



**INAKTIVASI ENZIM LIPOKSIGENASE PADA SARI EDAMAME  
(*Glycine max*) DENGAN *PULSED ELECTRIC FIELD* (PEF)**

**SKRIPSI**

oleh  
**Abraham Andri Pranata**  
**NIM 121710101058**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**INAKTIVASI ENZIM LIPOKSIGENASE PADA SARI EDAMAME  
(*Glycine max*) dengan *PULSED ELECTRIC FIELD* (PEF)**

**SKRIPSI**

oleh  
**Abraham Andri Pranata**  
**NIM 121710101058**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**INAKTIVASI ENZIM LIPOKSIGENASE PADA SARI EDAMAME  
(*Glycine max*) dengan *PULSED ELECTRIC FIELD* (PEF)**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S-1)  
dan melengkapi gelar Sarjana Teknologi Pertanian

oleh  
**Abraham Andri Pranata**  
**NIM 121710101058**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**

## PERSEMBAHAN

Puji Syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan penyertaan, berkat dan karunia-Nya, kupersembahkan skripsi saya untuk :

1. Bapak Gatot Sriyohandri, Ibu Sari Hardjani, Adiku Tessaloni Gress Nevasari, terima kasih atas dukungan kasih sayang dan segala cinta serta do'a yang engkau panjatkan untuk menemani setiap langkah dalam hidupku;
2. Pembimbing dan penyalur ilmuku, guru-guruku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
3. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
4. Teman-teman dan sahabat-sahabatku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;

**MOTTO**

**Baiklah orang bijak mendengar dan menambah ilmu dan baiklah orang yang berpengertian memperoleh bahan pertimbangan.  
(Amsal 1 : 5)\***

**Belajarliah selagi yang lain sedang tidur. Bekerjalah selagi yang lain sedang bermalas-malasan. Bersiap-siaplah selagi yang lain sedang bermain dan bermimpilah selagi yang lain sedang berharap.  
(William Arthur Ward)\*\***

**Sebab hidup kami ini adalah hidup karena percaya, bukan karena melihat  
(2 Korintus 5 : 7)\*\*\***

---

\*) Lembaga Alkitab Indonesia. 2009. Alkitab. Edisi NLO cetakan 94 Jakarta : Percetakan Lembaga Alkitab Indonesia.

\*\*) Coretandmc. 2015. kumpulan-kata-bijak-tentang-pendidikan-dari-tokoh-dunia. wordpress.com [14 Juli 2017].

\*\*\*) Lembaga Alkitab Indonesia. 2009. Alkitab. Edisi NLO cetakan 94 Jakarta : Percetakan Lembaga Alkitab Indonesia

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Abraham Andri Pranata

NIM : 121710101058

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Inaktivasi Enzim Lipoksigenase pada Sari Edamame (*Glycine Max*) dengan *Pulsed Electric Field* (PEF)” adalah sungguh hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab penuh atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang saya junjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia menerima sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Juli 2017

Yang menyatakan,

Abraham Andri Pranata  
NIM. 121710101058

**SKRIPSI**

**INAKTIVASI ENZIM LIPOKSIGENASE PADA SARI EDAMAME  
(*Glycine max*) dengan *PULSED ELECTRIC FIELD* (PEF)**

Oleh:

**Abraham Andri Pranata**

**NIM 121710101058**

**Pembimbing:**

**Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Jayus**

**Dosen Pembimbing Anggota : Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App., Sc**

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Inaktivasi Enzim Lipoksigenase pada Sari Edamame (*Glycine Max*) dengan *Pulsed Electric Field* (PEF)” karya Abraham Andri Pranata, NIM 121710101058 telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, pada:

Hari, tanggal : Kamis, 20 Juli 2017

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

**Dr. Ir. Jayus**

NIP 196805161992031004

Dosen Pembimbing Anggota,

**Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App.Sc.**

NIP 196411091989021002

Tim Penguji :

Ketua,

**Dr. Ir. Herlina M.P.**

NIP. 196605181993022001

Anggota,

**Nurud Dinivah S.TP., M.P.**

NIP. 198202192008122002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian

**Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng.**

NIP. 196809231994031009



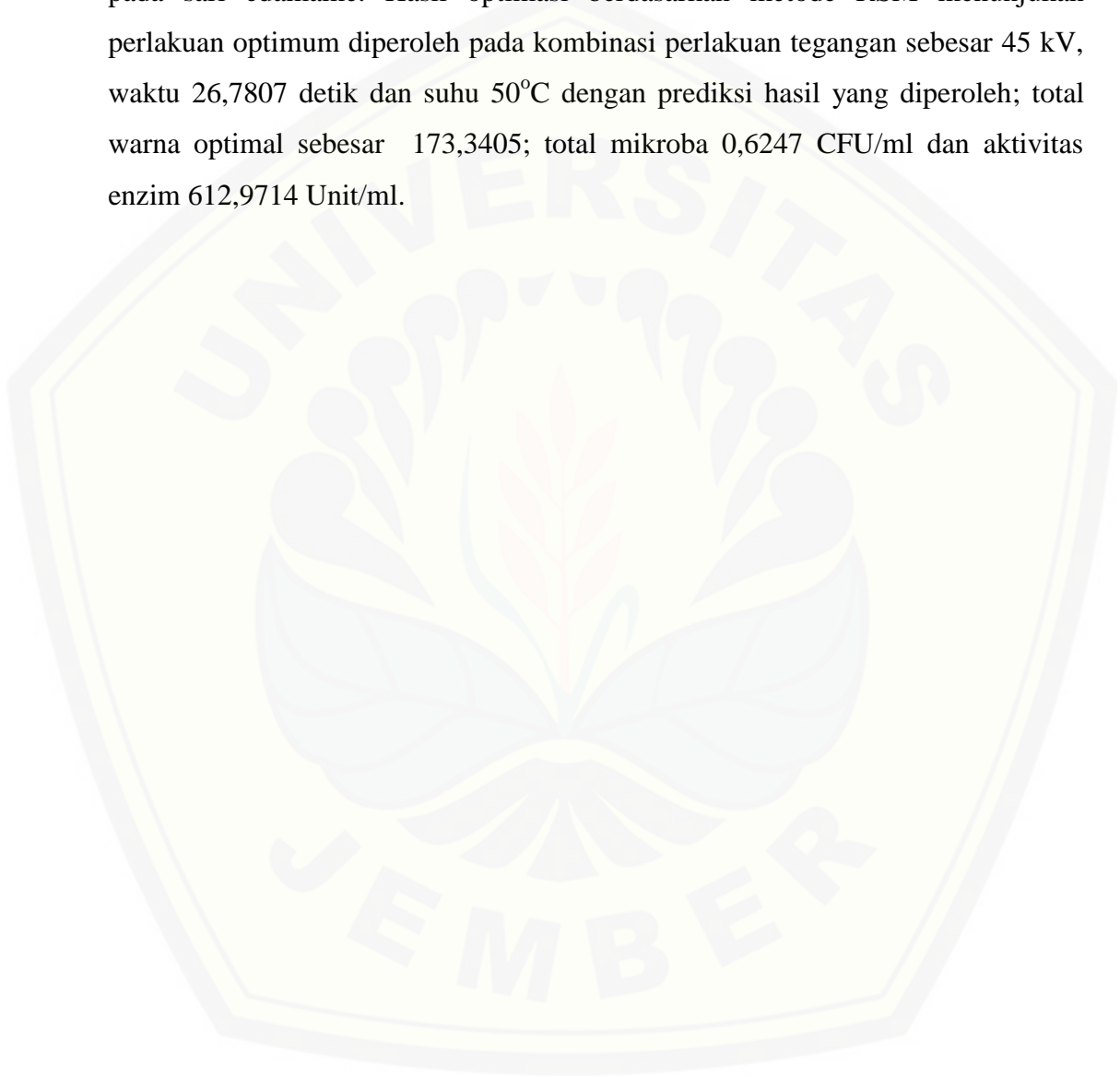
## RINGKASAN

**Inaktivasi Enzim Lipoksigenase pada Sari Edamame (*Glycine Max*) dengan *Pulsed Electric Field* (PEF); Abraham Andri Pranata, 121710101058; 2017; 60 halaman; Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.**

Sari kedelai edamame mudah mengalami oksidasi yang dapat menimbulkan cita rasa langu yang timbul akibat adanya aktivitas enzim lipoksigenase yang secara alami terdapat pada biji edamame. Enzim ini aktif saat biji kedelai pecah pada proses penggilingan dan pengupasan kulit, karena adanya kontak dengan udara (oksigen). Salah satu upaya untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan cara pengolahan suhu tinggi, tetapi proses inaktivasi enzim dengan suhu tinggi dapat mengakibatkan terjadinya degradasi asam amino dan reaksi buruk lainnya. Salah satu metode non suhu tinggi yang dapat diaplikasikan yaitu dengan kejutan listrik tegangan tinggi menggunakan alat *Pulsed Electric Field* (PEF). Metode ini tidak hanya menonaktifkan enzim tetapi dapat membunuh mikroorganisme dan mampu menjaga keutuhan rasa, warna, tekstur, vitamin, nutrisi, dan kestabilan suhu komponen fungsional makanan. Namun belum pernah dikaji sebelumnya mengenai penerapannya pada sari edamame.

Penelitian dilaksanakan dalam beberapa tahapan, yaitu 1) pembuatan sari edamame, 2) perlakuan PEF pada sari edamame dengan metode RSM, 3) Analisa aktivitas enzim lipoksigenase sari edamame tanpa perlakuan, 4) formulasi suhu dan tegangan optimum pada PEF (*Pulsed Electric Field*), 5) Analisa aktivitas enzim lipoksigenase sari edamame sesudah perlakuan. Kombinasi perlakuan PEF pada sari edamame dibuat berdasarkan model *Box-Behnken* pada *Response Surface Methods* (RSM) kemudian dilakukan analisa terhadap beberapa parameter yang digunakan. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program statistik *Minitab v. 14*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama waktu interaksi antara tegangan dengan suhu dapat menyebabkan penurunan nilai warna pada sari edamame. Semakin tinggi level interaksi antara suhu, lama waktu dengan tegangan dapat berpengaruh terhadap penurunan aktivitas enzim lipoksigenase dan total mikroba pada sari edamame. Hasil optimasi berdasarkan metode RSM menunjukkan perlakuan optimum diperoleh pada kombinasi perlakuan tegangan sebesar 45 kV, waktu 26,7807 detik dan suhu 50°C dengan prediksi hasil yang diperoleh; total warna optimal sebesar 173,3405; total mikroba 0,6247 CFU/ml dan aktivitas enzim 612,9714 Unit/ml.



## SUMMARY

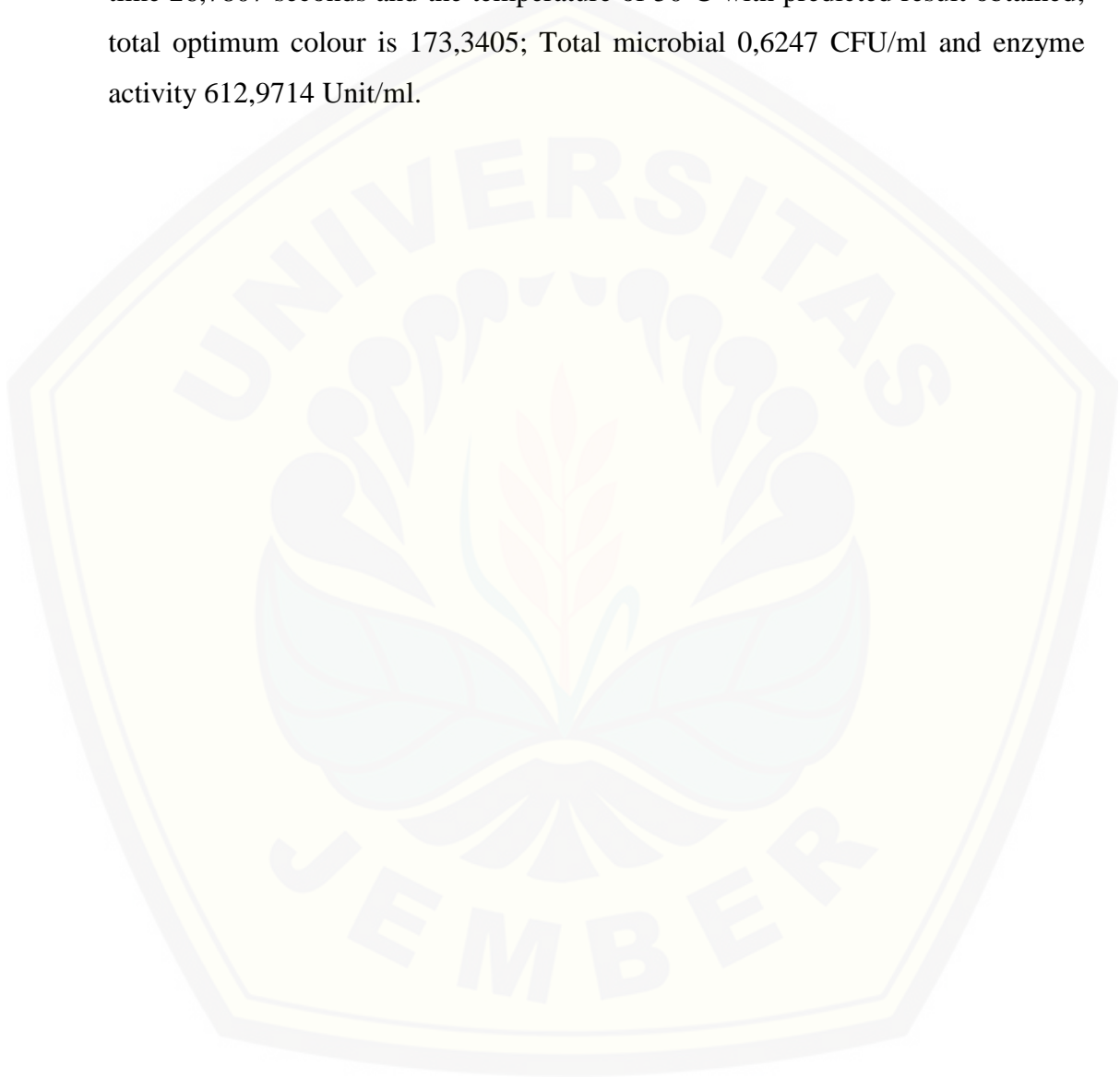
**Inactivation of Lipoxygenase in Edamame (*Glycine max*) Milk by Pulsed Electric Fields (PEF);** Abraham Andri Pranata, 121710101058; 2017; 60 pages; Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, University of Jember.

Edamame milk is easily oxidized which can causes off-flavours of edamame milk, arising from lipoxygenase activity in which it naturally contained on edamame seed. This enzyme is actives when the soybean seeds break in the process of grinding and peeling of it's skin, this process happens because of contact with the air (oxygen). To solve this problem, thermal treatment can be utilized. Although thermal treatment inactivates effectively edamame lipoxygenase, it denatures soybean proteins. The results of the use of thermal treatment leads to the amino acid degradation and other deteriorative reactions. Pulsed electric fields (PEF) a non-thermal food preservation method and become increasingly a promising alternative to thermal pasteurization. PEF is not only can kill microorganisms and inactivate enzymes, but also maintain maximally of taste, colour, texture, vitamins, nutrients, and heat-labile functional components of foods. However, this attempt is never done yet on edamame milk

This research was conducted in several stages, 1) Production of edamame milk, 2) PEF treatment in edamame milk with RSM method, 3) Analysis of lipoxygenase enzyme activity of edamame milk without any treatment, 4) formulation of optimum temperature and pulsed on PEF, 5) Analysis of lipoxygenase enzyme activity of edamame milk after treatment. The combination of PEF treatment on edamame milk was prepared based on box-behnken model in Response Surface Methods (RSM) and then it is analyzed based on some parameters used. The data are processed with statistical program of Minitab v. 14

The results shows that the duration of the interaction between pulsed and temperature can cause decreasing color values on edamame milk. The higher of

interaction level between temperature, the length of time with the pulsed can affect the decrease of lipoxygenase enzyme activity and total microbial in edamame milk. The optimization result based on RSM method showed that the optimum treatment was obtained in combination of voltage treatment of 45 kV, time 26,7807 seconds and the temperature of 50°C with predicted result obtained; total optimum colour is 173,3405; Total microbial 0,6247 CFU/ml and enzyme activity 612,9714 Unit/ml.



## PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala penyertaan, berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Inaktivasi Enzim Lipoksigenase pada Sari Edamame (*Glycine Max*) dengan *Pulsed Electric Field* (PEF)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu upaya syarat menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Siswoyo Soekarno, S.TP., M.Eng. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Ir. Giyanto, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
3. Dr. Ir. Jayus selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah meluangkan waktu dan pikiran guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi kemajuan penyelesaian penelitian dan penulisan skripsi ini;
4. Dr. Ir. Sony Sowasono M.App., Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota, yang telah meluangkan waktu dan pikiran guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi kemajuan penyelesaian penelitian dan penulisan skripsi ini;
5. Dr. Ir. Herlina, M.P. dan Nurud Diniyah, S.TP., M.P. selaku Tim Penguji yang telah memberikan saran dan evaluasi demi perbaikan penulisan skripsi ini;
6. Seluruh karyawan dan waker Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
7. Seluruh teknisi laboratorium Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam menyelesaikan penelitian ini;
8. Bapak Gatot Sriyohandri, Ibu Sari Hardjani, Adik Tessaloni Gress Nevasari tercinta yang telah membimbing, mendidik, mendoakan dan mencurahkan segala perhatian selama ini;

9. Teman-teman seperjuangan selama kuliah di Teknologi Hasil Pertanian (The Bidha) dan teman-teman angkatan 2012 Fakultas Teknologi Pertanian, terima kasih atas persahabatan yang terjalin selama ini;
10. Saudara – saudaraku di UKM-O SAHARA yang selalu memberikan semangat;
11. Saudara – saudaraku di PMKK Fakultas Teknologi Pertanian, terimakasih atas doa dan dukungannya.
12. Sureme, Keblek dan Lahop yang selalu memotivasi untuk segera menyelesaikan skripsi;
13. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 20 Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN .....	viii
SUMMARY .....	x
PRAKATA .....	xii
DAFTAR ISI .....	xiv
DAFTAR TABEL .....	xvi
DAFTAR GAMBAR .....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Perumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian .....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Edamame .....</b>	<b>5</b>
<b>2.2 Enzim .....</b>	<b>8</b>
<b>2.3 Pulsed Electric Field (PEF).....</b>	<b>9</b>
<b>2.4 Pengujian Warna .....</b>	<b>10</b>
<b>2.5 Pengujian Total Mikroba.....</b>	<b>12</b>
<b>2.6 Metode Respon Permukaan.....</b>	<b>13</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....</b>	<b>16</b>
<b>3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>16</b>

3.2.1 Alat Penelitian .....	16
3.2.2 Bahan Penelitian .....	16
<b>3.3 Rancangan Penelitian</b> .....	<b>16</b>
3.3.1 Pelaksanaan Penelitian .....	16
3.3.2 Pembuatan Sari Edamame .....	17
3.3.3 Formulasi Perlakuan dengan RSM .....	19
<b>3.4 Parameter Pengamatan</b> .....	<b>20</b>
<b>3.5 Prosedur Analisis</b> .....	<b>20</b>
3.5.1 Aktivitas Enzim Lipoksigenase .....	20
3.5.2 Warna .....	21
3.5.3 Total Mikroba .....	22
<b>3.6 Analisis Data</b> .....	<b>23</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>24</b>
<b>4.1 Optimasi Kombinasi Perlakuan Suhu, Waktu dan Tegangan Pada Pulsed Electric Field (PEF)</b> .....	<b>24</b>
<b>4.2 Pengaruh Pulsed Electric Field (PEF) Terhadap Warna Sari Edamame</b> .....	<b>24</b>
<b>4.3 Pengaruh Pulsed Electric Field (PEF) Terhadap Total Mikroba Pada Sari Edamame</b> .....	<b>29</b>
<b>4.4 Pulsed Electric Field (PEF) Terhadap Aktivitas Enzim Lipoksigenase Pada Sari Edamame</b> .....	<b>33</b>
<b>4.5 Optimasi Perlakuan PEF (Suhu, waktu dan tegangan) Secara Keseluruhan</b> .....	<b>38</b>
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	<b>40</b>
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	<b>40</b>
<b>5.2 Saran</b> .....	<b>40</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>41</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>45</b>



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Analisis Proksimat Edamame Jepang .....	6
3.1 Kombinasi Perlakuan PEF .....	19
3.2 Optimasi Perlakuan PEF pada Sari Edamame .....	20
3.3 Deskripsi warna berdasarkan °Hue .....	22
4.1 Analisis ragam untuk warna .....	25
4.2 Analisis ragam untuk total mikroba .....	29
4.3 Analisis Ragam untuk Aktivitas Enzim Lipoksigenase .....	34

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
<b>2.1 Pulsed Electric Field (PEF)</b> .....	10
<b>3.1 Diagram alir tahapan penelitian</b> .....	17
<b>3.2 Pembuatan sari edamame (Anggraini, 2015)</b> .....	18
<b>4.1 Surface Plot Tegangan dan waktu terhadap Warna Sari Edamame Pada Berbagai variasi suhu.</b> .....	26
<b>4.2 Surface Plot Tegangan dan suhu terhadap Warna Sari Edamame Pada Berbagai variasi waktu</b> .....	27
<b>4.3 Surface Plot suhu dan waktu terhadap Warna Sari Edamame Pada Berbagai variasi tegangan</b> .....	28
<b>4.4 Surface Plot Tegangan dan Waktu terhadap Total mikroba, Pada Berbagai variasi suhu PEF</b> .....	30
<b>4.5 Surface Plot Tegangan dan Suhu terhadap Total mikroba, Pada Berbagai variasi waktu PEF</b> .....	31
<b>4.6 Surface Plot Waktu dan Suhu terhadap Total mikroba, Pada Berbagai variasi tegangan PEF</b> .....	33
<b>4.7 Surface Plot Tegangan dan Waktu terhadap Aktivitas Enzim Lipoksigenase, Pada Berbagai variasi Suhu PEF</b> .....	35
<b>4.8 Surface Plot Tegangan dan Suhu terhadap Aktivitas Enzim Lipoksigenase, Pada Berbagai variasi Waktu PEF</b> .....	36
<b>4.9 Surface Plot Suhu dan Waktu terhadap Aktivitas Enzim Lipoksigenase, Pada Berbagai variasi Tegangan PEF</b> .....	37
<b>4.10 Grafik optimasi respon untuk tegangan, waktu dan suhu</b> .....	38

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Perhitungan Total Warna .....	45
B. Perhitungan Total Mikroba .....	49
C. Perhitungan Aktivitas Enzim Lipoksisgenase .....	50
D. Data Perhitungan Pada Minitab.14.....	51
D.1 Lampiran Data Hasil Penelitian RSM.....	51
D.2 Koefisien Penduga untuk Warna.....	52
D.3 Koefisien Penduga untuk Total Mikroba .....	52
D.4 Koefisien Penduga untuk Aktivitas Enzim .....	53
E. Dokumentasi.....	54

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kedelai sayur (*vegetable soybean*) atau lebih populer dengan nama “edamame” termasuk spesies *Glycine max*. Sesuai dengan namanya, kedelai sayur adalah jenis kedelai yang dipanen ketika polongnya masih muda dan hijau, yakni ketika pengisian biji sudah hampir penuh (80-90% pengisian), atau sudah masuk stadia R6 (Soedarmadi *et al*, 2012). Edamame biasa dikonsumsi sebagai camilan dengan merebusnya terlebih dahulu dalam air mendidih, bila perlu ditambahkan garam untuk mendapatkan rasa gurih, untuk memakannya biji edamame yang matang didorong saja keluar dari kulitnya (Cheng, 1991; Konovsky *et al*, 1994). Edamame paling banyak dikonsumsi oleh penduduk Jepang, disusul oleh Korea, Cina, dan Taiwan. Secara komersial edamame juga telah berkembang di berbagai negara seperti Argentina, Australia, Israel, Mongolia, New Zeland, dan Thailand. Secara non komersial juga sudah berkembang di Malaysia, Nepal, Filipina, dan Srilangka (Wang *et al*, 1979).

Di Indonesia camilan edamame juga sudah cukup lama dikenal dan dikonsumsi oleh masyarakat. Jenis Kedelai ini mulai dibudidayakan di Indonesia pada tahun 1988 di daerah Megamendung, Bogor, Jawa Barat (Meidyawati, 2006). Berjalannya waktu edamame mulai dibudidayakan di beberapa daerah di Indonesia, salah satunya adalah Kabupaten Jember. PT. Mitra Tani Dua Tujuh merupakan perusahaan yang bergerak di bidang agribisnis dan produksi pangan di daerah Kabupaten Jember yang membudidayakan, mengolah, sekaligus memasarkan produk-produk camilan yang berbahan baku edamame (Asadi, 2009). Oleh PT. Mitra Tani Dua Tujuh camilan edamame telah dikembangkan menjadi beberapa macam jenis produk sehingga dapat meningkatkan nilai jual dan minat konsumen terhadap edamame.

Sari edamame termasuk produk yang telah dikembangkan dan dipasarkan oleh PT. Mitra Tani Dua Tujuh. Sari edamame merupakan produk minuman berbahan dasar biji edamame yang dibuat melalui proses ekstraksi dengan penambahan beberapa bahan pendukung untuk meningkatkan citarasanya. Sari

edamame biasanya dipasarkan kepada konsumen dalam keadaan beku sehingga jika ingin mengkonsumsinya harus dicairkan terlebih dahulu dan cenderung memakan waktu dan tidak efisien, tidak seperti jenis produk minuman lainnya yang bisa langsung diminum. Penyimpanan dalam keadaan beku dilakukan karena sari kedelai edamame mudah mengalami oksidasi yang menimbulkan cita rasa langu dan umur simpannya singkat, sehingga harus dipasarkan dengan keadaan beku untuk menginaktivasi proses metabolisme yang berlangsung pada sari kedelai edamame pada saat proses pemasaran. Cita rasa langu tersebut timbul akibat adanya aktivitas enzim lipoksigenase yang secara alami terdapat pada biji kedelai. Enzim *lipoksigenase* yang terdapat di dalam kedelai akan mengoksidasi lipid dan menghasilkan ethil vinil keton yang dapat menyebabkan langu pada kedelai (Smith dan Circle, 1972). Enzim ini aktif saat biji kedelai pecah pada proses penggilingan dan pengupasan kulit, karena adanya kontak dengan udara (oksigen).

Inaktivasi enzim *lipoksigenase* bisa menjadi salah satu langkah penanganan yang tepat, dimana proses inaktivasi enzim bertujuan untuk mencegah peranan enzim sebagai katalisator oksidasi asam lemak tak jenuh pada sari edamame (Smith dan Circle, 1972). Terdapat berbagai macam metode inaktivasi enzim, salah satu diantaranya adalah inaktivasi enzim dengan cara kejutan listrik tenaga tinggi (*Pulsed Electric Field*). Sistem kejut medan listrik menggunakan intensitas medan listrik yang tinggi terdiri dari sejumlah komponen. Komponen-komponen tersebut meliputi sumber energi (*power source*), kapasitor tumbol, wadah proses (*treatment chamber*), voltase, *probe* aliran listrik, pengatur suhu dan waktu.

Proses inaktivasi terjadi jika aliran listrik diberikan pada produk pangan lebih dari ambang batas listrik minimum yang dibutuhkan untuk inaktivasi (Estiasih, 2009). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian terhadap besaran tenaga listrik yang dibutuhkan untuk menginaktivasi enzim lipoksigenase, sehingga dapat meminimalkan terjadinya reaksi oksidasi yang menyebabkan munculnya cita rasa langu pada sari edamame.

## 1.2 Rumusan Masalah

Enzim lipoksigenase merupakan salah satu enzim yang aktif pada sari kedelai edamame, yang berpotensi menurunkan citarasa dan penerimaan konsumen. Enzim ini menyebabkan munculnya flavor langu yang tidak disukai pada produk berbasis kacang-kacangan termasuk sari edamame (Ying *et al*, 2008).

Munculnya flavor ini dapat diatasi dengan inaktivasi enzim lipoksigenase menggunakan suhu tinggi (Shangwu, 1996), tetapi proses inaktivasi enzim dengan suhu tinggi dapat mengakibatkan terjadinya denaturasi protein, yang disebabkan oleh degradasi asam amino dan beberapa reaksi buruk. Selain itu; warna, rasa, kandungan vitamin dan nutrisi juga akan terpengaruh oleh proses inaktivasi enzim dengan suhu tinggi (Adams, 1991; Borhan dan Snyder, 1979). Oleh karena itu perlu dicari alternatif pengolahan non suhu tinggi. Salah satu metode yang dapat diaplikasikan adalah *Pulsed Electric Field* (PEF) (Min *et al*, 2003). PEF merupakan metode penanganan pangan non-suhu tinggi dan telah dikembangkan menjadi aplikasi komersial hingga saat ini (Min *et al*, 2003). PEF tidak hanya dapat membunuh mikroorganisme dan menonaktifkan enzim, tetapi juga maksimal dalam menjaga keutuhan rasa, warna, tekstur, vitamin, nutrisi, dan kestabilan suhu komponen fungsional makanan (Ying *et al*, 2008).

Metode PEF dengan sampel sari edamame belum pernah dikaji sebelumnya, terutama pada besaran tegangan listrik, serta dikombinasikan dengan suhu dan waktu yang dibutuhkan sampai tercapainya inaktivasi enzim. Oleh karena itu inaktivasi enzim lipoksigenase dengan PEF perlu untuk dikaji lebih lanjut, serta aktifitas enzim *lipoksigenase* pada sari kedelai edamame sesudah diinaktivasi dengan PEF.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh PEF terhadap aktivitas enzim lipoksigenase, total mikroba dan warna sari kedelai edamame dengan kombinasi tegangan, suhu dan waktu yang berbeda.
2. Mengetahui kombinasi perlakuan (suhu, waktu dan tegangan) optimum terhadap intensitas warna, total mikroba dan aktivitas enzim pada sari edamame.
3. Mengetahui hasil prediksi RSM terhadap intensitas warna, total mikroba, dan aktivitas enzim pada sari edamame.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dilakukan penelitian ini adalah, sebagai berikut :

- a. Memperpanjang umur simpan sari edamame
- b. Menurunkan resiko kehilangan komponen kimia bermanfaat akibat pengolahan suhu tinggi.
- c. Meningkatkan citarasa dan penerimaan konsumen pada sari edamame

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Edamame

Kedelai Jepang Edamame adalah tanaman tropis yang merupakan salah satu jenis sayuran (green soybean vegetable). Kedelai Jepang Edamame berasal dari bahasa Jepang. Eda berarti cabang dan mame berarti kacang, dapat diartikan sebagai buah yang tumbuh di bawah cabang (branched bean). Kedelai Jepang Edamame di Negara Cina dikenal dengan sebutan mao dou (hairy bean) atau kacang berambut (Miles, 2000).

Tanaman Edamame dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Ordo : Polypetales

Famili : Leguminosae

Sub-famili : Papilionoideae

Genus : Glycine

Sub-genus : Soja

Species : Max

Dibandingkan dengan kedelai biasa kedelai edamame memiliki beberapa keunggulan, pertama edamame lebih mudah dicerna daripada kedelai biasa, karena edamame memiliki kadar Trypsin Inhibitor yang lebih rendah dan lebih menyehatkan. Edamame di panen saat umur tanaman masih muda. Kedua, Edamame sarat dengan nutrisi dan kaya akan kalsium. Kandungan proteinnya 16%, hampir dua kali lipat dibandingkan dengan kandungan protein pada kacang buncis. Ketiga, Edamame bijinya lebih besar dimana proses pemanenan dilakukan pada saat pengisian polong atau biji sudah mencapai 80-90% atau masuk dalam stadia R6. Fase pertumbuhan polong edamame dapat digolongkan menjadi Rr (mulai berbunga), Rz (berbunga penuh), R3 (mulai berpolong), R4 (berpolong penuh), R5 (mulai pembentukan biji), R6 (berbiji penuh) (soedarmadi *et al*, 2012). Di Jepang, tingkat kebutuhan Edamame sangat tinggi, saat musim panas. Edamame sebagai pasangan minum sake (bir) dan ini sudah menjadi tradisi di negeri Sakura. Tanaman Edamame dapat tumbuh di daerah yang memiliki iklim



tropis, seperti Amerika yaitu di Negara Brazil dan Chile, serta Asia yaitu China, Thailand, Taiwan, Vietnam termasuk di Indonesia. (Singgih, 2013).

Menurut (Johnson *et al*, 1999) edamame mengandung 100 mg/100 g vitamin A atau karotin, 0,27 mg/100 g vitamin B1, 0,14 mg/100 g vitamin B2, 1 mg/100 g vitamin B3, dan 27% vitamin C. kandungan gizi kedelai edamame Jepang yang diuji melalui analisis proksimat ditunjukkan pada **Tabel 2.1**.

**Tabel 2.1.** Hasil Analisis Proksimat Edamame Jepang

Komposisi	Jumlah
Energi (kkal/100g)	582,0
Air (g/100g)	71,1
Protein (g/100g)	11,4
Lipid (g/100g)	6,6
Karbohidrat (g/100g)	7,4
Abu (g/100g)	1,6
Kalsium (mg/100g)	70,0
Fosfor (mg/100g)	140,0
Besi (mg/100g)	1,7
Natrium (mg/100g)	1,0
Kalium (mg/100g)	140,0
Karoten (mg/100g)	100,0
Vitamin B1 (mg/100g)	0,27
Vitamin B2 (mg/100g)	0,14
Niasin (mg/100g)	1,0
Asam askorbat (mg/100g)	27,0

(Sumber: Johnson *et al*, 1999)

Pada edamame, vitamin A, B, zat besi, dan serat pangan juga terkandung dalam jumlah tinggi. Edamame juga mengandung kalsium dalam jumlah yang tinggi, sehingga dapat memperkuat tulang, gigi, dan mencegah resiko osteoporosis. Fitoestrogen yang terdapat dalam edamame juga dapat menurunkan kolesterol, mengurangi resiko sakit jantung, dan mengurangi rasa sakit bagi wanita usia *post-menopausal* (Sciarappa, 2004).

### 2.1.1 Sari Edamame

Sari kedelai adalah salah satu olahan edamame yang dihasilkan dengan cara mengekstrak edamame, kemudian diencerkan sampai mempunyai kenampakan yang mirip susu sapi. kelebihan sari edamame adalah sebagai berikut :

### 1. Sumber Protein yang baik

Dilihat dari kandungan gizinya, sari edamame dapat digunakan sebagai makanan bayi sebagai sumber protein yang baik. Mutu protein sari edamame jika diberikan sebagai makanan tunggal adalah 80 % dari protein susu sapi. Dengan demikian bagi balita yang kekurangan gizi, dengan minum sari edamame 2 gelas setiap hari dapat memenuhi 30% kebutuhan protein.

### 2. Pembuatannya sederhana

Sari edamame dapat dibuat dengan teknologi sederhana dan dalam waktu singkat sehingga dapat dikerjakan oleh industri rumah tangga, industri kecil sampai dengan industri besar.

### 3. Bebas kolesterol dan rendah kadar lemak

Sari edamame hanya terdiri dari protein nabati, tidak mengandung kolesterol, kadar lemaknya hanya sekitar 1/3 dari kadar lemak susu sapi, dan terdiri dari asam-asam linoleat yang dapat mencegah proses penyumbatan pembuluh darah. Nilai kalori kedelai lebih rendah 12% dibanding dengan susu sapi.

### 4. Bebas laktosa

Dengan demikian sari kedelai dapat dipakai sebagai pengganti susu ibu atau susu sapi baik oleh anak-anak maupun dewasa yang tidak tahan terhadap laktosa (Laktosa intolerance). Selain itu sari edamame dapat pula dipakai sebagai pengganti kebutuhan protein hewani.

#### 2.1.2 Proses pembuatan sari edamame

Edamame dikupas dan disortir, lalu dicuci dengan air mengalir. Biji edamame yang sudah bersih kemudian direndam selama 6 jam dalam larutan  $\text{NaHCO}_3$  0,5% dengan perbandingan edamame : air = 1 : 4 (b/v). Lalu edamame ditiriskan dan diblansing dengan air mendidih selama 10 menit. Kemudian biji edamame diblender menggunakan air hangat  $80^\circ\text{C}$  dengan perbandingan edamame : air = 1:4 (b/v) selama 3 menit, dan hasilnya disaring menggunakan kain saring untuk mendapatkan sarinya.

## 2.2 Enzim

Enzim adalah senyawa protein yang dapat mempercepat atau mengkatalis reaksi kimia. Enzim berperan dalam mengubah laju reaksi, sehingga kecepatan reaksi yang dihasilkan dapat dijadikan ukuran keaktifan enzim (Gaman dan Sherington, 1992). Enzim hanya dapat bereaksi pada pH dan temperatur tertentu. Karena enzim adalah protein, maka enzim dalam pakan rentan terdenaturasi. Menurut fungsinya enzim dapat diklasifikasi menjadi 6 kelompok, yaitu oksireduktase, transferase, hidrolase, liase, isomerase, dan ligase. Enzim urease termasuk dalam kategori hidrolase. Hidrolase mengkatalisis pembelahan ikatan antara karbon dan beberapa atom lain dengan adanya penambahan air (Montgomery *et al*, 1993).

Ada empat sifat khas enzim (Montgomery *et al*, 1993), yaitu :

Sangat aktif walaupun dalam konsentrasi yang sangat rendah, sangat selektif Bekerja pada keadaan yang ringan ( tanpa suhu atau tekanan yang tinggi, tanpa logam yang umumnya beracun), hanya aktif pada selang suhu atau pH yang sempit (diluar selang ini enzim tidak dapat bekerja).

Enzim sebagai protein akan mengalami denaturasi jika suhunya dinaikkan. Akibatnya daya kerja enzim menurun. Pada suhu 45°C efek predominannya masih memperlihatkan kenaikan aktivitas sebagaimana dugaan dalam teori kinetik. Tetapi lebih dari 45°C menyebabkan denaturasi ternal lebih menonjol dan menjelang suhu 55°C fungsi katalitik enzim menjadi punah. Hal ini juga terjadi karena semakin tinggi suhu semakin naik pula laju reaksi kimia baik yang dikatalisis maupun tidak. Karena itu pada suhu 40°C, larutan tidak ada gumpalan, begitu juga pada suhu ruang, sedangkan pada suhu 100°C masih ada gumpalan – gumpalan yang menunjukkan kalau enzim rusak. Pada suhu ruang, enzim masih dapat bekerja dengan baik walaupun tidak optimum (Gaman dan Sherrington, 1994).

### 2.2.1 Aktivitas enzim

Ada beberapa faktor untuk menentukan aktivitas enzim berdasarkan efek katalisnya yaitu persamaan reaksi yang dikatalis, kebutuhan kofaktor, pengaruh

konsentrasi substrat dan kofaktor, pH optimal, daerah temperatur, dan penentuan berkurangnya substrat atau bertambahnya hasil reaksi. Penentuan ini biasa dilakukan di pH optimal dengan konsentrasi substrat dan kofaktor berlebih, menjadikan laju reaksi yang terjadi merupakan tingkat ke 0 (*zero order reaction*) terhadap substrat. Pengamatan reaksinya dengan berbagai cara kimia atau spektrofotometri. Ada dua teori tentang mekanisme pengikatan substrat oleh enzim, yaitu teori kunci dan anak kunci (*lock and key*) dan teori induced fit (Wirahadikusumah, 1989).

Aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh suhu. Untuk enzim, suhu optimal antara 35° C dan 40° C, yaitu suhu tubuh. Pada suhu di atas dan di bawah optimalnya, aktifitas enzim akan berkurang. Di atas suhu 50° C enzim secara bertahap menjadi inaktif karena protein terdenaturasi. Pada suhu 100° C semua enzim rusak. Pada suhu yang sangat rendah, enzim tidak benar-benar rusak tetapi aktivasinya sangat banyak berkurang (Gaman dan Sherrington, 1994).

### **2.3 Pulsed Electric Field (PEF)**

Metode nonthermal *Pulsed Electric Field* (PEF) adalah salah satu metode perlakuan non thermal untuk pengawetan makanan, karena PEF berpotensi dalam menginaktivasi mikroba tanpa mengubah cita rasa dan kekayaan nutrisi pada makanan. Proses *Pulsed electric field* intensitas tinggi didasarkan pada aplikasi denyut pendek tegangan tinggi (20-80 kV/cm) dengan waktu yang sangat singkat (kurang lebih 1 detik) pada makanan cair yang ditempatkan diantara dua elektroda (Espachs-Barroso *et al*, 2002) dapat dilihat pada **Gambar 2.1**. Teknologi PEF lebih dipertimbangkan daripada perlakuan panas terhadap makanan, karena PEF dapat membunuh mikroba lebih banyak, menghindari atau mengurangi kerusakan citarasa, sifat fisik makanan dan kerusakan organoleptik (Cueva, 2003).

Inaktivasi mikroba yang dilakukan dengan PEF berhubungan dengan ketidakstabilan membran sel secara elektro-mekanik. Membran sel melindungi mikroba dari kondisi lingkungan sekitar dengan cara bekerja sebagai dinding semipermeabel, contohnya membran tersebut mengatur masuknya nutrisi kedalam sel dan mengatur keluarnya produk akhir dari aktivitas metabolisme sel

(Jeyamkondan *et al*, 2008). Jika membran sel mengalami pemecahan, maka terjadi pengeluaran cairan dari dalam sel dan kehilangan aktivitas metabolisme sel.



**Gambar 2.1.** *Pulsed Electric Field (PEF)*

#### 2.4 Pengujian Warna

Warna merupakan sebuah nama yang muncul atas segala aktivitas pada retina mata. Selain itu, warna adalah hal penting bagi berbagai macam makanan. Warna juga menunjukkan indikasi adanya perubahan kimia dalam makanan seperti misalnya browning karamelisasi. Untuk beberapa makanan cair yang jernih seperti minyak, warna merupakan refleksi dari cahaya (de Man, 1999). Pengukuran warna secara objektif penting dilakukan karena pada produk pangan warna merupakan daya tarik utama sebelum konsumen mengenal dan menyukai sifat-sifat lainnya. Warna tepung dapat diamati secara kuantitatif dengan metode Hunter menghasilkan tiga nilai pengukuran yaitu L, a dan b. Nilai L menunjukkan tingkat kecerahan sampel. Semakin cerah sampel yang diukur maka nilai L mendekati 100. Sebaliknya semakin kusam (gelap), maka nilai L mendekati 0. Nilai a merupakan pengukuran warna kromatik campuran merah-hijau. Nilai b merupakan pengukuran warna kromatik campuran kuning-biru (Hutching, 1999) Panjang gelombang warna yang bisa ditangkap mata berkisar antara 380 – 780 nanometer dan panjang gelombang ini menentukan sifat warna.

Warna juga berarti interpretasi otak dari campuran warna primer, yaitu merah, hijau dan biru dengan komposisi tertentu. Klasifikasi warna paling penting adalah sistem CIE (Commission International de l'éclairage). Sistem lain yang digunakan untuk mendeskripsikan warna makanan antara lain system Munsell, Hunter, Lovibond (de Man, 1999). Sistem Hunter merupakan salah satu system warna yang telah luas digunakan untuk kolorimetri makanan. Dalam system Hunter warna dibedakan menjadi 3 dimensi warna. Simbol a untuk dimensi kemerahan dan kehijauan. Simbol b untuk dimensi kekuningan dan kebiruan. Dimensi warna yang ketiga adalah L (Lightness) atau kecerahan. Nilai CIE dapat dikonversi menjadi nilai warna dalam system Hunter menjadi L, a, b. Begitu pula sebaliknya nilai L, a, b dapat dikonversi menjadi nilai CIE X%,Y,Z% (de man, 1999). Warna dapat diukur secara modern dengan sebuah alat, yaitu color reader seri CR – 10. Instrumen ini terdiri atas ujung reseptor (A), sebuah layar dan 4 buah tombol. 3 tombol adalah target,lab,Lch yang terletak dibawah layar pada sisi samping alat. 1 tombol terletak pada sisi atas alat yang berfungsi sebagai tombol start saat menembakan sampel (de Man, 1999). Komponen color reader terdiri dari :

1. Reseptor : berfungsi sebagai tempat menempelnya sampel yang akan diuji warnanyayang akan membaca warna sampel tersebut.
2. Penutup reseptor : berfungsi untuk menutup reseptor setelah digunakan.
3. Tombol on/off : berfungsi untuk mengaktifkan dan menonaktifkan color reader.
4. Tombol target : tombol ini ditekan saat sampel ditempelkan pada reseptor.
5. Layar hasil : berfungsi sebagai tempat hasil pembacaan warna oleh reseptor.
6. Tombol sistem L, a, b dan Lch : metode yang dipakai untuk pembacaan warna yang diinginkan.

Cara kerja alat ini adalah ditempelkan pada sampel, yang akan diuji intensitas warnanya, kemudian tombol pengujian ditekan sampai berbunyi atau lampu menyala dan akan memunculkannya dalam bentuk angka dan kemudian diukur pada grafik untuk mengetahui spesifikasi warna.

## 2.5 Pengujian Total Mikroba

Pertumbuhan mikroorganisme yang membentuk koloni dapat dianggap bahwa setiap koloni yang tumbuh berasal dari satu sel, maka dengan menghitung jumlah koloni dapat diketahui penyebaran bakteri yang ada pada bahan. Jumlah mikroba pada suatu bahan dapat dihitung dengan berbagai macam cara, tergantung pada bahan dan jenis mikroba. *Total Plate Count* (TPC) adalah cara yang digunakan untuk menghitung koloni mikroorganisme dalam sebuah cawan (*plate*) dalam berbagai pengenceran.

Prinsip dari metode hitungan cawan atau *Total Plate Count* (TPC) adalah menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media agar, sehingga mikroorganisme akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Metode ini merupakan metode yang paling sensitif untuk menentukan jumlah mikroorganisme. Dengan metode ini, kita dapat menghitung sel yang masih hidup, menentukan jenis mikroba yang tumbuh dalam media tersebut serta dapat mengisolasi dan mengidentifikasi jenis koloni mikroba tersebut.

Pada metode ini, teknik pengenceran merupakan hal yang harus dikuasai. Sebelum mikroorganisme ditumbuhkan dalam media, terlebih dahulu dilakukan pengenceran sampel menggunakan larutan fisiologis. Tujuan dari pengenceran sampel yaitu mengurangi jumlah kandungan mikroba dalam sampel sehingga nantinya dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganisme secara spesifik sehingga didapatkan perhitungan yang tepat. Pengenceran memudahkan dalam perhitungan koloni (Fardiaz, 1992). Tahapan pengenceran dimulai dari membuat larutan sampel sebanyak 10 ml (campuran 1 ml/1gr sampel dengan 9 ml larutan fisiologis). Dari larutan tersebut diambil sebanyak 1 ml dan masukkan kedalam 9 ml larutan fisiologis sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-2}$ . Dari pengenceran  $10^{-2}$  diambil lagi 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan fisiologis sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-3}$ , begitu seterusnya sampai mencapai pengenceran yang kita harapkan.

Setelah dilakukan pengenceran, kemudian dilakukan penanaman pada media lempeng agar. Setelah diinkubasi, jumlah koloni masing-masing cawan

diamati dan dihitung. Koloni merupakan sekumpulan mikroorganisme yang memiliki kesamaan sifat seperti bentuk, sarinan, permukaan, dan sebagainya.

Uji *Total Plate Count* menggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual dan dihitung. Sebelum diuji di media padat, sampel terlebih dahulu harus diencerkan. Pengenceran sampel dilakukan terhadap sediaan yang akan diidentifikasi kemudian ditanam pada media lempeng agar. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada lempeng agar dihitung setelah inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai. Perhitungan dilakukan terhadap petri dengan jumlah koloni bakteri antara 30-300. *Total Plate Count* dinyatakan sebagai jumlah koloni bakteri hasil perhitungan dikalikan faktor pengencer.

Teknik pengenceran sampel dilakukan pada metode cawan tuang (*pour plate*). Pada metode tuang, sejumlah sampel dari hasil pengenceran sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan media yang telah disterilkan sebanyak 15-20 ml. Kemudian cawan petri digoyang agar media dan sampel tercampur rata dan biarkan memadat. Hal ini akan menyebarkan sel-sel bakteri tidak hanya pada permukaan media yang kaya oksigen, tetapi ada pula yang tumbuh di dalam media yang tidak begitu banyak mengandung oksigen.

## 2.6 Metode Respon Permukaan/ Response Surface Methods (RSM)

Metode respon permukaan (RSM) adalah kumpulan teknik matematis dan statistik yang dimanfaatkan untuk membentuk pemodelan dan menganalisis masalah dalam wujud suatu respon permukaan 3 dimensi yang menunjukkan pengaruhnya terhadap variabel variabel tertentu dalam sebuah pengujian. Tujuan dari RSM adalah menyeleksi kombinasi perlakuan. Metode ini bisa digunakan untuk penelitian dengan jumlah faktor yang banyak dengan 3 dan 5 level perlakuan (Iriawan dan Septi, 2006).

Dalam penggunaan RSM terdapat dua jenis desain, yaitu *Central Composite Design* dan *Box-Behnken Design*.

1. *Central Composite Design*, yang direkomendasikan untuk desain eksperimen yang sekuensial (*sequential experiment*) atau perencanaan desain yang



dilakukan secara berulang-ulang. Untuk desain dengan jumlah faktor yang sama, jumlah eksperimen yang dilaksanakan lebih banyak dibanding jumlah design *Box-Behnken*.

2. *Box-Behnken Design*, merupakan perencanaan desain yang digunakan untuk desain eksperimen yang tidak sekuensial, yang hanya direncanakan untuk satu kali eksperimen. Untuk desain dengan jumlah faktor yang sama, jumlah eksperimen yang dilaksanakan lebih sedikit dibandingkan dengan design *Central Composite* (Iriawan dan Septi, 2006).

Pengolahan data dilakukan dengan software minitab 14 yang menghasilkan Komponen-komponen yang akan digunakan sebagai acuan dalam pengujian kelayakan data. Pengujian tersebut diantaranya :

#### Pengujian Kesesuaian Model

Pengujian ini diperlukan untuk mengetahui seberapa besar tingkat kebenaran antara data yang dimiliki dengan model yang dihasilkan oleh RSM. Untuk mengetahui apakah model sudah sesuai maka dilakukan beberapa pengujian yaitu uji *lack of fit*, uji parameter serentak dan pengujian koefisien determinasi ( $R^2$ ) (Bradley, 2007).

##### a. Uji *lack of fit*

Uji *lack of fit* untuk mengetahui kesesuaian model yang telah dihasilkan dari analisis RSM dengan kondisi data yang sebenarnya. Hipotesis yang digunakan pada uji *lack of fit* adalah sebagai berikut:

$H_0$  = tidak ada *lack of fit* dalam model (model sesuai)

$H_1$  = ada *lack of fit* dalam model (model tidak sesuai)

Nilai *P-Value* untuk *lack of fit* pada table harus lebih besar dari 0,05 pada taraf pengujian  $\alpha = 0,05$  , sehingga  $H_0$  diterima, dengan demikian *lack of fit* pada model tidak nyata atau model telah sesuai (Bradley, 2007).

### b. Uji Parameter Serentak

Uji parameter serentak untuk mengetahui model regresi yang tepat digunakan untuk menganalisis data hasil percobaan. Hipotesis yang digunakan pada uji parameter serentak adalah sebagai berikut:

$$H_0 : \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_k = 0$$

$$H_1 : \text{minimal ada satu } \beta_j \neq 0; j = 1, 2, \dots, k$$

Daerah penolakan yaitu jika  $p\text{-value} < \alpha$  (Bradley, 2007).

Level toleransi yang akan digunakan adalah  $\alpha = 0,05$  untuk mengevaluasi *output* uji parameter serentak, analisis yang digunakan adalah analisis statistik *P-Value*. Ada dua regresi yang harus diperiksa, yaitu linier ( $\beta_1$ ) dan kudratik ( $\beta_2$ ). Tabel anova akan menunjukkan nilai *P-Value* untuk regresi linier (*linear*), model kudratik (*square*), model interaksi (*interaction*), jika nilai model-model tersebut lebih kecil dari  $\alpha = 0,05$  berarti signifikan.

### c. Pengujian Koefisien Determinasi ( $R^2$ )

Nilai koefisien  $R^2$  menunjukkan seberapa besar pengaruh variable terhadap respon. Dalam hal ini variable adalah faktor-faktor yang digunakan dalam percobaan, sedangkan respon adalah data hasil percobaan. Nilai koefisien determinasi terletak antara  $0 < R^2 < 1$ . Semakin besar nilai  $R^2$  maka semakin besar pula pengaruh semua variable X terhadap variable Y, dengan demikian pengaruh variable terhadap respon dapat dijelaskan oleh model regresi yang dihasilkan (Bradley, 2007).

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium mikrobiologi pangan dan hasil pertanian, laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian dan Laboratorium CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Januari tahun 2017 – April tahun 2017.

### 3.2 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan untuk penelitian ini meliputi neraca analitik (ES 2200C dan ES 225SM-DR, Swiss), *magnetic stirrer* (Medline MS300HS), penangas (Medline MS300HS, Jerman), *shaker water batch* (Model Orbital Shaking Inkubator), peralatan gelas (*glassware*), blender (Miyako), kertas saring (whatman no.42), spektrofotometer (Hitachi U-2900UV), *sentrifuge* (Hitachi CR216 III), *colour reader* (minolta CR-10), PEF (*Pulsed Electric Field*).

#### 3.2.2 Bahan Penelitian

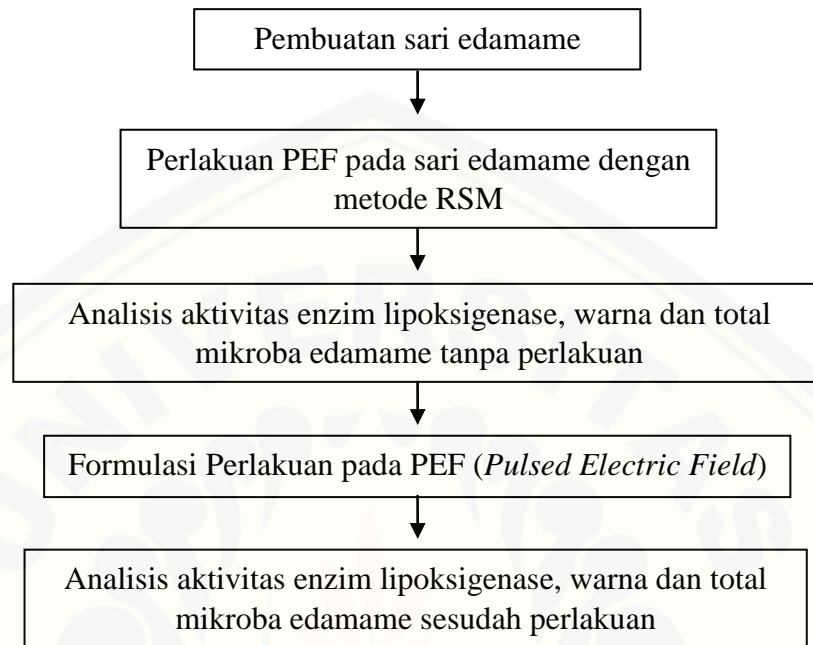
Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah edamame spesies *Glycine max* (varietas SPM 1 dari PT. Mitratani Dua Tujuh Kabupaten Jember Jawa Timur), asam borat (merck), tween 20 (merck), asam linoleat (sigma aldrich), Natrium hidroksida (NaOH), Mono kalium Phospate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), kalium Phospate ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ), PCA (*Plate Count Agar*), Natrium clorida (NaCl) (merck).

### 3.3 Rancangan Penelitian

#### 3.3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam beberapa tahapan, yaitu 1) pembuatan sari edamame, 2) perlakuan PEF pada sari edamame dengan metode RSM, 3) Analisis aktivitas enzim lipoksigenase sari edamame tanpa perlakuan, 4) penentuan suhu dan tegangan optimum pada PEF (*Pulsed Electric Field*), 5) Analisis aktivitas

enzim lipoksigenase sari edamame sesudah perlakuan. Diagram alir tahapan penelitian dapat dilihat pada **Gambar 3.1**



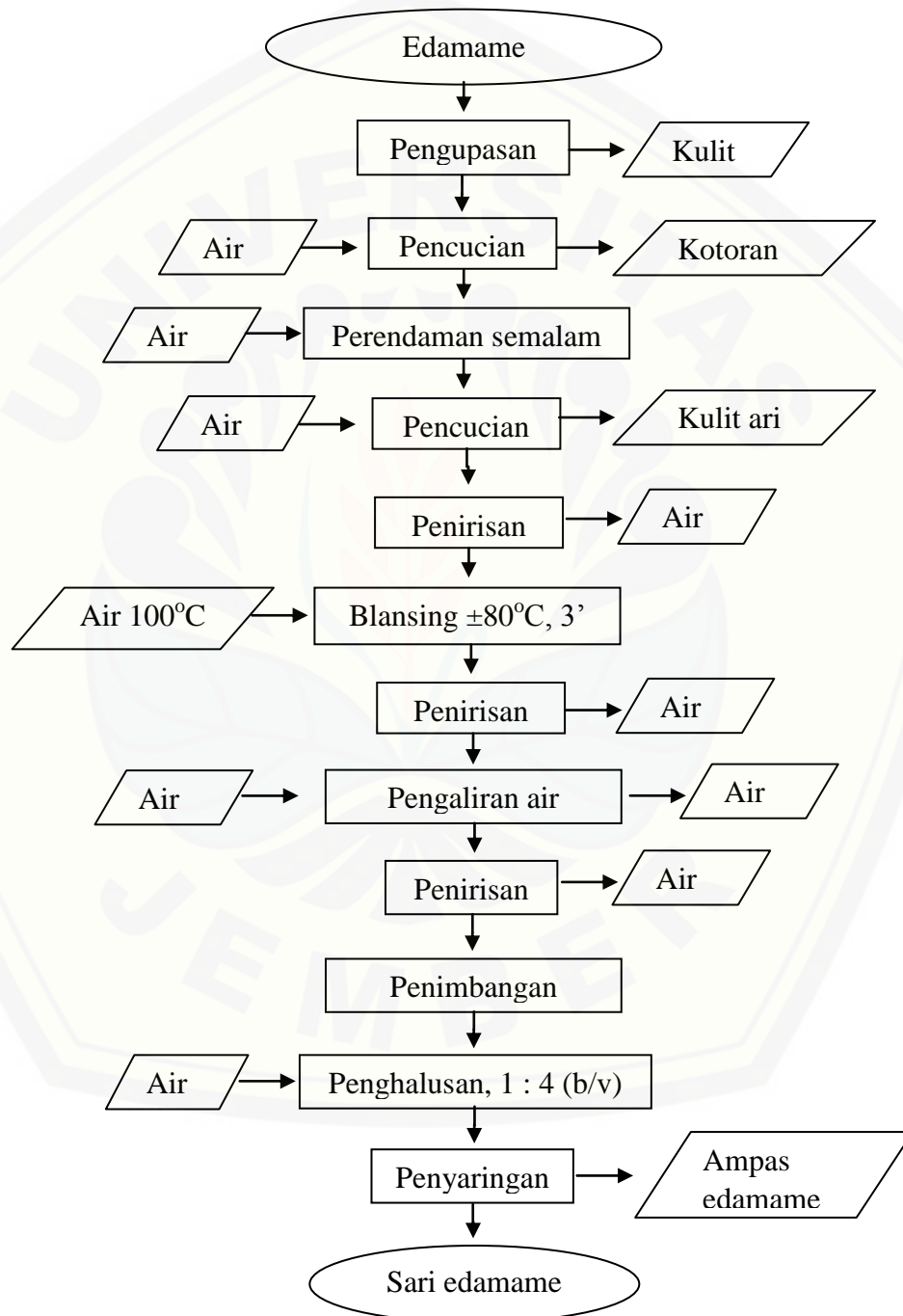
**Gambar 3.1** Diagram alir tahapan penelitian

Sari edamame dibuat dengan penambahan air saja tanpa penambahan bahan lain. Produk diuji aktivitas enzimnya terlebih dahulu, kemudian diberi perlakuan menggunakan PEF (*Pulsed Electric Field*) dengan variasi suhu, waktu dan tegangan dengan komposisi perlakuan yang telah diformulasi menggunakan metode RSM. Tahap terakhir dilakukan pengujian dan analisis warna, total mikroba dan aktivitas enzim setelah diberi perlakuan.

### 3.3.2 Pembuatan sari edamame

Edamame dikupas dan dipisahkan antara biji dengan kulitnya, lalu dicuci dengan air mengalir untuk membuang kotoran yang melekat. Biji edamame yang sudah bersih ditiriskan dan direndam selama satu malam. Biji edamame dicuci terlebih dahulu untuk memisahkan kulit arinya dan ditiriskan, kemudian dilakukan blansing dengan air mendidih pada suhu  $\pm 80^{\circ}\text{C}$  selama 3 menit. Tahapan selanjutnya setelah diblanching ditiriskan dan dialiri air untuk menurunkan suhu dan menghentikan pematangan. Kemudian ditimbang sebanyak 300 gram untuk

dilakukan penghalusan dengan cara diblender bersama air matang dengan perbandingan edamame : air = 1:4 (b/v) sampai benar-benar hancur. Setelah itu dilakukan penyaringan dengan kain saring yang sudah disterilisasi untuk mendapatkan sari edamame. Diagram alir dapat dilihat pada **Gambar 3.2**.



**Gambar 3.2** Pembuatan sari edamame (Anggraini, 2015)

### 3.3.2 Formulasi Perlakuan PEF dengan Metode RSM

Perlakuan PEF pada sari edamame dibuat berdasarkan model *Box-Behnken* pada metode *Response Surface Methods (RSM)*, kemudian dilakukan analisis terhadap beberapa parameter yang digunakan. Pada perlakuan menggunakan PEF pengolahan data menggunakan *Response Surface Methods (RSM)* untuk mengetahui formulasi perlakuan optimum pada sari edamame. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program statistic *Minitab v. 14*. Dapat dilihat pada **Tabel 3.1**

**Tabel 3.1** Kombinasi Perlakuan PEF

Variabel tak bebas	Simbol	Coded Values		
		-1	0	+1
Tegangan	X1	35	40	45
Waktu	X2	10	20	30
Suhu	X3	30	40	50

Keterangan :

- Besarnya tegangan listrik pada PEF menggunakan satuan (kV)
- Waktu yang digunakan menggunakan satuan (detik/second)
- Suhu menggunakan satuan (°C)

Secara umum model persamaan respon permukaan adalah sebagai berikut:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2$$

Dimana Y merupakan nilai parameter hasil perhitungan model;  $\beta_0$  adalah konstanta;  $\beta_i$ ,  $\beta_{ii}$ ,  $\beta_{ij}$  adalah koefisien untuk kondisi linier, kuadratik dan interaksi.

**Tabel 3.2** Optimasi Perlakuan PEF pada Sari Edamame

No.	Level Perlakuan			Perlakuan		
	X1	X2	X3	Tegangan	Waktu	Suhu
1	0	-1	+1	40	10	50
2	+1	-1	0	45	10	40
3	-1	0	+1	35	20	50
4	0	0	0	40	20	40
5	+1	+1	0	45	30	40
6	-1	-1	0	35	10	40
7	-1	+1	0	35	30	40
8	+1	+1	+1	40	30	50
9	-1	0	-1	35	20	30
10	0	+1	-1	40	30	30
11	0	0	0	40	20	40
12	0	0	0	40	20	40
13	0	-1	-1	40	10	30
14	+1	0	-1	45	20	30
15	+1	0	+1	45	20	50

### 3.4 Parameter Pengamatan

Parameter yang akan diamati pada inaktivasi enzim lipoksigenase dari sari edamame antara lain :

- a) aktivitas enzim lipoksigenase
- b) warna
- c) total mikroba

### 3.5 Prosedur Analisis

#### 3.5.1 Aktivitas enzim lipoksigenase

Aktivitas enzim lipoksigenase diukur menggunakan spektrofotometri secara kontinyu berdasarkan oksidasi enzimatik asam linoleat dengan hidroperoksida asam linoleat, berikut ini prosedur analisis aktivitas enzim lipoksigenase menurut (Ying *et al*, 2008). Sampel sebanyak 1 g diekstraksi dengan 50 mL buffer fosfat (0,2 M, pH 6,8) dengan cara diaduk selama 2 jam pada suhu 25 °C menggunakan *magnetic stirrer*. Sampel disentrifugasi pada 15.000 rpm suhu 4 °C selama 10 menit. Supernatan digunakan dalam penentuan aktivitas lipoksigenase. Larutan

stok asam linoleat dibuat dengan menggunakan 140 mg asam linoleat, 140 mg Tween 20 dan 8 mL aquades. larutan ditambahkan 1,1 mL 0,5 N NaOH lalu ditera dengan aquades hingga 50 mL. Larutan stok asam linoleat diencerkan (1:40 v/v) dengan 0,2 M buffer natrium borat pH 9,0 sebelum digunakan. 2,5 mL larutan asam linoleat ditambahkan 10  $\mu$ L supernatant, sampel digojok selama 5 detik kemudian densitas optik diukur pada  $\lambda$  234 nm (Zhu *et al*, 1996). Absorbansi dilakukan selama 5 menit dan dicatat perubahannya setiap menit. *Quartz cuvettes* kosong disiapkan untuk diisi 1 ml borat dan 2 ml larutan substrat. Spektrofotometer dikalibrasi ulang setiap kali habis menghitung nilai absorbansi. Tingkat reaksi secara otomatis terekam melalui kurva absorbansi. Data selanjutnya disajikan dalam kurva standar, untuk mengetahui aktivitas setiap unit enzim lipoksigenase ditunjukkan melalui perubahan dari 0,01 unit absorbansi per menit.

$$\text{Aktivitas lipoksigenase (U)} : \frac{x}{\frac{\text{menit}}{0,1}}$$

Keterangan:

x = gradien

menit = waktu absorbansi.

### 3.5.2 Warna

Pengukuran warna meliputi derajat kecerahan (L), kemerahan (a+) dan kekuningan (b+) dilakukan menggunakan *color reader*. Sampel diambil sebanyak 10 ml dan ditempatkan dalam plastik clip yang transparan. Berikutnya sampel ditempelkan pada tempat target, yaitu pada ujung lensa color reader. Ditekan tombol *power* untuk menghidupkan, kemudian tekan tombol *target* maka akan muncul nilai L, a, b yang ada pada layar color reader dan dilakukan pencatatan hasil pengukuran nilai L, a, dan b. Nilai warna dihitung dengan rumus berikut :

$$a^* = \text{standar a} + da$$

$$b^* = \text{standar b} + db$$

$$c = a^2 + b^2$$

$$H = 180 - \tan^{-1} b^*/a^* \text{ (jika a positif dan b positif)}$$



$$180 + \tan^{-1} b^*/a^* \text{ (jika } a \text{ negatif dan } b \text{ negatif)}$$

$$180 - \tan^{-1} b^*/a^* \text{ (jika } a \text{ negatif dan } b \text{ positif)}$$

Nilai L menyatakan parameter kecerahan (lightness) yang mempunyai nilai dari 0 (hitam) sampai 100 (putih). Nilai a menyatakan cahaya pantul yang menghasilkan warna kromatik campuran merah-hijau dengan nilai +a (positif) dari 0-100 untuk warna merah dan nilai -a (negatif) dari 0-(-80) untuk warna hijau. Nilai b menyatakan warna kromatik campuran biru-kuning dengan nilai +b (positif) dari 0-70 untuk kuning dan nilai -b (negatif) dari 0-(-70) untuk warna biru. Nilai H (hue) menyatakan sudut warna, yaitu 0° (netral), 90° (kuning), 180° (hijau), 270° (biru) (Hutching, 1999). Deskripsi warna berdasarkan nilai hue dapat dilihat pada **Tabel 3.3**.

**Tabel 3.3** Deskripsi warna berdasarkan °Hue

Deskripsi warna	°Hue [arc tan (b/a)]
<i>Red (R)</i>	18 – 54
<i>Yellow Red (YR)</i>	54 – 90
<i>Yellow (Y)</i>	90 – 126
<i>Yellow Green (YG)</i>	126 – 162
<i>Green (G)</i>	162 – 198
<i>Blue Green (BG)</i>	198 – 234
<i>Blue (B)</i>	234 – 270
<i>Blue Purple (BP)</i>	270 – 306
<i>Purple (P)</i>	306 – 342
<i>Red Purple (RP)</i>	342 – 18

Sumber : Hutching (1999)

### 3.5.3 Total Mikroba

Sebanyak 1 ml sampel ditambahkan 9 ml larutan fisiologis ( $10^{-1}$ ), kemudian ambil 1000 µl diencerkan ke dalam 900 µl larutan fisiologis ( $10^{-2}$ ) di dalam tabung reaksi, dilakukan sampai pengenceran yang ditentukan, setelah itu sejumlah 100 µl didrop ke dalam petridish yang telah mengandung media padat, diamkan selama 24 - 48 jam kemudian dihitung jumlah mikroba dengan rumus :

$$\text{Koloni per gram} = \text{jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

Analisis mikroba dilakukan dengan hitungan cawan digunakan berdasarkan standar yang disebut *Total Plate Count (TPC)* (Fardiaz, 1992).

### 3.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan cara deskriptif yang dilengkapi dengan Grafik dan Tabel.



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil uji parameter serentak, *lack of fit*, dan koefisien determinasi pada variable PEF (suhu, waktu, tegangan) berpengaruh signifikan terhadap penurunan intensitas warna, total mikroba, dan aktifitas enzim lipoksigenase pada sari edamame.
2. Hasil kombinasi perlakuan optimum untuk menghasilkan sari edamame dengan intensitas warna tinggi, total mikroba rendah, dan aktivitas enzim lipoksigenase rendah berdasarkan metode RSM, yaitu menggunakan tegangan sebesar 45 kV, waktu 26,7807 detik dan suhu 50°C.
3. Respon dari parameter yang diamati terhadap perlakuan optimum berdasarkan RSM terhadap sari edamame menunjukkan intensitas warna optimum sebesar 173,3405, total mikroba 0,6247 CFU/ml dan aktivitas enzim 612,9714 Unit/ml.

### 5.2 Saran

Saran untuk penelitian ini, perlu dilakukan uji organoleptik dan penelitian terhadap kandungan gizi pada sari edamame setelah diberikan perlakuan PEF apakah mengalami penurunan atau stabil, selain itu juga bisa menggunakan sampel lain selain sari edamame untuk pengaplikasian PEF.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Adams, J. B. 1991. Enzyme inactivation during heat processing of food-stuffs. *International Journal of Food Science and Technology*, 26, 1–20.
- Anggraini, A., dan Yunianta. 2015. Pengaruh Suhu Dan Lama Hidrolisis Enzim Papain Terhadap Sifat Kimia, Fisik Dan Organoleptik Sari Edamame. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3, 1015-1025.
- Asadi. 2009. *Karakterisasi Plasma Nutfah untuk Perbaikan Varietas Kedelai Sayur (Edamame)*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Buletin Plasma Nutfah.
- Barbosa-Cánovas, G. V., U. R Pothakamury, E. Palou, B.G. Swanson. 1999. *Preservation of Foods with Pulsed Electric Fields*. Academic Press. San Diego
- Borhan, M., dan Snyder, H. E. 1979. Lipoxygenase destruction in whole soybeans by combinations of heating and soaking in ethanol. *Journal of Food Science*, 44, 586–590.
- Bradley, N. 2007. The Response Surface Methodology. *Thesis*. Department of Mathematical Science Indiana University of South Bend, Indiana.
- Brennan, J.G. 2006. *Food Processing Handbook*. WILEY-VCH Verlag GmbH dan Co. KGaA. Weinheim.
- Castro, S.L., 2001. Propolis: Biological and Pharmacological Activities. Therapeutic Uses of this Bee-product. ARBS Annual Rev. *Biomed. Sci*.
- Cheng, S.H. 1991. Vegetable soybean area, production, foreign and domestic trade in Taiwan. In Vegetable Soybean. *Research Needs for Production and Quality Improvement*. AVRDC. Taiwan.
- Cueva, Olga A. 2003. *Pulsed Electric Field Influences on Acid Tolerance, Bile Tolerance, Protease Activity and Growth Characteristics of Lactobacillus Acidophilus La-K*. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. Honduras
- DeMan. 1999. *Principle of Food Chemistry*. Connecticut: The Avi Publishing Co., Inc., Westport.
- Derringer, G. and Suich, R. 1980. Simultaneous Optimization of Several Response Variables. *Journal of Quality Technology*, 12, 214-219.

- Espachs-Barroso, A., Bendicho, S., Barbosa-Canovas, G. V., dan Martin-Belloso, O. 2002. *Inactivation of a commercial pectic enzyme by high intensity pulsed electric fields, in the abstract book of the symposium 'emerging technologies for the food industry', held in Madrid, Spain*. Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, Madrid.
- Estiasih, T. dan Ahmadi, K. 2009. *Teknologi Pengolahan Pangan*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Fardiaz, S., 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Gaman, P.M dan K.B. Sherrington. 1992. *Ilmu Pangan, Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi*. Universitas Gadjah Mada press. Yogyakarta.
- Gaman, P.M. dan K.B. Sherrington. 1994. *Ilmu Pangan, Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi*. Edisi Kedua. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Hutching, J.B. 1999. *Food and Appearance, second edition*. Aspen publ. Inc. Gaithersburg. Maryland
- Iriawan, D dan A. Septin. 2006. *Mengolah Data Statistik dengan Mudah Menggunakan Minitab 14*. Yogyakarta: Penerbit Andi.
- Jeyamkondan, S., D.S.Jayas, and R.A. Holley 2008. *Pasteurization of foods by Pulsed Electric Fields at High Voltages*. Department of Biosystems Engineering and Department of FoodScience University of Manitoba Winnipeg. Canada
- Johnson, D., Wang, S., dan Suzuki, A. 1999. *Edamame Vegetable Soybean for Colorado*. In: Janick, J. (eds.). *Perspective on New Crops and New Uses*. ASHS Press, Alexandria.
- Keshani, S., Chuah, A.L., Nourouzi, M.M., Russly, A.R., and Jamilah, B. 2010. Optimization of concentration process on pomelo fruit juice using response surface methodology (RSM). *International Food Research Journal* 17: 733–742.
- Konovsky J., T.A. Lumpkin, and D. McClary. 1994. *Edamame: The vegetable soybean*. In O'Rourke, A.D. (Ed.). *Understanding The Japanese Food and Agrimarket: A Multifaceted Opportunity*. Haworth Press, Binghamton.
- Koswara, S., 1988. *Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadikan Makanan Bermutu*. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.

- Meidyawati. 2006. *Hama Utama Dan Musuh Alami Pada Tanaman Kedelai Edamame (Glycine max varietas Edamame)*, di Desa Sukamaju, Kecamatan Megamendung, Kabupaten Bogor, Jawa Barat. [skripsi]. Bogor: Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Miles CA, Lumkin TA, Zenz L. 2000. *Edamame Departemen of Natural Resources*. (<http://foodfarm.wsu.edu.html>). [6 juni 2016]
- Min, S., Jin, Z. T., dan Zhang, Q. H. 2003. Commercial Scale Pulsed Electric Field Processing Of Tomato Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3338–3344.
- Montgomery, D.C. 2005. *Design and Analysis of Experiments*. 5th edition, New York: John Wiley & Sons.
- Montgomery, R. 1993. *Biokimia Suatu Pendekatan Berorientasi Kasus*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Pambudi, Singgih. 2013. *Budidaya dan Khasiat Kedelai Edamame Camilan Sehat dan Lezat Multi Manfaat*. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Baru.
- Sciarappa, W.J. 2004. *Edamame: The Vegetable Soybean*. Rutgers Cooperative Research & Extension, New Jersey.
- Shangwu, Z., Mian N. R., dan Edmund W. L. 1996. Effect of Different Extrusion Temperatures and Moisture Content on Lipoxygenase Inactivation and Protein Solubility in Soybeans. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3315-3318.
- Smith, A. K., dan Circle, S. J. 1972. *Soybean Chemistry and Technology*. Connecticut : The AVI Publishing Co.
- Soedarmadi, Wayan S., Charles L., I Gede M.,. 2012. Pastura. *Journal of Tropical Forage Science*, 1, 25 – 29.
- Taylor, A.J. 1984. *Natural Colours in Food*. In Development in Food Colours 2. J. Walford (ed). Elsevies Applied Science Pub. London dan New York.
- Wang, H.L., G.C. Mustakas, W.J. Wolf, L.C. Wang, C.W. 1979. *Human Food Unprocessed And Simply Processed*. USDA Utilization Report.
- Winarno, F.G. 2008. *Kimia Pangan Dan Gizi*. M-brio Press Cetakan 1. Bogor
- Wirahadikusumah, M. 1989. *Biokimia: Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. ITB. Press. Bandung.

Ying, Q. L., Qun, C., Xiu, H. L., dan Zheng, X. C. 2008. Inactivation Of Soybean Lipoxygenase In Soymilk By Pulsed Electric Fields. *Journal of Food Chemistry*, 109, 408–414.













## Lampiran B. Perhitungan Total Mikroba

Sampel	Duplo	Tingkat Pengenceran			Jumlah Mikroba	Rata-rata koloni $10^{-7}$		
		10 (-5)	10 (-6)	10 (-7)				LOG CFU
Control	1	385	175	91	$91 \cdot 10^{-7}$	$95 \cdot 10^{-5}$	95	8,977723605
	2	398	190	99	$99 \cdot 10^{-7}$			
1	1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0			
2	1	11	49	26	$49 \cdot 10^{-6}$	$51 \cdot 10^{-6}$	5,1	7,707570176
	2	10	53	22	$53 \cdot 10^{-6}$			
3	1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0			
4	1	15	5	0	$15 \cdot 10^{-5}$	$14,5 \cdot 10^{-5}$	0,145	6,161368002
	2	14	1	1	$14 \cdot 10^{-5}$			
5	1	23	39	23	$39 \cdot 10^{-6}$	$46 \cdot 10^{-6}$	4,6	7,662757832
	2	24	53	41	$53 \cdot 10^{-6}$			
6	1	3	40	67	$67 \cdot 10^{-7}$	$62 \cdot 10^{-7}$	62	8,792391689
	2	8	16	57	$57 \cdot 10^{-7}$			
7	1	56	33	15	$56 \cdot 10^{-5}$	$54 \cdot 10^{-5}$	0,54	6,73239376
	2	52	45	30	$52 \cdot 10^{-5}$			
8	1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0			
9	1	49	41	35	$49 \cdot 10^{-5}$	$51 \cdot 10^{-5}$	0,51	6,707570176
	2	53	43	30	$53 \cdot 10^{-5}$			
10	1	57	34	19	$57 \cdot 10^{-5}$	$54 \cdot 10^{-5}$	0,54	6,73239376
	2	51	39	12	$51 \cdot 10^{-5}$			
11	1	2	0	0	$2 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-5}$	0,01	5
	2	0	0	0	0			
12	1	4	5	0	$4 \cdot 10^{-5}$	$5,5 \cdot 10^{-5}$	0,055	5,740362689
	2	7	14	0	$7 \cdot 10^{-5}$			
13	1	55	25	17	$55 \cdot 10^{-5}$	$52 \cdot 10^{-5}$	0,52	6,716003344
	2	49	21	15	$49 \cdot 10^{-5}$			
14	1	54	24	0	$54 \cdot 10^{-5}$	$43,5 \cdot 10^{-5}$	0,435	6,638489257
	2	33	13	4	$33 \cdot 10^{-5}$			
15	1	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0			

## Lampiran C. Perhitungan Aktivitas Enzim Lipoksigenase

SAMPEL	Nilai Absorbansi Sari Edamame		Rata - rata	LOX Act (U/ml)	LOX Act (%)
	Abs 1	Abs 2	Nilai Absorbansi		
C	0,557	0,567	0,562	1124	
S1	0,435	0,383	0,409	818	72,77580071
S2	0,441	0,409	0,425	850	75,6227758
S3	0,307	0,346	0,3265	653	58,09608541
S4	0,394	0,421	0,4075	815	72,5088968
S5	0,179	0,228	0,2035	407	36,20996441
S6	0,389	0,356	0,3725	745	66,28113879
S7	0,351	0,402	0,3765	753	66,99288256
S8	0,438	0,413	0,4255	851	75,71174377
S9	0,416	0,434	0,425	850	75,6227758
S10	0,412	0,391	0,4015	803	71,44128114
S11	0,275	0,36	0,3175	635	56,49466192
S12	0,371	0,354	0,3625	725	64,50177936
S13	0,373	0,391	0,382	764	67,97153025
S14	0,398	0,435	0,4165	833	74,11032028
S15	0,267	0,43	0,3485	697	62,01067616

**Lampiran D. Data Perhitungan Pada Minitab.14****Lampiran D.1 Data Hasil Penelitian RSM**

No.	Level Perlakuan			Perlakuan			Hasil		
	X1	X2	X3	Tegangan	Waktu	Suhu	Warna	Total Mikroba	Aktivitas Enzim
1	0	-1	1	40	10	50	173,401	0	818
2	1	-1	0	45	10	40	173,148	7,70757	850
3	-1	0	1	35	20	50	173,239	0	653
4	0	0	0	40	20	40	173,158	6,16137	815
5	1	1	0	45	30	40	172,977	7,66276	407
6	-1	-1	0	35	10	40	172,879	8,79239	745
7	-1	1	0	35	30	40	172,893	6,73239	753
8	1	1	1	40	30	50	173,416	0	851
9	-1	0	-1	35	20	30	172,973	6,70757	850
10	0	1	-1	40	30	30	172,953	6,73239	803
11	0	0	0	40	20	40	173,413	5	635
12	0	0	0	40	20	40	173,505	5,74036	725
13	0	-1	-1	40	10	30	171,927	6,716	764
14	1	0	-1	45	20	30	173,059	6,63849	833
15	1	0	1	45	20	50	173,449	0	697

**Lampiran D.2 Koefisien Penduga untuk Warna**

Estimated Regression Coefficients for warna

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	162,192	11,8312	13,709	0,000
TEGANGAN	0,216	0,5173	0,417	0,694
WAKTU	0,277	0,1482	1,871	0,120
SUHU	0,150	0,1760	0,852	0,433
TEGANGAN*TEGANGAN	-0,003	0,0062	-0,411	0,698
WAKTU*WAKTU	-0,003	0,0016	-2,052	0,095
SUHU*SUHU	-0,001	0,0016	-0,734	0,496
TEGANGAN*WAKTU	-0,001	0,0030	-0,311	0,769
TEGANGAN*SUHU	0,001	0,0030	0,205	0,846
WAKTU*SUHU	-0,003	0,0015	-1,686	0,153

S = 0,2998    R-Sq = 78,8%    R-Sq(adj) = 40,7%

**Lampiran D.3 Koefisien Penduga untuk Total Mikroba**

Estimated Regression Coefficients for total mikroba

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	45,3728	19,7823	2,294	0,070
TEGANGAN	-3,5238	0,8650	-4,074	0,010
WAKTU	-0,8506	0,2479	-3,432	0,019
SUHU	2,3157	0,2942	7,871	0,001
TEGANGAN*TEGANGAN	0,0413	0,0104	3,957	0,011
WAKTU*WAKTU	0,0106	0,0026	4,055	0,010
SUHU*SUHU	-0,0333	0,0026	-12,765	0,000
TEGANGAN*WAKTU	0,0101	0,0050	2,010	0,101
TEGANGAN*SUHU	0,0003	0,0050	0,069	0,948
WAKTU*SUHU	-0,0000	0,0025	-0,016	0,988

S = 0,5012    R-Sq = 99,1%    R-Sq(adj) = 97,6%

**Lampiran D.4 Koefisien Penduga untuk Aktivitas Enzim**

Estimated Regression Coefficients for Aktivitas enzim

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	-1709,75	5022,46	-0,340	0,747
TEGANGAN	166,75	219,61	0,759	0,482
WAKTU	83,36	62,93	1,325	0,243
SUHU	-76,19	74,70	-1,020	0,355
TEGANGAN*TEGANGAN	-1,74	2,65	-0,657	0,540
WAKTU*WAKTU	0,07	0,66	0,109	0,917
SUHU*SUHU	0,77	0,66	1,159	0,299
TEGANGAN*WAKTU	-2,26	1,27	-1,772	0,137
TEGANGAN*SUHU	0,31	1,27	0,240	0,820
WAKTU*SUHU	-0,01	0,64	-0,024	0,982

 $S = 127,2$      $R\text{-Sq} = 57,9\%$      $R\text{-Sq}(\text{adj}) = 0,0\%$



Lampiran E. Dokumentasi



PEF (Pulsed Electric Field )



Pengisian Chamber



Pembuatan larutan buffer



Sterilisasi kain saring



Blanching Edamame



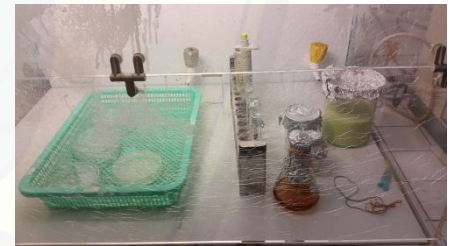
Pencucian Edamame



Perendaman Edamame



Penimbangan



Analisa Total Mikroba



Penyaringan Ekstrak Enzim



Sari Edamame kemasan jar



Sari Edamame kemasan plastik klip