

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 5 bulan dimulai dari bulan Maret hingga Juli 2025 dengan tempat dan kegiatan sebagai berikut.

- 1) Laboratorium Riset Kimia Makanan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia (FPMIPA UPI) untuk melakukan sterilisasi, germinasi (perkecambahan), fermentasi, pengujian kadar air, pengujian kadar abu, dan pengujian kadar karbohidrat pada sampel.
- 2) Laboratorium PT. Saraswanti Indo Genetech untuk melakukan pengujian kadar lemak total dan protein pada sampel.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

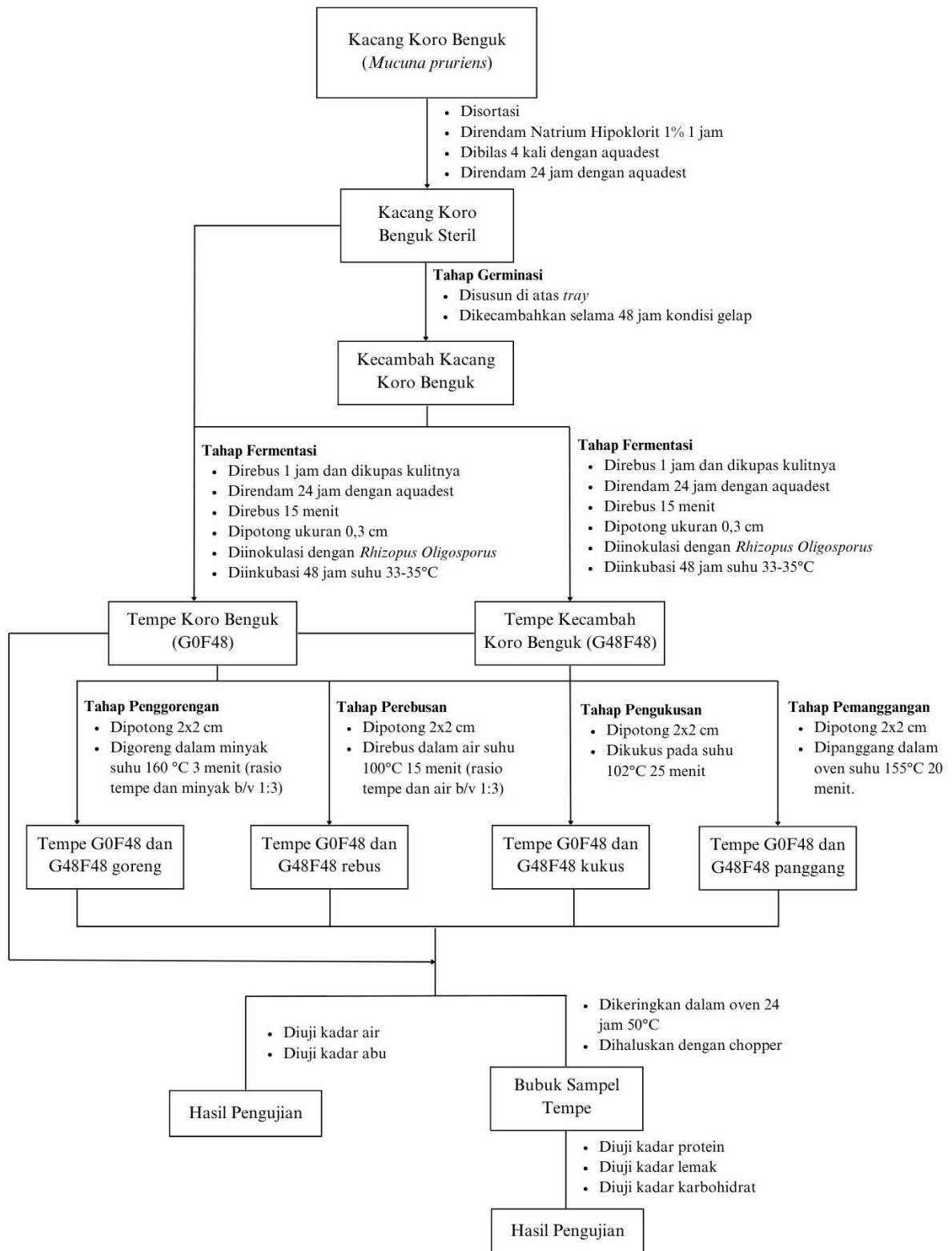
Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini mencakup beberapa tahap proses. Untuk proses germinasi, digunakan alat *germinator* yang dilengkapi dengan *timer*, *power supply* 24V/3A, *heating mat* 12V, *mist maker* DC 12V, *temperature control* DC, probe, *tray* plastik, kipas mini 0,14A, *cheese cloth*, dan toples. Pada tahap fermentasi tempe, digunakan *thinwall* plastik, lilin, tusuk gigi, kantong plastik berukuran 10×25 cm (AA), kompor portable (Oxone), panci, pisau, dan sendok. Tahap pemasakan sampel menggunakan oven listrik (Votre Advance) dan panci listrik (Pamosroom). Sementara itu, proses pengeringan dan penggilingan sampel menggunakan oven (Memmert), chopper (DA-282), dan ayakan berukuran 80 mesh. Untuk analisis kadar air dan kadar abu digunakan cawan krus, tang krus, muffle furnace (Uchida IMF 72 ACS-CN), oven (B-One), dan desikator. Selain itu, digunakan pula peralatan laboratorium lainnya seperti alat gelas (labu ukur 500 mL, labu dasar bulat 500 mL, labu erlenmeyer 300 mL,

corong kaca, pipet volume 10 mL, pipet volume 25 mL, buret 50 mL, kondensor, *soxhlet*, gelas ukur 100 mL dan 25 mL, kaca arloji, batang pengaduk, kertas saring, statif dan klem, *hotplate*, selang dan pompa air, spatula, aluminium foil, *chiller* (GEA *freezer* Kin-Cool), incubator (Digisystem Lab. Inkubator), Kjeldahl distillation unit (BUCHI K-355), dan neraca analitik (Mettler Toledo).

3.2.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang koro benguk (*Mucuna pruriens*) yang diperoleh dari Kabupaten Wonogiri, Jawa Tengah. Bahan lainnya meliputi aquadest (LKFA FPMIPA UPI), larutan NaOCl 1%(v/v) (Bayclin), ragi tempe yang mengandung kapang *Rhizopus oligosporus* produksi PT. Aneka Fermentasi Indonesia, minyak goreng (Fitri), alkohol 70% (Teknis), asam klorida (HCl) 37% (Merck, Jerman), natrium hidroksida (NaOH) 40% (Merck, Jerman), asam sulfat (H₂SO₄) 25% (Merck, Jerman), asam borat (H₃BO₃) (Merck, Jerman), heksana (C₆H₁₄) (Merck, Jerman), kalium iodida (KI) 20% (Merck, Jerman), natrium tiosulfat (Na₂S₂O₃) 0,1 N (Merck, Jerman), indikator amilum 0,5% (Merck, Jerman), reagen Luff-schoorl (ROFA, Indonesia), indikator metil merah 1% (Smartlab, Indonesia), dan indikator pH universal (Merck, Jerman).

3.3 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3. 1 Bagan Alir Penelitian

Riri Noor Sucianto, 2025

PENGARUH METODE PEMASAKAN TERHADAP KANDUNGAN NUTRISI (PROKSIMAT) TEMPE KORO BENGUK DAN TEMPE KECAMBAH KORO BENGUK (*Mucuna Pruriens*)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

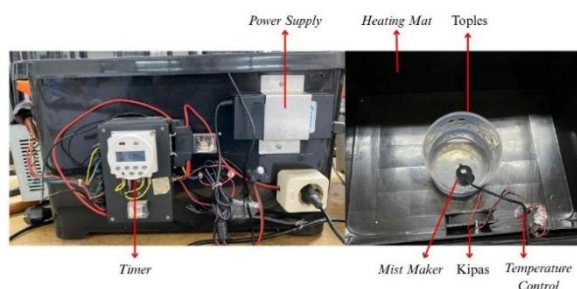
3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Tahap Sortir Sampel

Sampel kacang koro benguk yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari wilayah Kabupaten Wonogiri, Yogyakarta. Proses penyortiran dilakukan berdasarkan karakteristik fisik, dengan memilih biji yang berbentuk bulat pipih, tidak berlubang, serta memiliki sedikit atau tanpa corak kehitaman.

3.4.2 Tahap Germinasi

Proses germinasi dalam penelitian ini dilakukan menggunakan *germinator* skala laboratorium yang telah dimodifikasi dan dioptimalkan (Aisyah et al., 2015). Pengaturan kelembapan dilakukan secara otomatis dengan mikrotimer yang mengaktifkan mist maker dan kipas setiap 2 jam selama 2 menit. Mist maker diletakkan di dalam toples berisi air untuk mengkonversi air menjadi kabut air, sementara kipas berfungsi mendistribusikan kabut air tersebut secara merata ke seluruh ruang germinasi. Suhu dijaga pada kisaran 25–28 °C menggunakan heating mat yang dikendalikan oleh *thermostat* yang terletak di bagian bawah alat. Intensitas cahaya dikendalikan dengan penggunaan box germinator berwarna hitam untuk mencegah masuknya cahaya dari luar. **Gambar 3.2** menunjukkan tampilan alat germinator yang digunakan. Sebelum digunakan, *germinator* disterilkan terlebih dahulu dengan menyemprotkan larutan natrium hipoklorit (NaOCl) 0,07% dan alkohol 70% ke dalam box, kemudian disinari dengan lampu UV selama 15 menit.



Gambar 3. 2 Rangkaian alat germinator untuk proses perkecambahan

Proses germinasi diawali dengan tahap sterilisasi kacang koro benguk, sebagaimana dilakukan dalam penelitian (Aisyah et al., 2013). Sterilisasi dilakukan dengan merendam sampel dalam larutan natrium hipoklorit 1% sebanyak 5L/kg kacang selama 1 jam. Setelah itu, sampel dibilas menggunakan aquadest sebanyak empat kali, kemudian direndam kembali dalam aquades sebanyak 5L/kg kacang selama 24 jam dalam kondisi gelap. Setelah perendaman, kacang dibilas kembali menggunakan aquadest dan disusun di atas tray plastik yang telah dilapisi *cheese cloth*. Tray tersebut kemudian ditempatkan dalam alat germinator yang telah disterilkan, dengan pengaturan mist maker menyala selama 2 menit setiap 2 jam, serta suhu dijaga pada kisaran 25–28°C. Proses germinasi berlangsung selama 48 jam hingga terbentuk kecambah koro benguk.

Dalam penelitian ini, sampel kacang koro benguk diberi dua perlakuan berbeda, yaitu kacang koro benguk yang tidak dikecambahkan dan difermentasi 48 jam (G₀F₄₈) dan kacang koro benguk yang dikecambahkan 48 jam dan difermentasi 48 jam (G₄₈F₄₈). Rincian perbedaan perlakuan tersebut disajikan pada **Tabel 3.1**.

Tabel 3. 1 Perbedaan Perlakuan Kacang Koro Benguk

Kode Sampel	Tahapan		
	Sterilisasi	Germinasi	Fermentasi
G₀F₄₈	✓	-	✓
G₄₈F₄₈	✓	✓	✓

Keterangan: (✓) Dilakukan, (–) tidak dilakukan

3.4.3 Tahap Fermentasi

Fermentasi tempe kacang koro benguk dalam penelitian ini dilakukan pada dua jenis sampel, yaitu kacang yang telah mengalami proses germinasi maupun yang tidak. Prosedur fermentasi mengacu pada metode penelitian (Astawan et al., 2023). Sampel kacang koro benguk direbus selama 1 jam menggunakan aquades pada suhu 95-

100°C dengan perbandingan (b/v) kacang dengan aquades (1:10). Setelah direbus, kacang ditiriskan dan dikupas kulitnya pada bagian testa. Proses dilanjutkan dengan perendaman kembali selama 24 jam pada biji kacang tanpa kulit dengan rasio (b/v) kacang dengan aquades (1:5). Kemudian dilakukan kembali perebusan ulang selama 15 menit, diikuti dengan penirisan. Setelah ditiriskan, kacang kemudian dipotong dengan ukuran 0,3 cm (Permadi et al., 2023), lalu diinokulasikan dengan laru tempe sebanyak 0,2 gram/100 gram kacang secara merata. Campuran ini kemudian dimasukkan ke dalam plastik berukuran 10 × 25 cm, dan ujung plastik disegel menggunakan lilin. Plastik selanjutnya diberi lubang kecil dengan jarak antar lubang sekitar 1 cm. Proses fermentasi dilakukan dengan menginkubasi kacang selama 48 jam dalam inkubator bersuhu 32–35°C. Setelah fermentasi selesai, tempe diberi label dan disimpan dalam lemari pendingin bersuhu -13°C hingga siap untuk dianalisis.

3.4.4 Tahap Pemasakan

Proses pemasakan tempe koro benguk dalam penelitian ini merujuk pada metode yang digunakan oleh (Purwandari et al., 2021) dengan beberapa modifikasi. Tempe terlebih dahulu dipotong menjadi ukuran 2 × 2 cm sebelum dimasak (Safitri et al., 2022). Metode pemasakan yang digunakan meliputi perebusan, pengukusan, penggorengan, dan pemanggangan. Perebusan dilakukan pada suhu 100°C selama 15 menit dalam panci listrik dengan rasio tempe terhadap air (b/v) 1:3. Pengukusan dilakukan pada suhu 102°C selama 25 menit menggunakan panci listrik yang sama. Penggorengan dilakukan pada suhu 160°C selama 3 menit dengan rasio tempe dan minyak (b/v) 1:3. Sementara itu, pemanggangan dilakukan dalam oven pada suhu 155°C selama 20 menit.

3.4.5 Tahap Pengeringan dan Penghalusan Sampel

Pengeringan dan penghalusan sampel dilakukan berdasarkan metode penelitian (Yarlina et al., 2024). Sampel dikeringkan terlebih dahulu menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 24 jam. Sampel kemudian dihaluskan menggunakan chopper dan diayak menggunakan saringan berukuran 80 mesh hingga diperoleh sampel bubuk.

3.4.6 Tahap Analisis Proksimat

3.4.6.1 Kadar Air

Sebanyak 2 gram sampel padatan ditimbang ke dalam cawan yang telah diketahui bobot awalnya. Selanjutnya, sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 95–100°C selama 5 jam. Setelah proses pengeringan, sampel didinginkan dalam desikator selama 20–30 menit dan ditimbang. Pemanasan ulang dilakukan selama 1 jam, dan proses ini diulangi hingga selisih berat antara dua pemanasan berturut-turut tidak lebih dari 2 mg. Metode ini dilakukan berdasarkan (Badan Standarisasi Nasional, 2015).

Perhitungan:

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{(W_1 - W_2)}{(W_1 - W_0)} \times 100\%$$

Keterangan:

W_0 = bobot cawan kosong (gram)

W_1 = bobot cawan dan sampel sebelum dikeringkan (gram)

W_2 = bobot cawan dan sampel setelah dikeringkan (gram)

3.4.6.2 Kadar Abu

Sekitar 2–3 gram sampel ditimbang ke dalam cawan yang telah diketahui bobotnya. Kemudian, sampel diarsangkan di atas pembakar dan diabukan dalam tanur listrik suhu 550°C sampai pengabuan sempurna (± 3 jam). Selama proses ini, pintu tanur sesekali dibuka sedikit guna memastikan suplai oksigen yang cukup. Setelah selesai, sampel didinginkan dalam desikator dan

kemudian ditimbang hingga mencapai berat konstan. Metode ini dilakukan berdasarkan (Badan Standarisasi Nasional, 1992).

Perhitungan:

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

W = bobot sampel sebelum diabukan (gram)

W₁ = bobot cawan + sampel sesudah diabukan (gram)

W₂ = bobot cawan kosong (gram)

3.4.6.3 Kadar Protein

Analisis kadar protein dilakukan menggunakan metode Kjeldahl. Sebanyak 1 gram sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung Kjeltex Buchi yang telah berisi 1 gram campuran katalis selenium dan 12 ml H₂SO₄ pekat. Campuran tersebut kemudian didestruksi pada suhu 420°C selama 2 jam, lalu didinginkan. Campuran hasil destruksi selanjutnya didestilasi dengan 50 mL NaOH 40% selama 1 jam. Destilat yang dihasilkan ditampung dalam larutan asam borat. Selanjutnya, destilat dititrasi dengan HCl 0,2 N yang sebelumnya telah ditambahkan dengan 3 tetes indikator metil merah 1%. Metode ini dilakukan berdasarkan (SIG, 2024b).

Perhitungan:

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \frac{(V_s - V_b) \times N \times 1,4007 \times f_k}{m} \times 100\%$$

Keterangan:

V_s = volume HCl yang digunakan saat titrasi sampel

V_b = volume HCl yang digunakan saat titrasi blanko

N = normalitas HCl

m = massa sampel (gram)

f_k = faktor konversi

3.4.6.4 Kadar Lemak Total

Analisis lemak total dilakukan menggunakan metode hidrolisis Weibull. Sebanyak 1-2 gram sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas piala yang berisi 20 mL air dan 30 mL HCl 25%. Campuran tersebut kemudian dipanaskan selama 15 menit, lalu disaring dalam keadaan panas. Selanjutnya, residu hasil penyaringan dicuci hingga tidak bereaksi dengan asam. Endapan bersama kertas saring selanjutnya dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105°C. Selanjutnya ekstraksi lemak dilakukan menggunakan pelarut heksana selama 2-3 jam pada suhu 80°C. Setelah itu, ekstrak lemak dikeringkan kembali pada suhu 100-105°C dan didinginkan dalam desikator yang selanjutnya ditimbang. Proses pengeringan diulangi hingga massa sampel yang konstan. Metode ini dilakukan berdasarkan (SIG, 2024a).

Perhitungan:

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

W = bobot sampel (gram)

W₁ = bobot labu lemak setelah ekstraksi (gram)

W₂ = bobot labu lemak sebelum ekstraksi (gram)

3.4.6.5 Kadar Karbohidrat

Penentuan kadar karbohidrat dilakukan dengan metode Luff-Schoorl. Sebanyak 5 gram sampel ditimbang dalam labu dasar bulat. Selanjutnya, ditambahkan 200 mL HCl 3% dan direfluks selama 3 jam. Setelah selesai, larutan didinginkan dan dinetralkan menggunakan NaOH 30%, lalu ditambahkan sedikit CH₃COOH 3% hingga suasana sedikit asam. Larutan kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 500 mL dan diencerkan menggunakan aquadest hingga tanda batas, kemudian di saring.

Dari filtrat tersebut, diambil sebanyak 10 mL dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, kemudian ditambahkan 25 mL larutan Luff Schoorl, 15 mL aquadest, dan beberapa butir batu didih. Campuran tersebut kemudian dipanaskan kembali selama 10 menit, yang dihitung sejak larutan mulai mendidih. Setelah itu, larutan didinginkan. Setelah dingin, larutan ditambahkan dengan 15 mL KI 20% dan 25 mL H₂SO₄ 25%. Larutan kemudian dititrasi dengan Na₂S₂O₃ 0,1 N hingga mendekati titik akhir (kuning pucat), kemudian ditambahkan indikator kanji 0,5% secukupnya, dan titrasi dilanjutkan sampai mencapai titik akhir. Prosedur yang sama dilakukan untuk larutan blanko. Metode ini dilakukan berdasarkan (Badan Standarisasi Nasional, 1992).

Perhitungan:

$$W1 = (V \text{ blanko} - V \text{ sampel}) \times N \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 10$$

$$\text{Kadar Glukosa (\%)} = \frac{W1 \times fp}{W} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Karbohidrat (\%)} = 0,90 \times \text{Kadar Glukosa}$$

Keterangan:

W1 = glukosa yang terkandung untuk mL Na₂S₂O₃ yang dipergunakan (mg) dari tabel

fp = faktor pengenceran

W = berat sampel (mg)

3.4.7 Analisis Data

Hasil pengukuran proksimat dari dua kali pengulangan dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dan disajikan dalam bentuk rata-rata $\pm$ standar deviasi. Perbedaan antar rata-rata diuji lanjut dengan Duncan pada taraf signifikansi 5% menggunakan IBM SPSS Statistics versi 27. Selain itu, untuk menilai besar kecilnya pengaruh proses germinasi dilakukan analisis *effect size* menggunakan uji Hedges melalui Microsoft Excel.