

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian Eksperimen dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor. Penelitian ini menggunakan 4 taraf perlakuan substitusi. Dasar penentuan proporsi perlakuan sebagai bahan dasar pembuatan *biscuit* berdasarkan penelitian pendahuluan dan berdasarkan angka kecukupan gizi remaja putri usia 13-15 tahun dalam sehari mengandung energi sebesar 2125 kkal, protein 69 gram, lemak 71 gram, karbohidrat 292 gram, Fe 26 mg, dan vitamin A 600 mcg, sedangkan untuk kebutuhan *snack* dalam sehari adalah 15% dari kebutuhan angka kecukupan gizi, yaitu energi sebesar 318,8 kkal, protein 10,35 gram, lemak 10,65 gram, karbohidrat 43,8 gram, Fe 3,9 mg, dan vitamin A 90 mcg. Hasil perhitungan kebutuhan nilai energi dan zat gizi (protein, karbohidrat, dan lemak) *snack* remaja putri usia 13-15 tahun dapat dilihat pada Lampiran 3. Masing-masing taraf perlakuan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali, sehingga jumlah unit penelitian adalah 12 unit penelitian, sebagaimana disajikan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Taraf Perlakuan dan Unit Penelitian pada RAL

Taraf Perlakuan (%) Tepung Terigu : Pasta Labu Kuning : Tepung Daun Kelor	Replikasi		
	1	2	3
P0 (100 : 0 : 0)	X_{01}	X_{02}	X_{03}
P1 (70 : 20 : 10)	X_{11}	X_{12}	X_{13}
P2 (65 : 10 : 25)	X_{21}	X_{22}	X_{23}
P3 (50 : 30 : 20)	X_{31}	X_{32}	X_{33}

Keterangan :

X_{01} X_{33} : unit perlakuan

Replikasi pada Tabel 3.1 digunakan untuk melakukan uji organoleptik, sedangkan untuk uji kimia hanya menggunakan perlakuan terbaik.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April hingga Mei 2017, bertempat di Laboratorium Ilmu Bahan Makanan (IBM) dan Laboratorium Ilmu Teknologi Pangan (ITP) Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang,

sedangkan analisis uji kimia bertempat di Laboratorium Pengujian Mutu dan Keamanan Pangan Universitas Brawijaya. Penelitian ini terdiri dari dua tahap penelitian yaitu:

1. Penelitian pendahuluan

Penelitian yang dilakukan sebelum penelitian utama dilakukan, dengan kegiatan pengolahan produk substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor sebagai bahan dasar pembuatan *biscuit*.

2. Penelitian utama

Penelitian yang dilakukan dengan kegiatan pembuatan *biscuit* substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor, kemudian dilakukan uji kesukaan (*Hedonic Scale Test*) oleh 20 orang panelis agak terlatih dan dilanjutkan dengan uji kimia.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

a. Pengolahan *biscuit* substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor

Tepung terigu, pasta labu kuning, tepung daun kelor, telur ayam bagian kuning, susu skim bubuk, mentega, gula pasir, baking powder.

Untuk menghasilkan *biscuit* dengan substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor yang berkualitas, diperlukan kualifikasi bahan yang jelas dan perbandingan ukuran bahan-bahan. Untuk lebih jelasnya ditunjukkan dalam Tabel 3.2 dan 3.3

Tabel 3.2 Spesifikasi Bahan Penyusun *Biscuit* Substitusi Pasta Labu Kuning dan Tepung Daun Kelor

Bahan	Spesifikasi
Tepung terigu	Memilih tepung yang baik (tidak ada kotoran/kutu, tidak berbau apek) tidak kadaluarsa, merk kunci biru
Labu kuning	Kulit berwarna kecoklatan, keras dan tampak agak kering, tidak ada bercak, tidak terluka, berjamur ataupun memar
Daun kelor	Segar berwarna hijau
Telur	Tidak retak, tidak busuk, bersih dari kotoran
Susu skim bubuk	Berwarna putih agak kekuningan, tidak kadaluarsa, kemasan tidak rusak dan tertutup rapat, merk petit eric
Mentega	Berwarna kuning muda, kemasan tertutup rapat, tidak kadaluarsa, merk new zealand
Gula halus	Berwarna putih, tidak ada kotoran, kemasan tertutup rapat, tidak kadaluarsa, merk prima jaya
Baking powder	Berwarna putih, tidak ada kotoran, kemasan tertutup rapat, tidak kadaluarsa, merk cap cendrawasih

Tabel 3.3 Komposisi Bahan Penyusun *Biscuit* Substitusi Pasta Labu Kuning dan Tepung Daun Kelor per Unit Penelitian

Bahan	Tarf Perlakuan (tepung terigu : pasta labu kuning : tepung daun kelor)			
	P0 (100 : 0 : 0)	P1 (70 : 20 : 10)	P2 (65 : 10 : 25)	P3 (50 : 30 : 20)
Tepung terigu (gr)	400	280	260	200
Pasta labu kuning (gr)	0	80	40	120
Tepung daun kelor (gr)	0	40	100	80
Susu skim bubuk (gr)	80	80	80	80
Telur ayam bagian kuning (gr)	80	80	80	80
Mentega (gr)	80	80	80	80
Gula halus(gr)	40	40	40	40
Air (ml)	80	80	80	80
Baking powder (gr)	12	12	12	12
Komponen zat gizi per 100 gram :				
Energi (kkal)	405,88	358,47	363,35	330,06
Protein (gr)	11,41	11,63	13,66	12,28
Lemak (gr)	14,16	14,07	14,24	14,05
Karbohidrat (gr)	57,25	46,93	47,49	40,62
Vitamin A (mcg)	141,18	481,06	978,18	817,77
Fe (mg)	1,62	3,14	5,56	4,69
Air (gr)	15,42	28,45	29,35	36,81
Abu (gr)	1,68	1,72	1,90	1,79

b. Analisis mutu organoleptik

biscuit substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor, label, air mineral

c. Analisis kadar zat gizi perlakuan terbaik

1) Kadar protein

Biscuit substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor, tablet kjedhal, H₂SO₄, indikator PP, NaoH-thio 60%, asam boraks 4% yang telah diberi indikator MR-BCG, HCl 0,02, kertas lakmus

2) Kadar lemak

Biscuit substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor, pelarut kloroform dan kertas saring

3) Kadar air

Biscuit substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor, label

4) Kadar abu

Biscuit substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor, label

5) Kadar karbohidrat

Data hasil analisis kadar protein, lemak, air dan abu

6) Kadar total karoten

Biscuit substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor, aquades, alcohol 96%, petroleum eter (PE)

7) Kadar Fe

Biscuit substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor, hidroksilamin HCL 10%, fenantrolin 0,1%, HCL pekat, buffer ammonium asetat, larutan standar besi 100 ppm

2. Alat

a. Pengolahan *biscuit* substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor

1) Pengolahan pasta labu kuning dan tepung daun kelor

Timbangan, *triple beam*, oven pengering, blender, kompor, panci, risopan, peniris, baskom, piring, sendok makan, pisau, loyang, talenan, penjepit makanan, ayakan tepung 60 mesh, lap.

2) Pengolahan *biscuit* substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor

Triple beam, *mixer*, baskom, pisau, sendok, spatula, piring, talenan, plastik, kayu penggiling, cetakan kue kering, loyang, kompor dan oven.

b. Analisis mutu organoleptik

Form kuesioner uji kesukaan, alat tulis, piring kecil, nampan.

c. Analisis kadar zat gizi perlakuan terbaik

1) Kadar protein

Timbangan analitik, tabung *kjeldhal*, spatula, pipet ukur, pipet tetes, *hot plate*, labu ukur, *beaker glass*.

2) Kadar lemak

Timbangan analitik, pipet ukur, labu minyak, tabung reaksi, deksikator, *hot plate*, oven, penjepit, *soxhlet apparatus*.

3) Kadar air

Oven, cawan porselen, deksikator, timbangan analitik, penjepit cawan.

4) Kadar abu

Oven, cawan porselen, deksikator, timbangan analitik, penjepit cawan, pembakar bursen, tanur.

5) Kadar karbohidrat

Kalkulator, alat tulis.

6) Kadar total karoten

Spatula, *Erlenmeyer*, *water bath*, gelas ukur, kertas saring, labu ukur, pipet tetes, timbangan analitik, spektrofotometri.

7) Kadar Fe

Labu ukur, pipet ukur, *beaker glass*, pipet volume, batu didih, pemanas air, kuvet, botol semprot.

D. Variabel Penelitian

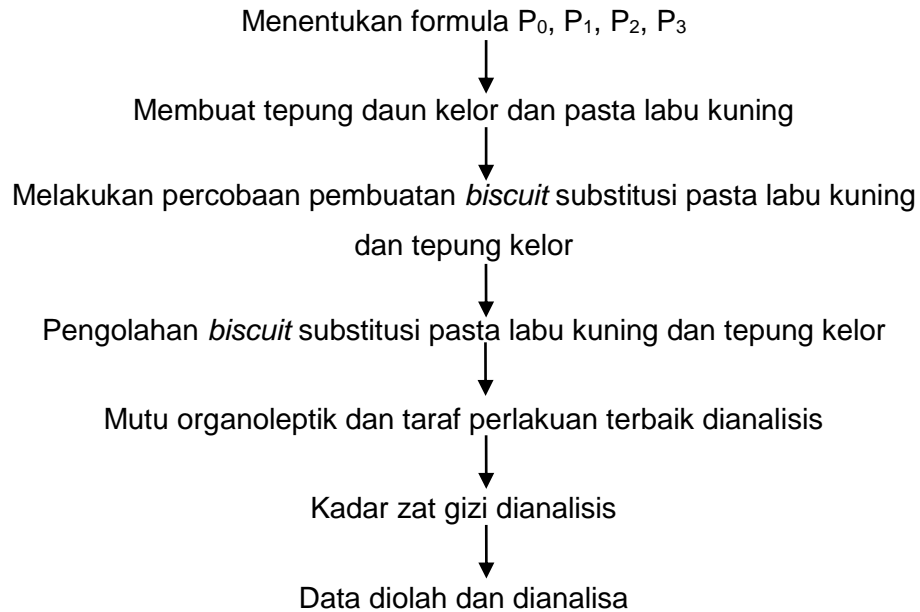
- 1) Variabel bebas : proporsi tepung terigu, pasta labu kuning dan tepung daun kelor,
- 2) Variabel terikat : mutu organoleptik (warna, aroma, rasa, tekstur), kadar zat gizi (protein, lemak, karbohidrat, total karoten, Fe), dan nilai energi.

Tabel 3.4 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala Ukur
<i>Biscuit</i> dengan substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor	Perbandingan proporsi tepung terigu, pasta labu kuning, tepung daun kelor dalam proses pengolahan <i>biscuit</i>	P0 (100 : 0 : 0) P1 (70 : 20 : 10) P2 (65 : 10 : 25) P3 (50 : 30 : 20)	Rasio
Mutu organoleptik	Karakteristik yang ada pada produk <i>biscuit</i> meliputi warna, aroma, rasa, tekstur	1. Sangat tidak suka 2. Tidak suka 3. Suka Sangat suka	Ordinal
Kadar protein	Kadar protein dalam produk <i>biscuit</i> yang dianalisis menggunakan metode <i>semi mikro kjedhal</i>	Dinyatakan dalam persen (%)	Rasio
Kadar lemak	Kadar lemak dalam produk <i>biscuit</i> yang dianalisis menggunakan metode <i>soxhlet extraction</i>	Dinyatakan dalam persen (%)	Rasio
Kadar air	Kadar air dalam produk <i>biscuit</i> yang dianalisis menggunakan metode <i>thermogravimetri</i>	Dinyatakan dalam persen (%)	Rasio
Kadar abu	Kadar abu dalam produk <i>biscuit</i> yang dianalisis menggunakan metode <i>gravimetric</i>	Dinyatakan dalam persen (%)	Rasio
Kadar karbohidrat	Kadar karbohidrat dalam produk <i>biscuit</i> yang dianalisis menggunakan metode <i>by different</i>	Dinyatakan dalam persen (%)	Rasio
Nilai energi	Nilai energi dalam produk <i>biscuit</i> yang ditetapkan melalui perhitungan menurut komposisi kadar karbohidrat, protein, dan lemak	Dinyatakan dalam satuan kalori	Rasio
Kadar total karoten	Kadar total karoten dalam produk <i>biscuit</i> yang dianalisis menggunakan metode <i>KLT-spektrofotodensitometri</i>	Dinyatakan dalam µg/g	Rasio
Kadar Fe	Kadar Fe dalam produk <i>biscuit</i> yang dianalisis menggunakan metode <i>spektrofotometri orto-fenantrolin</i>	Dinyatakan dalam ppm	Rasio

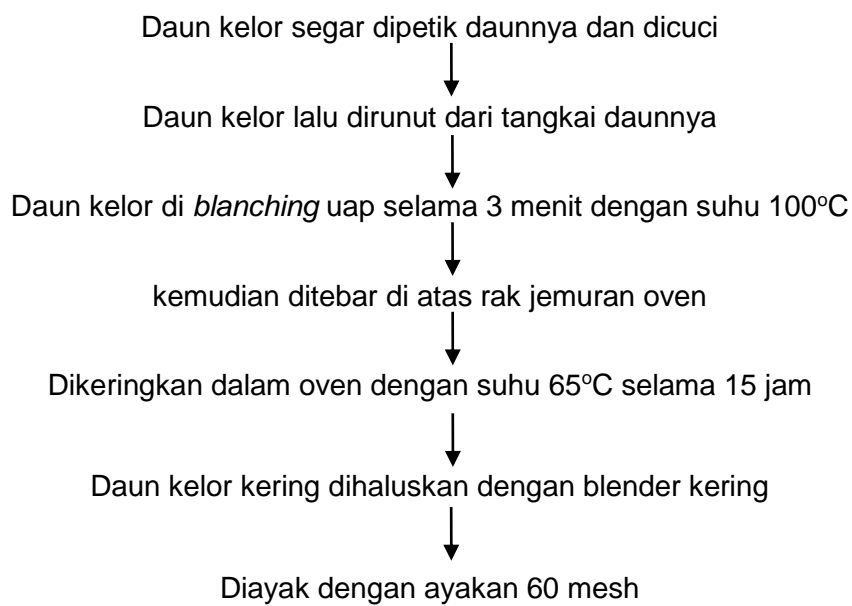
E. Metode Penelitian

1. Diagram Alir Penelitian



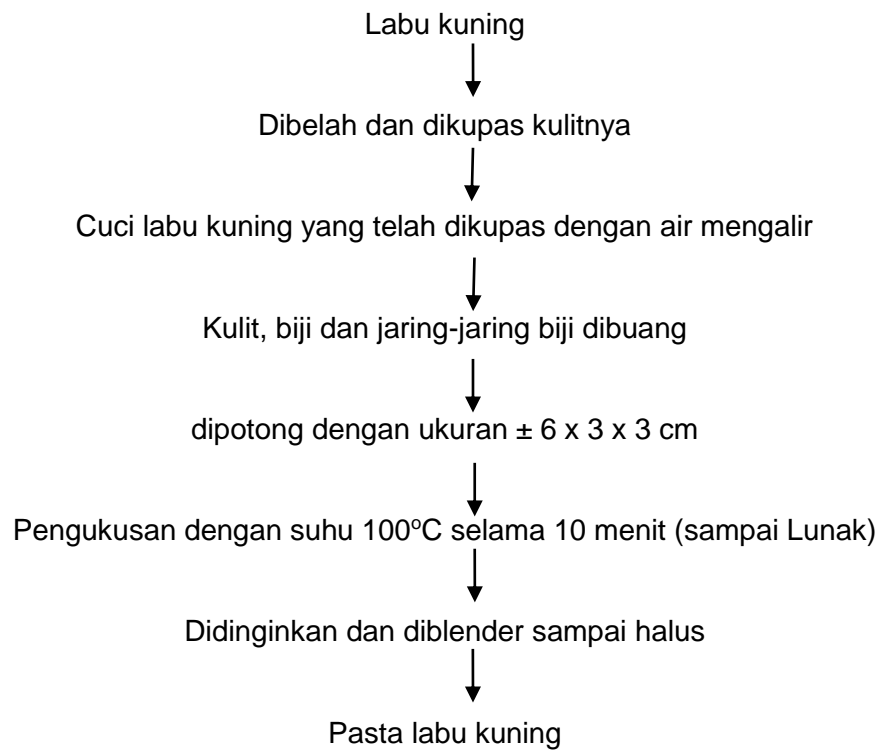
Gambar 3.1 Alir Penelitian

2. Diagram Alir Pembuatan Tepung Daun Kelor



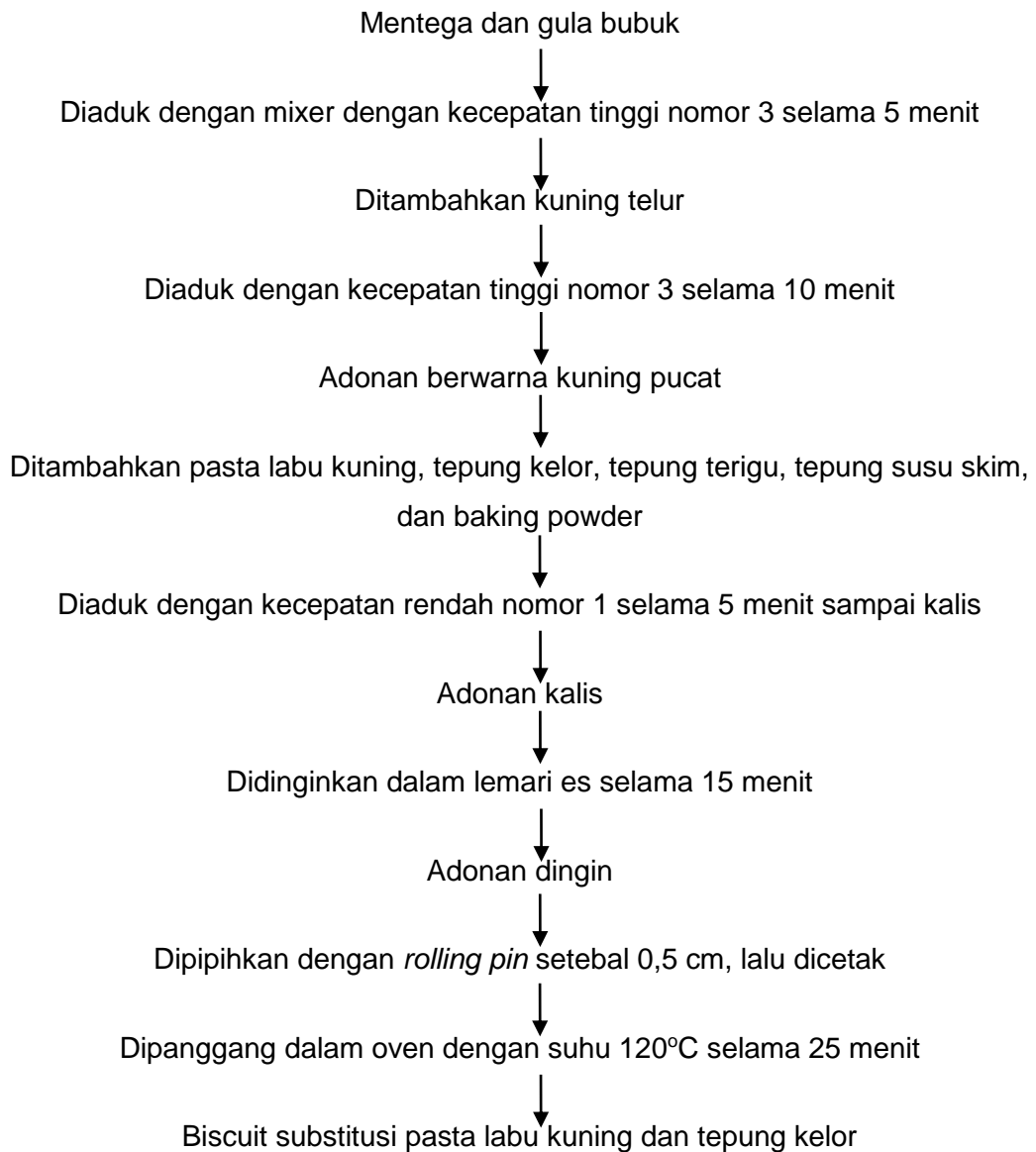
Gambar 3.2 Diagram Alir Pembuatan Tepung Kelor

3. Diagram Alir Pembuatan Pasta Labu Kuning



Gambar 3.3 Diagram Alir Pembuatan Pasta Labu Kuning

4. Pengolahan *Biscuit* Substitusi Pasta Labu Kuning dan Tepung Daun Kelor



Gambar 3.4 Diagram Alir Pengolahan *Biscuit* (Modifikasi Mervina, 2009)

F. Metode Analisis

1. Analisis Mutu Organoleptik

Uji organoleptik pada *biscuit* tersubstitusi akan dilakukan menggunakan metode *Hedonic Scale Test* oleh 20 orang panelis agak terlatih. Atribut uji organoleptik yang digunakan adalah warna, aroma, rasa dan tekstur. Panelis diharapkan untuk menilai sampel dan diminta mengisi form penilaian mutu organoleptik. Skala kesukaan pada metode *Hedonic Scale Test* dinyatakan dalam 4 tingkat kesukaan, yaitu :

- 1: sangat tidak suka
- 2: tidak suka
- 3: suka
- 4: sangat suka

2. Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

Penentuan taraf perlakuan terbaik menggunakan metode Indeks Efektifitas. Metode tersebut dilakukan dengan cara mengukur beberapa variabel yang mempengaruhi mutu *biscuit* substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor yang dihasilkan, seperti nilai energi, kadar zat gizi, warna, aroma, rasa dan tekstur. Panelis kemudian diminta untuk memberikan pendapat yaitu variabel mana yang menurutnya mempengaruhi mutu *biscuit* substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor yang dihasilkan, dan memberikan nilai yang sama pada variabel yang dianggap memberikan pengaruh yang sama pentingnya terhadap mutu *biscuit* substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor. Adapun kriteria panelis sebagai berikut :

- 1) Panelis terlatih yaitu 10 orang dosen jurusan gizi politeknik kesehatan kemenkes malang bidang ilmu pangan
- 2) Mengerti tentang variabel penting yang terdapat dalam *biscuit* substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor untuk remaja anemia

Panelis diharapkan untuk mengisi form penilaian perlakuan terbaik.

3. Analisis Kadar Protein

Penentuan kandungan protein ditentukan dengan metode *kjeldhal*, yaitu dengan analisis volumetri dengan teknik titrasi. Prinsip analisis menggunakan metode *kjeldhal* 3 tahap, Yaitu tahap dekstruksi, destilasi dan titrasi. Kemudian dinetralkan dengan larutan asam. Dengan cara:

Memasukkan 10 gram sampel ke dalam labu *kjeldhal* 50 ml dan
Menambah 0,5 gram tablet *kjeldhal* dan 15 ml H₂SO₄ pekat

Mendekstruksi selama 2 jam atau hingga timbul larutan jernih kehijauan

Mendinginkan, kemudian menuang hasil dekstruksi kedalam tabung destilasi dengan menambah 5 ml aquades ke dalam tabung *kjeldhal* untuk mencuci sisa larutan

Menambah 2 tetes indikator PP reagen NaOH-thio sampai suasana basa dan larutan berwarna merah muda

Menyiapkan 5 ml asam borak 4% yang telah diberi indikator MRBCG dalam erlenmeyer

Menghentikan destilasi bila sudah bersifat basa

Lakukan titrasi dengan HCl 0,02 sampai terjadi perubahan warna

Menghitung N total

Kadar protein dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ nitrogen total} = \frac{(A-B) \times N \times 14,008 \times 100\%}{mg \text{ sampel}}$$

Keterangan :

A = volume HCl untuk titrasi blanko

B = volume HCl untuk titrasi sampel

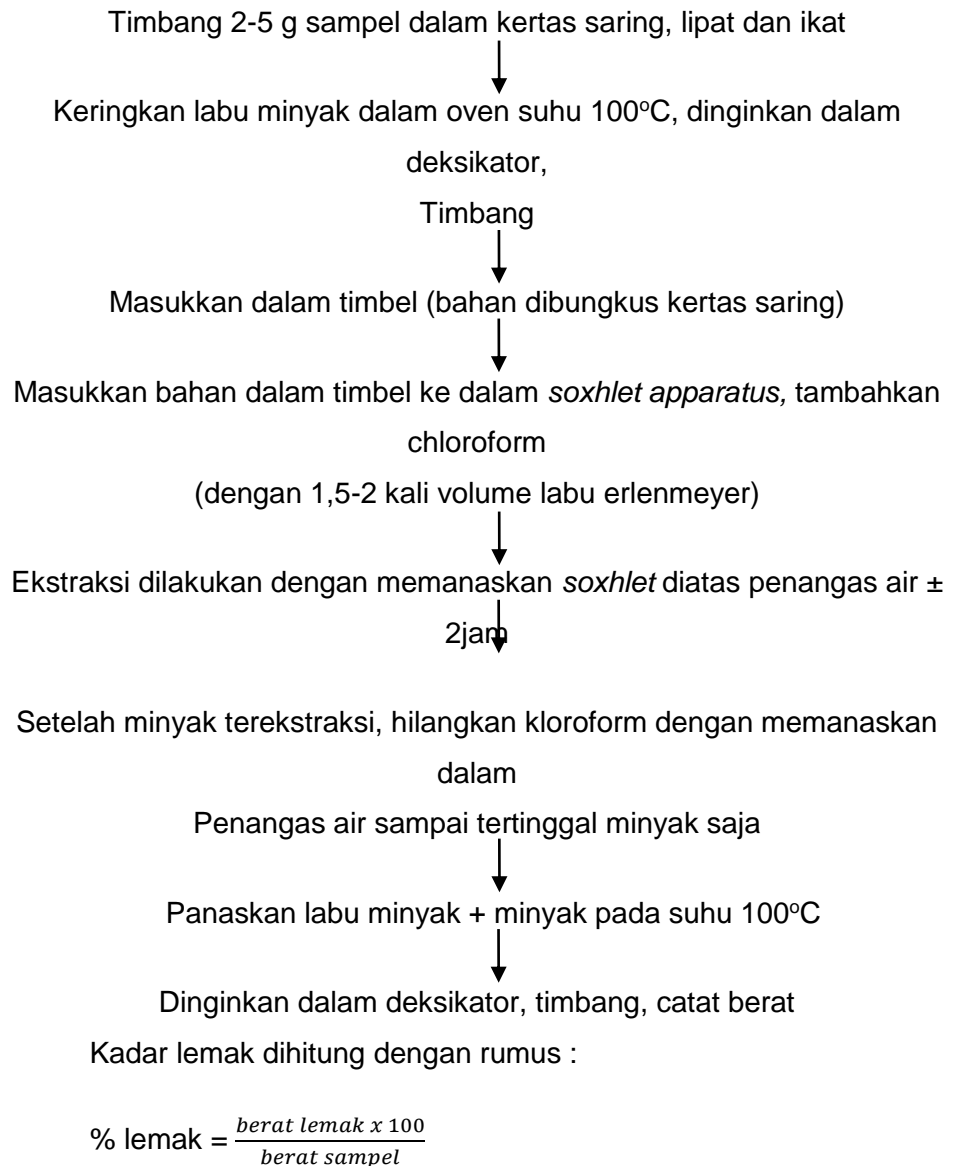
N = normalitas standar untuk HCl

14,008 = berat atom nitrogen

Kadar protein diukur dengan mengalikan N total dengan faktor konversi bahan makanan yaitu 6,25

Gambar 3.5 Diagram Alir Analisis Kadar Protein (Sudarmadji, 2007)

4. Analisis Kadar Lemak



Gambar 3.6 Diagram Alir Analisis Kadar Lemak (Sudarmadji, 2007)

5. Analisis Kadar Air

Cawan kosong dan tutupnya dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit. didinginkan dalam deksikator dan timbang



Menimbang sampel 2 gram dalam cawan tersebut dan tutup dengan tepat



Meletakkan cawan tersebut dalam oven dan melonggarkan tutupnya



Memanaskan oven sampai suhu 100°C, melakukan pengeringan sampai didapatkan berat konstan



Segera tutup cawan dengan penutupnya, memasukkan ke dalam deksikator

dan segera menimbang setelah dingin (suhu kamar)



Kadar air dihitung menggunakan perhitungan :

$$\% \text{kadar air} = \frac{B1 - B2}{B} \times 100\%$$

$$\% \text{ total padatan} = \frac{B - (B1 - B2)}{B} \times 100\%$$

Keterangan :

B = berat sampel

B1 = berat (sampel + cawan) sebelum dikeringkan

B2 = berat (sampel + cawan) setelah dikeringkan

Gambar 3.7 Diagram Alir Analisis Kadar Air (Sudarmadji, 2007)

6. Analisis Kadar Abu

Menyiapkan cawan porselin, kemudian memanaskan cawan porselin

dalam oven



mendinginkan dalam deksikator dan menimbang berat awal (x)



Menimbang 2 gram sampel dan memasukkan ke dalam cawan porselin



lalu memasukkan sampel tersebut ke dalam tanur pengabuan sampai didapat berat sampel tetap. Pengabuan dilakukan 2 tahap, yaitu pada suhu 450°C dan suhu 550°C, dengan lama pengabuan ±3 jam



Setelah abu sampel berwarna putih, dinginkan abu dalam deksikator kurang lebih 1 jam menggunakan penjepit cawan



Selanjutnya timbang abu (z)



kadar abu dihitung dengan rumus :

$$\% \text{kadar abu} = \frac{(x-z)}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$



Kadar bahan organik dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Bahan organik (BO)} = (\text{bahan kering (BK)} - \text{abu})\%$$

Gambar 3.8 Diagram Analisa Kadar Abu (Sulaeman, dkk 1995)

7. Analisis Kadar Karbohidrat (Metode By Difference)

Kadar karbohidrat ditentukan menggunakan metode *by difference* dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\% \text{karbohidrat} = 100\% - \% (\text{protein} + \text{lemak} + \text{abu} + \text{air})$$

8. Analisis Nilai Energi

Nilai energi *biscuit* substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor ditentukan dengan perhitungan komposisi kadar protein, lemak, dan karbohidrat, dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Nilai energi} = [(4 \times \text{karbohidrat (g)}) + (4 \times \text{protein (g)}) + (9 \times \text{lemak (g)})]$$

(Almatsier, 2009)

9. Analisis Kadar Total Karoten

Bahan dihaluskan, diambil sebanyak 2-5 g lalu ditambah etanol 10 ml dan distirer selama 10 menit, selanjutnya disaring. Ekstraksi ini dilakukan 2 kali, lalu hasil filtrat digabung dan ditera hingga 25 ml. filtrat dibaca absorbansinya pada $\lambda=453$ nm. Kandungan total karoten pangan dihitung dengan rumus :

$$\text{Total karoten} = \frac{\text{Abs} \times 1\% \times V}{2620 \times W} \times 1000 \text{ mg/g}$$

keterangan : V = volume berat filtrat (25 ml)

W = berat sampel (dalam gram) (Tejasari, 2005)

10. Analisis Kadar Fe

Diambil 25 ml sampel, blanko, dan derat standar ke dalam *beaker glass*, kemudian tambahkan 1 ml HCL dan batu didih. Panaskan sampai semua besi larut, selanjutnya didinginkan kedalam labu ukur sampai suhu kamar, tambahkan larutan buffer ammonium asetat dan fenantrolin, kemudian encerkan sampai tanda tera dan aduk hingga homogeny, diamkan 10-15 menit. baca absorbansi dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 510 nm dan hitung kadar Fe dalam sampel tersebut dengan rumus :

$$\text{Abs} = a + b \times c$$

$$C = \frac{\text{Abs} - a}{b}$$

Keterangan : Abs = absorbansi sampel

C = konsentrasi sampel (Hendayana, 2001)

G. Pengolahan dan Analisis Data

1. Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

Penentuan perlakuan terbaik dilakukan untuk mengetahui perlakuan mana dalam penelitian yang akan dilakukan yang terbaik menurut responden. Penilaian taraf perlakuan terbaik dilakukan berdasarkan prosedur berikut :

- 1) Variabel diurutkan (diranking) berdasarkan peranannya terhadap mutu produk dari tertinggi ke terendah (menurut pendapat responden)
- 2) Hasil ranking ditabulasi sehingga diperoleh jumlah, rata-rata, dan ranking variabel dapat ditentukan.
- 3) Bobot variabel dihitung berdasarkan rata-rata ranking

$$\text{Bobot variabel} = \frac{\text{rata-rata variabel}}{\text{rata-rata tertinggi}}$$
- 4) Bobot normal untuk masing-masing variabel didapat dari membagi tiap variabel dengan bobot total variabel.

$$\text{Bobot normal} = \frac{\text{bobot variabel}}{\text{bobot total variabel}}$$
- 5) Setiap variabel dihitung nilai efektifitasnya (Ne) dengan rumus :

$$\text{Ne} = \frac{\text{nilai perlakuan} - \text{nilai terjelek}}{\text{nilai terbaik} - \text{nilai terjelek}}$$
- 6) Nilai yang digunakan untuk menentukan taraf perlakuan terbaik adalah jumlah nilai hasil (Nh) dimana nilai ini dapat dihitung dengan cara mengalikan bobot normal masing-masing variabel dengan Ne dan selanjutnya dijumlahkan.

$$\text{Nh} = \text{bobot normal} \times \text{Ne}$$
- 7) Taraf perlakuan terbaik adalah taraf perlakuan dengan nilai hasil tertinggi.

2. Nilai Energi dan Kadar Zat Gizi perlakuan terbaik

Pengolahan data nilai energi dan kadar zat gizi bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor sebagai bahan pengganti tepung terigu dalam pembuatan *biscuit* yang digunakan sebagai alternatif *snack* khususnya untuk penanggulangan atau pencegahan anemia defisiensi besi pada remaja. Pengolahan data mutu organoleptik *biscuit* substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor pada masing-masing taraf perlakuan dianalisis secara deskriptif menggunakan uji statistik, sedangkan pengolahan data kadar zat gizi dan nilai energi *biscuit* substitusi pasta labu kuning dan tepung daun kelor hasil perlakuan terbaik dilakukan secara kimia kemudian dianalisis secara deskriptif.

3. Instrument Analisis Data

Instrument untuk analisis data antara lain kalkulator scientific, komputer dengan program Microsoft word, Microsoft excel, dan SPSS 22.0 serta alat tulis.