

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan rancangan acak lengkap satu faktor yaitu komposisi kadar bahan *cookies* dengan lima taraf perlakuan . Perlakuan penelitian adalah perbedaan komposisi penambahan tepung belut berbahan dasar *MOCAF (Modified Cassava Flour)* untuk pembuatan *cookies*. Setiap taraf perlakuan dilakukan dua kali replikasi sehingga jumlah sampel menjadi sepuluh sampel *cookies*. Pengujian *cookies* dilakukan secara duplo sehingga jumlah data sampel total menjadi 20. Desain penelitian secara lengkap disajikan pada Tabel 4.1

**Tabel 4.1** Rancangan Acak Lengkap

Taraf Perlakuan ( <i>MOCAF</i> : Tepung Belut)	Replikasi		Duplikasi	
	1	2	1	2
P <sub>0</sub> ( <i>MOCAF</i> 100%)	R01	R02	D01	D02
P <sub>1</sub> ( <i>MOCAF</i> 90% : tepung belut 10%)	R11	R12	D11	D12
P <sub>2</sub> ( <i>MOCAF</i> 80% : tepung belut 20%)	R21	R22	D21	D22
P <sub>3</sub> ( <i>MOCAF</i> 70% : tepung belut 30%)	R31	R32	D31	D32
P <sub>4</sub> ( <i>MOCAF</i> 60% : tepung belut 40%)	R41	R42	D41	D42

#### 4.2 Variabel Penelitian

##### 4.2.1 Variabel Independen

Variabel bebas pada penelitian ini adalah perbandingan jumlah komposisi bahan *cookies* yang terdiri atas *MOCAF* dan tepung belut.

#### 4.2.2 Variabel Dependen

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai zat gizi makro (protein), skor asam amino, NPV (*Net Protein Value*), nilai angka paling mungkin bakteri Koliform pada *cookies*, dan hasil organoleptik *cookies*.

#### 4.3 Penentuan Komposisi pada Cookies

Tabel 4.2 Penentuan Komposisi Tepung pada *Cookies*

Komposisi (MOCAF : Tepung Belut)	MOCAF (g)	Tepung Belut (g)	Protein belut pada komposisi kedua tepung (g)	Protein yang diharapkan (g) dalam satu resep
100 % : 0 %	150	0	0	5.8
90 % : 10 %	135	15	2.5	8.6
80 % : 20 %	120	30	5	10.8
70 % : 30 %	105	45	7.5	13.3
60 % : 40 %	90	60	10	15.8

#### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2013 di :

1. Laboratorium Lembaga Studi Ilmu Hayati Universitas Brawijaya Malang untuk pengujian kadar protein (analisis kjedahl) dari *cookies*.
2. Laboratorium Ilmu Bahan Makanan Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk uji organoleptik dan pembuatan sampel *cookies*.
3. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang untuk pengujian mikrobiologi *cookies*.

## 4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

### 4.5.1 Pembuatan Tepung Belut dan Cookies

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu timbangan kue, baskom, Loyang, mixer, sendok, cetakan *cookies*, oven. Alat –alat tersebut didapatkan dari laboratorium tempat penelitian dilaksanakan. Komposisi bahan yang dibutuhkan untuk pembuatan *cookies* disajikan pada Tabel 4.3

**Tabel 4.3** Komposisi Bahan Pembuatan *Cookies*

Jenis Bahan	Jumlah bahan masing-masing taraf perlakuan				
	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>4</sub>
<b>MOCAF (g)</b>	150	135	120	105	90
<b>Tepung belut (g)</b>	0	15	30	45	60
<b>Telur (butir)</b>	1	1	1	1	1
<b>Margarin (g)</b>	90	90	90	90	90
<b>Garam (g)</b>	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
<b>Bubuk bawang putih (g)</b>	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25

(Sumber : Resep Kue *MOCAF*, tanpa tahun)

### 4.5.2 Pengujian Mutu *Cookies*

#### 4.5.2.1 Kadar Protein

Alat :

Pemanas Kjedadhl lengkap, labu kjedadhl berukuran 30 ml/50, alat destilasi lengkap dengan Erlenmeyer, buret 25 ml/50, Erlenmeyer, statif, gelas beker, pipet tetes.

Bahan :

Asam sulfat pekat, air raksa oksida, kalium sulfat, larutan natrium, hidroksida-natrium tiosulfat, larutan asam borat jenuh, larutan asam klorida 0.02n, sampel *cookies*.

#### 4.5.2.2 Mutu Protein

Alat :

Tabel perhitungan mutu protein



Bahan :

Kandungan protein dalam setiap sampel

#### 4.5.2.3 Mikrobiologi

Alat :

Tabung Durham, tabung reaksi, pipet ukuran 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml, botol media, gunting, pinset, jarum inokulasi (ose), *stomacher*, pembakar Bunsen, pH meter, timbangan, *magnetic stirrer*, pengocok tabung (vortex), incubator, penangas air, autoklaf, lemari steril (*clean bench*), lemari pendingin (refrigerator), *freezer*.

Media dan pereaksi :

Larutan *BPW* 0,1 %, *BGLBB*, *LSTB*

#### 4.5.2.4 Organoleptik

Alat : Piring kertas kecil, gelas, air minum, form kuisisioner, alat tulis

Bahan : sampel *cookies*.

### 4.6 Definisi Istilah/Definisi Operasional

#### 4.6.1 *MOCAF (Modified Cassava Flour)*

Singkong yang telah difermentasi kemudian dikeringkan dan ditepungkan sehingga dihasilkan tepung singkong yang termodifikasi pada sel-selnya sehingga menghasilkan tekstur yang mirip dengan tepung terigu. *MOCAF* ini dibeli di Koperasi Gemah Ripah Loh Jinawi Desa Kerjo, Kecamatan Karang, Kabupaten Trenggalek, Jawa Timur.

#### 4.6.2 Tepung Belut

Salah satu produk olahan dari daging belut rawa (*Synbranchus bengalensis Mc clell*) yang ditepungkan dan merupakan bahan setengah

jadi yang berbentuk bubuk halus. Belut dibeli dari *Hypermart Malang Town Square*, yang kemudian diolah dan menjadi tepung dengan pengeringan dengan oven 60°C, penghalusan dengan grinder dan pengayakan dengan ayakan 80 Mesh di gedung AQ Teknik Mesin Politeknik Malang.

#### 4.6.3 Kadar Protein

Jumlah protein yang terkandung didalam *cookies* yang terbuat dari *MOCAF* dan tepung belut yang diukur dengan metode kjedahl. Hasilnya dinyatakan dalam bentuk gram protein per 100 gram bahan.

#### 4.6.4 Mutu Protein

Kualitas mutu protein pada *cookies* yang terbuat dari *MOCAF* dan tepung belut dengan menggunakan skor asam amino dan *net protein value*.

#### 4.6.5 Mutu Mikrobiologi

Jumlah bakteri yang terkandung pada *cookies* yang terbuat dari *MOCAF* dan tepung belut dengan menggunakan pengujian MPN (*Most Probable Number*) pada bakteri *Koliform* pada *cookies*.

#### 4.6.6 Mutu Organoleptik

Tingkat kesukaan panelis yang ditentukan dengan menggunakan uji hedonic meliputi warna, rasa, aroma dan tekstur terhadap *cookies*. rentang nilai yang digunakan mulai dari angka 6 (sangat tidak suka) hingga angka 12 (amat sangat suka). Panelis yang digunakan adalah panelis agak terlatih yang berasal dari mahasiswa dengan jumlah 20 mahasiswa Universitas Brawijaya.

#### 4.6.7 Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik dihitung berdasarkan tabulasi hasil uji organoleptik pada cookies. Selanjutnya dihitung nilai efektifitas dari setiap perlakuan dan perlakuan terbaik dihitung berdasarkan hasil tabulasi total  $N_h$  (Nilai hasil) tiap perlakuan. Dilakukan skoring pada setiap perlakuan untuk setiap variabel penelitian sehingga skor akhir total dapat menentukan perlakuan terbaik berdasarkan seluruh variabel penelitian.

#### 4.7 Prosedur penelitian

##### 4.7.1 Pembuatan Tepung Belut

Belut dibersihkan dengan membuang kepala, tulang beserta isi perutnya. Belut yang sudah dibersihkan dipotong-potong  $\pm 3$  cm. belut yang sudah dipotong tersebut dioven sampai seluruh daging menjadi kering. Daging belut yang sudah kering tersebut dihaluskan dengan menggunakan grinder lalu diayak menggunakan ayak.

Sejumlah belut segar dengan berat 1830 gram dibersihkan dari kepala, tulang, ekor dan isi perut kemudian di *fillet* untuk diambil dagingnya sehingga berat daging belut menjadi 1300 gram. Kemudian daging dikeringkan dan dihaluskan menjadi bentuk tepung atau serbuk beratnya menjadi 170 gram. Dari proses tersebut maka didapatkan rendemen atau hasil yang diperoleh yaitu 13% dari daging belut. Hal ini dipengaruhi oleh kandungan kadar air dalam daging belut, dengan berkurangnya kadar air pada bahan maka bahan rendemen yang didapatkan juga semakin berkurang.



#### 4.7.2 Pembuatan cookies

Telur dikocok, ditambahkan mentega sambil dikocok sampai tercampur merata. Bahan tepung (*MOCAF* dan tepung belut) dimasukkan sampai tercampur merata dan garam serta bubuk bawang putih dimasukkan. Adonan dicetak sesuai selera lalu disusun diatas loyan yang sudah diolesi margarin. Adonan dipanggang dengan oven pada suhu  $180^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 20$  menit (sampai matang). Kue dikeluarkan dari oven dan siap disajikan.

#### 4.7.3 Uji APM Koliform

##### a. Preparasi

Bahan sampel ditimbang sebanyak  $\pm 1$  gram

##### b. Uji pendugaan

1ml larutan pengenceran  $10^{-1}$  dipindahkan dengan pipet steril ke dalam 9 ml BPW 0,1 % untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-2}$ . Dengan cara yang sama dibuat pengenceran  $10^{-3}$ . pipet masing-masing 1 ml dari setiap pengenceran ke dalam 3 seri tabung yang berisi tabung Durham. Lalu diinkubasikan pada temperatur  $35^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam sampai dengan 48 jam. Memperhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung Durham. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

##### c. Uji konfirmasi (peneguhan)

Pengujian ini selalu disertai dengan kontrol positif. Apabila ditemukan biakan positif dipindahkan dengan menggunakan jarum inokulasi dari setiap tabung ke dalam tabung yang berisi tabung Durham. Lalu diinkubasikan pada temperatur  $35^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam  $\pm 2$  jam. Terbentuknya gas di dalam tabung Durham diperhatikan kemudian hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas. Selanjutnya dengan

menggunakan tabel Most Probable Number (MPN) nilai *APM* ditentukan berdasarkan tabung yang positif sebagai jumlah koliform per milliliter atau per gram.

d. Interpretasi hasil

Banyaknya koliform yang terdapat dalam contoh uji diinterpretasikan dengan mencocokkan kombinasi jumlah tabung yang memperhatikan hasil positif, berdasarkan tabel nilai MPN (Lampiran 3). Kombinasi yang diambil dimulai dari pengenceran tertinggi yang masih menghasilkan semua tabung positif sedangkan penenceran berikutnya terdapat tabung yang negatif. Kombinasi yang diambil terdiri dari tiga pengenceran.

#### 4.7.4 Pengujian Kadar Protein

- a. 1 g bahan yang telah dihaluskan ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu kjeldahl. Apabila kandungan protein bahan tinggi, digunakan bahan kurang dari 1 g. Kemudian ditambahkan 7.5 g  $K_2S_2O_4$  dan 0.35 g HgO dan akhirnya ditambahkan 15 ml  $H_2SO_4$  pekat.
- b. Semua bahan dipanaskan di dalam labu kjeldahl dalam almari asam sampai berhenti berasap. Pemanasan diteruskan dengan api besar sampai mendidih dan cairan menjadi jernih. Tambahan diteruskan lebih kurang 1 jam. Api pemanas dimatikan dan dibiarkan menjadi dingin.
- c. Kemudian ditambahkan 100 ml aquades ke dalam labu kjeldahl yang didinginkan dalam air es dan beberapa lempeng Zn, juga ditambahkan 15 ml larutan  $K_2SO_4$  (dalam air) dan ditambahkan perlahan-lahan larutan NaOH 50% sebanyak 50 % sebanyak 50



ml yang sudah didinginkan dalam lemari es. Labu kjeldahl dipanaskan dengan segera pada alat destilasi.

- d. Labu kjeldahl dipanaskan perlahan-lahan sampai dua lapisan cairan tercampur kemudian dipanaskan dengan cepat sampai mendidih.
- e. Distilat ini ditampung dalam Erlenmeyer yang telah diisi dengan 50 ml larutan standar HCl (0.1 N) dan 5 tetes indicator metal merah. Distilasi dilakukan sampai distilat yang tertampung sebanyak 75 ml.
- f. Distilat dititrasi yang diperoleh dengan standar NaOH (0.1 N) sampai warna kuning. Dibuat pula larutan blanko dengan mengganti bahan dengan aquades, destruksi dilakukan, destilasi dan titrasi seperti pada bahan contoh.

Perhitungan:

$$\% \text{ Nitrogen} = \frac{(\text{ml NaOH blanko} - \text{ml NaOH sampel}) \times N \text{ HCl} \times 100 \times 14.008}{g \text{ sampel} \times 1000}$$

$$\% \text{ Kadar protein} = \% \text{ nitrogen} \times \text{factor konversi (6,25)}$$

#### 4.7.5 Pengujian Mutu Protein

##### 4.7.5.1 Skor Asam Amino

- a. Tabel SAA dibuat seperti berdasarkan lampiran 4
- b. Jenis bahan makanan yang ditentukan SAA dimasukkan ke dalam tabel
- c. Protein dijumlahkan ke bawah (diperoleh nilai P)
- d. AAE lisin, treonin, triptofan, metionin+sistin dihitung berdasarkan jumlah protein (menggunakan DKAE)

- e. Masing-masing AA tersebut dihitung dalam satuan mg AA / g protein, sehingga diperoleh nilai L/P, T/P, R/P, M/P
- f. Rasio (perbandingan) masing-masing AA terhadap Pola kecukupan WHO/FAO/UNU dihitung dengan rumus :

$$\text{Tingkat konsumsi asam amino esensial} = \frac{\text{mg AA per gram protein}}{\text{mg AA per gram protein dalam pola kecukupan AAE}} \times 100$$

- g. Hasil perhitungan TKAE diurutkan dari masing-masing AA.
- h. Nilai TKAE terkecil merupakan nilai SAA makanan tersebut.

#### 4.7.5.2 Net Protein Value (NPV)

Untuk menghitung nilai NPV (*net protein value*), kalikan nilai skor asam amino terkecil dengan % protein pada bahan kemudian dibagi dengan 100.

$$\text{NPV} = \frac{\text{Skor asam amino terkecil} \times \% \text{ protein}}{100}$$

#### 4.7.6 Pengujian Organoleptik

- a. Jumlah Panelis

Panelis agak terlatih dengan jumlah 20 panelis.

- b. Jumlah contoh

Terdapat 5 macam contoh *cookies* ( *cookies* dengan 5 perlakuan yang berbeda)

- c. Cara penyajian contoh

*Cookies* dipilih dengan bentuk yang sama dan seragam pada masing-masing perlakuan, kemudian 5 macam *cookies* diletakkan di atas piring kertas dan diberi kode masing-masing dengan bilangan acak.

- d. Cara penilaian

Penilaian dilakukan secara spontan dengan menggunakan mengisi formulir organoleptik dengan pengisian skala verbal berupa facial scale dan kemudian ditransformasikan kedalam skala verbal 6-12.

i. Cara analisis

Hasil mutu uji hedonik ditabulasi menurut parameter mutu organoleptik yang diuji (warna, aroma, rasa, tekstur), kemudian dilakukan analisis statistik dengan menggunakan uji *Kruskall-Walis* dengan uji *post Hoc Mann Whitney*

#### 4.7.7 Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

##### 4.7.7.1 Taraf Perlakuan terbaik organoleptik

- a) Variabel mutu organoleptik *cookies* diurutkan berdasarkan perannannya terhadap mutu produk dari yang tertinggi ke terendah dengan menggunakan pendapat dari panelis.
- b) Hasil dari ranking ditabulasi, sehingga jumlah dan rata-rata serta ranking variabel dapat ditentukan.
- c) Masing-masing bobot variabel dihitung menggunakan rumus :

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

- d) Bobot normal masing-masing variabel dihitung menggunakan rumus

$$: \text{Bobot Normal} = \frac{\text{bobot variabel}}{\text{Bobot total variabel}}$$

- e) Setiap variabel dihitung nilai efektifitasnya ( $N_e$ ) menggunakan rumus

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



Variabel dengan nilai rata-rata perlakuan semakin besar, maka semakin baik sehingga rata-rata terendah sebagai nilai terjelek dan rata-rata tertinggi sebagai nilai terbaik dan sebaliknya.

- f) Nilai hasil (Nh) tiap variabel dihitung dengan cara mengalikan bobot normal masing-masing variabel dengan Ne.

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

- g) Menjumlahkan Nh semua variabel untuk masing-masing perlakuan. Selanjutnya dipilih perlakuan terbaik (perlakuan dengan Nh tertinggi)

#### 4.7.7.2 Taraf Perlakuan Terbaik Akhir

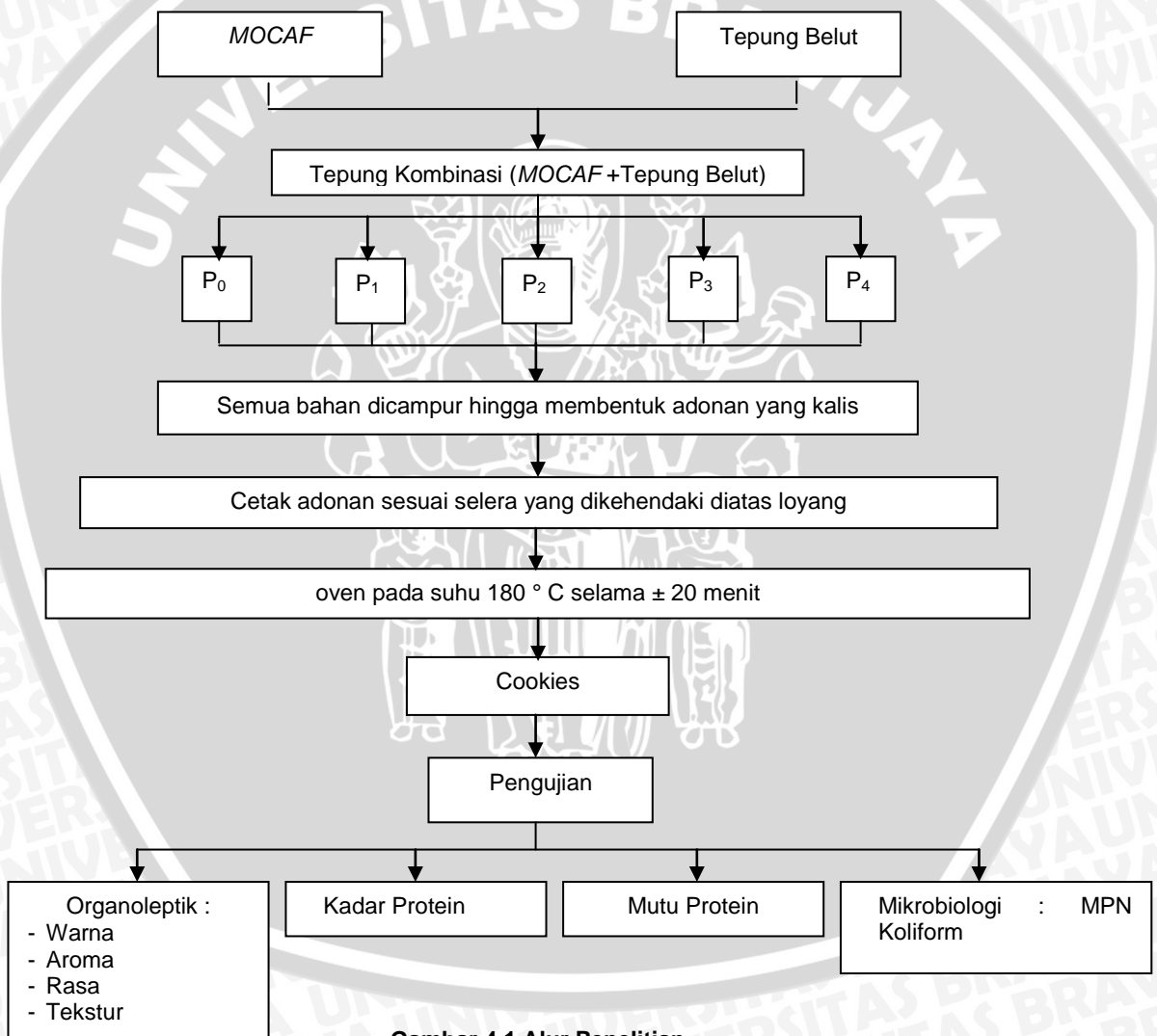
- a. Berdasarkan seluruh data yang dihasilkan pada variabel penelitian kadar protein, mutu protein, dan mikrobiologi, lalu dilakukan skoring dengan rentang nilai 1-5 untuk memperoleh peringkat dengan kualitas terbaik menurut kualitas variabel masing-masing.
- b. Seluruh nilai rangking yang didapatkan ditabulas menggunakan excel untuk mendapatkan skor akhir. Skor akhir yang akan digunakan untuk menentukan perlakuan terbaik pada penelitian.

### 4.8 Analisa Data

Pengolahan data hasil analisa pada *cookies* untuk anak autisme menggunakan analisis secara statistik. Analisis yang digunakan yaitu menggunakan program computer *SPSS 17 for windows* dan diuji statistis dengan uji statitik *Kruskall-Walis* untuk variabel terikat (*dependent variable*) yang berskala data numerik. Statistik *Kruskall-Wallis* pada tingkat kepercayaan 95% dengan uji lanjutan *post-Hoc Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan pada perlakuan.

Kemudian dari hasil analisa data tersebut ditarik kesimpulan mengenai kajian penambahan tepung belut terhadap mutu pangan *cookies* berbahan dasar *MOCAF* sebagai diet *HPGF*.

#### 4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian