

III. METODELOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Inokulasi dan perbanyakan inokulum *Lactobacillus plantarum* pada media modifikasi MRS *Broth* dengan air kelapa dan limbah cair tempe dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian UMY. Proses Fermentasi, penepungan dan uji kualitas tepung *MOCAF* dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian UMY. Penelitian ini dimulai pada bulan Desember 2014 sampai dengan Mei 2015.

B. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah singkong *cassesart/UJ5* yang diperoleh dari Rumbia, Lampung Tengah dengan umur panen 6 bulan (lampiran 4.2c), inokulum *Lactobacillus plantarum* dari LIPI Cibinong Jawa Barat, medium MRS *Broth*, MRS agar, air kelapa dari pohon dan janjang sama (lampiran 4.1c dan 4.1d), limbah cair tempe dari industri pembuatan tempe dan tahu di Desa Tegalsari, Kasihan, Bantul DIY, aquades, HCl 1 N, NaOH 30 %, H₂SO₄, alkohol 10 %, alkohol 70 %, NaOH 45 %, NaOH 2,5 %, NH₄OH, KI, AgNO₃ 0,02 N, Acetone.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa Autoklaf, inkubator, mikropipet, cawan petri, pipet ukur, pipet tetes, tabung reaksi, labu erlenmeyer, beaker glass, buncen burner, gelas ukur, jarum inokulum / ose, pH meter universal, *colony counter*, shaker, kertas saring, neraca analitik, labu Kjeidhal,

erlenmeyer, muffle furnace, desikator, oven, water bath, botol jam, dan toples plastik (lampiran 4.1a dan 4.1b).

C. Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan metode percobaan eksperimen yang terdiri dari dua tahap yaitu : tahap 1 adalah pengembangan *Lactobacillus plantarum* pada berbagai modifikasi media MRS Broth dan tahap 2 adalah aplikasi berbagai formulasi cair pada fermentasi tepung *MOCAF*.

Tahap 1. Pengembangan *Lactobacillus plantarum* pada berbagai media modifikasi MRS Broth.

Penelitian dilakukan dengan rancangan percobaan faktor tunggal, yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diujikan adalah formulasi media cair untuk mengembangkan *Lactobacillus plantarum* yang terdiri dari 3 formulasi, yaitu :

A = Media MRS Broth 100 %

B = Media MRS Broth 50 % + Air kelapa 25 % + Limbah cair tempe 25 %

C = Sukrosa 20 g + Air kelapa 50 % + limbah cair tempe 50 %

Masing-masing perlakuan diberi 3 ulangan sehingga diperoleh 9 unit percobaan dan diinkubasi selama 2 hari dan diamati jumlah koloni dan pH-nya.

Tahap 2. Aplikasi Berbagai Formulasi Media Cair pada Fermentasi Tepung *MOCAF*

Penelitian ini berupa percobaan laboratorium di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Pertanian dengan rancangan percobaan faktor tunggal. Rancangan percobaan ini disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Perlakuan yang diujikan adalah aplikasi berbagai formulasi media cair pada fermentasi tepung *MOCAF* selama 6 hari fermentasi yang terdiri dari 3 formulasi, yaitu :

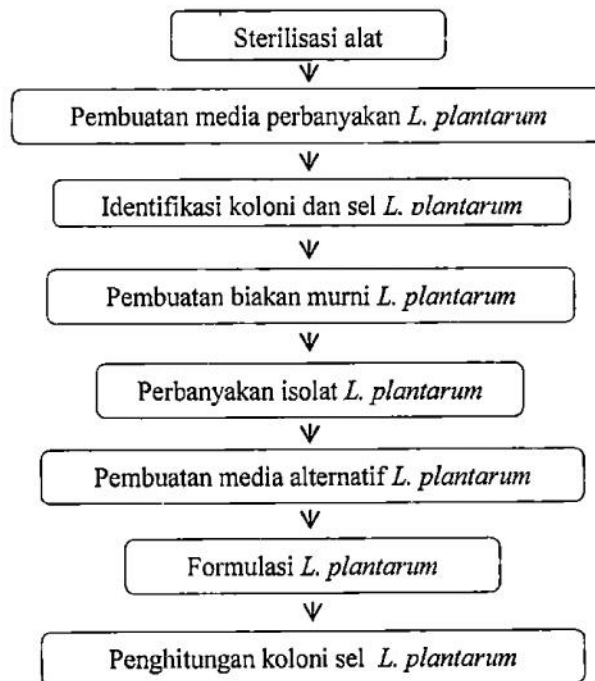
A = Media MRS *Broth* 100 %

B = Media MRS *Broth* 50 % + Air kelapa 25 % + Limbah cair tempe 25 %

C = Sukrosa 20 g + Air kelapa 50 % + limbah cair tempe 50 %

Dari 3 perlakuan tersebut diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 9 unit percobaan dan setiap unit percobaan terdapat 1 sampel perlakuan dan 2 sampel korban sehingga totalnya sebanyak 27 sampel percobaan (lampiran 2). Setiap sampel difermentasi selama 6 hari dan diamati jumlah bakteri dan uji mutu tepung *MOCAF*.

D. Cara Penelitian



Gambar 1. Diagram alir penelitian tahap 1

1. Tahap 1. Pengembangan *Lactobacillus plantarum* pada berbagai media modifikasi MRS Broth

Tahapan ini dilakukan di laboratorium Agrobioteknologi dengan melakukan perbanyakan bakteri *Lactobacillus plantarum* pada berbagai formulasi media cair untuk melihat kesesuaian media terhadap aktivitas pertumbuhan *L. plantarum* pada masing-masing media (gambar 1). Kesesuaian media dilihat dengan menghitung pertumbuhan sel *L. plantarum* setiap harinya selama 48 jam (2 hari) dengan metode *plating* dengan pengenceran 10^6 , 10^7 , 10^8 dan mengukur perubahan pH media yang terjadi.

a. Sterilisasi alat

Alat-alat yang terbuat dari logam dan gelas dicuci bersih kemudian setelah kering alat-alat tersebut dibungkus menggunakan kertas payung. Alat-alat dari logam dan kaca yang telah terbungkus kertas payung kemudian disterilkan dalam autoklaf dengan temperatur $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ bertekanan 1 atm selama 30 menit (lampiran 4.1a).

b. Pembuatan medium untuk perbanyakan isolat *Lactobacillus plantarum*

Medium perbanyakan yang digunakan yaitu MRS Broth dan MRS Agar sesuai kebutuhan. Seluruh bahan untuk membuat medium MRS Broth dilarutkan dengan air di dalam erlenmeyer 250 ml sebanyak 1900 ml (Lampiran 2c) kemudian dipanaskan hingga mendidih agar seluruh bahan larut dengan air. Setelah seluruh bahan homogen, kemudian dilakukan pengecekan pH menggunakan kertas lakmus. pH yang dikehendaki ialah antara 6,5-7,2. Medium yang telah siap kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada

temperatur 121 °C tekanan 1 atm selama 15-20 menit. Medium MRS *Broth* steril kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi steril 10 ml, dan erlenmeyer 250 ml sesuai kebutuhan (lampiran 3).

c. Identifikasi koloni dan sel isolat *Lactobacillus plantarum*

Identifikasi koloni dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat *Lactobacillus plantarum* dari hasil pembiakan kultur murni pada medium MRS *Broth* menggunakan metode permukaan (*surface plating method*) di media MRS Agar. Pada tahap ini yang perlu diamati ialah warna, diameter, bentuk koloni, bentuk tepi, elevasi dan struktur dalam koloni (Lay, 1994). Warna, bentuk koloni, bentuk tepi, elevasi dan struktur dalam koloni yang diamati haruslah sama dengan karakterisasi koloni isolat *Lactobacillus plantarum* yang sudah ada untuk memastikan bahwa tidak terjadi kontaminasi pada isolat yang digunakan untuk pembuatan biakan murni.

d. Pembuatan biakan murni Isolat *Lactobacillus plantarum*

Biakan murni ialah biakan yang mengandung satu macam bakteri dan dapat dibiakan menggunakan bahan cair atau padat (Lay, 1994). Biakan murni akan dibuat dari isolat *Lactobacillus plantarum* pada medium MRS Agar miring.

Masing-masing isolat *Lactobacillus plantarum* dimurnikan dengan cara mengambil 1 ose isolat bakteri kemudian ditumbuhkan pada medium MRSA miring dan diinkubasi selama 48 jam. Biakan murni haruslah diinkubasi pada ruangan dengan suhu dan kelembaban yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri

yaitu 27°C. *Lactobacillus plantarum* merupakan bakteri aerotoleran yang dapat tumbuh pada suhu 15°C tapi tidak pada suhu 45°C (Lampiran 3).

e. Perbanyak isolat *Lactobacillus plantarum*

Perbanyak isolat *Lactobacillus plantarum* didapat dari pembiakan murni isolat *Lactobacillus plantarum*. Perbanyak dilakukan dengan mengambil 1 ose biakan murni isolat kemudian diinokulasikan ke MRS *Broth* 10 ml dalam tabung reaksi (lampiran 4.1f). Setelah 48 jam ambil 1 ml di inokulasi ke erlenmeyer berisi 100 ml medium MRS *Broth* untuk tiap isolat.

f. Pembuatan media alternatif *Lactobacillus plantarum*

Media perbanyak alternatif *Lactobacillus plantarum* berbahan air kelapa dan limbah cair tempe. Konsentrasi yang digunakan adalah MRS *Broth* 100 %, MRS *Broth* 50 % + air kelapa 25 % + limbah cair tempe 25 %, sukrosa 20 g + air kelapa 50 % + limbah cair tempe 50 % (lampiran 4.1g dan 4.1h). Masing-masing bahan yang digunakan dicampur menjadi satu dan dibuat pada 3 erlenmeyer steril 100 ml, selanjutnya media dipanaskan agar seluruh bahan larut. Setelah seluruh bahan homogen, kemudian dilakukan pengecekan pH menggunakan kertas lakmus (lampiran 4.1e). pH yang dikehendaki ialah antara 6,5-7,2. Medium yang telah siap kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada temperatur 121°C tekanan 1 atm selama 15-20 menit.

g. Formulasi *Lactobacillus plantarum*

Isolat *Lactobacillus plantarum* telah diperbanyak dan diinkubasi selama 48 jam kemudian di inokulasikan sebanyak 10 % pada 3 erlenmeyer berisi 100 ml untuk masing-masing isolat formulasi (A) Media MRS *Broth*

100 %, (B) = Media MRS *Broth* 50 % + Air kelapa 25 % + limbah cair tempe 52 %, (C) Sukrosa 20 g + Air kelapa 50 % + limbah cair tempe 50 %, (lampiran 4.1g dan 4.1h). Masing-masing diulang 3 botol, kemudian diinkubasi dengan suhu ruang 27°C selama 48 jam pada *rotary shaker* dengan kecepatan 120 rpm (lampiran 3) dan diamati jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* setiap hari dengan metode *plating* pada media MRS agar (MRS) (Lampiran 3).

h. Penghitungan koloni *Lactobacillus plantarum*

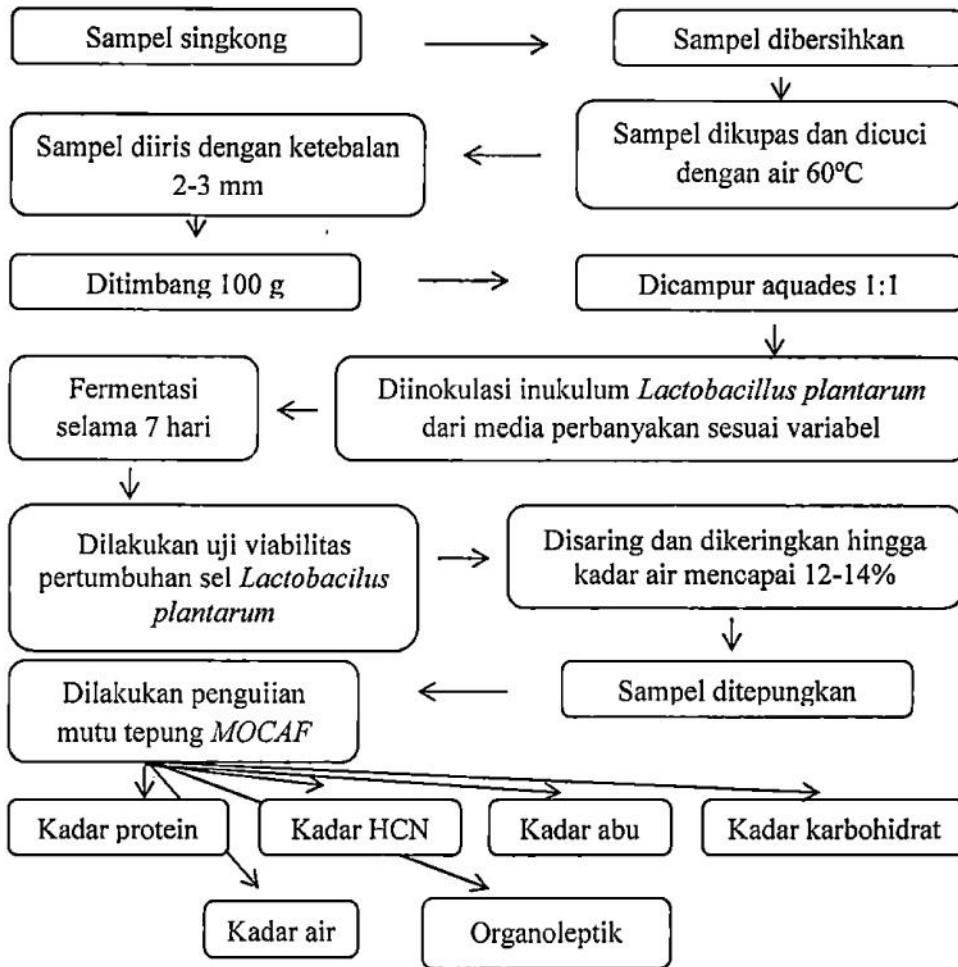
Jumlah koloni *Lactobacillus plantarum* akan diamati setiap 24 jam sekali selama 1 minggu dengan metode *plating* menggunakan medium MRS metode permukaan atau *surface plating method*, kemudian akan diuji jumlah koloni populasi bakteri. Penghitungan populasi bakteri ini dengan metode *Total Plate Count* (TPC) (lampiran 4.1j).

i. Tingkat Keasaman (pH)

Pengamatan pH berfungsi sebagai indikator pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* pada media modifikasi MRS *Broth*. Perubahan pH menunjukkan aktivitas *L. plantarum* mengeluarkan metabolit sekunder yaitu asam laktat yang merubah pH media menjadi asam sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Tingkat keasaman di ukur menggunakan kertas pH Universal (lampiran 4.11).

2. Tahap 2. Fermentasi tepung *MOCAF*

Persiapan sampel uji dilakukan dengan memilih sampel uji singkong dengan varietas, ukuran, umur yang sama. Selanjutnya sampel uji terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran yang menempel, lalu singkong dikupas dan dicuci dengan air bersuhu 60°C hingga bersih (lampiran 4.2a dan 4.2b), selanjutnya disawut menggunakan parut (lampiran 4.2c). Setelah itu sampel uji ditimbang seberat 1000 g lalu dicampur dengan akuades (1:1,2) di toples plastik dan ditambahkan inokulum *Lactobacillus plantarum* 10 %. Setelah itu difermentasi sesuai dengan variabel yang telah ditentukan (lampiran 4.2d). Selanjutnya dilakukan pengambilan sampel pada larutan fermentasi sebanyak 3 titik (atas, tengah, bawah) lalu dikompositkan dengan tiap ulangan pada masing-masing perlakuan (lampiran 4.2e). Selanjutnya setelah sampel dihomogenkan menggunakan *rotary mixer* diambil 1 ml dan ditumbuhkan pada media MRSA menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Setelah itu dilakukan penyaringan untuk memisahkan sampel uji dengan air fermentasi (lampiran 4.2i), lalu dikeringkan hingga kadar airnya mencapai 12 % - 14 % (lampiran 4.2j), menggiling singkong hingga halus lalu dilakukan pengujian mutu tepung *MOCAF* sesuai dengan parameter pengamatan yaitu Jumlah Bakteri *L. plantarum* (lampiran 4.2k), pH larutan fermentasi (lampiran 4.2g), Uji kualitas tepung *MOCAF* meliputi Analisis Kadar Protein, Analisis Kadar HCN, Analisis Kadar Abu, Analisis Kadar Air, Analisis Kadar Karbohidrat, Uji Aroma, Uji Tekstur, dan Uji Warna (lampiran 4.2l, 4.2m dan Gambar 2).



Gambar 2. Diagram alir penelitian tahap 2

E. Parameter Yang Diamati

1. Tahap 1. Pengembangan *Lactobacillus plantarum* pada media alternatif

a. Jumlah bakteri *Lactobacillus plantarum*

Parameter yang diamati adalah dengan menghitung jumlah bakteri dengan satuan (*colony forming unit for milliliter* (CFU/ml) dengan metode *plate count*. Jumlah koloni yang dihitung yakni yang memenuhi syarat (1)

jumlah koloni tiap cawan petri 30-300 koloni, (2) tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas cawan petri, (3) perbandingan jumlah bakteri dari hasil pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran sebelumnya, jika sama atau lebih kecil dari 2 hasilnya dirata-rata, tetapi jika lebih besar dari 2 digunakan jumlah bakteri dari pengenceran sebelumnya, (4) tidak ada koloni yang memenuhi syarat maka tetap di hitung (Wulandari, 2008).

$$JB = JK \times \text{faktor pengenceran}$$

Keterangan : JB = jumlah bakteri (CFU/ml)
JK = jumlah bakteri tunggal

b. Tingkat Keasaman (pH)

Pengamatan pH berfungsi sebagai indikator pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* pada media modifikasi MRS Broth. Perubahan pH menunjukkan aktivitas *L. plantarum* mengeluarkan metabolit sekunder yaitu asam laktat yang merubah pH media menjadi asam sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Tingkat keasaman di ukur menggunakan kertas pH Universal.

2. Tahap 2. Fermentasi tepung *MOCAF*

a. Jumlah bakteri *Lactobacillus plantarum*

Parameter yang diamati adalah dengan menghitung jumlah bakteri pada satuan *colony forming unit for milliliter* (CFU/ml) dengan mengambil sampel pada larutan fermentasi sebanyak 3 titik (atas, tengah, bawah) lalu

dikompositkan dengan tiap ulangan pada masing-masing perlakuan. Selanjutnya setelah sampel dihomogenkan menggunakan *rotary mixer* diambil 1ml dan ditumbuhkan pada media MRSA menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC).

Jumlah koloni yang dihitung yakni yang memenuhi syarat (1) jumlah koloni tiap cawan petri 30-300 koloni, (2) tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas cawan petri, (3) perbandingan jumlah bakteri dari hasil pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran sebelumnya, jika sama atau lebih kecil dari 2 hasilnya dirata-rata, tetapi jika lebih besar dari 2 digunakan jumlah bakteri dari pengenceran sebelumnya (Soetarto *et al*, 2009 *cit* Wulandari, 2008). (4) tidak ada koloni yang memenuhi syarat maka tetap di hitung.

$$JB=JK \times \text{faktor pengenceran}$$

Keterangan : JB = jumlah bakteri (CFU/ml)
JK = jumlah bakteri tunggal

b. Tingkat Keasaman (pH)

Pengamatan pH berfungsi sebagai indikator pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* pada media modifikasi MRS *Broth*. Perubahan pH menunjukkan aktivitas *L. plantarum* mengeluarkan metabolit sekunder yaitu asam laktat yang merubah pH media menjadi asam sehingga menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Tingkat keasaman diukur menggunakan kertas pH Universal.

c. Uji Mutu Tepung *MOCAF*

1) Analisis Kadar Karbohidrat

Karbohidrat dalam bentuk gula dan pati dianalisis dengan metode Nelson-Samogyi secara spektrofotometri (Sudarmadji dkk, 1984). Sampel (5 ml) ditambah 143,75 mg enzim amilase kemudian digojok dan didiamkan selama 6 jam. 1 ml sampel yang ditambah amilase dan 1 ml sampel tanpa amilase masing-masing ditambah akuades sampai volume akhir 10 ml, kemudian diambil 1 mL ditambah dengan 9 mL akuades dan digojog dengan vorteks. 1 ml larutan sampel ditambahkan 1 ml larutan Nelson (campuran larutan Nelson A dan Nelson B; 25:1 v/v), kemudian dipanaskan dengan *water bath* padasuhu 100°C selama 20 menit. Larutan sampel didinginkan sampai mencapai suhu kamar, kemudian ditambahkan 1 ml larutan arsenomolybdat. Larutan sampel digojog, kemudian ditambahkan akuades 7 ml dan digojog lagi. Larutan sampel diukur penyerapan (absorbansi) cahaya tampak (*visible*) pada panjang gelombang 540 nm. Nilai absorbansi sampel – nilai absorbansi blanko kemudian dikonversi ke mg/ml gula reduksi berdasarkan persamaan regresi senyawa standar (glukosa monohidrat). Kadar gula reduksi adalah kadar gula reduksi tanpa enzim amilase.

Kadar pati = (Kadar gula reduksi setelah diberi enzim amilase – kadar gula reduksi tanpa enzim amilase) X 0,9.

2) Analisis Kadar Serat Metode Gravimetri (Sudarmadji dkk, 2003)

Sampel ditimbang sebanyak 1-2 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml, kemudian ditambahkan 50 ml H₂SO₄ 1,25 % panaskan dan *direflux* selama 30 menit, setelah itu ditambahkan 50 ml NaOH 3,25 % dan *direflux* selama 30 menit. Sampel yang telah dipanaskan, kemudian disaring panas-panas dengan kertas saring Whatman 42 yang telah diketahui bobotnya. Setelah disaring, lalu sampel dicuci dengan 50 ml H₂SO₄ 1,25 % dan 50 ml alkohol 36 %, kemudian endapan dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C dan timbang sampai bobot konstan. Serat kasar basis cair dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ serat kasar} = [(a-b)/c] \times 100 \%$$

Keterangan :

a = berat kertas saring ditambah sampel yang telah dikeringkan (g)

b = berat kertas saring (g)

c = berat sampel (g)

3) Analisis Kadar Abu (AOAC 2003)

Kandungan abu dalam tepung *MOCAF* ditentukan dengan AOAC (2003). Untuk penentuan abu, cawan kosong dan bersih dipanaskan pada suhu 600 °C selama 1 jam dalam *muffle furnace*. Kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Berat cawan kosong dicatat sebagai W₁. 1 gram sampel tepung *MOCAF* ditaruh dalam cawan (W₂). Kemudian cawan tersebut diletakkan dalam *muffle furnace* pada suhu 400 °C selama

6 jam. Kemudian cawan didinginkan dalam desikator dan ditimbang (W_3).

Persen abu dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Abu} = \frac{W_2 - W_3}{\text{berat sampel}} \times 100 \%$$

4) Analisis Kadar Air (AOAC 2003)

Kadar air ditentukan dengan AOAC (2013) dengan mengeringkan sampel tepung *MOCAF* (W_1) ke dalam oven pada suhu 80 °C kemudian didinginkan di dalam desikator dan ditimbang. Pengeringan dilakukan berulang ulang hingga beratnya konstan (W_2). Persen kadar air dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Moisture} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \%$$

5) Analisis Kadar Protein (Sudarmadji dkk, 2007)

Kandungan protein ditentukan dengan analisis kandungan Nitrogen Sudarmaji dkk (2007). Uji kandungan protein dilakukan dengan cara menguji kadar Nitrogen dalam sampel (tepung *MOCAF*). Kemudian hasilnya dikonversi dengan mengalikan kadar Nitrogen yang didapat dengan 6,25. Hasil konversi yang didapat itu merupakan kandungan protein dalam sampel. Untuk menguji kadar Nitrogen, sampel sebanyak 2 g dimasukkan dalam labu Kjeidahl. Ditambahkan katalis N (CuSO_4 dan K_2SO_4) 0,7 g dan ditambah H_2SO_4 pekat 3 ml lalu didestruksi pada suhu 370-410°C dalam lemari asam sampai jernih kurang lebih selama 1 jam. Pada tahapan ini asam sulfat pekat mendestruksi sampel menjadi unsur-

unsurnya. Elemen Karbon, Hidrogen teroksidasi menjadi CO, CO₂, dan H₂O. Sedangkan Nitrogen-nya (N) akan berubah menjadi (NH₄)₂SO₄.

Selanjutnya sampel masuk pada tahap destilasi, pada tahap ini Ammonium Sulfat dipecah menjadi ammonia (NH₃) dengan penambahan NaOH sampai alkalis dan dipanaskan. Setelah melalui tahap destruksi sampel didinginkan lalu ditambahkan 15 ml H₂O, lalu dimasukkan kedalam labu destilasi dan ditambahkan 15 ml NaOH 40 %. Hasil destilasi ditampung dalam erlenmeyer 100 ml yang berisi 25 ml larutan HCl 40 % yang diberi indikator PP 2-3 tetes. Destilasi diakhiri bila semua ammonia terdistilasi sempurna ditandai dengan destilat tidak bereaksi basis.

Hasil destilasi selanjutnya dititrasi dengan NaOH 0,1 N, akhir titrasi ditandai dengan warna merah muda dan tidak hilang selama 30 detik. Selisih jumlah titrasi blangko dan sampel merupakan jumlah equivalen Nitrogen. Persen protein dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% N = \frac{\text{ml NaOH (blangko-sampel)}}{\text{berat sampel g} \times 1000} \times N.\text{NaOH} \times 14,008 \times 100 \%$$

6) Analisis Kadar HCN (AOAC 2003)

Analisis kadar HCN ditentukan dengan AOAC (2003). Timbang sampel sebanyak 15 g lalu tambahkan dengan 100 ml aquades dan diletakkan pada labu Kjeldahl, kemudian dilakukan perendaman selama 2 jam. Setelah itu, ditambahkan lagi 100 ml aquades, kemudian didistilasi dengan uap (steam). Tampung distilat dalam erlenmeyer berisi 20 ml

NaOH 2.5 %. Setelah distilat mencapai 150 ml, tambahkan 8 ml NH_4OH , 5 ml KI 5 % dan dititrasi dengan 0.02 N AgNO_3 sampai terjadi kekeruhan (letakkan kertas karbon hitam dibawah labu titrasi).

$$\text{Bobot HCN} = \frac{\text{ml titar blangko} - \text{sampel}}{\text{ml titar blangko}} \times \frac{20 \cdot \text{NagNO}_3}{\text{kg sampel}} \times 0,54 \text{ g}$$

7) Uji Aroma

Dilakukan pada pengamatan hari terakhir setelah didapatkan tepung *MOCAF*. Pengujian aroma bertujuan untuk mengetahui kualitas hasil tangkapan dengan menggunakan indera sensori penciuman. Pengujian aroma dilakukan dengan menggunakan alat berupa *score sheet* aroma tepung *MOCAF*. Pada *score sheet* digunakan angka 1 sebagai nilai tertinggi dan angka 4 untuk nilai terendah. Pengujian organoleptik dilakukan oleh 10 panelis dengan kriteria sebagai berikut.

Skala	Keterangan
1	Tidak beraroma khas singkong
2	Sedikit beraroma khas singkong
3	Beraroma khas singkong
4	Sangat beraroma khas singkong

Selanjutnya tekstur tepung *MOCAF* dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ aroma} = \frac{\sum \text{skor} \times \text{nilai mutu panelis}}{\text{jumlah panelis} \times \text{skala nilai tertinggi}} \times 100 \%$$

8) Uji Tekstur

Tekstur merupakan sifat fisik pada tepung *MOCAF* yang diamati melalui panca indra dan perabaan dengan jari. Pengamatan dilakukan

dengan metode *score sheet* aroma tepung *MOCAF*. Pada *score sheet* digunakan angka 1 sebagai nilai tertinggi dan angka 4 untuk nilai terendah. Pengujian organoleptik dilakukan oleh 10 panelis dengan kriteria sebagai berikut.

Skala	Keterangan
1	Sangat halus
2	Halus
3	Sedikit kasar
4	Kasar

Selanjutnya nilai tekstur tepung *MOCAF* dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ tekstur} = \frac{\sum \text{skor} \times \text{nilai mutu panelis}}{\text{jumlah panelis} \times \text{skala nilai tertinggi}} \times 100 \%$$

9) Uji Warna Tepung

Warna tepung tapioka diukur dengan menggunakan alat berupa *score sheet* warna tepung *MOCAF*. Pada *score sheet* menggunakan angka 1 sebagai nilai tertinggi dan angka 4 untuk nilai terendah. Pengujian organoleptik dilakukan oleh 10 panelis dengan kriteria sebagai berikut.

Skala	Keterangan
1	Sangat putih
2	Putih
3	Kekuningan
4	Kuning

Selanjutnya derajat putih diukur dengan cara sebagai berikut:

$$\% \text{ warna} = \frac{\sum \text{skor} \times \text{nilai mutu panelis}}{\text{jumlah panelis} \times \text{skala nilai tertinggi}} \times 100 \%$$

F. Analisis Data

Analisis data pertumbuhan sel bakteri, kadar abu, serat, protein, air, karbohidrat, pati, HCN, organoleptik aroma, tekstur dan besar butiran, dan derajat keputihan tepung dilakukan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf nyata $\alpha = 5 \%$. Apabila terdapat pengaruh yang signifikan dari perlakuan yang dicobakan, maka dilakukan uji lanjutan menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan $\alpha = 5 \%$.