

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Alat dan Bahan

3.1.1. Alat yang digunakan

- Gelas Ukur
- Erlenmeyer
- Gelas Beker
- Tabung Reaksi
- Labu Takar
- Pipet Tetes
- Pipet Volum
- Pengaduk
- Gelas Arloji
- Corong Gelas
- Spatula
- Neraca Analitis merk Kern 870
- Magnetik Stirer merk Nuova
- Sentrifuse 10000 rpm
- Spektrofotometer UV-Vis 1201 merk Shimadzu
- pH Meter model 420 A merk Orion



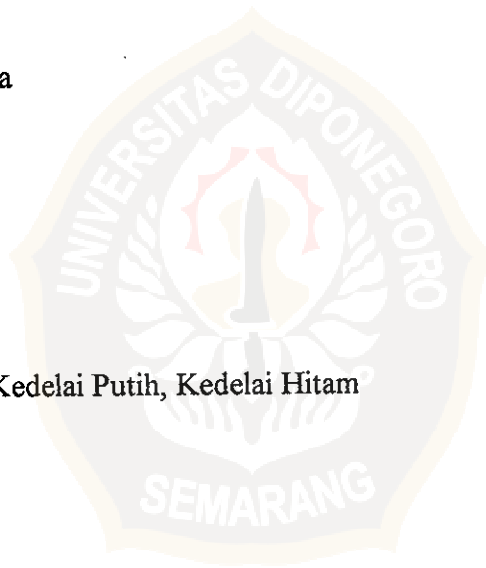
3.2.1. Bahan Yang Digunakan

- Larutan Folin-Ciocalteau-Phenol p.a
- Serum Albumin p.a
- Natrium Karbonat p.a
- Natrium Hidroksida p.a
- Cuprisulfat p.a
- Natrium-Kalium-Tartat p.a
- Amonium Sulfat Kristal p.a
- Asam Asetat p.a
- Natrium Asetat p.a
- Asam Laktat p.a
- Akuades
- Ragi / Inokulum
- Kedelai Kuning, Kedelai Putih, Kedelai Hitam
- Kacang Hijau
- Kacang Gude

3.2. Variabel Penelitian

3.2.1. Variabel yang dikonstankan

- Berat sampel
- Berat ragi



3.2.2. Variabel bebas

- Waktu inkubasi
- Bahan baku tempe
- Bahan pengemas

3.3. Cara Kerja ⁽¹⁷⁾

3.3.1. Pembuatan Tempe dari, Kedelai, Kacang Hijau dan Kacang Gude

- Sebanyak 50 gram bahan baku tempe yang bermutu baik dicuci dengan air bersih lalu direbus selama 90 menit kemudian direndam dengan air sambil ditambahkan asam laktat selanjutnya dibiarkan selama 3-4 jam.
- Kulit luar atau kulit ari dari bahan baku tempe dibersihkan, kemudian direbus kembali selama 30 menit lalu ditiriskan.
- Selanjutnya diinokulasi dengan 0,5 gram inokulum (ragi) dan dilakukan pengemasan menggunakan daun pisang serta diinkubasi dengan variasi waktu inkubasi 1,2, 3 hari.

3.3.2. Penentuan Kadar Protein dengan Menggunakan Metode Lowry⁽¹⁹⁾

a. Preparasi Sampel

- Sebanyak 2 gram tempe dihaluskan lalu dilarutkan dengan akuades hingga 100 ml larutan.
- Larutan protein sampel dengan perlahan-lahan ditambahkan 7,61 gram amonium sulfat kristal.

- Larutan disentrifuse pada 10.000 rpm selama 15 menit, kemudian endapan yang terjadi dilarutkan dengan buffer asetat pH 5.

b. Pembuatan Reagensia Lowry⁽¹⁹⁾

1. Lowry A : 10 gram Na_2CO_3 ditambahkan 2 gram NaOH dan 0,2 gram Kalium-Natrium Tartat dilarutkan dengan akuades sehingga diperoleh 500 ml larutan.
2. Lowry B : 0,6 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dengan akuades sehingga diperoleh 100 ml larutan.
3. Lowry C : 50 bagian Lowry A ditambah 1 bagian Lowry B (harus disiapkan baru).
4. Folin-Ciocalteau-Phenol : diencerkan dengan akuades (dengan perbandingan 1: 1, harus disiapkan baru).

c. Penentuan Kadar Protein dalam Sampel

1. Sebanyak 0,6 ml larutan protein sampel ditambahkan 3 ml reagen Lowry C dan dibiarkan selama 20 menit pada suhu kamar. Kemudian ditambah 0,3 ml larutan Folin dengan cepat dan dibiarkan kembali selama 45 menit pada suhu kamar dengan sesekali dikocok.
2. Dicari panjang gelombang optimum untuk larutan standar protein.
3. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang optimum.

4. Untuk kurva standar, disiapkan larutan standar serum albumin dengan konsentrasi dari 0,18 mgram/mL - 2,70 mgram/mL

