

BAB I

PENDAHULUAN

Daging merupakan sumber bahan pangan hewani yang memiliki kandungan protein dengan asam amino esensial yang lengkap. Protein daging lebih mudah dicerna di dalam tubuh daripada protein nabati (Sembor dan Tinangon, 2019). Sumber daging yang dapat dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan protein hewani adalah daging kerbau. Daging kerbau memiliki mutu protein yang tidak kalah dibandingkan dengan sapi. Kandungan protein daging kerbau berkisar antara 20-23% yang sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan sapi yaitu 19-20% (Naveena dan Kiran, 2014). Daging kerbau, seperti halnya daging segar lainnya, bersifat mudah rusak akibat aktivitas mikroorganisme. Salah satu upaya untuk menjaga stabilitas protein daging adalah dengan menerapkan metode pengolahan.

Fermentasi merupakan salah satu metode pengolahan untuk mengawetkan bahan pangan melalui proses yang melibatkan aktivitas mikroorganisme. Perubahan yang terjadi selama proses fermentasi menjadikan manfaat fermentasi sebagai salah satu metode pengawetan dan dapat memperpanjang masa umur simpan (*shelf life product*) (Ropikoh *et al.*, 2022). Bekamal adalah salah satu olahan daging fermentasi khas Suku Osing di Banyuwangi, Jawa Timur yang dibuat secara spontan tanpa penambahan *starter* mikroba. Pembuatan bekamal mudah dilakukan tetapi belum pernah dilakukan pada daging kerbau, selain itu pengolahan bekamal secara tradisional dilakukan pada suhu ruang dengan waktu yang tidak menentu. Permasalahan pengolahan bekamal

secara tradisional tersebut dapat mengakibatkan hasil yang tidak optimal. Kondisi lingkungan pada daging yang dipengaruhi oleh suhu dan waktu akan menentukan jenis dan jumlah mikroorganisme yang tumbuh serta aktivitas enzimatis selama fermentasi (Yana *et al.*, 2016). Namun demikian, hingga saat ini belum diketahui secara pasti suhu dan lama fermentasi yang tepat untuk memproses daging kerbau menjadi bekamal dengan mutu yang optimal.

Perbedaan suhu fermentasi akan memengaruhi laju pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme fermentatif. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu mikroorganisme pada daging yang berperan penting sebagai agen fermentasi. Bakteri asam laktat tumbuh secara optimal antara suhu 30–37°C yang mendukung aktivitas enzimatis dan metabolisme (Trinh *et al.*, 2018). Selain suhu, lama waktu fermentasi juga berperan penting dalam menentukan fase pertumbuhan mikroorganisme, mulai dari fase adaptasi hingga fase logaritmik. Sel-sel bakteri pada fase logaritmik akan membelah diri menyebabkan peningkatan total bakteri (Irdawati *et al.*, 2018). Variasi lama fermentasi memungkinkan terjadinya perubahan jumlah total bakteri serta dinamika aktivitas mikroba yang berbeda pada setiap tahap fermentasi.

Aktivitas mikroorganisme selama fermentasi akan berdampak langsung pada perubahan kadar abu sebagai indikator kandungan mineral. Selama penyimpanan bahan pangan terjadi proses pelepasan kalsium (Ca) dan natrium (Na) serta penyerapan kalium (K) ke dalam sarkoplasma oleh protein *myofibril* yang mengakibatkan peningkatan kadar abu. Peningkatan jumlah bakteri menunjukkan aktivitas mikroorganisme yang semakin tinggi. Mikroorganisme fermentatif menghasilkan

enzim proteolitik yang mampu memecah (mendegradasi) protein menjadi molekul-molekul sederhana. Degradasi protein menghasilkan senyawa seperti polipeptida, peptida, asam amino, NH_3 , dan unsur N (Lestari *et al.*, 2018). Kadar protein total dalam daging cenderung menurun, karena sebagian protein telah terurai. Degradasi protein dapat merusak jaringan ikat dan menyebabkan struktur sarkomer melemah sehingga akan mengalami hilangnya ikatan antar serat, tekstur daging menjadi lebih lunak dan berpengaruh dalam tingkat keempukan daging (Nairfana *et al.*, 2022).

Informasi mengenai suhu dan lama fermentasi yang tepat dalam proses pembuatan bekamal masih terbatas, menyebabkan kualitas bekamal daging kerbau yang dihasilkan berpotensi tidak seragam, baik dari segi mikrobiologis, kimia, maupun fisik. Oleh karena itu, parameter total bakteri, kadar abu, kadar protein, dan keempukan dipilih sebagai indikator untuk mengevaluasi kualitas bekamal daging kerbau hasil fermentasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh variasi suhu dan waktu fermentasi terhadap total bakteri, kadar abu, kadar protein, dan keempukan bekamal daging kerbau. Manfaat penelitian adalah memberikan informasi mengenai suhu dan waktu fermentasi yang optimal pada proses pembuatan bekamal daging kerbau berdasarkan total bakteri, kadar protein, kadar abu, dan keempukan. Hipotesis penelitian ini semakin tinggi suhu dan lama waktu fermentasi, maka akan menghasilkan bekamal daging kerbau dengan total bakteri yang lebih tinggi, kadar abu yang meningkat, kadar protein yang menurun, dan tekstur daging yang semakin empuk.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Daging Kerbau

Kerbau (*Bubalus bubalis*) merupakan salah satu jenis ternak yang sudah lama dibudidayakan di Indonesia, tersebar di wilayah Nusa Tenggara Timur, Sumatera Utara, dan Sulawesi Selatan. Dalam konteks budaya pangan, masyarakat Kudus di Jawa Tengah memiliki tradisi tidak menyembelih sapi sebagai bentuk penghormatan terhadap umat Hindu. Sebagai gantinya, masyarakat Kudus telah lama membudidayakan dan mengonsumsi daging kerbau, terutama pada perayaan Idul Adha. Ternak sapi dan kerbau memiliki fungsi serupa, yakni sebagai ternak kerja, sumber daging, dan penghasil susu (Adillah *et al.*, 2024).

Daging kerbau memiliki mutu gizi yang baik dan berpotensi besar sebagai alternatif sumber protein hewani. Maheswarappa *et al.* (2024) menjelaskan bahwa daging kerbau dikenal memiliki kadar lemak dan kolesterol yang relatif rendah, tetapi tetap kaya protein, asam amino esensial, serta sejumlah senyawa bioaktif yang bernilai fungsional. Tingginya kandungan protein pada daging kerbau menjadi salah satu faktor yang menyebabkan teksturnya cenderung lebih alot karena struktur jaringan otot yang lebih padat dan kuat (Yasmin *et al.*, 2023). Oleh karena itu, pemanfaatan daging kerbau dalam olahan fermentasi dapat menjadi inovasi yang memiliki nilai sekaligus mengangkat potensi agar daging kerbau lebih banyak diminati.

2.2. Fermentasi Daging

Fermentasi merupakan salah satu metode pengolahan untuk mengawetkan bahan pangan termasuk daging, melalui proses yang melibatkan aktivitas mikroorganisme. Mikroorganisme yang muncul pada saat proses fermentasi akan mengubah komponen kimia dalam bahan pangan menjadi senyawa baru yang dapat meningkatkan cita rasa, tekstur, serta nilai gizi produk akhir. Bakteri Asam Laktat (BAL) merupakan kelompok mikroba yang paling banyak berperan dalam fermentasi daging karena mampu memetabolisme karbohidrat, protein, lipid dan senyawa yang berkontribusi terhadap mutu sensori dan keamanan produk (Wang *et al.*, 2022).

Selama fermentasi BAL akan menghasilkan asam organik yang dapat menekan pertumbuhan mikroba pembusuk. Keberadaan BAL mampu mempertahankan mutu produk serta memperbaiki rasa dan tekstur hasil fermentasi (Prastujati *et al.*, 2025). Fermentasi tidak hanya berfungsi sebagai metode pengawetan, tetapi juga sebagai cara untuk menjaga stabilitas protein dalam daging melalui aktivitas mikroorganisme dan enzim selama proses fermentasi. Suatu proses pengawetan bisa dinyatakan baik jika kadar gizi sebelum dan setelah proses pengawetan tidak jauh berbeda (Assidiq *et al.*, 2018).

2.3. Bekamal

Bekamal adalah salah satu olahan daging fermentasi khas Suku Osing di Banyuwangi, Jawa Timur. Bekamal berkembang dari kearifan lokal masyarakat Osing dalam mengawetkan daging pada masa teknologi pendingin belum tersedia secara luas.

Tradisi ini muncul sebagai upaya mempertahankan ketersediaan pangan hewani agar daging dapat disimpan dan dikonsumsi dalam waktu lebih lama, terutama ketika ketersediaan daging melimpah misalnya setelah penyembelihan hewan kurban Bekamal umumnya terbuat dari daging sapi atau kambing, dengan penambahan garam dan gula, kemudian diperam dalam wadah tertutup hingga terjadi fermentasi spontan (Khirzin *et al.*, 2023).

Faktor yang menentukan keberhasilan fermentasi bekamal adalah penggunaan garam dan gula sebagai bahan pengawet alami. Penambahan garam menyebabkan mikroorganisme tahan garam (*halofilik*) dapat hidup. Enzim proteolitik yang dihasilkan oleh bakteri *halofilik* akan memecah protein menjadi asam amino khususnya asam glutamat yang berperan dalam pembentukan rasa gurih pada makanan (Puspita dan Agustini, 2019). Penambahan gula dapat merangsang pertumbuhan mikroorganisme, saat fermentasi juga terjadi hidrolisis karbohidrat menjadi glukosa. Glukosa kemudian dimanfaatkan oleh BAL sebagai sumber energi, sehingga mempercepat proses fermentasi (Sari, 2025).

2.4. Pengaruh Suhu dan Waktu Fermentasi

Selama proses fermentasi, suhu dan lama fermentasi akan memengaruhi perkembangan mikroorganisme dan perubahan kimiawi daging. Suhu fermentasi yang tinggi mengakibatkan aktivitas metabolik mikroorganisme akan meningkat sehingga bakteri akan berkembang biak lebih cepat. Bakteri berdasarkan suhu tumbuhnya dibagi menjadi tiga kelompok yaitu psikrofil (0–20°C), mesofil (20–50°C), dan termofil

(>50°C) (Irdawati *et al.*, 2018). Suhu 30 dan 37°C termasuk dalam kategori mesofilik yang mendukung bakteri bekerja secara maksimal untuk menghasilkan asam laktat sehingga mempercepat fermentasi. Suhu yang tepat sangat mendukung perkembangan mikroorganisme aktif yang akan lebih efektif dalam memecah protein menjadi peptida sehingga memberikan rasa umami (gurih dan lezat) pada daging fermentasi (Fan *et al.*, 2025).

Selain suhu, lama fermentasi menentukan sejauh mana proses acidifikasi, proteolisis, dan pembentukan *flavor* berlangsung, pada fase awal, waktu fermentasi memberikan kesempatan bagi BAL untuk beradaptasi dan berkembang, kemudian pada fase berikutnya terjadi akumulasi asam, perubahan struktur protein, dan peningkatan senyawa cita rasa. Waktu yang terlalu singkat membuat pertumbuhan BAL belum optimal, sedangkan fermentasi yang terlalu lama dapat menimbulkan keasaman berlebih, *flavor* yang tidak diinginkan, serta menurunkan populasi BAL akibat keterbatasan nutrisi dan akumulasi metabolit toksik (Aprilia *et al.*, 2021).

2.5. Total Bakteri dan Kadar Abu selama Proses Fermentasi

Jumlah total bakteri digunakan sebagai indikator kepadatan populasi mikroorganisme dan keberhasilan proses fermentasi. Rentang waktu fermentasi memberikan pengaruh terhadap kelompok bakteri yang tumbuh, semakin lama fermentasi berlangsung, lingkungan menjadi semakin mendukung pertumbuhan BAL yang berperan dalam proses degradasi komponen organik dan pembentukan senyawa bioaktif, dan terjadi penurunan total bakteri lain (non BAL) yang disebabkan oleh

kondisi lingkungan yang semakin asam akibat aktivitas mikroorganisme fermentatif sehingga hanya bakteri yang mampu bertahan dalam kondisi asam yang dapat terus hidup dan berkembang (Arfianty *et al.*, 2017).

Suhu fermentasi yang tinggi dapat mempercepat aktivitas enzimatis mikroba, yang berpotensi memecah struktur jaringan lebih intensif, sehingga mineral seperti Ca, fosfor (P), dan magnesium (Mg) lebih mudah dilepaskan. Peningkatan kadar abu menandakan kandungan mineral yang ada pada saat proses fermentasi meningkat, semakin lama proses fermentasi berlangsung semakin banyak komponen organik yang terdegradasi sehingga menyisakan lebih banyak mineral sebagai residu sehingga meningkatkan kadar abu (Molo *et al.*, 2023). Perubahan kadar abu dapat terjadi karena dua mekanisme utama, yaitu konsentrasi relatif mineral akibat degradasi komponen organik dan perubahan ketersediaan mineral akibat acidifikasi. Sawant *et al.* (2025) menjelaskan bahwa fermentasi mikroba mampu meningkatkan *bioavailability* nutrisi dan memodifikasi komponen pangan melalui biotransformasi, termasuk meningkatkan kelarutan sebagian mineral.

2.6. Kadar Protein dan Keempukan Daging Fermentasi

Protein merupakan komponen utama daging yang sangat menentukan nilai gizi sekaligus sifat fisik produk fermentasi. Selama fermentasi, protein utama daging dihidrolisis oleh BAL menjadi polipeptida, oligopeptida, peptida kecil, dan asam amino bebas, hasil pemecahan ini kemudian mengalami reaksi lanjutan yang menghasilkan senyawa *flavor*. Protein kompleks akan dipecah menjadi peptida kecil dan asam amino

bebas yang berkontribusi terhadap pembentukan rasa, dan perubahan struktur jaringan (Wang *et al.*, 2022). Tingkat keempukan daging dapat menjadi indikator terjadinya perubahan struktur protein akibat aktivitas enzim, semakin aktif enzim protease bekerja, semakin besar pengaruhnya terhadap pelunakan tekstur daging. Suhu yang semakin tinggi akan mempercepat kerja enzim, dan waktu fermentasi memberikan cukup waktu bagi enzim untuk memecah protein. Enzim protease memecah berbagai fraksi protein dalam jaringan otot seperti kolagen. Enzim mendegradasi kolagen menjadi hidroksiprolin yang menyebabkan *shear force* kolagen berkurang dan keempukan akan meningkat (Dhana dan Prima, 2019).

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari - Februari 2026. Lokasi penelitian di Laboratorium Produksi Ternak Potong dan Perah, Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah.

3.1. Materi Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daging kerbau yang diperoleh dari Rumah Potong Hewan (RPH) yang terletak di Kabupaten Kudus. Daging yang digunakan berasal dari kerbau jantan dengan umur 2 tahun (sesuai ketersediaan kerbau di RPH) dan diambil dari bagian paha. Bahan yang digunakan sebagai pengawet meliputi garam dan gula jawa, NaCl sebagai media pengencer dalam pengujian total bakteri, *Nutrient Agar* untuk menumbuhkan dan menghitung total bakteri dalam sampel. Bahan yang digunakan pada pengujian total bakteri yaitu *Radioimmunoprecipitation Assay (RIPA) buffer*, *bovine serum albumin (BSA)*, dan *coomassie G-250 dye*. Formulasi bekamal daging kerbau disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi Bekamal Daging Kerbau

Bahan	Berat	Komposisi
	----(g)----	----(%)----
Daging Kerbau	1.000	62,5
Garam	250	15,6
Gula jawa	350	21,9
Total	1.600	100,0

Sumber: Sari (2025)

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi talenan sebagai alas memotong bahan-bahan, pisau sebagai alat pemotong bahan, kendi sebagai tempat pemeraman fermentasi bekamal, plastik dan karet untuk menutup rapat bagian atas kendi, timbangan digital sebagai alat untuk menimbang bahan-bahan pembuatan bekamal, timbangan analitik, sarung tangan *latex* digunakan untuk menjaga kesterilan bahan, cawan petri, *botol scott*, *magnetic stirrer*, *Thermo Scientific*, *autoclave raypaII*, kassa dan kapas steril, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikro pipet, *Vortex Velp Scientifica ZX3*, *laminar air flow*, bunsen dan osse, cawan *crusible*, cawan petri untuk menumbuhkan bakteri, inkubator untuk menginkubasi bakteri, *crusible porselen* sebagai wadah sampel, oven untuk mengurangi kadar air, tanur untuk membakar bahan organik, desikator untuk menyerap uap air setelah pembakaran, tang *crusible*, pensil 2B, mikropipet, tip ukuran 1.000 dan 200, microplate 96 well, microcentrifuge tube, mortar dan pestle pinset, gunting, serta *texture analyzer* untuk menguji tingkat keempukan daging.

3.2. Metode Penelitian

3.2.1. Rancangan percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola tersarang, dengan dua suhu fermentasi (S) sebagai sarang dan lama waktu fermentasi (W) sebagai yang tersarang. Perlakuan S yang diterapkan yakni (1) 30°C (S1) dan (2) 37°C (S2). Perlakuan W untuk pengamatan parameter kadar protein, kadar abu, dan keempukan bekamal daging kerbau dilakukan dalam 3

(tiga) W, yakni (1) 7 hari (W7), (2) 14 hari (W14) dan (3) 21 hari (W21), setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak empat kali. Sementara itu untuk menganalisis parameter total bakteri dilakukan dalam 7 (tujuh) W yakni (1) 1 hari (W1), (2) 2 hari (W2), (3) 3 hari (W3), (4) 4 hari (W4), (5) 5 hari (W5), (6) 6 hari (W6) dan (7) 7 hari (W7), setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Kombinasi perlakuan tersebut seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Kombinasi Perlakuan Suhu dan Lama Waktu Fermentasi Bekamal

Suhu	Lama Waktu Fermentasi untuk Pengamatan	
	Kadar Protein, Kadar Abu, dan Keempukan Bekamal	Total Bakteri Bekamal
---(°C)---		
30	7 hari (S1W7)	1 (S1W1)
	14 hari (S1W14)	2 (S1W2)
	21 hari (S1W21)	3 (S1W3)
		4 (S1W4)
		5 (S1W5)
		6 (S1W6)
		7 (S1W7)
37	7 hari (S2W7)	1 (S2W1)
	14 hari (S2W14)	2 (S2W2)
	21 hari (S2W21)	3 (S2W3)
		4 (S2W4)
		5 (S2W5)
		6 (S2W6)
		7 (S2W7)
	4 ulangan	3 ulangan

3.2.2. Parameter penelitian

Parameter yang diamati pada penelitian ini adalah total bakteri, kadar abu, kadar protein terlarut, dan keempukan daging hasil fermentasi dengan suhu dan lama waktu yang telah ditentukan.

3.2.3. Prosedur penelitian

Prosedur penelitian ini dibagi menjadi 3 tahap yaitu persiapan, fermentasi, dan pengujian kualitas bekamam.

Tahap persiapan

Tahap pertama yaitu menyiapkan alat dan bahan yang digunakan untuk penelitian. Pada pengujian parameter kadar abu, kadar protein terlarut, dan keempukan, daging kerbau sebanyak 2.400 g dipotong-potong kecil, ditambahkan garam sebanyak 25% dan gula jawa sebanyak 35%. Selanjutnya daging dibagi secara acak menjadi 2 bagian untuk mendapatkan perlakuan suhu 30 dan 37°C, dengan setiap bagian memiliki total berat 1.200 g. Pada masing-masing perlakuan suhu tersebut, daging dibagi secara acak menjadi 3 kelompok untuk perlakuan lama fermentasi, dan setiap kombinasi perlakuan memiliki 4 sampel sebagai ulangan. Setiap sampel dimasukkan ke dalam kendil dengan berat masing-masing 100 g, kemudian ditutup rapat dan diikat dengan karet untuk mencegah pertukaran udara. Sementara untuk pengujian parameter total bakteri, daging kerbau sebanyak 630 g dipotong-potong kecil, ditambahkan garam 25% dan gula jawa 35%. Selanjutnya daging dibagi secara acak menjadi 2 bagian untuk perlakuan suhu 30 dan 37°C, setiap bagian memiliki total berat 315 g. Pada masing-

masing perlakuan suhu, daging dibagi secara acak menjadi 7 kelompok untuk perlakuan lama fermentasi, dan 3 ulangan pada setiap kombinasi perlakuan. Setiap sampel sebanyak 15 g dimasukkan ke dalam kendil, kemudian ditutup rapat dan diikat dengan karet agar kondisi tetap anaerob.

Tahap fermentasi

Tahap fermentasi dilakukan selama 7, 14, dan 21 hari untuk pengamatan parameter kadar protein terlarut, kadar abu, dan keempukan bekamal daging kerbau, sedangkan untuk pengamatan parameter total bakteri dilakukan selama 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 hari pada masing-masing perlakuan suhu 30 dan 37°C dengan alat inkubator.

Tahap pengujian parameter

Pengujian yang dilakukan meliputi total bakteri, kadar abu, kadar protein terlarut, dan keempukan daging bekamal kerbau. Perhitungan total bakteri dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Media *Nutrient Agar* (NA) steril dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak ± 15 ml dan didiamkan hingga memadat. Sebanyak 5 g sampel daging bekamal fermentasi dicampurkan dengan 45 ml larutan NaCl untuk menghasilkan pengenceran 10^{-1} , lalu dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-5} dengan mengambil 1 ml dari pengenceran 10^{-1} diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi NaCl sebanyak 9 ml. Suspensi dari tingkat pengenceran 10^{-4} dan 10^{-5} diambil dengan pipet ke dalam cawan petri yang sudah berisi media NA, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, koloni bakteri

yang tumbuh dihitung dalam kisaran 30–300 koloni, dan hasilnya dinyatakan dalam satuan CFU/g dengan menggunakan rumus (Arfianty *et al.*, 2017):

$$N = \frac{\Sigma C}{[(1 \times n1) + (0,1 \times n2)] \times (d)}$$

Keterangan:

- N = jumlah koloni/ml atau koloni/gram
- ΣC = jumlah total koloni dari semua cawan yang dihitung
- $n1$ = jumlah cawan pada pengenceran pertama
- $n2$ = jumlah cawan pada pengenceran kedua
- d = tingkat pengenceran yang diperoleh dari cawan yang pertama dihitung

Pengujian kadar abu dilakukan dengan metode pengabuan kering (*dry ashing method*). Langkah pertama yang dilakukan yaitu, *crusible* porselen dicuci bersih terlebih dahulu, dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam, kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang untuk mengetahui berat awal (berat awal = x g). Selanjutnya, sejumlah 3 g sampel daging fermentasi ditimbang (berat = y g) dan dimasukkan ke dalam *crusible* porselen tersebut. Sampel kemudian dipijarkan dalam tanur pada suhu 550°C selama 4–6 jam hingga seluruh bahan organik terbakar dan tersisa abu berwarna putih. Setelah itu, cawan dikeluarkan dan didinginkan di dalam desikator selama 15 menit, lalu ditimbang kembali untuk mengetahui berat akhir (berat akhir = z g). Kadar abu dihitung menggunakan rumus (Ritonga *et al.*, 2023):

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{z - x}{y} \times 100\%$$

Keterangan:

x = Berat *crusible* porselen kosong (gram)

y = Berat sampel daging fermentasi (gram)

z = Berat cawan berisi abu setelah pemijaran (gram)

Pengujian kadar protein terlarut dilakukan dengan metode *Bradford*, yaitu metode kolorimetri berdasarkan pengikatan *Coomassie Brilliant Blue* G-250 oleh protein dan pengukuran absorbansi kompleks protein–pewarna pada panjang gelombang 595 nm. Larutan standar dibuat dari *bovine serum albumin* (BSA) dalam *buffer* yang sama dengan *buffer* sampel, kemudian disusun menjadi beberapa konsentrasi standar disertai blanko. Sampel diencerkan bila diperlukan agar berada dalam rentang kerja kurva standar. Pada format kuvet, sebanyak 20 µL standar atau sampel ditambahkan ke dalam kuvet, kemudian ditambah 1 mL reagen *bradford*, dihomogenkan, diinkubasi selama 5 menit, dan diukur absorbansinya pada 595 nm. Pada format *microplate* 96-well, sebanyak 10 µL standar atau sampel dimasukkan ke dalam *well*, ditambahkan 200 µL reagen *bradford*, dihomogenkan, diinkubasi selama 10 menit, lalu dibaca pada 595 nm. Nilai absorbansi standar digunakan untuk membuat kurva standar, maka persamaan yang digunakan berdasarkan rumus (Hadinoto dan Syukroni, 2019):

$$y = mx + c$$

Keterangan:

y = absorbansi sampel pada 595 nm

x = konsentrasi protein sampel

m = slope kurva standar

c = intersep

Pengujian keempukan daging bekamal dilakukan untuk mengetahui tingkat kelembutan tekstur daging setelah proses fermentasi. Mempersiapkan 5 g sampel daging bekamal fermentasi. Daging kemudian diuji menggunakan alat *texture analyzer* dengan metode *Meullenet-Owens Razor Shear* (MORS), yaitu alat yang mengukur gaya maksimum dan energi geser yang dibutuhkan bilah untuk menembus dan memotong sampel daging. Sampel diletakkan di atas platform alat uji, kemudian bilah razor diturunkan sehingga memotong sampel secara tegak lurus terhadap arah serabut otot. *Software* pada *texture analyzer* kemudian merekam nilai gaya maksimum (*shear force*) yang dibutuhkan untuk memotong sampel daging. Hasil uji keempukan dengan metode MORS dinyatakan dalam satuan Newton (N), semakin rendah nilai *shear force* maka semakin empuk sampel daging yang diuji (Morey dan Owens, 2017).

3.3.4. Analisis data

Data hasil penelitian diolah menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) sesuai dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola tersarang pada taraf 5%. Model statistik dari rancangan percobaan yang digunakan berdasarkan rumus (Montgomery, 2017):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_{j(i)} + \epsilon_{k(ij)}$$

Keterangan:

Y_{ijk}	= Perubahan yang diamati
μ	= Rata-rata umum
α_i	= Pengaruh suhu ke - i
$\beta_{j(i)}$	= Pengaruh lama waktu fermentasi - j dalam suhu ke - i
$\epsilon_{k(ij)}$	= Pengaruh komponen galat dari suhu ke - i dan lama waktu fermentasi ke-j pada ulangan ke-k

Daftar analisis varian menurut metode RAL pola tersarang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Daftar Analisis Varian Menurut Metode RAL Pola Tersarang

SK	Db	JK	KT	F_{hit}	F_{α}
Suhu	$a-1 = 1$	JK_i	KT_i	KT_i/KT_G	
Lama Fermentasi	$a(b-1) = 4$	$JK_{j(i)}$	$KT_{j(i)}$	$KT_{j(i)}/KT_G$	
Galat	$ab(r-1) = 18$	JK_G	KT_G		
Total	$(abr-1) = 23$	JK_T			

Keterangan:

SK = Sumber keragaman

Db = Derajat bebas

JK = Jumlah kuadrat

KT = Kuadrat tengah

Asumsi:

1. Nilai $\epsilon k_{(ij)}$ harus menyebar normal dan bebas satu sama lain.
2. Nilai harapan dari $\epsilon k_{(ij)} = 0$ atau $\sum \epsilon k_{(ij)} = 0$
3. Ragam dari $\epsilon k_{(ij)} = \delta^2$ atau $\sum (\epsilon k_{(ij)}^2) = \epsilon k_{(ij)} \text{ NID } (0, \delta^2)$ menyebar normal dan bebas satu sama lain dengan rata-rata = 0 dan ragamnya δ^2

Hipotesis:

Pengaruh suhu fermentasi terhadap parameter yang diamati:

$H_{01} : \mu_{i1} = \mu_{i2}$ (suhu fermentasi tidak berpengaruh nyata terhadap total bakteri, kadar abu, kadar protein terlarut, dan keempukan bekamal daging kerbau)

$H_{11} : \mu_{i1} \neq \mu_{i2}$ (suhu fermentasi berpengaruh nyata terhadap total bakteri, kadar abu, kadar protein terlarut, dan keempukan bekamal daging kerbau)

Pengaruh lama waktu fermentasi terhadap parameter yang diamati:

$H_{02} : \mu_{j(i)1} = \mu_{j(i)2} = \mu_{j(i)3}$ (lama waktu fermentasi pada suhu ke-i tidak berpengaruh nyata terhadap total bakteri, kadar abu, kadar protein terlarut, dan keempukan bekamal daging kerbau)

$H_{12} : \mu_{j(i)1} \neq \mu_{j(i)2} \neq \mu_{j(i)3}$ (lama waktu fermentasi pada suhu ke-i berpengaruh nyata terhadap total bakteri, kadar abu, kadar protein terlarut, dan keempukan bekamal daging kerbau)

Kaidah keputusan:

1. Bila $F_{hitung} \leq F_{\alpha}$: maka terima H_{01} atau H_{02} , artinya tidak ada pengaruh perlakuan yang nyata (*non significant*) terhadap parameter yang diamati
2. Bila $F_{hitung} > F_{\alpha}$: maka tolak H_{01} atau H_{02} , artinya ada pengaruh perlakuan yang nyata (*significant*) terhadap parameter yang diamati

Apabila terdapat pengaruh dari perlakuan, maka dilakukan uji lanjut menggunakan Uji Beda Nyata Terkecil dengan rumus (Harris dan Agustiawan, 2018):

$$BNT = t_{tabel} \times \sqrt{\frac{2KT_{galat}}{r}}$$

Keterangan:

BNT = Beda Nyata Terkecil

t_{tabel} = Nilai t yang diperoleh dari tabel *t-student*

KT_{Galat} = Kuadrat Tengah Galat

r = Banyaknya Ulangan

Kaidah Keputusan:

1. Bila selisih antara dua rata-rata perlakuan $(d) \leq \text{BNT}$ maka terima H_0 (Tidak berbeda nyata)
2. Bila $d > \text{BNT}$ maka tolak H_0 (Berbeda nyata)