

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi merupakan semua target yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi penelitian adalah semua tempe kedelai dari berbagai merek.

Sampel adalah delegasi populasi yang diambil sumber informasi semua data, yang berperan dalam menjawab permasalahan penelitian. Sampel penelitian adalah tempe dari satu merek yang dipilih secara acak dari populasi. Sampel dibeli dalam keadaan baik dan terbungkus di daerah Mojosongo.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi Variabel Utama**

Variabel utama merupakan suatu atribut atau sifat atau nilai dari orang, obyek atau orang yang mempunyai variasi tertentu yang ditetapkan peneliti untuk dipelajari dan ditarik kesimpulannya. Variabel utama berisi identifikasi dari keseluruhan sampel. Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah larutan garam dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 5% b/v. Variabel utama kedua adalah kadar protein pada tempe kedelai.

##### **2. Klasifikasi Variabel Utama**

Variabel utama diklasifikasikan menjadi tiga variabel, variabel bebas, variabel terikat, dan variabel terkendali. Variabel bebas adalah variabel yang independen atau variabel yang memengaruhi variabel lain, variabel bebas merupakan penyebab perubahan variabel lain. Dalam model struktural variabel bebas juga disebut dengan variabel endogen. Variabel bebas pada penelitian ini adalah larutan garam dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 5% b/v.

Variabel terikat merupakan variabel yang nilainya ingin dilihat akibat pengaruh variabel terikat. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar protein pada tempe kedelai.

Variabel terkendali merupakan variabel yang memengaruhi variabel tergantung, oleh karena itu harus ditetapkan kualifikasinya agar dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat dan hasil yang didapatkan tidak tersebar. Variabel tergantung dalam penelitian ini yaitu kualitas reagen dan bahan penelitian, metode pembuatan larutan konsentrasi garam (dikerjakan pada suhu ruang dan pengadukan menggunakan batang pengaduk), preparasi sampel (direndam dalam larutan garam selama 30 menit pada suhu ruang), proses destruksi sampel (dilakukan dalam lemari asam dengan pemanas bunsen), dan kondisi lingkungan penelitian (suhu ruang dan pencahayaan normal).

### **3. Definisi Operasional Variabel Utama**

Pertama, tempe adalah kedelai yang difermentasi menggunakan kapang *Rhizopus oligosporus*. Tempe yang diuji merupakan tempe yang telah diproses dan dikemas dalam wadah yang aman dan higienis untuk dikonsumsi oleh manusia.

Kedua, larutan garam adalah larutan yang dibuat dengan melarutkan garam NaCl dalam aquades suhu ruang dengan pengadukan menggunakan batang pengaduk kaca. Larutan garam dibuat dengan tiga konsentrasi berbeda yaitu, 1%, 3%, dan 5%.

Ketiga, kadar protein adalah kadar pada tempe kedelai mentah tanpa perlakuan, perendaman dengan larutan garam 1%, 3% dan 5% yang terkandung dalam tempe, diukur dalam persen (%).

Keempat, Signifikansi kadar protein adalah nilai statistik yang diperoleh melalui analisis data hasil pengukuran kadar protein tempe menggunakan uji ANOVA satu arah pada perangkat lunak SPSS. Signifikansi ditentukan berdasarkan nilai  $p$  (probabilitas), dengan ambang batas ( $\alpha$ ) sebesar 0,05.

### C. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: labu Kjeldahl 500 mL (pyrex), klem dan statif, buret 50 mL, gelas ukur 50 mL (pyrex), Erlenmeyer 200 mL (pyrex), labu tentukur 50 mL (pyrex), pipet volume 10 mL (pyrex), gelas beaker 100 mL (pyrex), pipet tetes, cawan porselen 30 mL, pemanas bunsen, kondensor, selang, batang pengaduk, sudip, pisau, dan lemari asam.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tempe sebagai contoh perlakuan,  $K_2SO_4$ ,  $CuSO_4$ ,  $H_2SO_4$  pekat, aquades, NaOH 50%, HCl 0,1N, NaOH 0,1N, indikator MR,  $H_2C_2O_4$  0,1N, dan serbuk Zn.

### D. Jalannya Penelitian

#### 1. Preparasi Larutan Sekunder NaOH 0,1 N sebanyak 500 mL

Sebanyak 2 gram kristal NaOH ditimbang dan dimasukkan ke dalam gelas beaker 500 mL. Kemudian ditambahkan aquades hingga mencapai volume 500 mL dan dihomogenkan menggunakan batang pengaduk kaca. Larutan ini bersifat higroskopis dan harus segera disimpan dalam botol plastik tertutup rapat untuk menghindari reaksi dengan  $CO_2$  di udara (Maulana *et al.*, 2021).

#### 2. Preparasi Larutan Primer $H_2C_2O_4$ 0,1 N sebanyak 50 mL

Sebanyak 0,3157 gram serbuk asam oksalat ( $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ ) ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL. Ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dihomogenkan. Asam oksalat digunakan sebagai larutan baku primer karena memiliki kemurnian tinggi dan kestabilan yang baik (Maulana *et al.*, 2021).

#### 3. Preparasi Larutan HCl 0,1 N sebanyak 1000 mL

Sebanyak 8,3 mL larutan HCl pekat (37%) dipipet dan dimasukkan ke dalam sebagian aquades dalam gelas beaker 1000 mL. Setelah itu, ditambahkan aquades hingga volume akhir 1000 mL dan dihomogenkan. Proses ini harus dilakukan dengan menuangkan asam ke dalam air untuk menghindari reaksi eksoterm yang berbahaya (Maulana *et al.*, 2021).

#### **4. Standarisasi Larutan Sekunder NaOH 0,1 N dengan Larutan Primer $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,1 N**

Sebanyak 10 mL larutan primer  $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$  dipipet ke dalam erlenmeyer, ditambahkan 3 tetes indikator fenolftalein 1%, lalu dititrasi dengan larutan sekunder NaOH hingga warna merah muda stabil muncul. Proses ini diulang tiga kali untuk memperoleh hasil yang akurat dan menghitung normalitas aktual NaOH (Maulana *et al.*, 2021).

#### **5. Pembuatan Larutan Garam**

Pembuatan larutan garam dilakukan dengan melarutkan garam dapur (NaCl) ke dalam aquades sesuai dengan konsentrasi yang ditentukan, yaitu 1%, 3%, dan 5% (b/v). Masing-masing larutan dibuat dengan menimbang garam sebanyak 1 gram, 3 gram, dan 5 gram, kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades menggunakan gelas beaker. Proses pelarutan dilakukan pada suhu ruang dengan pengadukan manual menggunakan batang pengaduk kaca hingga garam larut sempurna (Alfian, D., 2015).

#### **6. Penentuan Titrasi Blanko**

Penetapan kadar protein untuk sampel blanko dilakukan dengan mengikuti tiga tahapan utama dalam metode Kjeldahl, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi, tanpa penambahan sampel tempe. Pada tahap destruksi, labu Kjeldahl diisi dengan 3 gram  $\text{CuSO}_4$ , 7 gram  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , dan 20 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , tanpa penambahan bahan organik (sampel tempe). Seluruh bahan dimasukkan ke dalam labu menggunakan alat gelas bermerek Pyrex (*Made in Germany*). Campuran dipanaskan dalam lemari asam menggunakan api bunsen, dengan mulut labu ditutup corong kaca, hingga larutan menjadi jernih berwarna kehijauan. Setelah larutan hasil destruksi dingin, tahap destilasi dilakukan dengan menambahkan 50 mL aquades, 25 mL larutan NaOH 50%, dan setengah sendok serbuk Zn ke dalam labu destilasi. Uap amonia yang terbentuk ditampung dalam erlenmeyer berisi 25 mL larutan HCl 0,1 N yang telah ditetesi 3 tetes indikator metil merah. Proses destilasi dihentikan setelah volume

larutan penampung mencapai 100 mL. Selanjutnya, pada tahap titrasi, larutan hasil destilasi dititrasi menggunakan larutan NaOH 0,1 N standar hingga terjadi perubahan warna dari merah muda menjadi jingga sebagai titik akhir titrasi. Hasil dari blanko ini digunakan sebagai pembanding untuk koreksi nilai nitrogen dari sampel tempe yang dianalisis (Anggreani & Ganesy, 2024).

## **7. Penetapan Kadar Protein Tempe dengan Metode Kjeldahl**

Penetapan kadar protein tempe dengan metode Kjeldahl dilakukan melalui tiga tahapan utama, yaitu tahap destruksi, destilasi, dan titrasi, baik untuk tempe tanpa perlakuan maupun tempe yang direndam dalam larutan garam konsentrasi 1%, 3%, dan 5%. Perhitungan persen kadar protein adalah dengan mengalikan persen nitrogen dengan faktor konversi, faktor konfersi untuk tempe kedelai adalah 5,71 (BSN, 2015).

Tahap destruksi: Sebanyak 1 gram tempe ditimbang untuk masing-masing perlakuan. Untuk perlakuan dengan garam, tempe terlebih dahulu direndam dalam larutan garam (1%, 3%, atau 5%) selama 30 menit. Sampel tempe kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl dan ditambahkan 3 gram  $\text{CuSO}_4$ , 7 gram  $\text{K}_2\text{SO}_4$ , dan 20 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (semuanya dengan alat gelas bermerek Pyrex, Made in Germany). Campuran ini dipanaskan dalam lemari asam menggunakan api bunsen, dengan mulut labu ditutup menggunakan corong kaca. Proses destruksi dianggap selesai ketika larutan menjadi jernih berwarna kehijau-hijauan (Anggreani & Ganesy, 2024).

Tahap destilasi: Setelah larutan hasil destruksi menjadi dingin, dilakukan proses destilasi dengan menambahkan 50 mL aquades, 25 mL larutan NaOH 50%, dan setengah sendok serbuk Zn ke dalam labu destilasi. Uap amonia yang terbentuk ditampung dalam erlenmeyer yang berisi 25 mL larutan HCl 0,1 N dan ditambahkan 3 tetes indikator metil merah (MR). Proses destilasi dihentikan setelah volume larutan dalam penampung mencapai 100 mL (Anggreani & Ganesy, 2024).

Tahap titrasi: Larutan hasil destilasi kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N standar. Titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna larutan dari merah muda menjadi jingga. Seluruh proses penetapan kadar protein dilakukan dalam tiga kali ulangan untuk masing-masing perlakuan guna memperoleh hasil yang lebih akurat (Anggreani & Ganesy, 2024).

### **E. Analisis Hasil**

Data yang diperoleh dari penelitian ini berupa data hasil pengamatan laboratorium yang akan dianalisis menggunakan metode deskriptif kuantitatif. Data hasil pengujian laboratorium akan disajikan dalam bentuk grafik dan tabel, serta dianalisis secara deskriptif. Data hasil praktikum akan dianalisis menggunakan uji ANOVA satu arah di SPSS untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan kadar protein tempe antar tempe tanpa perlakuan dengan perlakuan perendaman garam ( 1%, 3%, dan 5%). Hasil analisis akan diinterpretasikan dengan melihat pengaruh konsentrasi garam terhadap kadar protein, serta didukung penjelasan ilmiah mengenai potensi hilangnya nitrogen terlarut atau perubahan struktur protein akibat perendaman dengan garam.