

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pangan Jurusan Gizi Lubuk Pakam dan di Laboratorium Balai Riset Industri Kemenperin (Baristand) Kota Medan.

1. Untuk uji mutu fisik mencakup warna, tekstur, rasa, aroma dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan Jurusan Gizi Lubuk Pakam.
2. Untuk uji kimia mencakup: kadar protein, kadar serat kasar, kadar zat besi dan uji mikrobiologi meliputi pengujian jumlah mikroba klepon dilakukan di Laboratorium Balai Riset Industri Kemenperin (Baristand) Kota Medan.

2. Waktu

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Mei 2022 sampai dengan Juni 2023 dan pengumpulan data dilaksanakan pada bulan Februari 2023.

B. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis uji coba ini adalah uji coba eksperimental dan rancangan percobaan yang digunakan dalam uji coba ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 2 kali repetisi..

1. Perlakuan

Tabel 14. Komposisi Pembuatan Klepon dengan Penambahan Tepung Kacang hijau dan Ekstrak Daun Katuk

Bahan	A (70: 30: 100)	B (80: 20: 100)	C (90: 10: 100)
Tepung ketan putih	175 gr	200 gr	225 gr
Tepung kacang hijau	75 gr	50 gr	25 gr
Ekstrak daun katuk	30 ml	30 ml	30 ml

Dalam percobaan yang dilakukan, Produk A menggunakan formulasi dengan persentase tepung kacang hijau 30%, produk B dengan persentase tepung kacang hijau 20%, dan produk C dengan persentase tepung kacang hijau 10%. Ekstrak daun katuk yang digunakan pada setiap perlakuan sama yaitu menggunakan 30 ml ekstrak daun katuk. Tiap perlakuan dilakukan repetisi sebanyak 2 kali.

2. Rancangan Percobaan

Tabel 15. Rancangan Percobaan

Produk	Repetisi	
	I	II
A (30 % Tepung kacang hijau + 100% ekstrak daun katuk	A1	A2
B (20% Tepung kacang hijau + 100% ekstrak daun katuk)	B1	B2
C (10% Tepung kacang hijau + 100% ekstrak daun katuk	C1	C2

C. Layout dan Tata Letak

Untuk menentukan angka acak pada kalkulator seraya menekan tombol “2ndf” “RND” berjumlah 6 kali hingga memperoleh hasil : 0,671, 0,646, 0,223, 0,440, 0,692, 0,201, 0,811. Hasil bilangan acak yang tertera di rangking dari nilai terendah hingga nilai tertinggi. Hasilnya disajikan pada tabel 14 dan tabel 15.

Tabel 16. Bilangan Acak Penelitian

No	Bilangan Acak	Ranking	Unit Percobaan
1	0,692	5	B2
2	0,646	4	A1
3	0,223	2	A2
4	0,440	3	B1
5	0,811	6	C2
6	0,201	1	C1

Tabel 17. Layout percobaan penelitian

1	2	3
C1 (0,201)	A2 (0,223)	B1 (0,440)
4	5	6
A1 (0,646)	B2 (0,692)	C2 (0,811)

A1, A2 = Perlakuan A, repetisi ke-1, ke-2 yaitu tepung kacang hijau 75 gr, tepung ketan 175 gr, ekstrak daun katuk 30 ml.

B1, B2 = Perlakuan B, repetisi ke-1, ke-2 yaitu tepung kacang hijau 50 gr, Tepung ketan 200 gr, ekstrak daun katuk 30 ml.

C1, C2 = Perlakuan C, repetisi ke-1, ke-2 yaitu tepung kacang hijau 25 gr, Tepung ketan 225 gr, ekstrak daun katuk 30 ml.

D. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan-bahan yang dipakai yakni tepung ketan putih sebagai bahan utama, tepung kacang hijau dan ekstrak daun katuk sebagai tepung dan pewarna eksperimen, serta gula merah dan kelapa parut sebagai bahan pendukung dari penelitian.

Tabel 18. Bahan Pembuatan Klepon Tepung Kacang Hijau Ekstrak Daun Katuk

No	Bahan	Brand	Harga	Tempat	Komposisi
1	Tepung ketan putih	Rosebrand	Rp. 22.000/kg	Pasar Lubuk Pakam	Tepung ketan 100%
2	Tepung kacang hijau	-	Rp. 32.500/kg	Kacang hijau diperoleh di Pasar Lubuk Pakam	Biji kacang hijau yang dikupas kulitnya butiran masih utuh, tidak bau apek, dan masih segar.
3	Daun katuk	-	Rp. 0	Pekarangan kos	Daun katuk yang masih muda
4	Kelapa parut	-	Rp. 8.000/bh	Pasar Lubuk Pakam	Kelapa yang masih muda diparut kasar
5	Gula merah	-	Rp. 24.000/kg	Oke Swalayan	Nira dan gula pasir
6	Garam	Dolpin	Rp. 6000/bks	Minimarket	Garam dan kalium iodat

Tabel 19. Jumlah Bahan Pembuatan Kue Klepon Tepung Kacang Hijau Ekstrak Daun Katuk

No	Bahan	Perlakuan			Total	Total dengan perlakuan repetisi
		B	C	D		
1	Tepung ketan putih	175 gr	200 gr	225 gr	600 gr	1200 gr
2	Tepung kacang hijau	75 gr	50 gr	25 gr	150 gr	300 gr
3	Ekstrak daun katuk	30 ml	30 ml	30 ml	90 ml	180 ml
4	Garam	3 gr	3 gr	3 gr	9 gr	18 gr
5	Gula merah	70 gr	70 gr	70 gr	210 gr	420 gr
6	Air	140 ml	140 ml	140 ml	420 ml	840 ml
7	Kelapa parut	100 gr	100 gr	100 gr	300 gr	600 gr

2. Alat

Tabel 20. Alat Pembuatan Kue Klepon Tepung Kacang Hijau Ekstrak Daun Katuk

No	Pembuatan		
	Tepung kacang hijau	Ekstrak daun katuk	Kue klepon
1.	Cabinet	Baskom	Baskom
2.	Disk mill	Blender	Timbangan
3.	Mesh	Saringan	Sendok
4.	Timbangan	Gelas besar	Saringan
5.	Kemasan plastik	Sendok	Kompor
6.		Timbangan	Panci
7.			Gelas ukur

E. Prosedur Penelitian

1. Prosedur Pembuatan Tepung Kacang Hijau (Modifikasi)

- a. Proses sortasi dan pencucian. Sortir dan cuci kacang hijau untuk menghilangkan kotoran dan serpihannya.
- b. Proses perendaman. Kacang hijau direndam seberat 1 kg dalam air 3000 ml dilanjutkan dengan penirisan.
- c. Proses pengeringan. Kacang hijau diringkai dengan cabinet di suhu 60⁰C selama 12 jam.
- d. Proses penggilingan. Giling kacang hijau menggunakan alat penepung *disk mill*.
- e. Proses pengayakan. Melakukan pengayakan dengan memakai pengayak 80 mesh.
- f. Penimbangan. Dari 1 kg kacang hijau diperoleh 900 gr tepung kacang hijau
- g. Pengemasan. Tepung bungkus di dalam plastik dan disimpan pada suhu kamar.

2. Prosedur Pembuatan Ekstrak Daun Katuk (Modifikasi)

- a. Penentuan bahan baku. Usahakan menggunakan daun katuk yang masih muda.
- b. Pisahkan daun katuk dengan tangkainya.
- c. Penimbangan. Daun katuk ditimbang seberat 100 gr
- d. Pencucian. Daun katuk dicuci bersih dengan air
- e. Proses penghalusan. Setelah dicuci dimasukan kedalam mesin penghalus atau blender, lalu dihaluskan.
- f. Proses penyaringan. Saring menggunakan saringan dengan memisahkan ampas untuk mendapatkan ekstrak daun katuk.

3. Prosedur Pembuatan Klepon Tepung Kacang Hijau Ekstrak Daun Katuk (Modifikasi)

- a. Menyediakan dan menimbang bahan dalam pembuatan klepon dengan proporsi tepung ketan putih: tepung kacang hijau dan ekstrak daun katuk melingkupi: perlakuan A 175 gr (70%) : 75 gr

(30%) & 30 ml, perlakuan B 200 gr (80%) : 50 gr (20%) & 30 ml, dan perlakuan C 225 (90%) gr: 25 gr (10%) & 30 ml.

- b. Campurkan tepung ketan putih dan tepung kacang hijau kedalam baskom.
- c. Tambahkan garam sebanyak 3 gr.
- d. Tambahkan ekstrak daun katuk sebanyak 30 ml.
- e. Uleni adonan sampai kalis sambil tambahkan air sebanyak 125 ml sedikit demi sedikit.
- f. Timbang adonan seberat 17 gr, lalu bentuk bulat-bulat.
- g. Kemudian diberi lubang untuk diisi gula merah sebanyak 2 gr
- h. Adonan kue kemudian direbus. Masak dalam air mendidih selama 5 menit. Klepon dinyatakan matang akan mengapung di permukaan air rebusan.
- i. Setelah terapung angkat, tiriskan dan sajikan dengan parutan kelapa.
- j. Dari 1 resep diperoleh 24 buah klepon, dan berat 1 buah klepon 20 gr.

F. Panelis

Panelis adalah panel atau orang yang berpartisipasi dalam evaluasi sensorik untuk menilai kualitas produk dan menganalisis karakteristik sensoriknya.

Panelis yang digunakan merupakan panelis tidak terlatih. yakni 50 mahasiswa/i Jurusan Gizi. Sehari sebelum uji organoleptik, panelis sudah dihubungi untuk datang esok hari.

Syarat-syarat panelis yaitu sebagai berikut :

1. Telah mengikuti mata kuliah Teknologi Pangan terutama materi uji organoleptik
2. Tidak buta warna
3. Tidak dalam keadaan lapar
4. Tidak sakit.
5. Bersedia menjadi panelis

G. Jenis dan Cara Pengumpulan Data

1. Prosedur Penilaian Mutu Fisik

Penilaian kualitas fisik dilakukan berdasarkan pengujian sensorik organik. Langkah-langkah sebagai berikut:

a. Persiapan

- Peneliti membagikan formulir uji organoleptik kepada panelis.
- Menjelaskan kepada panelis mengenai cara penilaian uji mutu fisik kue klepon.
- Penilaian dinyatakan dalam skala hedonik menggunakan kriteria seperti dibawah ini:
1= tidak suka
2= kurang suka
3= suka
4= sangat suka
5= amat sangat suka

b. Pelaksanaan uji organoleptik

- Memanggil panelis ke ruang uji organoleptik.
- Peneliti memberikan kue klepon secara bergantian yaitu 6 sampel yang telah diletakkan diatas piring berwarna putih dan telah diberi kode.
- Panelis menuliskan penilaian kedalam formulir sesuai skala hedonik yaitu 1-5 terhadap warna, rasa, tekstur, dan aroma.
- Jika semua perlakuan telah diberi penilaian, panelis mengumpulkan formulir uji organoleptik.
- Peneliti memeriksa kelengkapan data hasil uji organoleptik dari semua panelis.

2. Prosedur Penilaian Mutu Kimia

a. Pengukuran Kadar Protein

Analisa protein dilakukan menggunakan metode semimikro kjedahl dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 1) Sampel ditimbang sejumlah 0,51 gr, lalu dimasukkan dalam labu kjedahl ukuran 100 ml.
- 2) Menambahkan campuran selen sebanyak 2 gr, juga H₂SO₄ pekat sebanyak 25 ml.
- 3) Larutan dipanaskan menggunakan pemanas listrik atau api pembakar hingga mendidih hingga warnanya berubah jadi hijau jernih (kurun waktu 2 jam).
- 4) Diamkan hingga dingin, lalu dicairkan dan tuangkan dalam labu ukuran 100 ml, sampai berada di tanda garis.
- 5) Larutan dipipet menggunakan pipet 5 ml lalu masukan kedalam penyuling, menambahkan NaOH 30% sebanyak 5 ml dan juga indikator PP beberapa tetes.
- 6) Dalam kurun waktu $\pm$ 10 menit disulingkan, larutan asam borat 2% 10 ml yang sudah tercampur indikator digunakan sebagai penampung.
- 7) Air suling digunakan sebagai pembilas ujung pendingin.
- 8) Titrasi menggunakan larutan HCL 0,01 N
- 9) Melakukan penetapan blanko

Perhitungan :

$$\text{Kadar Protein} = \frac{(V1 - V2) \times 0,014 \times f.k \times fp}{w}$$

Keterangan :

w = bobot cuplikan

V1 = volume HCl 0,01 N yang dipakai dalam penitrasi sampel

V2 = volume HCl 0,01 N yang digunakan blanko

N = Normalitas HCl

Fk = faktor konversi untuk protein dari makanan secara umum :
6,25

Fp = faktor pengenceran

b. Pengukuran Kadar Serat

Metode analisis serat dilakukan secara enzimatis gravimetri dengan prosedur sebagai berikut:

- 1) Menimbang secara cermat cuplikan sebesar 2 sampai 4 gr. Ekstrak melalui soxlet atau Vortex, buang lemaknya dan rendam tiga kali dalam pelarut organik. Sampel dikeringkan dan tempatkan pada erlenmeyer 500ml.
- 2) Masukkan 50 ml campuran H₂SO₄ 1,25% dan didihkan dalam 30 menit dalam pendingin air.
- 3) Masukkan 50 ml NaOH 3,25% dan didihkan lagi dalam 30 menit.
- 4) Pada saat panas, lakukan penyaringan secara termal melalui cerobong penyangga yang diisi kertas saring Whatman 54.41 atau 541 yang sudah kering dan sudah tahu beratnya.
- 5) Bersihkan endapan yang ada di dalam kertas saring beruntun dengan H₂SO₄ 1,25% panas, air panas dan etanol 96%.
- 6) Keluarkan kertas saring dan isinya, tempatkan dalam wadah penimbangan dengan berat yang diketahui, keringkan pada suhu 105°C, biarkan dingin, dan lakukan penimbangan sampai bobot tetap.
- 7) Jika kandungan serat kasar ditemukan lebih dari 1%, kertas saring diabukan dengan lainnya dan ditimbang sampai beratnya tetap.

Perhitungan :

- Serat Kasar < 1%

$$\% \text{ serat kasar} = \frac{W}{W_2} \times 100\%$$

- Serat kasar > 1%

$$\% \text{ serat kasar} = \frac{W - W_1}{W_2} \times 100\%$$

Keterangan:

W = Bobot cuplikan (g)

W₁ = Bobot abu (g)

W₂ = bobot endapan pada kertas saring (g)

c. Pengukuran Kadar Zat Besi

Penetapan kadar besi (Fe) menggunakan metode Spektrofotometri serapan atom (SSA) seperti langkah-langkah dibawah ini :

- 1) Sampel dengan berat 100 ml dimasukkan di *beaker glass* 250 ml, diletakkan di dalam lemari asam kemudian ditambah 20 ml $\text{HNO}_3(\text{p})$.
- 2) Lalu ditutup dengan kaca arloji namun berikan sedikit celah pada *beaker glass*, kemudian pemanasan dilakukan diatas *hot plate* dalam suhu 110°C sampai volumenya setengah dari volume asal.
- 3) Saat pemanasan, sampel tampak berubah dari warnanya putih menjadi kuning lalu hasil destruksi dibiarkan dingin.
- 4) Sehabis proses penguraian pertama, 20 ml larutan aqua regia ditambahkan dan dipanaskan lagi di atas hot plate sampai tidak ada endapan yang tersisa, lalu dibiarkan dingin, sehingga diperoleh sampel destruksi basah.
- 5) Hanya 10 ml larutan sampel dari hasil destruksi yang dipipet ke dalam labu takar 100 ml.
- 6) Lalu, menambahkan aqua demineralisata sampai garis tanda (Faktor pengenceran $100\text{ ml}/10\text{ ml} = 10\text{x}$).
- 7) Nilai absorbansi diukur dengan spektrofotometer serapan atom yang telah disesuaikan dan dikalibrasi yang mengukur nilai pada panjang gelombang (λ) 248,3 nm dalam nyala udara-asetilena. Menggunakan persamaan regresi dari kurva kalibrasi dalam menentukan konsentrasi besi dalam sampel.

Perhitungan:

$$\text{Kadar } (\mu\text{g/ml}) = \frac{c \times v \times \text{FP}}{W}$$

Keterangan:

C = Konsentrasi logam dalam larutan ($\mu\text{g/ml}$)

V = Volume larutan sampel (ml)

Fp = Faktor pengenceran

W = Volume sampel (mL)

3. Prosedur Penilaian Mutu Mikrobiologi

Pengujian mutu mikroba dilakukan selama 3 hari yakni 0 hari, 1 hari, dan 2 hari, pengujian dilakukan dengan cara menghitung total mikroba atau TPC (*Total Plate Count*) dengan Metode Tuang (*Pour Plate*) sebagai berikut:

1. Hancurkan sampel sampai halus
2. Timbang 1 ml sampel yang dianalisis dan pindahkan menggunakan pipet steril kedalam larutan 9 ml aquades untuk memperoleh pengenceran 10^{-2}
3. Lakukan kembali sesuai poin kedua pada pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4}
4. Timbang 1 ml suspensi (media kultur) terhadap tiap pengencer di inokulasi menggunakan cawan petri kosong.
5. Menuangkan media agar yang masih cair
6. Putar cawan petri membentuk angka delapan untuk mencampur media dan sampel.
7. Lakukan inkubasi 2 hari pada suhu 37°C
8. Lalu melakukan menjumlahkan koloni yang terdapat pada cawan petri

Perhitungan :

$$\text{Koloni per ml} = \text{jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Data yang sudah terhimpun dilakukan cleaning data.
2. Entri data.
3. Melakukan analisis data.
4. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan diantara perlakuan dilakukan Uji Anova satu arah.
5. Penentuan keputusan sesuai nilai p (probabilitas). Jika $p < 0,05$ memiliki makna ada perbedaan diantara ketiga perlakuan.
6. Jika kesimpulan ada perbedaan diantara perlakuan maka dilanjutkan menggunakan Uji Duncan.
7. Perlakuan yang paling disukai selanjutnya diuji mutu kimia dan mikrobiologinya. Uji mutu kimia meliputi kadar protein, kadar serat

kasar, dan kadar zat besi, dan uji mikrobiologi dengan menghitung total mikroba atau TPC (*Total Plate Count*) yang dilakukan di Laboratorium Balai Riset Industri Kemenperin (Baristand) Kota Medan.