

BAB III

METODE PENELITIAN

Bab ini membahas mengenai waktu dan lokasi penelitian, alat dan bahan, prosedur penelitian, bagan alur penelitian, dan metodologi penelitian yang meliputi proses germinasi, uji proksimat dan uji karakteristik adonan.

3. 1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan selama 5 bulan, yaitu pada bulan Maret sampai dengan bulan Juli dengan tempat dan kegiatan sebagai berikut:

- 1) Laboratorium Riset Kimia Makanan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia (FPMIPA UPI) untuk melakukan optimasi pertumbuhan jamur, perkecambahan sampel, dan persiapan sampel.
- 2) Laboratorium PT. Saraswanti Indo Genetech untuk melakukan pengujian kandungan proksimat sampel.
- 3) Laboratorium Uji Fakultas Teknologi Industri Pertanian Universitas Padjajaran (UNPAD) untuk melakukan pengujian menggunakan alat RVA (*Rapid Visco Analyzer*).

3. 2 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Dalam penelitian ini digunakan beberapa peralatan yaitu alat-alat gelas (gelas kimia 250 ml, gelas ukur 10 ml, gelas ukur 50 ml, gelas ukur 100 ml, kaca arloji, pipet, pinset, labu ukur 100 ml, corong kaca pendek, batang pengaduk, dan labu erlenmeyer 100 ml), mikropipet, plastik hidangan petri, aluminium foil, spatula, kertas saring, *silica gel*, neraca analitik *Metler Toledo*, alat germinator yang dilengkapi dengan *heating mat* 12 V (*Hyindoor*), *humidifier DC* 24 V, *mini fan DC* 12V, *lampu UV* 15 W (Yang), oven, kain tile, dan tray plastik. Pada saat proses persiapan sampel maupun analisis digunakan beberapa alat yaitu *ball miller High Energy Milling-Ellipse 3D Motion* (HEM-E3D) (Nanotech Herbal, Indonesia) dan RVA (*Rapid Visco Analyzer*).

Jasmine Zulnaisah, 2019

PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI MENGGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP KANDUNGAN PROKSIMAT DAN KARAKTERISTIK ADONAN KACANG KORO PEDANG (*Canavalia ensiformis* L.)

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

3.1.2 Bahan

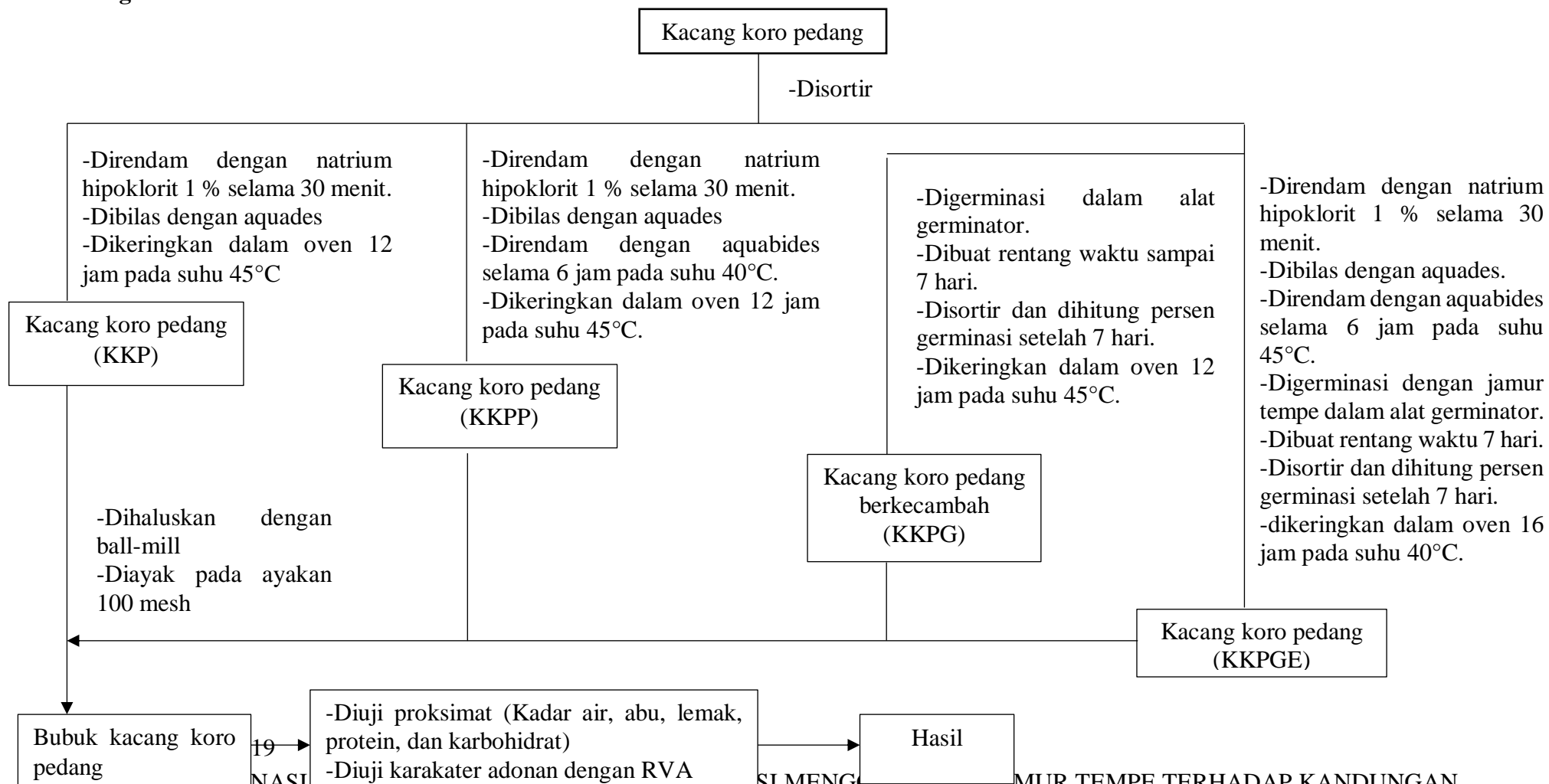
Sampel yang digunakan yaitu kacang koro pedang tipe tegak (*Canavalia ensiformis*) yang diperoleh secara komersil dari Purworejo, Jawa tengah. Bahan kimia yang digunakan untuk germinasi maupun elisitasi yaitu air mineral, aquades, aquabides pro injeksi (Ikapharmindo Putramas, Indonesia) dan larutan natrium hipoklorit 1% (Johnson Home Hygiene Products, Indonesia).

Jasmine Zulnaisah, 2019

PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI
MENGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP KANDUNGAN
PROKSIMAT DAN KARAKTERISTIK ADONAN KACANG KORO PEDANG
(*Canavalia ensiformis* L.)

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

3.2 Bagan Alir



PROKSIMAT DAN KARAKTERISTIK ADONAN KACANG KORO PEDANG (Canavalia ensiformis L.)

3.4. Metode Penelitian

3.3.1 Tahap Germinasi

Germinasi dilakukan dalam alat germinator skala laboratorium yang dibuat dan dioptimasi mengikuti penelitian yang dilakukan oleh (Aisyah, *et al.*, 2015) dengan modifikasi. Faktor yang dikontrol dalam mesin perkecambahan ini adalah kelembaban, suhu, dan intensitas cahaya. Kontrol kelembaban diatur dengan mengatur waktu nyala *humidifier* dan kipas pada alat germinasi dengan mikrotimer. Hasil uji coba sebelumnya menunjukkan bahwa kondisi optimum untuk germinasi kacang koro diperoleh dengan mengatur *humidifier* dan kipas setiap 3 jam dengan durasi 5 menit, dikarenakan kacang koro pedang memiliki kulit ari yang cukup tebal. *Humidifier* yang terdapat di dalam wadah air akan menkonversi air menjadi kabut air. Selama *humidifier* menyala, sebuah kipas yang ada di dalam alat bekerja mendistribusikan kabut air ke seluruh area alat germinasi. Suhu dalam alat (25-30 °C) dijaga oleh *heat mat* (Hyindoor 12 V) disertai termostat yang diletakkan di bawah alat.



Gambar 3.1. Skema alat germinator

Sensor termometer dipasangkan di dalam alat germinasi untuk mengetahui suhu dan kelembaban selama waktu perkecambahan. Untuk menjaga sampel dari cahaya digunakan box germinator berwarna hitam agar tidak ada cahaya yang masuk dari luar. Sebelum digunakan, alat germinasi disterilisasi dengan

Jasmine Zulnaisah, 2019

PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI MENGGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP KANDUNGAN PROKSIMAT DAN KARAKTERISTIK ADONAN KACANG KORO PEDANG (*Canavalia ensiformis* L.)

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

disemprotkan larutan hipoklorit (NaOCl) 1 % (v/v) ke seluruh bagian alat lalu didiamkan selama 15 menit (Ghoribatulloh, 2018), bilas dengan aquades kemudian menggunakan lampu UV selama 15 menit.

3.3.2. Proses Germinasi dan Kombinasi Germinasi-Elisitasi

Kacang koro pedang yang digunakan dalam penelitian ini merupakan tipe tegak yang diperoleh secara komersil di daerah Purworejo, Jawa Tengah. Kacang koro pedang disortasi terlebih dahulu dengan cara memilih kacang yang tidak penyok, tidak kopong dan kulit arinya tidak terkelupas. Proses selanjutnya yaitu sterilisasi berdasarkan metode yang dijelaskan oleh Aisyah *et al.*, 2016, dengan sedikit modifikasi menggunakan larutan natrium hipoklorit 1% untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme selama perkecambahan. Perendaman dengan larutan natrium hipoklorit 1% ini dilakukan selama 30 menit lalu dicuci dengan aquades hingga pH netral. Setelah itu dilakukan lagi perendaman dengan aquabides selama 6 jam dengan suhu 40°C. Selama proses perendaman dengan natrium hipoklorit dan aquabides kacang disimpan pada suhu ruang dan ditempatkan terhindar dari pengaruh cahaya yang berasal dari lingkungan sekitar.

Dibuat dua sampel berbeda dalam beberapa interval waktu perkecambahan yaitu 1 sampai 7 hari. Kacang dikecambahkan di dalam alat germinator dengan dua kondisi, yaitu tanpa dielisitasi dan dengan dielisitasi menggunakan jamur tempe. Singkatnya dengan sedikit modifikasi bubuk jamur tempe sebanyak 1 g disuspensikan dengan menggunakan aquabides 15 mL untuk memperoleh suspensi spora sebanyak 1×10^8 /mL (Feng *et al.*, 2007). Kemudian suspensi kultur jamur yang telah disiapkan diinokulasikan pada kacang dan dicampur dengan merata (7,5 mL suspensi jamur diinokulasikan pada 100 g koro pedang).

Dibuat beberapa sampel untuk setiap perlakuan yang berbeda yaitu koro pedang yang hanya disterilisasi (KKP), koro pedang yang hanya dikecambahkan (KKPG) dan tidak dikecambahkan (KKPP), koro pedang yang dikecambahkan dengan menggunakan elisitor jamur (KKPGE). Koro pedang dikecambahkan di

Jasmine Zulfaisah, 2019

PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI
MENGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP KANDUNGAN
PROKSIMAT DAN KARAKTERISTIK ADONAN KACANG KORO PEDANG
(*Canavalia ensiformis* L.)

dalam alat germinator setelah itu diinokulasi menggunakan jamur tempe (**Tabel 3.1**).

Tabel 3.1. Perbedaan perlakuan pada kacang koro pedang

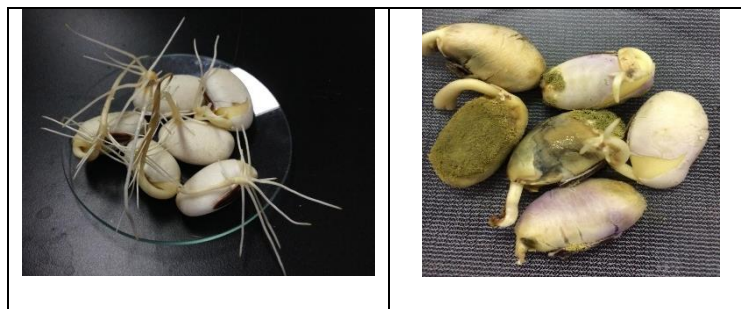
Perlakuan	Tahapan				
	Sterilisasi	Perendaman (6 jam)	Germinasi (2hari)	Inkubasi (5 hari)	Jamur
KKP	✓				
KKPP	✓	✓			
KKPG	✓	✓	✓	✓ (tanpa jamur)	
KKPGE	✓	✓	✓	✓ (dengan jamur)	✓

Untuk sampel yang digerminasi (KKPG), koro pedang yang telah direndam diletakkan pada wadah plastik steril yang kemudian ditempatkan di germinator yang dimodifikasi. Koro pedang dikecambahkan selama 7 hari pada suhu 25°C dan 100% RH. Untuk sampel yang digerminasi dan elisitasi (KKPGE), koro pedang yang telah direndam dikecambahkan selama 2 hari pada suhu 25°C dan 100% RH. Selanjutnya, suspensi spora (7.5 mL/100 gram kacang) ditambahkan pada koro pedang yang telah dikecambahkan dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu 25°-30°C. Untuk sampel yang tidak dikecambahkan (KKPP), koro pedang hanya direndam dengan aquabidest selama 6 jam pada suhu 40°C tanpa dikecambahkan untuk dijadikan kontrol. Bentuk fisik kacang koro pedang setelah digerminasi dan dikombinasi germinasi-elisitasi dapat dilihat pada **gambar 3.2**.

Jasmine Zulnaisah, 2019

PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI MENGGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP KANDUNGAN PROKSIMAT DAN KARAKTERISTIK ADONAN KACANG KORO PEDANG (*Canavalia ensiformis* L.)

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



Gambar 3.2. Hasil germinasi dan kombinasi germinasi-elisitasi

3.3.3 Tahap Uji Analisis Proksimat

Pengujian analisis proksimat meliputi, kadar air, kadar abu, lemak total, protein, karbohidrat, dan energi total.

3.4.3.1. Kadar Air

Berdasarkan ketentuan Badan Standarisasi Nasional 1992, sampel padatan ditimbang sebanyak 1-2 gram pada botol timbang bertutup yang sudah diketahui bobotnya. Kemudian dikeringkan di dalam oven dengan suhu 105°C selama 3 jam. Setelahnya didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Pekerjaan diulangi hingga diperoleh bobot tetap.

Perhitungan:

$$\text{Kadar air} = \frac{W}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan:

W = bobot cuplikan sebelum dikeringkan (gram)

W1 = bobot cuplikan setelah dikeringkan (gram)

3.4.3.2. Kadar Abu

Metode Badan Standarisasi Nasional (1992) sampel ditimbang dengan seksama 2-3 gr dalam sebuah cawan porselen (atau platina) yang telah diketahui bobotnya. Arangkan di atas nyala pembakar, lalu abukan dalam tanur listrik pada suhu 550°C sampai pengabuan sempurna (sekali-kali pintu

Jasmine Zulnaisah, 2019

PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI MENGGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP KANDUNGAN PROKSIMAT DAN KARAKTERISTIK ADONAN KACANG KORO PEDANG (*Canavalia ensiformis* L.)

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

tanur listrik.dibuka sedikit, agar oksigen bisa masuk). Didinginkan dalam eksikator, lalu timbang sampai bobot tetap.

Perhitungan:

$$\text{Kadar abu} = \frac{W_1 - W_2}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

W = bobot cuplikan sebelum diabukan (gram).

W₁ = bobot cuplikan + cawan sesudah diabukan (gram).

W₂ = bobot cawan kosong (gram).

3.4.3.3. Lemak Total

Pengujian lemak total dilakukan menurut (Genetech, 2013) menggunakan metode hidrolisis weibull. Sebanyak 1-2 gram sampel ditimbang dan dimasukkan kedalam piala gelas yang telah ditambah air sebanyak 20 ml dan 30 ml HCl 25%, kemudian dipanaskan selama 15 menit. Selanjutnya, larutan disaring dalam keadaan panas dan dicuci hingga tidak bereaksi dengan asam lagi. Kertas saring berserta endapan dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105°C. Ekstraksi lemak menggunakan pelarut heksana selama 2-3 jam pada suhu 80°C, dikeringkan ekstrak lemak pada suhu 100-105°C. Kemudian ekstrak didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Diulangi pengeringan hingga memperoleh bobot tetap.

Perhitungan:

$$\text{Kadar lemak} = \frac{W_1 - W_2}{W} \times 100\%$$

Keterangan;

W = bobot sampel (gram)

W₁ = bobot labu lemak sesudah ekstraksi (gram)

W₂ = bobot labu lemak sebelum ekstraksi (gram)

Jasmine Zulnaisah, 2019

PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI MENGGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP KANDUNGAN PROKSIMAT DAN KARAKTERISTIK ADONAN KACANG KORO PEDANG (*Canavalia ensiformis* L.)

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

3.4.3.4. Protein

Pengujian protein dilakukan menurut (Genetech, 2013) menggunakan metode kjedahl dengan alat Kjeltac Buchi K-466 dan K-355. Sampel ditimbang 1 gram dan dimasukkan ke dalam tabung Kjeltac Buchi yang telah ditambahkan 1 gram campuran selenium serta 12 ml H₂SO₄ pekat. Selanjutnya, campuran didestruksi pada suhu 420°C selama 2 jam lalu didinginkan. Larutan hasil destruksi didestilasi 50 ml NaOH 40% selama 1 jam dan destilat ditampung dalam asam borat. Destilat dititrasi menggunakan HCl 0,2 N, sebelumnya larutan ditambahkan indikator PP 1% sebanyak 3 tetes.

Perhitungan:

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

Keterangan;

V_s = Volume sampel

V_b = Volume blanko

N = Normalitas peniter

m = Bobot sampel (gram)

f_k = faktor konversi

3.4.3.5. Karbohidrat

Menurut (Genetech, 2013) penetapan karbohidrat berdasarkan pengurangan total jumlah contoh dengan persentase kadar air, abu, protein, dan lemak.

Perhitungan:

$$\text{Karbohidrat (\%)} = 100\% - (\% \text{ Abu} + \% \text{ Air} + \% \text{ Protein} + \% \text{ Lemak})$$

$$\text{Energi (kkal)} = (\% \text{ lemak} \times 9 \text{ kkal}) + (\% \text{ protein} \times 4 \text{ kkal}) + (\% \text{ karbohidrat} \times 4 \text{ kkal})$$

Jasmine Zulnaisah, 2019

PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI MENGGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP KANDUNGAN PROKSIMAT DAN KARAKTERISTIK ADONAN KACANG KORO PEDANG (*Canavalia ensiformis* L.)

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

3.3.5. Tahap Uji Karakteristik Adonan Kacang Koro Pedang

Pengujian karakteristik pasta kacang koro pedang menggunakan alat RVA (*Rapid Visco Analyzer*). Analisis dilakukan mengikuti prosedur (Setiawati, 2016), yaitu sampel ditimbang sebanyak 3,5 gram dimasukkan ke dalam *canister* (tabung aluminium yang dilengkapi kayu (*impeller*) plastik). Ditambahkan air sebanyak 25 gram. Sampel diperlakukan sesuai program yang telah diatur, yaitu dengan pemanasan 50-95°C selama 23 menit.

Dalam alat RVA terdiri dari beberapa fasa pengukuran. Menurut (Imanningsih, 2012) fase pertama yaitu suhu masih dibawah suhu gelatinasi pati sehingga viskositas yang terukur rendah pada kurva. Fase kedua, suhu ditingkatkan secara perlahan sampai mencapai suhu gelatinasi pati, yaitu suhu pada awal granula pati mengalami pembengkakan dan viskositas meningkat (*peak viscosity*). Fase ketiga dimana temperature tetap-meningkat dan dilakukan pengadukan (*holding viscosity*), disini granula pati akan pecah dan amilosa keluar dari granula ke cairan. Pada fase terakhir, terdeteksi viskositas akhir (*final viscosity*) karena campuran mengalami pendinginan yang menyebabkan retrogradasi pati (*setback*) sehingga terbentuk gel dan viskositas meningkat dari *hold viscosity*.

Jasmine Zulnaisah, 2019

PENGARUH GERMINASI DAN KOMBINASI GERMINASI-ELISITASI MENGGUNAKAN JAMUR TEMPE TERHADAP KANDUNGAN PROKSIMAT DAN KARAKTERISTIK ADONAN KACANG KORO PEDANG (*Canavalia ensiformis* L.)

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