

III METODOLOGI PENELITIAN

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Bahan dan Alat yang Digunakan, (2) Metode Penelitian, (3) Prosedur Penelitian.

3.1. Bahan dan Alat yang Digunakan

Bahan – bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah biakan murni *Aspergillus oryzae* sebanyak 2 tabung, ubi jalar varietas sukuh 45 kg, tepung beras 4 kg, tepung terigu 1 kg, tepung tapioka $\frac{1}{4}$ kg, *Potato Dextrose Agar* (PDA), garam, *Carboksil Metil Celulose* (CMC), *Sodium tripolyphosphate* (STPP), soda abu, air steril, alkohol 95%, alkohol 70%, aquadest, indikator *phenolphthalien*, *methylen blue*, larutan NaOH 30%, larutan HCl 0,1 N, larutan H₂SO₄, larutan Na₂S₂O₃ 0,1 N, larutan NaOH 0,1 N, larutan HCl 9,5 N, larutan H₂SO₄ pekat, larutan amilum, serbuk Na₂SO₄ anhidrat, serbuk Selenium Black, serbuk HgO, batu didih, granula Zn, KIO₃, serbuk KI padat.

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan elektrik (Mettler Toledo PL202-S), tabung reaksi (*Pyrex*), spatula, gelas kimia (*Pyrex*), pengaduk (*conche*), kompor gas (Rinnai), *autoclave*, sendok, pisau, *slicer*, wadah penampung adonan, *tunnel dryer*, *tray*, ayakan 80 mesh, plastik, inkubator, termometer, lumpang dan alu, pipet tetes, pipet volumetri, pembakaran bunsen, *spray*, labu Kjeldahl, tang krus, tanur, eksikator, kawat kassa, kaki tiga, kaca arloji, kertas timbang, labu takar 100 ml, penangas air, labu Erlenmeyer 250 ml, alat destilasi, kondensor, lakmus merah, buret, statif, klem, pipet tetes, dan botol

semprot, mikroskop, Counting Chamber, Vortex Genie, Glass Marble, Spektrofotometer, *Viscometer Brook Field*.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian yang dikerjakan terbagi atas 2 (dua) tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

3.2.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan yang dikerjakan dibagi ke dalam 2 tahap, **tahap I** mengembangbiakkan *Aspergillus oryzae* di dalam substrat yang banyak mengandung karbohidrat (tepung beras dan tepung terigu), kemudian koji yang dihasilkan digunakan untuk pembuatan koji **tahap II** dengan substrat yang mengandung karbohidrat (tepung beras dan tepung terigu) dan ditambahkan lagi dengan tepung ubi jalar dalam konsentrasi yang berbeda.

Konsentrasi tepung ubi jalar yang ditambahkan pada substrat (tepung beras dan tepung terigu) sebanyak 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1,0%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, dan 1,5%, selanjutnya dipilih jumlah sel hidup yang paling banyak tumbuh pada media koji yang ditambahkan tepung ubi jalar.

Perhitungan $\sum$ sel hidup pada koji yang di tanam pada media tepung beras dan tepung terigu yang ditambah tepung ubi jalar menggunakan metode *Counting Chamber*, koji yang memiliki jumlah sel hidup paling banyak akan digunakan untuk pembuatan tepung ubi jalar fermentasi pada penelitian utama.

3.2.2. Penelitian Utama

Penelitian utama dikerjakan untuk menentukan konsentrasi koji *Aspergillus oryzae* dan lama waktu yang tepat pada proses fermentasi terendam terhadap karakteristik tepung ubi jalar. Penelitian utama terdiri dari rancangan perlakuan, rancangan percobaan, rancangan analisis, dan rancangan respon

3.2.2.1. Rancangan Perlakuan

Rancangan perlakuan yang digunakan pada penelitian utama terdiri dari dua variabel, yaitu variabel bebas atau variabel prediktor dan variabel tidak bebas atau variabel respon. Variabel bebas (X) terdiri dari konsentrasi koji *Aspergillus oryzae* dengan tujuh taraf, yaitu ($a_1 : 0,5\%$, $a_2 : 1,0\%$, $a_3 : 1,5\%$, $a_4 : 2,0\%$, $a_5 : 2,5\%$, $a_6 : 3,0\%$) dan waktu fermentasi dengan enam taraf, yaitu ($b_1 : 12$ jam, $b_2 : 24$ jam, $b_3 : 36$ jam, $b_4 : 48$ jam, $b_5 : 60$ jam dan $b_6 : 72$ jam), variabel tidak bebas (Y) yaitu variabel yang terjadi karena variabel bebas terdiri dari kadar air, kadar protein, kadar pati, kadar amilosa, gel konsistensi, dan pasting properties (Amilografi).

3.2.2.2. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah Metode Grafik Regresi Linier Sederhana. Model percobaan untuk penelitian ini yaitu : $Y = a + b X$

Koefisien – koefisien regresi a dan b untuk regresi linier akan dihitung dengan rumus, seperti yang dijelaskan oleh Sudjana (2005) :

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

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

Tata letak percobaan pembuatan tepung ubi jalar fermentasi dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Layout Penelitian

a_1b_2	a_3b_2	a_4b_5	a_6b_3	a_3b_5	a_4b_1
a_6b_1	a_1b_3	a_1b_1	a_4b_2	a_6b_4	a_6b_2
a_3b_3	a_2b_1	a_4b_4	a_3b_1	a_1b_6	a_2b_5
a_5b_1	a_3b_4	a_6b_6	a_1b_5	a_5b_5	a_1b_4
a_2b_2	a_6b_5	a_5b_2	a_2b_4	a_5b_4	a_3b_6
a_4b_6	a_2b_6	a_4b_3	a_5b_6	a_2b_3	a_5b_3

Data hasil pengamatan dicatat dalam bentuk tabel variabel tak bebas dan variabel bebas seperti pada Tabel 9.

Tabel 9. Pendataan Nilai Variabel Bebas dan Variabel Tidak Bebas

Variabel tidak bebas (Y)	Variabel bebas (X)
y1	x1
y2	x2
yn	xn

Sumber : Sudjana, 2005

3.2.2.3.Rancangan Analisis

Hubungan antara variabel bebas terhadap variabel tidak bebas dianalisis dengan cara korelasi antara kedua variabel tersebut terhadap respon yang diukur. Nilai koefisien korelasi atau r dapat dihitung dengan rumus yang dijelaskan oleh Sudjana (2005) :

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

3.2.2.4. Rancangan Respon

1. Rancangan respon yang akan dianalisis pada penelitian pendahuluan meliputi :

Perhitungan jumlah sel hidup dengan metode *Counting Chamber* (Fardiaz, 1992). Pengujian tepung ubi jalar sebelum fermentasi yaitu kadar air dengan metode gravimetri (AOAC, 2010), kadar protein metode Kjedhal (AOAC, 2010), kadar pati metode *Luff Schoorl* (AOAC, 1997), kadar amilosa (Juliano, B.O., 1971), gel konsistensi (Cagampang *et al.*, 1973) dan sifat amilografi menggunakan *Viskometer Brooke Field* (Juliano, B.O., 1971).

2. Rancangan respon yang akan dianalisis pada penelitian utama meliputi :

Respon kimia yaitu kadar air metode gravimetri (AOAC, 2010), kadar protein metode Kjedhal (AOAC, 2010), kadar pati metode *Luff Schoorl* (AOAC, 1997), kadar amilosa (Juliano, B.O., 1971), gel konsistensi (Cagampang *et al.*, 1973) dan sifat amilografi menggunakan *Viscometer Brooke Field* (Juliano, B.O., 1971).

3.3. Prosedur Percobaan

Prosedur penyegaran mikroorganisme, yaitu :

1. Inokulasi

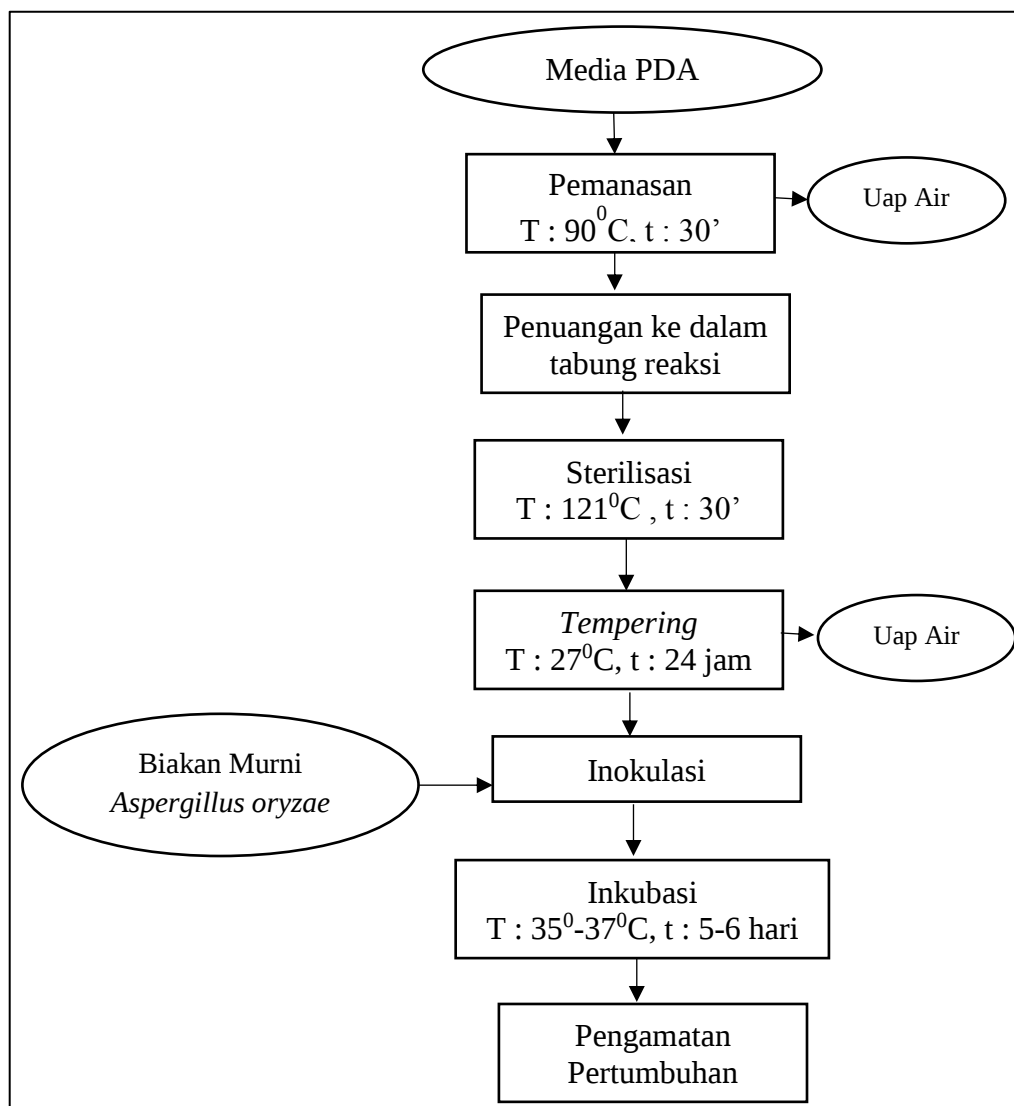
Proses ini dikerjakan dengan cara memindahkan biakan murni *Aspergillus oryzae* kedalam media agar miring (PDA), hal ini dikerjakan dalam keadaan aseptis agar pertumbuhannya tidak terhambat akibat kontaminasi.

2. Inkubasi

Proses inkubasi dikerjakan pada suhu optimum pertumbuhan jamur *Aspergillus oryzae* yaitu $35 - 37^{\circ}\text{C}$, dalam waktu 5 – 6 hari. Hal ini untuk menjaga pertumbuhan mikroorganisme, agar dapat berkembangbiak dengan baik.

3. Pengamatan pertumbuhan

Proses pengamatan mikroba dapat dilakukan secara visual, karna pertumbuhannya masih terlihat oleh pandangan mata, dengan terbentuknya spora atau miselium berwarna hijau dan putih.



Gambar 6. Diagram Alir Penyegaran Mikroorganisme

Prosedur penelitian pendahuluan pembuatan koji *Aspergillus oryzae* adalah sebagai berikut :

1. Penggilingan

Penggilingan beras bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel dan memudahkan dalam proses selanjutnya.

2. Pencampuran

Tepung beras dan tepung terigu sangrai dicampurkan, agar tepung terigu menyebar secara merata. Pada koji tahap II, pencampuran dilakukan dengan menambahkan tepung ubi jalar sesuai konsentrasi yang telah ditentukan yaitu 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, 1,5%. Hal ini bertujuan untuk menentukan banyaknya mikroba yang tumbuh pada masing-masing koji yang ditambahkan ubi jalar dalam konsentrasi yang berbeda.

3. Pengukusan

Proses pengukusan dilakukan untuk mematangkan campuran tepung dan meningkatkan kandungan air dalam bahan yang akan digunakan sebagai media pertumbuhan mikroorganisme (*Aspergillus oryzae*), serta sebagai proses sterilisasi bahan pembuatan koji. Pengukusan dilakukan pada suhu 70°C dalam waktu $\pm 7-10$ menit.

4. *Tempering*

Proses *tempering* pada tepung yang sudah dikukus bertujuan agar pada saat inokulasi mikroba yang ditambahkan tidak mati akibat panas yang cukup tinggi. Proses ini dilakukan didalam *laminar flow* agar bahan tetap dalam keadaan steril, sehingga terhindar dari kontaminasi. Waktu yang diperlukan $\pm 15-20$ menit.

5. Pembuatan Suspensi

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

6. Inokulasi

Suspensi *Aspergillus oryzae* yang sudah dibuat, kemudian diinokulasikan secara merata pada bahan koji yang sudah di *tempering* pada nampan yang telah disterilkan. Proses ini dilakukan di dalam *laminer flow* agar tetap dalam keadaan steril. Proses inokulasi dikerjakan dengan menambahkan 2 tabung suspensi *Aspergillus oryzae* pada 250 g bahan koji.

Sedangkan pada proses pembuatan koji tahap II, inokulasi dilakukan dengan menambahkan koji yang dihasilkan dari pembuatan koji tahap I sebanyak 3% dari berat bahan.

7. Inkubasi

Suhu Inkubasi disesuaikan dengan suhu optimal *Aspergillus oryzae* yaitu 35-37⁰C. Proses ini berlangsung selama 5-6 hari didalam inkubator, agar *Aspergillus oryzae* dapat tumbuh dengan baik pada seluruh bahan koji.

8. Pengeringan

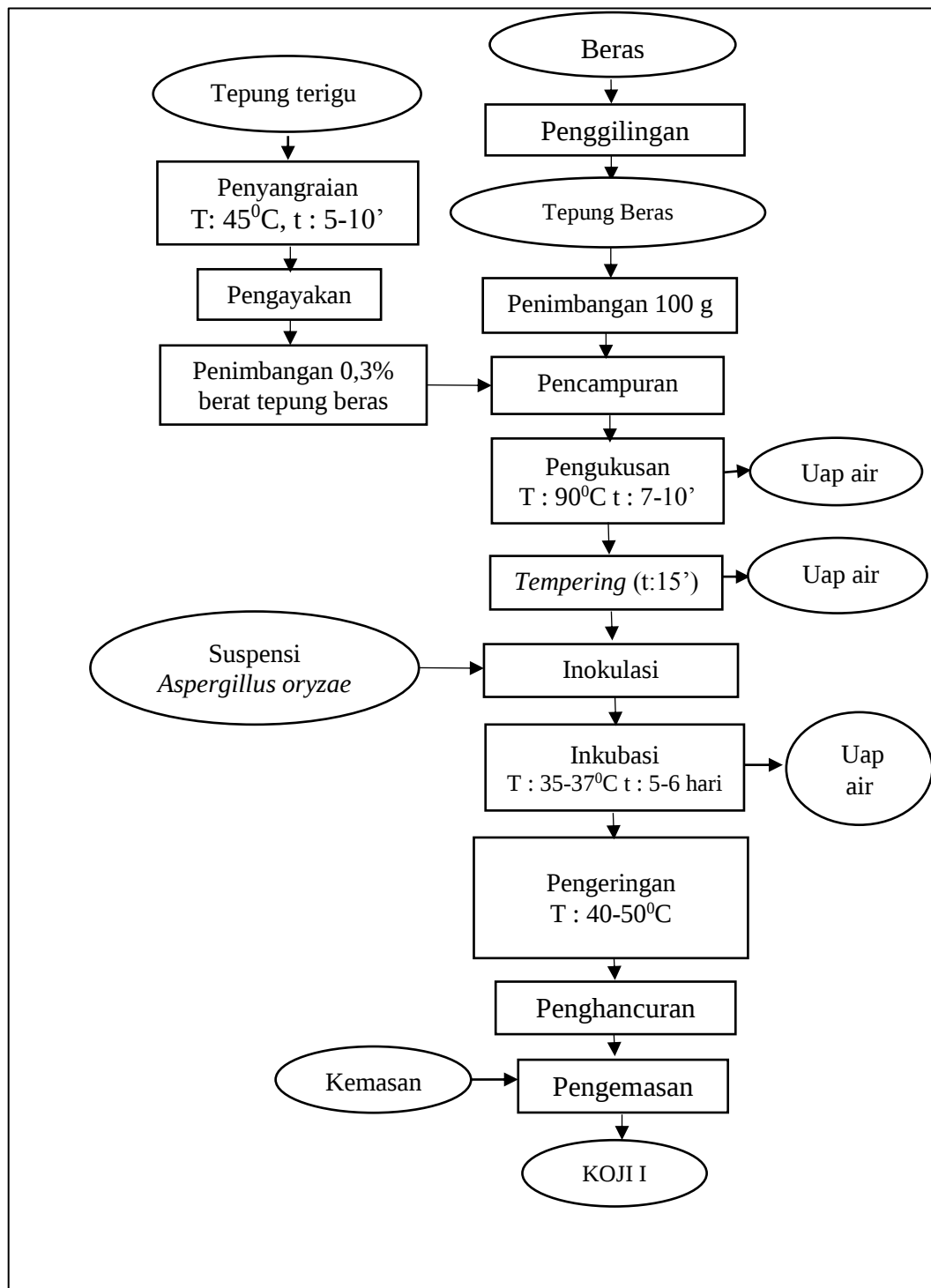
Proses pengeringan dilakukan menggunakan *tunnel dryer* pada suhu 40⁰-50⁰ C, hal ini agar didapatkan koji yang kering. Suhu pemangeringan harus dijaga agar *Aspergillus oryzae* yang telah tumbuh tidak mati akibat pemanasan pada proses pengeringan.

9. Penghancuran

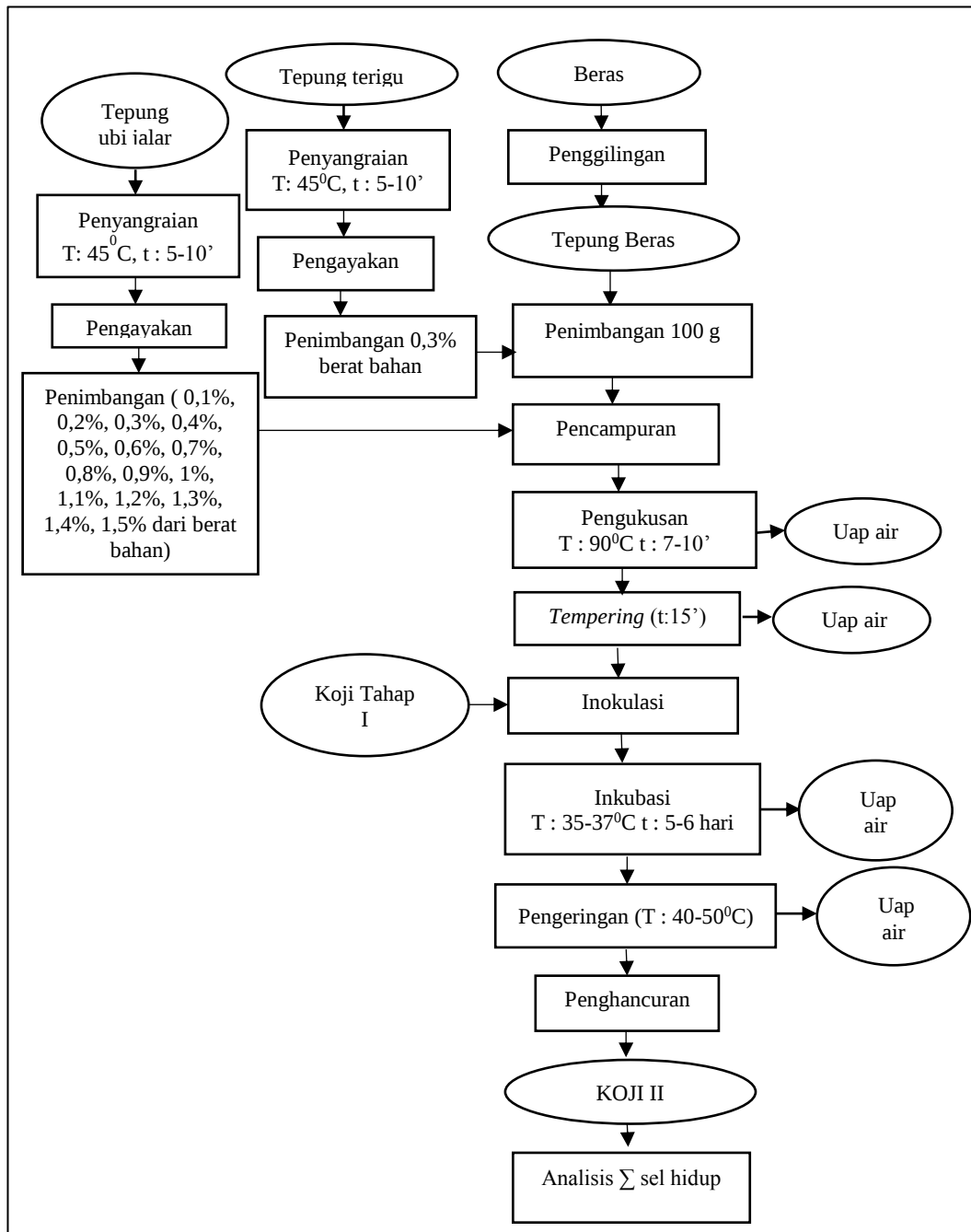
Proses penghancuran koji bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel koji sehingga diperoleh koji yang halus. Proses penghancuran ini dilakukan dengan cara ditumbuk, hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya kerusakan jaringan pada mikroba yang sudah terbentuk, serta mencegah kerusakan akibat panas yang timbul dari alat penggilingan.

10. 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 1-2 tetes *methylen blue*. Lalu suspensi diteteskan pada *counting chamber* dengan 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* sedangkan sel hidup akan terlihat transparan



Gambar 7. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Tahap I Pembuatan Koji



Gambar 8. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Tahap II Pembuatan Koji

Prosedur penelitian utama pembuatan tepung ubi jalar fermentasi adalah sebagai berikut :

1. Pencucian

Sebelum dilakukan pengolahan tahap 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. Pencucian ini dikerjakan secara manual dengan menggunakan air yang mengalir dari kran.

2. Pengupasan

Ubi jalar yang telah dicuci selanjutnya dikupas pada bagian kulit ubi. Pengupasan ini bertujuan untuk menghilangkan kulit bagian luar yang kotor dan mencegah terjadinya kontaminasi. 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, ubi jalar selanjutnya di iris tipis-tipis dengan menggunakan alat (*slicer*) bila tidak tersedia alat pemotong bisa juga menggunakan pisau yang tajam, hal ini dilakukan untuk mempercepat proses pengeringan. Pengecilan ukuran dilakukan. Tebal bahan adalah 1,5-2,0 mm. Tujuan pengecilan ukuran ini adalah untuk memudahkan fermentasi. Dengan demikian mikroba dapat dengan mudah merombak dinding sel ubi jalar. Disamping itu, pengecilan ukuran menjadi bentuk irisan tipis juga bertujuan untuk memperluas permukaan, sehingga akan mempercepat proses pengeringan ubi jalar setelah fermentasi.

4. Pencampuran

Pencampuran dilakukan dengan mencampurkan air dengan koji tahap I, tujuannya untuk melarutkan koji dalam bentuk padatan ke dalam air, sehingga air dan koji dapat bercampur secara merata.

5. Inokulasi

Irisan ubi jalar yang sudah diiris tipis kemudian ditambahkan koji *Aspergillus oryzae* dengan konsentrasi yang terpilih. Konsentrasi koji *Aspergillus oryzae* yang ditambahkan pada masing-masing tanki ubi jalar yaitu 0,5%, 1,0%, 1,5%, 2,0%, 2,5%, dan 3%. Koji yang terpilih yaitu koji yang didapatkan dari hasil analisis jumlah sel hidup yang paling terbanyak.

6. Fermentasi

Setelah selesai inokulasi, ubi jalar kemudian di fermentasi pada suhu kamar 27°C, lama waktu fermentasi yang digunakan yaitu 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, 60 jam, dan 72 jam.

7. *Sampling*

Proses ini dikerjakan dengan mengambil irisan ubi jalar yang sedang di fermentasi sesuai dengan berat yang dibutuhkan, ubi jalar yang terambil akan dilanjutkan ke proses berikutnya yaitu pencucian, sedangkan air yang terambil akan langsung dilakukan pengukuran pH . Proses *sampling* ini dilakukan sesuai dengan waktu fermentasi yang telah ditentukan yaitu setiap 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, 60 jam, dan 72 jam.

8. Pencucian

Ubi jalar yang difermentasi akan menghasilkan aroma yang khas, oleh sebab itu proses pencucian dilakukan kembali supaya ubi jalar tetap dalam keadaan bersih dan aroma khas yang menempel akan hilang.

9. Penirisan

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

10. Pengeringan

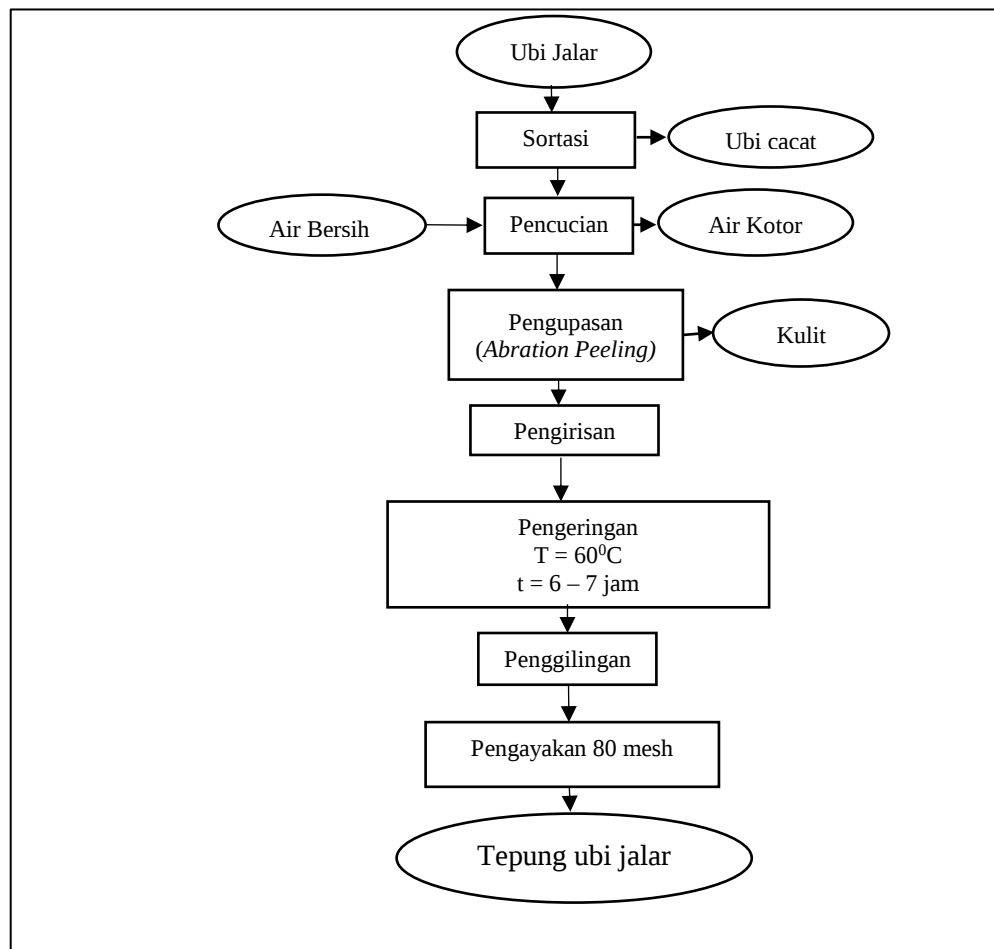
Ubi jalar yang telah disusun diatas *Tray*, kemudian dimasukan kedalam *tunnel dryer* dengan suhu pengeringan 40-50⁰ C selama 6-7 jam. Umumnya pengeringan dengan alat pengering akan lebih cepat dibandingkan dengan penjemuran dan dapat lebih mempertahankan warna bahan yang dikeringkan.

11. Penggilingan

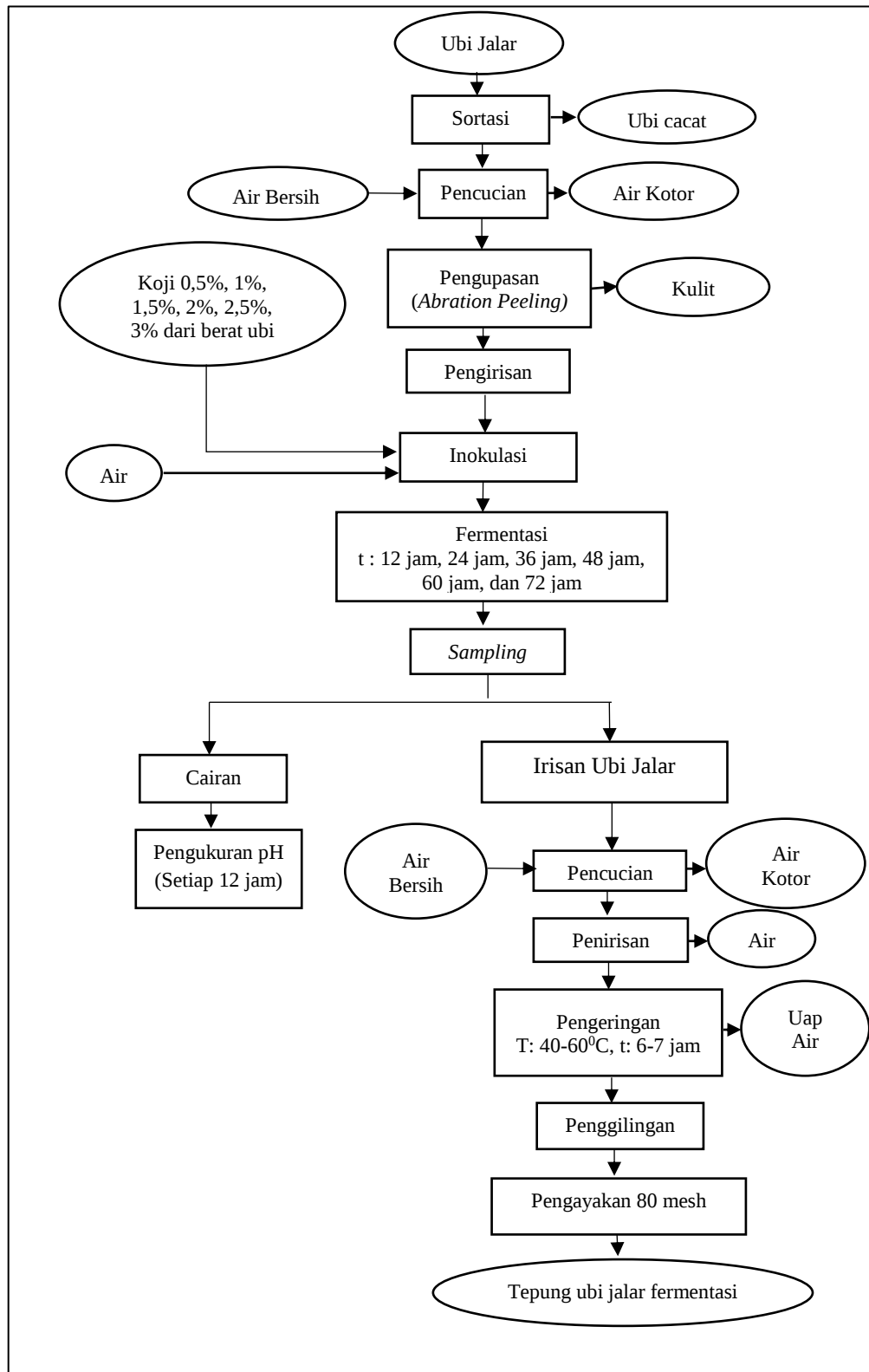
Setelah dilakukan pengeringan langkah selanjutnya yaitu penggilingan. Irisan ubi jalar yang sudah kering digiling dengan menggunakan blender untuk mendapatkan ukuran yang halus menyerupai tepung.

12. Pengayakan

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



Gambar 9. Diagram Alir Penelitian Utama Pembuatan Tepung Ubi Jalar Tanpa Fermentasi



Gambar 10. Diagram Alir Penelitian Utama Pembuatan Tepung Ubi Jalar Fermentasi

Prosedur pembuatan mie kering meliputi tahap-tahap sebagai berikut :

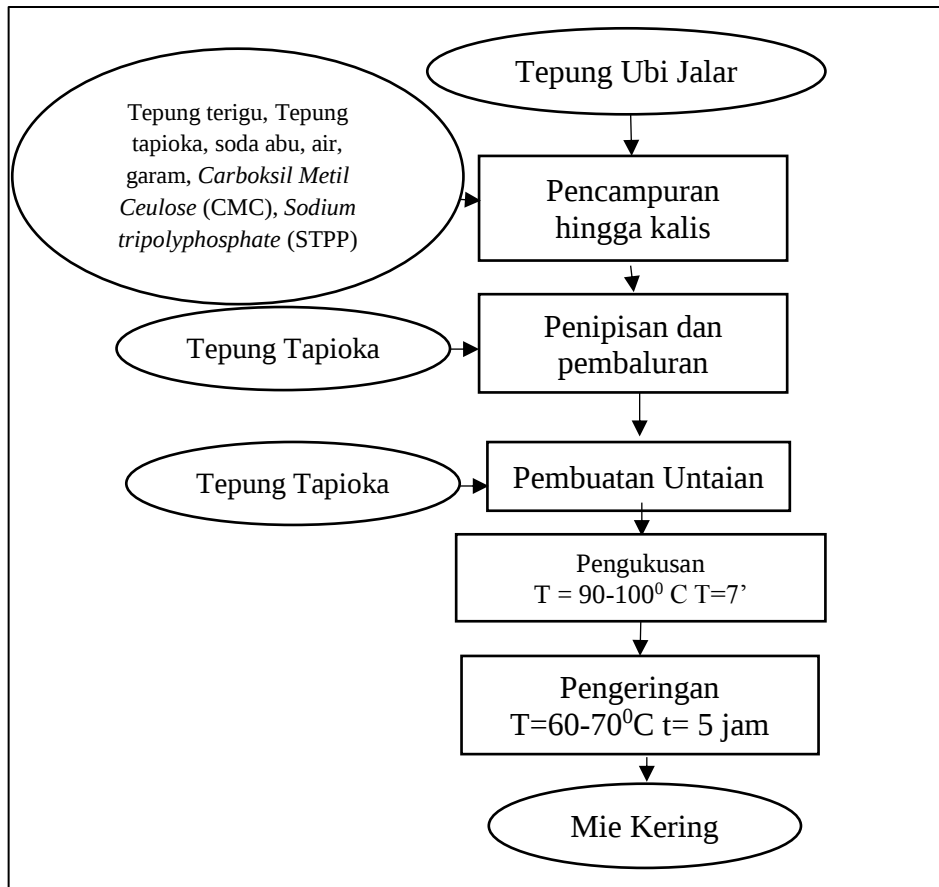
1. Tahap pertama dalam pembuatan mie adalah tahap pencampuran. Tahap pencampuran ini mencampurkan tepung ubi jalar, tepung terigu, tepung tapioka, garam, *Carboksil Metil Celulose* (CMC), *Sodium tripolyphosphate* (STPP), soda abu. Pada percobaan pembuatan mie kering dibutuhkan penambahan air untuk membuat adonan menjadi kalis. Tahap pencampuran bertujuan agar hidrasi tepung dengan air berlangsung secara merata dan menarik serat-serat gluten. Untuk mendapatkan adonan yang baik harus diperhatikan jumlah penambahan air (28 – 38 %) (Zuhry, 2010).

2. Tahap kedua yaitu penipisan dan pembaluran. Penipisan pada adonan mie menggunakan alat pencetak mie. Penipisan ini akan membentuk lembaran, proses ini bertujuan untuk menghaluskan serat-serat gluten dan membuat lembaran adonan. Lembaran mie yang dihasilkan dilumuri tepung tapioka agar ketika dicetak mie tidak saling menempel. Tebal akhir pasta sekitar 1,2 – 2 mm (Zuhry, 2010).

3. Di akhir proses penipisan dan pembaluran, lembar adonan yang tipis dipotong memanjang selebar 1 – 2 mm dengan alat pemotong mie, dan selanjutnya dipotong melintang dengan panjang tertentu, sehingga dalam keadaan kering menghasilkan berat standar.

4. Pengukusan dapat menyebabkan gelatinisasi pati dan koagulasi gluten. Gelatinisasi dapat menyebabkan pati meleleh dan membentuk lapisan tipis (film) yang dapat mengurangi penyerapan minyak dan memberikan kelembutan mie. Meningkatkan daya cerna pati dan mempengaruhi daya rehidrasi mie.

5. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air pada mie sehingga didapat produk mie kering dengan kadar air rendah, sehingga meminimalkan serangan mikroorganisme, enzim, dan insekta perusak yang dapat merusak produk sehingga diperoleh produk mie yang tahan lama dengan kadar air rendah.



Gambar 11. Diagram Alir Pembuatan Mie Kering