

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2025 hingga Januari 2026 dilakukan di Laboratorium Ilmu Teknologi Pangan Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Medan Lubuk Pakam Untuk pengolahan tepung tulang ikan nila dan susu kedelai. Uji kimia dilakukan di laboratorium PT. Saraswati Indo Genetech (SIG), Bogor melalui jasa pengiriman dan Laboratorium Kimia Pangan Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Medan Lubuk Pakam. Uji kimia yang diperiksa meliputi (viscositas, kadar Ph, total padatan terlarut, kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat, kalsium) susu kedelai tinggi kalsium dengan fortifikasi tepung tulang ikan nila.

B. Jenis dan Rancangan Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan desain rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian terdiri dari 2 (dua) perlakuan dengan 1 kontrol dan 2 (dua) kali pengulangan. Perlakuan tersebut terdiri dari :

1. P0 : Kacang kedelai (100 g)
2. P1 : Kacang kedelai (100 g) + tepung tulang ikan nila 3 gr (30% dari AKG)
3. P2 : Kacang kedelai (100 g) + tepung tulang ikan nila 5 gr (50% dari AKG)

2. Jumlah Unit Penelitian

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

£ unit percobaan

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

Keterangan :

$$\begin{aligned}n &= \text{Jumlah unit percobaan} \\r &= \text{Jumlah Pengulangan (replikasi)}\end{aligned}$$

t = Jumlah Perlakuan (treatment)

C. Penentuan Bilangan Acak

Penentuan bilangan acak dilakukan menggunakan program Microsoft Excel dengan memasukkan rumus =RAND() pada sel A1. Selanjutnya, untuk mendapatkan delapan bilangan acak, rumus tersebut disalin ke beberapa sel lainnya hingga jumlah bilangan yang diperlukan terpenuhi. Bilangan acak yang diperoleh kemudian diurutkan berdasarkan nilai dari yang terkecil hingga terbesar.

Tabel 1. Penentuan Bilangan Acak

No.	Bilangan Acak	Rangking	Unit percobaan
1.	0.327	2	P0A
2.	0.374	3	P0B
3.	0.451	4	P1A
4.	0.239	1	P1B
5.	0.594	5	P2A
6.	0.884	6	P2B

Peringkat dari bilangan acak tersebut kemudian digunakan sebagai nomor urut percobaan. Selanjutnya, bilangan tersebut dikelompokkan berdasarkan jenis perlakuan dan disusun dalam rancangan tata letak percobaan sebagai berikut :

P0A, P0B, P1A, P2B, P3A, P3B,

Tabel 2. Layout Percobaan

1	2	3
P1B (0.239)	P0A (0.327)	P0B (0.374)
4	5	6
P1A (0.451)	P2A (0.594)	P2B (0.884)

Keterangan :

P0A, P0B = kacang kedelai (100 g)

P1A,P1B = kacang kedelai (100 g) + tepung tulang ikan nila 3 gram (30% dari AKG)

P2A, P2B = kacang kedelai (100 g) + tepung tulang ikan nila 5 gram (50% dari AKG)

D. Bahan dan Alat

1.Tepung Tulang Ikan Nila

a) Bahan

Bahan untuk membuat tepung tulang ikan nila yaitu kerangka ikan nila sebanyak 29kg bersih tanpa sirip, dan ekor yang dibeli di PT.Aquafarm Sei Rampah, cuka.

b) Alat

Alat yang digunakan parang, pisau, waskom,talenan, ayakan 100 mesh, presto (merk kirin, 16 liter), saringan, toples, mesin penggiling (merk yamasuka, model : FFC-15, speed 8800 rpm, power required 1.1 kw), cabinet dryer, beserta sendok.

2. Susu Kedelai Fortifikasi Tepung Tulang Ikan Nila

a) Bahan

Tabel 3. Bahan Pembuatan Susu Kedelai Tinggi Kalisum

No.	Bahan	Perlakuan			Total
		P0	P1	P2	
1.	Kacang kedelai	100 gr	100 gr	100 gr	300 gr
2.	Tepung tulang ikan nila	0	3 gr	5 gr	8 gr
3.	Air	300 ml	300 ml	300 ml	900 ml

b) Alat

Alat yang digunakan piring, kompor, sutil, gelas ukur, serbet, sendok, sarung tangan plastic, blender (merk miyako, daya 250 watt, kapasitas 1 liter), baskom, panci, botol minuman, dan timbangan digital.

3. Uji Kimia

a) Bahan

Bahan yang digunakan dalam uji kimia yaitu H_2SO_4 (93-98% bebas N), NaSO_4 , HgO , larutan asam borat H_3BO_3 , alcohol, $\text{NaOH-Na}_2\text{SO}_3$ (natrium tiosulfat), HCl 0,02 N, pelarut lemak (hexan), HN_3 , H_2O , aquademin, dan lanthanum.

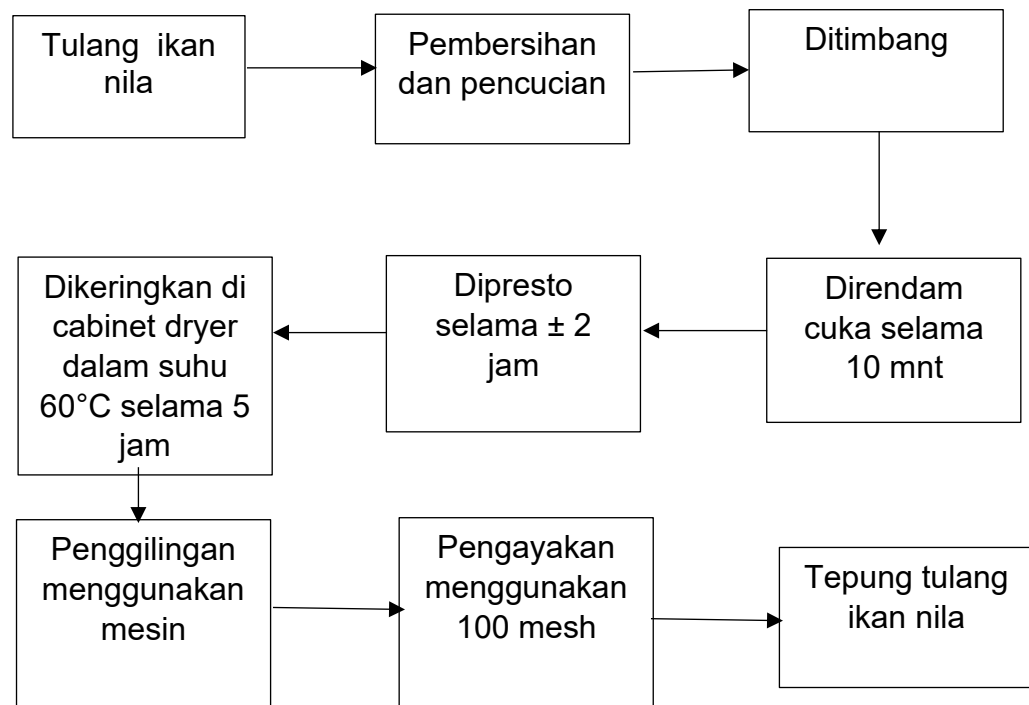
b) Alat

Alat yang digunakan dalam uji kimia yaitu oven, cawan porselin, desikator, Erlenmeyer, kertas saring, kapas, labu takar.

E. Prosedur

1. Proses Pengolahan Tepung Tulang Ikan Nila

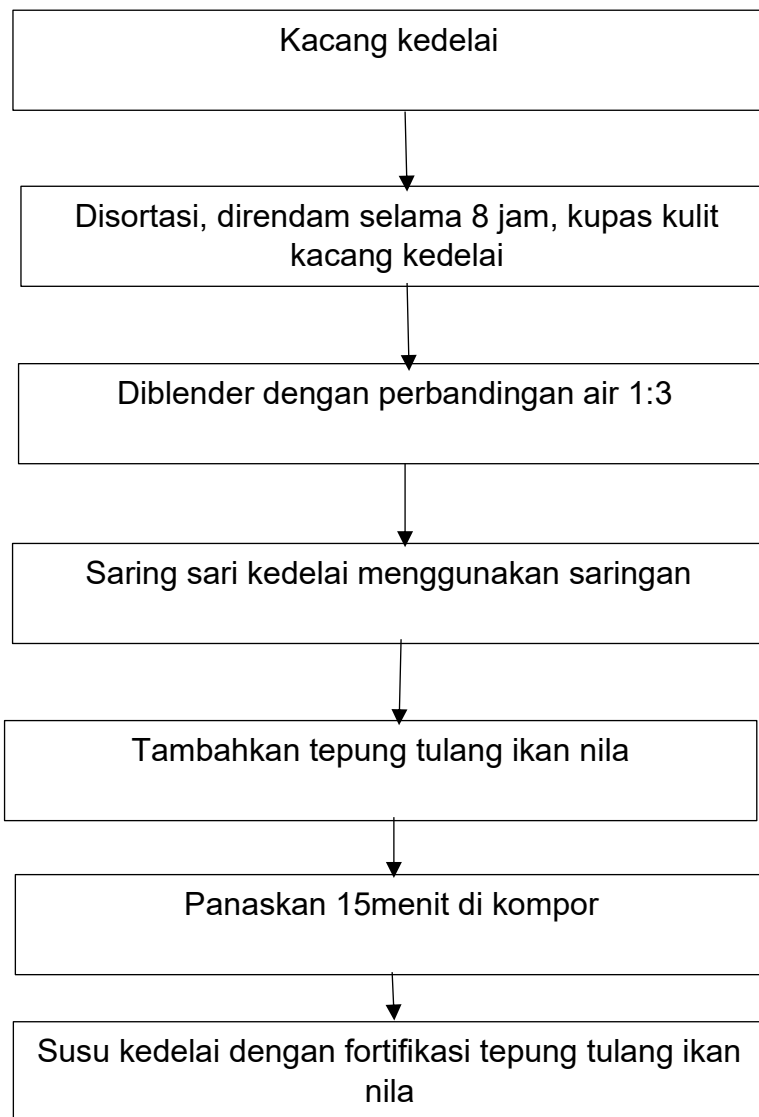
1. Tulang ikan nila bersih tanpa sirip, kor dan daging sebanyak 29 kg, dicuci sampai bersih.
2. Tulang ikan nila direndam menggunakan cuka 50 ml dalam 1 kg per 1 liter air selama 10 menit.
3. Kemudian dipresto selama ± 2 jam, hasil yang diperoleh 19,003 gram
4. Tulang yang sudah dipresto di keringkan di cabinet dryer dengan suhu 60°C selama 5 jam, Hasil diperoleh 10,335 gram
5. Tulang yang sudah kering digiling menggunakan mesin hingga halus lalu diayak menggunakan ayakan 100 mesh.
6. Rendemen yang diperoleh adalah 35,65%.S|



Gambar 1. Diagram Alir Pembuatan Tepung Tulang Ikan Nila

2. Proses Pembuatan Susu Kedelai Dengan Fortifikasi Tepung Tulang Ikan Nila

1. Sortasi kacang kedelai dan rendam kacang kedelai selama 8 jam dengan perbandingan kacang kedelai dan air yaitu 1:2
2. Setelah perendaman dilakukan proses kupas kulit kacang kedelai, dan membilasnya dengan air.
3. Blender kacang kedelai dengan air hangat, menggunakan perbandingan kacang kedelai dan air 1:3, dan disaring menggunakan kain dan saringan hingga menghasilkan susu kedelai
4. Setelah disaring tambahkan tepung tulang ikan nila
5. Selanjutnya susu kedelai dipanaskan dengan api kompor sedang selama 15 menit untuk menghilangkan bau langu.
6. Setelah mendidih matikan kompor dan susu kedelai siap disajikan.



Gambar 2. Diagram Alir Pembuatan Susu Kedelai Tinggi Kalsium

F. Jenis dan Cara Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan oleh peneliti dan enumerator yang telah mendapatkan pelatihan. Enumerator dalam penelitian ini adalah mahasiswa Program Studi Gizi semester VIII Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Medan.

1. Daya Terima Konsumen Susu Kedelai

Prosedur pengumpulan data dilakukan dengan daya terima konsumen oleh 33 ibu hamil yang diambil dari ibu hami di Puskesmas Lubuk Pakam, Kecamatan Lubuk Pakam. Daya terima konsumen , yang meliputi uji warna, aroma, rasa, kekentalan, dan *after taste* dari susu kedelai dengan campuran tepung tulang ikan nila.

Langkah – langkah pengumpulan data kepada panelis adalah sebagai berikut :

- a. Sebelum melakukan daya terima konsumen peneliti melakukan rekrut panelis pada ibu hamil yang berisi biodata pribadi, setelahnya ibu hamil diberikan formulir PSP. Peneliti menjelaskan kepada ibu hamil didalam ruangan untuk menjelaskan produk yang sudah tersedia (susu kedelai tinggi kalsium) dan menjelaskan bagaimana cara menilai yang paling disukai meliputi warna, aroma, rasa, kekentalan dan *after taste*.
- b. Sebelum melakukan daya terima konsumen peneliti sudah mempersiapkan kebutuhan ibu hamil yang akan menguji daya terima konsumen diberi handsanitizer dan air mineral.
- c. Susu kedelai tinggi kalsium yang telah dibuat dalam 6 sloki sebanyak 5ml dan masing-masing diberi label dengan kode pada lay out diletakkan diatas meja.
- d. Selama dilakukan daya terima konsumen ibu hamil diberi air minum untuk menetralsir indera perasa pada saat minum susu kedelai tinggi kalsium dengan campuran tepung tulang ikan nila.
- e. Ibu hamil memberikan penilaian uji daya terima konsumen meliputi warna, aroma, rasa, kekentalan dan *after taste*. dengan menggunakan skala hedonik. Skala hedonik yang digunakan adalah: Amat sangat suka (5), Sangat suka (4), Suka (3), Kurang suka (2), Tidak suka (1).

2. Mutu Kimia

Uji mutu kimia meliputi viscositas, kadar pH, total padatan terlarut, Lemak, Protein, Karbohidrat, dan Kalsium. Uji mutu kimia dilakukan dilaboratorium PT. Saraswanti Indo Genetech (SIG), Bogor dan Laboratorium Kimia Pangan Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Medan, Lubuk Pakam.

Cara pengumpulan data:

- a. Mengisi formulir pendaftaran uji kimia dan mengirim formulir ke admin laboratorium PT. Saraswanti Indo Genetech (SIG), Bogor
- b. Persiapkan produk sebanyak 200 ml sesuai perlakuan P0, P1, P2.
- c. Masukkan susu kedelai tinggi kalsium kedalam botol minum yang diberi label, tanggal pembuatan, pengemasan, kemudian diberikan selotip pada tutup botol agar tidak pecah
- d. Kemudian masukkan kedalam kotak styrofoam, lalu packing tulis alamat tujuan dan alamat pengirim lengkap. Cantumkan kontak yang dapat dihubungi lalu kirim menggunakan jasa pengirim.
- e. Dalam perjalanan memakan waktu 3 hari
- f. Hasil uji kimia selesai ± 1 bulan dan hasil uji kimia akan dikirimkan ke kontak yang kita cantumkan.

a) Analisis Tingkat Viskositas Dengan Viscometer Ostwald

Analisis tingkat viskositas menggunakan viskometer Ostwald dilakukan dengan terlebih dahulu membersihkan alat yang akan digunakan, kemudian mengeringkannya. Sampel minuman dimasukkan melalui tabung A hingga mencapai tabung B dengan cara dihisap sampai melewati tanda batas yang telah ditentukan. Selanjutnya, waktu aliran cairan diukur menggunakan stopwatch, yaitu dengan mencatat waktu yang diperlukan cairan untuk bergerak dari tanda batas A menuju tanda batas B. Setelah pengukuran sampel selesai, viskometer dibersihkan dan dikeringkan kembali. Prosedur yang sama kemudian dilakukan menggunakan cairan pembanding berupa akuades. Bobot jenis cairan ditentukan menggunakan piknometer, kemudian nilai viskositas dihitung berdasarkan rumus Martin.:

Perhitungan kadar air dilakukan sebagai berikut:

$$\frac{n_1}{n_2} = \frac{\rho_1.T_1}{\rho_2.T_2}$$

Ket : η = koefisien viskositas (N.s/m²)

T = waktu (s)

P = massa jenis g/cm³

(Nst et al., 2020)

b) Analisis Kadar Ph Dengan Kertas Lakmus

Cara pengujian pH yang dilakukan menggunakan kertas lakmus. Sampel minuman susu kedelai dimasukan pada wadah. kemudian di celupkan kertas lakmus selama 5 detik pada produk sampel susu kedelai (Suhendy et al., 2021).

c) Analisis Total Padatan Terlarut Dengan Hand-Refractometer

Pengujian total padatan terlarut dapat diuji dengan menggunakan alat hand-refractometer. Caranya prisma refraktometer terlebih dahulu dibilas dengan aquades kemudian diseka dengan kain yang lembut. Teteskan sampel minuman susu kedelai ke atas prisma refraktometer dan ukur derajat Brix nya (Nor et al., 2022)

d) Analisis Protein Metode Kjeldahl (AOAC,2005)

Analisis kadar protein menggunakan metode Kjeldahl dilakukan melalui tiga tahapan utama, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Pada tahap destruksi, sampel sebanyak 0,03 gram ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl, kemudian ditambahkan 10 ml H_2SO_4 (93–98% bebas nitrogen) serta campuran katalis berupa $NaSO_4$ dan HgO sebanyak 5 gram. Sampel kemudian dipanaskan pada suhu $430^{\circ}C$ di ruang asam hingga larutan berubah menjadi jernih, lalu dilanjutkan proses pemanasan selama 30 menit. Setelah proses destruksi selesai, larutan didinginkan dan diencerkan menggunakan 140 ml akuades.

Larutan hasil destruksi selanjutnya dipindahkan ke alat destilasi. Pada erlenmeyer penampung disiapkan 25 ml larutan H_3BO_3 (asam borat) yang telah ditambahkan 2–4 tetes indikator campuran metil merah 0,2% dan biru metilen 0,2% dalam alkohol. Sampel hasil destruksi kemudian ditambahkan 35 ml larutan $NaOH-Na_2S_2O_3$ (natrium tiosulfat) dan dilakukan proses destilasi hingga diperoleh sekitar 100 ml larutan destilat. Tahap terakhir yaitu titrasi, dilakukan dengan menambahkan larutan HCl 0,02 N secara bertahap pada hasil destilasi hingga mencapai titik akhir titrasi.

Perhitungan kadar protein dapat diperoleh dengan cara:

$$\text{Kadar protein} = \frac{(\text{Volume HCL}(\text{sampel-blanko}) \times \text{N HCL} \times 14,007 \times 100}{\text{mg sampel}}$$

e) Analisis Lemak Metode Soxhlet (AOAC, 2005)

Analisis kadar lemak dilakukan menggunakan metode Soxhlet dengan prinsip ekstraksi lemak yang terdapat dalam sampel menggunakan pelarut nonpolar. Tahap awal dilakukan dengan mengoven labu lemak selama 30 menit pada suhu 100–105°C, kemudian labu didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan kadar air dan selanjutnya ditimbang. Sampel sebanyak 2 gram ditimbang, kemudian dibungkus menggunakan kertas saring, ditutup dengan kapas bebas lemak, dan dimasukkan ke dalam alat Soxhlet yang telah terhubung dengan labu lemak.

Pelarut heksana kemudian ditambahkan hingga sampel terendam, lalu dilakukan proses refluks atau ekstraksi selama 5–6 jam hingga pelarut lemak yang mengalir kembali menjadi jernih. Pelarut yang telah digunakan selanjutnya dipisahkan melalui proses penyulingan dan ditampung kembali. Ekstrak lemak yang terdapat dalam labu lemak kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 100–105°C selama 1 jam. Setelah itu, labu lemak didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Proses pengeringan dan penimbangan dilakukan secara berulang hingga diperoleh berat yang konstan.

Perhitungan kadar lemak adalah sebagai berikut:

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{(\text{B-A})}{\text{Besar sampel}} \times 100$$

f) Analisis Karbohidrat Metode By Difference (AOAC, 2005)

Analisis kadar karbohidrat metode by difference (AOAC, 2005) Analisis kadar karbohidrat metode by difference dapat digunakan untuk menghitung kadar karbohidrat dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\% \text{ karbohidrat} = 100\% - (\% \text{air} + \% \text{abu} + \% \text{protein} + \% \text{lemak})$$

g) Analisis Kalsium Metode Atomic Absorbtion Spectrophotometer (AAS) (AOAC, 2005)

Pengujian kalsium dilakukan dengan mengabukan 5 gram sampel. Sampel yang telah diabukan kemudian didekstruksi dengan menambahkan HNO₃ : H₂O (v/v) (10:30) selama 10 menit. Pembuatan larutan indukan dilakukan dengan menggunakan sampel yang telah didekstruksi kemudian didinginkan lalu disaring dan dimasukkan ke dalam labu takar 50 ml dan ditambahkan dengan aquademin hingga tanda tera. Larutan indukan diencerkan dengan cara mengambil 0,5 ml larutan indukan dan dimasukkan dalam labu takar 10 ml serta dengan menambahkan aquademin hingga tanda tera. Pembacaan sampel dilakukan dengan mengambil 0,5 ml larutan yang telah diencerkan kemudian dimasukkan dalam labu takar 10 ml dan ditambahkan 2 ml lantanum serta penambahan aquademin hingga tanda tera. Pembacaan sampel dilakukan pada Atomic Absorbtion Spectrophotometer (AAS) dengan panjang gelombang 422,7 nm.

Analisis konsentrasi kalsium pada sampel dinyatakan dalam rumus:

$$\% \text{ Ca} = \frac{C \times l \times P}{W \times 10.000}$$

Keterangan :

C = Konsentrasi hasil pembacaan AAS (ppm)

L = Larutan indukan (ml)

P = Pengenceran (berapa)

W = Berat sampel (g)

F. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data

Data yang telah terkumpul diperiksa kelengkapannya, kemudian dientri menggunakan laptop dengan program SPSS versi 25.00. Analisis data dilakukan secara univariat, yang mencakup uji daya terima konsumen dan uji kimia. Pada daya terima konsumen, penelitian terdiri dari satu kontrol dan dua perlakuan, masing-masing dengan dua kali pengulangan. Nilai pada masing-masing pengulangan perlakuan, seperti P0A dan P0B, dijumlahkan lalu dibagi dua untuk memperoleh rerata P0. Prosedur yang sama dilakukan untuk P1A dan P1B guna memperoleh rerata P1. Selanjutnya, dihitung nilai rerata dan standar deviasi dari masing-masing sampel. Pengolahan data uji kimia dilakukan dengan cara yang serupa, yaitu menghitung rerata dari setiap parameter yang diukur. Seluruh data hasil pengukuran kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS untuk memperoleh hasil statistik yang lebih lanjut.

2. Analisis Data

Data yang telah dikumpulkan dianalisis menggunakan program Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji Kruskal–Wallis untuk menguji hipotesis penelitian. Data hasil penelitian diinput ke dalam program SPSS dengan variabel daya terima yang meliputi warna, aroma, rasa, dan *after taste*. Sebelum dilakukan uji Kruskal–Wallis, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data. Apabila data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$), maka analisis dilanjutkan dengan uji Kruskal–Wallis. Uji Kruskal–Wallis digunakan untuk mengetahui perbedaan daya terima antara satu kelompok kontrol dan dua kelompok perlakuan. Kriteria pengambilan keputusan adalah jika nilai $p \leq 0,05$ maka H_0 ditolak, yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antarperlakuan, sedangkan jika nilai $p > 0,05$ maka H_0 diterima, yang berarti tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hasil akhir dari uji fisik dan kimia ini bertujuan untuk mengetahui “daya terima konsumen dan mutu kimia susu kedelai tinggi kalsium dengan fortifikasi tepung tulang ikan nila.