

## **BAB III. METODOLOGI PENELITIAN**

### **3.1 Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Muhammadiyah Malang. Penelitian dilaksanakan mulai dari awal studi pendahuluan sampai analisa data pada tanggal 8 September 2020 hingga 13 Oktober 2020 .

### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.2.1 Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam proses pembuatan produk bubur bayi instan antara lain timbangan, panci kukus, kompor, termometer, loyang, sendok, spatula, mangkok, blender, dan saringan. Alat-alat yang digunakan dalam proses analisa antara lain krus porselen, labu lemak, soxhlet, gelas *beaker*, erlenmeyer, labu ukur, spatula, batang pengaduk, tabung reaksi, gelas ukur, pipet ukur, pipet *filler*, kuvet, timbangan analitik tipe *Ohaus Pioneer PA413*, desikator tipe *Glaswerk Wertheim 6132*, *sentrifuge* tipe *caliesys PLC series*, oven (romand tipe 50), spektrofotometer UV-Vis (*shimadzu*), dan *Thermostat Water Bath* tipe HH-4.

#### **3.2.2 Bahan Penelitian**

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah pisang kepok matang dengan ciri-ciri warna pisang kekuningan yang dibeli di Pasar Lokal Landung Sari, kacang kedelai putih yang dibeli di Pasar Lokal Landung Sari, daun pisang yang dikumpulkan dari Karang Ploso, daun jati yang dikumpulkan dari Landung Sari, starter tempe, susu skim, gula halus, ekstrak virgin minyak zaitun, dan air mineral.

Reagen kimia yang digunakan antara lain aquades, larutan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), etanol teknis (96%), petroleum benzene p.a, NaOH p.a, larutan Biuret, dan BSA (*Bovine Serum Albumin*).

### **3.3 Metodologi Penelitian**

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara sederhana dengan faktor tunggal yaitu berupa kemasan tempe kedelai, antara lain :

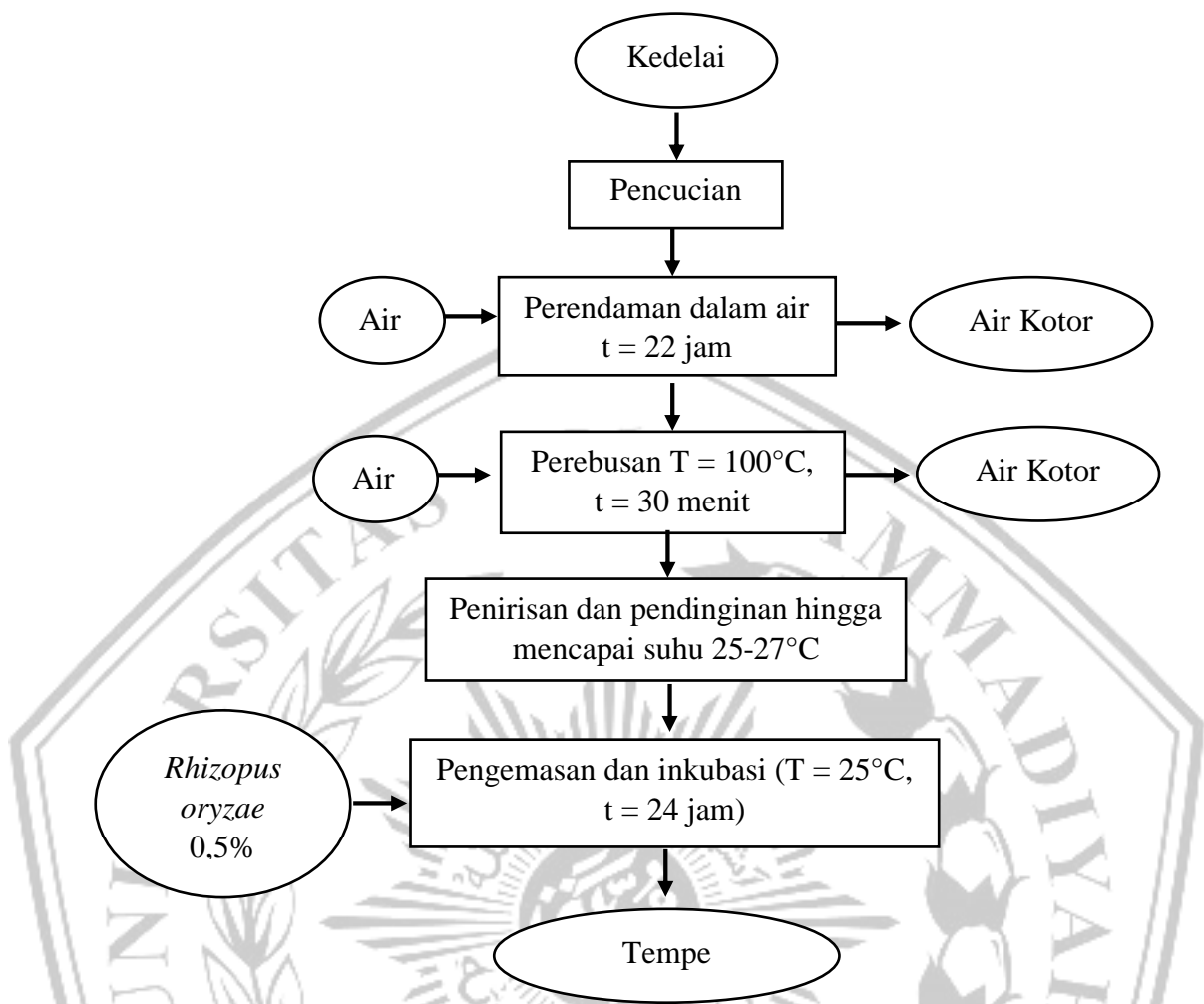
1. Daun Pisang
2. Daun Jati

Perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan sehingga total sample yang dianalisa sebanyak 6 sampel.

### **3.4 Pelaksanaan Penelitian**

#### **3.4.1 Pembuatan Tempe**

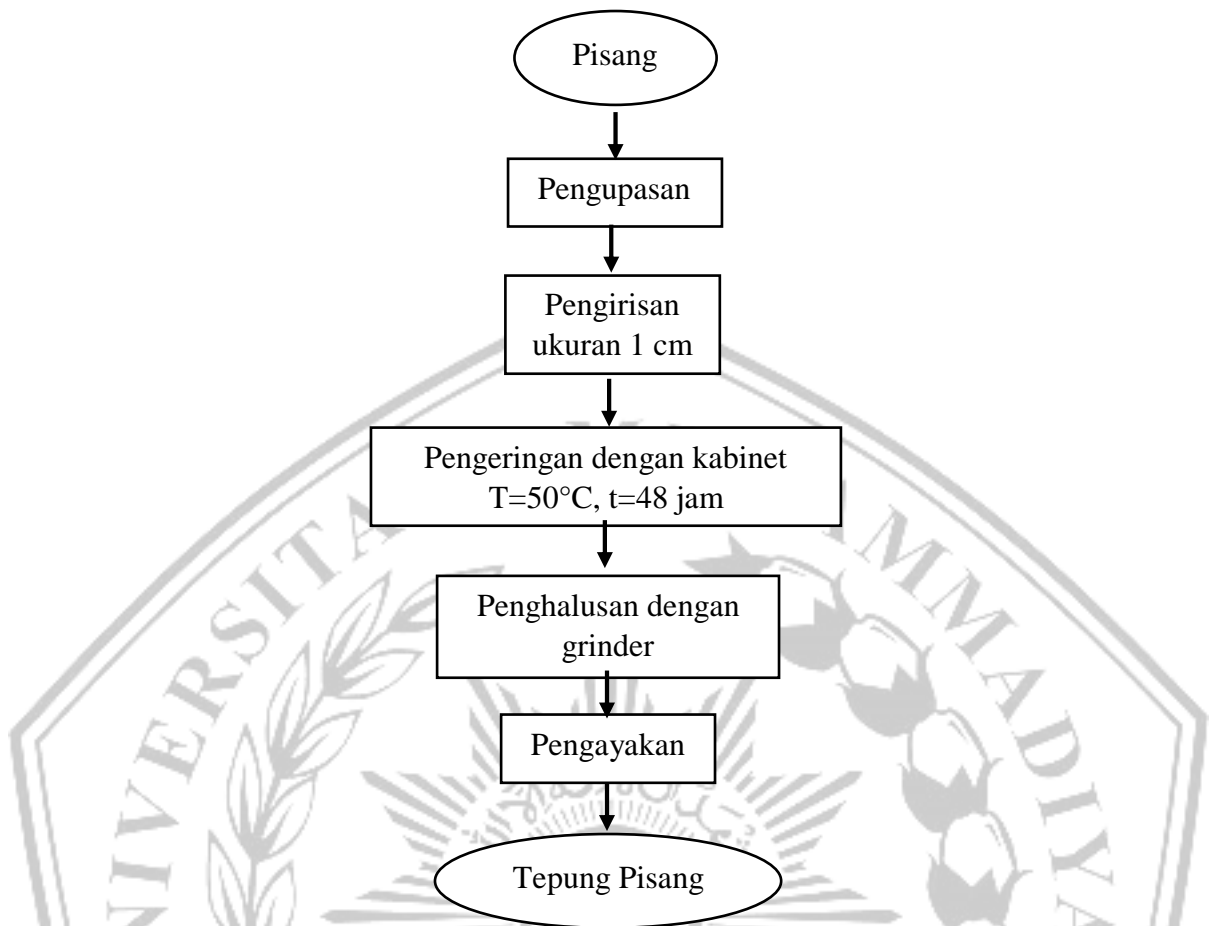
Tempe dibuat dengan metode kupas basah berdasarkan Syarief dkk (1999) yang telah dimodifikasi: kedelai yang telah dicuci dan dibersihkan direndam selama 22 jam dikupas dari kulitnya dan dicuci kemudian direbus pada suhu 100°C selama 30 menit. Tahap selanjutnya adalah pemberian starter tempe sebanyak 0,5 (%<sup>b/b</sup>) dan dibungkus menggunakan 2 macam kemasan (daun pisang dan daun jati). Pembuatan usar dilakukan berdasarkan Koswara dkk (2000) dengan cara: menempatkan daun jati/ pisang di atas tampah bambu dengan permukaan bawah menghadap ke atas. Kedelai yang telah dipreparasi disebarakan ke setiap permukaan daun kemudian ditutup dengan daun jati/ pisang dengan permukaan bawah menutupi kedelai. Masing-masing pasangan daun dibungkus dengan plastic berlubang dan didiamkan (fermentasi) selama 24 jam pada suhu kamar (25° C).



**Gambar 1. Diagram Alir Pembuatan Tempe (Syarief, dkk., 1999)**

### 3.4.2 Pembuatan Tepung Pisang

Tepung pisang dibuat berdasarkan metode Perezsira (1997) yang telah dimodifikasi. Buah pisang matang pohon dengan ciri terdapat 1 atau 2 buah berwarna kuning. Buah dikupas lalu diiris buah dengan ukuran 1 cm menggunakan pisau tajam. Irisan buah diletakkan pada loyang-loyang dan dikeringkan dengan *cabinet dryer* pada suhu 50°C selama 48 jam. Tahap akhir adalah proses penepungan menggunakan grinder menghasilkan tepung pisang. Diagram alir proses pembuatan ekstrak simplisia dapat dilihat pada Gambar 5.

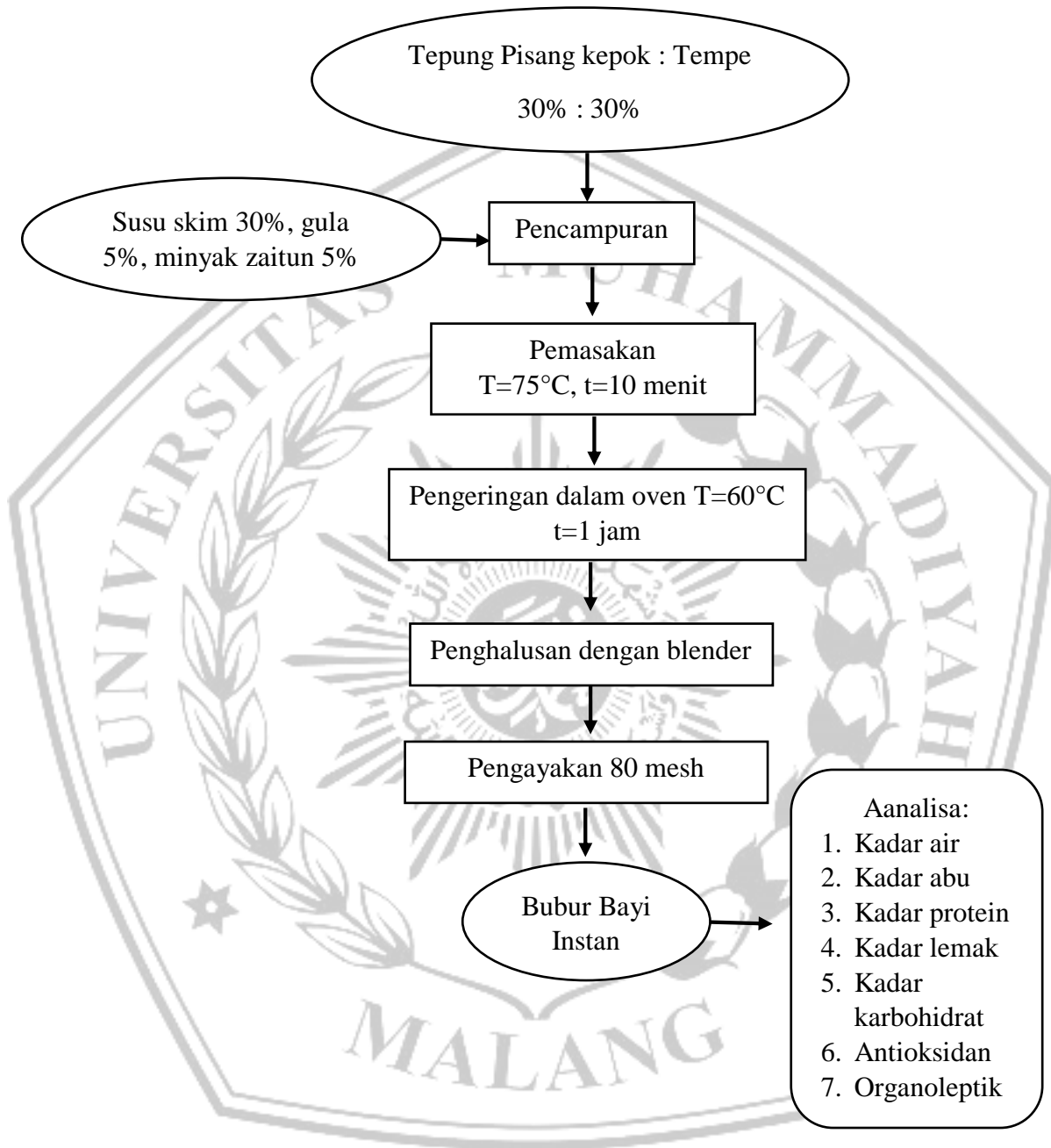


**Gambar 2. Diagram Alir Proses Pembuatan Tepung Pisang (Perezsira, 1997)**

### **3.4.3 Pembuatan Bubur Bayi Instan**

Bubur bayi instan dibuat berdasarkan modifikasi hasil penelitian Tamrin dan Pujilestari (2016) pada jurnal yang berjudul “Karakteristik Bubur Bayi Instan Berbahan Dasar Tepung Garut dan Tepung Kacang Merah” Proses modifikasi terdapat pada bahan baku yang digunakan. Formulasi yang digunakan adalah tepung pisang kepok, ekstrak tempe, susu skim, gula, dan minyak zaitun dengan perbandingan 30:30:30:5:5 (%<sup>b/b</sup>). Seluruh bahan dicampur lalu dimasak dengan suhu 75°C selama 10 menit hingga tercampur rata. Selanjutnya bubur diratakan

pada loyang untuk dikeringkan pada oven dengan suhu 60°C selama 1 jam. Bubur yang telah kering kemudian diblender dan diayak dengan ukuran 80 mesh.



**Gambar 3. Diagram Alir Proses Pembuatan Bubur Bayi Instan (Tamrin dan Pujilestari, 2016)**

### 3.5 Prosedur Analisis

Parameter penelitian ini merupakan analisa yang digunakan untuk mengetahui hasil uji coba penelitian. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: analisa kimia (kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat), analisa aktivitas antioksidan, dan dilanjutkan analisa organoleptik (kenampakan, tekstur, rasa, dan kesukaan).

#### 3.5.1 Analisa Kadar Air Metode Oven (AOAC, 2005)

1. Cawan Porselen ditimbang dan dimasukkan ke dalam oven selama 24 jam dengan suhu 100 °C.
2. Cawan Porselen didinginkan dalam desikator selama 15 menit.
3. Cawan Porselen ditimbang untuk mendapatkan berat cawan.
4. Sampel ditimbang sebanyak 2 g dalam cawan porselen.
5. Sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 100 °C selama 5 jam.
6. Sampel didinginkan di dalam desikator selama 15 menit.
7. Sampel ditimbang sebagai bobot akhir sampel.
8. Kadar air dihitung berdasarkan persamaan berikut :

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{b-c}{b-a} \times 100 \%$$

Keterangan: a = berat cawan, b = berat awal, c = berat akhir

#### 3.5.2 Analisa Kadar Abu (AOAC, 2005)

Cawan Porselin dikeringkan di dalam tanur pada suhu 600°C kemudian didinginkan di dalam desikator dan ditimbang sebagai wadah. 2 gram sampel ditimbang di dalam cawan porselin yang telah diketahui bobotnya. Pengabuan

dilakukan dalam tanur pada suhu 600°C selama 5 jam. Abu yang telah diperoleh didinginkan di dalam desikator dan ditimbang sampai diperoleh bobot konstan :

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{\text{berat awal-berat akhir}}{\text{berat bahan awal}} \times 100\%$$

### 3.5.3 Analisa Kadar Lemak (AOAC, 2005)

Analisa kadar lemak diawali dengan tahap preparasi dan analisa sampel dengan metode lemak hidrolisis asam, kemudian dilakukan perhitungan kadar lemak yang mengacu pada rumus AOAC (2005). Tahapan meliputi :

1. Sampel ditimbang sebanyak 2 g, dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 4 ml etanol 96% dan 2 ml HCl sebelumnya cawan porselin yang kosong disiapkan kemudian ditimbang beratnya.
2. Waterbath dipanaskan pada suhu 70°C selama 30 menit.
3. Larutan dituangkan ke dalam corong pemisah yang bagian atas diletakkan corong dan kertas saring, kemudian ditambahkan 25 ml petroleum benzene.
4. Gojog larutan selama 1 menit lalu dibiarkan hingga terpisah menjadi dua larutan, buang larutan yang bagian bawah dengankran corong pisah diputar hingga yang tertinggal pada corong pisah adalah larutan yang bagian atas (fase benzene lemak).
5. Fase benzene lemak tersebut ditampung dalam beaker glass yang telah diketahui bobotnya, kemudian oven cawan porselin yang luas permukaannya tersebut dalam oven hingga kering pada suhu 80°C.
6. Cawan porselin ditimbang yang luas permukaannya dalam desikator kemudian ditimbang.
7. Kadar lemak dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Kadar Lemak} = \frac{\text{bobot cawan akhir} - \text{bobot cawan kosong (awal)}}{\text{bobot sampel (g)}} \times 100$$

### 3.5.4 Analisis Kadar Protein (Indrawan, 2016)

Uji ini digunakan untuk menguji adanya ikatan peptide. Larutan pereaksi Biuret terdiri atas  $\text{CuSO}_4$  dan  $\text{KNa-tartrat}$ , dalam  $\text{NaOH}$ . Protein akan membentuk warna biru-violet. Larutan Biuret terdiri atas  $\text{CuSO}_4$  dan  $\text{KNa-tartrat}$ , dalam  $\text{NaOH}$ . Larutan sampel 2% sebanyak 3 mL ditambahkan  $\text{NaOH}$  10% sebanyak 1 mL. lalu digojok kembali dan didiamkan selama 20 menit. Reaksi positif apabila menghasilkan warna ungu. Kemudian dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi larutan pada panjang gelombang 600nm. Prosedur pengukuran absorbansi larutan standar BSA (Bovine Serum Albumin) dilakukan dengan cara yang sama pada larutan sampel dengan konsentrasi BSA 0-1 mg/mL dari larutan stok BSA 1 mg/mL.

Tabel 1. Pembuatan Kurva Standar BSA Konsentrasi 0-1mg/mL

Konsentrasi BSA (mg/mL)	Volume Larutan Stok BSA (mL)	Volume Aquades (mL)	Volume Pereaksi Biuret (mL)
0	0	4	1
0,25	1	3	1
0,5	2	2	1
0,75	3	1	1
1	4	0	1

### 3.5.5 Analisis Kadar Karbohidrat *by Difference* (Winarno, 2004)

Kandungan karbohidrat dihitung secara perbedaan antara jumlah kandungan air, protein, lemak, dan abu dengan 100 karbohidrat (g/100g). Dihitung kandungan karbohidrat dengan rumus:

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



### 3.5.6 Analisis Antioksidan Metode DPPH (Molyneux, 2004)

1. Dimasukkan sampel dalam tabung reaksi sebanyak 1 ml.
2. Ditambahkan etanol 96% sebanyak 5 ml, kemudian di vortex untuk membantu melarutkan sampel.
3. Ekstrak disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan ekstrak.
4. Mengambil supernatan 4 ml kemudian ditambahkan dengan 1 ml larutan DPPH (2 - 2 diphenyl – 2 - picryl hidrazil) 0,2 Mm.
5. Menyimpan sampel dalam ruangan gelap selama 20 menit.
6. Mengukur absorbansinya pada Panjang gelombang 517 nm dan menghitung dengan menggunakan rumus.

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

### 3.5.7 Uji Organoleptik (Rahayu, 2001)

Uji organoleptik yang dilakukan meliputi rasa, kekenyalan, kenampakan dan kesukaan keseluruhan oleh panelis. Pengujian dilakukan dengan memberikan sampel yang masing-masing telah terdapat kode yang berbeda kepada 30 panelis. Panelis diminta untuk memberikan penilaian terhadap sampel sesuai dengan skala hedonik yang tercantum. Pengujian menggunakan uji skala hedonik terdiri atas 5 nilai dengan 5 pertanyaan seperti yang tercantum pada tabel berikut ini.

Tabel 2. Skor Organoleptik

Nilai	Kenampakan	Tekstur	Rasa	Kesukaan
1	Sangat Tidak Menarik	Sangat Tidak Kasar	Sangat Tidak Enak	Sangat Tidak Suka
2	Tidak Menarik	Tidak Kasar	Tidak Enak	Tidak Suka
3	Agak Tidak Menarik	Agak Tidak Kasar	Agak Tidak Enak	Agak Tidak Suka
4	Agak menarik	Agak Kasar	Agak Enak	Agak Suka
5	Menarik	Kasar	Enak	Suka
6	Sangat Menarik	Sangat Kasar	Sangat Enak	Sangat Suka
7	Amat Sangat Menarik	Amat Sangat Kasar	Amat Sangat Enak	Amat Sangat Suka

