

## BAB 4

## METODE PENELITIAN

## 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode *true experimental* dan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan. Masing-masing perlakuan dilakukan empat kali ulangan dan masing-masing ulangan dilakukan pengukuran secara *duplo*. Jumlah sampel ada 20 unit. Substitusi pada pembuatan biskuit dari tepung Hanjeli, tepung tempe dan tepung terigu dengan perbandingan 10%:40%:50%, 20%:30%:50%, 30%:20%:50, 40%:10%:50% (Dewi, 2012).

**Tabel 4.1 Perlakuan Substitusi Tepung Hanjeli dan Tepung Tempe dalam Pembuatan Biskuit Bayi (Dewi,2012)**

Bahan	Po	P1	P2	P3	P4
Terigu	100%	50%	50%	50%	50%
tepung hanjeli	0%	10%	20%	30%	40%
tepung tempe	0%	40%	30%	20%	10%
<i>Butter unsalted</i>	100%	100%	100%	100%	100%
gula halus	100%	100%	100%	100%	100%

Keterangan :

Po : Kelompok1 yaitu kontrol pembuatan biskuit tanpa substitusi tepung hanjeli dan tepung tempe

P1 : Kelompok 2 yaitu kelompok perlakuan pertama dari pembuatan biskuit dengan substitusi tepung terigu 50%, tepung hanjeli 10% dan tepung tempe 40%.

P2 : Kelompok 3 yaitu kelompok perlakuan kedua dari pembuatan biskuit dengan substitusi tepung terigu 50%, tepung hanjeli 20% dan tepung tempe 30%.

P3 : kelompok 4 yaitu kelompok perlakuan ketiga dari pembuatan biskuit dengan substitusi tepung terigu 50%, tepung hanjeli 30% dan tepung tempe 20%.

P4 : Kelompok 5 yaitu kelompok perlakuan keempat dari pembuatan biskuit dengan substitusi tepung terigu 50%, tepung hanjeli 40% dan tepung tempe 10%.

**Tabel 4.2 Rancangan Percobaan Substitusi Tepung Hanjeli dan Tepun Tempe dalam Pembuatan Biskuit Bayi**

Taraf Perlakuan	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi	Total Keseluruhan
	1	2	3	4	
P <sub>0</sub> (100%:0%:0%)	R01	R02	R03	R04	
P <sub>1</sub> (50%:10%:40%)	R11	R12	R13	R14	
P <sub>2</sub> (50%:20%:30%)	R21	R22	R23	R24	
P <sub>3</sub> (50%:30%:20%)	R31	R32	R33	R34	
P <sub>4</sub> (50%:40%:10%)	R41	R42	R43	R44	
<b>Total Perlakuan</b>	5	5	5	5	20

**Tabel 4.3 Jumlah Tepung Hanjeli dan Tepung Tempe dalam Pembuatan Biskuit Bayi dari Berbagai Substitusi**

Jenis Bahan	Jumlah Bahan Makanan pada Masing-Masing Perlakuan (gram)				
	P <sub>0</sub>	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>4</sub>
Tepung terigu	100	50	50	50	50
Tepung hanjeli	0	10	20	30	40
Tepung tempe	0	40	30	20	10
<i>Butter unsalted</i>	125	125	125	125	125
Gula halus	65	65	65	65	65

#### 4.2 Objek dan Sampel

Perhitungan besarnya pengulangan/ replikasi pada perlakuan substitusi tepung hanjeli dan tepung tempe dalam pembuatan biskuit MP-ASI dengan menggunakan rumus

$$T_c (n-1) \geq 15$$

$$5 (n-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 3$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

Tc : Jumlah perlakuan

n : Banyaknya pengulangan

(Sulastri, 2008; dalam Sandra 2012)

Berdasarkan hasil perhitungan replikasi sampel tersebut sebesar 4 kali replikasi. Sehingga jumlah sampel biskuit yang digunakan pada penelitian ini adalah sebanyak 4 kali replikasi dan 5 perlakuan sehingga didapatkan 20 sampel untuk dapat dilakukan penelitian .

#### 4.3 Variabel dalam Penelitian

Penelitian ini menggunakan variable yang terbagi menjadi dua, yaitu: variable *independent* adalah substitusi tepung hanjeli dan tepung tempe dan variabel *dependent* yaitu, kadar protein dan mutu protein.

##### 4.3.1 Kriteria Inklusi Sampel

###### 1) Hanjeli

- Hanjeli jenis spesies *Coix lacryma-jobi*
- Berwarna coklat muda
- Berkulit keras
- Didapatkan pada budidaya hanjeli didesa Tiang Layar Pancur Batu, Kabupaten Deli Serdang, Medan Sumatera Utara
- Milik ibu Helty Malemta Ginting

###### 2) Tempe

- Tempe dari jenis kedelai spesies *Glycine max.*

- Tempe dari biji kedelai berwarna kuning, nampak putih
- Tempe yang dijual di Sentra Industri Tempe Sanan kota Malang yang diproduksi oleh Langgeng Makmur milik Ibu Yulianti
- Aroma dan warna khas tempe

#### 4.3.2 Kriteria Eksklusi

Sebagian hanjeli dan tempe yang mengalami kerusakan sebelum dilakukan penelitian.

#### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Penyelenggaraan Makanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada tanggal 18-20 September dan laboratorium LSIH Universitas Brawijaya Malang pada tanggal 7-17 Oktober 2013 .

**Tabel 4.4 Alat dan Bahan**

No.	Tahap Penelitian	Alat	Bahan
1.	Pembuatan MP-ASI biskuit hanjeli dan tempe	- Baskom - wadah - pengaduk - cetakan - sendok - nampan - Oven - Loyang - Kuas	- Tepung hanjeli - Tepung tempe - Tepung terigu - Gula halus - <i>Butter unsalted</i>
4.	Analisa Kadar Protein	- Timbangan - Labu kjedhal - Spektrofotometer serapan atom (SAA) - <i>Beaker glass</i> - <i>Erlenmeyer</i> - <i>syringe filter</i> - Penanggas air	- Sampel biskuit hanjeli
5.	Analisa Mutu Protein	- Tabel Daftar	- Angka tabel Asam

---

Komposisi Bahan Makanan	Amino pada Hanjeli dan Tempe
- Alat Tulis	
- Hasil analisa kadar protein	

---

#### 4.6 Definisi Operasional

##### 1) Tepung Hanjeli

Tepung Hanjeli diperoleh dari bahan dasar biji hanjeli yang didapatkan dari *supplier* Helty Malemta Ginting di Medan Sumatera Utara. Sedangkan proses penepungan tepung hanjeli diproses di pabrik penggilingan Anugerah desa Hulu kecamatan Pancur Batu kabupaten Deli Serdang Sumatera Utara, dengan proses tahapan dimulai dari penjemuran hingga kering, kemudian digiling untuk memisahkan kulit dengan bijinya, diangin-anginkan agar kulit dan biji dapat terpisah, dan kemudian digiling menjadi tepung.

##### 2) Tepung tempe

Tepung tempe yang terbuat dari bahan dasar tempe seberat 28,6 kg dan yang ditepungkan menghasilkan tepung dengan berat 10,8 kg didapatkan dari proses penepungan dengan tingkat kehalusan 80 mesh yang dilakukan di Materia Medica Batu. Dengan tahapan proses pertama kali tempe ditimbang dan dicatat, kemudian dicuci hingga bersih, dikeringkan dengan cara dijemur hingga kering, dioven dan terakhir digiling hingga menjadi tepung.

##### 3) Kadar Protein Biskuit Substitusi Tepung Hanjeli dan Tepung Tempe

Nilai protein formula biskuit yang diukur dengan *Inhouse Method* di LSIH, nilai protein diperoleh dengan dikalikan kadar nitrogen dari formula biskuit dengan faktor konversi 6,25 yang umum digunakan. Faktor konversi didapatkan dari kadar N adalah 16% dalam protein dalam suatu bahan pada umumnya. Dinyatakan dalam perhitungan :

$$\begin{aligned}\text{Faktor Konversi (FK)} &= (\text{kadar N} \times 100) / 16 \\ &= 6,25\end{aligned}$$

- 4) MP-ASI Biskuit Substitusi tepung Hanjeli dan tepung tempe adalah biskuit dengan substitusi tepung Hanjeli, tepung tempe dan tepung terigu dengan perbandingan 10%:40%:50%;20%:30%:50%;30%:20%:50;40%:10%:50% yang dicampur dengan gula halus, *butter unsalted* dan tepung terigu. Adonan digiling kemudian dicetak dengan cetakan setebal 5 mm dan dipanggang dalam oven selama 25 menit pada suhu 175°C.
- 5) Mutu Protein  
Perhitungan mutu protein ditentukan pada jenis dan proporsi asam amino yang dikandung pada formula biskuit dengan mengukur Skor Asam Amino, Asam Amino Pembatas, Mutu Cerna, dan *Net Protein Utilization*.
- 6) Skor Asam Amino (SAA)  
Merupakan asam amino esensial yang paling rendah terdapat dalam bahan biskuit yang sudah diketahui dari data terdahulu dibandingkan dengan asam amino yang sama dalam protein pembanding (protein anak usia 1-2 tahun).
- 7) Asam Amino Pembatas  
Asam Amino yang memiliki nilai terkecil sebagai pembatas dalam perhitungan SAA seperti: Lisin, treonin, triptofan, metionin+sistin,

sehingga asam amino tersebut dapat digunakan sebagai pertimbangan dalam menentukan batas dalam asam amino pada biskuit

8) Mutu Cerna (MC) Teoritis

Mutu Cerna menunjukkan bagian dari asam amino yang terdapat pada biskuit dan dapat diserap tubuh dibandingkan yang dikonsumsi, dengan cara teoritis melalui perhitungan SAA dan diinterpretasikan secara deskriptif

9) NPU (*Net Protein Utilization*) Teoritis

*Net Protein Utilization* menunjukkan indeks mutu yang memperhatikan jumlah protein yang dapat dikonsumsi atau dicerna dalam tubuh dengan perhitungan NPU teoritis =  $\frac{(SAA \times MC)}{100}$ .

#### 4.7 Prosedur Penelitian

##### 4.7.1 Metode Pembuatan Tepung Hanjeli (pabrik Anugerah, Sumatra Utara)

- 1) Biji hanjeli yang telah dicuci, kemudian dikeringkan dengan cara dijemur dibawah terik matahari
- 2) Biji hanjeli yang telah kering kemudian digiling di pabrik penggilingan Anugerah, biji hanjeli digiling menggunakan mesin penggilingan khusus biji hanjeli dengan 2 kali penggilingan, sehingga didapatkan beras hanjeli.
- 3) Setelah beras hanjeli selesai digiling, kemudian diangin-anginkan atau dikipas agar kulit hanjeli dengan biji hanjeli dapat terpisah dan menghasilkan beras hanjeli yang bersih.
- 4) Beras hanjeli yang bersih kemudian di giling lagi dengan penggilingan tepung, sehingga didapatkan tepung hanjeli

#### 4.7.2 Metode Pembuatan Tepung Tempe (Materia Medica Batu)

- 1) Tempe segar didapatkan di Sentra Industri Tempe Sanan Malang.
- 2) Tempe *diblanching* dengan cara dikukus pada suhu 100 °C selama  $\pm$  10 menit.
- 3) Tempe dicuci dengan air mengalir dan digosok proses ini dilakukan sebanyak tiga kali agar bersih kemudian ditiriskan.
- 4) Tempe dikeringkan dengan cara dipanaskan dalam oven dengan suhu 50-60°C selama 2 hari hingga didapatkan tingkat kadar air tempe mencapai 10% kemudian ditimbang dan dicatat berat kering dari tempe tersebut
- 5) Tempe digiling dengan menggunakan alat penggiling tepung kemudian disaring dan diayak dengan ayakan berukuran 80 mesh.

#### 4.7.3 Metode Pembuatan Biskuit (Ono, 2008) yaitu:

Pada pembuatan biskuit ini, bahan telah dimodifikasi sebelumnya.

- 1) Dicampurkan gula halus dan *butter unsalted* aduk hingga tercampur rata dan homogen
- 2) Ditambahkan, tepung terigu, tepung Hanjeli, tepung tempe.
- 3) Dibuat Adonan dengan digilas menggunakan *roller pin*, setebal 5 mm, kemudian dicetak.
- 4) Dimasukkan dalam oven dan dipanggang dengan suhu 175 °C selama 25menit, dikeluarkan dan didinginkan dalam suhu kamar.

#### 4.7.4 Metode Uji Protein (SNI 01-2973-1992 butir 5.3) :

- 1) Ditimbang dengan teliti 1-2 gram contoh sampel kemudian dimasukkan ke dalam labu kjedahl lalu ditambahkan 10 gram campuran selen dan 30 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat.



- 2) Dipanaskan diatas api kecil sambil digoyang – goyangkan hingga 5-10 menit, api dibesarkan dan terus dipanaskan hingga cairan berubah warna menjadi hijau jernih.
- 3) Kemudian didinginkan, diencerkan dengan 250 – 300 ml air dan dipindahkan ke labu didih dari 500 ml yang didalamnya sudah ditambahkan beberapa butir batu dididh.
- 4) Ditambahkan 120 ml NaOH 30% dan segera disambungkan kedalam alat penyuling dan disambungkan hingga 2/3 dari cairan telah tersuling.
- 5) Sulingan yang diterima dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,25N berlebihan dan dititrasi kembali dengan NaOH 0,5N.
- 6) Blanko juga dikerjakan seperti tahap diatas :

$$\text{Kadar Protein} = \frac{(\text{blanko} - \text{ml NaOH}) \times N \times 0,014 \times 6,25 \times 100\%}{\text{Gram sampel}}$$

#### 4.7.5 Analisis Mutu Protein

Mutu protein dari produk biskuit bayi hasil substitusi tepung hanjeli dan tempe dinilai berdasarkan SAA, Asam Amino pembatas, MC, dan NPU.

- 1) Skor Asam Amino, cara menghitungnya adalah sebagai berikut :
  - a. Dibuat tabel 4.5 berikut

**Tabel 4.5 Tabel Penentuan SAA Konsumsi Pangan**  
**Kandungan Asam Amino**

Bahan Makanan	Berat (g)	Protein (g)	Kandungan Asam Amino			
			Lysin (mg)	Treonin (mg)	Triptofan (mg)	Metionin + sistein (mg)
Hanjeli	a	b	c	d	e	f
tempe	g	h	i	j	k	l
<b>Jumlah</b>		p	l	T	r	m
<b>Kandungan AA/gram protein (mg/g)</b>			L/P	T/P	R/P	M/P
<b>Kandungan AA anak usia 1-2 tahun (mg/g)</b>			52	27	7.4	42
<b>Tingkat Konsumsi Amino Esensial</b>		<b>Asam</b>	m	n	o	p

Keterangan tabel :

- a = berat hanjeli dalam *biskuit*
- b = kandungan protein dari hanjeli dalam *biskuit*
- c = kandungan AA Lysin dari hanjeli dalam *biskuit*
- d = kandungan AA Treonin dari hanjeli dalam *biskuit*
- e = kandungan AA Triptofan dari hanjeli dalam *biskuit*
- f = kandungan AA Metionin+sistein dari hanjeli dalam *biskuit*
- g = berat tempe dalam *biskuit*
- h = kandungan protein dari tempe dalam *biskuit*
- i = kandungan AA Lysin dari ikan teri dalam *biskuit*
- j = kandungan AA Treonin dari tempe dalam *biskuit*
- k = kandungan AA Triptofan dari tempe dalam *biskuit*
- l = kandungan AA Metionin+sistein dari tempe dalam *biskuit*
- m = Skor Asam Amino Lysin
- n = Skor Asam Amino Treonin
- o = Skor Asam Amino Triptofan
- p = Skor Asam Amino Metionin+sistein
- P = Jumlah protein yang terkandung dalam *biskuit*
- L/P = Jumlah Lysin dibagi dengan jumlah protein
- T/P = Jumlah Treonin dibagi dengan jumlah protein
- R/P = Jumlah Triptofan dibagi dengan jumlah protein
- M/P = Jumlah Metionin+sistein dibagi dengan jumlah protein

- b. Tempe dan Hanjeli serta beratnya (a dan g) yang akan ditentukan SAA-nya dimasukkan pada tabel diatas. Jumlah protein dihitung berdasarkan jumlah yang terkandung dalam masing-masing bahan makanan (b dan h) dan jumlahkan ke bawah sehingga diperoleh P.
- c. Dihitung kandungan Asam Amino (AA) Lysin, Treonin, Triptofan, dan Metionin+Sistein berdasarkan jumlah protein yang terkandung dalam bahan makanan (c, d, e, f, i, j, k, dan l).
- d. Dihitung jumlah kandungan masing-masing asam amino tersebut dalam satuan mg Asam Amino per gram protein, sehingga diperoleh L/P, T/P, R/P, dan M/P.
- e. Dihitung rasio (perbandingan masing-masing konsumsi Asam Amino terhadap Kandungan Asam Amino Esensial pada anak usia 1-2 tahun, dengan rumus sebagai berikut :

$$TKAE = \frac{\text{kandungan AA/g protein}}{\text{kandungan AA anak usia 1-2 tahun}}$$

- f. Nilai TKAE yang terkecil merupakan SAA pembatas dari *biskuit* substitusi tepung hanjeli.

2) Mutu Cerna Teoritis, cara menghitungnya adalah sebagai berikut :

a. Siapkan tabel seperti tabel 4.6

**Tabel 4.6 Tabel Perhitungan Mutu Cerna**

No	Jenis Pangan	Kons. Protein (g)	Mutu Cerna (MC)	Kons. Protein x MC
1	Hanjeli		82	
2	Tempe		90	
<b>Jumlah</b>		<b>P</b>		<b>J</b>
<b>Mutu Cerna Teoritis (MC) = J/P = .....</b>				

b. Data konsumsi pangan dimasukkan dalam tabel 4.6 dan dihitung konsumsi protein tiap jenis pangan, kemudian dijumlahkan sehingga diperoleh P gram.

c. Dimasukkan MC dari masing-masing bahan makanan yang dikonsumsi berdasarkan kelompoknya.

d. Kalikan total konsumsi protein (P gram) dengan MC dan jumlahkan hasilnya sehingga didapat J.

e. J dibagi dengan P, hasil tersebut yang akan dinyatakan sebagai MC teoritis.

3) Net Protein Utilization (NPU) Teoritis

Perhitungan dari NPU dilakukan dengan menggunakan rumus berikut ini :

$$\text{NPU teoritis} = \frac{(\text{SAA} \times \text{MC})}{100}$$

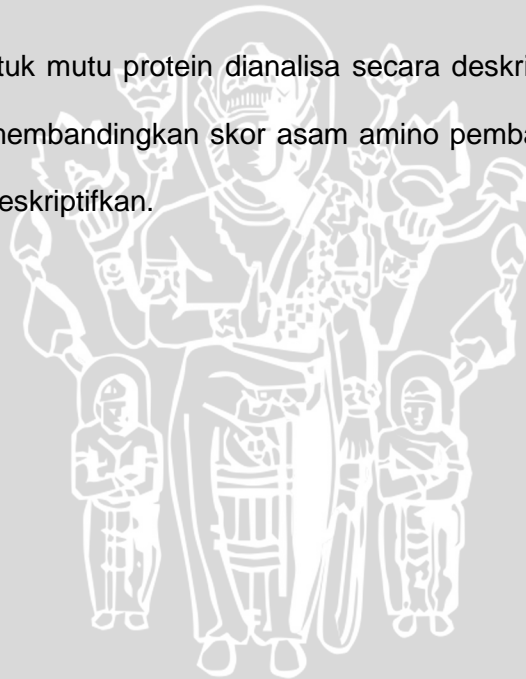
#### 4.8 Jenis, Cara Pengumpulan dan Analisa Data

Jenis data yang diambil adalah data primer, yaitu data yang diperoleh secara langsung dari penelitian. Data yang diambil adalah kadar protein serta mutu protein pada berbagai substitusi tepung Hanjeli dan tepung tempe pada biskuit MP-ASI. Data kadar protein pada biskuit diuji menggunakan statistik yang sebelumnya dilakukan uji kenormalan. Jika data terdistribusi normal, maka uji

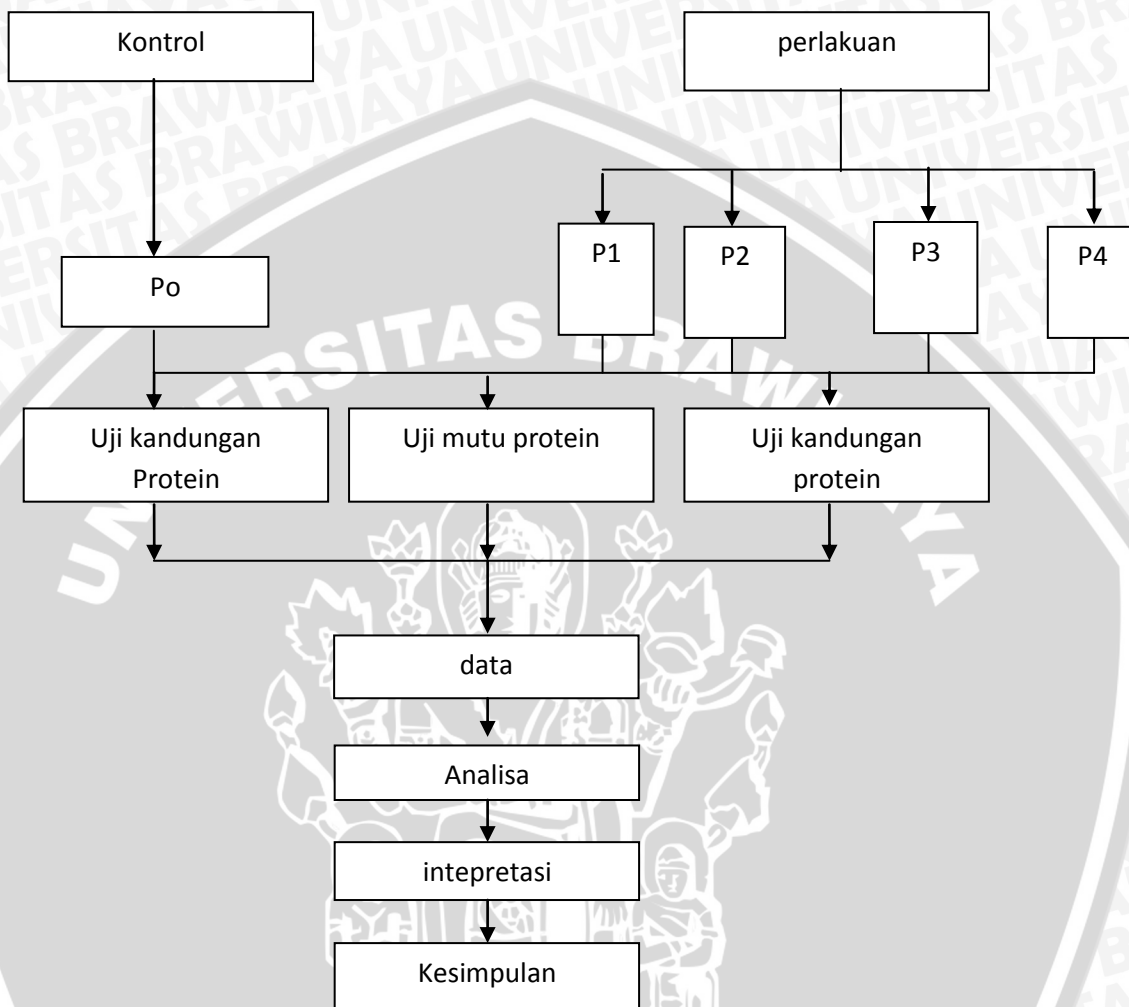
tersebut menggunakan uji ANOVA, namun jika data tersebut tidak terdistribusi normal maka uji yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis*. Jika ada pengaruh substitusi tepung Hanjeli dan tepung tepe, maka dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Jika dari hasil uji ANOVA atau uji *Kruskal Wallis* diperoleh  $value\ p > 0,05$  itu berarti tidak ada pengaruh substitusi tepung Hanjeli dan tepung tepe terhadap kadar protein dan mutu protein. Namun, jika  $value\ p \leq 0,05$  itu berarti ada pengaruh substitusi tepung Hanjeli dan tepung tepe terhadap kadar protein pada biskuit.

Sedangkan untuk mutu protein dianalisa secara deskriptif menggunakan perhitungan dengan membandingkan skor asam amino pembatas dari telur dan kemudian hasilnya dideskriptifkan.



4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.1 alur penelitian