

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *true experiment* dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan penelitian adalah penggunaan tepung labu kuning dan tepung bekatul sebagai bahan utama pada pembuatan *food bars* dengan jumlah yang berbeda. Penelitian ini dilakukan dengan 6 taraf perlakuan. Tepung bekatul yang digunakan dalam formulasi *food bars* adalah 50%, 40%, 30%, 20%, 10% dari total tepung. Pada penelitian Saputra (2008), menyebutkan penggunaan tepung bekatul yang lebih tinggi dari 45% menyebabkan bekatul sangat terasa pada *cookies* dan menimbulkan rasa pahit yang berlebih. Prosentase penggunaan tepung bekatul 50% didapatkan dari uji pendahuluan yang dilakukan oleh peneliti, bahwa penggunaan prosentase tepung bekatul tersebut bila dikombinasikan dengan tepung labu kuning, *food bars* yang dihasilkan tidak menimbulkan rasa pahit yang berlebih. Tepung labu kuning yang digunakan dalam formulasi *food bars* adalah 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dari total tepung, dimana prosentase ini didapatkan dari penyesuaian dengan penggunaan tepung bekatul, dikarenakan penggunaan prosentase tepung labu kuning yang semakin tinggi hanya akan mempengaruhi tekstur yang dihasilkan *food bars* yaitu tekstur yang keras atau lembek tergantung pada kombinasi tepung yang digunakan. Setiap taraf perlakuan dilakukan 4 kali pengulangan. Sehingga secara keseluruhan terdapat 24 sampel. Desain penelitian secara lengkap dapat dilihat pada table 4.1.

Tabel 4.1 Perbandingan Tepung Labu Kuning dan Tepung Bekatul

Perlakuan	Tepung Labu Kuning	Tepung Bekatul	Tepung gandum
P ₀	-	-	100%
P ₁	50 %	50 %	-
P ₂	60 %	40 %	-
P ₃	70 %	30 %	-
P ₄	80 %	20 %	-
P ₅	90 %	10 %	-

Keterangan :

P₀ : food bars yang tidak mengalami perlakuan apapun yang digunakan sebagai kontrol.

4.2 Sampel

4.2.1 Estimasi besar sampel

Jumlah Pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan rumus umum Mcfarland:

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$(t - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$(6 - 1)(r - 1) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 20$$

$$r = 4$$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan dalam penelitian.

r : Jumlah perlakuan ulang (sampel)

Pada penelitian ini digunakan pengulangan sebanyak 4 kali.

Perlakuan 0: tepung gandum 100% = 4 sampel

Perlakuan 1: tepung labu kuning 50 % dan tepung bekatul 50 % = 4 sampel

Perlakuan 2: tepung labu kuning 60 % dan tepung bekatul 40 % = 4 sampel

Perlakuan 3: tepung labu kuning 70 % dan tepung bekatul 30 % = 4 sampel

Perlakuan 4: tepung labu kuning 80 % dan tepung bekatul 20 % = 4 sampel

Perlakuan 5: tepung labu kuning 90 % dan tepung bekatul 10 % = 4 sampel

Jumlah sampel keseluruhan = 24 sampel.

Desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) secara lengkap disajikan pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Rancangan Acak Lengkap

Taraf Perlakuan	Replikasi			
	1	2	3	4
P_0	Y_{01}	Y_{02}	Y_{03}	Y_{04}
P_1	Y_{11}	Y_{12}	Y_{13}	Y_{14}
P_2	Y_{21}	Y_{22}	Y_{23}	Y_{24}
P_3	Y_{31}	Y_{32}	Y_{33}	Y_{34}
P_4	Y_{41}	Y_{42}	Y_{43}	Y_{44}
P_5	Y_{51}	Y_{52}	Y_{53}	Y_{54}

4.2.2 Pengacakan

Agar setiap unit percobaan mendapat peluang yang sama untuk mendapatkan setiap jenis penempatan perlakuan unit percobaan, maka percobaan akan dilakukan secara acak. Pengelompokan dilakukan dengan menggunakan bilangan – bilangan acak yang didapat dari tabel bilangan acak 40 nomer (Budiarto, 2002). Cara mendapatkan perlakuan ke dalam unit percobaan adalah sebagai berikut:

- Membuat gulungan kertas yang telah dinomeri 0 sampai 9
- Diambil bilangan acak yang berasal dari pelemparan gulungan kertas sebanyak 3
- Bilangan acak diberi rangking dari yang terendah hingga tertinggi

Tabel 4.3 Pengacakan Sampel

No.	Nomor acak	Rangking
1.	928	6
2.	731	14
3.	063	20
4.	694	21
5.	801	2
6.	267	8
7.	827	12
8.	901	19
9.	450	22
10.	320	1
11.	091	7
12.	768	13
13.	392	18
14.	895	25
15.	562	5
16.	610	9
17.	201	11
18.	639	16
19.	035	24
20.	576	3
21.	120	10
22.	946	15
23.	408	17
24.	794	23
25.	343	4

- d. Rangking bilangan acak tersebut dianggap menjadi nomor urut percobaan dan dikelompokkan berdasarkan jenis perlakuan.

4.3 Variabel penelitian

4.3.1 Variabel independen

Formulasi tepung labu kuning dan tepung bekatul (50:50 , 60:40 , 70:30 , 80:20 , 90:10).

4.3.2 Variabel dependen

Nilai kandungan zat gizi makro (karbohidrat, protein, dan lemak) dan daya terima (warna, rasa, aroma, dan tekstur).

4.4 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan selama \pm 3 bulan di :

- a. Laboratorium Penyelenggaraan Makanan Jurusan Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pembuatan dan uji organoleptik *Food Bar* berbahan baku tepung labu kuning dan tepung bekatul.
- b. Laboratorium THP Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang untuk uji mutu gizi makro *Food Bar* berbahan baku tepung labu kuning dan tepung bekatul.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Tahapan pembuatan tepung labu kuning

Bahan : Labu kuning

Alat : Pisau, Timbangan, Kompor, Panci, Baskom, Blender Kering, Ayakan 60 Mesh, Pengering Cabinet

Tahapan :

1. Sortasi

Labu kuning yang telah tersedia dipilih yang sudah masak dan tidak busuk.

2. Pengupasan

Labu kuning selanjutnya dikupas kulitnya hingga bersih. Pengupasan dilakukan dengan menggunakan pisau stainless steel yang bersih agar labu kuning tidak kotor.

3. Pemotongan

Setelah labu kuning dipilih yang baik dan dikupas maka labu kuning dipotong – potong menjadi beberapa bagian dan menghilangkan jonjot serta biji yang ada pada buah labu kuning, kemudian dibersihkan dari jonjot dan biji dilakukan pengecilan ukuran pada labu kuning.

4. Pencucian

Setelah dipotong dan dihilangkan bagian jonjot dan bijinya, labu kuning tersebut dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran pada kulit buahnya. Pencucian dilakukan hingga kulit labu kuning tersebut benar – benar bersih.

5. Blansing

Labu kuning yang telah dilakukan pengecilan ukuran, selanjutnya diblansing dengan air yang mendidih dengan suhu 95 – 100°C selama 4 menit. Tujuan dilakukannya blansing adalah untuk menginaktivasi enzim terutama enzim peroksidase dan katalase, blansing juga dapat mempertajam *flavor* dan memperbaiki warna pada labu kuning.

6. Pengeringan

Pengeringan dilakukan dengan pengering *cabinet*. Pada penelitian ini menggunakan pengering *cabinet* bersuhu ± 55 °C selama ± 20 jam, hingga labu kuning menjadi kering (mudah dipatahkan setelah dingin).

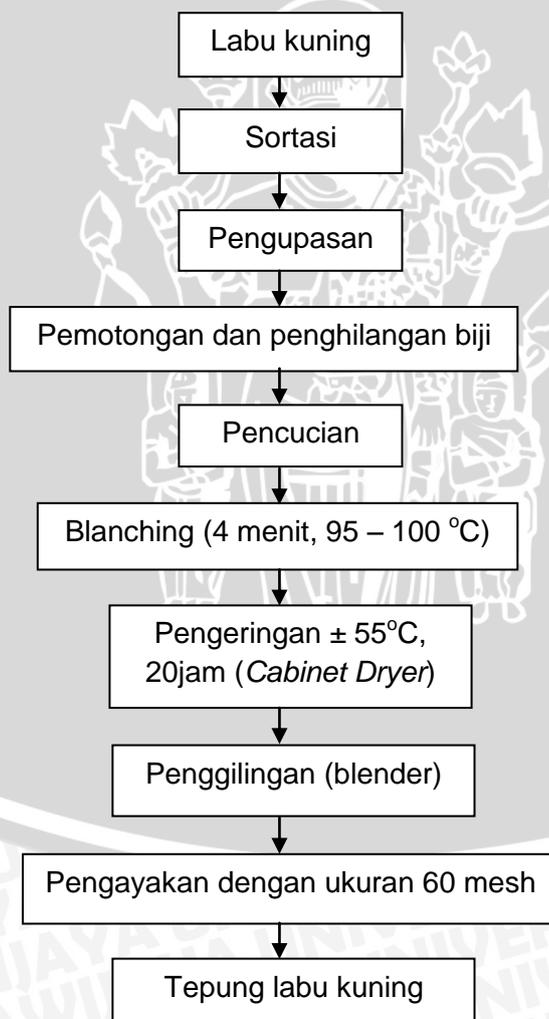
7. Penggilingan

Potongan labu kuning hasil pengeringan dapat segera digiling atau dihancurkan dengan menggunakan blender kering atau mesin

penepung beras apabila dalam jumlah yang banyak. Penghancuran dilakukan hingga labu kuning tersebut hancur menjadi bubuk (tepung).

8. Pengayakan

Labu kuning yang telah dihancurkan kemudian diayak dengan saringan berukuran lubang 60 mesh. Tepung yang lolos ayakan ditampung dalam tempat tersendiri, sementara yang tidak lolos ayakan dapat digiling lagi hingga akhirnya dapat lolos ayakan.



Gambar 4.1 Diagram Pembuatan Tepung Labu Kuning (Tantini, 2008)

4.5.2 Tahapan pembuatan tepung bekatul

Bahan : Bekatul

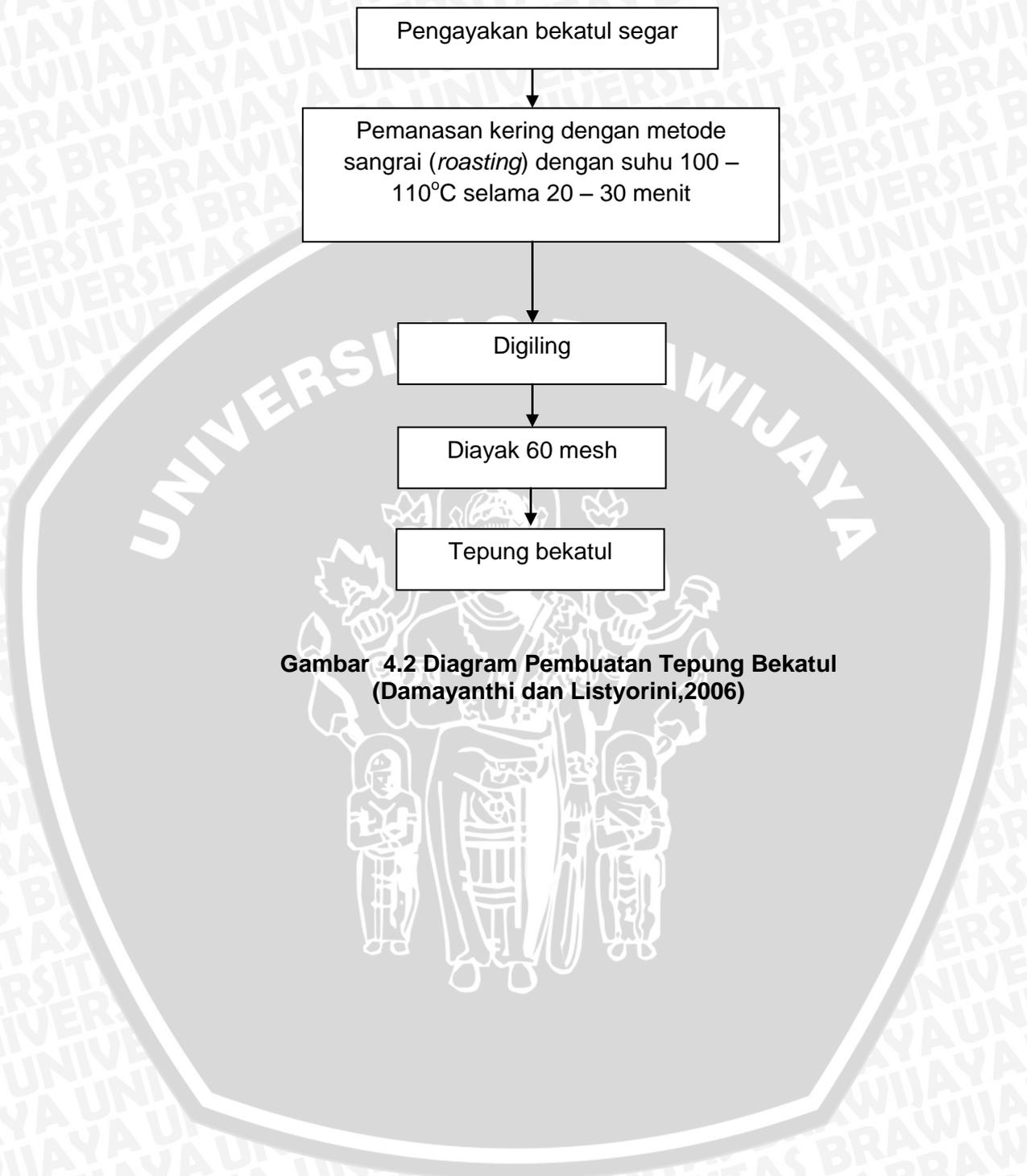
Alat : Otoklaf, Oven, Blender Kering, Ayakan 60 Mesh

Tahapan :

1. Siapkan bekatul yang segar.
2. Dilakukan pengayakan menggunakan alat pengayakan 60 mesh pada bekatul segar. Pengayakan dilakukan untuk memisahkan bekatul dari sekam dan menir, karena tercampurnya sekam dan menir dengan bekatul merupakan salah satu masalah dalam penggunaan bekatul sebagai bahan pangan (Janathan,2007).
3. Kemudian dilakukan pemanasan kering dilakukan dengan proses sangrai (*roasting*) pada suhu 100 – 110°C selama 20 – 30 menit.
4. Penghalusan menggunakan belnder dalam keadaan kering.
5. Pengayakan menggunakan alat pengayakan 60 mesh.

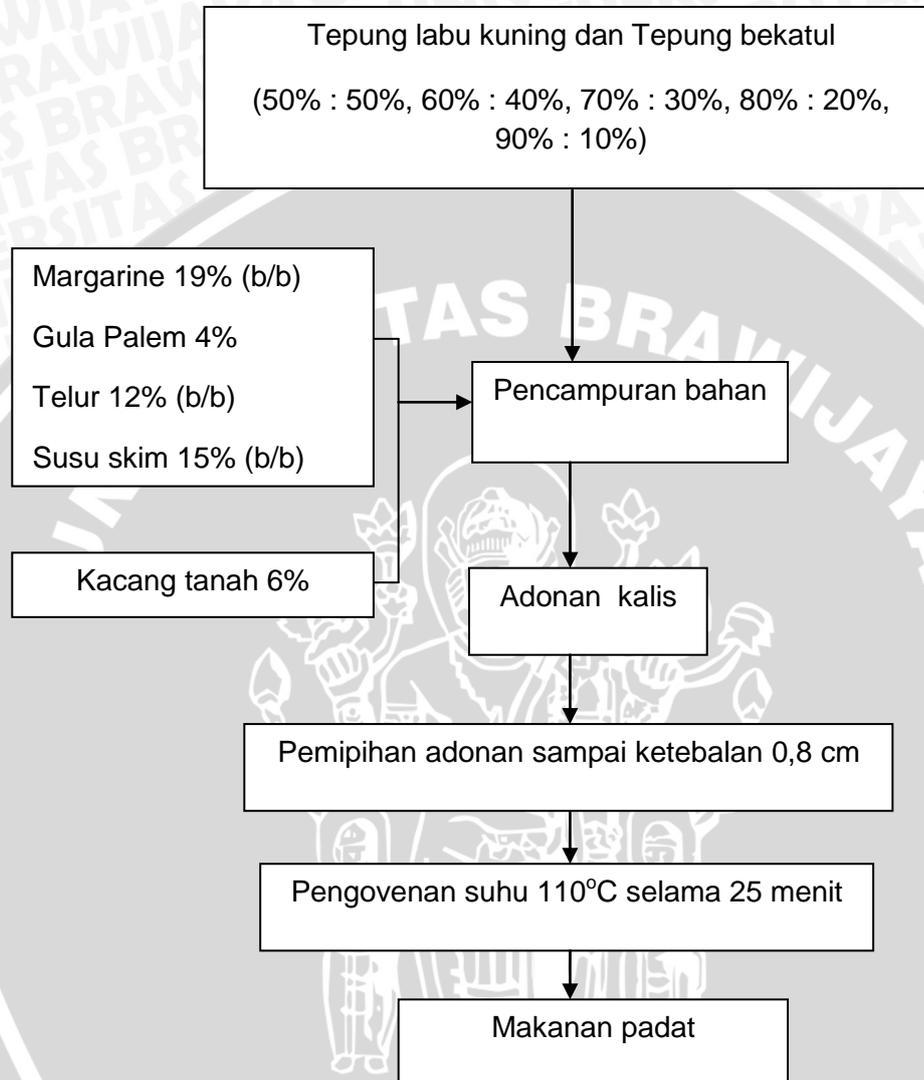
(Damayanthi dan Listyorini,2006)





Gambar 4.2 Diagram Pembuatan Tepung Bekatul (Damayanthi dan Listyorini,2006)

4.5.3 Pembuatan *Food bars*

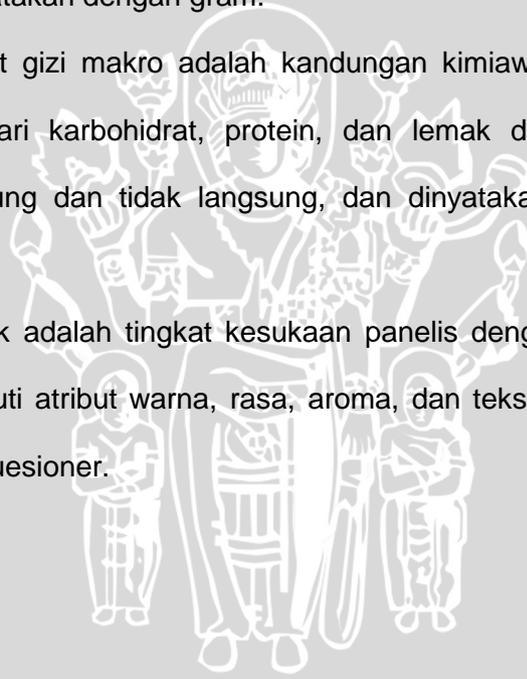


Gambar 4.3 Diagram Tahap Pelaksanaan Pembuatan Makanan Padat (*Foodbars*) Modifikasi dari Briske (2004) dalam Ricelina (2007)

4.6 Definisi operasional

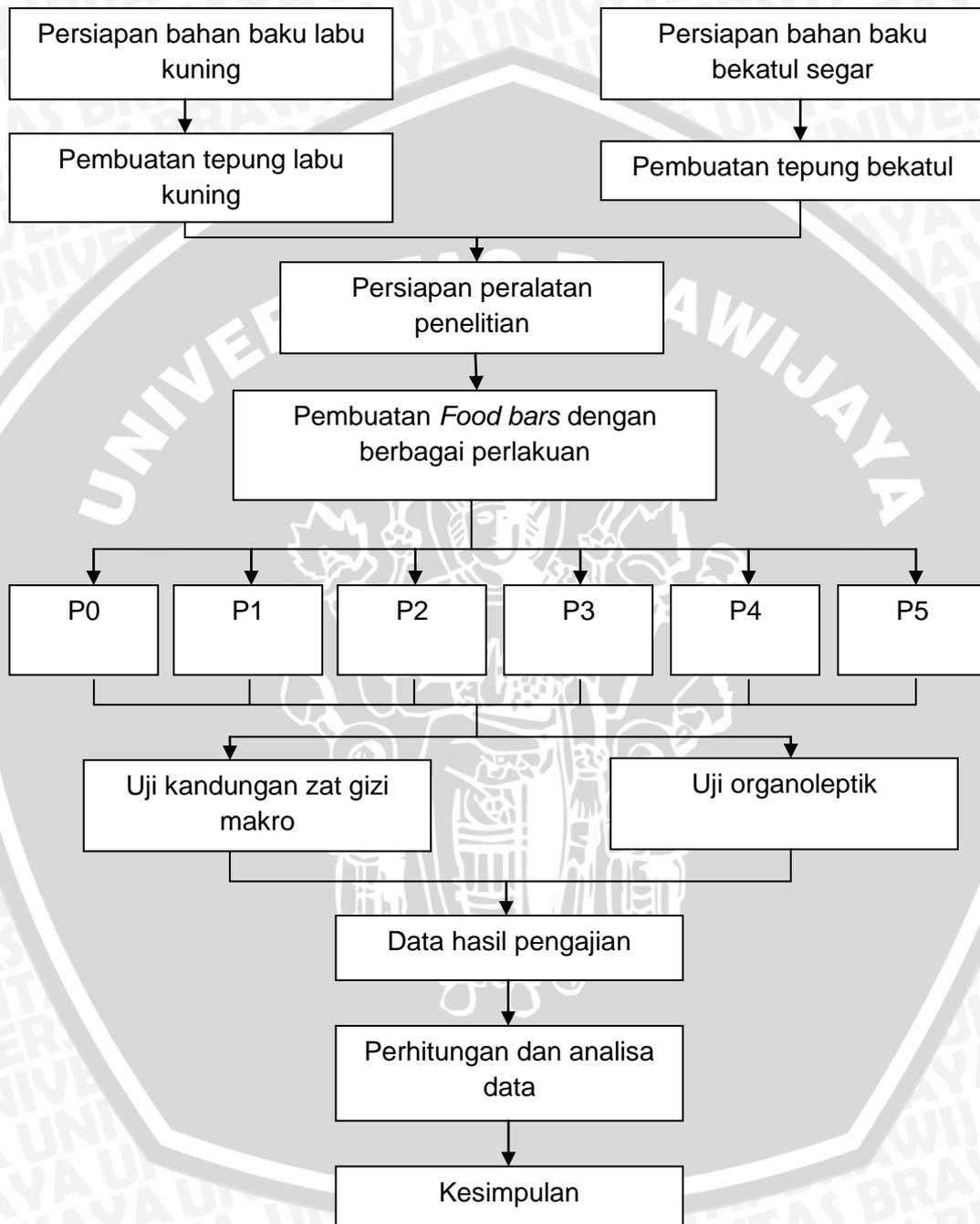
- Food bars* adalah makanan yang berbentuk padat dengan ketebalan 0,8 cm; panjang 9 cm; dan lebar 6 cm.

- b. *Emergency Food Product* adalah makanan dengan berat 50 gr mengandung energy 233 – 250 kkal; lemak 9,1 – 11,7 gram dan protein 7,9 – 8,9 gram.
- c. Tepung labu kuning adalah hasil pengeringan labu kuning yang kemudian digiling menghasilkan butiran halus, lolos ayakan 60 mesh, berwarna putih kekuningan, berbau khas labu kuning dinyatakan dengan gram.
- d. Tepung bekatul adalah hasil dari pengayakan bahan segar bekatul kemudian diotoklaf lalu dikeringkan dalam oven dan digiling, lolos ayakan 60 mesh, dinyatakan dengan gram.
- e. Kandungan zat gizi makro adalah kandungan kimiawi dalam makanan yang terdiri dari karbohidrat, protein, dan lemak diuji menggunakan metode langsung dan tidak langsung, dan dinyatakan dengan satuan gram.
- f. Uji organoleptik adalah tingkat kesukaan panelis dengan menggunakan uji beda meliputi atribut warna, rasa, aroma, dan tekstur terhadap *Food bars* dengan kuesioner.



4.7 Prosedur penelitian

4.7.1 Alur penelitian



Gambar 4.4 Diagram Alur Penelitian

4.7.2 Prosedur pengujian zat gizi makro

4.7.2.1 Penetapan kadar air dengan menggunakan metode Oven kering (Andarwulan *dkk*, 2011a)

Peralatan yang digunakan pada analisis kadar air dengan metode ini adalah cawan (*stainless steel*, alumunium, nikel atau porselen) beserta tutupnya, desikator, penjepit cawan, dan timbangan analitik.

Cawan kosong dan tutupnya dikeringkan dalam oven selama 15 menit dan didinginkan dalam desikator (selama 10 menit untuk cawan alumunium dan 20 menit untuk cawan porselin), lalu cawan kering ditimbang.

Sebanyak 5 g sampel ditimbang dengan cepat ke dalam cawan kering, kemudian dihomogenkan. Tutup cawan dibuka, cawan sampel beserta tutupnya di keringkan dalam oven suhu 100°C – 105°C selama 6 jam. Cawan diletakkan secara seksama agar tidak menyentuh dinding oven. Produk yang tidak mengalami dekomposisi dengan pengeringan yang lama, dapat dikeringkan selama satu malam (16 jam). Cawan yang berisi sampel dipindahkan ke dalam desikator, ditutup dengan penutup cawan, didinginkan lalu ditimbang kembali. Cawan dimasukkan kembali ke dalam oven sampai diperoleh berat konstan.

Kadar air dalam bahan baik berdasarkan basis kering atau basis basah dapat di hitung dengan rumus berikut :

$$\% \text{ kadar air (basis kering)} = \frac{b - (c - a)}{(c - a)} \times 100$$

$$\% \text{ kadar air (basis basah)} = \frac{b - (c - a)}{b} \times 100$$

Keterangan :

a = berat cawan kering yang sudah konstan

b = berat sampel awal

c = berat cawan dan sampel kering yang sudah konstan

4.7.2.2 Penetapan kadar abu dengan menggunakan metode Pengabuan kering (Andarwulan *dkk*, 2011b)

Peralatan yang dibutuhkan pada pengabuan kering antara lain : tanur pengabuan (*furnace*), cawan bertutup, desikator, penjepit, cawan, pemanas, dan neraca analitik.

Cawan pengabuan dipersiapkan dengan cara dibakar di dalam tanur pada suhu 100°C – 105°C, didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Sebanyak 5 – 10 g sampel ditimbang di dalam cawan. Cawan berisi sampel dibakar diatas pembakar burner dengan api sedang untuk menguapkan sebanyak mungkin zat organik yang ada (sampai sampel tidak berasap lagi dan berwarna hitam). Cawan dipindahkan ke dalam tanur dan dipanaskan pada suhu 300°C, kemudian suhu dinaikkan menjadi 420°C – 550°C dengan waktu sesuai karakteristik bahan (umumnya 5 – 7 jam).

Kadar abu dalam sampel dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ abu} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100$$

Keterangan :

W_2 = Berat cawan dan sampel setelah pengabuan (g)

W_0 = Berat cawan kosong (g)

W_1 = Berat cawan dan sampel sebelum pengabuan

4.7.2.3 Penetapan kadar protein dengan menggunakan metode Kjeldahl (Andarwulan *dkk*, 2011c)

Penetapan kadar protein dilakukan dengan menggunakan alat pemanas Kjeldahl lengkap yang dihubungkan dengan pengisap uap melalui aspirator, labu Kjeldahl berukuran 30 atau 50 ml, alat distilasi lengkap dengan Erlenmeyer berpenampung berukuran 125 ml, dan buret 25 atau 50 ml, dan *magnetic stirrer*. Sampel yang digunakan sedikitnya (0,1 – 0,5 g) yang kira – kira akan membutuhkan 3 – 10 ml HCl 0,02 N pada saat titrasi. Sampel tersebut dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl. Berturut – turut dimasukkan juga sekitar 2 g K_2SO_4 , 50 mg HgO, 3 – 5 ml H_2SO_4 , dan beberapa butir batu didih untuk mencegah terbentuknya gelembung. Labu Kjeldahl tersebut kemudian dididihkan di atas pemanas listrik selama 1 – 1,5 jam sampai cairan menjadi jernih.

Setelah larutan dalam labu dingin, larutan tersebut dituangkan ke dalam alat distilasi. Labu Kjeldahl dibilas dengan air 5 – 6 kali dengan menambahkan air untuk memastikan bahwa tidak ada larutan hasil destruksi yang tertinggal. Pada alat distilasi di bawah kondensor kemudian dipasang Erlenmeyer 125 ml yang berisi 5 ml larutan H_3BO_3 dan 2 tetes indikator. Tambahkan juga air untuk memastikan ujung dari alat distilator terendam (dibawah permukaan) larutan asam borat. Kemudian ditambahkan 8 – 10 ml larutan NaOH ke dalam alat distilasi, lalu dilakukan proses distilasi sehingga tertampung kira – kira 15 ml destilat dalam Erlenmeyer.

Distilat yang tertampung di dalam Erlenmeyer kemudian dititrasi di atas *magnetic stirrer* dengan menggunakan larutan HCl 0,02 N sampai terjadi perubahan warna menjadi abu – abu.

Perhitungan :

$$\%N = \frac{(\text{ml HCl sampel} - \text{blangko}) \times \text{Normalitas} \times 14,700 \times 100}{\text{mg sampel}}$$

$$\% \text{Protein} = \% N \times F$$

Dimana,

$$F = \text{faktor konversi} = 100 / (\%N \text{ dalam protein sampel})$$

4.7.2.4 Penetapan kadar lemak dengan menggunakan metode Soxhlet (Andarwulan *dkk*, 2011d)

Penetapan kadar lemak metode soxhlet menggunakan sampel sebanyak 5 g ditimbang dalam Erlenmeyer. Kemudian ke dalam Erlenmeyer ditambahkan 45 ml aquades panas, 55 ml HCl 25%, dan batu didih. Erlenmeyer ditutup dengan gelas arloji kemudian di didihkan secara perlahan – lahan selama 30 menit, dan diusahakan volume tetap terjaga, jika volume berkurang ditambahkan kembali dengan air. Gelas arloji dibilas dengan aquades sebanyak 100 ml. larutan disaring dengan kertas saring bebas lemak. Erlenmeyer dibilas dengan aquades 3 kali. Endapan dicuci dengan aquades panas hingga bebas Cl dengan cara mereaksikan air saringan dengan AgNO_3 0,1 M. Residu bersama kertas saringnya dikeringkan selama 16 – 18 jam pada suhu $100^\circ - 105^\circ \text{C}$.

Sebanyak 5 g sampel berbentuk residu dimasukkan ke dalam saringan timbel kemudian ditutup kapas, lalu diletakkan di dalam alat

soxhlet, kemudian dipasang alat kondensor di atas dan labu lemak di bawahnya. Pelarut yang digunakan dituang ke dalam labu lemak secukupnya, sesuai dengan ukuran soxhlet yang digunakan. Sampel direfluks selama minimum 5 jam sampai pelarut yang turun kembali ke labu lemak berwarna jernih. Pelarut yang ada di dalam labu lemak didistilasi. Selanjutnya labu lemak yang berisi lemak hasil ekstraksi dipanaskan dalam oven bersuhu 105°C untuk menguapkan sisa pelarut yang mungkin masih tertinggal. Setelah dikeringkan sampai berat konstan dan didinginkan dalam desikator, labu beserta lemaknya ditimbang. Dari hasil penimbangan tersebut persentase lemak dalam sampel dapat dihitung.

Perhitungan :

$$\% \text{lemak} = \frac{W_c - W_a}{W_b} \times 100\%$$

Keterangan :

W_c = berat labu lemak setelah distilasi

W_a = berat labu lemak awal

W_b = berat sampel

4.7.2.5 Penetapan kadar karbohidrat dengan menggunakan metode by difference (Muchtadi, 1989)

Total karbohidrat sampel dihitung dengan mengurangi 100% kandungan gizi sampel yaitu kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak. Perhitungan total karbohidrat dapat dijabarkan sebagai berikut :

Total karbohidrat :

= 100% - (kadar air + kadar abu + kadar protein + kadar lemak)

4.7.3 Prosedur pengujian organoleptik terhadap produk

Penelitian ini menggunakan uji organoleptik metode hedonik meliputi warna, aroma, rasa dan tekstur (Misnawi dan Wahyudi, 1999). Penilaian organoleptik disebut juga penilaian dengan indra atau penilaian sensorik. Dalam uji hedonik panelis diminta untuk menyatakan tanggapan pribadinya tentang kesukaan terhadap produk. Tingkat-tingkat kesukaan ini disebut skala hedonik, misalnya amat sangat suka, sangat suka, suka, agak suka, netral, agak tidak suka, tidak suka dan amat sangat tidak suka (Rahayu, 1998).

Uji nilai sensoris atau uji organoleptik dilakukan di Laboratorium Penyelenggaraan Makanan Jurusan Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Barawijaya. Ada 6 jenis sampel *Food bars* yang akan diuji. Dengan jumlah panelis 15 orang mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang merupakan panelis agak terlatih, dengan ketentuan panelis (kriteria inklusi untuk panelis) menurut SNI 01-2346-2006, yaitu :

- Mau berpartisipasi dalam uji organoleptik
- Konsisten dalam mengambil keputusan
- Minimal 20 menit setelah memakan permen karet, makanan dan minuman ringan.
- Tidak menggunakan kosmetik seperti parfum dan lipstik serta mencuci tangan dengan sabun yang tidak pada saat akan uji bau

- Berbadan sehat, bebas dari penyakit THT, tidak buta warna serta gangguan psikologis.
- Panelis tidak sedang dalam keadaan mual/muntah
- Tidak menyusui (karena jika dalam kondisi menyusui, panelis cenderung lebih lahap dalam mencicipi sampel dan akan berpengaruh pada hasil penilaian sensori/uji organoleptik)
- Tidak memiliki kebiasaan merokok/perokok yang tidak merokok paling sedikit 20 menit sebelum pengujian organoleptik
- Tidak menderita sakit (flu dan batuk)
- Tidak dalam keadaan kenyang atau lapar, artinya setidaknya 1,5 – 2 jam sebelum dilakukan uji organoleptik sebaiknya panelis sudah makan terlebih dahulu
- Tidak mengkonsumsi makanan atau minuman yang berbumbu tajam dan tertinggal di mulut sesaat sebelum pengujian organoleptik dimulai
- Tidak memiliki pantangan terhadap sampel yang akan diujikan

Uji organoleptik dilakukan antar dua waktu makan, yaitu antara pukul 08.00 – 10.00 atau pukul 14.00 – 16.00 WIB.

Pada pelaksanaan penilaian uji mutu organoleptik menggunakan sistem single blind, yang mana panelis tidak mengetahui taraf-taraf perlakuan pada sampel yang diujikan. Dan alur pelaksanaan uji organoleptik adalah sebagai berikut :

1. Panelis masuk kedalam ruangan dan menempati tempat yang telah disediakan (karena laboratorium penyelenggaraan makanan belum memiliki ruangan standart untuk uji organoleptik, maka pengujian dilakukan dengan cara memberi jarak pada masing-masing panelis

dan tiap panelis didampingi oleh seorang pengawas untuk memastikan agar tidak terjadi komunikasi antar panelis)

2. Panelis mendapatkan instruksi dari peneliti tentang cara pengisian form uji organoleptik
3. Panelis mulai menilai sampel pengujian yang telah diberi simbol-simbol yang mana simbol tersebut tidak diketahui oleh panelis, dan panelis menilai sampel yang sudah disediakan secara spontan dan langsung memberikan skor pada masing-masing sampel sesuai dengan petunjuk pengisian form

Jika sudah selesai dalam memberikan penilaian, panelis dapat meninggalkan ruangan.

4.8 Analisa Data

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) menggunakan *software* SPSS for Windows release 16. Uji statistik yang digunakan adalah uji statistik parametrik yaitu *one way* ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan kandungan zat gizi makro pada berbagai formulasi tepung labu kuning dan tepung bekatul dalam *food bars*. Sedangkan uji organoleptik metode hedonik menggunakan uji *Kruskal – Wallis*, jika ada pengaruh dimana $p - value < 0.05$, maka diuji lanjut dengan uji *Mann – Whitney* untuk mengetahui ada beda.