

## BAB 4

## METODE PENELITIAN

## 4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian adalah penelitian *true experiment* dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan penelitian adalah tepung labu kuning dan tepung tempe sebagai substitusi tepung beras, pada pembuatan bubur bayi instan. Penelitian ini dilakukan dengan 7 taraf perlakuan yaitu kombinasi tepung beras : tepung tempe : tepung labu kuning. Setiap taraf perlakuan dilakukan 4 kali replikasi sehingga secara keseluruhan terdapat 28 perlakuan (sampel). Persentase dari labu kuning mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Elvizahro, 2012 dengan judul Kontribusi MP-ASI Bubur Bayi Instan dengan Substitusi Tepung Ikan Patin dan Tepung Labu Kuning Terhadap Kecukupan Protein dan Vitamin A, dari penelitian tersebut perlakuan terbaik adalah bubur bayi instan dengan substitusi tepung labu kuning sebesar 15%. Desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) secara lengkap disajikan pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Rancangan Acak Lengkap

Perlakuan Tepung beras: Tepung tempe : tepung labu kuning	Replikasi			
	1	2	3	4
P0 (35% : 0% : 0%)	P01	P02	P03	P04
P1 (20% : 0% : 15%)	P11	P12	P13	P14
P2 (20% : 15% : 0%)	P21	P22	P23	P24
P3 (20% : 10% : 15%)	P31	P32	P33	P34
P4 (10% : 15% : 10%)	P41	P42	P43	P44
P5 (0% : 20% : 15%)	P51	P52	P53	P54
P6 (0% : 15% : 20%)	P61	P62	P63	P64

Jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan rumus federer:  $(t - 1) (r - 1) \geq 15$  dengan keterangan t adalah jumlah perlakuan dalam penelitian dan r adalah jumlah perlakuan ulang (sampel). Jika dihitung menggunakan rumus tersebut maka perhitungannya  $(7 - 1) (r - 1) \geq 15$  dan didapatkan hasil nilai  $r \geq 4$ .

**Tabel 4.2 Komposisi Formula Bubur Bayi Instan (g)**

Bahan	Formula						
	P0	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Tepung beras	35	20	20	10	10	0	0
Tepung tempe	-	0	15	10	15	20	15
Tepung labu kuning	-	15	0	15	10	15	20
Susu skim	60	60	60	60	60	60	60
Gula halus	5	5	5	5	5	5	5
Jumlah	100	100	100	100	100	100	100

## 4.2 Kriteria Bahan

### 4.2.1 Kriteria Tempe

1. Tempe terbuat dari kedelai jenis kuning yang didapat dari desa Sanan Kota Malang
2. Berwarna putih bersih yang merata pada permukaannya
3. Tempe memiliki struktur homogen yang kompak
4. Tempe memiliki rasa, bau dan aroma khas tempe
5. Tempe tidak memiliki permukaan yang basah
6. Tempe tidak terdapat bercak-bercak hitam
7. Tempe tidak berbau amoniak dan alkohol, serta beracun

### 4.2.2 Kriteria Tepung Labu Kuning

1. Tepung labu kuning didapat dari kelompok swadaya Masyarakat Mekar Sari Kabupaten Kulon Progo Yogyakarta
2. Tepung tidak menggumpal

3. Tepung dalam kemasan tertutup
4. Tepung tidak kedaluwarsa

#### 4.2.3 Kriteria Tepung Beras

1. Tepung beras menggunakan merk *Rose Brand*
2. Kemasan tepung beras baik dan tidak rusak
3. Tepung beras tidak kadaluwarsa

#### 4.2.4 Kriteria Susu Skim

1. Susu skim dibeli di toko Avia Kota Malang
2. Kemasan tepung susu skim baik dan tidak rusak
3. Tidak ada kotoran dalam susu skim

#### 4.2.5 Kriteria Gula

1. Gula yang digunakan adalah gula lokal yang selanjutnya diblender menjadi gula halus.
2. Tidak terdapat kotoran dalam gula seperti batu dan hewam kecil.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Independen (Variabel bebas)

Proporsi tepung tempe dan tepung labu kuning

#### 4.3.2 Variabel Dependen (Variabel terikat)

1. Kandungan zat gizi (Protein dan Vitamin A) pada bubur bayi instan yang disubstitusi tepung tempe dan tepung labu kuning.
2. Mutu organoleptik (Warna, Aroma, Rasa dan Tekstur) pada bubur bayi instan yang disubstitusi tepung tempe dan tepung labu kuning.



#### 4.4 Waktu dan Lokasi Penelitian

##### 4.4.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 4- 8 Juli 2014.

##### 4.4.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di beberapa lokasi yaitu:

1. Laboratorium Penyelenggaraan Makanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang untuk pembuatan bubur bayi dan uji organoleptik.
2. Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang untuk uji kandungan zat gizi (protein dan total karotenoid)

#### 4.5 Alat dan Bahan

##### 4.5.1 Pembuatan Tepung Labu kuning

Alat : Pisau, kompor, panci, oven, alat giling, ayakan 80 mesh

Bahan : Labu kuning

##### 4.5.2 Pembuatan Tepung Tempe Kedelai

Alat : Kompor, panci pengukus, wadah/baskom, alat pengering (freezer drying), penggilingan, ayakan.

Bahan : Tempe kedelai

##### 4.5.3 Pembuatan Bubur Bayi Instan

Alat : Kompor, panci, sendok, mangkok, gilingan, saringan, oven

Bahan : Tepung tempe, tepung labu kuning, susu skim, gula halus

##### 4.5.4 Analisis Protein (Metode Kjeldahl)

Alat : Pemanas kjeldahl, labu kjedahl, destilasi, buret dan pipet ukur.

Bahan : Asam sulfat pekat, aquades, reagen NaTio, indikator MR BCG dan sampel (bubur bayi instan hasil substitusi tepung tempe dan tepung labu kuning)

#### 4.5.5 Analisis Vitamin A (Total Karotenoid)

Alat : Mortar, timbangan, kertas saring, sendok pengaduk, cuvet, alat spektrofotometer

Bahan : Bubur bayi instan substitusi tepung tempe dan tepung labu kuning, 100 mL aseton 80%

#### 4.5.6 Uji Organoleptik

Alat : Piring, alat tulis, koesioner

Bahan : Bubur bayi instan substitusi tepung tempe dan tepung labu kuning

### 4.6 Definisi Operasional

#### 4.6.1 Tempe

Tempe terbuat dari kedelai jenis kuning yang didapat dari desa Sanan Kota Malang, kemudian dibuat tepung di Materia Medica Kota Batu.

#### 4.6.2 Tepung tempe

Tepung tempe adalah tepung yang dibuat dari tempe kedelai jenis kuning yang kemudian dibuat tepung di Materia Medica Kota Batu.

#### 4.6.3 Tepung labu kuning

Tepung dengan butiran halus, lolos ayakan 80 mesh, berwarna putih kekuningan, berbau khas labu kuning. Tepung labu kuning didapatkan dari kelompok swadaya Masyarakat Mekar Sari Kabupaten Kulon Progo Yogyakarta.

#### 4.6.4 Bubur Bayi Instan

Bubur bayi instan adalah formula bubur bayi yang terbuat dari tepung beras yang disubstitusi dengan tepung tempe dan tepung labu kuning, susu skim, dan gula halus yang dicampur kemudian dioven dengan suhu  $\pm 200^{\circ}\text{C}$ , digiling dan lolos ayakan 80 mesh. Bubur bayi instan memiliki 7 perlakuan dengan komposisi berbeda.

#### 4.6.5 Kandungan protein

Kandungan protein yang terdapat dalam bubur bayi instan yang disubstitusi tepung tempe dan tepung labu kuning menggunakan metode *Kjeidahl* dengan satuan %.

#### 4.6.6 Kandungan vitamin A

Kandungan vitamin A yang terdapat dalam bubur bayi instan yang disubstitusi tepung tempe dan tepung labu kuning diukur dengan pendekatan total karotenoid menggunakan metode spektrofotometri dengan satuan  $\mu\text{g/g}$ .

#### 4.6.7 Mutu organoleptik

Tingkat kesukaan panelis agak terlatih dengan jumlah 30 orang yang ditentukan dengan menggunakan *uji hedonic scale test* dengan parameter warna, rasa, aroma, dan tekstur terhadap bubur bayi instan dan memiliki 6 kategori yaitu 1= sangat tidak suka, 2= tidak suka, 3=agak tidak suka, 4= agak suka, 5= suka, 6= sangat suka.

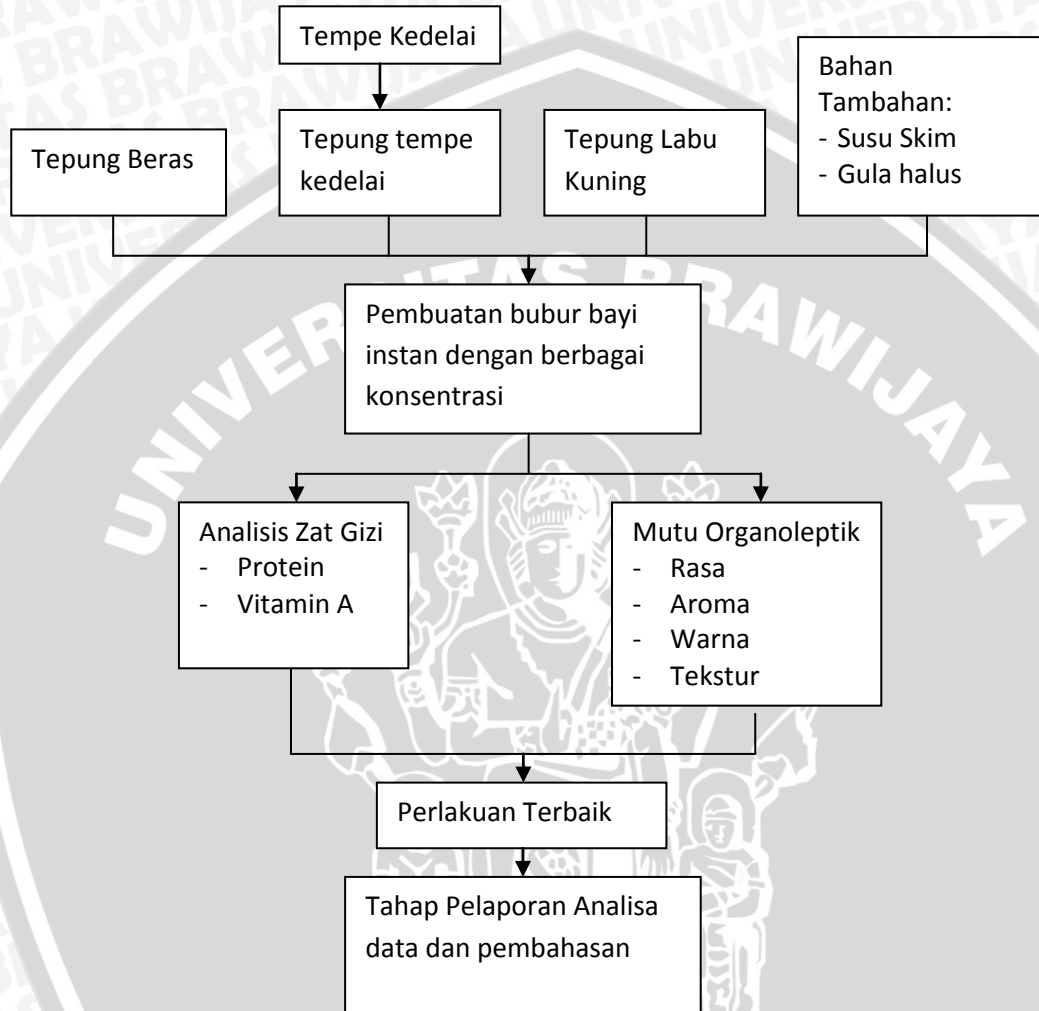
#### 4.6.8 Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik ditentukan berdasarkan hasil penilaian terhadap kandungan gizi maupun mutu organoleptik bubur bayi instan, kemudian di hitung Nilai Efektifitas dan Nilai Hasilnya menurut deGarmo *et al* (1984)



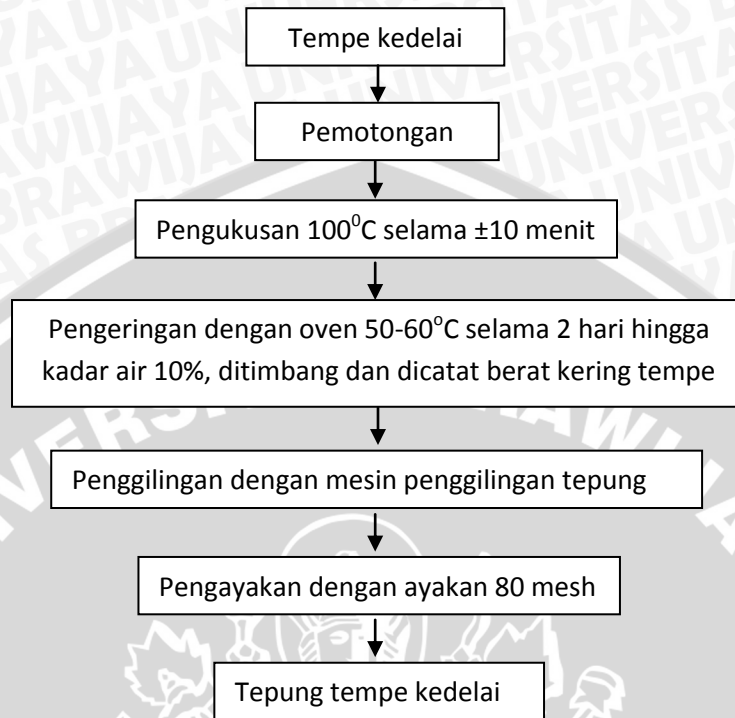
## 4.7 Prosedur Penelitian

### 4.7.1 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

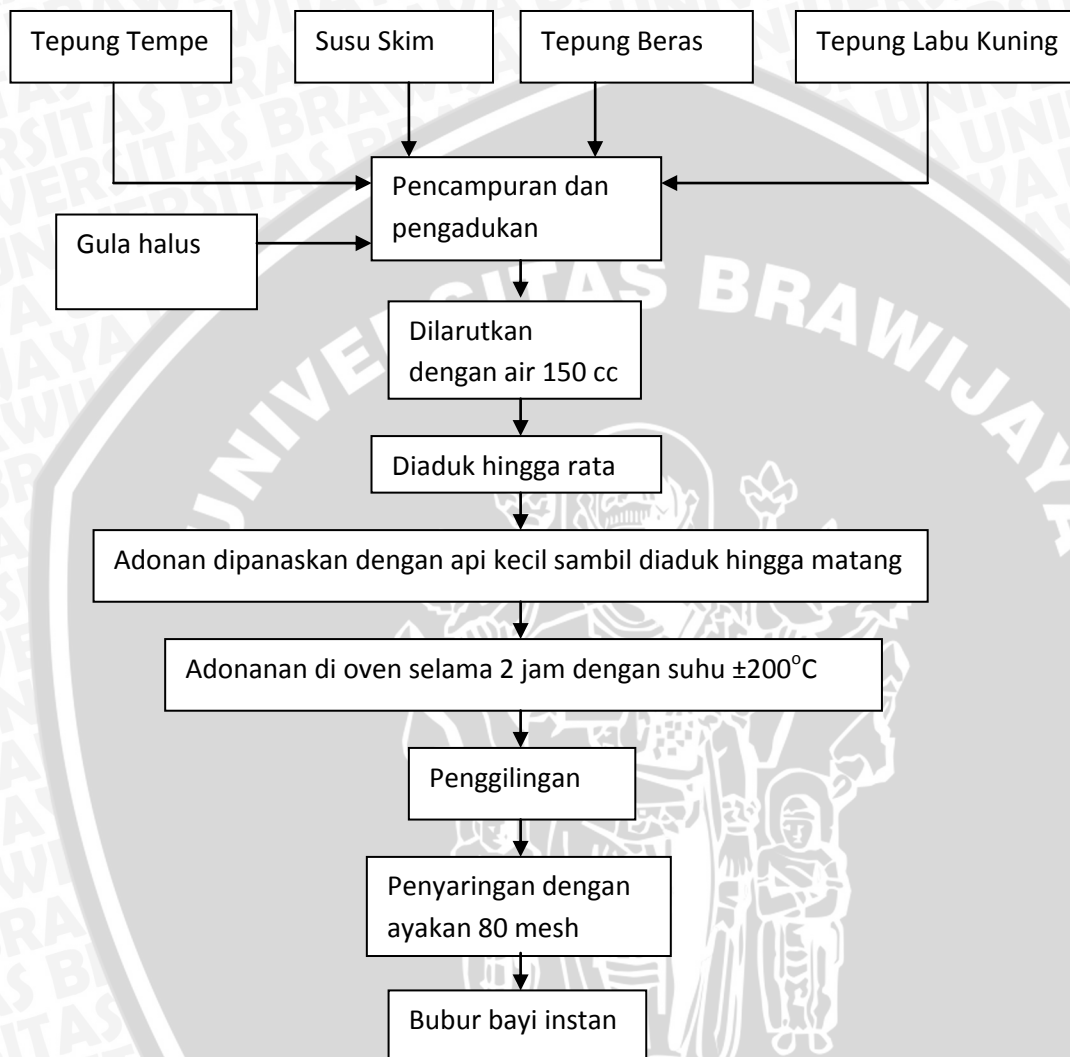
#### 4.7.2 Prosedur Pembuatan Tempe Kedelai (Materia Medica Batu)



Gambar 4.2 Diagram Alir Proses Pembuatan Tepung Tempe



#### 4.7.3 Prosedur pembuatan bubur bayi instan yang disubstitusi tepung tempe dan tepung labu kuning



Gambar 4.3 Alur Proses Pembuatan Bubur Bayi

#### 4.7.4 Prosedur Analisis Zat Gizi

##### 1. Analisis Protein (Maligan, 2014)

Tahapan dalam analisis protein metode mikro Kjeldahl adalah sebagai berikut:

##### a. Tahap destruksi

Tahap destruksi diawali dengan penimbangan  $\pm 2$  g sampel bubur bayi menggunakan kertas saring dan ditambahkan 20 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dan tablet

destruksi. Kemudian didestruksi sampai larutan berwarna hijau / jernih yang berarti tidak ada unsur Carbon.

b. Tahap destilasi

Hasil destruksi ditambah dengan aquades ( $H_2O$ ) 100 ml dan indikator PP 0,1% sebanyak 2 tetes. Kemudian ditambahkan NaOH 60% sampai kondisi larutan basa (ditandai dengan warna kehijauan). Selanjutnya, menyiapkan tabung Erlenmeyer 250 ml yang telah diisi asam borax 5 % sebanyak 5 ml dan dilakukan destilasi sampai tercapai hasil dekstroat sekitar 150 ml.

c. Tahap titrasi

Titrasi dilakukan pada hasil destilasi dengan menggunakan HCl 0,02 N sampai berwarna kebiruan.

d. Membuat Blanko dan standarisasi NaOH

$$\% \text{ Protein} = \frac{(\text{Blanko} - \text{sampel}) \times N \text{ NaOH} \times 14.008 \times 100\%}{\text{Berat sampel} \times 1000}$$

2. Analisis Total Karotenoid (Carvalho *et al*, 2012)

Tahapan dalam analisis total karotenoid menggunakan metode spektrofotometri adalah sebagai berikut:

a. Bahan sampel digerus dengan mortar kemudian diukur beratnya sebanyak 15 g.

b. Sampel kemudian diekstraksi dengan 25 mL aseton berturut-turut sampai berbentuk pasta, kemudian dipindahkan kedalam corong (5  $\mu\text{m}$ ) dan digabungkan ke dalam labu *Buchner* 250 mL dan disaring dengan vakum. Prosedur diulang tiga kali atau sampel menjadi tidak berwarna.

c. Ekstrak yang diperoleh dipindahkan ke dalam 500 mL corong pemisah yang berisi 40 mL petroleum eter. Aseton dihilangkan dengan air murni

untuk mencegah pembentukan emulsi. Prosedur ini diulang empat kali sampai tidak ada sisa pelarut.

- d. Kemudian, ekstrak dipindahkan melalui corong ke labu ukur 50 mL yang berisi 15 g *anhydrous sodium sulfate*. Sampel dibaca pada panjang gelombang 450 nm.
- e. Kandungan total karotenoid dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kandungan Karotenoid } (\mu\text{g/g}) = \frac{A \times V(\text{mL}) \times 10^4}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times P(\text{g})}$$

Dimana A = Absorbansi; V = Volume total ekstrak; P= Berat sampel;

$A_{1\text{cm}}^{1\%} = 2592$  ( $\beta$ -carotene Extinction Coefficient pada petroleum eter)

- f. Menghitung kandungan vitamin A

Setelah didapatkan hasil dari kandungan total karotenoid selanjutnya hasil tersebut dikonversikan menjadi beta karoten untuk mengetahui kandungan vitamin A. Total karotenoid terdiri dari 66,65%  $\beta$ -karoten, 0,47% 9-Z- $\beta$ -carotene, 1,2% 13-Z- $\beta$ -carotene, 16,75%  $\alpha$ -carotene (Carvalho *et al*, 2012; Smiderle *et al*, 2014). Sehingga untuk mengkonversikan total karotenoid menjadi beta karoten hasil kandungan total karotenoid dikalikan dengan 66,65%.

#### 4.7.5 Prosedur Mutu Organoleptik

Mutu organoleptik dilakukan dengan menggunakan metode *Hedonic Scale Test*. Indikator yang digunakan adalah warna, rasa, bau dan tekstur. Panelis yang digunakan untuk uji mutu organoleptik adalah 30 orang dari mahasiswa semester 8 TA 2013/2014 Jurusan Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang sudah mendapatkan topik pelajaran organoleptik.



Bahan: Sampel ( bubur bayi instan hasil substitusi tepung tempe dan tepung labu kuning)

Alat: Form kuisioner, alat tulis, sendok makan dan piring kecil.

Panelis: jumlah panelis agak terlatih 30 orang.

Alur Kegiatan Uji Mutu Organoleptik:

1. Panelis dalam hal ini mengetahui sifat-sifat sensorik dari contoh yang dinilai karena mendapat penjelasan sekedarnya.
2. Panelis diambil dari kelompok mahasiswa.
3. Panelis dikumpulkan dan diberikan penjelasan secukupnya.
4. Panelis dipilih berdasarkan kepekaan dan keandalan penilaian.
5. Panelis memberikan penilaian sesuai dengan ketentuan yang ada pada form yaitu 1= sangat tidak suka, 2= tidak suka, 3=agak tidak suka, 4= agak suka, 5= suka, 6= sangat suka.

#### 4.8 Analisis Data

##### - Analisis Zat Gizi

Analisis data untuk zat gizi yaitu protein dan vitamin A jika berdistribusi normal maka menggunakan *One Way Anova (Analysis of Varians)*, analisis menggunakan software SPSS 16.0

##### - Mutu Organoleptik

Pengolahan data pada tepung tempe dan tepung labu kuning sebagai bahan substitusi tepung beras pada bubur bayi instan untuk variabel terikat dengan skala ordinal yaitu mutu organoleptik dilakukan dengan uji statistik *Kruskal Wallis* menggunakan software SPSS 16.0.

#### 4.9 Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

Untuk taraf perlakuan terbaik dilakukan prosedur yang dimodifikasi dari deGarmo *et al*, 1984:

- a. Variabel mutu organoleptik diurutkan berdasarkan peranannya terhadap mutu produk dari yang tertinggi ke terendah.
- b. Setiap variabel dihitung nilai efektivitasnya (NE) menggunakan rumus:

$$NE = \frac{\text{nilai perlakuan} - \text{nilai terjelek}}{\text{Nilai Terbaik} - \text{nilai terjelek}}$$

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.

- c. Nilai hasil (NH) tiap variabel dihitung dengan cara mengalikan bobot normal masing-masing variabel dengan NE.

$$NH = \text{bobot normal} \times NE$$

- d. Bobot normal ditentukan oleh peneliti. Bobot masing-masing variabel yaitu kandungan protein 30%, total karotenoid 30%, rasa 10%, aroma 10%, warna 10% dan tekstur 10%.
- e. Menjumlahkan NH semua variabel untuk masing-masing perlakuan. Selanjutnya dipilih perlakuan terbaik (perlakuan dengan NH tertinggi).