

LAMPIRAN I

Komposisi Media dan Reagensia

1. Media Racikan Padat untuk Bakteri (*Glucose Yeast Pepton Agar*)

- Glukosa 1 gram
- Yeast ekstrak 1 gram
- Pepton 0,5 gram
- Ca Carbonat 0,5 gram
- Agar batangan 20%
- Aquadest 100 ml
- pH 6,8

2. Media Racikan Cair untuk Bakteri (*Glucose Yeast Pepton Broth*)

- Glukosa 1 gram
- Yeast ekstrak 1 gram
- Pepton 0,5 gram
- Na asetat.3H₂O 0,2 gram
- Salt solution 0,5 ml
- Tween 80 solution 1 ml
- pH 6,8
- Aquades 100 ml

Racikan Salt Solution untuk 1 ml larutan

- MgSO₄.7H₂O 40 mg
- MnSO₄ 2 mg
- FeSO₄.7H₂O 2 mg
- NaCl 2 mg
- Tween 80 solution 50 mg/ml

3. Larutan Kovacs

- Amylalkohol 150 ml
- Para dimetilaminobenzal dehida (PDAB) 10 gram
- HCl pekat 50 ml

4. Media Kaldū Fermentasi Glukosa (KFG)

- Ekstrak daging 3 gram
- Pepton 10 gram
- Glukosa 5 gram
- Indikator BTB 1 ml
- Aquadest 1000 ml
- pH 7,2

5. Larutan Pewarna Kristal Violet (per 100 ml)

- Violet kristal (90%) 2 gram
- Etil alkohol (95%) 20 ml
- Amonium oksalat 0,8 gram
- Aquades 80 ml

6. Larutan Iodium

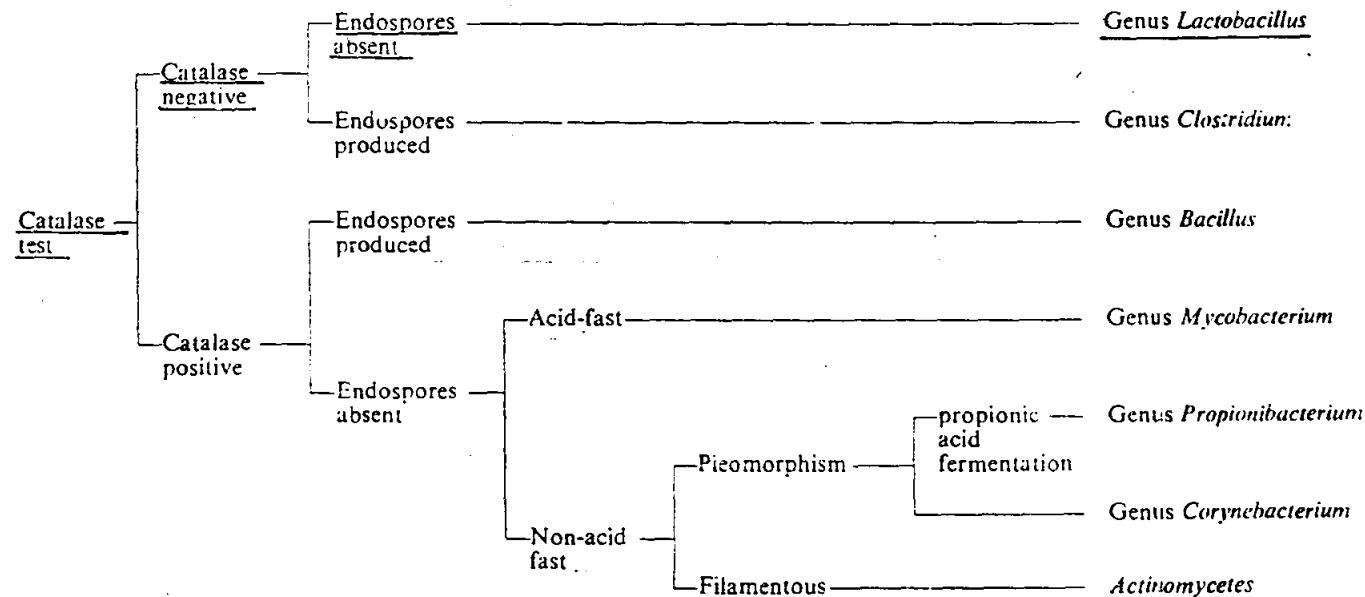
- Kristal iodium 1 gram
- Kalium iodida 2 gram
- Aquades 300 ml

7. Larutan Safranin Gram Stein

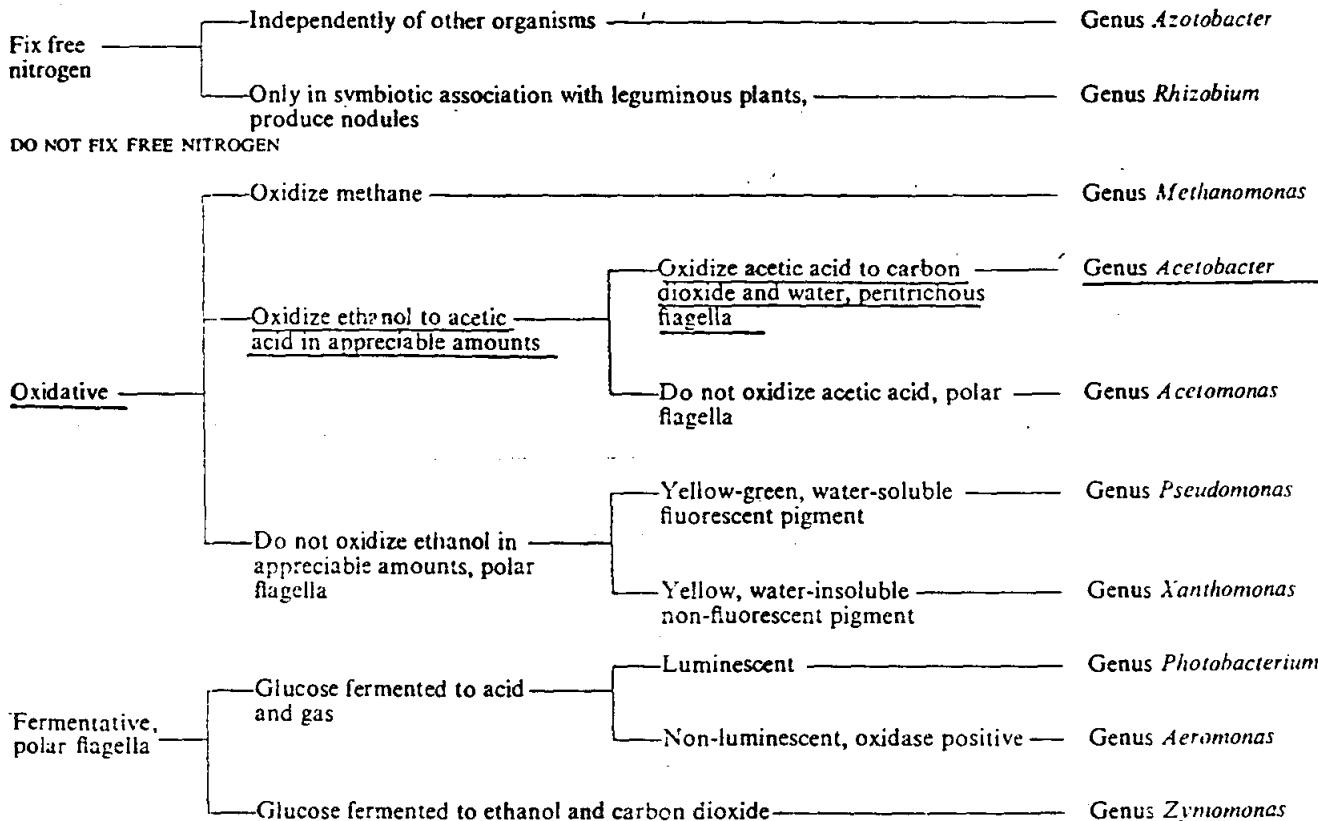
- Safranin O (2,5% larutan alkohol) 10 ml
- Aquades 100 ml

LAMPIRAN 2
KUNCI IDENTIFIKASI MIKROORGANISME
BERDASARKAN BERGEYS MANUAL
(SIROCKIN, 1969)

Key for the identification of the Gram-positive rods,



Key for the identification of straight Gram-negative, heterotrophic rods.



LAMPIRAN 3

PROSEDUR ANALISA

1. Pengamatan pH

Pengamatan pH dilakukan dengan cara menempatkan cairan legen yang akan dianalisa dalam bekerglass 100 ml kemudian pH meter yang telah disetarakan sebelumnya dengan larutan buffer dimasukkan ke dalam cairan legen tersebut. Setelah beberapa saat pada layar monitor akan tampak angka yang menunjukkan nilai pH dari cairan legen tersebut.

2. Pengamatan Total Padatan Terlarut

Pengamatan total padatan terlarut dilakukan dengan cara meneteskan satu sampai dua tetes cairan legen pada bidang datar alat *hand refraktometer*. Setelah itu dilakukan pengamatan dengan cara melihat besarnya angka yang tertera pada refraktometer. Besarnya angka yang tampak adalah nilai dari total padatan terlarut pada cairan legen.

3. Pengamatan Kadar Alkohol (Metode Nicloux)

Pengamatan kadar alkohol bahan dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Dipipet 25 ml cairan legen kemudian ditempatkan dalam erlenmeyer 250 ml.

2. Ditambahkan 5 ml larutan standar $K_2Cr_2O_7$ 0,3472 N kemudian dihomogenkan, ditambahkan lagi 5 ml larutan H_2SO_4 pekat dengan hati-hati lalu digoyang perlahan-lahan
3. Erlenmeyer berisi cairan dipanaskan dalam penangas air selama 5 menit agar alkohol teroksidasi menjadi asam cuka.
4. Didinginkan di air mengalir, kemudian ditambah 50 ml aquades dingin.
5. Diaduk sampai merata lalu ditambahkan 3 gr KI, didiamkan selama 5 menit.
6. Ditetesi dengan indikator amilum (pati) 1% sebanyak 1-2 tetes.
7. Dilakukan titrasi dengan larutan $Na_2S_2O_3$ 0,05N sampai warna berubah dari biru menjadi hijau.
8. Kadar alkohol bahan dihitung berdasarkan rumus:

$$\% \text{Alkohol} = \frac{(\text{ml. tit. bl.} - \text{ml. tit. spl.}) \times \text{N kromat}}{\text{Faktor pengenceran} \times \text{ml. sampel} \times 1000} \times 0,3472 \times \text{N Na.Tio} / 0,05 \times 5 \times 4 \times 100\%$$

4. Pengamatan Total Asam

Prosedur analisa untuk menghitung total asam adalah sebagai berikut:

2. Dipipet 10 ml larutan sampel, dimasukkan dalam erlenmeyer 250 ml.
3. Ditambahkan 1 sampai 2 tetes larutan indikator pp 1%.
4. Dititrasi dengan larutan $NaOH$ 0,1 N sampai warna berubah menjadi merah muda pucat.

Total asam dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{Kadar asam (\% b/v)} = \frac{\text{ml. NaOH} \times \text{N. NaOH} \times \text{BM asam}}{\text{ml. sampel}} \%$$

* BM asam laktat = 90

BM asam asetat = 60

5. Pengamatan Total Gula Reduksi Metode Nelson Somogyi (Sudarmadji, 1984)

a. Penyiapan Kurva Standar

1. Dibuat larutan glukosa standar (10 mg glukose anhidrat/100 ml aquades).
2. Dari larutan glukosa standar tersebut dilakukan enam kali pengenceran sehingga diperoleh larutan glukosa dengan konsentrasi: 2, 4, 6, 8 dan 10 mg/100 ml.
3. Disiapkan tujuh tabung reaksi yang bersih, masing-masing diisi dengan 1 ml. larutan glukosa standar tersebut di atas. Satu tabung diisi dengan 1 ml. aquades sebagai blanko.
4. Ditambahkan ke dalam masing-masing tabung diatas 1 ml. reagensia Nelson, kemudian semua tabung dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit.
5. Semua tabung diambil kemudian didinginkan bersama-sama dalam gelas piala yang berisi air dingin sehingga suhu tabung mencapai 25°C.
6. Setelah dingin ditambahkan 1 ml. reagensia Arsenomolybdat, digojog sampai semua endapan Cu₂O yang ada larut kembali.

7. Setelah semua endapan Cu₂O larut sempurna, ditambahkan 7 ml. aquades, digojog sampai homogen.
8. Ditera *optical density (OD)* masing-masing larutan tersebut pada panjang gelombang 540 nm.
9. Dibuat kurva standar yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi glukosa dan OD.

b. Penentuan gula reduksi pada contoh

1. Disiapkan larutan contoh yang mempunyai kadar gula reduksi sekitar 2-8 mg/100 ml.
2. Dipipet 1 ml. larutan contoh tersebut ke dalam tabung reaksi bersih.
3. Ditambahkan 1 ml. reagensia Nelson kemudian dipanaskan pada penangas air mendidih selama 20 menit.
4. Semua tabung segera didinginkan sampai suhu mencapai 25°C.
5. Ditambahkan 1 ml. reagensia Arsenomolybdat, digojog.
6. Ditambahkan 7 ml. aquades kemudian digojog sampai homogen.
7. Ditera OD nya pada panjang gelombang 540 nm.
8. Jumlah gula reduksi dapat ditentukan berdasarkan OD larutan contoh dan kurva standar larutan glukosa.

6. Analisa Mikrobiologis

a. Tahap Penanaman Mikroorganisme pada Media Padat dengan Metode Penuangan (untuk perhitungan jumlah mikroorganisme)

1. Dipipet 1 ml sampel kemudian dicampurkan dengan 5 ml media cair SDB untuk khamir dan media cair GYP Broth untuk bakteri yang telah ditempatkan dalam tabung reaksi steril.
2. Diinkubasi dalam media cair selama satu hari (24 jam) pada suhu 30°C.
3. Disiapkan enam tabung reaksi berisi aquades steril sebanyak 9 ml setiap tabungnya.
4. Dipipet 1 ml. sampel yang telah diinkubasi dalam media cair dicampurkan dengan aquades steril pada tabung pertama, dihomogenkan.
5. Dipipet 1 ml. campuran ditempatkan di cawan petri steril.
6. Dipipet lagi 1 ml. campuran dicampurkan dengan aquades steril pada tabung kedua, dihomogenkan lagi. Dipipet 1 ml. ditempatkan di cawan petri steril. Dilakukan terus dengan cara yang sama sampai pengenceran 10^{-8} (tabung ke delapan).
7. Masing-masing cawan petri yang telah berisi biakan mikroorganisme dituangi dengan media padat yang sudah dicairkan sebelumnya. Dilakukan rotasi agar biakan dapat tercampur sempurna dengan media padat sehingga akan didapatkan pertumbuhan yang menyebar.
8. Dibiarkan sampai media memadat, kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator pada suhu 30°C.

9. Setelah 24 jam dilakukan perhitungan jumlah mikroorganisme dengan metode hitungan cawan.

b. Tahap Penanaman Mikroorganisme dengan Metode Penggoresan

1. Diambil 1 ose sampel kemudian digoreskan pada media padat SDA steril untuk khamir dan GYP Agar steril untuk bakteri yang sudah disiapkan sebelumnya.
2. Penggoresan dilakukan sebanyak empat sektor.
3. Setelah penggoresan selesai dilakukan, cawan petri segera dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 30°C selama 24 jam.
4. Setelah 24 jam dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis.

c. Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis

1. Pengamatan makroskopis dilakukan untuk mengetahui ciri-ciri koloni. Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan bentuk koloni, kenaikan permukaan koloni, bentuk tepi koloni, warna koloni, bentuk permukaan koloni (basah, kering, halus), kenampakan koloni (keruh, translucen, transparan).
2. Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk mengetahui ciri-ciri sel.

c. I. Pengecatan Gram (Untuk bakteri)

1. Disiapkan kaca obyek yang sudah dibersihkan dan dicuci dengan alkohol.

2. Dilakukan sterilisasi kaca obyek dengan cara melewatkana kaca obyek pada nyala api spritus brander.
3. Dipindahkan 1 sampai 2 ose aquades steril ke atas kaca obyek.
4. Dipindahkan 1 ose biakan bakteri yang tumbuh pada media padat, kemudian disuspensikan dengan tetesan aquades steril di atas kaca obyek sampai rata.
5. Dilakukan fiksasi agar suspensi kering.
6. Dilakukan pewarnaan dengan kristal violet modifikasi Hucker dengan cara meneteskan zat warna diatas suspensi bakteri dan didiamkan selama 1 menit.
7. Dicuci dengan air kran yang mengalir kecil, kemudian dikeringkan dengan tisue steril.
8. Diteteskan larutan jodium kemudian dibiarkan lagi selama 1 menit. Setelah itu dilakukan pencucian kembali dengan air kran.
9. Preparat dicuci dengan alkohol aceton hingga warna alkohol aceton yang meninggalkan preparat menjadi bening tak berwarna, kemudian dibilas lagi dengan air kran.
10. Ditetesi dengan safranine gram stain didiamkan selama 0,5 menit.
11. Dibilas lagi dengan air kran kemudian dikeringkan dengan tisue. Preparat siap untuk diamati.

c.2. Pengamatan sel khamir

1. Disiapkan kaca obyek yang sudah dicuci dengan alkohol dan sudah disterilisasi dengan cara melewatkana pada nyala api spritus brander.
2. Diteteskan 1 sampai 2 tetes larutan jodium di atas kaca obyek.

3. Diambil 1 ose biakan khamir dari media padat kemudian dilepaskan pada tetasan larutan jodium di atas kaca obyek.
4. Ditutup dengan kaca penutup yang sudah direndam dalam alkohol.
5. Dilakukan pengamatan dengan mikroskop.

d. Uji Katalase (Sirockin, G., 1969)

1. Disiapkan kaca obyek yang bersih dan telah dicuci dengan alkohol.
2. Diteteskan 1 sampai 2 tetes larutan hidrogen peroksida diatas kaca obyek.
3. Dipindahkan 1 ose biakan bakteri ke atas kaca obyek, suspensikan dengan larutan hidrogen peroksida.
4. Dilakukan pengamatan. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya gelembung-gelembung gas oksigen dalam jangka waktu kurang dari 1 menit setelah dilakukan pencampuran.

e. Uji Oksidase (Sirockin, G., 1969)

1. Disiapkan kertas saring Whatman nomor 1.
2. Kertas saring diletakkan diatas cawan petri, kemudian kertas saring ditetesi dengan reagen untuk uji oksidase (N,N,N',N' -tetra methyl p -phenylenediamine dihydrochloride 1% atau pereaksi Kovacs 1%).

Dengan menggunakan ose platinum (ose dari nikrom mungkin akan menghasilkan kerancuan pengamatan karena adanya reaksi dari kawat nikrom dengan reagen) dipindahkan 1 ose biakan bakteri ke atas kertas saring yang sudah dibasahi dengan reagen.

3. Dilakukan pengamatan. Hasil positif diberikan dengan adanya pembentukan warna biru dalam selang waktu 10 detik, jika setelah 15 detik tidak terbentuk warna biru berarti hasil uji negatif.

c. Uji Identifikasi Khamir dengan Metode Mikrofermentasi (Sirockin, G., 1969)

1. Disiapkan larutan glukose, maltose, dan lactose dengan konsentrasi masing-masing 5%.
2. Disiapkan tabung reaksi steril dan tabung Durham.
3. Setiap tabung reaksi diisi dengan 10 ml larutan diatas (tiap larutan satu tabung reaksi). Kemudian tabung Durham dimasukkan ke dalam tabung reaksi tersebut, tabung reaksi dibalik sampai cairan memasuki tabung Durham setelah itu tabung reaksi segera dibalikkan kembali.
4. Diinokulasikan 1 ose biakan khamir ke dalam setiap tabung reaksi.
5. Diinkubasikan dalam inkubator bersuhu 30°C.
6. Dilakukan pengamatan ada tidaknya gas yang terbentuk dalam tabung Durham setelah selang waktu 30 (tigapuluh) menit. Pembentukan gas tampak dengan terbentuknya gelembung udara pada tabung Durham. Hasil pengamatan dibandingkan dengan data

dari referensi untuk mengetahui jenis khamirnya. Data referensi dapat dilihat pada

Tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Hasil Uji Mikrofermentasi dari Tiga Jenis Khamir

Kultur	Glukose	Laktose	Maltose
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+	-	+
<i>Saccharomyces fragilis</i>	+	-	-
<i>Pichia membranaefaciens</i>	+	-	-

Sumber: Sirockin, G., 1969

f. Uji Oksidasi dan Fermentasi Glukosa oleh Mikroorganisme (Sirockin, G., 1969)

1. Disiapkan media KFG (Kaldu Fermentasi Glukosa) yang telah ditempatkan dalam tabung reaksi. Setiap tabung berisi 10 (sepuluh) ml. media KFG dan tabung Durham.
2. Diinokulasikan biakan bakteri kedalam tabung berisi media KFG.
3. Dilakukan inkubasi 37°C selama 24 (duapuluh empat) jam.
4. Dilakukan pengamatan dengan pedoman bahwa bakteri yang menghasilkan asam dari degradasi glukosa akan menyebabkan perubahan warna indikator menjadi kuning dari warna sebelumnya yaitu biru kehijauan. Mikroorganisme jenis ini adalah mikroorganisme fermentatif.

LAMPIRAN 4

HASIL PERCOBAAN DAN CONTOH PERHITUNGAN

1. pH

Waktu	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Ulangan IV	Ulangan V	Rata-rata
24 jam	3.57	3.50	3.54	3.51	3.55	3.53
36 jam	3.55	3.38	3.45	3.47	3.51	3.47
48 jam	3.53	3.33	3.40	3.41	3.42	3.42
60 jam	3.49	3.31	3.35	3.37	3.38	3.38
72 jam	3.47	3.30	3.31	3.20	3.13	3.28

2. Total Padatan Terlarut (%Brix)

Waktu	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Ulangan IV	Ulangan V	Rata-rata
24 jam	43	43	42	42	42.5	42.5
36 jam	44	43	42	42	43	42.8
48 jam	44.5	43.5	43	42.5	43	43.3
60 jam	45	44	43	43	44	43.8
72 jam	45.5	44	44	43	44.5	44.2

3. Kadar Alkohol

Waktu	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Ulangan IV	Ulangan V
24 jam	7.85	7.50	7.85	14.85	6.4
	7.85	7.45	7.85	14.85	6.45
36 jam	3.90	3.70	3.55	2.85	4.5
	3.95	3.70	3.50	2.90	4.5
48 jam	1.20	2.1	1.20	1.35	1.1
	1.15	2.15	1.20	1.30	1.15
60 jam	20.75	20.25	16.80	18.75	21
	20.80	20.25	16.75	18.75	21.05
72 jam	29.95	27.50	29.20	25.6	28.7
	29.95	27.45	29.20	25.6	28.7

Contoh perhitungan kadar alkohol:

$$\% \text{Alkohol} = \frac{(\text{ml. tit. bl.} - \text{ml. tit. spl.}) / \text{ml. tit. bl.}}{0.3472 \times N \text{ kromat} / 0.05 \times 5 \times 4} \times 100\%$$

Faktor pengenceran x ml. sampel x 1000

Diketahui: ml. sampel = 25 ml

ml. blanko = 88,55 ml

N kromat = 0,3471 N

N Na₂S₂O₃ = 0,049 N

ml. titrasi sampel = 7,85 ml

pengenceran 100x (faktor pengenceran = 1/100)

$$\% \text{Alkohol} = \frac{(88,55 - 7,85 / 88,55) \times 0,3471 / 0,3472 \times 0,049 / 0,05 \times 5 \times 4}{1/100 \times 25 \times 1000} \times 100\%$$

$$= 7,5\%$$

Hasil perhitungan:

Waktu	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Ulangan IV	Ulangan V	Rata-rata
24 jam	7.1%	7.2%	7.1%	6.5%	7.3%	7.04%
	7.1%	7.2%	7.1%	6.5%	7.3%	
36 jam	7.5%	7.5%	7.5%	7.6%	7.4%	7.5%
	7.5%	7.5%	7.5%	7.6%	7.4%	
48 jam	7.7%	7.6%	7.7%	7.7%	7.7%	7.7%
	7.7%	7.66%	7.7%	7.7%	7.7%	
60 jam	6%	6%	6.3%	6.1%	5.9%	6.06%
	5.9%	6%	6.3%	6.1%	5.9%	
72 jam	5.2%	5.4%	5.2%	5.6%	5.3%	5.34%
	5.2%	5.4%	5.2%	5.6%	5.3%	

4. Total Asam

Waktu	Ulangan I (ml)	Ulangan II (ml)	Ulangan III (ml)	Ulangan IV (ml)	Ulangan V (ml)
24 jam	2.5	2.4	2.4	2.5	2.5
	2.5	2.35	2.35	2.45	2.5
36 jam	2.55	2.5	2.45	2.55	2.65
	2.55	2.55	2.5	2.60	2.6
48 jam	3.55	2.6	3.25	3.3	3.4
	3.60	2.6	3.3	3.3	3.4
60 jam	5.60	4.4	4.65	4.75	5.4
	5.65	4.45	4.65	4.8	5.45
72 jam	8.30	6.9	6.20	7.25	7.4
	8.35	6.85	6.20	7.3	7.4

Contoh perhitungan:

$$\text{Kadar asam (\% b/v)} = \frac{\text{ml. NaOH} \times \text{N. NaOH} \times \text{BM asam} \times 100}{\text{ml. sampel} \times 1000} \times 100 \%$$

Diketahui: BM asam asetat = 60

BM asam laktat = 90

ml. sampel = 10

N.NaOH = 0,096

ml. titre = 2,5 ml

$$\begin{aligned}\text{Kadar asam (\% b/v)} &= \frac{2,5 \times 0,096 \times 90 \times 100}{10 \times 1000} \times 100 \% \\ &= 21,6 \%\end{aligned}$$

Hasil perhitungan:

Waktu	Ulangan I (%)	Ulangan II (%)	Ulangan III (%)	Ulangan IV (%)	Ulangan V (%)	Rata-rata (%)
24 jam	21.6	20.7	20.7	21.6	21.6	21.1
	21.6	20.3	20.3	21.2	21.6	
36 jam	22	21.6	21.2	22	22.9	22.04
	22	22	21.6	22.5	22.5	
48 jam	30.7	22.5	28	28.5	29.4	27.92
	31.1	22.5	28.5	28.5	29.4	
60 jam	32.3	25.3	26.8	27.4	31.1	28.7
	32.5	25.6	26.8	27.6	31.4	
72 jam	47.8	39.7	38.6	41.8	42.6	42.12
	48	39.5	38.6	42	42.6	

5. Total Gula Reduksi

Kurva Standar:

x (ppm)	y (Abs)
20	0.120
40	0.238
60	0.349
80	0.518
100	0.601

$$y = a + bx$$

$$y = 6,21 \cdot 10^{-3} + 0,3958 x$$

Data hasil percobaan:

Waktu	Ulangan I (Abs)	Ulangan II (Abs)	Ulangan III (Abs)	Ulangan IV (Abs)	Ulangan V (Abs)
24 jam	0.713	0.684	0.745	0.723	0.691
36 jam	0.596	0.656	0.723	0.692	0.528
48 jam	0.421	0.457	0.584	0.518	0.491
60 jam	0.285	0.297	0.475	0.313	0.257
72 jam	0.256	0.288	0.375	0.217	0.232

Hasil perhitungan mg. gula reduksi/100 ml larutan (ppm)

Waktu	Ulangan I (ppm)	Ulangan II (ppm)	Ulangan III (ppm)	Ulangan IV (ppm)	Ulangan V (ppm)	Rata-rata x 100* (ppm)
24 jam	1.786	1.712	1.867	1.811	1.730	178.12
36 jam	1.71	1.64	1.811	1.733	1.318	164.24
48 jam	1.048	1.139	1.459	1.293	1.225	123.28
60 jam	0.704	0.735	1.184	0.725	0.634	79.64
72 jam	0.631	0.712	0.932	0.533	0.570	67.56

*100 = pengenceran

6. Hitungan Cawan

a. Media SDA (Khamir), pengenceran 10^{-8}

Waktu	Jumlah koloni Ulangan I	Jumlah koloni Ulangan II	Jumlah koloni Ulangan III	Jumlah koloni Ulangan IV	Jumlah koloni Ulangan V
24 jam	229	134	169	220	179
36 jam	291	255	261	269	244
48 jam	278	251	243	214	209
60 jam	110	153	116	201	144
72 jam	84	87	78	171	85

Total Plate Count Khamir

Waktu	TPC Ulangan I	TPC Ulangan II	TPC Ulangan III	TPC Ulangan IV	TPC Ulangan V	Rata-rata TPC
24 jam	2.3×10^{10}	1.34×10^{10}	1.7×10^{10}	2.2×10^{10}	1.8×10^{10}	1.9×10^{10}
36 jam	2.9×10^{10}	2.55×10^{10}	2.6×10^{10}	2.7×10^{10}	2.4×10^{10}	2.6×10^{10}
48 jam	2.8×10^{10}	2.5×10^{10}	2.4×10^{10}	2.1×10^{10}	2.1×10^{10}	2.4×10^{10}
60 jam	1.1×10^{10}	1.5×10^{10}	1.2×10^{10}	2×10^{10}	1.4×10^{10}	1.4×10^{10}
72 jam	8.4×10^9	8.7×10^9	7.8×10^9	1.7×10^{10}	8.5×10^9	1×10^{10}

b. Media GYP (Bakteri), pengenceran 10^{-8}

Waktu	Jumlah koloni Ulangan I	Jumlah koloni Ulangan II	Jumlah koloni Ulangan III	Jumlah koloni Ulangan IV	Jumlah koloni Ulangan V
24 jam .	241	153	164	201	179
36 jam	292	187	201	212	187
48 jam	301	211	221	237	241
60 jam	334	250	278	281	276
72 jam	344.	298	302	292	312

Total Plate Count Bakteri

Waktu	TPC Ulangan I	TPC Ulangan II	TPC Ulangan III	TPC Ulangan IV	TPC Ulangan V	Rata-rata TPC
24 jam	2.4×10^{10}	1.5×10^{10}	1.6×10^{10}	2×10^{10}	1.8×10^{10}	1.9×10^{10}
36 jam	2.9×10^{10}	1.9×10^{10}	2×10^{10}	2.1×10^{10}	1.9×10^{10}	2.2×10^{10}
48 jam	3×10^{10}	2.1×10^{10}	2.2×10^{10}	2.4×10^{10}	2.4×10^{10}	2.4×10^{10}
60 jam	3.3×10^{10}	2.5×10^{10}	2.8×10^{10}	2.8×10^{10}	2.8×10^{10}	2.8×10^{10}
72 jam	3.4×10^{10}	3×10^{10}	3×10^{10}	2.9×10^{10}	3.1×10^{10}	3.1×10^{10}

LAMPIRAN 5

ANALISA SIDIK RAGAM PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP NILAI pH LEGEN

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Ulangan IV	Ulangan V	Jumlah	Rata-rata
F 24	3.57	3.5	3.54	3.51	3.55	17.67	3.534
F 36	3.55	3.38	3.45	3.47	3.51	17.36	3.472
F 48	3.53	3.33	3.4	3.41	3.42	17.09	3.418
F 60	3.49	3.31	3.35	3.37	3.38	16.9	3.38
F 72	3.47	3.3	3.31	3.2	3.13	16.41	3.282
Jumlah	17.61	16.82	17.05	16.96	16.99	85.43	3.4172

Analisa sidik ragam regresi dengan uji simpangan model

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 0.05	F tabel 0.01
Regresi	1	3.63	3.63	573.46**	4.28	7.88
Sisa	23	0.1456	6.33x10 ⁻³			
Galat murni	20	0.12476	6.238x10 ⁻³	1.113 ^{ns}	3.10	4.94
Simpangan model	3	0.02084	6.946x10 ⁻³			
Total	24	3.7756				

** Berbeda sangat nyata (model dapat diandalkan) dan hasil uji simpangan model non signifikan (model sesuai/dapat menerangkan bentuk hubungan x dan y)

$$\text{koefisien determinasi} = r^2 = \text{JKR/JKT} \\ = 0.9614$$

$$\text{koefisien korelasi} = r = \sqrt{r^2} \\ = 0.9805$$

$$S_y = \sqrt{KTG/r} \\ = 0.079$$

LAMPIRAN 6

ANALISA SIDIK RAGAM PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP NILAI TOTAL PADATAN TERLARUT LEGEN (%BRIX)

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Ulangan IV	Ulangan V	Jumlah	Rata-rata
F 24	43	43	42	42	42.5	212.5	42.5
F 36	44	43	42	42	43	214	42.8
F 48	44.5	43.5	43	42.5	43	216.5	43.3
F 60	45	44	43	43	44	219	43.8
F 72	45.5	44	44	43	44.5	221	44.2
Jumlah	222	217.5	214	212.5	217	1083	43.32

Analisa sidik ragam regresi dengan uji simpangan model

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 0.05	F tabel 0.01
Regresi	1	52.8	52.8	678.81**	4.28	7.88
Sisa	23	1.789	0.0777			
Galat murni	20	1.46	0.073	1.501 ^{ns}	3.10	4.94
Simpangan model	3	0.329	0.1096		.	
Total	24	54.26				

** Berbeda sangat nyata (model dapat diandalkan) dan hasil uji simpangan model non signifikan (model sesuai/dapat menerangkan bentuk hubungan x dan y)

$$\text{koefisien determinasi} = r^2 = \text{JKR/JKT} \\ = 0.9730$$

$$\text{koefisien korelasi} = r = \sqrt{r^2} \\ = 0.9864.$$

$$S_y = \sqrt{KTG/r} \\ = 0.272$$

LAMPIRAN 7

ANALISA SIDIK RAGAM PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP NILAI KADAR ALKOHOL LEGEN (%)

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Ulangan IV	Ulangan V	Jumlah	Rata-rata
F 24	7.1	7.2	7.1	6.5	7.3	35.2	7.04
F 36	7.5	7.5	7.5	7.6	7.4	37.5	7.5
F 48	7.7	7.6	7.7	7.7	7.7	38.4	7.68
F 60	5.95	6	6.3	6.1	5.9	30.25	6.05
F 72	5.2	5.4	5.2	5.6	5.3	26.7	5.34
Jumlah	33.45	33.7	33.8	33.5	33.6	168.05	6.722

Analisa sidik ragam regresi dengan uji simpangan model

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 0.05	F tabel 0.01
Regresi	1	44.26	44.26	203.21**	4.28	7.88
Sisa	23	5.01	0.2178			
Galat murni	20	3.6136	0.18068	2.576 ^{ns}	3.10	4.94
Simpangan model	3	1.3964	0.4655			
Total	24	49.27				

**Berbeda sangat nyata (model dapat diandalkan) dan hasil uji simpangan model non signifikan (model sesuai/dapat menerangkan bentuk hubungan x dan y)

$$\text{koefisiean determinasi} = r^2 = \text{JKR/JKT} \\ = 0.8983$$

$$\text{koefisien korelasi} = r = \sqrt{r^2} \\ = 0.9478$$

$$S_y = \sqrt{KTG/r} \\ = 0.4366$$

LAMPIRAN 8

ANALISA SIDIK RAGAM PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP NILAI TOTAL ASAM LEGEN (%)

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Ulangan IV	Ulangan V	Jumlah	Rata-rata
F 24	21.6	20.5	20.5	21.4	21.6	105.6	21.12
F 36	22	21.8	21.4	22.25	22.7	110.15	22.03
F 48	30.9	22.5	28.25	28.5	29.4	139.55	27.91
F 60	32.4	25.45	26.8	27.5	31.25	143.4	28.68
F 72	47.9	39.6	38.6	41.9	42.6	210.6	42.12
Jumlah	154.8	129.85	135.55	141.55	147.55	709.3	28.372

Analisa sidik ragam regresi dengan uji simpangan model

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 0.05	F tabel 0.01
Regresi	1	85.75	85.75	360.29**	4.28	7.88
Sisa	23	5.48	0.238			
Galat murni	20	5.45	0.2725	0.0367 ^{ns}	3.10	4.94
Simpangan model	3	0.03	0.01			
Total	24	91.23				

** Berbeda sangat nyata (model dapat diandalkan) dan hasil uji simpangan model non signifikan (model sesuai/dapat menerangkan bentuk hubungan x dan y)

$$\text{koefisien determinasi} = r^2 = \text{JKR/JKT} \\ = 0.9399$$

$$\text{koefisien korelasi} = r = \sqrt{r^2} \\ = 0.9695$$

$$S_y = \sqrt{KTG/r} \\ = 0.530$$

LAMPIRAN 9

ANALISA SIDIK RAGAM PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP NILAI KADAR GULA REDUKSI LEGEN (ppm)

Perlakuan	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Ulangan IV	Ulangan V	Jumlah	Rata-rata
F 24	178.6	171.2	186.7	181.1	173	890.6	178.12
F 36	171	164	181.1	173.3	131.8	821.2	164.24
F 48	104.8	113.9	145.9	129.3	122.5	616.4	123.28
F 60	70.4	73.5	118.4	72.5	63.4	398.2	79.64
F 72	63.1	71.2	93.2	53.3	57	337.8	67.56
Jumlah	587.9	593.8	725.3	609.5	547.7	3064.2	122.568

Analisa sidik ragam regresi dengan uji simpangan model

SK	db	JK	KT	F hitung	F tabel 0.05	F tabel 0.01
Regresi	1	117553.61	117553.61	1247.72**	4.28	7.88
Sisa	23	2166.94	94.215			
Galat murni	20	1967.597	98.379	0.675 ^{ns}	3.10	4.94
Simpangan model	3	199.343	66.448			
Total	24	119720.55				

**Berbeda sangat nyata (model dapat diandalkan) dan hasil uji simpangan model non signifikan (model sesuai/dapat menerangkan bentuk hubungan x dan y)

$$\text{koefisien determinasi} = r^2 = \text{JKR/JKT} \\ = 0.9819$$

$$\text{koefisien korelasi} = r = \sqrt{r^2} \\ = 0.9909$$

$$Sy = \sqrt{KTG/r} \\ = 9.96$$