III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium program studi Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang. Waktu Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Oktober 2023.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 2 macam yaitu alat untuk pembuatan produk dan alat untuk analisis kimia. Alat yang digunakan dalam proses pembuatan yaitu timbangan analitik, baskom, sendok, kukusan, kompor, tampah, pisau, plastik, *stop watch*. Adapun alat yang digunakan untuk analisis kimia meliputi analisis kadar air, kadar abu, kadar protein, aktivitas antioksidan, total padatan terlarut dan uji organoleptik meliputi kurs porselen, oven, desikator, timbangan analitk, labu kjeldahl, mortar martil, tanur, labu ukur, tabung reaksi, kertas saring, erlenmeyer, pipet ukur, pipet filler, vortex, aluminium foil, corong, spektofotometer.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bahan dalam proses pembuatan produk dan bahan untuk analisis. Bahan yang digunakan dalam pembuatan produk meliputi kacang hijau, ragi tempe, air. Adapun bahan yang digunakan dalam analisis kadar air, kadar abu, kadar protein, antioksidan dan uji organoleptik meliputi katalisator (Na_2SO_4-HgO), Na_2SO_4, aquades, NaOH, asam borat, HCl, DPPH (2,2-*difenil*-1-*pikrilhidrazil*), ethanol.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan yaitu penelitian kuantitatif Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu lama waktu pengukusan dan variasi pengupasan kulit kacang hijau.

- Faktor I (A) terdiri dari 3 taraf yaitu :

  A1 = Waktu pengukusan 8 menit

  A2 = Waktu pengukusan 15 menit

  A3 = Waktu pengukusan 30 menit

- Faktor II (B) terdiri dari 3 taraf yaitu :

  B1 = Kacang hijau tanpa pengupasan

  B2 = Kacang hijau kupas

  B3 = Kombinasi kacang hijau tanpa pengupasan dan kacang hijau kupas

Tabel 5. Kombinasi Perlakuan

	A1	A2	A3
B1	A1B1	A2B1	A3B1
B2	A1B2	A2B2	A3B2
B3	A1B3	A2B3	A3B3

Keterangan :

A1B1 = Waktu pengukusan 8 menit dengan kacang hijau tanpa pengupasan

A1B2 = Waktu pengukusan 8 menit dengan kacang hijau kupas

A1B3 = Waktu pengukusan 8 menit dengan kombinasi 50:50 kacang hijau tanpa pengupasan dan kacang hijau kupas

A2B1 = Waktu pengukusan 15 menit dengan kacang hijau tanpa pengupasan

A2B2 = Waktu pengukusan 15 menit dengan kacang hijau kupas

A2B3 = Waktu pengukusan 15 menit dengan kombinasi 50:50 kacang hijau tanpa pengupasan dan kacang hijau kupas

A3B1 = Waktu pengukusan 30 menit dengan kacang hijau tanpa pengupasan

A3B2 = Waktu pengukusan 30 menit dengan kacang hijau kupas

A3B3 = Waktu pengukusan 30 menit dengan kombinasi 50:50 kacang hijau tanpa pengupasan dan kacang hijau kupas

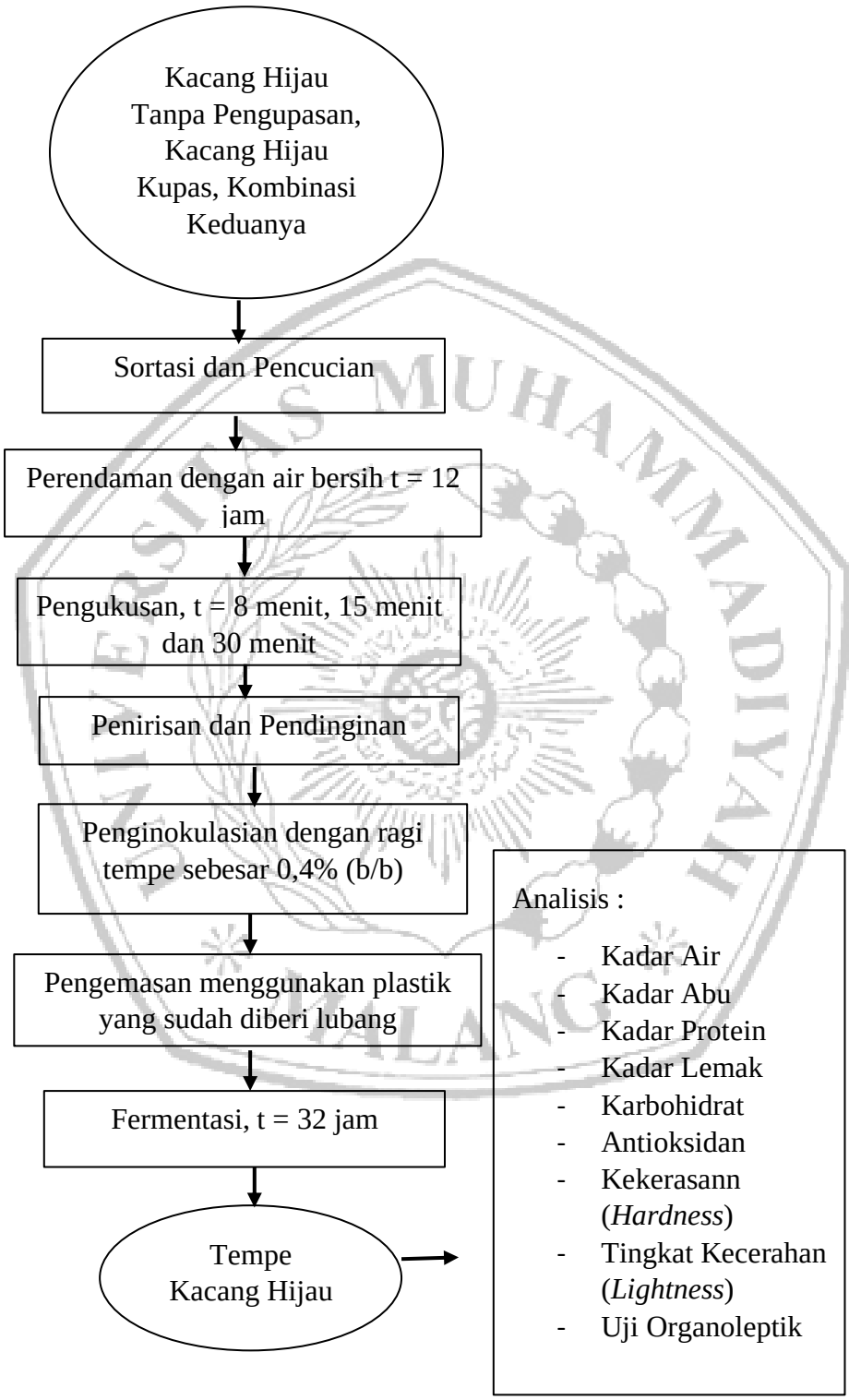
Setiap perlakuan dalam penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 27 total percobaan. Parameter yang diujikan pada penelitian ini yaitu kadar air, kadar protein, kardar abu, kadar lemak, kadar karbohidrat, aktivitas antioksidan, kekerasan (*hardness*), tingkat kecerahan (*lightness*) dan uji organoleptik.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan tempe kacang hijau (Modifikasi Muawanah, 2022)

Pembuatan tempe kacang hijau diawali dengan melakukan sortasi serta mencuci kacang hijau sesuai dengan perlakuan yaitu kacang hijau tanpa pengupasan, kacang hijau kupas dan kombinasi keduanya menggunakan air bersih untuk menghilangkan benda-benda asing. Sebanyak 50 gram kacang hijau dari masing-masing perlakuan direndam menggunakan air bersih selama 12 jam. Setelah proses perendaman, biji kacang hijau kemudian dikukus sesuai dengan perlakuan yaitu 8 menit, 15 menit dan 30 menit kemudian ditiriskan dan selanjutnya dilakukan pendinginan. Kacang hijau yang sudah mengalami pendinginan dan sudah bersih dan kering selanjutnya diinokulasi menggunakan ragi tempe dengan konsentrasi 0,4% (b/b). Kacang hijau yang sudah diberi ragi kemudian dikemas

penggunakan plastik yang telah diberi lubang kemudian difermentasi selama 32 jam pada suhu ruang.



Gambar 1. Diagram Alir Pembuatan Tempe Kacang Hijau (Modifikasi Muawanah, 2022)

3.5 Prosedur Analisa

Analisis yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi analisis kimia dan organoleptik. Analisis kimia yang dilakukan meliputi analisis kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, karbohidrat, aktivitas antioksidan, kekerasan (*hardness*) dan tingkat kecerahan (*lightness*). Adapun uji organoleptik meliputi aroma, tekstur, rasa dan keseluruhan.

3.5.1 Analisis Kadar Air (Fatisa dkk., 2016)

1. Kurs porselen dimasukkan ke dalam oven untuk dikeringkan selama ± 15 menit dengan suhu 100°C - 105°C
2. Kurs porselen yang sudah dikeringkan kemudian dimasukkan ke desikator selama 15 menit
3. Berat kurs kosong diketahui dengan menimbang kurs porselen
4. Sampel dihaluskan dan ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan ke kurs porselen kering
5. Sampel dikeringkan menggunakan oven selama 4 jam dengan suhu 100°C - 105°C
6. Sampel didinginkan dalam desikator selama 30 menit kemudian ditimbang hingga berat konstan
7. Kadar air dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\%\ \text{Kadar air} = \frac{(Berat\ kurs + sampel\ awal) - (Berat\ kurs + sampel\ akhir)}{(Berat\ kurs + sampel\ awal) - (Berat\ kurs\ kosong)}\ x\ 100\%$$

3.5.2 Analisis Kadar Abu (Fatisa dkk., 2016)

1. Kurs porselen dan sampel hasil analisis kadar air dimasukkan ke dalam tanur selama 5 jam dengan suhu 600°C

2. Tanur dimatikan dan ditunggu hingga suhu menurun, kemudian kurs berisi sampel dikeluarkan
3. Kurs berisi sampel kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit
4. Kurs dan abu ditimbang hingga mendapatkan berat konstan
5. Kadar abu dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{Berat\ akhir\ (g) - Berat\ kurs\ porselen\ (g)}{Berat\ awal\ sampel\ (g)}\ x\ 100\%$$

3.5.3 Analisis Kadar Protein (Fatisa dkk., 2016)

1. Labu Kjeldahl 30 mL diisi dengan sampel 0,1 gram yang telah dihaluskan
2. Sebanyak 2 mL katalisator Na_2SO_4 – HgO (20 : 1) dan H_2SO_4 ditambahkan ke dalam sampel
3. Sampel didekstruksi selama 4 jam hingga berubah menjadi jernih
4. Sampel disimpan selama 24 jam dan ditutup menggunakan aluminium foil
5. Sampel didestilasi, hasil destilasi ditambah dengan aquades sebanyak 15 mL
6. Sebanyak 10 mL larutan NaOH 0,1N ditambahkan ke dalam tabung destilasi
7. Hasil uapan ditampung dengan Erlenmeyer 125 mL yang sudah berisi asam borat (H_2BO_4) sebanyak 15 mL sambil dihomogenkan hingga warna berubah menjadi hijau
8. Sampel yang telah didestilasi kemudian dititrasi menggunakan larutan HCl 0,02N sampai warna menjadi ungu
9. Total N dan presentase protein dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\% = \frac{mL\ HCl\ x\ N\ HCl}{Berat\ sampel}\ x\ Ar\ N\ (14{,}008) x\ 100$$

Σ protein = %N x Faktor konversi

3.5.4 Analisis Kadar Lemak (Sormin, dkk., 2020)

1. Labu lemak dikeringkan 30 menit dengan suhu 100 - 105°C menggunakan oven, kemudian didinginkan 15 menit dalam desikator
2. Berat labu kosong diketahui dengan menimbang labu lemak yang sudah dikeringkan
3. Sampel ditimbang sebanyak 2 gram dan ditempatkan ke dalam kertas saring yang dibentuk timbel serta dilapisi kapas
4. Timbel yang berisi sampel dimasukkan ke dalam labu ekstraksi Soxhlet yang telah terhubung dengan labu lemak
5. Sebanyak 25 mL petroleum eter dituang ke tabung ekstraksi sampai sampel terendam
6. Proses ekstraksi dilakukan selama 5 jam menggunakan suhu 70-80°C hingga warna pelarut lemak menjadi jernih
7. Pelarut dan lemak dipisahkan dengan distilasi atau penyulingan
8. Untuk menguapkan pelarut, labu lemak dengan isi ekstrak lemak diletakkan dalam oven dengan suhu 100 - 105°C selama 15 menit
9. Labu lemak didinginkan 15 menit dalam desikator dan ditimbang hingga konstan
10. Kadar lemak dihitung dengan rumus berikut :

$$\text{Kadar Lemak } \% = \frac{Berat\ akhir - Berat\ labu\ kosong}{Berat\ sampel}\ x\ 100\%$$

3.5.5 Analisis Kadar Karbohidrat (Winarno, 1997)

Kadar karbohidrat dalam penelitian ini ditentukan menggunakan *by difference* dengan rumus sebagai berikut :

Karbohidrat (%) = 100% - (kadar air + kadar abu + kadar kadar protein + kadar lemak)

3.5.6 Analisis Aktivitas Antioksidan (Yue, X., Xu, 2008)

1. Sebanyak 4 mg DPPH dilarutkan dengan 100 mL etanol dan dihomogenkan kemudian disimpan dalam tempat gelap
2. Larutan blanko dibuat dengan menambahkan 4 mL DPPH dengan 1 mL ethanol kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv Vis dengan λ = 517 nm, dimana nilai absorbansi harus kurang dari 1
3. Sampel sebanyak 0,5 gram dihaluskan dan ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi
4. Sebanyak 10 mL ethanol ditambahkan ke sampel dan divortex dalam keadaan tertutup
5. Larutan sampel diambil sebanyak 1 mL dan ditambah dengan 4 mL larutan DPPH kemudian divortex dalam keadaan tertutup
6. Sampel disimpan dan didiamkan 20 menit dalam kondisi gelap
7. Sampel dimasukkan ke dalam kuvet kemudian dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer Uv Vis pada λ = 517 nm
8. Nilai % inhibisi dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\%\ \text{inhibisi} = \frac{Abs\ blanko - Abs\ sampel}{Abs\ blanko}\ x\ 100\%$$

3.5.7 Analisis Kekerasan (*Hardness*) (Choy dkk., 2010)

1. Mesin dinyalakan selama 15 menit, kemudian masuk program software, letak kursor pada "zero" dan "on", komputer menunjukkan 0,0 pada pengujian.
2. Sampel diletakkan pada meja sampel dibawah penekan
3. Kursor ditempatkan pada (0) dan "on" sehingga komputer akan memproses data hasil pergerakan alat dan perubahan dalam bentuk grafik (*force vs time*)
4. Nilai *hardness* ditentukan dari maksimal gaya (nilai puncak) pada tekanan pertama dan dinyatakan dalam satuan newton (N)

3.5.8 Analisis Warna (Sani, 2019)

1. Tombol power on ditekan untuk menyalakan color reader
2. Standarisasi alat dengan keramik standat yang memiliki nilai L, a dan b
3. Sampel diletakkan dalam plastik bening
4. Ujung lensa pada alat ditempelkan ke sampel, tekan target
5. Hasil analisis dicatat

3.5.9 Uji Organoleptik (Supriyanto, 2022)

Uji organoleptik yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji kesukaan (hedonik) dari produk tempe kacang hijau. Uji hedonik ini dilakukan oleh 40 orang panelis tidak terlatih. Adapun parameter yang diujikan yaitu rasa, aroma, tekstur dan keseluruhan untuk tempe kacang hijau yang disajikan dengan pengukusan dan penggorengan serta aroma dan tekstur untuk tempe kacang hijau segar. Skala pengujian menggunakan tingkat skala 1-5 dan masing-masing sampel akan diberi kode yang berbeda agar perbandingan antar sampel dapat dihindari.

Tabel 6. Keterangan Skala Uji Organoleptik

Skor	Aroma	Tekstur	Rasa	Keseluruhan
1	Sangat Tidak Beraroma Khas Tempe	Sangat Tidak Kompak	Sangat Berasa Pahit	Sangat Tidak Suka
2	Tidak Beraroma Khas Tempe	Tidak Kompak	Pahit	Tidak Suka
3	Agak Beraroma Khas Tempe	Agak Kompak	Agak Pahit	Agak Suka
4	Beraroma Khas Tempe	Kompak	Tidak Pahit	Suka
5	Sangat Beraroma Khas Tempe	Sangat Kompak	Sangat Tidak Pahit	Sangat Suka

3.6 Analisis Data

Pengolahan data dalam penelitian ini menggunakan ANOVA dan dilakukan uji pembeda *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf nyata 5% (α=0,05) untuk memperoleh kesimpulan mengenai pengaruh perlakuan.

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH MALANG