BAB III
METODE PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini terdiri dari dua bagian yaitu Uji Pendahuluan dan Penelitian Utama. Uji pendahuluan dilaksanakan pada bulan April 2025 di Laboratorium Teknologi Pangan Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Medan dan Uji Penelitian Utama akan dilaksanakan di Laboratorium PT. Saraswati Indo Genetecht di Kota Bogor untuk menentukan nilai gizi meliputi : kadar abu, kadar air, protein, lemak, karbohidrat dan zat besi.

B. Jenis dan Rancangan Penelitian

1. Jenis Perlakuan

Jenis penelitian yang dilakukan adalah Eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 (tiga) perlakuan dan 2 (dua) kali pengulangan yang dilakukan.

a. Perlakuan

Perlakuan A : tepung kacang merah 75 gr + tepung daun melinjo 75 gr.

Perlakuan B : tepung kacang merah 112,5 gr + tepung daun melinjo 37,5 gr.

Perlakuan C : tepung kacang merah 120 gr + tepung daun melinjo 30 gr.

b. Pengulangan

Jumlah pengulangan dan unit percobaan (n) ditentukan berdasarkan kriteria derajat bebas pada Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menerapkan rumus Federer berikut:

Σunit percobaan n = r × t = 2 × 3 = 6 unit percobaan

Keterangan :

n = jumlah unit percobaan

r = jumlah pengulangan (replikasi) sebanyak 2 kali

t = jumlah perlakuan (treatment)

2. Penetuan Bilangan Acak

Pengacakan dilakukan dengan menggunakan aplikasi Microsoft Excel dengan cara mengetik '=RAND()' pada sel A1, kemudian untuk memperoleh enak bilangan acak, maka dilakukan dengan mengcopy dan menempatkan isi sel lain sebanyak 6 sel. Tiap angka yang terendah 23 diurutkan berdasarkan nilai terendah hingga nilai tertinggi.

Tabel 8 Penentuan Bilangan Acak

No	Bilangan Acak	Ranking	Unit Percobaan
1	0,226	A1	1
2	0,227	A2	2
3	0,585	B1	6
4	0,723	B2	5
5	0,787	C1	3
6	0,917	C2	4

Urutan unit percobaan ditetapkan berdasarkan hasil pengurutan angka acak tersebut. Setelah itu, setiap unit percobaan dikelompokkan sesuai dengan jenis perlakuannya dan disusun ke dalam skema tata letak (layout) eksperimen berikut.

Tabel 9 Layout Percobaan

1	2	3
A1 (0,226)	B2 (0,723)	B1 (0,585)
4	5	6
A2 (0,227)	C1 (0,787)	C2 (0,917)

Keterangan :

A1, A2 : Tepung Kacang Merah 75 gr + Tepung Daun Melinjo 75 gr

B1, B2 : Tepung Kacang Merah 112,5 gr + Tepung Daun Melinjo 37,5 gr

C1, C2 : Tepung Kacang Merah 120 gr + Tepung Daun Melinjo 30 gr

C. Bahan dan Alat

1. Alat Pembuatan Tepung Kacang Merah

   a. Alat yang digunakan

Tabel 10 Alat Pembuatan Tepung Kacang Merah

No	Alat	Jumlah	Satuan
1	Cabinet dryer	1	Buah
2	Timbangan	1	Buah

3	Baskom	1	Buah
4	Loyang	1	Buah

b. Bahan pembuatan tepung kacang merah
   1) Kacang merah 3000 gr
   2) Air
c. Prosedur pembuatan tepung kacang merah
   1) Pertama kacang disortir terlebih dahulu
   2) Lalu dicuci bersih
   3) Kemudian direndam selama 24 jam, dicuci dari air bekas rendaman
   4) Bila kacang sudah kering letakkan diatas Loyang
   5) Keringkan menggunakan cabinet dryer pada suhu 70℃ selama ± 18 jam
   6) Setelah dikeringkan dihancurkan dengan penggilingan 80 mesh

2. Alat Pembuatan Tepung Daun Melinjo
   a. Alat yang digunakan

Tabel 11 Alat Pembuatan Tepung Daun Melinjo

No	Alat	Jumlah	Satuan
1	Cabinet dryer	1	Buah
2	Timbangan	1	Buah
3	Baskom	1	Buah
4	Loyang	1	Buah
5	Gunting	1	Buah
6	Kantong plastic	1	Buah

b. Bahan pembuatan tepung daun melinjo
   1) Daun Melinjo 3000 gr
c. Prosedur pembuatan tepung daun melinjo
   1) Pertama daun melinjo disortir
   2) Setelah itu, di gunting pisahkan batang yang ditengah daun dengan daunnya, batangnya dibuang
   3) Lalu cuci bersih daun melinjo
   4) Kemudian dikeringkan dengan menggunakan cabinet dryer pada suhu 60℃ selama ± 4 jam

5) Setelah dikeringkan dihancurkan dengan penggilingan 80 mesh

3. Pengemasan Produk Cookies Tepung Kacang Merah dan Tepung Daun Melinjo
   a. Pilihlah kemasan yang berbentuk menarik dan praktis sehingga kemasan dapat menarik peminat.
   b. Kemasan yang dipilih dapat menyimpan ketahanan produk cookies kamel dalam waktu yang lama. Contoh : plastik berziplock.
   c. Terakhir tambahkan logo produk agar peminat lebih tertarik untuk mengkonsumsi produk cookies kamel.

D. Cookies Berbahan Tepung Kacang Merah dan Tepung Daun Melinjo

1. Alat Penelitian Pembuatan Cookies

Alat yang digunakan untuk pembuatan cookies tepung kacang merah dan tepung daun melinjo dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 12 Alat untuk Pembuatan Cookies

No	Alat	Jumlah	Satuan
1	Baskom	1	Buah
2	Timbangan	1	Buah
3	Sendok	1	Buah
4	Loyang	1	Buah
5	Oven	1	Buah
6	Mixer	1	Buah

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk pembuatan cookies tepung kacang merah dan tepung daun melinjo dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 13 Bahan Pembuatan Cookies Tepung Kacang Merah dan Tepung Daun Melinjo

No	Jenis Bahan	Satuan	Kebutuhan Dalam gram menurut perlakuan			Total kebutuhan menurut 1 x pengulangan	Total kebutuhan menurut 2 x pengulangan
			A	B	C		
1	Tepung Kacang Merah	Gr	50	75	80	205	410
2	Tepung Daun Melinjo	Gr	50	25	20	95	190
3	Tepung Terigu	Gr	100	100	100	300	600
4	Tepung Maizena	Gr	25	25	25	75	150
5	Margarin	Gr	175	175	175	525	1050
6	Gula Stevia	Ml	60	60	60	180	360
7	Telur	Butir	1	1	1	3	6
8	Susu Bubuk	Gr	20	20	20	60	120
9	Baking Powder	Gr	5	5	5	15	30

E. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan oleh 25 orang panelis agak terlatih yang diambil dari mahasiswa poltekkes medan jurusan gizi Lubuk Pakam dengan kriteria sudah lulus mata kuliah ITP (Ilmu Teknologi Pangan), tidak dalam keadaan sakit, tidak merokok, dan bersedia untuk ikut melakukan uji organoleptik. Persiapan sampel yang akan diuji kepada panelis adalah sebagai berikut :

a. Berikan air putih untuk menetralisir indra perasa sebelum mengkonsumsi cookies.
b. Cookies yang sudah siap diletakkan dalam piring dan masing-masing perlakuan diberi kode.

c. Panelis memberikan penilaian organoleptik meliputi warna, tekstur, rasa, dan aroma.

Penilaian dinyatakan dalam uji hedonic dengan skala Likert (1-5) dengan kriteria sebagai berikut :

a. Amat sangat suka : 5
b. Sangat suka : 4
c. Suka : 3
d. Kurang suka : 2
e. Tidak suka : 1

1. Prosedur Uji Organoleptik dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL)
   a. Persiapan
      1. Penyiapan Sampel

         Produk yang akan diuji adalah cookies tepung kacang merah dan tepung daun melinjo. Sampel cookies disiakan dengan lima formulasi, yaitu :

         - Tepung kacang merah 75 gr + tepung daun melinjo 75 gr.
         - Tepung kacang merah 112,5 gr + tepung daun melinjo 37,5 gr.
         - Tepung kacang merah 120 gr + tepung daun melinjo 30 gr.

         Setiap sampel diberi kode acak untuk menghindari bias. Sampel disiapkan dalam jumlah yang cukup untuk semua panelis.

      2. Penentuan panelis

         Panelis yang akan digunakan adalah 25 mahasiswa/i jurusan gizi Poltekkes Medan di Lubuk Pakam yang telah memenuhi kretaria.

      3. Pembuatan Formulir Evaluasi

         Formulir menggunakan skala hedonic 1-5 untuk atribut warna, aroma, tekstur, dan rasa (Lampiran 2).

   b. Pelaksanaan Uji Organoleptik
      1. Penyusunan Sampel dan Pengacakan

Sampel disajikan secara acak kepada panelis. Selanjutnya, setiap panelis menerima sampel dengan urutan yang berbeda, sehingga bisa urutan (order effect) dapat dihindari.

2. Prosedur Penilaian oleh Panelis

   Panelis secara bergantian, sejumlah lima orang setiap sesi, dipersilakan memasuki ruang uji organoleptik. Sampel yang telah disediakan dihidangkan. Sebelum setiap sampel dinilai, mulut panelis diminta untuk dibilas dengan air putih dengan tujuan untuk menetralisir indera perasa. Atribut seperti warna, tekstur, rasa, dan aroma kemudian dinilai oleh panelis pada formulir yang telah disediakan. Selama proses penilaian berlangsung, setiap panelis bekerja secara individu dan komunikasi dengan panelis lain tidak diperbolehkan. Setelah panelis menyelesaikan penilaian, sampel yang baru disiapkan, dan panelis berikutnya dipersilakan masuk.

3. Pengumpulan dan Pengolahan Data

   Nilai dari semua panelis akan direkapitulasi. Selanjutnya, hasil uji akan dianalisis menggunakan Analysis of Variance (ANOVA) untuk melihat perbedaan yang signifikan antara perlakuan. Apabila terdapat perbedaan yang signifikan, uji lanjut Duncan akan dilanjutkan untuk mengetahui jenis perlakuan mana yang paling berbeda. Data akan diolah menggunakan komputer dengan program SPSS versi 22.00. Hasil uji Duncan yang paling disukai akan dilanjutkan ke uji mutu kimia.

F. Data Uji Mutu Kimia

Uji mutu kimia dilakukan di Laboratorium PT. Saraswati Indo Genetech (SIG) berlokasi di Bogor adalah produk Cookies yang paling disukai, Produk Cookies tersebut dalam keadaan kategori makanan jadi yang sudah dipanggang berdasarkan prosedur, dipastikan sudah siap untuk diuji mutu kimia meliputi kadar air, kadar abu, protein, lemak, karbohidrat,zat besi.

Analisis uji mutu kimia produk Cookies tepung kacang merah *(Phaseolus Vulgaris L)* dan tepung daun melinjo *(Gnetum Gnemon)* yaitu meliputi Kadar air, kadar abu, protein, lemak, karbohidrat, dan zat besi.

1. Kadar air

Analisis kadar air dilakukan dengan menggunakan metode pengeringan prosedur analisis kadar air sebagai berikut :

a. Mengoven terlebih dahulu cawan yang digunakan selama 30 menit pada suhu 100-105 °C.
b. Kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang.
c. Sampel ditimbang sebanyak 2 gram dalam cawan yang sudah dikeringkan.
d. Kemudian dioven pada suhu 100-105°C selama 6 jam lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang.
e. Tahap ini diulangi hingga dicap bobot yang konstan.

Presentase kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\boldsymbol{Kadar\ Air} = \frac{\boldsymbol{Berat\ Sampel\ Awal - Berat\ Sampel\ Akhir}}{\boldsymbol{Berat\ Sampel}} \mathbf{100\%}$$

2. Kadar abu

Analisis kadar abu dilakukan menggunakan metode gravimetri. Prosedur sebagai berikut :

a. Cawan porselin kosong dipanaskan dalam tanur dengan suhu 550°C selama 25 menit setelah itu didinginkan dengan desikator.
b. Selanjutnya, cawan ditimbang lalu masukkan sampel sebanyak 3 gram dan ditimbang beserta cawannya.
c. Sampel diarangkan sampai tidak berasap.
d. Kemudian dimasukkan ke dalam tanur yang suhunya 550°C selama 2-3jam.
e. Sampel dikeluarkan lalu didinginkan dalam desikator.
f. Terakhir, berak akhir cawan dan isinya ditimbang.

Presentase kadar abu dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\textbf{\textit{Kadar Abu}}\ (\%) = \frac{\textbf{\textit{Berat Sampel Awal} - \textit{Berat Sampel Akhir}}}{\textbf{\textit{Berat Sampel}}}\ \textbf{\textit{x}}\ \mathbf{100}\%$$

3. Protein

Analisis kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode Semi Mikro Kjedahl. Prosedur sebagai berikut :

a. Sampel sebanyak 1,5 gram dimasukkan kedalam labu kjehdahl 30ml.
b. Kemudian ditambahkan H^2SO^4 7ml kedalam tabung kjedahl.
c. Sampel didihkan selama 1-1,5 jam sampai jernih kemudian didinginkan.
d. Isi labu dituangkan ke dalam alat destilasi, labu dibilas 5-6 kali dengan aquades 20 ml, air bilasan juga dimasukkan ke dalam alat destilasi.
e. Sampel ditetesi indikator hingga sampel berwarna hijau dan di tambahkan larutan NaOH 4% sebanyak 20 ml.
f. Cairan dalam ujung kondesor ditampung dalam erlenmeyer 125 ml berisi larutan H^3BO^3 3% dan 3 tetes indikator (cairan metil merah dan metil biru) yang ada di bawah kondesor.
g. Destilasi dilakukan hingga diperoleh 70 ml destilat yang bercampur dengan H^3BO^3 (Berwarna Hijau) dan indikator dalam erlenmeyer.
h. Destilat dengan HCl 0,1 N sampai perubahan warna menjadi ungu.

Presentase kadar protein dihitung dengan rumus berikut :

$$\textbf{Kadar Protein}\ (\%) = \%\ \mathbf{N\ x\ F}$$

4. Lemak Metode Soxlet

a. Preparasi Sampel

Sampel sebanyak ± 7 gr dihidrolisis dengan menggunakan HCl 1:4 (1 bagian HCl, 4 bagian aquades) sebanyak 50 ml. sampel lalu disaring dan dikeringkan. Residu bersama kertas sering kemudian dioven.

b. Determinasi Sampel

Residu bersama kertas saring dibungkus dalam kertas saring, kemudian dimasukkan kedalam labu lemak, selanjutnya dilakukan refluks selama 5 jam sampai pelarut yang turun kembali ke dalam labu lemak berwarna jernih. Pelarut dalam labu didestilasi dan ditampung kembali. Kemudian, lemak hasil

ekstrasi dipanaskan dalam oven dengan suhu 150°C hingga mencapai berat tetap, kemudian didinginkan dalam desikator 20-30 menit. Selanjutnya, labu beserta lemak didalamnya di timbang dan berat lemak dapat diketahui. Presentase kadar lemak dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\boldsymbol{Kadar\ Lemak}(\%) = \frac{\boldsymbol{ml\ HCL\ x\ Normalitas\ x\ 12,0007}}{\boldsymbol{Berat\ Sampel\ (mg)}} \boldsymbol{x100}\%$$

5. Karbohidrat

Analisis kadar karbohidrat dilakukan menggunakan metode fenolsulfur. Prosedur analisis kadar karbohidrat sebagai berikut :

a) Ambil sampel dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer ditambahkan 25 ml hcl 3%.
b) Didihkan selama 1,5 jam dengan pendingin tegak dan dimasukkan ke dalam labu ukur 250 ml.
c) Bahan dinetralkan dengan NaOH 3,25% (indikator pp) dihimpitkan hingga 250 ml.
d) Disaring lalu diambil fitratnya dipipet sebanyak 10 ml (fitrat) ke dalam erlenmeyer asah.
e) Kemudian ditambahkan 25 ml luff dan 15 ml H2O.
f) Didihkan selama 10 menit dengan pendingin tegak lalu didinginkan
g) Ditambahkan ki 30% sebanyak 10 ml 25 ml H2SO4 25% h. dititrasi dengan tio 0,1 n terstandarisasi dengan indikator kanji, dibandinkan terhadap blanko.

Presentase kadar karbohidrat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

2 Cu2+ + 2 OH → 2 Cu2O + H2O

6. Zat Besi

Penentuan kadar zat besi (Fe) pada sampel dilakukan dengan metode Inductively Coupled Plasma (ICP). Tahapan dimulai dengan penimbangan 0,5 gram sampel tepung menggunakan neraca analitik, yang kemudian dimasukkan ke dalam tabung nesler ukuran 50 ml IWAKI. Selanjutnya, 10 ml HNO3 (asam nitrat) pekat ditambahkan menggunakan pipet skala di lemari asam. Campuran yang dihasilkan dipanaskan dalam penangas air pada suhu 32°C selama 6 jam, lalu didinginkan. Volume kemudian dicukupkan hingga 50 ml dengan air suling dan dihomogenkan melalui proses pembolak-balikan. Larutan disaring

menggunakan kertas saring Whatman 40 ke dalam botol plastik, dan dibiarkan pada suhu ruang selama 1x24 jam. Larutan blanko dibuat menggunakan HNO3 (asam nitrat), sementara larutan standar dibuat dengan HNO3 (asam nitrat) dengan konsentrasi 100 ppb, 200 ppb, 300 ppb, 400 ppb, 500 ppb, dan 600 ppb. Absorbansi masing-masing larutan standar Fe, larutan sampel tepung, dan blanko diukur menggunakan alat Inductively Coupled Plasma (ICP) pada panjang gelombang 213,87 nm. Kurva kalibrasi dibuat dengan sumbu Y sebagai absorbansi dan sumbu X sebagai konsentrasi (dalam µg/ml). Terakhir, hasil pembacaan sampel akan diplot pada kurva kalibrasi, dan kandungan Fe dalam sampel dihitung menggunakan rumus:

$$\boldsymbol{Kadar\ Zat\ Besi} = \frac{\boldsymbol{F - B\ x\ 50\ ml}}{\boldsymbol{w}}$$

G. Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil organoleptik yang dikumpulkan akan diolah secara komputerisasi dengan program SPSS versi 22.00 melalui uji ANOVA pada α 5%. Apabila P dihitung ≥ α 5 %, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan mutu fisik yang signifikan di antara ketiga jenis perlakuan.

Analisis akan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengidentifikasi perlakuan mana yang paling disukai. Selanjutnya, hasil akhir dari analisis perlakuan yang paling disukai akan dilanjutkan dengan analisis kimia. Analisis data uji kimia akan dilakukan dengan analisis statistik deskriptif, yaitu melihat persentase kandungan zat gizi yang kemudian dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) cookies (SNI 01-2973-1992).