

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen laboratorium dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 4 taraf perlakuan. Dasar penetapan taraf perlakuan secara isokalori berdasarkan proporsi zat gizi sesuai Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor : 224/Menkes/SK/II/2007 tentang spesifikasi teknis MP-ASI anak usia 12-24 bulan dengan jumlah energi 400 kkal, protein 8-12 gram, lemak 10-18 gram dalam 100 gram biskuit. Masing-masing taraf perlakuan dilakukan tiga kali replikasi sehingga jumlah unit penelitian adalah 12 unit penelitian, seperti yang disajikan pada Tabel 6. Lay out penelitian terlampir pada Lampiran 1.

Tabel 6. Desain Rancangan Acak Lengkap

Taraf Perlakuan (%) (Tepung Terigu :Tepung Kecambah Kacang Hijau : Tepung Beras Merah)	Replikasi		
	1	2	3
P ₀ (100 : 0 : 0)	X ₀₁	X ₀₂	X ₀₃
P ₁ (80: 8 : 12)	X ₁₁	X ₁₂	X ₁₃
P ₂ (60:16 : 24)	X ₂₁	X ₂₂	X ₂₃
P ₃ (40: 24: 36)	X ₃₁	X ₃₂	X ₃₃

Keterangan:

X₀₁, X₀₂, X₀₃,, X₃₃ : unit penelitian

Setiap unit penelitian mempunyai peluang yang sama untuk mendapatkan perlakuan, maka dalam penempatan unit penelitian digunakan randomisasi atau pengacakan.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari - Februari 2017 di

1. Laboratorium Ilmu Teknologi Pangan (ITP) Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk proses pengeringan dan penepungan kecambah kacang hijau dan beras merah, pembuatan biskuit, serta pengujian organoleptik.
2. Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Muhammadiyah Malang untuk analisis proksimat biskuit.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Spesifikasi dan jumlah bahan yang dibutuhkan untuk pembuatan biskuit MP-ASI disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Spesifikasi Bahan untuk Biskuit

Bahan	Jumlah	Spesifikasi
Kacang hijau	250 gram	Kacang hijau dengan biji utuh, tidak keriput, dan bersih
Beras merah	500 gram	Warna merah terang, tidak berbau apek, tidak berkutu, dan tidak berkapang
Tepung terigu	1 kg	Merk segitiga biru, dengan kadar protein sedang (10-12%), jauh dari tanggal kadaluarsa, tidak apek dan tidak tengik
Telur ayam	250 gram	Cangkang utuh, tidak retak, bebas dari kotoran ayam, berwarna coklat bersih mengkilat, tidak busuk
Margarine	500 gram	Margarine berwarna kuning mesk Blue Band, tidak menggumpal, jauh dari tanggal kadaluarsa
Tepung susu skim	250 gram	Berwarna putih susu, tidak menggumpal, tidak tengik, jauh dari tanggal kadaluarsa, segel kemasan susu tidak rusak, tidak berbau apek
Gula pasir	1 kg	Berwarna putih bersih, merk Gulaku, kemasan tersegel dengan baik, tidak menggumpal
<i>Baking powder</i>	1 botol	Putih bersih, tidak berbau, tidak melebihi tanggal kadaluarsa

Bahan yang diperlukan untuk analisis kadar protein adalah biskuit, tablet kjeldahl, H_2SO_4 pekat, indicator PP, NaOH-thio 60%, asam borak 4% yang telah diberi indicator MR-BCG, HCl 0,02, kertas lakmus. Bahan untuk analisis kadar lemak adalah biskuit, pelarut kloroform, dan kertas saring. Bahan untuk analisis kadar air dan abu hanya biskuit MP-ASI. Bahan untuk analisis karbohidrat adalah data hasil analisis kadar protein, lemak, air, dan abu.

2. Alat

Alat yang digunakan untuk pengolahan tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah adalah timbangan, baskom, peniris, tampah, panci, kompor, loyang alumunium, oven, blender, dan ayakan 80 mesh. Alat yang digunakan untuk pembuatan biskuit adalah baskom, pisau, mixer, solet,

sendok, mangkuk, menggiling kayu dan cetakan biskuit, timbangan triplebeam, loyang, dan oven.

Alat yang dibutuhkan untuk analisis mutu protein dan karbohidrat adalah alat tulis, dan kalkulator. Sedangkan untuk analisis kadar protein menggunakan timbangan analitik, tabung kjeldahl, pipet ukur, spatula, pipet tetes, labu ukur dan beaker glass. Analisis kadar lemak membutuhkan alat timbangan analitik, pipet ukur, labu minyak, tabung reaksi, beaker glass, deksikator, oven, soxhlet apparatus, dan hotplate. Analisis kadar air dan kadar abu menggunakan oven, kurs porselen, deksikator, timbangan analitik, penjepit cawan, pembakar bunsen, dan tanur listrik. Penilaian organoleptik menggunakan form kuesioner, piring saji, nampan kecil, dan alat tulis.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas (*independent variable*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah proporsi tepung terigu, tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah.

2. Variabel terikat (*dependent variable*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai energi, kadar proksimat (protein, lemak, karbohidrat, kadar air, dan kadar abu), dan mutu organoleptik.

E. Definisi Operasional Variabel

Tabel 8. Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Metode	Alat Pengukuran	Skala Pengukuran
1	Proporsi tepung terigu, tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah	Perbandingan tepung terigu, tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah yang dinyatakan dalam bentuk persentase (%)	Isokalori	Persentase	Rasio
2	Kadar protein	Kandungan protein yang terdapat dalam biskuit dan dinyatakan dalam satuan persen (%)	Mikro Kjeldahl	Satu set tabung Kjeldahl	Rasio
3	Kadar lemak	Kandungan lemak yang terdapat dalam biskuit dan dinyatakan dalam satuan persen (%)	<i>Soxhlet extraction</i>	Satu set alat uji lemak	Rasio
4	Kandungan karbohidrat	Kandungan karbohidrat yang terdapat dalam biskuit dan dinyatakan dalam satuan persen (%)	<i>By difference</i>	Kalkulator	Rasio
5	Kadar air	Kandungan air yang terdapat dalam biskuit dan dinyatakan dalam satuan persen (%)	Oven	Timbangan analitik	Rasio

6	Kadar abu	Kandungan abu yang terdapat dalam biskuit dan dinyatakan dalam satuan persen (%)	Oven	Timbangan analitik	Rasio
7	Mutu organoleptik	Tingkat kesukaan panelis yang meliputi atribut warna, aroma, rasa, dan tekstur	<i>Hedonic scale test</i>	Form uji hedonik	Ordinal

F. Prosedur Penelitian

1. Formulasi Biskuit MP-ASI

Acuan yang digunakan dalam formulasi biskuit MP-ASI kecambah kacang hijau dan beras merah adalah Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor : 224/Menkes/SK/II/2007 tentang spesifikasi teknis MP-ASI anak usia 12-24 bulan. Komposisi gizi per 100 g biskuit yang disyaratkan pada Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia tersebut yaitu energi 400 kkal, protein 8-12 g, lemak 10-18 g, dan karbohidrat dalam bentuk gula (sukrosa) maksimal 30 g. Jumlah bahan yang dibutuhkan untuk replikasi dan analisis biskuit MP-ASI pengembangan pada semua taraf perlakuan disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Jumlah Bahan yang Dibutuhkan pada Setiap Taraf Perlakuan

Bahan Makanan	Satuan	Jumlah Bahan Masing-masing Taraf Perlakuan Per Resep				Total Bahan
		P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	
Tepung kecambah kacang hijau	g	-	12	24	36	72
Tepung beras merah	g	-	18	36	54	108
Tepung terigu	g	150	120	90	60	420
Susu skim	g	60	60	60	60	240
Telur ayam	g	15	15	15	15	60
Margarine	g	90	90	90	90	360
Gula pasir	g	75	75	75	75	300
<i>Baking powder</i>	g	3	3	3	3	12

Keterangan:

Persentase Tepung Terigu : Tepung Beras Merah : Tepung Kecambah Kacang Hijau

P₀ = 100 : 0 : 0

P₁ = 80 : 8 : 12

P₂ = 60 : 16 : 24

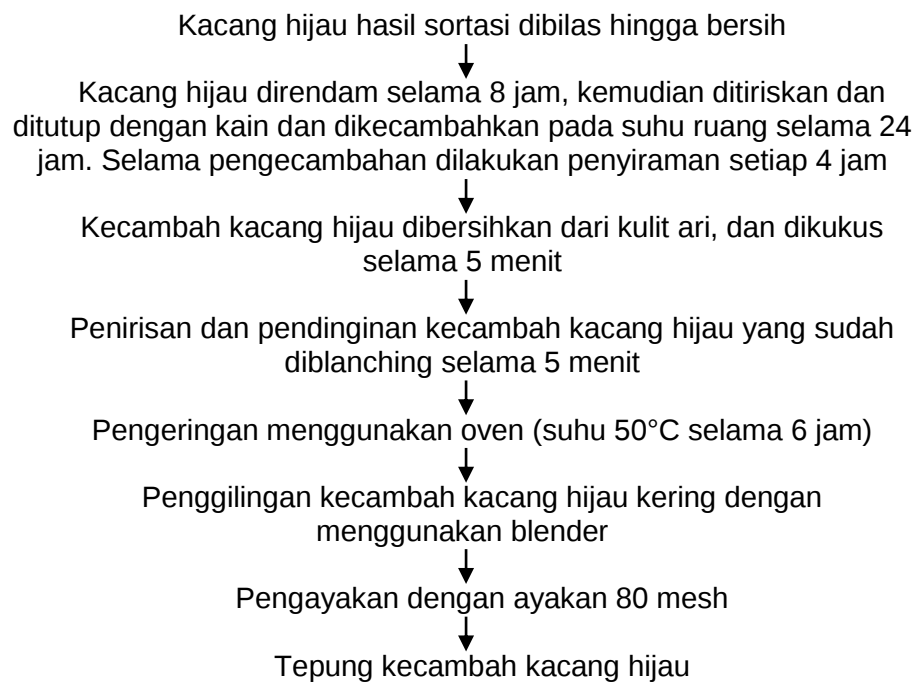
P₃ = 40 : 24 : 36

Tabel 9 menunjukkan jumlah bahan yang dibutuhkan pada setiap taraf perlakuan berdasarkan proporsi tepung kecambah kacang hijau, tepung beras merah, dan tepung terigu. Kandungan gizi tiap taraf perlakuan per 100 gram bahan disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Kandungan Gizi pada Semua Taraf Perlakuan/100 gram Bahan

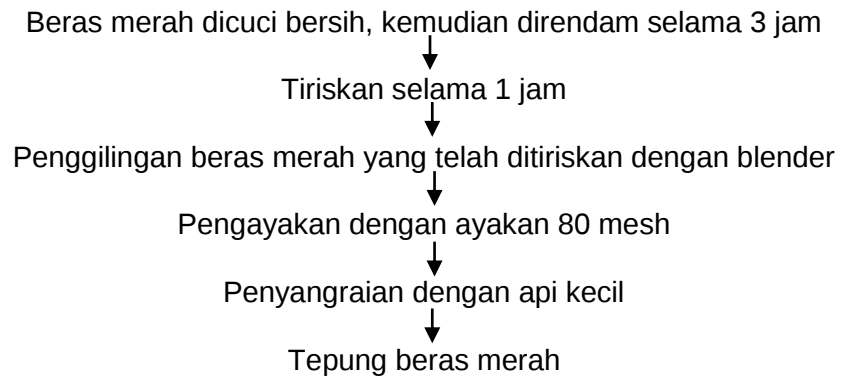
Kandungan Zat Gizi	Taraf Perlakuan			
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
Energi (kkal)	410	412	414	415
Protein (g)	9,8	10,0	10,3	10,5
Lemak (g)	16,5	16,6	16,7	16,8
Karbohidrat (g)	56,0	56,0	56,0	56,0

2. Penepungan Kecambah Kacang Hijau



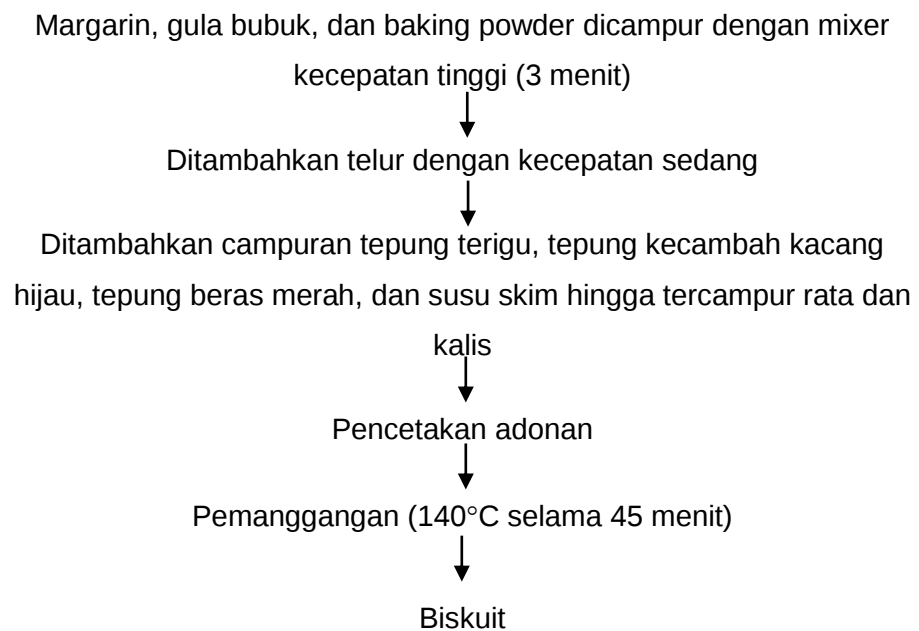
Gambar 1. Diagram Alir Penepungan Kecambah Kacang Hijau (Aminah dan Hersoelistyorini, 2012)

3. Penepungan Beras Merah



Gambar 2. Diagram Alir Penepungan Beras Merah (Iswantini dkk, 2010)

4. Pengolahan Biskuit



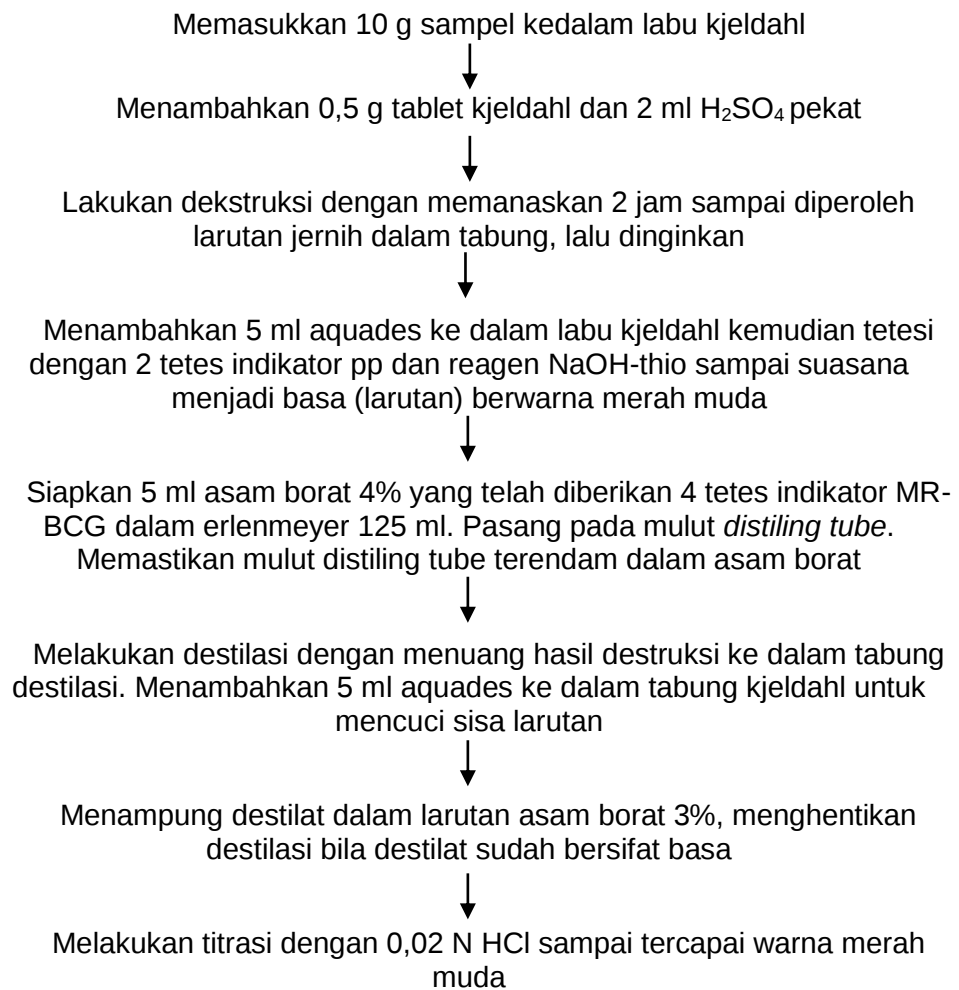
Gambar 3. Diagram Alir Pengolahan Biskuit (Sundari, 2011)

G. Metode Analisis

1. Kadar Proksimat

a. Kadar protein

Kadar protein dianalisis menggunakan metode *Mikro Kjeldahl* dengan prosedur sebagai berikut :



Gambar 4. Diagram Alir Analisis Kadar Protein (Suwardono J.H. dkk, 2001)

Perhitungan :

$$\% \text{ Total Nitrogen} = \frac{(\text{ml HCl} - \text{ml blanko}) \times N \text{ HCl} \times 14,007 \times 100}{\text{mg sampel}}$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Total Nitrogen} \times \text{Faktor Konversi}^*$$

Keterangan :

fp = Faktor pengenceran

14,008 = berat atom nitrogen

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

b. Kadar lemak

Kadar lemak dianalisis menggunakan metode *Soxhlet* dengan prosedur sebagai berikut :

Menyiapkan labu lemak yang ukurannya sesuai dengan alat ekstraksi soxhlet yang akan digunakan



Mengeringkan labu lemak tersebut dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit, mendinginkan dalam desikator selama 15 menit dan menimbang (A)



Menimbang 5 gram biskuit pengembangan tepat langsung dalam saringan timbel yang sesuai ukurannya. Kemudian menutup dengan kapas wool yang bebas lemak. Alternatif lain, biskuit pengembangan dapat pula dibungkus dengan kertas saring



Memasukkan pelarut lemak ke dalam labu lemak secukupnya



Memasukkan timbel ke dalam alat ekstraksi soxhlet



Memasang alat ekstraksi



Memanaskan labu lemak dan melakukan ekstraksi selama 4 jam



Menyuling kembali pelarut dan mengangkat labu lemak serta mengeringkan dalam oven pada suhu 105° C sampai tidak ada penurunan berat lagi (berat konstan)



Mendinginkan dalam desikator selama 30 menit dan menimbang (B)



Menghitung kadar lemak dengan rumus

$$\% \text{ Lemak} = \frac{B - A}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

Gambar 5. Diagram Alir Analisis Kadar Lemak (A. Sulaeman dkk, 1995)

c. Kadar air

Berikut ini adalah langkah-langkah analisa kadar air:

Mengeringkan cawan kosong dan tutupnya dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit. Kemudian mendinginkan dalam desikator dan menimbang cawan



Menimbang 2 gram sampel dalam cawan tersebut dan tutup dengan tepat



Meletakkan cawan tersebut dalam oven dan melonggarkan tutupnya



Memanaskan oven sampai suhu 100°C dengan vakum dipertahankan sekitar 25 mmHg



Melakukan pengeringan sampai didapatkan berat konstan (5 jam)



Memasukkan udara kering kedalam oven sampai tekanan atmosfer



Segera menutup cawan dengan penutupnya, memasukkan kedalam desikator dan segera menimbang setelah dingin (suhu kamar)

Gambar 6. Diagram Alir Analisis Kadar Air (A. Sulaeman dkk,1995)

Kadar Air dihitung dengan menggunakan perhitungan :

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{B1 - B2}{B} \times 100\%$$

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

Keterangan :

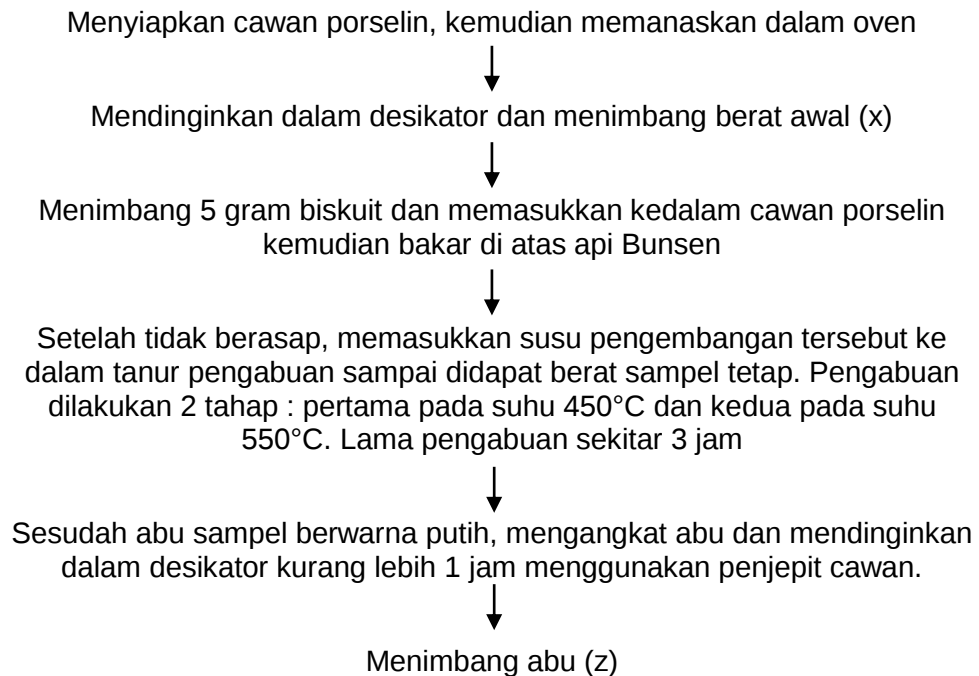
B = Berat sampel

B1 = Berat (sampel dan cawan) sebelum dikeringkan

B2 = Berat (sampel dan cawan) setelah dikeringkan

d. Kadar abu

Berikut ini adalah langkah-langkah analisa kadar abu:



Gambar 7. Diagram Alir Analisis Kadar Abu (A. Sulaeman dkk, 1995)

Perhitungan kadar abu menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(z - x)}{\text{Berat sampel}}$$

Kadar bahan organik dapat diketahui dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Bahan Organik (BO)} = (\text{Bahan Kering (BK)} - \text{Abu})\%$$

e. Kadar karbohidrat

Analisis karbohidrat menggunakan cara perhitungan kasar (*proximat analysis*) atau juga disebut *carbohydrate by difference*, dimana cara perhitungan adalah sebagai berikut :

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

2. Mutu organoleptik

a. Uji mutu organoleptik

Uji mutu organoleptik dilakukan dengan menggunakan metode *Hedonic Scale Test* yang bertujuan untuk mengetahui daya terima terhadap biskuit MP-ASI. Skala kesukaan dinyatakan dalam 4 tingkat kesukaan. Tingkat kesukaan pada metode hedonik yang digunakan adalah :

- | | |
|-----------------------|-----------------|
| 1 = sangat tidak suka | 3 = suka |
| 2 = tidak suka | 4 = sangat suka |

Panelis dalam pengisian form ini adalah mahasiswa Politeknik Kesehatan Jurusan Gizi tingkat II dan III yang berjumlah 20 orang dengan kriteria :

- a. Bersedia menjadi panelis.
- b. Tidak boleh dalam keadaan lapar atau kenyang.
- c. Dalam keadaan sehat.
- d. Tidak mempunyai pantangan terhadap pengembangan dari tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah.

Langkah – langkah yang dilakukan dalam pengujian ini yaitu :

- a. Panelis ditempatkan pada suatu ruang khusus (ruang penilaian mutu organoleptik).
- b. Masing – masing produk diletakkan dalam piring organoleptik.
- c. Setiap kali selesai menilai satu unit perlakuan maka untuk menghilangkan rasa dari unit yang sebelumnya panelis diberikan air putih.

Panelis diharapkan untuk menilai sampel dan diminta untuk mengisi kuisioner uji mutu organoleptik seperti yang terlampir pada Lampiran 2. Jenis parameter yang diuji yaitu warna, aroma, rasa, dan tekstur.

b. Penentuan taraf perlakuan terbaik

Penentuan taraf perlakuan terbaik menggunakan metode indeks efektifitas. Metode tersebut dilakukan dengan cara mengukur beberapa variabel yang mempengaruhi mutu biskuit yang dihasilkan seperti nilai energi, kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat,

mutu protein, aroma, warna, rasa, dan tekstur. Panelis kemudian diminta untuk memberikan pendapat yaitu variabel mana yang menurutnya mempengaruhi mutu dan memberikan nilai pada variabel tersebut. Panelis dapat memberikan nilai yang sama pada variabel yang dianggap memberikan pengaruh yang sama pentingnya terhadap pengembangan biskuit tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah.

Adapun kriteria panelis sebagai berikut :

- Panelis terlatih
- Mengerti tentang variabel penting yang terdapat dalam pengembangan biskuit tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah.

Panelis diharapkan untuk mengisi form penilaian perlakuan terbaik, sebagaimana disajikan pada Lampiran 3.

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Kadar proksimat

Pengolahan data kadar proksimat biskuit bertujuan untuk mengetahui ada atau tidak adanya pengaruh tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah sebagai bahan dalam pengolahan biskuit. Data nilai kadar proksimat pada penelitian diolah menggunakan program SPSS 16.0 for Windows dan dianalisis dengan *One Way Anova* pada tingkat kepercayaan 95%.

Penarikan Kesimpulan:

H_0 ditolak apabila $Sig < 0,05$ berarti ada pengaruh tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah dalam formulasi biskuit terhadap nilai energi dan kadar proksimat.

H_0 diterima apabila $Sig > 0,05$ berarti tidak ada pengaruh tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah dalam formulasi biskuit terhadap nilai energi dan kadar proksimat.

Jika H_0 ditolak artinya ada pengaruh. Untuk mengetahui taraf perlakuan yang berbeda nyata, digunakan uji lanjutan *Post Hoc Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat kepercayaan 95%. Selanjutnya data kadar proksimat disajikan dalam bentuk grafik dan dijelaskan secara deskriptif.

2. Mutu organoleptik

Hasil uji mutu organoleptik ditabulasi menurut parameter mutu organoleptik yang diuji (warna, rasa, aroma, dan tekstur) sebagaimana disajikan pada Lampiran 5.

Pengolahan data hasil uji mutu organoleptik biskuit pengembangan tepung kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) dan tepung beras merah (*Oryza nivara*) terhadap nilai energi dan mutu kimia susu digunakan analisis statistik *Kruskall Wallis* pada tingkat kepercayaan 95%

Penarikan kesimpulan :

H_0 ditolak apabila $Sig \leq 0,05$, berarti ada pengaruh tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah dalam formulasi biskuit terhadap mutu organoleptik.

H_0 diterima apabila $Sig > 0,05$, berarti tidak ada pengaruh tepung kecambah kacang hijau dan tepung beras merah dalam formulasi biskuit terhadap mutu organoleptik.

Jika H_0 ditolak, maka dilanjutkan uji statistik perbandingan ganda *Mann Whitney* pada tingkat kepercayaan 95% untuk menentukan pasangan perlakuan mana yang berbeda signifikan. Analisis ini dilakukan dengan cara menguji taraf perlakuan ke-a dengan taraf perlakuan ke-b. Hasil uji mutu organoleptik disajikan dalam bentuk tabel dan dijelaskan secara deskriptif.

3. Penentuan taraf perlakuan terbaik

Penentuan perlakuan terbaik dilakukan untuk mengetahui perlakuan mana dalam penelitian ini yang terbaik menurut responden. Penentuan perlakuan terbaik dilakukan dengan Indeks Efektifitas. Prosedur untuk menentukan perlakuan terbaik adalah sebagai berikut:

- a. Hasil penelitian dari masing – masing panelis 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-10
- c. Bobot variabel ditentukan dengan membagi nilai 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.

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

- 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 efektifitasannya (Ne) dengan rumus :

$$\text{Ne} = \frac{\text{Nilai Perlakuan} - \text{Nilai Terjelek}}{\text{Nilai Terbaik} - \text{Nilai Terjelek}}$$

- f. Nilai yang digunakan untuk 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.

$$\text{Nh} = \text{Bobot Normal} \times \text{Ne}$$

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

Hasil dari penentuan terbaik disajikan dalam bentuk tabel dan dijelaskan secara deskriptif.