

### III. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2021 sampai Juli 2022. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Pangan Universitas Muhammadiyah Malang.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan *brownies* panggang adalah, Oven, Timbangan Bahan, Loyang cetakan, Baskom, Ayakan, Spatula, Pengaduk, Pisau. Alat yang digunakan untuk analisis yaitu spektrofotometer UV-Vis (tipe UV1800), labu kjeldahl, set alat destilasi, kurs porselen, oven (*Romand oven sterilisator type 50*), desikator, *soxhlet*, labu lemak, *waterbath*, tanur (*Ney type M-525 series II*), *texture analyzer* (EZ Type EZ-SX Shimadzu), timbangan analitik (Pioner TM, Dhaus), kertas saring, kondensor, gelas ukur, gelas *beaker*, erlenmeyer, penjepit, dan mortal-martil.

##### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan *brownies* panggang yaitu ubi jalar ungu varietas Antin 3 dan ubi jalar putih varietas sukuh dengan umur panen 4 bulan yang didapatkan dari petani di Kecamatan Pujon, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Bahan tambahan yang digunakan pada pembuatan *brownies* panggang adalah tepung terigu, telur, margarin, coklat batang, gula pasir, vanili, dan *baking powder*. Bahan yang digunakan untuk analisis *brownies* adalah petroleum benzene, etanol, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaOH, HCL, reagen folin, larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan aquades

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) sederhana dengan 7 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang diterapkan dapat dilihat pada Tabel 6 dan formulasi bahan dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 1. Perlakuan jenis tepung ubi jalar dan tepung terigu

Perlakuan	Tepung Ubi Jalar (%)	Tepung Terigu (%)
A0	0	100
A1	40	60
A2	50	50
A3	60	40
A4	40	60
A5	50	50
A6	60	40

Keterangan :

- A0 = Tepung Terigu 100%
- A1 = Tepung ubi jalar ungu proporsi 40%
- A2 = Tepung ubi jalar ungu proporsi 50%
- A3 = Tepung ubi jalar ungu proporsi 60%
- A4 = Tepung ubi jalar putih proporsi 40%
- A5 = Tepung ubi jalar putih proporsi 50%
- A6 = Tepung ubi jalar putih proporsi 60%

Pengujian hipotesa pada penelitian ini yaitu pengaruh substitusi tepung ubi ungu dan putih terhadap karakteristik fisikokimia dan aktivitas antioksidan *brownies*. Data yang diperoleh dari uji fisik dan kimia akan diolah menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mendapatkan data hasil akhir pada tiap perlakuan.

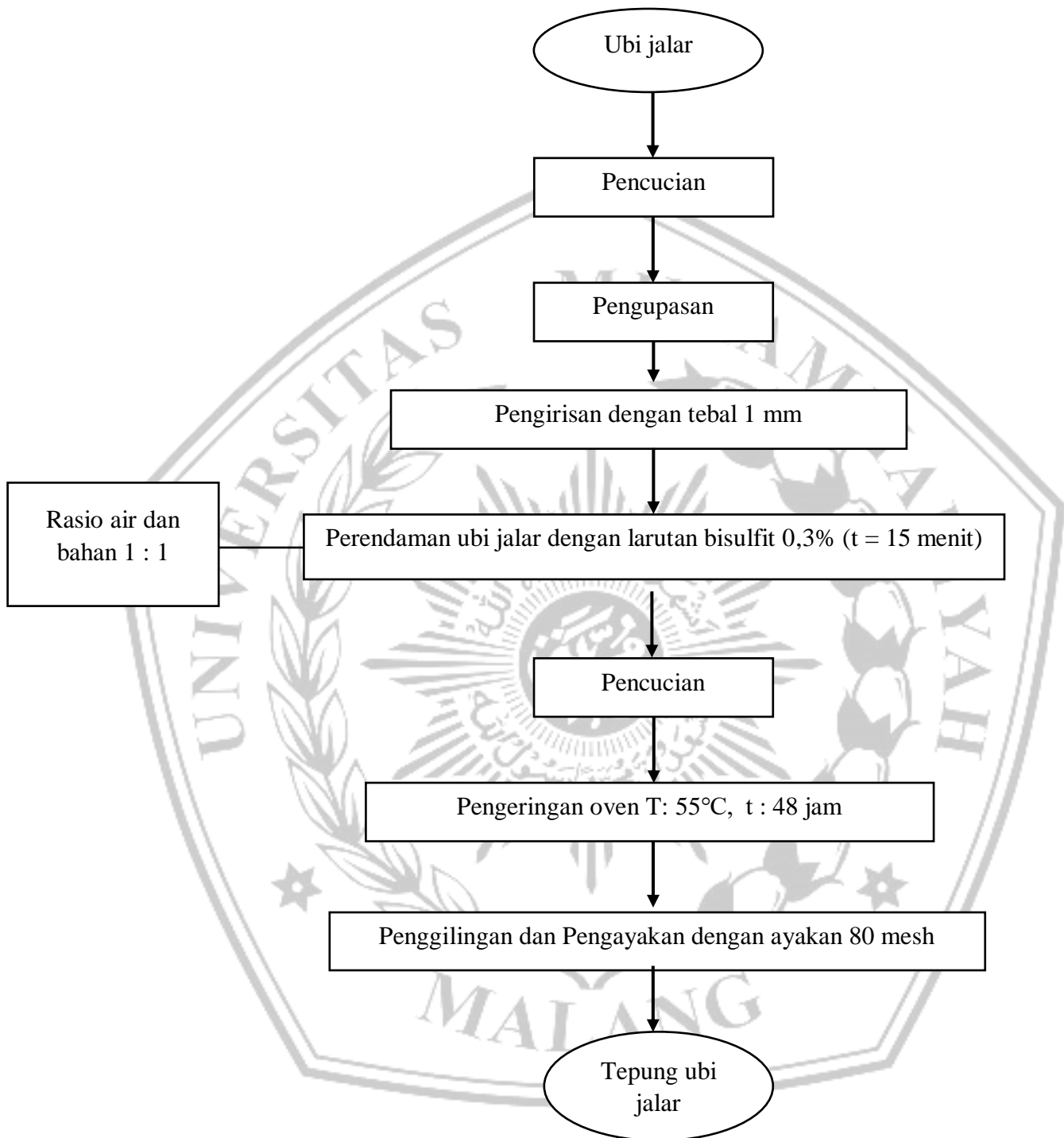
### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dengan 2 tahapan. Tahap pertama pembuatan tepung ubi jalar dan tahap kedua pembuatan *brownies* dan analisis pada *brownies* meliputi analisis kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat, uji aktivitas antioksidan, uji total fenol, analisis tekstur dan uji organoleptik.

### 3.4.1 Proses Pembuatan Tepung Ubi Jalar (Ambarsari, dkk., 2009 dengan modifikasi)

Pembuatan tepung ubi jalar dilakukan dengan cara dicuci bersih, kemudian dilakukan pengupasan. Ubi jalar disawut atau diiris tipis dengan ketebalan 1 mm. Selanjutnya direndam dengan larutan natrium bisulfit 0,3% selama 15 menit. Kemudian dibiilas, lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 55°C selama 48 jam. Tahap terakhir irisan dihancurkan dan diayak sampai menjadi tepung dengan tingkat kehalusan tertentu (80-100 mesh). Proses pembuatan tepung ubi jalar dapat dilihat pada Gambar 3.

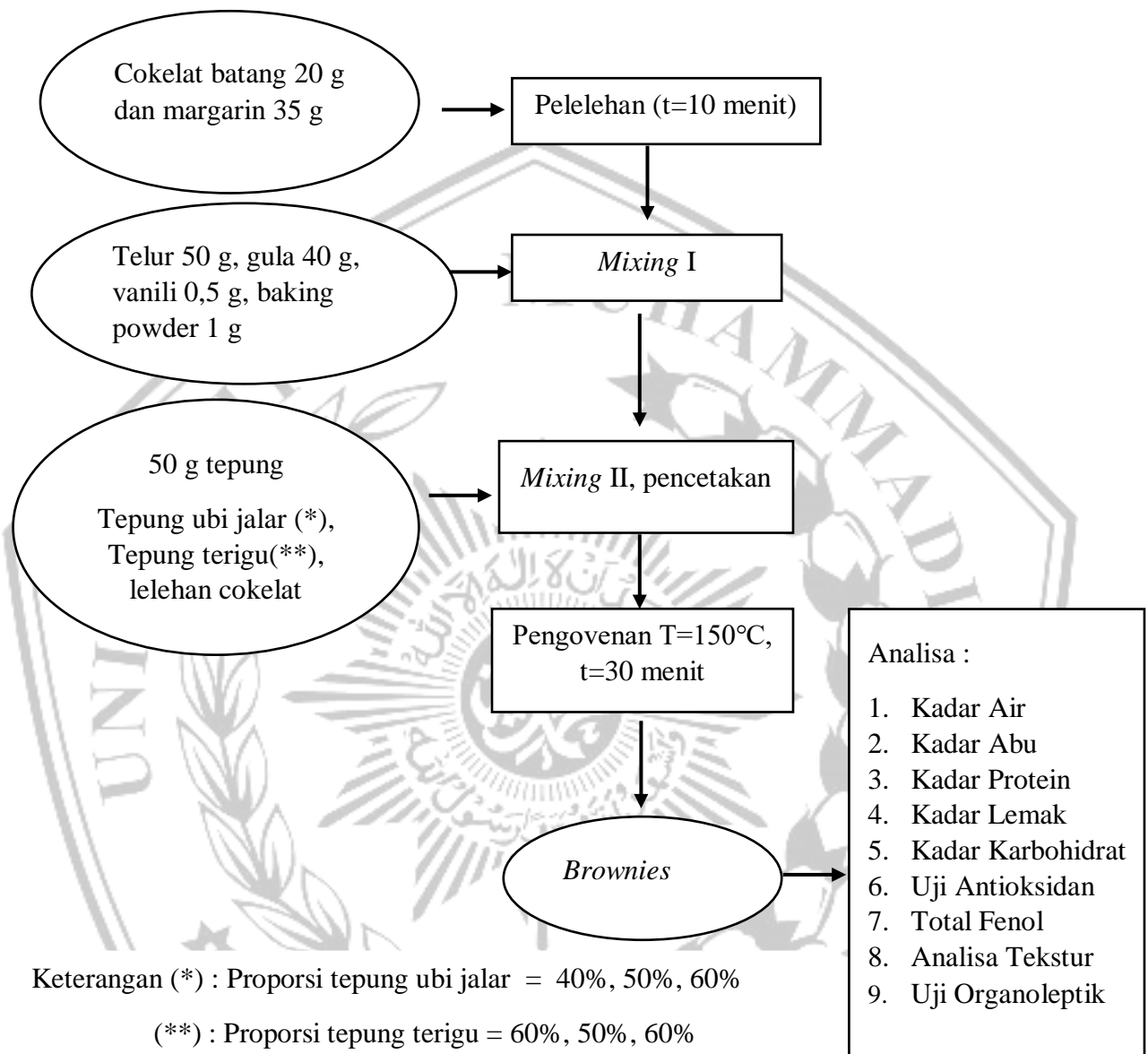




Gambar 1. Diagram Alir Pembuatan Tepung Ubi Jalar (Ambarsari, dkk., 2009)

### 3.4.2 Proses Pembuatan *Brownies* Panggang (Sri Setyani, dkk., 2017 dengan modifikasi)

Proporsi pembuatan *brownies* dengan penambahan tepung ubi jalar ungu dan tepung ubi jalar putih dapat dilihat pada Tabel 7. Proses pembuatan *brownies* dimulai dari bahan ditimbang terlebih dahulu. Lelehkan *dark chocolate compound* dan margarin dengan cara dikukus (*steam*)  $\pm$  10 menit. Kemudian tambahkan telur, gula, vanili dan *baking powder* lalu diaduk hingga tercampur rata. Selanjutnya masukkan tepung terigu, tepung ubi jalar ungu, lelehan cokelat kedalam adonan dan diaduk hingga rata. Kemudian *brownies* dipanggang menggunakan oven pada suhu 150°C dan waktu selama 30 menit. *Brownies* yang telah dipanggang selanjutnya dilakukan analisis kadar air, kadar abu, kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat, aktivitas antioksidan, total fenol, tekstur dan organoleptik. Proses pembuatan *brownies* panggang dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 2. Diagram Alir Pembuatan *Brownies* Panggang (Sri Setyani dkk., 2017)

Tabel 2. Proporsi Bahan pada Masing-masing Perlakuan dengan Substitusi Tepung Ubi Jalar Ungu dan Putih

Komposisi bahan	Perlakuan			
	A0	A1 A4	A2 A5	A3 A6
Tepung terigu (g)	50	30	25	20
Tepung ubi jalar (g)	0	20	25	30
Telur (g)	50	50	50	50
Gula pasir (g)	40	40	40	40
Coklat batang (g)	20	20	20	20
Vanili (g)	0,5	0,5	0,5	0,5
Margarin (g)	35	35	35	35
<i>Baking Powder</i> (g)	1	1	1	1

### 3.5 Parameter Penelitian

#### 3.5.1 Analisis Kadar Air Metode Gravimetri (AOAC, 2005)

1. Alat dan bahan disiapkan.
2. Cawan porselen dioven pada suhu 100°C selama 24 jam.
3. Cawan porselen dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit.
4. Berat cawan kosong ditimbang dan dicatat.
5. Bahan yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 2 gram.
6. Bahan dimasukkan kedalam cawan porselen dan dicatat.
7. Cawan porselen dimasukkan kedalam oven selama ±4 jam.
8. Cawan porselen dikeluarkan lalu didinginkan kedalam desikator selama 15 menit.
9. Berat akhir cawan porselen ditimbang dan dicatat, kemudian kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{(\text{Berat bahan} + \text{berat cawan kosong}) - \text{berat akhir}}{\text{Berat bahan}} \times 100$$

### 3.5.2 Analisis Kadar Abu Metode Pembakaran Tanur (AOAC, 2005)t

1. Alat dan bahan disiapkan.
2. Cawan porselen dioven pada suhu 100°C selama 24 jam.
3. Cawan porselen dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit.
4. Berat cawan kosong ditimbang dan dicatat.
5. Bahan yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 2 gram.
6. Bahan dimasukkan kedalam cawan porselen dan dicatat.
7. Cawan porselen dimasukkan pada tanur dengan suhu 600°C selama 5 jam.
8. Cawan porselen dimasukkan kedalam desikator selama 15 menit.
9. Abu ditimbang beratnya dan dihitung persentase kadar abu dengan rumus:

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{\text{Berat Akhir} - \text{Berat cawan kosong}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

### 3.5.3 Analisis Kadar Protein Metode Kjeldahl (AOAC, 2005)

1. Alat dan bahan disiapkan.
2. Sampel bahan dihaluskan menggunakan mortal martil.
3. Sampel sebanyak 0,1 gram ditimbang dan dipindahkan kedalam labu kjeldahl berukuran 30 ml.
4. Katalisator ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HgO}$ ) ditambahkan 1 spatula dan 2 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  98% dimasukkan kedalam labu kjeldahl.
5. Labu kjeldahl yang telah berisi sampel dan katalisator dididihkan selama 2-5 jam hingga cairan menjadi jernih.
6. Sampel didinginkan selama 24 jam.



7. Sampel ditambahkan aquades sebanyak 15 mL dan ditambahkan 10 mL larutan NaOH lalu dimasukkan kedalam tabung distilasi.
8. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sebanyak 15 mL diletakkan kedalam Erlenmeyer 125 mL dibawah kondensor.
9. Sampel didistilasi hingga dihasilkan distilat 15 mL berwarna kehijauan dalam Erlenmeyer.
10. Hasil distilasi dititrasi menggunakan larutan HCl 0,02 N hingga berubah warna menjadi merah jambu.
11. Total N dan persentase protein dihitung dengan rumus

$$\% N = \frac{\text{mL HCl} \times N \text{ HCl} \times 14,008}{\text{Berat bahan}} \times 100$$

$$\% \text{ Protein} = \% N \times \text{Faktor konversi (6,25)}$$

#### **3.5.4 Analisis Kadar Lemak Metode Soxhlet (AOAC, 2005)**

1. Sampel yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1-2 gram.
2. Sampel dimasukkan kedalam kertas thimble yang terbuat dari kertas saring.
3. Pelarut petroleum benzena sebanyak 25 mL dimasukkan kedalam labu lemak.
4. Timbel dimasukkan kedalam set alat ekstraksi Soxhlet dan dipasangkan dengan pendingin balik.
5. Ekstraksi lemak berlangsung selama ± 4 jam.
6. Pelarut yang ada pada hasil ekstraksi dihilangkan menggunakan *rotary evaporator* atau oven dengan suhu 100°C.
7. Labu lemak yang telah dioven kemudian didinginkan pada desikator selama 15 menit.

8. Kadar lemak dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar lemak (\%)} = \frac{\text{Berat akhir} - \text{Berat labu kosong}}{\text{Berat bahan (g)}} \times 100\%$$

### 3.5.5 Analisis Kadar Karbohidrat *By Difference* (Sudarmadji, 2003)

Kadar karbohidrat (%) = 100% - (kadar protein + kadar lemak + kadar air + kadar abu)

### 3.5.6 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Yue & Xu, 2008)

#### A. Pembuatan Larutan DPPH

1. Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 4 mg dan dimasukkan kedalam botol gelap
2. Larutkan serbuk DPPH dengan etanol 96% pada labu ukur 50 ml sampai batas tera kemudian dihomogenkan
3. Simpan larutan DPPH pada kondisi dingin selama 20 menit dan sebaiknya segera mungkin digunakan

#### B. Ekstraksi Bahan Aktif

1. Bahan dihaluskan menggunakan mortal martil
2. Bahan ditimbang sebanyak 1gram ke dalam tube sentrifus
3. Ditambahkan larutan etanol 96% sebanyak 9 ml
4. Sentrifus selama 10 menit dengan kecepatan 40000 rpm
5. Supernatant dipisahkan untuk uji aktivitas antioksidan

#### C. Analisis Aktivitas Antioksidan

1. Sebanyak 1 ml supernatant diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi
2. Ditambahkan 2 ml larutan DPPH dan dihomogenkan

3. Tutup mulut dan badan tabung reaksi menggunakan aluminium foil
4. Sampel disimpan pada kondisi gelap selama 30 menit
5. Serapan Panjang gelombang dibaca menggunakan spektrofotometer UV Vis pada  $\lambda = 517 \text{ nm}$
6. Persen (%) inhibisi dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs blanko} - \text{Abs Sampel} \times 100}{\text{Abs blanko}}$$

### 3.5.7 Penentuan Total Fenol Metode Folin-Ciocalteu (Ahmad dkk., 2015)

#### A. Pembuatan Larutan Ekstra Dari *Brownies*

Sampel yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 20 mg, kemudian dilarutkan dengan methanol sebanyak 20 ml sehingga dihasilkan larutan ekstrak *brownies* 1000 ppm.

#### B. Pembuatan Kurva Standar Asam Galat

1. Sebanyak 10 mg asam galat ditimbang dan dilarutkan dengan methanol 70% yang menghasilkan larutan standar asam galat 100 ppm
2. Larutan tersebut dipipet sebanyak 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; ml dan dicukupkan dengan methanol hingga 10 ml, sehingga dihasilkan 10, 15, 20, 25, 30, 35 ppm
3. Masing-masing ditambahkan 10, 15, 20, 25, 30, 35 ppm dan ditambahkan 0,4 ml reagen Folin-Ciocalteu dikocok dan didiamkan selama 6 menit, lalu ditambahkan 4 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% kocok hingga homogen
4. Ditambahkan aquades hingga 10 ml dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang
5. Diukur absorbansi pada Panjang gelombang 748 nm, dibuat kurva kalibrasi hubungan antara asam galat galat ( $\mu\text{g/mL}$ ) dengan absorbansi.

### C. Pengujian Total Fenol

1. Ekstrak *brownies* dipipet sebanyak 2 ml
2. Sampel ditambahkan reagen Folin-Ciocalteu sebanyak 0,4 ml dan dikocok, kemudian didiamkan selama 6 menit, lalu ditambahkan 4 ml larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% kocok hingga homogen
3. Ditambahkan aquades hingga 10 ml, dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang
4. Diukur absorbansi campuran pada Panjang gelombang 748 nm menggunakan spektrofotometer UV Vis
5. Penentuan total fenol dilakukan dengan cara plotting nilai absorbansi pada kurva standar asam galat. Kadar total fenol dinyatakan dalam milligram ekivalen asam galat per gram berat sampel (mg GAE/g)

#### **3.5.8 Analisis Tekstur menggunakan *Texture Analyzer* (Padmaja., 2015 dalam Winarsih., 2018)**

Tekstur diukur menggunakan texture analyze EZ Test EZ-SX. Penetrasi jig (jarum) ke dalam sampel akan membutuhkan gaya tertentu sesuai dengan tingkat kekerasan kekerasan, proses pengukuran tekstur diatur dengan kecepatan 1,5 mm/s.

#### **3.5.9 Analisis Organoleptik**

Uji organoleptik menggunakan uji hedonik, dengan menggunakan 25 panelis tidak terlatih. Uji organoleptik pada penelitian ini meliputi warna, aroma, rasa dan tekstur. Adapun skoring yang digunakan pada tingkat kesukaan panelis yaitu skor 1-7 sebagai berikut :

Tabel 3. Skor Organoleptik *Brownies* Panggang dengan Substitusi Tepung Ubi Jalar Ungu dan Putih

Nilai	Rasa	Aroma	Warna	Tekstur	Kesukaan	
1	Sangat tidak terasa manis ubi jalar	Sangat beraroma jalar	tidak ubi coklat	Sangat tidak berwarna coklat	Sangat tidak lembut	Sangat tidak suka
2	Tidak terasa manis ubi jalar	Tidak beraroma ubi jalar	Tidak berwarna coklat	Tidak lembut	Tidak suka	
3	Agak tidak terasa manis ubi jalar	Agak beraroma jalar	tidak ubi coklat	Agak tidak berwarna coklat	Agak tidak lembut	Agak tidak suka
4	Netral	Netral	Netral	Netral	Netral	Netral
5	Agak terasa manis ubi jalar	Agak beraroma ubi jalar	Agak berwarna coklat	Agak lembut	Agak suka	
6	Terasa manis ubi jalar	Beraroma jalar	ubi coklat	Berwarna coklat	Lembut	Suka
7	Sangat terasa manis ubi jalar	Sangat beraroma jalar	ubi coklat	Sangat berwarna coklat	Sangat lembut	Sangat suka

### 3.5.10 Analisis Data

Data yang digunakan untuk pengamatan fisikokimia dan uji organoleptic menggunakan analisa ragam atau *Analysis of Variance* (ANOVA) pada  $\alpha=5\%$  untuk mengetahui pengaruh dari setiap perlakuan. Apabila hasil uji analisis ragam menunjukkan F hitung lebih besar dari F Tabel pada taraf 5% maka berarti adanya pengaruh nyata terhadap parameter penelitian dan akan dilakukan analisa lanjut menggunakan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) dengan taraf signifikan  $\alpha=5\%$ .