

### BAB III METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis dari penelitian ini adalah *True Experimental* menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan substitusi jagung manis dalam susu kecambah kedelai yang terdiri dari 4 taraf perlakuan dengan replikasi sebanyak 3 kali yang disajikan pada Tabel 6. Formulasi taraf perlakuan berdasarkan 10% dari total AKG untuk anak sekolah usia 5 – 12 berkisar antara 160 – 210 kkal energi, 3,5 – 6,0 gram protein, 6,2 – 7,2 gram lemak, 22,0 – 28,9 gram karbohidrat, dan 45 – 60 mcg vitamin A dalam sehari. Dalam satu kali saji susu kecambah kedelai dengan substitusi jagung manis ini diberikan sebanyak 250 mL agar dapat memenuhi 10% dari total AKG untuk anak sekolah dengan perhitungan secara empiris yang dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 6. Perbandingan Antara Kecambah Kedelai Dengan Jagung Manis

Taraf Perlakuan Proporsi (Kecambah Kedelai : Jagung Manis)	Replikasi		
	1	2	3
P0 (100 : 0)	X01	X02	X03
P1 (67 : 33)	X11	X12	X13
P2 (50 : 50)	X21	X22	X23
P3 (33 : 67)	X31	X32	X33

Keterangan :

X<sub>01</sub> : Unit perlakuan pada taraf perlakuan P<sub>0</sub> replikasi 1

X<sub>11</sub> : Unit perlakuan pada taraf perlakuan P<sub>1</sub> replikasi 1

....

X<sub>33</sub> : Unit perlakuan pada taraf perlakuan P<sub>3</sub> replikasi 3

Pada penelitian ini terdiri dari 4 taraf perlakuan yang tiap taraf perlakuan memiliki komposisi formulasi bahan seperti yang tersaji pada Tabel. 7. Berdasarkan perhitungan kadar zat gizi susu kecambah kedelai substitusi jagung manis secara empiris seperti tersaji pada Tabel. 8.

Tabel 7. Komposisi Bahan Susu Kecambah Kedelai dengan Penambahan Jagung Manis

Komposisi Bahan	Formulasi Susu Kecambah Kedelai (gram)			
	P0	P1	P2	P3
Kecambah Kedelai	150	100	75	50
Jagung manis	-	50	75	100
Gula	45	45	45	45
Air (ml)	600	600	600	600

Tabel 8. Komposisi Zat Gizi Formulasi Jagung Manis pada Susu Kecambah Kedelai per 150 gram bahan

Komposisi Zat Gizi	Taraf Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
Energi (kkal)	279,5	315,0	332,8	350,5
Protein (gr)	13,5	11,6	10,6	9,6
Lemak (gr)	3,9	3,0	2,4	2,0
Karbohidrat (gr)	52,0	63,9	70,3	76,7
Betakaroten (mcg)	33,0	89,5	109,5	129,5

## B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada waktu dan tempat:

1. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret – Mei 2019
2. Laboratorium Ilmu Bahan Makanan Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk proses pengolahan susu kecambah kedelai
3. Laboratorium Organoleptik Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk analisis mutu organoleptik
4. Laboratorium Kimia Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk analisis nilai energi dan mutu kimia.

## C. Alat dan Bahan

### 1. Alat

#### a. Pengolahan susu kecambah kedelai jagung manis

Alat – alat yang dibutuhkan saat pengolahan susu kecambah kedelai jagung manis diantaranya:

1. Pisau
2. Baskom
3. Sendok
4. Panci
5. Gelas belimbing
6. Gelas ukur
7. Thermometer
8. Piring
9. Timbangan
10. Blender
11. Kain Saring

#### b. Analisis kadar zat gizi

Alat – alat yang dibutuhkan saat analisis kadar zat gizi susu kecambah kedelai jagung manis diantaranya:

1. Oven
2. Kurs porselen
3. Desikator
4. Timbangan analitik
5. Penjepit cawan
6. Pembakar Bunsen
7. Tanur
8. Tabung *kjeldahl*
9. Spatula
10. Pipet
11. *Hot plate*
12. *Beaker glass*
13. *Soxhlet apparatus*
14. Spektrofotometer UV-Vis

## 2. Bahan

### 1. Pengolahan susu kecambah kedelai

Tabel 9. Bahan Makanan untuk Pengolahan Susu Kecambah Kedelai

Bahan	Spesifikasi	Jumlah	Satuan
Air mineral	Merk Aqua, kemasan dan segel tidak rusak	4	Liter
Kedelai ( <i>Glycine max</i> )	Varietas Anjasmoro, bulat utuh, tidak berlubang tidak ada serbuk	2	kg
Jagung manis ( <i>Zea mays saccharata</i> )	Warna biji kuning cerah, biji jagung terasa manis, tidak kisut	1	kg
Gula pasir	Merk Gulaku, warna putih, tidak menggumpal, kemasan tidak robek	1	kg

### 2. Analisis kadar zat gizi

Analisis kadar air dan kadar abu dibutuhkan bahan susu kecambah kedelai dan label. Analisis kadar protein (*mikro kjeldahl*) membutuhkan bahan susu kecambah kedelai, tablet kjeldhal, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, indikator PP, NaOH-thio 60%, asam boraks 4%, yang telah diberi indikator MR-BCG, HCl 0,02, kertas lakmus, untuk analisa kadar lemak (*soxhlet*) dibutuhkan bahan susu kecambah kedelai, pelarut kloroform dan kertas saring, analisis kadar karbohidrat (*by difference*). Analisis betakaroten membutuhkan bahan susu kecambah kedelai, standart betakaroten, pelarut n-heksana, dan etanol.

## D. Variabel Penelitian

### 1. Variabel bebas (independent variabel)

Proporsi substitusi jagung manis pada susu kecambah kedelai

### 2. Variabel terikat (dependent variabel)

Mutu kimia (protein, lemak, karbohidrat, dan betakaroten), nilai energi, dan mutu organoleptik susu kecambah kedelai

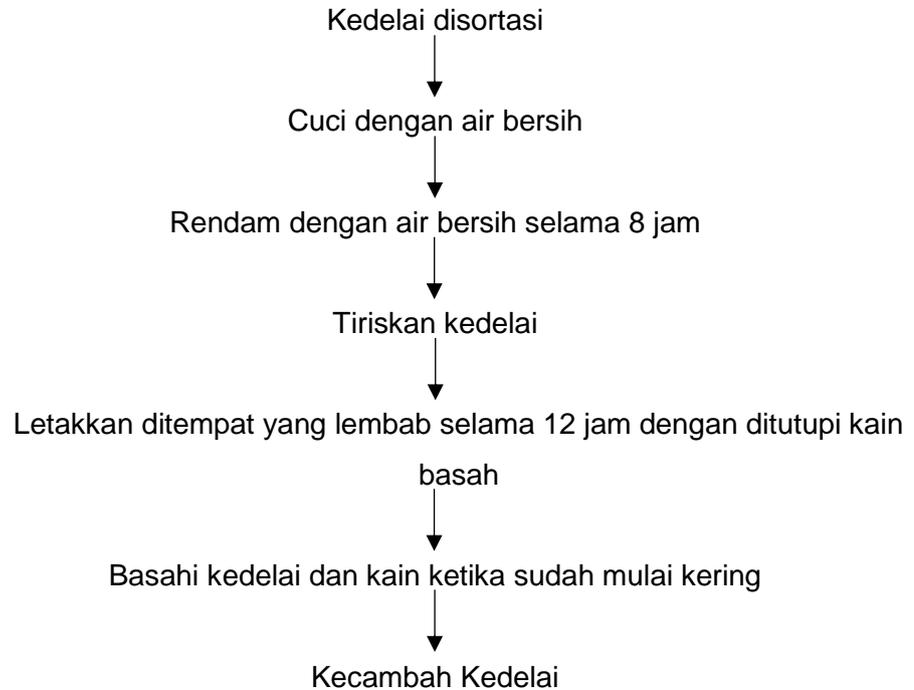
## E. Definisi Operasional

Tabel 10. Definisi Operasional Penelitian

Variabel	Definisi	Hasil Ukur	Skala Ukur
Proporsi susu kecambah kedelai : jagung manis	Perbandingan antara kecambah kedelai dan jagung manis	Proporsi	Rasio
Nilai energi susu kecambah kedelai	Besarnya energi yang tersedia dalam 100 ml susu kecambah kedelai yang dapat ditetapkan melalui perhitungan menurut komposisi, protein, lemak, dan karbohidrat, serta nilai energi faali susu kecambah kedelai	Dinyatakan dalam satuan kalori	Rasio
<b>Mutu Kimia</b>			
Kadar Protein susu kecambah kedelai	Jumlah protein dalam satuan gram per 100 ml susu kecambah kedelai yang dianalisis dengan metode semi mikro kjeldahl.	Dinyatakan dalam satuan gram	Rasio
Kadar Lemak susu kecambah kedelai	Jumlah lemak dalam satuan gram per 100 ml susu kecambah kedelai yang dianalisis dengan metode soxhlet extraction.	Dinyatakan dalam satuan gram	Rasio
Kadar Karbohidrat susu kecambah kedelai	Jumlah karbohidrat dalam satuan gram per 100 ml susu kecambah kedelai yang dianalisis dengan metode by difference.	Dinyatakan dalam satuan gram	Rasio
Kadar Beta karoten susu kecambah kedelai	Jumlah beta karoten dalam satuan mili gram per 100 ml susu kecambah kedelai yang dianalisis dengan metode spektrofotometri UV – Vis.	Dinyatakan dalam satuan mili gram	Rasio
<b>Mutu Organoleptik</b>			
Mutu organoleptik susu kecambah kedelai	Tingkat kesukaan panelis meliputi atribut warna, aroma, dan rasa terhadap karakteristik susu kecambah kedelai yang ditentukan dengan <i>Hedonic Scale Test</i> dengan 15 orang panelis agak terlatih yaitu mahasiswa jurusan gizi.	4 = Sangat suka 3 = Suka 2 = Tidak suka 1 = Sangat tidak suka	Ordinal

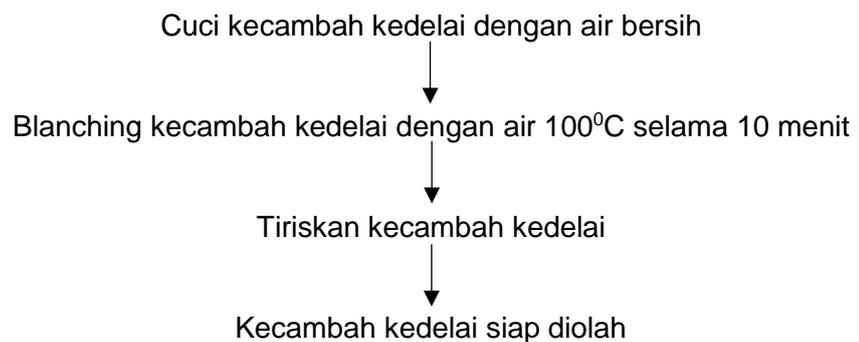
## F. Prosedur Penelitian

### 1. Cara mekecambahkan kedelai



Gambar 4. Diagram Alir Perkecambahan Kedelai menurut Mardiyanto dan Sudarwati (2015) dengan modifikasi

### 2. Persiapan kecambah kedelai sebelum diolah



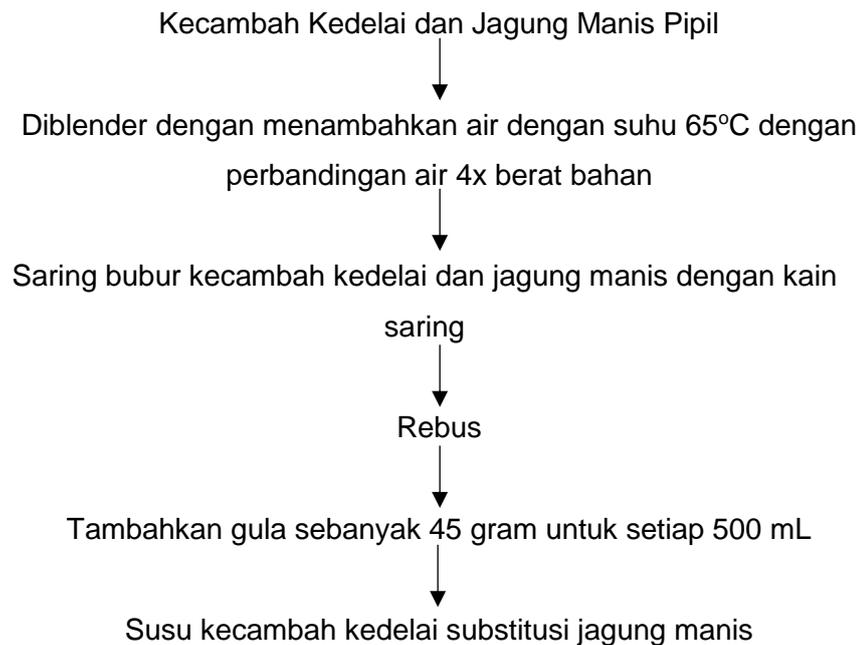
Gambar 5. Diagram Alir Persiapan Kecambah Kedelai Sebelum Diolah menurut Darma dkk, (2013) dengan modifikasi

### 3. Persiapan jagung manis sebelum diolah



Gambar 6. Diagram Alir Persiapan Jagung Manis Sebelum Diolah menurut Darma dkk, (2013) dengan modifikasi

### 4. Pembuatan susu kecambah kedelai



Gambar 7. Diagram Alir Pembuatan Susu Kecambah Kedelai Substitusi Jagung Manis menurut Mardiyanto dan Sudarwati (2015) dengan modifikasi

## **G. Metode Analisis**

### **1. Mutu Kimia**

#### **a. Analisis Kadar Air**

Menurut SNI 01-2891-1992 butir 5.1.1-5.1.3, analisis kadar air dengan metode grafimetri (oven). Sample ditimbang sekitar 5 gram dan ditempatkan dalam botol timbang dan diketahui beratnya. Sample dikeringkan dalam oven suhu 105°C selama 3 jam, didinginkan dalam desikator dan ditimbang beratnya. Sample dikeringkan kembali dalam oven selama 30 menit, didinginkan dalam desikator dan ditimbang beratnya. Perlakuan ini diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh berat konstan, (memiliki selisih kurang dari 0,002 gram).

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

Keterangan :

B = Berat sampel

B1 = Berat (Sampel + Cawan) sebelum dikeringkan

B2 = Berat (Sampel + Cawan) setelah dikeringkan

#### **b. Analisis Kadar Abu**

Menurut SNI 01-2891-1992 butir 6.1.1-6.1.3, analisis kadar abu menggunakan metode grafimetri (tanur). Sample ditimbang sekitar 5 gram dan ditempatkan dalam cawan porselen dan diketahui beratnya. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam tanur pengabuan dengan suhu maksimum 550°C sampai pengabuan sempurna (sesekali tanur dibuka sedikit agar oksigen dapat masuk). Lama pengaburan sekitar 3-4 jam sampai diperoleh sampel yang berwarna putih abu-abu. Selanjutnya cawan didinginkan dalam desikator dan ditimbang berat abu yang dihasilkan

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{w1-w2}{w} \times 100\%$$

Keterangan :

w = Berat sampel

w1 = Berat (Sampel + Cawan) setelah diabukan

w2 = Berat cawan kosong

### c. Analisis Kadar Protein

Menurut AOAC Tahun 2005 No 12.1.07, Analisis kadar protein pada susu kecambah kedelai menggunakan metode *Mikro Kjeldal*. Sampel sekitar 0.05 gram dimasukkan kedalam *labu kjedal*, lalu ditambahkan tablet kjeldal 0,5 g dan 2 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Destruksi dilakukan selama 1-2 jam (sampai sampel jernih tidak berwarna). Selanjutnya didinginkan sampai suhu kamar. Proses destilasi dilakukan dengan menambahkan 5 mL aquades ke dalam *labu kjeldal* yang telah didinginkan. Selanjutnya ditambahkan indikator pp dan NaOH 10% sebanyak 20-30 ml (sampai berwarna ungu). Isi labu dipindahkan ke dalam tabung destilasi. Labu kjeldal dibilas dengan sedikit aquadest dan air bilasan dimasukkan ke dalam lubang tabung destilasi. Kemudian siapkan penampung erlenmeyer yang berisi asam borat 4% sebanyak 5 mL dan 2 tetes indicator metal merah. Destilasi dilakukan sampai destilasi yang tertampung mencapai 40 mL, destilasi dititrasi menggunakan HCl 0,02 N sampai warna berubah menjadi merah muda.

Perhitungan :

$$\% \text{ Nitrogen Total} = \frac{(A-B) \times N \text{ HCl} \times 14,008 \times 100\%}{Mg \text{ Sampel}} \%$$

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

Keterangan :

A = Volume HCl untuk titrasi blanko

B = Volume HCl untuk titrasi sampel

N = Normalitas standar untuk HCl (0.02)

14.008 = Berat atom nitrogen. Kadar protein diukur dengan mengalikan N total dengan faktor konversi bahan makanan yaitu 6.25

#### **d. Analisis Kadar Lemak**

Menurut SNI 01-2891-1992 butir 8.1.1-8.1.4, analisis kadar lemak pada susu kecambah kedelai menggunakan metode Soxhlet. 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 susu kecambah kedelai tepat langsung dalam saringan timbel yang sesuai ukurannya. Kemudian menutup dengan kapas wool yang bebas lemak. Alternatif lain, susu kecambah kedelai 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 3-4 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 20 – 30 menit dan menimbang (B).

Menghitung kadar lemak dengan menggunakan rumus:

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

#### **e. Analisis Kadar Karbohidrat**

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

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

#### f. Analisis Kadar Beta Karoten

Analisis kadar beta karoten pada suatu produk atau bahan makanan salah satunya dapat menggunakan metode Spektrofotometri UV Vis. Pembuatan larutan baku dibuat dengan menimbang seksama  $\beta$ -karoten standar dilarutkan dengan etanol hingga diperoleh konsentrasi larutan induk sebesar 1 mg/mL. Larutan baku  $\beta$ -karoten 50  $\mu$ g/mL dibaca serapannya pada panjang gelombang 452 nm sampai diperoleh waktu serapan yang stabil. Penentuan kurva baku dibuat seri larutan baku  $\beta$ -karoten 50  $\mu$ g/mL yaitu 1,0  $\mu$ g/mL, 2,0  $\mu$ g/mL, 3,0  $\mu$ g/mL, 4,0  $\mu$ g/mL, 5,0  $\mu$ g/mL, dibaca pada *operating time* dan panjang gelombang serapan maksimum yang diperoleh. Aluminium foil pada bagian luar dan terlindungi dari cahaya. Ditambahkan 50 mL larutan n-heksana v/v, dikocok selama 30 menit dengan *magnetic* stirer, dan disaring dengan corong Buchner. Diambil bagian non polar dan selanjutnya digunakan untuk uji kualitatif dan uji kuantitatif. Residu dari susu kecambah kedelai dimasukkan ke dalam labu takar 5,0 mL kemudian ditambah pelarut organik (etanol) sampai tanda batas dan dibaca serapannya (Octaviani dkk, 2014). Menghitung kadar beta karoten dengan menggunakan rumus :

$$\mu\text{g Beta Karoten per } 100 \text{ gr} = \frac{C \times FP \times 100}{W}$$

C = Konsentrasi beta karoten yang terbaca pada kurva standar ( $\mu$ g/ml)

FP = Faktor Pengenceran

W = Berat sampel yang digunakan

## 2. Nilai Energi

Analisis nilai energi dengan metode empiris dengan menggunakan rumus :

Nilai energi =  $\{(4 \times \text{kadar protein (g)}) + (9 \times \text{kadar lemak (g)}) + (4 \times \text{kadar karbohidrat (g)})\}$  (Almatsier, 2009).

### 3. Mutu Organoleptik

Pengolahan data uji organoleptik pengaruh substitusi jagung manis pada susu kecambah kedelai terhadap mutu organoleptik menggunakan metode *Hedonic Scale Scoring* yang bertujuan untuk mengetahui daya terima. Pada tingkat kepercayaan 95% yaitu digunakan analisis statistik *Kruskal Wallis*. Skala kesukaan dinyatakan dalam 4 tingkat kesukaan, yaitu:

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

Dalam pengisian formulir daya terima ini adalah panelis tidak terlatih yaitu mahasiswa Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang Jurusan Gizi berjumlah 25 orang dengan kriteria :

1. Bersedia menjadi panelis
2. Tidak boleh dalam keadaan lapar atau kenyang
3. Dalam keadaan sehat
4. Tidak mempunyai pantangan terhadap susu kedelai.

Langkah-langkah yang dilakukan dalam pengujian ini yaitu :

1. Panelis ditempatkan pada suatu ruang khusus (ruang penilaian mutu organoleptik)
2. Masing-masing produk diletakkan pada gelas kecil
3. Setiap kali selesai menilai satu unit perlakuan maka untuk menghilangkan rasa dari unit yang sebelumnya panelis diberikan air putih.

Panelis diharapkan menilai sampel dan diminta untuk mengisi kuesioner uji mutu organoleptik seperti terlampir pada Lampiran 1.

Jenis parameter yang diuji yaitu:

1. Warna
2. Aroma
3. Rasa

#### 4. Pengolahan dan Analisis Data

##### a. Mutu Kimia dan Nilai Energi

Untuk mengetahui ada atau tidak adanya pengaruh substitusi jagung manis pada susu kecambah kedelai terhadap mutu kimia dan nilai energi dari masing-masing taraf perlakuan perlu adanya pengolahan data mutu kimia dan nilai energi pada susu kecambah kedelai. Analisis data nilai mutu kimia dan nilai energi menggunakan analisis *One Way Anova* pada tingkat kepercayaan 95%.

Model statistik yang digunakan, menurut Yitnosumarto (1993):

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

$$i = 1, 2, 3$$

$$j = P1, P2, P3, P4$$

Keterangan :

$Y_{ij}$  = Nilai pengamatan (Nilai energi dan mutu kimia) pada taraf perlakuan ke-i dan e-j

$\mu$  = Nilai tengah umum

$T_i$  = Pengaruh taraf perlakuan ke-i

$\varepsilon_{ij}$  = Kesalahan (galat) percobaan pada taraf perlakuan ke-l replikasi ke-j

##### **Hipotesis Statistik:**

Ho: Tidak ada pengaruh substitusi jagung manis dalam susu kecambah kedelai terhadap mutu kimia dan nilai energi.

H1: Ada pengaruh substitusi jagung manis dalam susu kecambah kedelai terhadap mutu kimia dan nilai energi.

##### **Penarikan Kesimpulan :**

Ho ditolak apabila *Sig.* < 0,05 berarti ada pengaruh substitusi jagung manis dalam susu kecambah kedelai terhadap mutu kimia dan nilai energi.

Ho diterima apabila *Sig.* < 0,05 berarti tidak ada pengaruh substitusi jagung manis dalam susu kecambah kedelai terhadap mutu kimia dan nilai energi.

Untuk mengetahui taraf perlakuan yang berbeda nyata, digunakan uji lanjutan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Selanjutnya data rata-rata mutu kimia dan nilai energi susu kecambah kedelai disajikan secara deskriptif.

Menurut Sastrosupadi (2007), Statistik *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat kepercayaan 95% dengan model sebagai berikut:

$$UJD_a = R_{a(p;dbgalat)} \times \sqrt{\frac{s^2}{\text{replikasi}}}$$

Di mana:

$s^2$  replikasi = KT Galat replikasi

Keterangan:

a = tingkat kepercayaan

R = banyaknya taraf perlakuan yang dibandingkan

p = banyaknya taraf perlakuan

db galat =  $(I \times j) - 1$

Penarikan Kesimpulan:

Perbedaan signifikan jika nilai perbedaan mean dalam satu pasang taraf perlakuan terdapat pada kolom subset yang berbeda.

#### b. Mutu Organoleptik

Analisis mutu organoleptik ditentukan dengan cara deskriptif menggunakan nilai modus dari masing-masing taraf perlakuan. Sedangkan untuk mengetahui pengaruh substitusi jagung manis terhadap mutu organoleptik susu kecambah kedelai, digunakan analisis statistik *Kruskall Wallis* pada tingkat kepercayaan 95%. Menurut Supranto (2009) rumus yang digunakan adalah:

$$KW = \left[ \frac{12}{n(n+1)} \sum_{j=1}^k \frac{T_j^2}{n_j} \right] - 3(n+1)$$

$j = 1, 2, 3, 4$

Keterangan :

$n_j$  = banyaknya replikasi

- n = banyaknya unit penelitian  
 T<sub>j</sub> = jumlah peringkat dari setiap taraf perlakuan  
 KW = mengikuti fungsi kai-kuadrat dengan df = n – 1

Selanjutnya untuk dapat mengetahui secara rinci taraf-taraf perlakuan mana yang berbeda dilakukan uji lanjut dengan uji *Mann Whitney*. Analisis ini dilakukan dengan cara menguji taraf perlakuan ke-a dengan taraf perlakuan b sebagai berikut:

$$U_a = n_a n_b + \frac{n_a (n_a + 1)}{2} - R_a$$

$$U_b = n_a n_b + \frac{n_b (n_b + 1)}{2} - R_b$$

Nilai U terkecil = n<sub>a</sub>n<sub>b</sub> x Nilai U terbesar

Keterangan:

n<sub>a</sub> = jumlah replikasi taraf perlakuan a

n<sub>b</sub> = jumlah replikasi taraf perlakuan b

R<sub>a</sub> = jumlah peringkat yang diberikan pada sampel dengan jumlah n<sub>a</sub>

R<sub>b</sub> = jumlah peringkat yang diberikan pada sampel dengan jumlah n<sub>b</sub>

**Hipotesis Statistik:**

Ho: Tidak ada pengaruh substitusi jagung manis dalam susu kecambah kedelai terhadap nilai organoleptik

H1: Ada pengaruh substitusi jagung manis dalam susu kecambah kedelai terhadap nilai organoleptik.

**Penarikan Kesimpulan :**

Ho ditolak apabila Sig. < 0,05 berarti ada pengaruh substitusi jagung manis dalam susu kecambah kedelai terhadap nilai organoleptik.

Ho diterima apabila Sig. < 0,05 berarti tidak ada pengaruh substitusi jagung manis dalam susu kecambah kedelai terhadap nilai organoleptik.