

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Pengujian pendahuluan dan penelitian utama merupakan dua komponen dari investigasi ini. Pengujian mutu kimia dilakukan pada tanggal 8 Oktober 2025 di laboratorium PT Saraswanti Indo Genetech di Bogor, sedangkan pengujian mutu fisik dilakukan pada tanggal 27 Agustus 2025 di Laboratorium Teknologi Pangan, Jurusan Gizi, Poltekkes Kemenkes Medan.

B. Jenis dan Rancangan Penelitian

1. Jenis Penelitian

Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan dua ulangan merupakan rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini.

2. Jumlah Unit Percobaan

a. Perlakuan

Perlakuan A : 25 gr tepung umbi bit + 60 gr tepung ikan lele

Perlakuan B : 30 gr tepung umbi bit + 65 gr tepung ikan lele

Perlakuan C : 35 gr tepung umbi bit + 70 gr tepung ikan lele

b. Pengulangan

Jumlah unit percobaan (n) dalam penelitian dihitung dengan rumus $\sum$ unit percobaan:

$$\begin{aligned} n &= r \times t \\ &= 3 \times 2 \\ &= 6 \text{ unit percobaan} \end{aligned}$$

Keterangan :

$$\begin{aligned} n &= \text{jumlah unit percobaan} \\ r &= \text{jumlah pengulangan (replikasi)} \\ t &= \text{jumlah perlakuan (treatment)} \end{aligned}$$

3. Penentuan Bilangan Acak

Pengacakan dilakukan menggunakan Microsoft Excel dengan mengetikkan "=RAND()" pada sel A1. Isi sel tersebut kemudian disalin ke enam sel lainnya untuk menghasilkan enam bilangan bulat acak. Selanjutnya, angka-angka tersebut diurutkan dari yang terkecil hingga terbesar, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 6 di bawah ini.

Tabel 6. Penentuan Bilangan Acak

No	Bilangan Acak	Rangking	Unit Percobaan
1	0.226	3	B1
2	0.168	2	A2
3	0.338	4	B2
4	0.381	5	C1
5	0.053	1	A1
6	0.573	6	C2

Peringkat dari angka-angka acak yang telah dijelaskan sebelumnya dianggap sebagai nomor urut percobaan; angka-angka tersebut kemudian disusun ke dalam tata letak eksperimen berikut setelah dikelompokkan berdasarkan jenis perlakuan ini dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Layout Percobaan

1 A1 (0,053)	2 A2 (0,168)
3 B1 (0,226)	4 B2 (0,338)
5 C1 (0,381)	6 C2 (0,573)

Keterangan:

A1,A2 = Perlakuan A 25 gr tepung umbi bit + 60 gr tepung ikan lele

B1,B2 = Perlakuan B 30 gr tepung umbi bit + 65 gr tepung ikan lele

C1,C2 = Perlakuan C 35 gr tepung umbi bit + 70 gr tepung ikan lele

C. Alat dan Bahan

1. Tepung Umbi Bit

a) Alat Pembuatan Tepung Umbi Bit

Tabel 8. Alat Pembuatan Tepung Umbi Bit

No	Alat	Jumlah	Satuan
1	Baskom	1	buah
2	Loyang	1	buah
3	Ayakan	1	buah
4	Timbangan	1	buah
5	<i>Cabinet dryer</i>	1	buah
6	Kompor gas	1	buah
7	Panci	1	buah
8	Pisau	1	buah
9	Talenan	1	Buah

b) Bahan Pembuatan Tepung Umbi Bit

Pada pembuatan cookies dengan penambahan tepung umbi bit dan tepung ikan lele diperlukan bahan utama yaitu umbi bit. Maka bahan pembuatan tepung umbi bit diperlukan sebanyak 500 gr. Dapat dilihat pada tabel 9 dibawah ini.

Tabel 9. Bahan Pembuatan Tepung Umbi Bit

No	Bahan	Jumlah	Satuan
1	Umbi Bit	500	gr

c) Cara Pembuatan Tepung Umbi Bit

Pada pembuatan tepung umbi bit diperlukan langkah-langkah yaitu sebagai berikut:

1. Umbi bit dibersihkan dari sisa-sisa tanah yang menempel dipermukaan kulit.
2. Bit dikupas dan dicuci sampai bersih.
3. Timbang umbi bit sesuai yang dibutuhkan dan diiris.
4. Susun ke dalam loyang dan masukkan ke dalam cabinet dryer dengan suhu 90°C dengan suhu ± 40 menit.
5. Setelah kering, haluskan dan diayak.
6. Tepungkan menggunakan ayakan rumah.
7. Lalu simpan tepung umbi bit didalam wadah yang tertutup.

1. Tepung Ikan Lele

a) Alat Pembuatan Tepung Ikan Lele

Tabel 10. Alat Pembuatan Tepung Ikan Lele

No	Alat	Jumlah	Satuan
1	Baskom	1	buah
2	Loyang	1	buah
3	Ayakan	1	buah
4	Timbangan	1	buah
5	<i>Cabinet dryer</i>	1	buah
6	Kompas gas	1	buah
7	Panci	1	buah
8	Pisau	1	buah

b) Bahan Pembuatan Tepung Ikan Lele

Tabel 11. Bahan Pembuatan Tepung Ikan Lele

No	Bahan	Jumlah	Satuan
1	Ikan lele	600	gr

c) Cara Pembuatan Tepung Ikan Lele

Pada pembuatan tepung ikan lele diperlukan langkah-langkah yaitu sebagai berikut:

1. Buang bagian ikan lele yang tidak digunakan seperti kepala, sirip, ekor, dan isi perut.

2. Filet ikan untuk memisahkan antara daging dan duri.
3. Cuci sampai bersih kemudian beri perasan jeruk nipis dan baluri garam
4. Timbang ikan lele yang dibutuhkan lalu suwir-suwir
5. Kemudian susun ke dalam Loyang dan masukkan ke dalam *cabinet dryer* dengan suhu 95°C selama 50 menit.
5. Setelah kering, kemudia dihaluskan dan diayak.
6. Tepungkan menggunakan ayakan rumah.
7. Simpan tepung ikan lele kedalam wadah yang tertutup.

3. Cookies Penambahan Tepung Umbi Bit dan Tepung Ikan Lele

a) Alat Pembuatan *Cookies* Penambahan Tepung Umbi Bit dan Tepung Ikan Lele

Alat-alat yang digunakan pada penambahan tepung umbi bit dan tepung ikan lele dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Alat Pembuatan *Cookies*

No.	Alat	Jumlah	Satuan
1	Timbangan Digital	1	Buah
2	Waskom	2	Buah
4	Ayakan Tepung	1	Buah
4	Pisau	1	Buah
5	Kompor Gas	1	Buah
6	<i>Cabinet dryer</i>	1	Buah
7	Mixer	1	Buah
8	Sendok dan Garpu	2	Buah
9	Serbet	2	Buah
10	Piring	3	Buah

b) Bahan Pembuatan *Cookies*

Bahan-bahan yang digunakan pada pembuatan *cookies* penambahan tepung umbi bit dan tepung ikan lele dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Bahan Pembuatan Cookies

No	Nama Bahan	akuan A	akuan B	akuan C	Total 1x pengulangan	Total 2x pengulangan
1.	Tepung umbi bit	25 gr	30 gr	35 gr	90 gr	180 gr
2	Tepung ikan lele	60 gr	65 gr	70 gr	195 gr	390 gr
3	Tepung terigu	100 gr	100 gr	100 gr	300 gr	600 gr
4	Telur ayam	55 gr	55 gr	55 gr	165 gr	330 gr
5	Gula pasir putih	40 gr	40 gr	40 gr	120 gr	240 gr
6	Margarin	50 gr	50 gr	50 gr	150 gr	300 gr
7	Baking soda	1 gr	1 gr	1 gr	3 gr	6 gr
8	Vanili	1 gr	1 gr	1 gr	3 gr	6 gr
Total		332 gr	342 gr	352 gr	1.026 gr	2.052 gr

c) Cara Pembuatan *Cookies* yang Sudah Dimodifikasi

1. Kocok margarin dan gula pasir hingga tercampur rata semuanya menggunakan *mixer*.
2. Tambahkan kuning telur, baking soda dan vanili lalu *mixer* kembali hingga adonan merata lagi.
3. Kemudian ayak tepung terigu, tepung umbi bit, dan tepung ikan lele. Masukkan semua tepung tersebut sedikit demi sedikit dan *mixer* kembali hingga tercampur rata adonannya.
4. Timbang terlebih dahulu adonan tersebut untuk menentukan berapa berat adonan basah dan adonan kering cookies per keping. Kemudian buat bulatan kecil dengan menggunakan 2 sendok.
5. Letakkan setiap adonan *cookies* diatas loyang yang sudah diolesi mentega dan dipanggang pada oven dengan suhu 120°C selama 25 menit.
6. Jika sudah matang cookies tersebut taruh ke dalam toples wadah dan siap untuk disajikan.

D. Jenis dan Cara Pengumpulan Data

1. Jenis data

Informasi yang dikumpulkan berfokus pada karakteristik fisik *cookies* yang diperkaya dengan bit dan tepung ikan lele, yang ditujukan sebagai camilan bergizi bagi remaja penderita anemia. Untuk menilai indikator warna, tekstur, aroma, dan rasa, tingkat preferensi panelis dicatat pada formulir instrumen (lihat lampiran) menggunakan skala hedonik (5 = sangat suka, 4 = suka sekali, 3 = suka, 2 = cukup tidak suka, dan 1 = tidak suka).

2. Cara Pengumpulan Data

a) Prosedur Pengumpulan Data Mutu Fisik dengan Uji Organoleptik

Sebanyak tiga puluh panelis semi-terlatih mengevaluasi warna, tekstur, rasa, dan aroma cookies yang diperkaya dengan tepung bit dan tepung ikan lele sebagai bagian dari uji organoleptik untuk pengumpulan data. Para panelis tersebut

merupakan mahasiswa semester enam program Diploma IV Gizi dari Poltekkes Medan (kampus Lubuk Pakam) yang memenuhi persyaratan berikut: bersedia berpartisipasi dalam uji organoleptik, telah lulus mata kuliah Teknologi Pangan, tidak sedang sakit atau lapar, serta bukan perokok.

Berikut adalah prosedur pengumpulan data dari panelis:

- 1) Panelis diberikan sarung tangan untuk dikenakan, dan peneliti menyiapkan perlengkapan yang diperlukan sebelum memulai uji organoleptik.
- 2) Sebelum menyantap cookies, panelis diberikan air putih untuk menetralkan indra pengecap.
- 3) Setiap piring putih kecil berisi 1 cookies dengan perlakuan masing-masing dan diberi label kode A,B,C,D,E
- 4) Dengan menggunakan skala hedonik berikut, panelis menilai sampel berdasarkan warna, tekstur, rasa, dan aroma:
 - a. Sangat amat suka: 5
 - b. Sangat suka: 4
 - c. Suka: 3
 - d. kurang suka: 2
 - e. Tidak suka: 1

b) Data mutu Kimia meliputi kadar air, abu, lemak, protein, energi dan zat besi

Di laboratorium PT Saraswanti Indo Genetech di Bogor, kandungan kadar air, abu, lemak, protein, zat besi, dan energi pada *cookies* tepung bit dan tepung ikan lele dianalisis secara kimiawi.

1. Kadar Air

Kadar air diperiksa menggunakan proses pengeringan. Berikut adalah prosedur untuk menganalisis kadar air:

- 1) Cawan terlebih dahulu dikeringkan dalam oven pada suhu 100–105°C selama 30 menit.
- 2) Setelah uap air dihilangkan dengan cara mendinginkannya di dalam desikator, cawan ditimbang.

- 3) Gram sampel dimasukkan ke dalam cawan kering.
- 4) Setelah dikeringkan dalam oven Cawan dipanaskan hingga suhu 100–105°C selama enam jam, kemudian didinginkan di dalam desikator selama tiga puluh menit sebelum ditimbang.
- 5) Tahap ini diulangi hingga dicapai bobot yang konstan.

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{\text{Berat Sampel Awal} - \text{Berat Sampai Akhir}}{\text{Berat Sampel (g)}} \times 100 \%$$

2. Kadar Abu

Metode gravimetri digunakan untuk menganalisis kadar abu:

- a. Cawan porselen kosong didinginkan di dalam desikator setelah dipanaskan pada suhu 550°C selama 15 menit di dalam tanur mufel.
- b. Cawan kemudian ditimbang, sampel seberat 3 gram dimasukkan, dan berat total sampel serta cawan dicatat.
- c. Sampel dibakar hingga tidak lagi menghasilkan asap
- d. Setelah itu, sampel dipanaskan pada suhu 550°C selama dua hingga tiga jam di dalam tanur.
- e. Sampel dikeluarkan dan didinginkan di dalam desikator.
- f. Terakhir, berat akhir cawan beserta isinya ditentukan.

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{\text{Berat Sampel Awal} - \text{Berat Sampai Akhir}}{\text{Berat Sampel (g)}} \times 100 \%$$

3. Kadar Lemak Metode Soxlet

- a) Preparasi sampel

Sebanyak 50 mL HCl 1:4 (satu bagian HCl berbanding empat bagian air suling) digunakan untuk menghidrolisis sampel seberat sekitar 7 g. Setelah disaring, sampel dikeringkan. Kertas saring dan residu kemudian dikeringkan di dalam oven.

- b) determinasi sampel

Proses refluks dilakukan selama lima jam setelah residu dan kertas saring dibungkus serta dimasukkan ke dalam labu besar hingga pelarut yang menetes kembali ke dalam labu tampak jernih. Pelarut di dalam labu kemudian dipisahkan dan diambil kembali. Lemak hasil ekstraksi dipanaskan dalam oven pada suhu 150°C hingga mencapai berat yang konstan, lalu didinginkan di dalam desikator selama 20 hingga 30 menit. Berat lemak kemudian ditentukan dengan menimbang labu yang berisi lemak tersebut.

Presentase kadar lemak dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{\text{ml HCl} \times \text{Normalitas} \times 12,007}{\text{mg Sampel}} \times 100 \%$$

4. Kadar Protein Metoda Semi Mikro Kjedadhl

Sampel sebanyak 1,5 gram dimasukkan kedalam labu kjedadhl 30 ml, kemudian ditambahkan H₂SO₄ 7 ml kedalam tabung kjedadhl. sampel dididihkan selama 1-1,5 jam sampai jernih kemudian di dinginkan. Isi labu dituangkan ke dalam alat destilasi, labu dibilas 5-6 kali dengan aquades 20 ml, air bilasan juga dimasukkan ke dalam alat destilasi. Sampel ditetesi indikator hingga ampel berwarna hijau dan ditambahkan larutan NaOH 4% sebanyak 20 ml. Cairan dalam ujung kondesor ditampung dalam Erlenmeyer 125 ml berisi larutan H₃BO₃ 3 % dan 3 tetes indikator (Cairan metil merah dan metil biru) yang ada di bawah kondensor. Destilasi dilakukan hingga diperoleh 70 ml destilat yang bercampur dengan H₃BO₃ (Berwarna Hijau) dan indikator dalam erlenmeyer. Desilat dengan HCl 0,1 N sampai perubahan warna menjadi ungu.

5. Kadar Karbohidrat (*By Difference*)

Penentuan kadar Karbohidrat dilakukan dengan menggunakan perhitungan *By Difference*.

Perhitungan ini bukan berdasarkan analisis tetapi berdasarkan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Kadar Karbohidrat} = 100\% - (\text{Abu} + \text{Protein} + \text{Air} + \text{Lemak})$$

6. Kadar Energi

Komponen kimia (kandungan lemak, protein, dan karbohidrat) dapat dikonversi menggunakan faktor konversi masing-masing untuk menentukan kandungan energinya. Faktor konversi untuk protein maupun karbohidrat adalah 4 kkal/g, sedangkan faktor konversi untuk lemak adalah 9 kkal/g.

Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$\text{Jumlah Energi/100 gr} = (4 \times A) + (4 \times B) + (9 \times C)$$

7. Kadar Zat Besi (Spektrofotometri Serapan Atom (SSA))

a) Persiapan sampel

Sampel yang akan dianalisis harus dipreparasi terlebih dahulu agar dapat diukur dengan SSA. Biasanya sampel dicerna atau didestruksi menggunakan asam kuat.

Pengaturan alat SSA: Alat SSA harus dikalibrasi dan diatur sesuai dengan spesifikasi pengukuran unsur besi, seperti panjang gelombang, lebar celah, suhu, dan lain-lain.

b) Pengukuran absorbansi

Sampel yang telah dipreparasi diaspirasi ke dalam nyala atau tabung alat SSA. Atom-atom besi dalam sampel akan menyerap energi radiasi pada panjang gelombang tertentu, biasanya 248,3 nm. Nilai absorbansi yang terukur berbanding lurus dengan konsentrasi besi dalam sampel.

Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Zat Besi/100 gr (C)} = (A - a) / b$$

Keterangan :

C = Konsentrasi besi dalam sampel (mg/L atau ppm)

A = Absorbansi sampel

a = Intersep kurva kalibrasi

b = Slope kurva kalibrasi

E. Cara Membawa Cookies Ke Laboratorium Saraswanti Indo Genetech (SIG) Bogor

- a. Pastikan cookies dikemas dengan rapi dan bersih kedalam toples bulat kecil yang tertutup rapat pada ukuran 200 ml dengan berat 100 gr kemudian bungkus lagi menggunakan *bubble wrap* atau *styrofoam* agar terhindar dari mikroba dan tidak rusak wadahnya.
- b. Lalu tulis biodata penerima dan pengirim mulai dari nama, nomor telepon, dan alamat.
- c. Pilih jasa mode pengiriman ekspres yaitu *Lion Parcel* untuk mendapatkan barang tersebut tiba selama 2 hari di Bogor.
- d. Setelah barang telah sampai di SIG, lakukan pengisian administrasi dan tulis data diri dan persiapan pembayaran. Kemudian pihak laboratorium akan melakukan pengujian yaitu uji proksimat dan zat besi *cookies* pada sampel *Cookies* C1 dan C2.
- e. Setelah proses administrasi berhasil, *cookies* akan dicek terlebih dahulu kemudian diuji di laboratorium. Saraswanti Indo Genetech Bogor.
- f. Kemudian tunggu hasil laboratorium proksimat yang akan keluar ± 15 hari melalui E-mail.

F. Prosedur Pengecekan Uji Proksimat ke Laboratorium Saraswanti Indo Genetech (SIG) Bogor

- a. Menerima dan mengarsipkan order pengujian dan contoh uji dari petugas penerima contoh.
- b. Menugaskan analis/teknisi sesuai kompetensi personal.
- c. Melakukan persiapan dan pengawetan contoh
- d. Melaksanakan pengujian/ analisa dan melaporkan hasil uji kepada panelis.
- e. Mengkoreksi hasil uji dan memindahkan hasil uji analis/teknisi ke konsep hasil uji (KHU) dan memparaf hasil Analisa serta menyampaikan KHU kepada koordinator.
- f. Mengkoreksi dan memparaf KHU untuk diserahkan kepada KaSi/Menejer teknis.
- g. Mengkoreksi, mengesahkan KHU dan menyerahkan ke petugas penetik sertifikat.

G. Pengolahan dan Analisis Data

Perangkat lunak SPSS versi 23.00 digunakan untuk mengolah data uji organoleptik yang telah dikumpulkan, dan analisis varians (ANOVA) dilakukan pada tingkat signifikansi $\alpha = 5\%$. Uji Duncan digunakan untuk menentukan apakah terdapat perbedaan antarperlakuan, mengingat nilai $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan signifikan dalam kualitas sensori di antara kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil uji kualitas fisik, variasi cookies Perlakuan C adalah perlakuan yang paling disukai oleh para panelis. Selanjutnya, sampel-sampel tersebut akan menjalani uji kualitas kimia di laboratorium PT Saraswanti Indo Genetech (SIG) cabang Bogor.