**BAB III**

**METODOLOGI PENELITIAN**

1. **Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen laboratorium dengan desain percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 3 taraf perlakuan yaitu proporsi smoothies pisang ambon dan daun kelor. Formulasi taraf perlakuan berdasarkan 10% dari total AKG ibu hamil trimester pertama usia 19-29 tahun dengan Fe sebesar 2,6 mg dan vitamin C sebesar 8,5 mg. Masing-masing taraf perlakuan dilakukan 3 kali replikasi. Rancangan penelitian disajikan pada Tabel 3.1.

**Tabel 3.1. Desain Penelitian Acak Lengkap**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Taraf Perlakuan** | **Replikasi** | | |
| **1** | **2** | **3** |
| P0 (smoothies pisang ambon tanpa daun kelor) | X01 | X22 | X03 |
| P1 (smoothies pisang ambon + daun kelor 16%) | X11 | X12 | X13 |
| P2 (smoothies pisang ambon + daun kelor 20%) | X21 | X22 | X23 |

Keterangan:

X01 : Unit penelitian taraf perlakuan P0 replikasi 1

X02 : Unit penelitian taraf perlakuan P0 replikasi 2

Agar semua unit penelitian mempunyai peluang untuk mendapatkan perlakuan yang sama maka dalam pengambilan sampel dilakukan randomisasi atau pengacakan.

**Tabel 3.2Komposisi Bahan Smoothies untuk Satu Resep (275 gram)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Bahan** | **Taraf Perlakuan** | | | **Jumlah** |
| **P0** | **P1** | **P2** |
| Pisang ambon | 125 | 125 | 125 | 375 gram |
| Daun kelor | 0 | 20 | 25 | 45 gram |
| Nanas | 50 | 50 | 50 | 150 |
| Susu full cream | 50 | 50 | 50 | 150 ml |
| Yoghurt plain | 50 | 50 | 50 | 150 ml |
| Gula pasir | 10 | 10 | 10 | 30 |

**Tabel 3.3 Komposisi Zat Gizi Smoothies Per 100 gram**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Komposisi zat gizi** | **Taraf perlakuan** | | |
| **P0** | **P1** | **P2** |
| Fe (mg/100g) | 0,72 | 1,15 | 1,26 |
| Vitamin C (mg/100g) | 36,9 | 38,5 | 38,9 |

**Tabel 3.4 Komposisi Zat Gizi Smoothies Per Sajian (200 gram)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Komposisi zat gizi** | **Taraf perlakuan** | | |
| **P0** | **P1** | **P2** |
| Fe (mg/100g) | 1,44 | 2,3 | 2,52 |
| Vitamin C (mg/100g) | 73,2 | 77 | 77,8 |

1. **Definisi Operasional Variabel**

Tabel 3.5 Definisi operasional variabel

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Variabel** | **Definisi** | **Cara Ukur** | **Hasil Ukur** | **Skala Ukur** |
| Proporsi smoothies pisang ambon dan daun kelor | Smoothies pisang ambon yang ditambahkan daun kelor dengan perbandingan tertentu | - | Smoothies pisang ambon dan daun kelor  P0 : (Smoothies pisang ambon tanpa daun kelor)  P1 : (Smoothies psang ambon + daun kelor 16%)  P2 : (Smoothies pisang ambon + daun kelor 20%) | - |
| Kadar Fe smoothies | Jumlah Fe yang ada di dalam smoothies | Metode spektrofoto-metri serapan atom (SSA) | Satuan mg/100g | Rasio |
| Kadar vitamin C smoothies | Jumlah vitamin C yang ada di dalam smoothies | Metode spektrofoto-metri  UV-Vis | Satuan mg/100g | Rasio |
| Mutu organoleptik smoothies | Tingkat kesukaan panelis meliputi atribut warna, rasa, aroma, dan mouthfeel smoothies | Uji organoleptik (Hedonic Scale Test) | 4 = sangat suka  3 =suka  2 = tidak suka  1 = sangat tidak suka | Ordinal |

1. **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan pada Mei 2019 dengan lokasi penelitian:

1. Laboratorium Ilmu Bahan Makanan (IBM) Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk pembuatan smoothies.
2. Laboratorium ITP Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk uji organoleptik.
3. Laboratorium Kimia Universitas Islam Negeri Malang untuk analisis kadar vitamin C.
4. Laboratorium Gizi Universitas Airlangga Surabaya untuk analisis kadar Fe.
5. **Alat dan Bahan Penelitian**
   * + 1. **Alat**
          1. Proses Pembuatan Smoothies

* Panci tim
* Blender
* Pisau
* Timbangan digital
* Gelas ukur
* Sendok

1. Analisis kadar Fe

* Timbangan analitik
* Cawan porselen
* Penjepit cawan
* Oven
* Pipet ukur 5 ml
* Spatula
* Gelas ukur
* Alat destruksi
* Labu ukur 25 ml
* Tanur
* Tabung reaksi berasih
* Alat vortek

1. Analisis kadar vitamin C

* Pipet volume 10 dan 20 ml
* Buret
* Labu ukur 10 dan 20 ml
* Kaca arloji
* Erlenmeyer

1. Analisis mutu organoleptik

* Formulir uji hedonic scale test (Lampiran 1)
* Alat tulis
* Gelas
* Nampan

1. **Bahan**
2. Pengolahan smoothies pisang ambon dan daun kelor

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam pengolahan smoothies daun kelor adalah pisang ambon, daun kelor, susu full cream, yoghurt plain, dan gula pasir.

Untuk menghasilkan smoothiespisang ambon dan daun kelor yang berkualitas, maka diperlukan spesifikasi bahan yang jelas yang disajikan pada Tabel 3.6

**Tabel 3.6 Spesifikasi bahan penyusun smoothies**

|  |  |
| --- | --- |
| **Bahan Makanan** | **Spesifikasi** |
| Pisang ambon | Kulit mulus, siap konsumsi, warna kulit hijau kekuningan, tidak kotor, ukuran seragam. |
| Daun kelor | Warna hijau muda, segar, tidak kotor, bebas serangga. |
| Nanas | Warna kulit kuning-oranye, matang, tidak memar |
| Susu full cream | Cair, plain, tidak menggumpal, tidak mendekati masa kadaluarsa, merk “Diamond”. |
| Yoghurt plain | Tidak berasa (plain), tidak mendekati masa kadaluarsa, merk “Yummy”. |
| Gula pasir | Kering, warna putih bersih, tidak menggumpal, tidak mendekati masa kadaluarsa, merk “Gulaku”. |

1. Analisis Kadar Fe

* Sampel smoothies
* Aquades
* HNO3 pekat
* HCl pekat
* Larutan induk besi 1000 ppm
* Kertas saring whatman nomor 41

1. Analisis Kadar Vitamin C

* Sampel smoothies
* Asam askorbat
* Aquabidestilata

1. Analisis Mutu Organoleptik

* Sampel smoothies
* Air putih

1. **Prosedur Penelitian**
   * + 1. **Blanching Daun Kelor Sebelum ditambahkan ke dalam smoothies**

Daun kelor

↓

Cuci hingga bersih

↓

Blanching daun kelor pada suhu 100℃ selama 1 menit

↓

Angkat dan tiriskan

↓

Daun kelor siap diolah

**Gambar 3.1 Diagram alir perlakuan daun kelor sebelum ditambahkan ke dalam smoothies**

* + - 1. **Cara Membuat Smoothies Pisang Ambon dan daun Kelor**

Pisang ambon, daun kelor, nanas, susu full cream, yoghurt,gula pasir

↓

Timbang bahan-bahan

↓

Kupas dan potong pisang ambon kecil-kecil

↓

Masukkan semua bahan ke dalam blender

↓

Nyalakan blender dengan kecepatan tinggi sampai halus

↓

Smoothies pisang ambon dan daun kelor

**Gambar 3.2 Diagram alir prosedur pembuatan smoothies**

1. **Metode Analisis**
2. Kadar Fe

Kadar Fe didapatkan dengan menggunakan metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) dengan prosedur sebagai berikut:

Menimbang 100 gram smoothies dan memasukkan ke dalam erlenmeyer

Menambahkan 25 ml air suling

Menambahkan 20 ml HNO3

Memanaskan di atas hot plate hingga volumenya ± ½ dari volume awal

Setelah dingin menambahkan 5 ml HNO3 (p) dan 3 ml HClO4 sampai filtrat jernih

Mendidihkan kembali selama ± 30 menit

Mengambil hasil saringan dan memasukkan ke dalam labu ukur 100 ml

Menambahkan aquadest sampai tanda garis yang ada pada labu ukur dan memasukkan ke dalam tabung reaksi

Memeriksa dengan SSAdan mendapatkan hasil

Kadar Fe total (µg/g)



**Gambar 3.3 Diagram Alir Analisis Kadar Fe (Tejasari, 2005)**

1. Kadar Vitamin C

Kadar vitamin C didapatkan dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan prosedur sebagai berikut:

1. Pembuatan Larutan Induk Vitamin C 100 ppm
2. Asam askorbat ditimbang sebanyak 1 mg
3. Asam askorbat dilarutkan dengan aquabidestilata ke dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas
4. Larutan asam askorbat 100 ppm diperoleh sebanyak 10 ml
5. Penentuan Kurva Standar Vitamin C
6. Larutan standar vitamin C dibuat pada konsentrasi 2 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dengan melarutkan stok asam askorbat 100 ppl sebanyak 0,2 ml, 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, dan 2,5 ml masin-masing ke dalam labu ukur 10 ml dan kemudian ditambahkan aquabidestilata sampai pada tanda batas.
7. Larutan standar kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 269 nm.
8. Diperoleh persamaan regresi linear:

y = 0,05929x + 0,07350

R2 = 0,9841

1. Preparasi dan Pengukuran Sampel
2. Smoothies ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dilarutkan dengan aquabidestilata sampai tanda batas.
3. Larutan smoothies tersebut disaring

Konsentrasi sampel = 

= 

= 

= 50000 ppm

1. Sampel yang sudah disaring kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 269 nm.
2. Perhitungan Kadar Vitamin C dalam Sampel

y = 0,05929x + 0,07350

Di mana y = absorbansi dan x = konsentrasi

x = 

Kadar vitamin C = x 100%

1. Uji Organoleptik

Uji organoleptik pada smoothies pisang ambon dan daun kelormenggunakan metode *Hedonic Scale Test* untuk mengetahui daya terima yang dinyatakan dalam empat tingkat kesukaan, yaitu:

4 = sangat suka

3 = suka

2 = tidak suka

1 = sangat tidak suka

Panelis yang terlibat adalah mahasiswa Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang Jurusan Gizi sejumlah 15 orang dengan kriteria:

* + - * 1. Bersedia menjadi panelis
        2. Tidak dalam keadaan lapar atau kenyang
        3. Dalam keadaan sehat

Langkah-langkah yang dilakukan dalam pengujian ini yaitu:

1. Panelis ditempatkan pada ruangan uji organoleptik.
2. Memberi penjelasan kepada panelis mengenai tujuan dan cara pengisian form penilaian mutu organoleptik.
3. Masing-masing produk diletakkan pada piring saji yang sudah diberi kode.
4. Menyediakan segelas air putih sebagai penetral.
5. Panelis diharapkan untuk menilai sampel dan mengisi form penilaian mutu organoleptik.

Panelis diharapkan menilai sampel dan diminta untuk mengisi formulir daya terima seperti terlampir pada lampiran 1. Parameter organoleptik yang diuji adalah:

1. Warna
2. Rasa
3. Aroma
4. mouthfeel
5. **Teknik Pengolahan dan Analisis Data**
6. Mutu Kimia (Kadar Fe dan Vitamin C)

Pengolahan data mutu kimia (kadar Fe dan vitamin C) pada smoothies bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan formulasi smoothies dan daun kelor terhadap kadar Fe dan vitamin C dari masing-masing taraf. Analisis data kadar Fe dan vitamin C pada penelitian ini menggunakan aplikasi SPSS dengan analisis One Way Anova pada tingkat kepercayaan 95%.

Penarikan hipotesis:

Ho = Tidak ada pengaruh formulasi smoothies dan daun kelor pada smoothies terhadapkadar Fe dan vitamin C.

Ha = Ada pengaruh formulasi smoothies dan daun kelor pada smoothies terhadapkadar Fe dan vitamin C.

Penarikan kesimpulan:

1. Ho ditolak apabila sig <0,05, berarti ada pengaruh signifikan formulasi smoothies dan daun kelor pada smoothies terhadapkadar Fe dan vitamin C.
2. Ho diterima apabila sig >0,05, berarti ada pengaruh yang tidak signifikan pada formulasi smoothies dan daun kelor pada smoothies terhadapkadar Fe dan vitamin C.

Jika Ho ditolak maka ada pengaruh yang signifikan. Untuk mengetahui taraf perlakuan yang berbeda secara signifikan maka dilakukan uji lanjutan dengan Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada tingkat kepercayaan 95%.

Penarikan kesimpulan:

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

1. Mutu Organoleptik

Pengolahan data daya terima pada smoothies bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan formulasi smoothies dan daun kelor terhadap mutu organoleptik dari masing-masing taraf. Analisis data mutu organoleptik pada penelitian ini menggunakan aplikasi SPSS dengan analisis *Kruskall Wallis* pada tingkat kepercayaan 95%.

Penarikan hipotesis:

Ho = Tidak ada pengaruh formulasi smoothies dan daun kelor pada mutu organoleptik smoothies.

Ha = Ada pengaruh formulasi smoothies dan daun kelor pada mutu organoleptik smoothies.

Penarikan kesimpulan:

1. Ho ditolak apabila sig <0,05, berarti ada pengaruh yang signifikan pada formulasi smoothies dan daun kelorterhadap mutu organoleptik.
2. Ho diterima apabila sig >0,05 berarti ada pengaruh yang tidak signifikan pada formulasi smoothies dan daun kelorterhadap mutu organoleptik.

Jika Ho ditolak maka ada pengaruh yang signifikan. Untuk mengetahui taraf perlakuan yang berbeda secara signifikan maka dilakukan uji lanjutan dengan *Mann Whitney* pada tingkat kepercayaan 95%.