dikukus

d. Pengukusan

Proses pengukusan dilakukan untuk sedikit mematangkan beras dan meningkatkan kandungan air dalam beras yang akan digunakan sebagai bahan koji serta sebagai proses sterilisasi bahan koji. Beras dikukus dengan suhu 60°C selama 1-2 jam.

e. Pendinginan

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

f. Pembuatan suspensi

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

g. Inokulasi

Bacillus subtilis ditambahkan pada bahan koji yang telah dingin menggunakan alas nampan yang telah disterilkan. Proses ini harus steril dan merata agar pertumbuhan *Bacillus subtilis* tidak terkontaminasi. Proses inokulasi dilakukan dengan menambahkan 2 tabung suspensi *Bacillus subtilis* pada 250 gram bahan koji.

h. Fermentasi

Suhu fermentasi disesuaikan dengan suhu optimal *Bacillus subtilis* yaitu 27°C. Proses ini dilakukan selama 24 jam menggunakan nampan dan disimpan dalam inkubator agar *Bacillus subtilis* dapat tumbuh baik pada seluruh bahan koji.

i. Pengeringan

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

j. Penggilingan

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

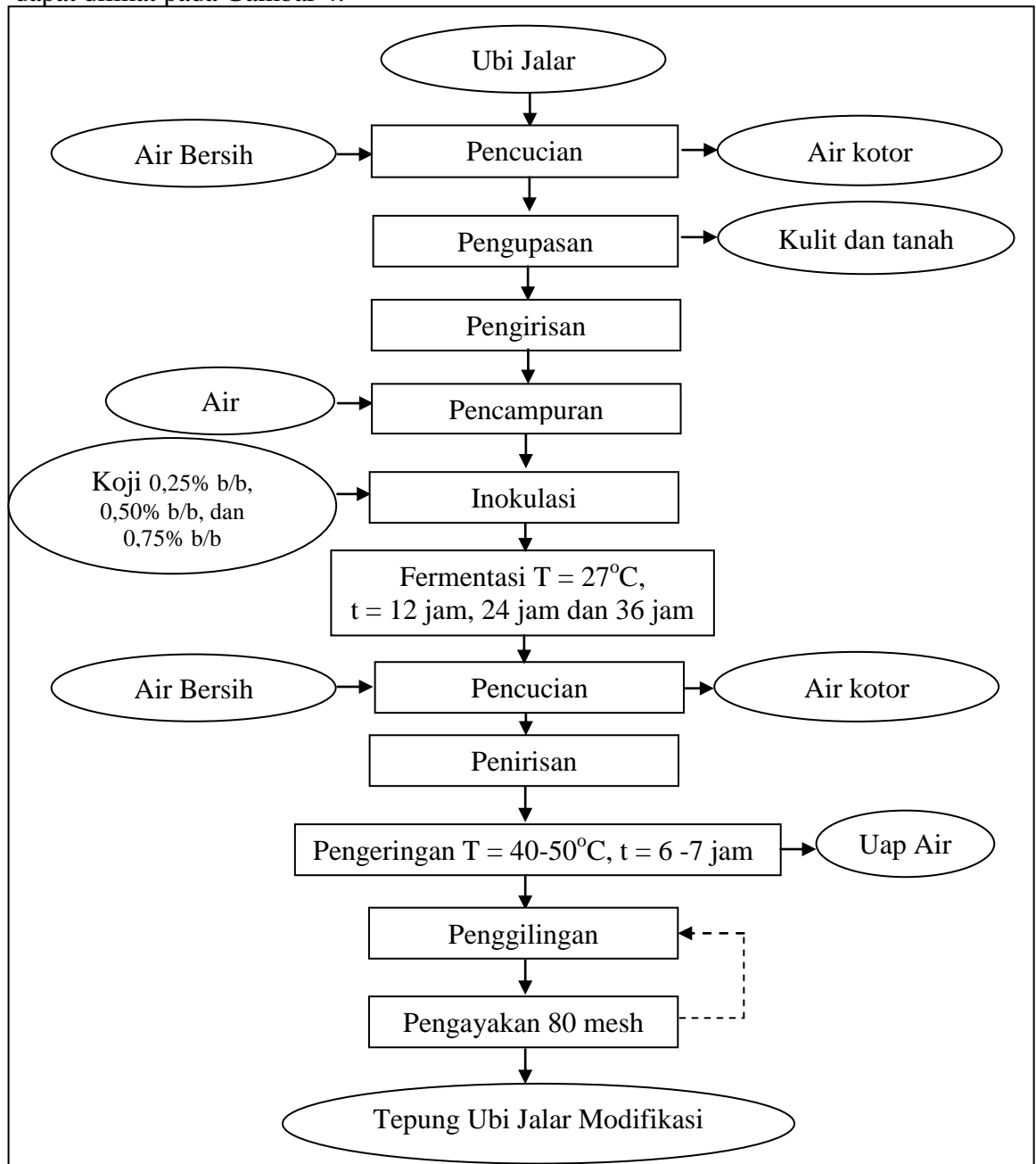
k. Perhitungan Sel Hidup pada Koji

Koji halus yang telah didapatkan dihitung jumlah selnya dengan mengambil 1 gram koji lalu dibuat suspensi dengan menggunakan air steril. Suspensi ditambahkan dengan *methylen blue*. Lalu suspensi ditetaskan pada *counting chamber* menggunakan pipet tetes. Pengambilan suspensi dilakukan setelah bahan koji mengendap pada tabung reaksi. Perhitungan jumlah sel dilakukan menggunakan mikroskop dengan ketentuan sel mati akan berwarna biru *methylen blue*.

3.3.2. Penelitian Utama

Proses pembuatan tepung ubi jalar yang dimodifikasi dengan cara fermentasi

dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram Alir Penelitian Utama Pembuatan Tepung Ubi Jalar Modifikasi Secara Fermentasi

Deskripsi percobaan proses pembuatan tepung ubi jalar yang dimodifikasi meliputi tahap-tahap sebagai berikut :

1. Pencucian

Sebelum dilakukan pengolahan terhadap ubi jalar yang akan digunakan sebagai bahan untuk pembuatan tepung, terlebih dahulu ubi jalar tersebut dicuci dengan tujuan untuk menghilangkan atau memisahkan kotoran atau tanah yang menempel pada permukaan kulit ubi jalar.

2. Pengupasan

Ubi jalar yang telah dicuci selanjutnya dikupas pada bagian kulit ubi, tujuannya adalah untuk memisahkan kulit ubi yang kotor dengan bagian daging ubi yang akan diproses. Dalam melakukan proses pengupasan sebaiknya mengupas bagian kulitnya saja jangan sampai terlalu banyak mengenai daging ubi karena akan banyak mengurangi berat ubi tersebut.

3. Pengirisan

Setelah dikupas dengan bersih, ubi jalar diiris tipis-tipis sebesar 2 - 3 mm dengan menggunakan alat (*slicer*) bila tidak tersedia alat pemotong bisa juga menggunakan pisau yang tajam, hal ini dilakukan untuk mempercepat proses pengeringan.

4. Pencampuran

Irisan ubi jalar kemudian dicampur dengan air dengan menggunakan baskom sampai seluruh permukaannya terendam. Banyaknya air yang dicampurkan ke dalam irisan ubi jalar tidak menjadi patokan sebab yang diukur dalam inokulasi untuk proses selanjutnya adalah persentase berat dari irisan ubi jalar.

5. Inokulasi

Irisan ubi jalar yang telah ditempatkan di dalam baskom yang diisi air, kemudian diberi koji *Bacillus substilis* dengan konsentrasi yang terpilih. Konsentrasi tersebut adalah konsentrasi sel hidup/ml paling banyak hasil dari dari pengujian *counting camber*.

6. Inkubasi

Setelah selesai inokulasi, ubi jalar kemudian diinkubasi pada suhu 27⁰C, lama fermentasi yang digunakan yaitu 12 jam (b₁), 24 jam (b₂), dan 36 jam (b₃).

7. Pencucian

Ubi jalar yang telah difermentasi mempunyai aroma yang khas, oleh sebab itu dicuci kembali supaya bersih dan aroma yang khas itu hilang.

8. Penirisan

Ubi yang sudah bersih dilakukan proses selanjutnya yaitu penirisan, penirisan ini dilakukan untuk tujuan memisahkan ubi dengan air. Apabila ubi tidak ditiriskan dahulu maka pada saat proses pengeringan akan memakan waktu yang lebih lama.

9. Pengeringan

Ubi jalar lalu dikeringkan dalam *tunnel dryer* dengan suhu pengeringan 40-50⁰C selama 6 – 7 jam. Umumnya pengeringan dengan alat pengering berlangsung lebih cepat dibandingkan dengan penjemuran dan dapat lebih mempertahankan warna bahan yang dikeringkan.

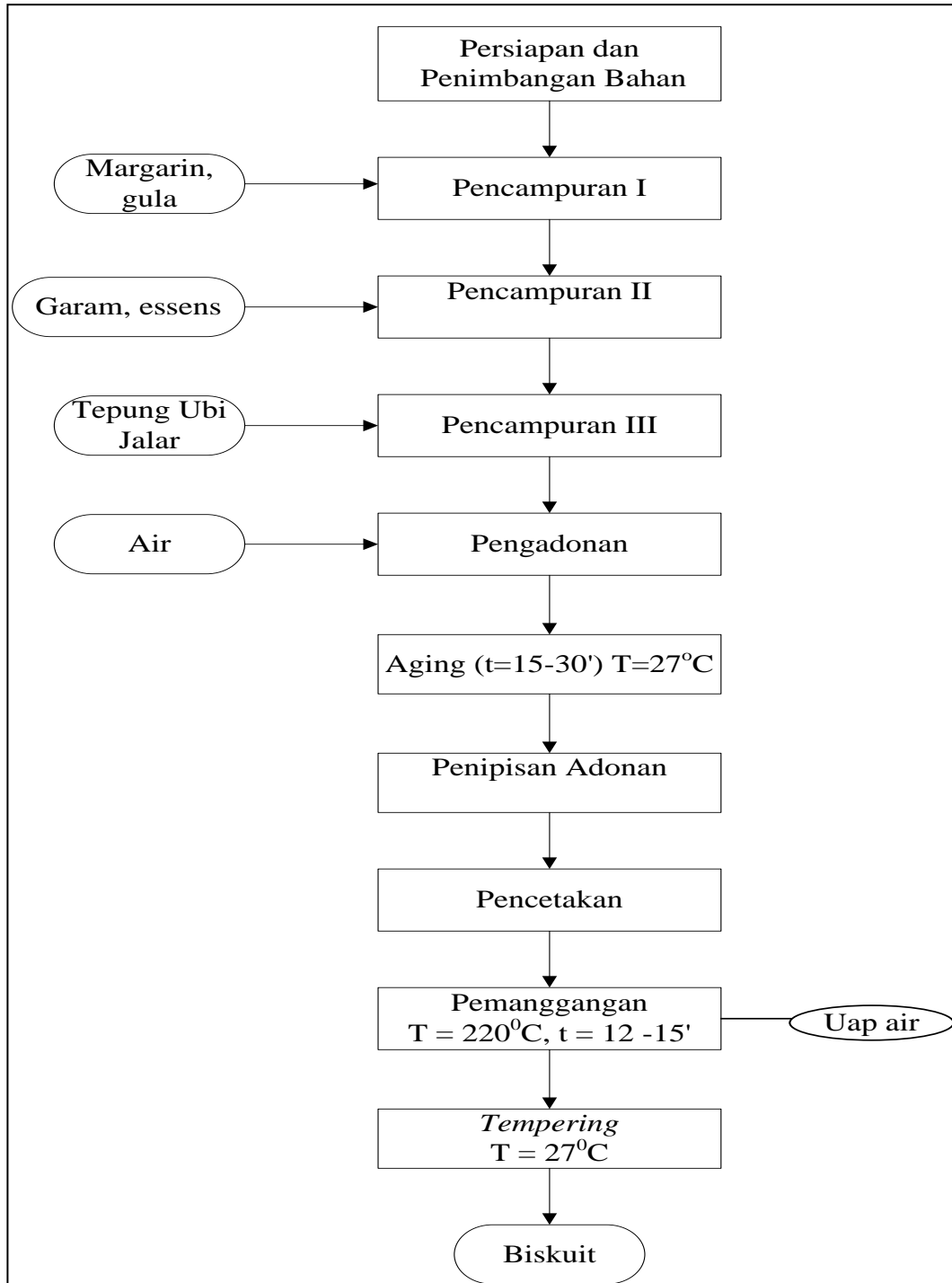
10. Penggilingan

Setelah kering irisan ubi jalar digiling dengan blender untuk mendapatkan ukuran yang halus menyerupai tepung.

11. Pengayakan

Ubi jalar yang telah halus kemudian dilakukan proses pengayakan dengan saringan 80 mesh, dengan tujuan ukuran ubi lebih seragam dan halus. Selain dari itu dapat memisahkan juga kotoran – kotoran yang ikut terbawa dalam proses ini, sehingga tepung yang dihasilkan bersih dan ukurannya sama.

Proses pembuatan Biskuit dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Diagram Alir Pembuatan Biskuit pada Penelitian Utama

Deskripsi percobaan proses pembuatan biskuit adalah sebagai berikut:

1. Persiapan bahan dan Penimbangan

Persiapan bahan dalam pembuatan biskuit dipilih bahan-bahan yang terbebas dari kontaminan yang dapat mengganggu proses. Setelah itu bahan yang telah disiapkan, ditimbang sesuai dengan jumlah pada formula.

2. Pencampuran bahan I

Pencampuran bahan I yaitu mencampurkan bahan seperti lemak dan gula yang diaduk dengan *mixer* sampai terbentuk krim. Pencampuran dilakukan dengan kecepatan tinggi sampai mengembang.

3. Pencampuran bahan II

Penambahan garam, essens, dan pewarna ke dalam krim, lalu diaduk sampai tercampur rata. Penambahan garam, essens, dan pewarna ini berfungsi untuk menambah citarasa biskuit.

4. Pencampuran bahan III

Penambahan tepung ubi jalar yang telah dimodifikasi ke dalam krim. Tepung ubi jalar yang telah dimodifikasi berfungsi untuk membentuk adonan, struktur kue, warna, dan aroma selama pemanggangan.

5. Pengadonan

Pengadonan ini dilakukan dengan mengaduk bahan-bahan yang telah tercampur di atas dengan menggunakan air sedikit demi sedikit hingga terbentuk adonan yang merata. Pengadonan merupakan faktor yang sangat penting (kritis) dalam pembuatan biskuit. Pengadonan akan menentukan tekstur biskuit yang dihasilkan. Mutu adonan antara lain dipengaruhi oleh jumlah air yang

ditambahkan, lama pengadonan dan temperatur pengadonan. Jika jumlah air yang ditambahkan terlalu banyak, maka adonan akan menjadi basah dan lengket, sehingga menyulitkan dalam proses selanjutnya. Lama pengadonan yang baik biasanya antara 15-25 menit. Jika waktunya kurang dari 15 menit atau lebih dari 15 menit, kondisi adonan akan menjadi rapuh, keras dan kering. Suhu yang baik selama pengadonan antara 25-40°C (Manley, 1998)

6. *Aging* (15-30 menit)

Setelah adonan terbentuk, dilakukan proses *aging*. *Aging* diperlukan untuk memberi kesempatan kepada bahan pengembang untuk bekerja.

7. Penipisan Adonan

Adonan kemudian digiling menjadi lembaran sesuai dengan tebal yang diinginkan, dicetak sesuai keinginan dan disusun pada loyang, kemudian dipanggang dalam oven. Penggilingan (pelempengan) dan pencetakan adonan sebaiknya dilakukan segera mungkin setelah adonan terbentuk. Penggilingan dilakukan berulang agar dihasilkan adonan yang halus dan kompak (Sunaryo, 1985)

8. Pencetakan

Setelah dicetak, sebelum mengalami pemanggangan, adonan lebih dulu dilapisi dengan susu atau lemak cair untuk memperbaiki warna.

9. Pemanggangan

Tahap pemanggangan merupakan proses yang kritis dalam produksi biskuit. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi pemanggangan, diantaranya adalah tipe oven, metode pemanasan dan tipe-tipe bahan yang digunakan. Kondisi

pemanggangan yang benar akan menghasilkan biskuit dengan penampakan dan tekstur yang diinginkan serta kandungan airnya minimal 1% (Whiteley, 1971). Pemanggangan biskuit dapat dilakukan pada selang antara 2,5 menit sampai 30 menit tergantung suhu, jenis oven dan jenis biskuitnya. Makin sedikit kandungan gula dan lemak, biskuit dapat dipanggang pada suhu yang lebih tinggi (177-204°C). Pemanggangan biskuit dapat juga dilakukan pada suhu 220°C dalam waktu sekitar 12-15 menit (Sultan, 1983).

10. *Tempering*

Setelah keluar dari oven, biskuit harus cepat didinginkan untuk menurunkan suhu dan mengeraskan biskuit akibat pepadatan gula dan lemak (Sunaryo, 1985).