

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yaitu eksperimental dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 4 taraf perlakuan. Formulasi ini didesain untuk memenuhi asupan antioksidan dari pangan fungsional untuk mencegah penyakit tidak menular. Dengan perbedaan penambahan *soyghurt* dan buah naga merah pada setiap perlakuan. Masing-masing perlakuan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali sehingga jumlah unit percobaan adalah 12 unit. Rincian perlakuan secara lengkap disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Taraf Perlakuan

Taraf Perlakuan (buah pisang : buah naga merah : <i>soyghurt</i>) (%)	Replikasi		
	X ₁	X ₂	X ₃
P ₀ (65:35:0)	X ₀₁	X ₀₂	X ₀₃
P ₁ (65:20:15)	X ₁₁	X ₁₂	X ₁₃
P ₂ (65:15:20)	X ₂₁	X ₂₂	X ₂₃
P ₃ (65:10:25)	X ₃₁	X ₃₂	X ₃₃

Keterangan :

X₀₁ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₀ replikasi 1

X₁₁ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₁ replikasi 1

X₂₂ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₂ replikasi 2

...

X₃₃ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₃ replikasi 3

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2023 yang bertempat di:

1. Laboratorium Ilmu Teknologi Pangan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk pengolahan *soyghurt* dan proses pengolahan produk *smoothies*
2. Laboratorium Layanan Umum Organoleptik Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Malang untuk uji mutu organoleptik *smoothies*..
3. Laboratorium Gizi Fakultas Ilmu Teknologi Pangan Universitas Brawijaya untuk analisis aktivitas antioksidan.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

a. Soyghurt

Alat yang digunakan dalam pengolahan susu kedelai diantaranya adalah panci, blender, pengaduk, kain saring, thermomether, timbangan, kompor dan arloji. Alat yang digunakan dalam fermentasi soyghurt diantaranya adalah baskom, panci, pengaduk, thermomether, gelas ukur, kompor, arloji, inkubator dan cup.

b. Smoothies

Alat yang digunakan dalam pembuatan produk smoothies diantaranya adalah timbangan digital, gelas ukur, blender, piring, sendok makan dan botol.

c. Analisis aktivitas antioksidan

Alat yang digunakan dalam analisis aktivitas antioksidan diantaranya adalah pipet ukur, pipet volume, karet penhisap, sentrifugal, spektrofotometri, tabung reaksi dan refrigerator.

d. Analisis Mutu Organoleptik

Alat untuk analisis mutu organoleptik adalah 25 orang panelis tidak terlatih (Mahasiswa Jurusan Gizi, Poltekkes Kemenkes Malang), alat tulis (bolpoin), nampan kayu kecil, stiker label, cup plastik, gelas kecil dan formulir uji organoleptik. Formulir Uji Skala Kesukaan (Hedonic Scale Test) disajikan pada Lampiran 2.

e. Analisis Taraf Perlakuan Terbaik

Alat yang digunakan adalah alat tulis dan formulir penilaian taraf perlakuan terbaik. Formulir Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik disajikan pada Lampiran 3.

2. Bahan

a. Soyghurt

Bahan untuk pengolahan soyghurt mengacu pada Susilorini dan Sawitri (2008) dengan modifikasi disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Bahan yang Dibutuhkan untuk Fermentasi Soyghurt

Bahan	Berat
Susu kedelai (ml)	200
Gula pasir (g)	10
Starter (yoghurt plain) (ml)	10
Susu skim (ml)	40

Sumber : Susilorini dan Sawitri (2008).

Adapun jenis dan komposisi bahan yang dibutuhkan dalam pengolahan Soyghurt untuk tiap unit percobaan disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Komposisi Bahan Pengolahan Soyghurt

Bahan makanan	Unit Percobaan			
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
Kacang kedelai (g)	0	28,8	38,4	48
Susu skim (ml)	0	7,2	9,6	12
Starter (yoghurt plain) (ml)	0	18	24	30
Gula pasir (g)	0	1,8	2,4	3

Adapun jenis dan total bahan yang dibutuhkan dalam pengolahan Soyghurt pada seluruh unit percobaan untuk seluruh replikasi disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13. Total Bahan Soyghurt pada Seluruh Unit Percobaan

Bahan makanan	Unit Percobaan				Total
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	
Kacang kedelai (g)	0	86,4	115,2	144	345,6
Susu skim (ml)	0	21,6	28,8	36	86,4
Starter (yoghurt plain) (ml)	0	54	72	90	216
Gula pasir (g)	0	5,4	7,2	9	21,6

Rincian jumlah bahan yang digunakan untuk soyghurt pada 12 unit percobaan disajikan dalam lampiran 2. Berdasarkan penelitian pendahuluan susu kedelai yang dihasilkan sejumlah 125% dengan BDD 100% dan perbandingan antara bahan baku dan air 1:4. Untuk mengetahui total bahan baku kacang kedelai yang dibutuhkan digunakan rumus berikut :

$$\text{Bahan baku yg dibutuhkan (g)} = \frac{S \text{ (ml)} \times 100}{\text{jumlah susu yang dihasilkan (\%)}} \times \frac{100}{\text{BDD (\%)}}$$

Keterangan :

S : Susu yang dibutuhkan (ml)

Jumlah susu yang dihasilkan : 125 (kacang kedelai) (%)

BDD : 100 (kacang kedelai) (%)

Setelah dilakukan perhitungan dengan menggunakan rumus diatas, hasil perhitungan bahan baku kacang kedelai yang dibutuhkan dalam pembuatan susu kedelai untuk 3 taraf perlakuan sebesar 115,2 gram dan untuk seluruh replikasi sebesar 345,6 gram. Pada taraf perlakuan P1 dibutuhkan sebesar 28,8 gram, P2 sebesar 38,4 gram dan P3 sebesar 48 gram kacang kedelai.

b. Red smoothies

Bahan untuk pengolahan *smoothies* disajikan pada Tabel 14.

Tabel 14. Bahan yang Dibutuhkan untuk Pengolahan *Smoothies*

Bahan	Berat
Pisang ambon (g)	195
Naga merah (g)	105
Susu <i>full cream</i> (ml)	150
Es batu kristal (g)	200

Adapun jenis dan komposisi bahan yang dibutuhkan dalam pengolahan *Red Smoothies* untuk tiap unit percobaan disajikan pada Tabel 15.

Tabel 15. Komposisi Bahan Pengolahan *Red Smoothies*

Bahan	Unit Percobaan (pisang ambon : buah naga merah + <i>soyghurt</i>)			
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
Pisang ambon (g)	195	195	195	195
Buah naga merah (g)	105	60	45	30
<i>Soyghurt</i> (ml)	0	45	60	75
Susu full cream (ml)	150	150	150	150
Es batu kristal (g)	200	200	200	200

Adapun jenis dan total bahan yang dibutuhkan dalam pengolahan *Red Smoothies* pada seluruh unit percobaan untuk seluruh taraf perlakuan disajikan pada Tabel 16.

Tabel 16. Total Bahan *Red Smoothies* Seluruh Unit Perlakuan

Bahan makanan	Unit Percobaan				Total
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	
Pisang ambon (g)	585	585	585	585	2340
Buah naga merah (g)	315	180	135	90	720
<i>Soyghurt</i> (ml)	0	135	180	225	540
Susu full cream (ml)	450	450	450	450	1800
Es batu kristal (g)	600	600	600	600	2400

Adapun rincian jumlah bahan yang digunakan untuk *Red Smoothies* pada 12 unit percobaan disajikan dalam Lampiran 3.

Tabel 17. Jenis dan Spesifikasi Bahan Makanan yang Digunakan

Jenis Bahan Makanan	Spesifikasi
Kacang Kedelai	Varietas lokal (Anjasmoro), bentuk dan warna seragam coklat muda, biji bulat utuh dan tidak tercampur dengan batu atau kotoran lain. Dibeli di Pasar Oro-oro Dowo Kota Malang.
Pisang ambon	Kulit buah berwarna hijau bersih tidak terdapat bercak coklat atau goresan, matang sedang tidak terlalu masak dan tidak mentah. Dibeli di Pasar Oro-oro Dowo Kota Malang.
Buah naga merah	Kulit buah berwarna ungu kemerahan, segar tidak layu dan tidak terdapat goresan. Dibeli di Pasar Oro-oro Dowo Kota Malang.
Susu full cream	Merk Ultramilk, kemasan tidak rusak dan tidak kadaluarsa. Dibeli di Superindo Kota Malang.
Susu skim	Merk Ultramilk, kemasan tidak rusak dan tidak kadaluarsa. Dibeli di Superindo Kota Malang.
Starter	<i>L. bulgaricus</i> dan <i>S. thermophilus</i> di dapat dari yoghurt plain. Merk Biokul, kemasan tidak rusak dan tidak kadaluarsa. Dibeli di Superindo Kota Malang.
Gula pasir	Merk Gulaku, berwarna putih dan tidak mengumpal. Dibeli di Superindo Kota Malang.

c. Analisis aktivitas antioksidan

Bahan yang digunakan untuk analisis aktivitas antioksidan adalah sampel *Red Smoothies*, DPPH dan larutan methanol.

d. Analisis Mutu Organoleptik

Bahan yang digunakan dalam pengujian mutu organoleptik adalah produk smoothies pada masing-masing taraf perlakuan dan air mineral untuk setiap panelis.

e. Analisis Taraf Perlakuan Terbaik

Bahan yang digunakan untuk analisis taraf perlakuan terbaik adalah data ranking variable panelis.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : Proporsi penambahan buah naga merah dan *soyghurt* yang digunakan dalam setiap unit percobaan pembuatan produk *Red Smoothies*.
2. Variabel terikat : Aktivitas antioksidan dan mutu organoleptik (warna, aroma, rasa, dan kekentalan).

E. Definisi Operasional Penelitian

Variabel	Definisi	Metode dan Alat Ukur	Skala Pengukuran
Formulasi <i>Red smoothies</i> (pisang ambon dan buah naga merah) dengan penambahan <i>soyghurt</i>	Pisang ambon : Buah naga merah : <i>soyghurt</i> P ₀ (65:35:0) P ₁ (65:20:15) P ₂ (65:15:20) P ₃ (65:10:25)		
Aktivitas Antioksidan	Tingkat aktivitas antioksidan pada produk <i>Red Smoothies</i> (mg/ml) Sifat antioksidan berdasarkan nilai IC ₅₀ : - 0,05 mg/ml < = sangat kuat - 0,05 - 0,1 mg/ml = kuat - 0,1 - 0,15 mg/ml = sedang - 0,15 - 0,2 mg/ml = lemah (Sumber : Molyneux, 2004)	Metode DPPH	Rasio
Mutu Organoleptik	Tingkat kesukaan panelis terhadap karakteristik <i>smoothies</i> (meliputi warna, aroma, rasa dan kekentalan) Skala Hedonik : 4 = Sangat suka 3 = Suka 2 = Tidak suka 1 = Sangat tidak suka	30 panelis tidak terlatih, formulir Hedonic Scale Test	Ordinal

F. Metode Penelitian

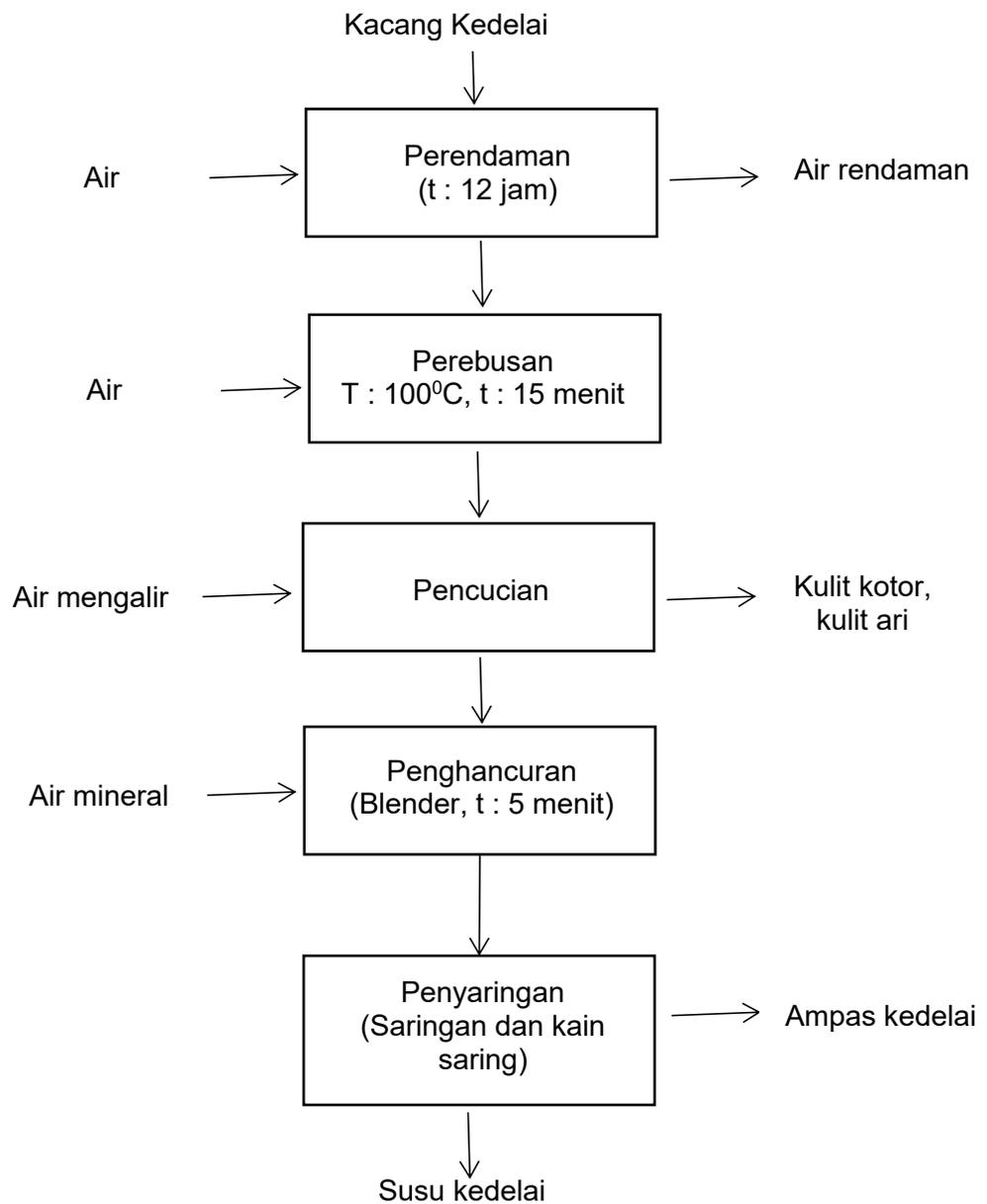
1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan adalah penelitian yang dilakukan sebelum penelitian utama. Tujuan penelitian pendahuluan adalah sebagai dasar ilmiah dilaksanakannya penelitian utama. Kegiatan yang dilakukan dalam penelitian pendahuluan diantaranya adalah pembuatan susu kedelai dan *soyghurt*. Hasil dari penelitian pendahuluan adalah resep pengolahan *Soyghurt* yang akan digunakan dalam penelitian utama.

2. Penelitian Utama

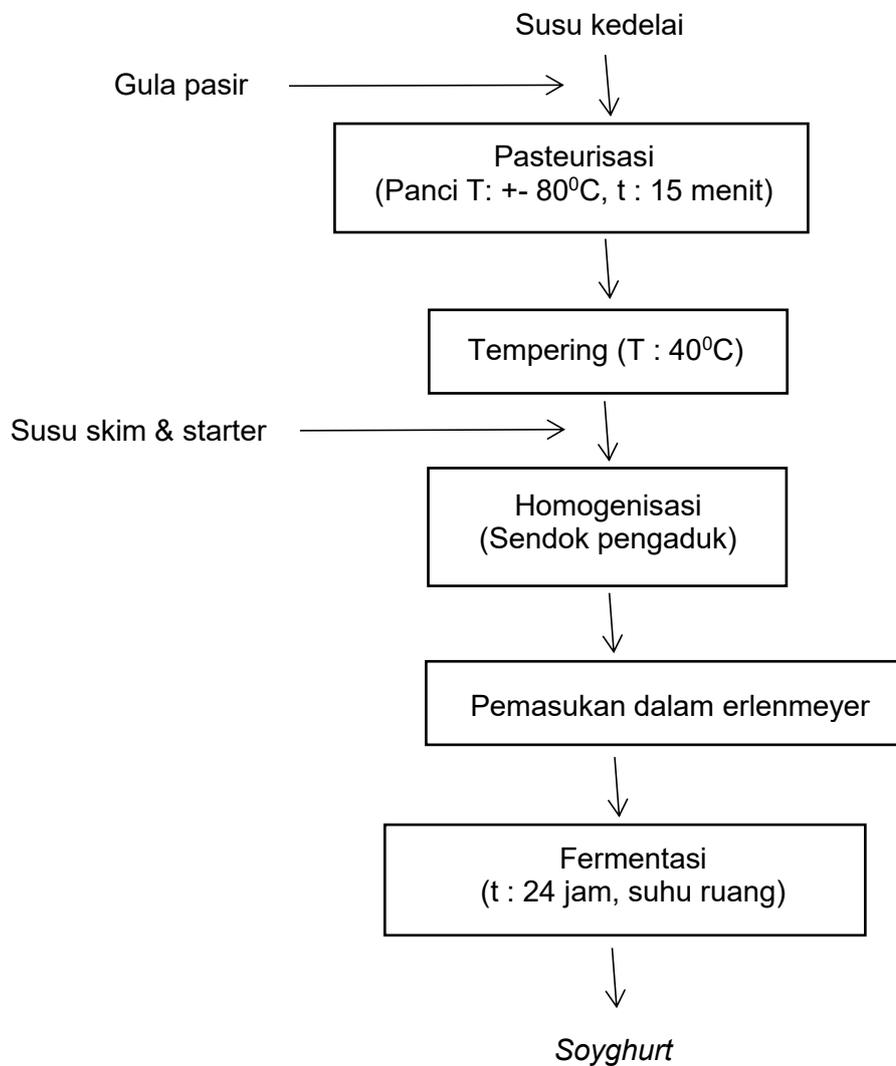
Penelitian utama dilakukan setelah penelitian pendahuluan. Penelitian utama yang dilakukan berupa pengolahan produk *Red Smoothies* yang selanjutnya akan dilakukan analisis aktivitas antioksidan dan mutu organoleptik. Hasil dari penelitian utama adalah produk *Red Smoothies* pada 4 unit percobaan, hasil uji organoleptik oleh 30 panelis, dan hasil analisis aktivitas antioksidan.

3. Diagram Alir Pengolahan Susu Kedelai



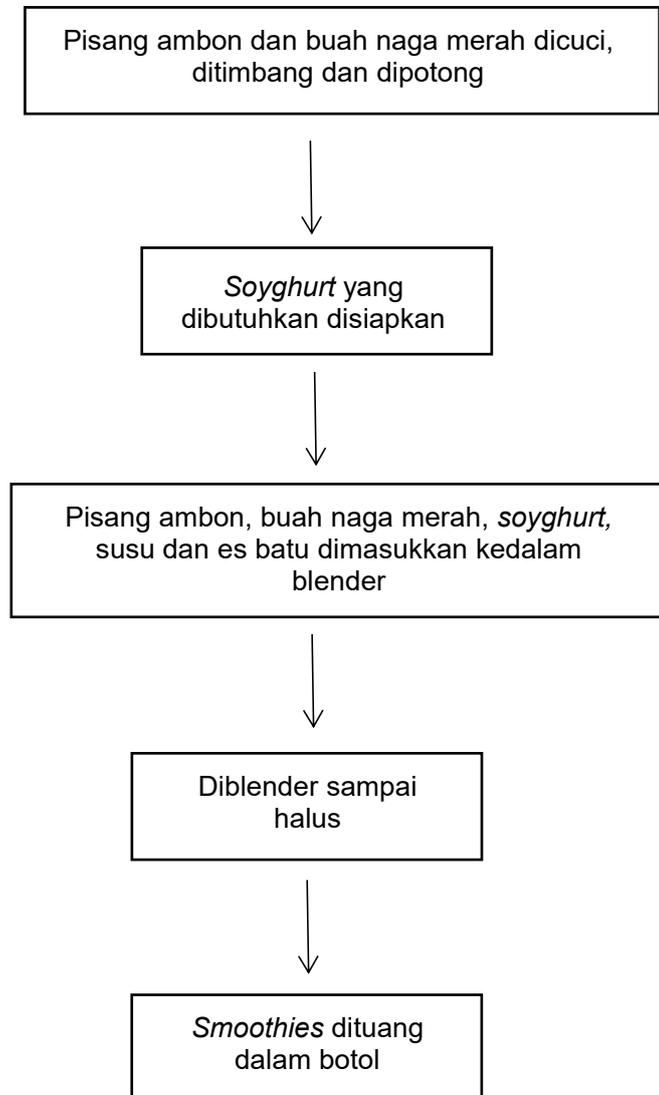
Gambar 3. Diagram Alir Pengolahan Susu Kedelai (Nizor, A., dkk. 2007)

4. Diagram Alir Pengolahan Soyghurt



Gambar 4. Diagram Alir Pengolahan Soyghurt (Susilorini dan Sawitri, 2008)

5. Diagram Alir Pengolahan *Red smoothies*



Gambar 5. Diagram Alir Pengolahan *Red smoothies* (Handayani R., 2020)

G. Metode Analisis

1. Analisis aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan diukur dengan menggunakan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang λ 517 nm (Gordon MH., 2001). Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan uji peredaman warna DPPH 0,1 mM. Pengujian ini dilakukan penambahan 1 ml 0,1 mM DPPH dan ditambahkan 5 ml methanol, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex kecepatan 5000rpm dan disimpan diruang gelap selama 30 menit. Pengujian dilakukan dengan spektrofotometer Uv-Vis panjang gelombang 517 nm. Hasil uji aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \left(1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}}\right) \times 100\%$$

2. Analisis Mutu Organoleptik

Analisis dilakukan dengan metode uji kesukaan (hedonic scale test). Panelis dimintakan tanggapan pribadinya tentang kesukaan atau sebaliknya (ketidaksukaan) terhadap sampel. Disamping penalis mengemukakan tanggapan senang, suka atau kebalikannya mereka juga mengemukakan tingkat kesukaannya. Tingkat-tingkat kesukaan ini disebut skala hedonik.

Skala hedonik :

4 = sangat suka

3 = suka

2 = tidak suka

1 = sangat tidak suka

Panelis yang digunakan untuk uji organoleptik adalah panelis tidak terlatih yaitu 30 orang Mahasiswa Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang dengan kriteria :

- a) Bersedia menjadi panelis
- b) Sebelum pelaksanaan tidak dalam keadaan lapar atau kenyang
- c) Dalam keadaan sehat

- d) Tidak mempunyai pantangan terhadap bahan pangan yang digunakan dalam penelitian.

Langkah-langkah yang dilakukan dalam pengujian ini yaitu :

- a) Memberi penjelasan kepada panelis mengenai tujuan dan cara pengisian formulir penilaian mutu organoleptik.
- b) Panelis ditempatkan pada ruang uji organoleptik
- c) Masing-masing produk diletakkan pada piring penyajian yang sudah di beri kode.
- d) Menyediakan segelas air putih sebagai penetral
- e) Panelis diharapkan untuk menilai sampel dan diminta mengisi form penilaian mutu organoleptik sebagaimana terlampir pada Lampiran 2.

3. Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

Penentuan taraf perlakuan terbaik menggunakan metode indeks efektivitas. Metode tersebut dilakukan dengan cara mengukur beberapa variabel yang mempengaruhi smoothies hasil pengembangan, seperti kadar aktivitas antioksidan dan mutu organoleptik (warna, aroma, rasa, tekstur dan kekentalan).

Panelis kemudian diminta untuk memberikan pendapat yaitu variabel mana yang menurut mereka mempengaruhi mutu dan memberikan nilai pada variabel tersebut. Selain itu, panelis dapat memberikan nilai yang sama pada variabel yang dianggap memberikan pengaruh yang sama pentingnya terhadap produk smoothies.

Adapun kriteria panelis sebagai berikut :

- a) Panelis semi terlatih
- b) Mengerti tentang variabel penring yang terdapat dalam pengolahan produk smoothies.
- c) Panelis diharapkan untuk mengisi form penilaian perlakuan terbaik, sebagaimana disajikan pada Lampiran 3.

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Aktivitas Antioksidan

Pengolahan data mutu fungsional (aktivitas antioksidan) untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh konsentrasi soyghurt dan penambahan buah naga merah terhadap aktivitas antioksidan. Data tingkat aktivitas antioksidan masing-masing variabel diolah dengan software SPSS dan dianalisis statistik menggunakan metode One Way Anova pada tingkat kepercayaan 95%.

Penarikan kesimpulan :

- a) H₀ ditolak apabila Sig <0,05 berarti ada pengaruh konsentrasi soyghurt dan penambahan buah naga merah terhadap aktivitas antioksidan smoothies.
- b) H₀ diterima apabila Sig >0,05 berarti tidak ada pengaruh konsentrasi soyghurt dan penambahan buah naga merah terhadap aktivitas antioksidan smoothies.

Jika H₀ ditolak, maka dilanjutkan dengan uji statistik lanjutan Duncan Multiple Range Test untuk menentukan pasangan perlakuan mana yang berbeda signifikan.

2. Mutu Organoleptik

Pengolahan data mutu organoleptik menggunakan analisis statistik Kruskal Wallis pada tingkat kepercayaan 95%.

Penarikan kesimpulan :

- a) H₀ ditolak apabila Sig <0,05 berarti ada pengaruh penambahan buah naga merah dan *soyghurt* terhadap mutu organoleptik (warna, aroma, rasa, tekstur dan kekentalan) smoothies.
- b) H₀ ditolak apabila Sig >0,05 tidak berarti ada pengaruh penambahan buah naga merah dan *soyghurt* terhadap mutu organoleptik (warna, aroma, rasa, tekstur dan kekentalan) smoothies.

Jika H₀ ditolak, maka dilanjutkan uji statistik perbandingan ganda Mann Whitney untuk menentukan pasangan perlakuan mana yang berbeda signifikan.

3. Taraf Perlakuan Terbaik

- a) Hasil penentuan taraf perlakuan terbaik dari masing-masing responden ditabulasi sehingga diperoleh jumlah nilai masing-masing variabel dan rata-ratanya.
- b) Ranking variabel ditentukan berdasarkan nilai rata-rata masing-masing variabel dimana variabel yang memiliki rata-rata terbesar diberi ranking ke-1 dan variabel dengan rata-rata terendah diberi ranking ke-5.
- c) Bobot variabel ditentukan dengan membagi rata-rata tiap variabel dengan rata-rata tertinggi. Variabel dengan nilai rata-rata semakin besar, maka rata-rata terendah sebagai nilai terjelek dan rata-rata tertinggi sebagai nilai terbaik.

$$\text{Bobot variabel} = \frac{\text{rata} - \text{rata variabel}}{\text{rata} - \text{rata tertinggi}}$$

- d) Bobot normal masing-masing variabel didapat dari variabel dibagi bobot total variabel.

$$\text{Bobot normal} = \frac{\text{Bobot variabel}}{\text{Bobot total variabel}}$$

- e) Setiap variabel kemudian dihitung nilai efektifitasnya (Ne) dengan rumus :

$$Ne = \frac{\text{Nilai perlakuan} - \text{Nilai terjelek}}{\text{Nilai terbaik} - \text{Nilai terjelek}}$$

- f) 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.

$$N_h = \text{bobot normal} \times N_e$$

- g) Taraf perlakuan terbaik adalah taraf perlakuan yang memiliki nilai hasil tertinggi.

Instrumen untuk analisis data antara lain kalkulator scientific, komputer dengan program Microsoft Word, Microsoft Excel, dan SPSS Statistics 21 serta alat tulis.