

III. BAHAN DAN METODE

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian, Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April–Juli 2015.

B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain spatula, tabung reaksi, tabung *centrifuge*, gelas ukur, erlenmeyer, *beaker glass*, mikropipet, pipet tip, jarum ose, pipet tetes, bunsen, pisau *stainless steel*, loyang, toples kaca, cawan porselen, termometer, timbangan, neraca analitik merek Shimadzu, *slicer* merek Crypto Peerless, *vortex* merek Thermolyne, *hot plate and stirrer* merek Cimerec 3, *portable autoclave*, *laminar air flow*, oven merek Philip Harris Ltd., oven merek Memmert, *centrifuge* merek Thermo Electron Corporation, *waterbath* merek Polyscience, spektrofotometer merek Thermo Scientific Genesys 20, mixer dan alat pencetak mie.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain ubi jalar putih yang didapatkan dari Pasar Seputih Raman Lampung Tengah, gula pasir merk Gulaku, garam merk

refina, aquades, alkohol 70%, media MRS Broth, media MRS Agar, media Yeast Extract Agar, kultur murni *Lactobacillus plantarum* FNCC-0123 dan *Leuconostoc mesenteroides* FNCC-0023 yang diperoleh dari PAU Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada, fermipan, tepung terigu merek Bogasari dan telur.

C. Metode Penelitian

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan dua faktor dan tiga kali ulangan. Faktor pertama adalah jenis starter campuran yaitu *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* (LpLm) dan *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Saccharomyces cerevisiae* (LpLmSc). Faktor kedua adalah lama fermentasi dengan lima taraf yaitu 0 jam (H₀), 24 jam (H₂₄), 48 jam (H₄₈), 72 jam (H₇₂) dan 96 jam (H₉₆). Data yang diperoleh diuji kesamaan ragamnya dengan uji Bartlett dan kemenambahan model diuji dengan uji Tuckey. Analisis sidik ragam digunakan untuk mendapatkan penduga ragam galat dan uji signifikansi untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan, kemudian dilakukan uji lanjut menggunakan uji perbandingan dan polinomial ortogonal dengan taraf 1% dan 5% untuk pH tepung, pembengkakan granula, kelarutan dan organoleptik tepung, sedangkan untuk data persentase transmittan dan persen keutuhan mie dianalisis secara deskriptif.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Persiapan Starter

a. Starter *Lactobacillus plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides*

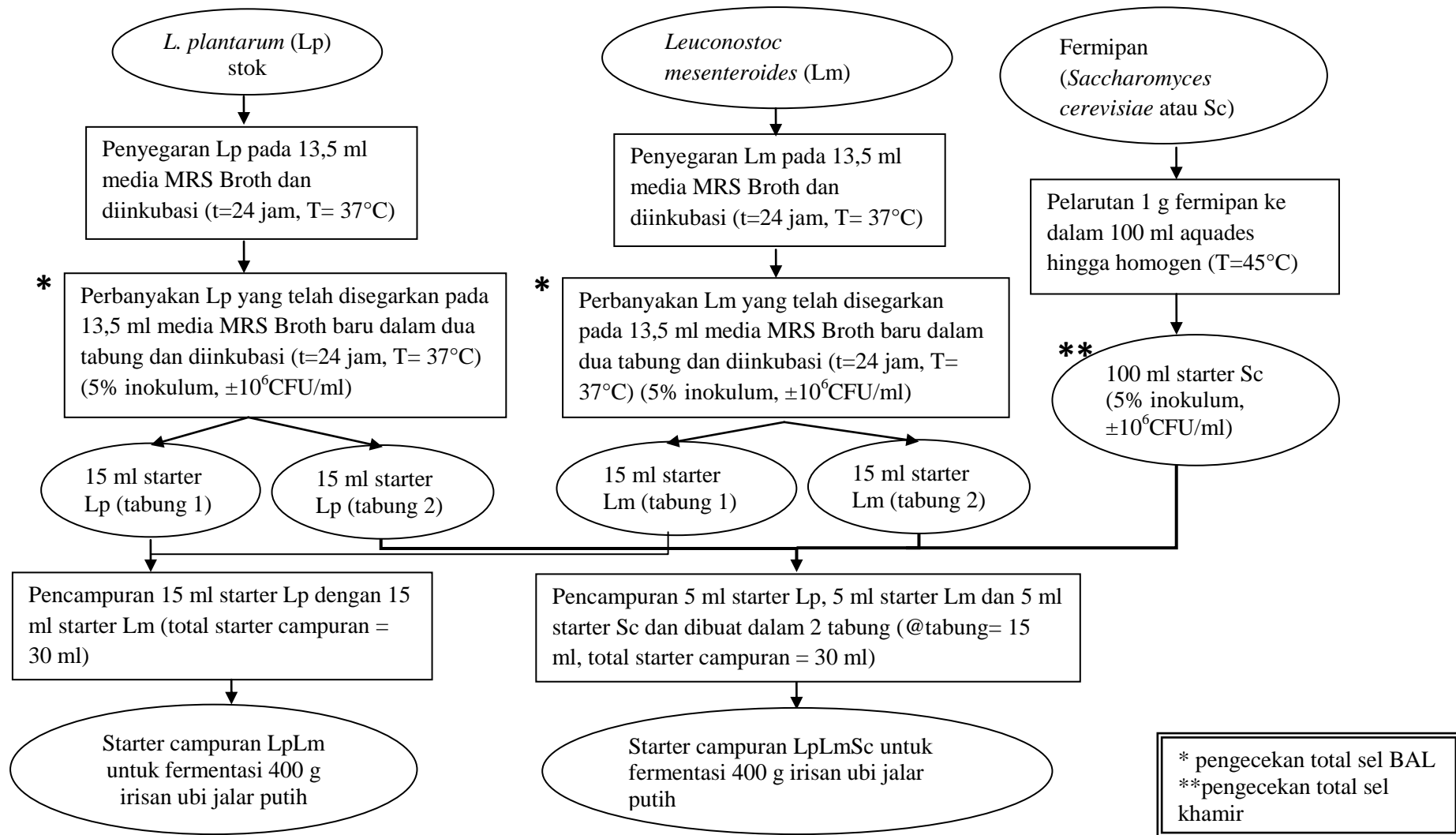
Proses persiapan starter *Lactobacillus plantarum* (Lp) dan *Leuconostoc mesenteroides* (Lm) pada penelitian ini mengikuti prosedur penelitian yang

dilakukan oleh Margareta (2010) dan telah dimodifikasi. Proses pembuatan starter diawali dengan penyegaran kultur stok dengan memindahkan masing-masing 1,5 ml kultur stok *L. plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides* ke dalam tabung *centrifuge* berisi 13,5 ml media MRS Broth steril kemudian diinkubasi ($t=24$ jam, $T=37^{\circ}\text{C}$). Selanjutnya, kultur *L. plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides* yang telah disegarkan diperbanyak ke media MRS Broth baru. Perbanyak kultur dilakukan dengan mengambil 1,5 ml kultur yang telah disegarkan lalu dimasukkan ke dalam 13,5 ml MRS Broth steril baru dalam tabung *centrifuge* sehingga total kultur yang digunakan adalah 15 ml.

Masing-masing kultur diperbanyak dalam dua tabung *centrifuge* ukuran 15 ml yaitu tabung 1 dan tabung 2, karena inokulum yang dibutuhkan sebanyak 5% dari volume total (irisian ubi dan larutan garam dan gula yaitu sebanyak 600 ml), sehingga inokulum yang digunakan sebanyak 30 ml (2 tabung untuk setiap perlakuan), lalu diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37°C sehingga mencapai kerapatan sel $\pm 10^6$ CFU/ml. Pemilihan 5% ini mengikuti penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Amethy (2014). Penggunaan starter campuran *L. plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides* sebagai perlakuan pertama yaitu dengan menggunakan starter Lp tabung 1 dan Lm tabung 1 secara bersamaan untuk fermentasi ubi, sedangkan tabung 2 digunakan untuk fermentasi campuran *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Starter campuran *L. plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides* untuk satu perlakuan fermentasi ubi jalar putih yaitu 15 ml starter *L. plantarum* dan 15 ml starter *Leuconostoc mesenteroides* atau total starter campuran yang digunakan yaitu sebanyak 30 ml. Proses pembuatan starter dapat dilihat pada Gambar 3.

b. Starter Campuran *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* dan *Saccharomyces cerevisiae*

Tahapan dalam pembuatan starter campuran BAL dan khamir ini dilakukan dengan menggabungkan starter BAL dan starter khamir dalam satu media tumbuh. Tahap pembuatan starter *Saccharomyces cerevisiae* yaitu pertama dengan melarutkan 1 gram fermipan ke dalam 100 ml aquades kemudian dihomogenkan (5% dari volume total (irisian ubi dan larutan garam dan gula yaitu sebanyak 600 ml)) dengan kerapatan sel $\pm 10^6$ CFU/ml. Selanjutnya tahap pencampuran yaitu masing-masing starter (*Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* dan *Saccharomyces cerevisiae*) diambil sebanyak 5 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung *centrifuge* 15 ml kosong. Starter *Lactobacillus plantarum* dan *Leuconostoc mesenteroides* yang digunakan merupakan starter yang telah diperbanyak yaitu Lp tabung 2 dan Lm tabung 2. Total starter campuran *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* dan *Saccharomyces cerevisiae* yang digunakan untuk satu perlakuan fermentasi ubi jalar putih yaitu 30 ml starter campuran. Tahapan-tahapan dalam persiapan starter campuran dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Proses pembuatan starter campuran *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* dan starter campuran *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Saccharomyces cerevisiae*

c. Pengecekan Total Sel BAL

Pengecekan total sel BAL didasarkan pada metode Fardiaz (1989) dan dimodifikasi. Sebanyak 1 ml starter dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan pengencer (larutan garam fisiologis 0,85%) sebanyak 9 ml dan didapat pengenceran 10^{-1} , kemudian dilakukan pengenceran sampai 10^{-5} . Starter yang telah diencerkan pada beberapa pengenceran dimasukkan 1 ml ke dalam cawan petri, kemudian dituangkan media MRS Agar steril yang telah dipersiapkan sebelumnya pada suhu kira-kira 45°C sebanyak 15 ml. Segera setelah penuangan media, cawan petri digerakkan melingkar agar sel-sel mikroba merata. Apabila media sudah memadat, cawan petri diinkubasi dengan posisi terbalik selama ± 24 jam. Jumlah mikroba dihitung (skala 30-300 koloni). Koloni dengan zona bening dihitung sebagai BAL.

$$\text{Total BAL} = \sum \text{koloni terhitung} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

d. Pengecekan Total Sel Khamir

Pengamatan total khamir didasarkan pada metode Fardiaz (1993). Sebanyak 1 ml starter *Saccharomyces cerevisiae* dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan pengencer (larutan garam fisiologis 0,85%) steril sebanyak 9 ml dan didapat pengenceran 10^{-1} , kemudian dilakukan pengenceran sampai 10^{-5} . Starter yang telah diencerkan pada beberapa pengenceran dimasukkan 1 ml ke dalam cawan petri, kemudian dituangkan media Yeast Extract Agar steril yang telah dipersiapkan sebelumnya pada suhu kira-kira 45°C sebanyak 15 ml. Segera setelah penuangan media, cawan petri digerakkan melingkar agar sel-sel mikroba merata. Apabila media sudah memadat, cawan petri diinkubasi dengan posisi

terbalik selama ± 24 jam. Jumlah mikroba dihitung (skala 30-300 koloni). Koloni dengan zona bening dihitung sebagai khamir.

$$\text{Total khamir} = \text{jumlah koloni terhitung} \times \frac{1}{\text{Faktor pengencer}}$$

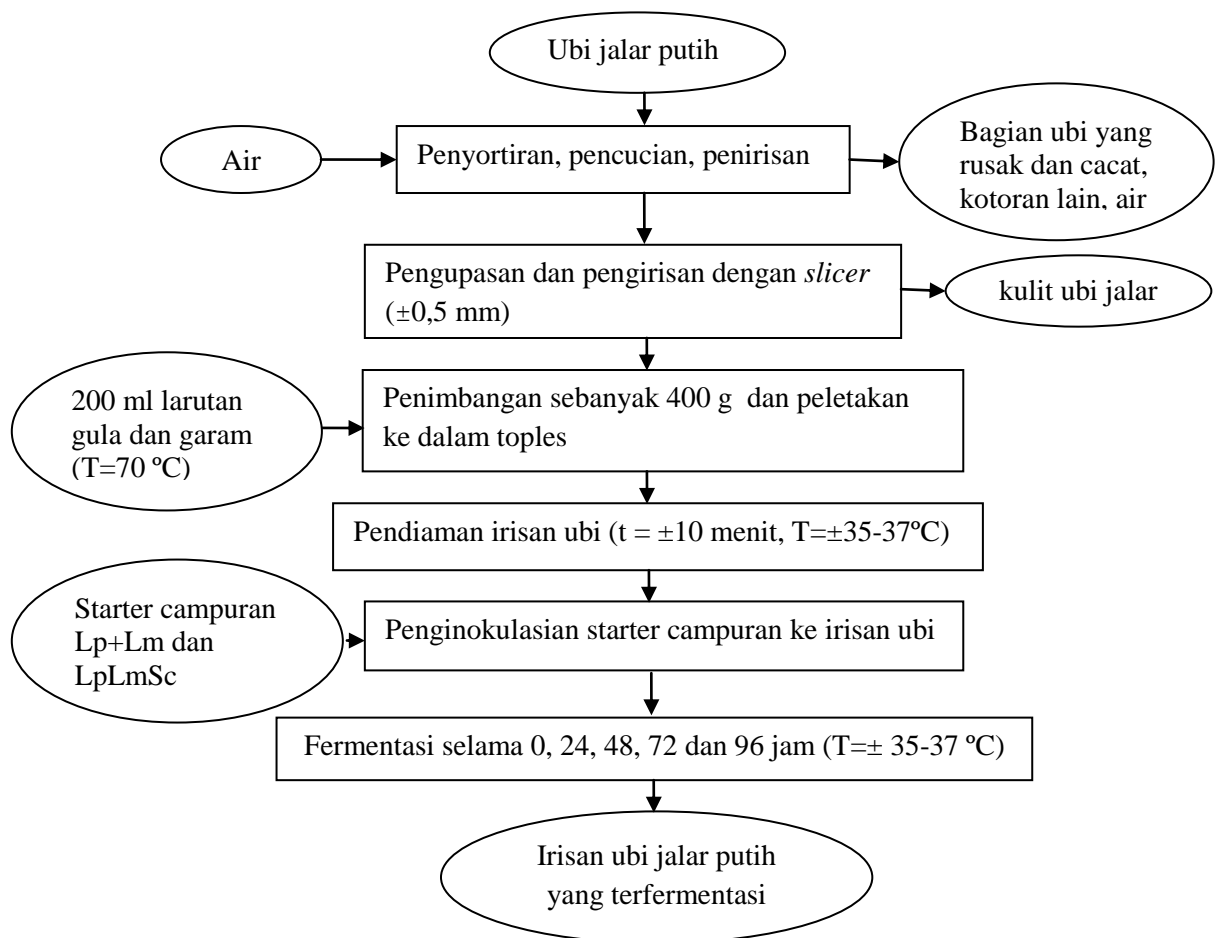
2. Persiapan Larutan Gula dan Garam

Persiapan larutan gula dan garam untuk fermentasi ubi jalar dilakukan dengan menimbang garam sebanyak 3% (6 gram) dari volume aquades yang digunakan (200 ml) dan ditambahkan gula sebanyak 1% (2 gram) untuk setiap perlakuan. Garam dan gula tersebut kemudian dilarutkan dalam aquades yang sebelumnya telah dipanaskan hingga suhu 70°C . Larutan gula dan garam digunakan saat irisan ubi jalar telah siap di dalam toples.

3. Fermentasi Ubi Jalar Putih

Proses fermentasi ubi jalar mengikuti prosedur penelitian yang dilakukan oleh Margareta (2010) dan telah dimodifikasi. Proses fermentasi dilakukan dengan melakukan sortasi pada ubi jalar putih sebanyak 5 kilogram dengan memisahkan ubi jalar yang rusak, cacat dan kotoran-kotoran lain. Ubi jalar yang telah disortasi selanjutnya dikupas, dicuci dan diiris tipis menggunakan *slicer*. Irisan ubi jalar tersebut ditimbang sebanyak 400 gram untuk tiap perlakuan kemudian dilakukan fermentasi di dalam toples berukuran 750 ml. Selanjutnya, larutan gula garam sebanyak 200 ml ditambahkan ke irisan ubi dalam toples sehingga perbandingan jumlah ubi dan larutan adalah 400 gram ubi : 200 ml larutan gula garam. Toples ubi jalar yang telah berisi ubi jalar dan larutan gula garam kemudian didiamkan

selama ± 10 menit hingga suhunya mencapai $\pm 35-37^{\circ}\text{C}$. Tahap selanjutnya yaitu inokulasi starter campuran yang telah dihomogenkan dengan vortex ke masing-masing toples secara aseptis lalu ditutup rapat. Fermentasi dilakukan selama 0, 24, 48, 72 dan 96 jam pada suhu ruang ($\pm 35-37^{\circ}\text{C}$) dan pH larutan fermentasi ubi jalar diamati setiap harinya. Proses pembuatan fermentasi ubi jalar dapat dilihat pada Gambar 4.

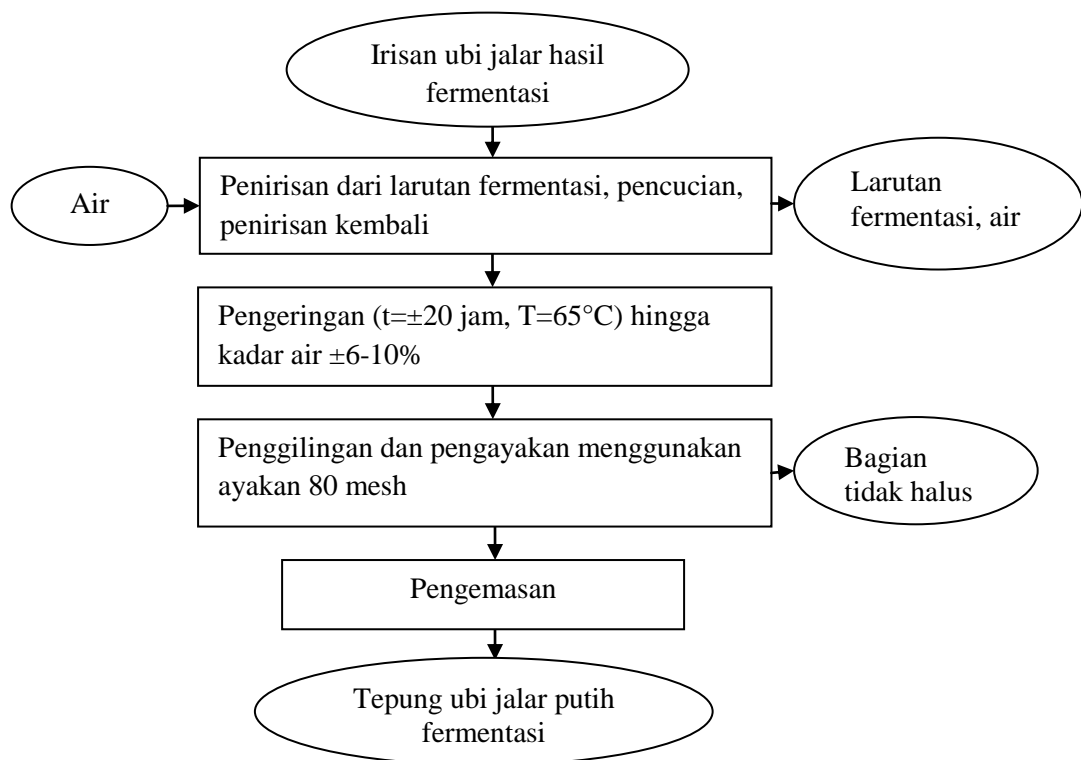


Gambar 4. Diagram alir fermentasi irisan ubi jalar putih
Sumber: Margareta (2010) yang telah dimodifikasi

4. Penepungan

Proses penepungan mengikuti prosedur yang dilakukan pada penelitian Aprianita (2011). Irisan ubi jalar hasil fermentasi ditiriskan dari larutan fermentasi dan dicuci dengan air mengalir kemudian ditiriskan. Selanjutnya, irisan ubi jalar dikeringkan dalam oven blower bersuhu 65°C selama ± 20 jam hingga kadar air irisan ubi jalar $\pm 6-10\%$. Irisan ubi jalar putih kering lalu digiling dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh. Tepung ubi jalar putih halus kemudian dikemas dalam plastik dengan penutup rapat untuk dilakukan pengujian lebih lanjut.

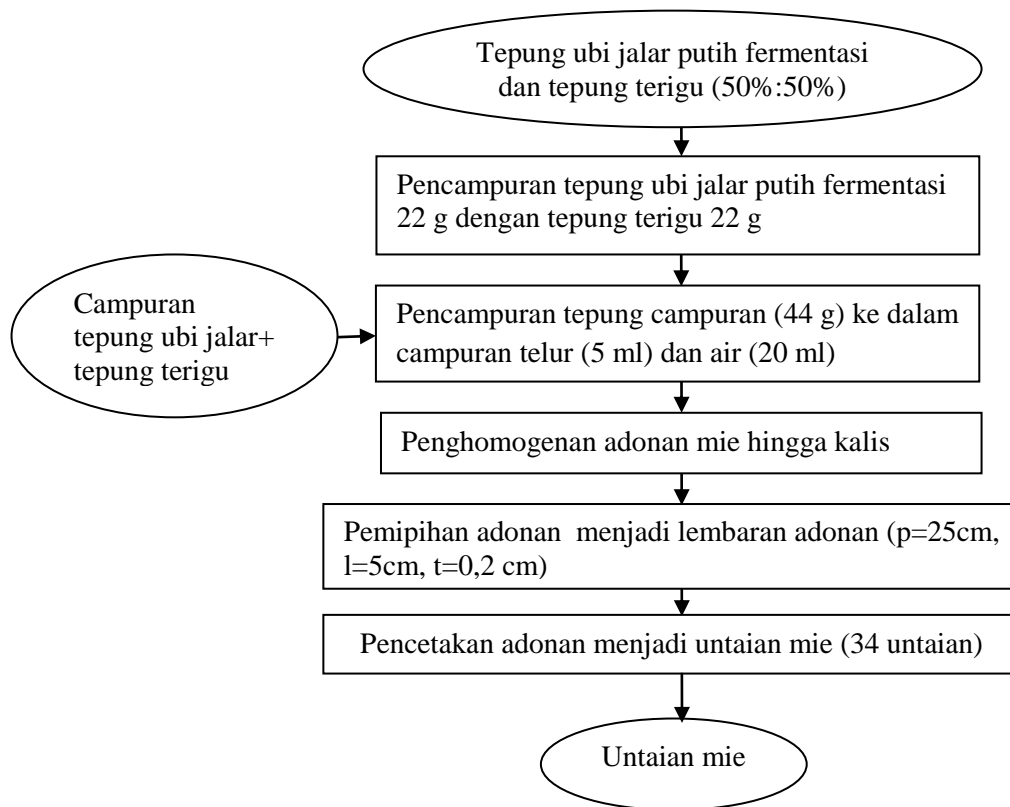
Proses penepungan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Diagram alir penepungan irisan ubi jalar terfermentasi
Sumber: Aprianita (2011) yang telah dimodifikasi

5. Pembuatan Mie

Proses pembuatan mie pada penelitian ini mengikuti prosedur Widaningrum *et al.* (2005) yang telah dimodifikasi dan berdasarkan penelitian pendahuluan yang telah dilakukan. Mie dibuat dengan cara mencampurkan tepung ubi jalar fermentasi dengan tepung terigu dengan perbandingan 50%:50% yaitu 22 gram tepung ubi jalar fermentasi dan 22 gram tepung terigu. Selanjutnya, disiapkan 5 ml telur yang telah dikocok dan 20 ml air. Kemudian dimasukkan tepung campuran sedikit demi sedikit ke dalam campuran telur dan air sambil dimixer hingga tepung habis. Adonan mie dihomogenkan hingga kalis dan setelah itu adonan dipipihkan hingga terbentuk lembaran adonan dengan panjang 25 cm, lebar 5 cm dan tebal 0,2 cm untuk menghasilkan 34 untaian mie yang masing-masing untaian mempunyai tebal 0,2 cm dan lebar 0,2 cm. Setelah terbentuk lembaran mie maka adonan tersebut dicetak menggunakan alat pencetak mie untuk dibentuk menjadi untaian mie. Selanjutnya dilakukan pengamatan pada untaian mie apakah mie yang terbentuk mudah putus atau tidak dan dihitung persentase mie yang utuh. Prosedur pembuatan mie dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram alir pembuatan mie
 Sumber: Widaningrum *et al.* (2011) yang telah dimodifikasi

E. Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu pengamatan pada tepung ubi jalar putih dan pengamatan pada mie. Pengamatan pada tepung ubi jalar putih meliputi pH tepung, pembengkakan granula (*swelling power*), kelarutan (*solubility*), tingkat kejernihan pasta dan sifat organoleptik (warna dan aroma). Sedangkan untuk pengamatan pada mie dilihat dari kemudahan mie putus dan persentase untaian mie utuh.

1. Pengamatan pada Tepung Ubi Jalar

a. Derajat Keasaman (pH)

Pengukuran derajat keasaman (pH) tepung diukur menurut metode AOAC (1990) yaitu dengan menggunakan pH meter. Sebelum dilakukan pengukuran, pH meter distandarisasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan buffer 7. Selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap sampel dengan mencelupkan elektroda ke dalam sampel yang telah dilarutkan dengan aquades dan dibiarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil.

b. Pembengkakan Granula dan Kelarutan

Pengujian terhadap daya pembengkakan dan kelarutan dilakukan dengan metode yang telah dikembangkan oleh Torruco-Uco dan Betancur-Ancona (2007) dengan sedikit modifikasi pada jumlah sampel yang dilarutkan dalam air. Suspensi tepung (1% b/v) sebanyak 10 mL dimasukkan ke dalam 15 ml tabung sentrifuse yang telah diketahui berat kosongnya. Kemudian tabung beserta isinya dipanaskan pada suhu 90°C dalam *waterbath* selama 30 menit. Suspensi kemudian disentrifuse pada 3000 rpm selama 15 menit, supernatan dipisahkan dan granula yang membengkak (dalam benetuk endapan) lalu ditimbang. Supernatan sebanyak 5 ml dituangkan kedalam cawan petri untuk dikeringkan dalam oven kovensiaonal pada suhu 105°C selama 4 jam sampai berat konstan. Persentase kelarutan dan *swelling power* dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Kelarutan (\%)} = \frac{\text{Berat kering pada suhu } 105^{\circ}\text{C}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Pembengkakan granula (\%)} = \frac{\text{Berat granula yang membengkak}}{\text{Berat sampel} \times (100\% - \% \text{kelarutan})} \times 100\%$$

c. Persentase (%) Transmittan

Pengukuran persentase transmittan dilakukan menggunakan uji tingkat kejernihan pasta mengikuti metode Ali *et al.* (2014). Tingkat kejernihan pasta diukur dengan menghitung persen cahaya yang ditransmitkan (*light transmittance*). Dispersi tepung (1%) disiapkan dalam tabung berulir dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 30 menit dengan pengadukan. Tabung kemudian didinginkan dan disimpan pada suhu 4°C selama 5 hari. Untuk mengukur tingkat kejernihan pasta, diukur menggunakan spektrofotometer 650 nm setiap hari dan dibandingkan dengan blanko berisi air.

d. Uji Organoleptik

Penilaian organoleptik yang dilakukan meliputi warna dan aroma menggunakan uji skoring. Uji organoleptik dilakukan oleh 20 panelis. Penilaian dilakukan melalui pengisian kuesioner. Contoh kuesioner yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Contoh kuesioner yang digunakan

LEMBAR KUISIONER										
Sampel	: Tepung ubi jalar fermentasi									
Nama	:									
Tanggal	:									
Dihadapan anda disajikan 10 sampel tepung ubi jalar fermentasi yang telah diberi kode acak. Berikan penilaian anda terhadap warna dan aroma pada produk dengan memberikan skor dari 1-5 sesuai dengan penilaian anda setelah dibandingkan dengan tepung ubi jalar kontrol.										
Parameter	121	122	123	321	322	323	521	522	523	524
Warna										
Aroma										
Keterangan:										
Warna					Aroma					
5= Sangat putih					5= Asam					
4= Putih					4= Agak asam					
3= Putih krem					3=Netral					
2= Putih kekuningan					2= Agak khas ubi jalar					
1= Putih kecoklatan					1= Khas ubi jalar					
YA TIDAK										
1. Apakah terdapat aroma yang tidak disukai? <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>										
2. Jika YA, mohon dituliskan aroma seperti apa dan pada sampel nomor berapa.....										
YA TIDAK										
3. Apakah terdapat aroma yang disukai? <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>										
4. Jika YA, mohon dituliskan aroma seperti apa dan pada sampel nomor berapa.....										
YA TIDAK										
5. Apakah terdapat aroma alkohol atau tape? <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>										
6. Jika YA, mohon dituliskan pada sampel nomor berapa.....										
YA TIDAK										
7. Apakah terdapat aroma apek <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>										
8. Jika YA, mohon dituliskan pada sampel nomor berapa.....										

2. Pengamatan Untaian Mie

Pengamatan untaian mie dilihat dari kemudahan mie putus atau tidak selama proses pencetakan dan persentase untaian mie utuh yang dihasilkan.