

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimen laboratorium. Penelitian laboratorium merupakan suatu penelitian yang dilakukan di dalam laboratorium, yaitu suatu tempat yang dilengkapi perangkat khusus untuk melakukan penyelidikan terhadap gejala tertentu melalui tes-tes atau uji yang juga dilakukan untuk menyusun laporan ilmiah.¹

Faktor perlakuan meliputi pembuatan MOCAF melalui fermentasi, tepung singkong tanpa fermentasi (kontrol), singkong *fresh* (kontrol)

Faktor I : cara perlakuan

Fermentasi : dengan penambahan bakteri asam laktat (*Lactobacillus plantarum*)

Kontrol : tanpa penambahan bakteri asam laktat (*Lactobacillus plantarum*) dan Singkong *fresh*.

Faktor II : Lama Fermentasi

A1 : Lama fermentasi 3 hari

A2 : Lama fermentasi 4 hari

A3 : Lama fermentasi 5 hari

A4 : Lama fermentasi 6 hari

A5 : Lama fermentasi 7 hari

B. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada 17 November 2015 – 12 Februari 2016

C. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di:

1. Laboratorium Pendidikan kimia Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan (FITK) UIN Walisongo Semarang
2. Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Muhamadiyah Semarang (UNIMUS)

¹Abdurrahman Fathoni, *Metodologi Penelitian dan Teknik Penyusunan Skripsi*, (Jakarta: PT. Rineka Cipta, 2006), hlm. 96.

D. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian.² Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh varietas singkong di Indonesia dan semua jenis bakteri asam laktat.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian wakil populasi yang diteliti. Pada penelitian ini mengambil singkong dari daerah Mijen Semarang dan bakteri *Lactobacillus plantarum*.

E. Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulannya.

1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan atau timbulnya variabel terikat.³ Variabel bebas pada penelitian ini adalah waktu fermentasi 3 hari, 4 hari, 5 hari, 6 hari, 7 hari.

2. Variabel Terikat

Variabel terikatnya adalah sifat kimia MOCAF meliputi kadar protein, karbohidrat, lemak, air dan abu, organoleptik MOCAF meliputi warna, rasa, aroma dan tekstur.

3. Variabel Kontrol

variabel kontrolnya adalah Suhu fermentasi 37⁰C.

Uji kimia MOCAF dilakukan dua kali (duplo), kemudian dirat-rata. Sedangkan percobaan tanpa perlakuan fermentasi dan juga uji kimia

²Suharsini Arikunto, *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktik*, (Jakarta: Rineka Cipta, 2006), hlm.130.

³Sugiyono, *Metode Penelitian Kualitatif Kuantitatif dan R&D*, (Bandung: Alfabeta, 2013), hlm.61.

singkong *fresh* dilakukan untuk dijadikan blanko, percobaan sebanyak satu kali.

F. Peralatan dan Bahan

1. Peralatan

Percobaan ini terbagi menjadi dua tahap yaitu pembuatan MOCAF dan uji kimia MOCAF. Peralatan yang digunakan dalam pembuatan MOCAF adalah pisau, ember, penggiling, parut, cawan petri. Uji kimia MOCAF terdiri dari uji protein, lemak, abu, air, dan karbohidrat. Peralatan Uji kadar air meliputi cawan, oven, timbangan. Uji kadar abu meliputi cawan pengabuan, desikator, pembakar (burner), neraca. Uji protein menggunakan labu kjeldahl, seperangkat alat destilasi, Erlenmeyer, buret, dan neraca. Uji Lemak menggunakan kertas saring, kondensor, labu alas bulat, oven, desikator, neraca. Peralatan uji karbohidrat adalah neraca.

2. Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan MOCAF adalah singkong, bakteri *Lactobacillus plantarum*, air panas. Bahan untuk uji kimia MOCAF meliputi uji kadar air hanya menggunakan bahan utama yaitu MOCAF. Uji kadar abu menggunakan bahan utama yaitu MOCAF. Uji protein menggunakan MOCAF, Selenium, H₂SO₄ pekat, HCl 0,02N, 50% NaOH, indikator pp, Indikator MR, Asam borat 4%. Uji Lemak MOCAF dengan n-Hexana, sedangkan Uji karbohidrat hanya menggunakan bahan utama yaitu MOCAF.

G. Prosedur Kerja

1. Strarter yang Digunakan

Bakteri *Lactobacillus plantarum* berumur 8 jam sebesar 100.000.000 sel/ml sebanyak 15 ml, 1,5 ml untuk setiap variabel.

2. Pembuatan MOCAF

Singkong yang didapat dari daerah Mijen Semarang, dicuci dan direndam selama 1 jam menggunakan air bersuhu 60⁰C untuk mengurangi kadar HCN dalam singkong, karena HCN mudah menguap pada suhu

tinggi. Singkong diparut untuk memperbesar luas permukaan singkong, dan segera digunakan sebagai substrat pada proses fermentasi. Substrat ditimbang sebanyak 150g, dimasukkan dalam cawan, singkong diratakan, kemudian ditambahkan 100.000.000 sel/ml *Lactobacillus plantarum* berumur 8 jam sebanyak 1,5 ml per variabel, diinkubasi pada suhu 37°C selama tiga hari. Setelah tiga hari substrat dipanen. Dilakukan perlakuan yang sama untuk variabel 4 hari, 5 hari, 6 hari, dan 7 hari.

3. Pengeringan dan Penggilingan

Hasil fermentasi dipanaskan di dalam lemari cabinet yang berisi 2 lampu UV selama 15 jam atau sampai hasil fermentasi benar-benar kering. Digiling atau ditepungkan kemudian diayak menggunakan ayakan 80 mesh.

4. Uji Sifat Kimia MOCAF.

a. Uji kadar air

MOCAF ditimbang sebanyak 1 gram dalam cawan yang sudah bersih dan diketahui beratnya. Cawan dimasukkan oven bersuhu 105°C selama 2 jam lalu didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Pekerjaan ini diulang hingga diperoleh berat konstan.

Kadar air dalam sampel dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100\%$$

W : berat sampel sebelum dikeringkan (gram)

W1: berat cawan bersih (gram)

W2: berat sampel + cawan yang sudah dikeringkan^{4,5}

b. Uji kadar Abu

MOCAF ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan cawan yang sudah diketahui beratnya. Sampel tersebut diarakkan diatas pembakar (kompor) untuk menguapkan sebanyak mungkin zat organik yang ada (sampai sampel tidak berasap lagi dan berwarna hitam).

⁴ Nuri Andarwulan, *Analisis Pangan*, (Jakarta: Dian Rakyat, 2011), hlm 73 - 77

⁵ Abdul Rohman, dkk, *Analisis Makanan dan Lingkungan Secara Fisika Kimia*, (Yogyakarta:Pustaka Pelajar, 2012), hlm 51 - 55

Cawan dipindahkan ke dalam tanur dan dipanaskan pada suhu 300⁰C, kemudian suhu dinaikkan menjadi 420-550⁰C Dengan waktu 7–8 jam atau sampai pengabuan sempurna. sesudah mengalami pengabuan sempurna, seluruh sampel didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali sampai diperoleh berat konstan.

Kadar abu dalam sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar abu} = (W1 - W2)/W \times 100\%$$

W : berat sampel sebelum diabukan (gram)

W1 : berat sampel + cawan yang sudah diabukan (gram)

W2 : berat cawan kosong (gram)

c. Uji protein

Sebanyak 0,05 gram sampel dimasukkan ke dalam labu kjedahl 50ml, lalu tambahkan 1gram selenium, 2ml H₂SO₄ dan 10ml H₂O. Destruksi dilakukan diatas nyla api atau kompor sampai mendidih dan larutan menjadi jernih kehijau-hijauan (sekitar 3jam), dibiarkan dingin.

Destruat dipindahkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan aquades sampai setengah labu. kemudian ditambahkan indikator pp 3 tetes dan 8-10ml NaOH 50%. Gigunakan erlenmeyer yang berisi asam borat 4% sebanyak 5ml dan indikator MR 3 tetes untuk menampung destilat. Destilasi dihentikan setelah terjadi perubahan warna dari pink menjadi kuning (sekitar 30 menit).

Destilat yang terbentuk dititrasi dengan 0,02 N HCl. Titrasi dihentikan jika terjadi perubahan warna dari kuning menjadi pink. Pengerjaan diulangi menggunakan air sebagai blanko.⁶

$$\%N = \left(\frac{\text{ml HCl (blanko-sampel)} \times N \text{ HCl} \times 14.007 \times 100\%}{\text{berat sampel(mg)}} \right)$$

Kadar protein : % N x faktor konversi (6,25)

⁶ Eny Winaryati,dkk, *Buku Panduan Praktik Ilmu Kimia Makanan*, (Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang, 2012), hlm.82.

d. Uji kadar Lemak

Sebanyak 2 gram sampel dimasukkan kertas saring, kemudian diletakkan dalam alat soxlet, dipasang alat kondensor diatas dan labu lemak dibawahnya. Pelarut (n-Hexana) yang digunakan dituang ke dalam labu lemak. Sampel direfluks selama minimum 5 jam sampai pelarut yang turun kembali ke labu lemak berwarna jernih. Pelarut yang ada di dalam labu lemak di destilasi. Selanjutnya labu lemak yang berisi lemak hasil ekstraksi dipanaskan dalam oven bersuhu 105°C untuk menguapkan sisa pelarut yang masih tertinggal. Setelah dikeringkan sampai berat konstan dan didinginkan dalam desikator, labu beserta lemaknya ditimbang. Dari hasil penimbangan tersebut presentase lemak dapat dihitung.

$$\% \text{ Kadar lemak} = \frac{\text{Berat lemak (g)}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

e. Uji karbohidrat

$$\% \text{ Karbohidrat} = 100\% - (\% \text{ air} + \text{abu} + \text{protein} + \text{lemak}).^7$$

5. Uji organoleptik MOCAF

Uji organoleptik dilakukan untuk mengetahui tingkat sifat fisik dan kimia produk menggunakan pengindraan. Rangsangan yang dapat diindra dapat bersifat mekanis (tekanan, tusukan), bersifat fisis (dingin, panas, sinar, warna), sifat kimia (bau, aroma, rasa). Penilaian organoleptik dilakukan oleh panelis. Pada pengujian ini ada 20 panelis agak terlatih. Panelis memberikan penilaiannya berdasarkan indikator berikut:⁸

- a. Warna = Putih cerah :5
Putih :4
Agak putih :3
Putih kekuningan :2
Kuning :1
- b. Tekstur= Sangat halus : 5

⁷ Badan Standarisasi Nasional, *Standar Nasional Indonesia-SNI 01-2891-1992*, (Jakarta: BSN, 1992)

⁸ Tim penyusun, *Pengujian Organoleptik*, (Semarang:Universitas Muhammadiyah Semarang, 2013), hlm.1.

	Halus	:4
	Agak halus	:3
	Tidak halus	:2
	Sangat tidak halus	:1
c. Aroma=	Sangat tidak apek	:5
	Tidak apek	:4
	Agak apek	:3
	Apek	:2
	Sangat Apek	:1

Uji organoleptik untuk indikator aroma, warna, dan tekstur diperlakukan pada MOCAF, sedangkan indikator rasa diperoleh dari uji organoleptik produk yang terbuat dari bahan baku MOCAF (cake). Cake dibuat bertujuan untuk mengetahui kemampuan MOCAF menggantikan terigu (100%). Cake terbuat dari bahan-bahan yang meliputi : MOCAF 100%, telur, gula, garam, minyak kelapa, pewarna alami. Panelis memberikan penilaiannya berdasarkan indikator berikut,*

Sangat enak	: 5
Enak	:4
Agak enak	:3
Tidak enak	:2
Sangat tidak enak	:1

* Enak (keseimbangan rasa asam, amis, khas fermentasi, dan rasa singkong).

H. Analisis Data

1. Uji ANAVA SATU JALAN

Langkah uji ANAVA satu jalan adalah sebagai berikut :

a. Menyusun hipotesis

H_0 : Rataan skor masing-masing waktu fermentasi identik

H_1 : Rataan skor masing-masing waktu fermentasi tidak identik

b. Membuat hipotesis statistik

$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 = \mu_5$

$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 \neq \mu_5$

c. Menentukan taraf signifikansi (α)

Taraf signifikansi yang digunakan adalah 5% atau 0,05.

d. Menghitung Faktor Korelasi (FK)

$$FK = \frac{Tij^2}{r \times t}$$

Keterangan :

FK = Faktor Korelasi

Tij = Jumlah total data pengamatan

R = Jumlah ulangan

T = Jumlah perlakuan

e. Menghitung Jumlah Kuadrat

1) Jumlah Kuadrat Total (JK_{total})

$$\begin{aligned} JK_{total} &= T(Y_{ij}^2) - FK \\ &= (Y_{11}^2 + Y_{21}^2 + \dots \text{dst}) - FK \end{aligned}$$

2) Jumlah Kuadrat Perlakuan ($JK_{perlakuan}$)

$$\begin{aligned} JK_{perlakuan} &= \frac{TP^2}{r} - FK \\ &= \frac{(TP_1^2 + TP_2^2 + \dots \text{dst})}{r} - FK \end{aligned}$$

3) Jumlah Kuadrat Galat (JK_{galat})

$$JK_{galat} = JK_{total} - JK_{perlakuan}$$

f. Menghitung Kuadrat Tengah Perlakuan (KTp)

Rumus kuadrat tengah perlakuan :

$$KT_p = \frac{JK_{perlakuan}}{db_{perlakuan}}$$

- g. Menghitung Kuadrat Tengah Galat (KTg)

Rumus kuadrat tengah galat :

$$KT_g = \frac{JK_{galat}}{db_{galat}}$$

- h. Menghitung derajat bebas perlakuan (db perlakuan)

Rumus derajat bebas perlakuan :

$$db_{perlakuan} = t - 1$$

Keterangan :

t = Jumlah perlakuan

- i. Menghitung derajat bebas galat (db galat)

Rumus derajat bebas galat :

$$db = \{(r \times t) - 1\} - (t - 1)$$

Keterangan :

R = Jumlah ulangan

T = Jumlah perlakuan

- j. Menentukan F_{hitung} dan F_{tabel}

Rumus F_{hitung} adalah sebagai berikut :

$$F_{hitung} = \frac{KT_p}{KT_g}$$

Cara menentukan F_{tabel} adalah dengan mencari nilai F pada tabel uji F.

Rumus F_{tabel} adalah :

$$F_{\alpha}(db_{perlakuan}, db_{galat})$$

Langkah pertama menentukan taraf signifikansi (α) yang digunakan yaitu 5%. Selanjutnya mencocokkan nilai F_{hitung} sesuai derajat bebas perlakuan dan derajat bebas galat yang telah dihitung.

- k. Menentukan kriteria pengujian

Kriteria pengujian pada uji ini adalah sebagai berikut :

H_0 diterima jika $F_{hitung} < F_{tabel}$

H_1 diterima jika $F_{hitung} > F_{tabel}$

- l. Memasukkan hasil perhitungan ke dalam daftar tabel Uji ANOVA seperti di bawah ini :

SK	Db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel}	
					5%	1%
Perlakuan	db p	JKp	KTp	KTp/KTg*	F(db p, db g)	
Galat	db g	JKg	KTg			
Total	rt-1	JKt				

m. Menyimpulkan hasil uji ANAVA satu jalan.⁹

2. Uji Lanjutan setelah ANAVA

Uji lanjutan setelah ANAVA disebut juga dengan *Post Hoc*. Uji ini dilakukan apabila hipotesis nol (H_0) ditolak. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan. Uji lanjutan dilakukan untuk mengetahui perlakuan mana yang memiliki perbedaan yang nyata. Uji lanjutan setelah ANOVA yang dapat digunakan ada 3, antara lain Uji Beda Nyata Jujur (BNJ = HSD, *Honestly Significance Difference*), Uji Beda Nyata Terkecil (BNT), dan Uji Jarak Duncan (UJD = DMRT, *Duncan Multiple Range Test*).

Penggunaan uji lanjutan disesuaikan dari nilai Koefisien Keragaman (KK). Rumus mencari KK adalah :¹⁰

$$KK = \frac{\sqrt{KT_{galat}}}{y} \times 100\%$$

$$y = \frac{T_{ij}}{r.t}$$

Keterangan :

- KK = Koefisien Keragaman
- KT_{galat} = Kuadrat Tengah Galat
- Y = Rerata total
- T_{ij} = Jumlah total data pengamatan
- R = Jumlah ulangan

⁹Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan (Teori dan Aplikasi) Edisi Ketiga*, (Jakarta : PT. RajaGrafindo Persada, 2011), hlm. 35-38

¹⁰Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan ...*, hlm. 39

T = Jumlah perlakuan

Uji BNJ digunakan jika KK kecil, yaitu maksimal 5% pada kondisi homogen dan 10% pada kondisi heterogen. Uji BNT digunakan jika KK sedang, yaitu antara 5-10% pada kondisi homogen dan 10-20% pada kondisi heterogen. Uji Jarak Duncan digunakan jika KK besar, yaitu minimal 10% pada kondisi homogen atau 20% pada kondisi heterogen.¹¹

Uji lanjutan setelah ANAVA dilakukan dengan program SPSS. Langkah ujinya yaitu :

a. Uji BNJ (HSD, *Honestly Significant Difference*)

Prinsip dari pengujian ini sangat sederhana karena hanya membutuhkan satu nilai tunggal HSD yang digunakan sebagai pembanding. Jika selisih dua nilai tengah perlakuan lebih besar dari pada nilai HSD, kedua perlakuan dinyatakan berbeda. Rumus uji beda nyata jujur adalah:

$$W = q_a(p, f_c) \times (KTG/r)^{1/2}$$

Keterangan:

q_a : ditentukan dari tabel

p : jumlah perlakuan

f_c : derajat bebas galat

KTG : kuadrat tengah galat

r : jumlah ulangan

b. UJI BNT (LSD)

Apabila setiap perlakuan mempunyai ulangan yang sama, yaitu r , rumus untuk perhitungan nilai beda nyata terkecil pada taraf nyata α adalah:

$$W = t_\alpha \times (2KTG/r)^{1/2}$$

keterangan:

¹¹Kemas Ali Hanafiah, *Rancangan Percobaan*, hlm. 41

t : nilai t pada taraf nyata α

Untuk menilai apakah dua nilai tengah perlakuan berbeda secara statistika, bandingkan selisih dua nilai tengah perlakuan lebih besar dari pada nilai LSD, dua nilai tengah dikatakan berbeda secara nyata pada taraf α . Sebaliknya, jika beda dua nilai tengah perlakuan tersebut lebih kecil dari pada nilai LSD, dua perlakuan dikatakan tidak berbeda nyata.

c. Uji Jarak Duncan (DMRT, *Duncan Multiple Range Test*)

Uji Duncan didasarkan pada sekumpulan nilai beda nyata yang ukurannya semakin besar bergantung pada jarak di antara pangkat-pangkat dari dua nilai tengah yang dibandingkan. Uji Duncan dapat digunakan untuk menguji perbedaan di antara semua pasangan perlakuan, yang dapat dilakukan tanpa memperhatikan jumlah perlakuan yang ada dari percobaan tersebut, serta masih dapat mempertahankan tingkat nyata yang ditetapkan. Berikut rumus mencari nilai Duncan:

$$R_p = r_p \times (KTG/r)^{1/2}$$

Keterangan:

$$r_p : (p = 2, 3, \dots, dst).^{12}$$

¹² Yusuf Tapehe, *Statistika dan Rancangan Percobaan*, (Jakarta: EGC, 2014), hlm 208-214