

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian adalah *true experimental time series* dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan penelitian adalah mengganti susu dengan tepung biji kecipir dan tepung jagung pada formula enteral standar. Penelitian ini dilakukan pada komposisi formula enteral yang terbaik dalam 2 kemasan berbeda (plastik LDPE dan plastik PP). Observasi dilakukan pada hari ke-10 dan setiap 5 hari sesudahnya sampai hari ke-40 (Mustafidah, 2013).

4.2 Pengulangan (Replikasi)

Jumlah pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan rumus:

$$p(n-1) \geq 15 \quad (\text{Kusriningrum, 2008})$$

$$14(n-1) \geq 15$$

$$14n - 14 \geq 15$$

$$14n \geq 29$$

$$n \geq 2,07 \approx 2$$

Keterangan :

p : Jumlah perlakuan dalam penelitian

n : Jumlah pengulangan (sampel)

15: konstanta

Jumlah perlakuan (n) ulang yang digunakan adalah ≥ 2 . Pada penelitian ini digunakan sebanyak 3 kali pengulangan. Desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) secara lengkap disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Rancangan Percobaan

Perlakuan	Hari 10	Hari15	Hari20	Hari25	Hari30	Hari35	Hari40
P ₁	P ₁₁₁	P ₁₂₁	P ₁₃₁	P ₁₄₁	P ₁₅₁	P ₁₆₁	P ₁₇₁
	P ₁₁₂	P ₁₂₂	P ₁₃₂	P ₁₄₂	P ₁₅₂	P ₁₆₂	P ₁₇₂
	P ₁₁₃	P ₁₂₃	P ₁₃₃	P ₁₄₃	P ₁₅₃	P ₁₆₃	P ₁₇₃
P ₂	P ₂₁₁	P ₂₂₁	P ₂₃₁	P ₂₄₁	P ₂₅₁	P ₂₆₁	P ₂₇₁
	P ₂₁₂	P ₂₂₂	P ₂₃₂	P ₂₄₂	P ₂₅₂	P ₂₆₂	P ₂₇₂
	P ₂₁₃	P ₂₂₃	P ₂₃₃	P ₂₄₃	P ₂₅₃	P ₂₆₃	P ₂₇₃

Keterangan:

P₁: kemasan LDPE

P₂: kemasan PP

4.3 Variabel Penelitian

- Variabel independen : Komposisi (%) kombinasi tepung biji kecipir dan tepung jagung pengganti susu skim.
- Variabel dependen : Kadar air dan jumlah bakteri formula enteral kombinasi tepung biji kecipir dan tepung jagung.
- Variabel kendali : Suhu ruang (25-28°C) dicatat suhunya pagi dan sore, plastik LDPE dan PP, penyimpanan dilakukan di lemari kaca.

4.4. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari - Mei 2014 di :

- a. Laboratorium Penyelenggaraan Makanan Jurusan Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pembuatan formula enteral tepung biji kecipir dan tepung jagung.
- b. Laboratorium Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya untuk pembuatan tepung biji kecipir dan tepung jagung dan penepungan formula enteral.
- c. Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya untuk analisis kadar air.
- d. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk analisis jumlah bakteri.

4.5 Definisi Operasional

- a. Tepung biji kecipir adalah hasil dari pengeringan biji kecipir tua yang kemudian digiling untuk membuat bentuk partikel sebesar 60 mesh dan dinyatakan dengan satuan gram.
- b. Tepung jagung adalah tepung yang terbuat dari jagung varietas bisma yang sudah dipipil, dikeringkan, dan digiling dengan 80 mesh.
- c. Kadar air adalah banyaknya air yang terkandung dalam formula enteral tepung biji kecipir dan tepung jagung yang dinyatakan dalam %b/b.
- d. Jumlah bakteri dilakukan menggunakan metode angka lempeng total yang mana merupakan metode kuantitatif untuk mengetahui jumlah koloni bakteri aerob yang ada pada formula enteral tepung biji kecipir dan tepung jagung.

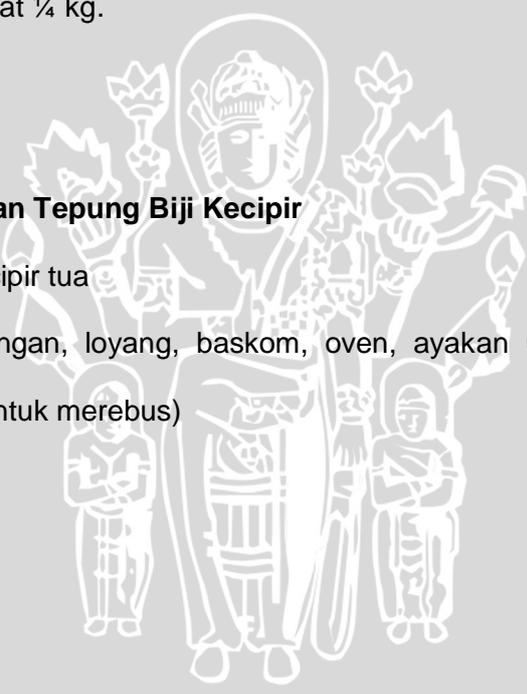
- e. Penyimpanan tepung formula enteral biji kecipir dan jagung disimpan selama 40 hari pada kemasan LDPE dan PP selama 40 hari pada suhu ruang $\pm 25-28^{\circ}\text{C}$.
- f. Formula enteral terbaik adalah formula dengan viskositas terbaik yaitu dengan komposisi 75% tepung kecipir dan 25% tepung jagung.
- g. Plastik LDPE adalah plastik merk sari berukuran 0,03x10x17 dengan berat $\frac{1}{4}$ kg.
- h. Plastik PP adalah plastik merk petromax berukuran 0,03x10x17 dengan berat $\frac{1}{4}$ kg.

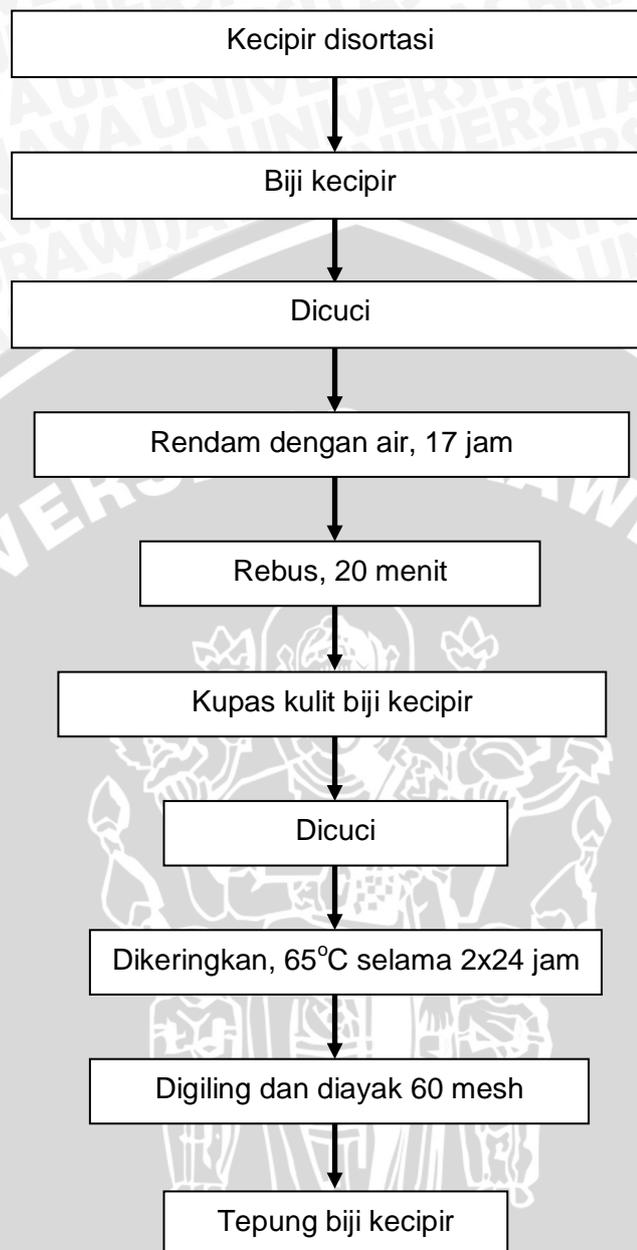
4.6. Alat dan Bahan

4.6.1 Tahap Pembuatan Tepung Biji Kecipir

Bahan : Biji kecipir tua

Alat : Timbangan, loyang, baskom, oven, ayakan ukuran 60 mesh, panci (untuk merebus)



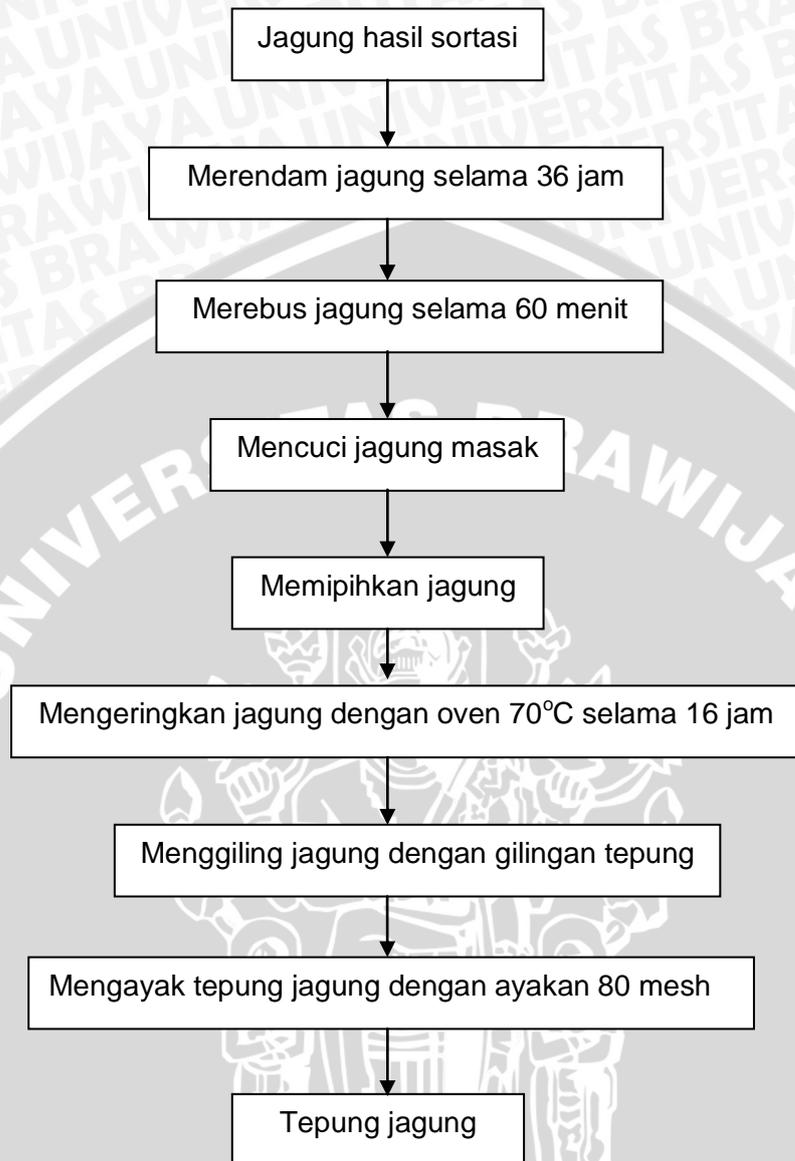


Gambar 4.2. Diagram Pembuatan Tepung Biji Kecipir (Setiadarma, 2001)

4.6.2 Tahap Pembuatan Tepung Jagung

Bahan : Jagung

Alat : Triple beam, kompor, panci, oven, saringan, baskom, loyang, blender, ayakan, tampah, sendok



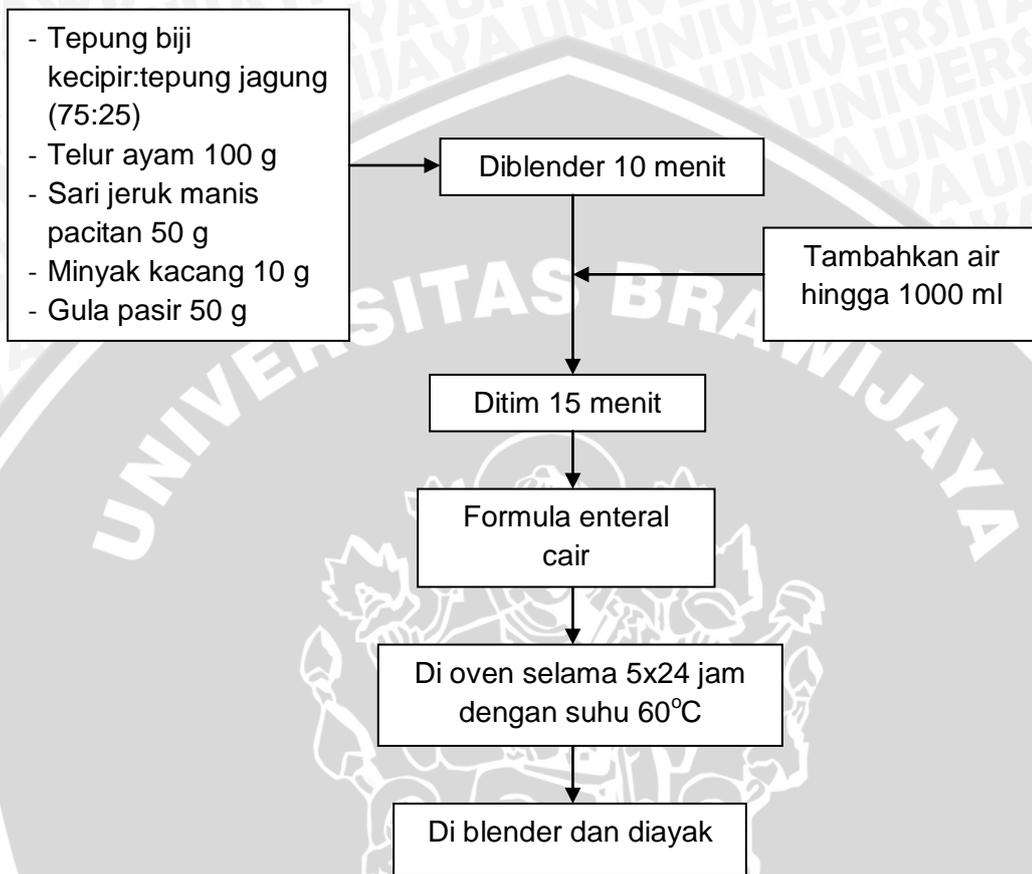
Gambar 4.3. Diagram Pembuatan Tepung Jagung (Nusantoro dkk, 2005 dalam Sofiani 2012)

4.6.3 Pembuatan Formula Enteral Biji Kecipir dan Jagung

Pembuatan formula enteral berdasarkan resep formula enteral standar Rumah Sakit Cipto Mangun Kusumo dimana bahan baku susu disubstitusi dengan tepung biji kecipir dan tepung jagung. Proses pembuatan formula enteral

dengan substitusi tepung biji kecipir dan tepung jagung disajikan pada Gambar

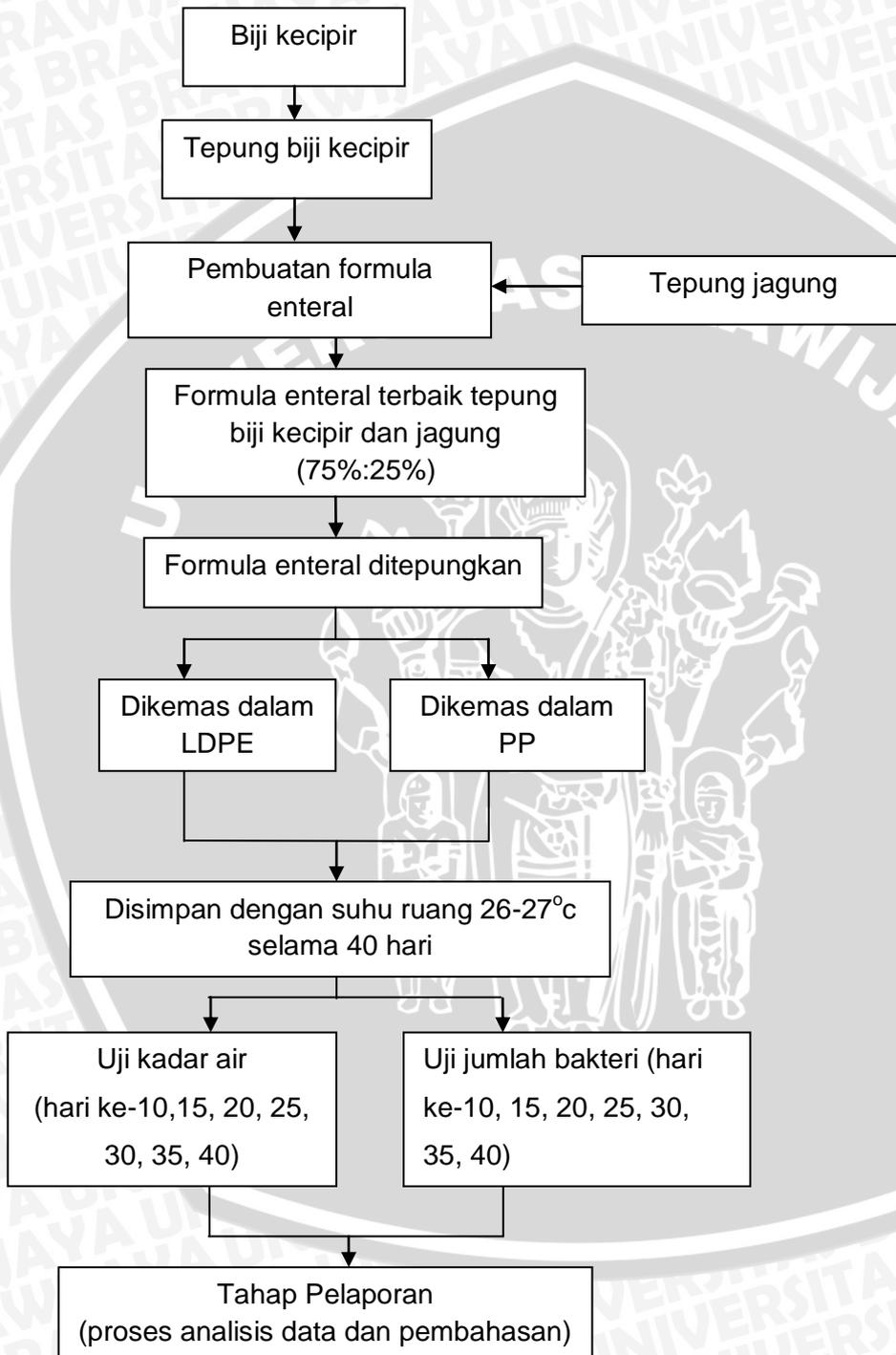
4.4.



Gambar 4.4. Proses Pembuatan Tepung Enteral Biji Kecipir dan Jagung

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Alur Penelitian



Gambar 4.5. Alur Penelitian

4.7.2 Prosedur Pengujian Kadar Air

Pengujian kadar air menggunakan metode pengeringan/oven (*thermogravimetri*) (Legowo, 2004). Prosedur dan perhitungan kadar air adalah sebagai berikut:

1. Sampel ditimbang 2 gr
2. Dioven pada suhu 105° C selama 3 jam
3. Ditimbang dan di oven kembali dan di timbang hingga konstan. Bobot dianggap konstan apabila selisih penimbangan tidak melebihi 0,2 mg.

Kadar air dihitung berdasarkan bobot basah atau *wet basis* (WB).

$$\text{Kadar air (\% WB)} = \frac{W_3}{W_1} \times 100$$

$$\text{Total bahan padat (\%)} = \frac{W_2}{W_1} \times 100$$

Keterangan: W1 = bobot sampel awal (g)

W2 = bobot sampel kering (g)

W3 = selisih bobot (g)

4.7.3 Prosedur Pengujian Jumlah Bakteri

4.7.3.1 Pembuatan media

1) *Buffered Peptone Water* (BPW)

Ditimbang sebanyak 4,5 gram, larutkan kedalam 225 ml akuades di dalam botol sebagai larutan pengencer pertama. Ditimbang sebanyak 0,8 gram, larutkan ke dalam 40 ml akuades. Kemudian tuang masing-masing 9 ml kedalam 4 tabung bertutup sebagai larutan pengencer kedua hingga kelima.

2) Angka Lempeng Total (ALT) Bakteri

Ditimbang sebanyak 3,5 gram, dilarutkan ke dalam 200 ml akuades.

Panaskan hingga larut sempurna. Semua media disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

4.7.3.2 Persiapan sampel

Setelah media siap, selanjutnya di persiapkan sampel yang akan di uji, yaitu sebagai berikut:

- 1) Dilakukan persiapan dan homogenisasi sampel. Ditimbang sejumlah 25 gram sampel ke dalam botol steril yang telah berisi 225 ml larutan pengencer (1:10). Buat pengenceran selanjutnya dari 10^{-1} hingga di peroleh pengenceran 10^{-5} .
- 2) Dipipet 1 ml dari masing-masing pengenceran ke dalam cawan petri steril secara duplo.
- 3) Ke dalam cawan petri dituangkan sebanyak 15ml media *Nutrent Agar* (NA) yang telah dicairkan yang bersuhu $45^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ dalam waktu 15 menit dari pengenceran pertama.
- 4) Dihomogenkan dengan alat *platform shaker* selama beberapa menit.
- 5) Dibiarkan hingga campuran dalam cawan petri membeku.
- 6) Dimasukkan semua cawan petri dengan posisi terbalik ke dalam inkubator dan diinkubasikan pada suhu $\pm 37^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam.
- 7) Dicatat pertumbuhan koloni pada setiap cawan yang mengandung 25-250 koloni setelah 24 jam.

- 8) Angka lempeng total dihitung dalam 1 gram sampel dengan mengalikan jumlah rerata koloni pada cawan dengan faktor pengenceran yang digunakan.

4.7.3.3 Penghitungan jumlah bakteri

- 1) Pilih cawan petri (duplo) dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 25-300 setiap cawan. Hitung semua koloni dalam cawan petri dengan menggunakan alat penghitung koloni (*colony counter*). Hitung rata-rata jumlah koloni dan dikalikan dengan faktor pengenceran. Hasilnya dinyatakan sebagai jumlah bakteri per gram.
- 2) Jika salah satu dari dua cawan petri terdapat jumlah koloni lebih kecil dari 25 atau lebih besar dari 250, hitung rata-rata jumlah koloni, kalikan dengan faktor pengenceran dan hasilnya dinyatakan sebagai jumlah bakteri per gram.
- 3) Jika hasil dari dua pengenceran jumlahnya berturut-turut antara 25-250 koloni, hitung jumlah koloni dari masing-masing pengenceran, dan hitung rata-rata jumlah koloni dari kedua pengenceran tersebut. Jika jumlah tertinggi lebih besar dari dua kali jumlah yang terkecil, nyatakan jumlah yang lebih kecil sebagai jumlah bakteri per gram.
- 4) Jika rerata jumlah koloni masing-masing cawan petri tidak terletak antara 25 dan 250 koloni, hitung jumlah koloni dan dinyatakan sebagai jumlah bakteri perkiraan per gram.
- 5) Jika jumlah koloni dari semua pengenceran lebih dari 250 koloni, maka setiap dua cawan petri dengan pengenceran tertinggi dibagi ke

dalam 2,4, atau 8 sektor. Jumlah koloni dihitung dalam satu bagian atau lebih. Untuk mendapatkan jumlah koloni dalam satu bagian atau lebih. Untuk mendapatkan jumlah koloni dalam satu cawan petri, hitung rata-rata jumlah koloni dan kalikan dengan faktor pembagi dan pengenceran. Hasilnya dinyatakan sebagai jumlah bakteri perkiraan per gram.

- 6) Jika dalam $1/8$ bagian cawan petri terdapat lebih dari 200 koloni, maka jumlah koloni yang didapat adalah $8 \times 200 = 1600$, di kalikan dengan faktor pengenceran dan hasilnya di nyatakan sebagai jumlah bakteri perkiraan per gram lebih besar dari jumlah yang didapat (lebih besar dari $1600 \times$ faktor pengenceran).
- 7) Jika tidak ada koloni yang tumbuh dalam cawan petri, di nyatakan jumlah bakteri perkiraan lebih kecil dari satu di kalikan dengan pengenceran yang terendah.

4.8 Pengolahan dan Analisis Data

Analisis data untuk kadar air dan jumlah bakteri akan didapatkan jenis data rasio. Apabila data tersebar normal dan homogen, maka untuk mengetahui pengaruh lama waktu penyimpanan terhadap kadar air dan jumlah bakteri pada masing-masing kemasan LDPE dan PP, digunakan uji korelasi Pearson. Sedangkan untuk mengetahui perbedaan antara kemasan LDPE dan PP digunakan uji *independent t-Test*. Analisis statistik dilakukan pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).