

III. BAHAN DAN METODE

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Lampung Barat dan Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Negeri Lampung, dan Laboratorium Service Seamo Biotrop Bogor pada bulan Desember 2011 sampai Maret 2012.

B. Alat dan Bahan

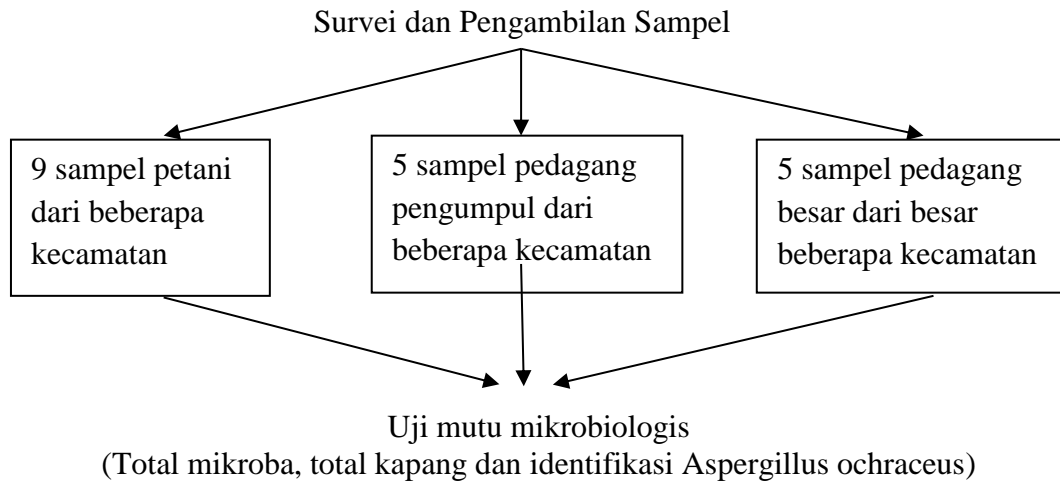
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kopi biji yang diperoleh dari petani, pengumpul, dan Pedagang Besar (Pasar) di Lampung Barat. Medium yang digunakan antara lain PCA (Plate Count Agar), APDA (Acidified Potato Dextrose Agar), Czapek Yeast Extract Agar, larutan pengencer (garam fisiologis), alcohol, dan beberapa bahan kimia penunjang lainnya.

Alat alat yang digunakan meliputi jarum ose, cawan Petri, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, labu ukur, pengaduk, aluminium foil, inkubator, mikroskop, pipet, lampu spiritus, *colony counter*, kapas, lemari pendingin, desikator, oven, cawan porselen dan alat penunjang lainnya.

C. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dalam 2 tahap, yaitu (1) Survei dan pengambilan sampel; (2) Penentuan mutu mikrobiologis kopi biji melalui uji kuantitatif (total mikroba, total

kapang dan *Aspergillus*). Bagan tahapan penelitian yang dilakukan secara keseluruhan disajikan dalam Gambar 4.



Gambar 4. Bagan Tahapan Penelitian Secara Keseluruhan

Sumber: Rizal (2000)

Dalam penelitian ini, data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan pendekatan deskriptif. Analisis deskriptif digunakan untuk menguraikan secara deskriptif proses penyebaran informasi, permasalahan petani kopi, penanganan pasca panen, dan sebagainya. Data yang diperoleh juga akan dibandingkan dengan kadar maksimum mikroba, kapang dan kadar air yang telah ditetapkan oleh pemerintah. Data akan disajikan dalam bentuk grafik, kemudian data yang diperoleh juga akan dicocokkan dengan hasil wawancara yang dilakukan kepada masing masing sumber. Daftar pertanyaan wawancara dapat dilihat pada Lampiran 1.

D. Pelaksanaan penelitian

Pelaksanaan penelitian secara rinci dari masing masing tahapan adalah sebagai berikut:

1. Pengambilan Sampel di Lapang

Kopi diperoleh dari tiga sumber yaitu petani, pengumpul, dan pedagang besar (pasar) di beberapa kecamatan di Lampung Barat, untuk petani diambil sembilan sampel dari beberapa kecamatan, pedagang pengumpul diambil lima sampel dari beberapa kecamatan, sedangkan pedagang besar diambil dua sampel dari beberapa kecamatan sehingga di peroleh 16 sampel. Dari masing-masing tempat diambil sampel sebanyak sebanyak 0,5 – 1 kg dengan penarikan sampling aseptis dan representatif.

2. Pengambilan sampel di laboratorium

Masing masing sampel dituangkan pada permukaan yang bersih dan halus hingga membentuk timbunan, timbunan sampel diratakan dan dibagi empat menggunakan kayu pembagi, dicampur dan diaduk hingga rata. Timbunan baru diratakan lagi dan dibagi lagi menjadi empat bagian seperti pertama kali, kemudian sampel diambil dari dua sudut berlawanan., demikian seterusnya hingga diperoleh bobot 100 g untuk masing masing sampel untuk dianalisa di laboratorium (SNI 19-0428-1998).

3. Kadar Air

Perhitungan kadar air pada penelitian ini adalah penentuan kadar air dengan cara pemanasan. Menimbang sampel yang berupa kopi biji yang telah dihaluskan sebanyak 1 – 2 gram dalam cawan yang telah diketahui beratnya. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 100 – 105°C selama 3 jam, lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang. Dipanaskan lagi dalam oven selama 30 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang, perlakuan ini diulangi hingga tercapai berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg). Pengurangan berat merupakan banyaknya kadar air dalam bahan yang dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Air} = \frac{A - B}{C} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat cawan dan sampel sebelum dikeringkan (g)

B = Berat cawan dan sampel setelah dikeringkan (g)

C = Berat sampel sebelum dikeringkan (g)

Sumber : Sudarmaji., dkk (1991)

4. Pengujian kuantitatif Mikroba

Pengujian kuantitatif mikroba dilakukan dengan hitungan cawan menggunakan dua macam medium kuantitatif yang spesifik, yaitu: (1) PCA untuk menghitung total mikroba; (2) APDA untuk menghitung jumlah kapang.

Perhitungan total mikroba dan kapang dilakukan menggunakan metode tuang. Masing masing sampel yang telah digiling secara aseptis ditimbang sebanyak 10 g, selanjutnya dibuat pengenceran dengan 9 ml pengencer hingga didapat pengenceran 10^{-1} . Setelah dikocok, sebanyak 1 ml dari masing-masing suspensi contoh ditambahkan pada 9 ml sehingga didapatkan pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} . Dari setiap pengenceran yang diinginkan sebanyak 1,0 ml suspensi sampel dipindahkan ke dalam cawan Petri steril. Untuk setiap pengenceran dilakukan secara duplo. Sebanyak 15 – 20 ml dari masing masing medium kuantitatif dituang ke dalam cawan Petri yang berisi suspensi sampel, lalu digoyang-goyang pada permukaan datar membentuk angka delapan sehingga terjadi pemisahan dan penyebaran sel sel mikroba secara merata di dalam agar. Selanjutnya dibiarkan membeku, dibalik, dan diinkubasi selama 1-2 hari pada inkubator konstan 30°C untuk medium PCA dan inkubasi selama 3-4 hari pada inkubator konstan 30°C untuk medium APDA. Koloni koloni yang tumbuh (30-300 koloni per cawan) dihitung menggunakan *colony counter* lalu dikonversikan sesuai masing masing pengenceran. (Fardiaz 1898 di dalam Rizal, 2000).

5. Identifikasi *Aspergillus ochraceus*.

Untuk identifikasi *Aspergillus ochraceus* diambil masing-masing 1 sampel dari setiap sumber berdasarkan total kapang paling tinggi. Identifikasi dilakukan dengan cara sebanyak 100 biji kopi didesinfeksi dengan Na-hipoklorit 1% selama satu menit, kemudian dikeringkan di dalam cawan Petri yang diberi alas 3 lembar kertas saring steril. Biji yang telah didesinfektan diletakkan pada media Dichloran 18% Glycerol Agar (DG18) (10 biji/cawan Petri berdiameter 9 cm). Kemudian

cawan-cawan Petri berisi biji tersebut di inkubasi selama 5 – 7 hari. Lalu persentase biji yang terserang oleh setiap spesies cendawan di hitung dengan cara memindahkan sekelumit hifa dari koloni setiap spesies cendawan yang dibedakan berdasarkan warna dan pola pertumbuhannya ke media *Czapek Yeast Extract Agar* (CYA).