

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen laboratorium dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 4 taraf perlakuan, yaitu formulasi substitusi tepung terigu : tepung ikan teri : tepung kecambah kacang kedelai. Dasar penetapan taraf perlakuan berdasarkan Permenkes RI No. 28 Tahun 2019, angka kecukupan gizi wanita usia subur dalam sehari mengandung pada usia 16-18 energi 2100 kkal, protein 65 g, lemak 70 g, karbohidrat 300 g, Fe 15 mg dan pada tahun usia 19-29 tahun energi sebesar 2250 kkal, protein 60 g, lemak 65 g, karbohidrat 360 g, Fe 18 mg. Kemudian, perhitungan zat gizi makanan selingan wanita usia subur dilakukan secara empiris yaitu sebesar 10% dari kebutuhan angka kecukupan gizi, usia 16-18 tahun yaitu energi 210 kkal, protein 6,5 g, lemak 7 g, karbohidrat 30 g, Fe 1,5 mg dan pada usia 19-29 tahun energi sebesar 225 kkal, protein 6 g, lemak 6,5 g, karbohidrat 36 g, dan Fe 1,5 g. Nilai kadar kimia, dan organoleptik mengacu pada SNI 01-3840-1995. Masing-masing taraf perlakuan mendapatkan perlakuan replikasi sebanyak 3 kali sehingga jumlah unit percobaan adalah 12 unit. Replikasi secara lengkap disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Taraf Perlakuan dan Unit Penelitian

Persentase Formulasi Tepung Terigu : Tepung Ikan Teri : Tepung Kecambah Kacang Kedelai	Replikasi		
	1	2	3
P ₀ (100 : 0 : 0)	X ₀₁	X ₀₂	X ₀₃
P ₁ (70 : 5 : 25)	X ₁₁	X ₁₂	X ₁₃
P ₂ (70 : 15 : 15)	X ₂₁	X ₂₂	X ₂₃
P ₃ (70 : 25 : 5)	X ₃₁	X ₃₂	X ₃₃

Keterangan:

- X₀₁ : unit percobaan pada taraf perlakuan P₀ replikasi 1
- X₀₂ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₀ replikasi 2
- ...
- X₃₃ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₃ replikasi 3

Setiap unit penelitian memiliki peluang yang sama untuk mendapatkan taraf perlakuan, maka dalam penempatan unit penelitian digunakan randomisasi atau pengacakan. Langkah randomisasi dalam penempatan unit penelitian disajikan pada Lampiran 1.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2025, yang bertempat di:

1. Laboratorium Striata untuk pengolahan proses penepungan ikan teri.
2. Laboratorium Herbal Materia Medica untuk pengolahan tepung kecambah kacang kedelai.
3. Laboratorium Ilmu Teknologi Pangan (ITP) Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Malang untuk pembuatan *muffin*.
4. Laboratorium Gizi Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Airlangga untuk analisis zat gizi (protein, lemak, dan Fe) dan analisis kimia (kadar air dan kadar abu).
5. Laboratorium UCR Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Malang untuk uji mutu organoleptik *muffin*.


C. Bahan dan Alat

1. Bahan


a. Pembuatan *Muffin*

Spesifikasi bahan pembuatan *muffin* disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Spesifikasi Bahan Pembuatan Tepung Ikan Teri, Tepung Kecambah Kacang Kedelai dan *Muffin*

No	Bahan	Spesifikasi	Gambar
1	Tepung terigu	Tepung terigu protein sedang merk 'Segitiga Biru', berwarna putih kekuningan, tidak berbau apek, tidak menggumpal	

No	Bahan	Spesifikasi	Gambar
2	Ikan teri	Jenis ikan teri jengki, segar, bersih, berwarna terang, panjang 6-7cm, ukuran seragam, aroma khas ikan tidak menyengat, dibeli di Pasar Besar Malang	
3	Kacang Kedelai	Kacang kedelai lokal (Grobogan), berwarna kuning, bersih, tidak berlubang, tidak basah, dibeli di BSIP Aneka Kacang Malang	
4	Gula Pasir	Gula pasir merk 'Gulaku', kemasan bagus, berwarna putih, tidak menggumpal	
5	Telur	Telur ayam ras, bersih, utuh, cangkang tidak retak, tidak busuk, 1kg berisi 15 butir	
6	Mentega	Mentega merk 'Anchor', kemasan bagus, berwarna kuning pucat, tidak tengik, penyimpanan di lemari pendingin	
7	Coklat batang	Coklat batang merk 'Collata', kemasan bagus, berwarna coklat, bertekstur keras, tidak kadaluarsa	
8	Soda kue	Soda kue merk 'Kopoe Kopoe', kemasan bagus dan utuh, berwarna putih, tidak menggumpal	
9	Susu Skim Cair	Susu skim cair merk 'Greenfields', kemasan bagus dan utuh, berwarna putih, tidak kental	

No	Bahan	Spesifikasi	Gambar
10	Garam	Garam merk "Cap Kapal" tidak kadaluarsa, tidak menggumpal, kemasan tidak rusak, berwarna putih	

Jumlah komposisi bahan penyusun *Muffin* Substitusi Tepung Ikan Teri dan Tepung Kecambah Kacang Kedelai setiap taraf perlakuan disajikan dalam Tabel 10. Setiap unit penelitian menghasilkan 40 *cup* dengan berat \pm 60 gram setiap *cup*. Sebagai sampel untuk uji kadar zat gizi yaitu 1 *cup* atau 60 gram. Sementara itu, uji organoleptik dengan 30 orang panelis masing-masing diberikan sampel seberat 30 gram. Total sampel setiap perlakuan yang dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan uji kadar gizi dan uji organoleptik yaitu 960 gram atau setara dengan 16 *cup*. Sehingga dibutuhkan $\frac{1}{2}$ resep pada setiap unit penelitian. Total kebutuhan bahan dengan penjumlahan pada setiap unit penelitian dapat dilihat pada Lampiran 4.

Berdasarkan penelitian Hendrayati dkk (2020), tepung ikan teri memiliki rendemen sebesar 18,40%. Kemudian tepung ikan teri memiliki BDD sebesar 100%. Untuk mengetahui total bahan baku yang dibutuhkan dapat menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Bahan baku yang dibutuhkan (g)} = \left(\frac{T (g) \times 100}{\text{rendemen} (\%)} \right) \times \frac{100}{\text{BDD} (\%)}$$

Keterangan:

T : tepung yang dibutuhkan (g)
Rendemen : 18,40% (tepung ikan teri)
BDD : 100% (tepung ikan teri)

Setelah dilakukan perhitungan menggunakan rumus diatas, didapatkan hasil kebutuhan bahan dalam pembuatan tepung ikan teri dengan 9 unit penelitian yaitu 506,25 gram, bahan baku ikan teri segar yang dibutuhkan yaitu sebesar 2751,3 gram atau dibulatkan menjadi dengan 3000 gram.

Berdasarkan penelitian (Saputro dkk., 2015), tepung kecambah kacang kedelai memiliki rendemen sebesar 41,7%.

Diketahui tepung kecambah kacang kedelai memiliki BDD (Berat Dapat Dimakan) sebesar 100%. Untuk mengetahui total bahan baku yang dibutuhkan dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Bahan baku yang dibutuhkan (g)} = \left(\frac{T (g) \times 100}{\text{rendemen} (\%)} \right) \times \frac{100}{\text{BDD}(\%)}$$

Keterangan:

T : tepung yang dibutuhkan (g)
 Rendemen : 41,7% (tepung kecambah kacang kedelai)
 BDD : 100% (tepung kecambah kacang kedelai)

Tabel 10. Komposisi Bahan Penyusun *Muffin* Substitusi Tepung Ikan Teri dan Tepung Kecambah Kacang Kedelai per Formulasi Penelitian

Bahan	Taraf Perlakuan				Total
	P0	P1	P2	P3	
Terigu (g)	1125	787,5	787,5	787,5	3487,5
Tepung teri (g)	0	56,25	168,75	281,25	506,25
Tepung Kecambah Kedelai (g)	0	281,25	168,75	56,25	506,25
Susu Skim Cair (ml)	937,5	937,5	937,5	937,5	3750
Coklat Batang (g)	750	750	750	750	3000
Gula Pasir (g)	510	510	510	510	2040
Mentega (g)	225	225	225	225	900
Telur (g)	225	225	225	225	900
Baking Soda (g)	22,5	22,5	22,5	22,5	90
Garam (g)	6,75	6,75	6,75	6,75	27
TOTAL (g)	3801,75	3801,75	3801,75	3801,75	

Setelah dilakukan perhitungan menggunakan rumus diatas, didapatkan hasil kebutuhan bahan dalam pembuatan tepung kecambah kacang kedelai dengan 9 unit penelitian yaitu 506,25 gram, bahan baku kacang kedelai yang dibutuhkan yaitu sebesar 1214 gram atau dibulatkan menjadi dengan 1250 gram.

b. Bahan Analisis Kadar Kimia (kadar air dan kadar abu)

1) Kadar air

Bahan yang digunakan untuk analisis yaitu *muffin* formulasi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai.

2) Kadar abu

Bahan yang digunakan untuk analisis abu yaitu *muffin* formulasi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai.

c. Bahan Analisis Kadar Zat Gizi (kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat, nilai energi, dan kadar Fe)

1) Kadar protein

Bahan yang digunakan yaitu *muffin* formulasi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai, CuSO_4 , asam laktat 10%, KMnO_4 (1:9), H_2SO_4 pekat, selenium mix, HCL standar, asam borat 3%, indikator metil merah, dan aquades.

2) Kadar lemak

Bahan yang digunakan yaitu *muffin* formulasi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai, pelarut lemak, dan kertas saring.

3) Kadar karbohidrat.

Bahan yang digunakan adalah hasil perhitungan kadar air, abu, protein, dan lemak *muffin* formulasi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai.

4) Nilai energi

Bahan yang digunakan berupa data hasil analisis kadar air, abu, protein, lemak, dan karbohidrat *muffin* formulasi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai.

5) Kadar Fe

Bahan yang digunakan adalah *muffin* formulasi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai, HCL 1 N, NH_3 pekat, aquades, larutan gidrosil amonium klorida, dan larutan betafenantrolin.

d. Bahan Analisis Mutu Organoleptik dengan Hedonic Scale Test

Bahan yang digunakan adalah *muffin* formulasi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai, serta air mineral untuk seluruh panelis.

e. Bahan Analisis Taraf Perlakuan Terbaik

Bahan yang digunakan untuk analisis taraf perlakuan terbaik adalah data ranking variabel pada formulir panelis

2. Alat

a. Pembuatan *Muffin*

1) Alat penepungan

Alat yang dibutuhkan selama proses penepungan ikan teri dan penepungan kecambah kacang kedelai adalah: *aluminium foil*, *plastic wrap*, timbangan, oven pengering, blender, kompor, panci, risopan, peniris, baskom, ember berlubang, kain hitam, piring, sendok makan, loyang, talenan, dan ayakan tepung 80 mesh.

2) Alat pengolahan *muffin*

Alat yang digunakan dalam pengolahan *muffin* antara lain timbangan digital, *mixer*, *wisk*, spatula, baskom, *electric oven*.

b. Alat analisis kadar kimia (kadar air dan kadar abu)

1) Kadar air

Alat yang digunakan untuk menganalisis kadar air yaitu menggunakan neraca analitik, oven, cawan, penjepit cawan, spatula, eksikator, botol timbang tertutup, dan labu didih.

2) Kadar abu

Alat yang digunakan untuk menganalisis kadar abu antara lain oven, tanur, pembakaran bunsen, desikator, penjepit cawan, spatula, neraca analitik, dan cawan porselen.

c. Alat analisis kadar zat gizi (kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat, nilai energi)

1) Kadar protein

Alat yang digunakan untuk menganalisis kadar protein antara lain timbangan analitik, buret, *hot plate*, pemanas desikator,

labu Kjedadhl, labu ukur, *breaker glass*, statif, pipet ukur, spatula, kondensor, labu destilasi, statif, erlenmeyer dan magnetiz stirrer.

2) Kadar lemak

Alat yang digunakan untuk menganalisis kadar lemak dengan menggunakan labu lemak, kertas saring, alat soxhlet, pemanas listrik, oven, neraca analitik, kapas bebas lemak, cawan, penjepit cawan, erlenmeyer, dan spatula.

3) Kadar karbohidrat

Penentuan kandungan karbohidrat total secara *by different* dihitung sebagai selisih 100 dikurangi kadar protein dan lemak. Alat yang digunakan adalah kalkulator dan alat tulis.

4) Nilai energi

Analisis energi menggunakan faktor Atwer yaitu 1 gram karbohidrat, protein, dan lemak secara berturut-turut menghasilkan 4, 4 dan 9 kkal (Almatsier, 2009). Alat yang digunakan adalah kalkulator dan alat tulis.

5) Kadar Fe

Alat yang digunakan untuk menganalisis kadar Fe dengan menggunakan spektrofometri, timbangan analitik, cawan, oven, pipet ukur, erlenmeyer, statif dan claf, buret, karet penghisap, dan pipet tetes.

d. Alat analisis mutu organoleptik dengan Hedonic Scale Test

Alat yang digunakan untuk menganalisis mutu organoleptik yaitu formulir uji organoleptik, stiker label, mangkuk kecil, gelas kecil, nampan kayu kecil, dan alat tulis. Formulir uji organoleptik disajikan pada Lampiran 5.

e. Alat analisis taraf perlakuan terbaik

Alat yang digunakan untuk menganalisis taraf perlakuan terbaik yaitu formulir penilaian taraf perlakuan terbaik. Formulir penentuan taraf perlakuan terbaik disajikan pada Lampiran 6.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian adalah formulasi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai yang digunakan dalam setiap taraf perlakuan pengolahan *muffin*.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian adalah kadar kimia (kadar air dan kadar abu), kadar zat gizi (kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat), nilai energi, kadar Fe dan mutu organoleptik (warna, aroma, rasa, tekstur).

E. Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional variabel penelitian disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Definisi Operasional Tabel

Variabel	Definisi Operasional (+ indikator hasil pengukuran)	Metode dan Alat Pengukuran	Skala Pengukuran
Formulasi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai	Formulasi tepung terigu : tepung ikan teri : tepung kecambah kacang kedelai dalam persen P0 (100 : 0 : 0) P1 (70 : 5 : 25) P2 (70 : 15 : 15) P3 (70 : 25 : 5)	-	-
Kadar air <i>muffin</i>	Jumlah air dalam <i>muffin</i> dinyatakan dalam gram/ 100 gram	Metode Pengeringan (oven)	Rasio
Kadar abu <i>muffin</i>	Jumlah abu dalam <i>muffin</i> dinyatakan dalam gram/ 100 gram	Metode pengabuan kering	Rasio
Kadar protein <i>muffin</i>	Jumlah protein dalam <i>muffin</i> dinyatakan dalam gram/ 100 gram	Semimikro kjeldahl	Rasio
Kadar lemak <i>muffin</i>	Jumlah lemak dalam <i>muffin</i> dinyatakan dalam gram/ 100 gram	Soxhlet extractions	Rasio

Variabel	Definisi Operasional (+ indikator hasil pengukuran)	Metode dan Alat Pengukuran	Skala Pengukuran
Kadar karbohidrat <i>muffin</i>	Jumlah energi dalam <i>muffin</i> yang dinyatakan dalam gram/ 100 gram	Metode by difference	Rasio
Nilai energi <i>muffin</i>	Jumlah energi dalam <i>muffin</i> dinyatakan dalam kkal/ 100 gram dan ditetapkan melalui perhitungan empiris	Metode atwater	Rasio
Kadar Fe <i>muffin</i>	Jumlah Fe dalam <i>muffin</i> yang dinyatakan mg/ 100 gram	Metode SSA (Spektrometer Serapan Atom)	Rasio
Mutu organoleptik	Tingkat kesukaan panelis terhadap <i>muffin</i> atribut parameter warna, aroma, rasa, dan tekstur. Dinyatakan dalam skala hedonik, yaitu: 4 = sangat suka 3 = suka 2 = tidak suka 1 = sangat tidak suka	Panelis yang digunakan adalah panelis tidak terlatih berjumlah 30 orang	Ordinal

F. Tahapan Penelitian

1. Penelitian pendahuluan

Pendahuluan dilakukan bertujuan agar mendapatkan formulasi terbaik dengan penentuan formulasi dan pembuatan *muffin* dengan substitusi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai. Penentuan formulasi didasarkan pada perhitungan zat gizi secara empiris yang disesuaikan dengan kebutuhan selingan wanita usia subur usia 16-18 tahun yang terlampir pada Lampiran 2. Kandungan zat gizi *muffin* masing-masing taraf perlakuan disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Nilai Gizi Masing-Masing Taraf Perlakuan per 100 gram *Muffin* sebagai Selingan Wanita Usia Subur

Tarf Perlakuan	Estimasi Kandungan Energi dan Zat Gizi <i>Muffin</i> per 100 gram Sajian				
	Energi (Kkal)	Protein (g)	Lemak (g)	Karbohidrat (g)	Fe (mg)
Kebutuhan Usia 16-18 Tahun	210	6,5	7	30	1,5
Kebutuhan Usia 19-29 Tahun	225	6	6,5	36	1,8
P0	317,3	4,7	11,7	49,2	1,2
P1	326,6	7,7	13,4	43,9	2,6
P2	323,4	7,9	12,9	44,0	2,7
P3	320,1	8,1	12,4	44,0	2,7

Penelitian pendahuluan yang dilakukan pada pembuatan produk diperoleh hasil, *muffin* memiliki warna coklat, rasa manis, beraroma manis dan sedikit aroma tepung ikan teri, serta memiliki tekstur yang lembut. Dalam satu resep menghasilkan 40 buah *muffin* dengan cup berdiameter 4,5 cm. Setiap cup diisi sebanyak $\frac{3}{4}$ cup atau ± 60 gram, setelah matang *muffin* memiliki berat rata-rata 57,5 gram.



Gambar 2. Kenampakan Uji Coba *Muffin* P2
Sumber : Dokumen Pribadi

2. Penelitian Utama

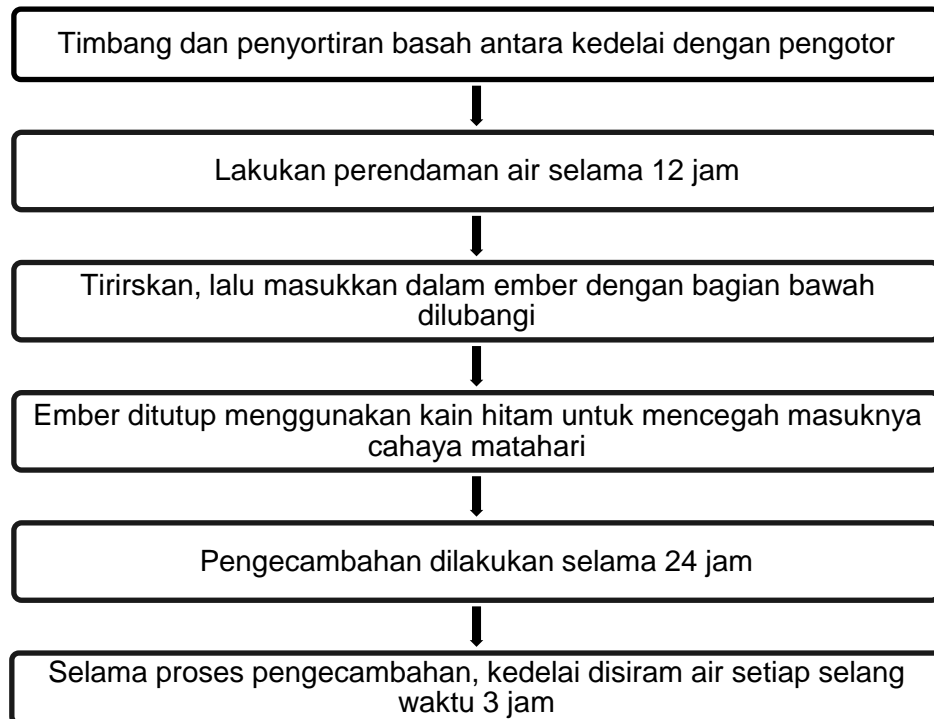
Penelitian utama yaitu pengolahan tepung ikan teri disajikan pada Gambar 3, pengolahan tepung kacang kedelai disajikan pada Gambar 4 dan Gambar 5, serta pengolahan *muffin* disajikan pada Gambar 6.

a. Pengolahan tepung ikan teri



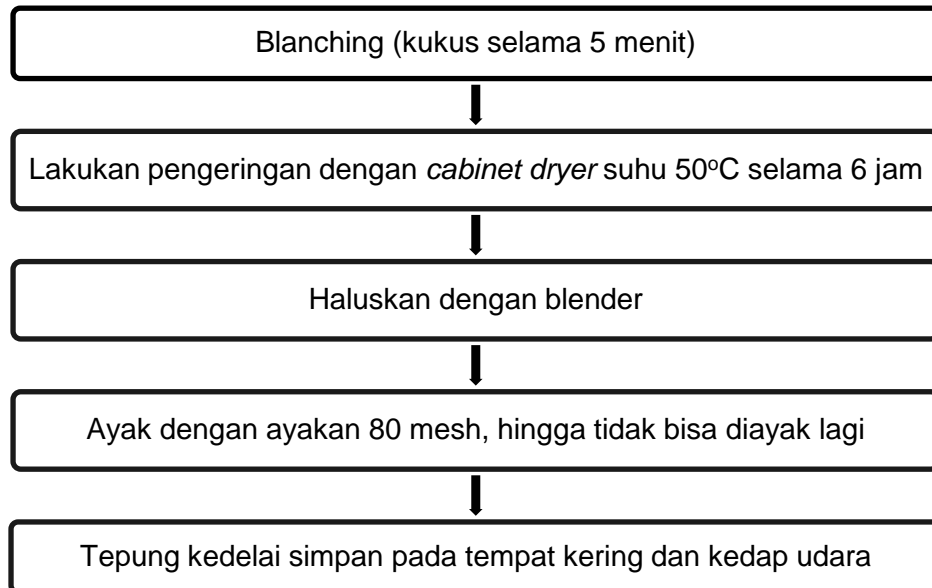
Gambar 3. Diagram Alir Pengolahan Tepung Ikan Teri
(Faroj, 2019 dan Surilayani dkk., 2019 dengan modifikasi)

b. Pengecambahan kacang kedelai



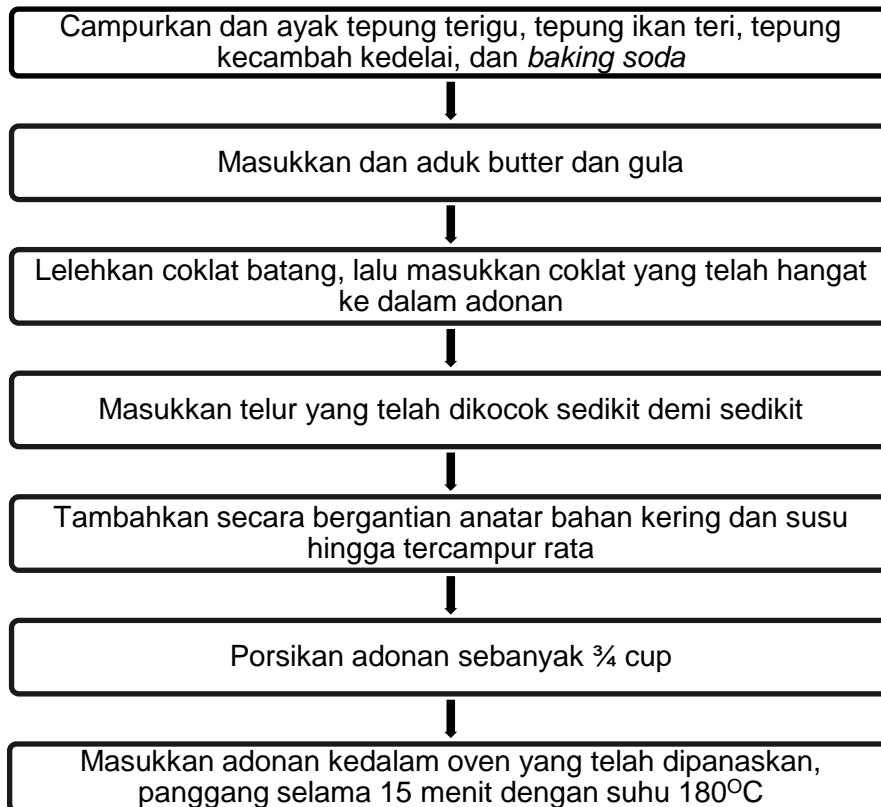
Gambar 4. Diagram Alir Pengolahan Pengecambahan Kacang Kedelai
(Astawan & Hazmi, 2016 dengan modifikasi)

c. Pengolahan tepung kecambah kacang kedelai



Gambar 5. Diagram Alir Pengolahan Penepungan Kecambah Kacang Kedelai
(Aminah & Hersoelistyorini, 2012)

d. Pengolahan *muffin*



Gambar 6. Diagram Alir Pengolahan *Muffin*

(Gisslen, 2013 dengan modifikasi)

G. Metode Analisis

1. Analisis Nilai Zat Gizi (*Calculated Value*)

Nilai hasil perhitungan zat gizi dari setiap jenis bahan makanan yang digunakan dengan koreksi faktor kehilangan atau penambahan pada berat bahan makanan (*yield factor*) dan perubahan zat gizi (*retention factor*) akibat proses pengolahan. *Yield factor* dan kandungan gizi makanan dihitung menggunakan persamaan berikut:

% *Yield Factor* Setiap Taraf Perlakuan

$$\% \text{ Yield Factor} = \frac{\text{berat matang (g)}}{\text{berat mentah (g)}} \times 100$$

Kandungan Gizi Makanan Setiap Taraf Perlakuan

$$\text{Nilai Gizi Makanan Matang} = \frac{\text{Nilai Gizi Makanan Mentah} \times \text{RF}}{\text{YF}}$$

2. Analisis Kadar Air dengan Metode Oven

Berdasarkan AOAC (2005), prosedur yang digunakan yaitu:

- Memanaskan cawan dalam oven dengan suhu 100-105°C selama 30 menit
- Mendinginkan cawan dalam desikator selama 15 menit, dan menimbang cawan menggunakan neraca analitik
- Menimbang sampel sebanyak 1-2g pada cawan
- Mengeringkan sampel pada oven dengan suhu 100-105°C selama 6 jam
- Biarkan dingin dalam eksikator selama 30 menit
- Melakukan penimbangan, ulangi prosedur ini hingga diperoleh bobot tetap

Kadar air dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{W1 - W2}{W1 - W0} \times 100\%$$

Keterangan:

W0 = bobot cawan kosong (gr)

W1 = bobot cawan dan sampel sebelum dikeringkan (gr)

W2 = bobot cawan dan sampel setelah dikeringkan (gr)

3. Analisis Kadar Abu dengan Metode Pengabuan Kering

Berdasarkan AOAC (2005), prosedur yang digunakan yaitu:

- a. Memanaskan cawan dalam oven dengan suhu 100-105°C selama 30 menit
- b. Mendinginkan cawan dalam desikator selama 15 menit, dan menimbang cawan menggunakan neraca analitik
- c. Menimbang sampel sebanyak 2-3g ke dalam cawan porselen/ platina (telah diketahui bobotnya)
- d. Arangkan diatas nyala pembakar, kemudian abukan ke dalam tanur listrik pada suhu maksimum 550°C hingga pengabuan sempurna (buka pintu tanur beberapa kali, agar oksigen dapat masuk)
- e. Mendinginkan dalam eksikator, kemudian timbang hingga bobot tetap

Kadar abu dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$Kadar\ abu = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

Keterangan:

- A = bobot cawan kosong (gr)
B = bobot cawan dan sampel sebelum dikeringkan (gr)
C = bobot cawan dan sampel setelah dikeringkan (gr)

4. Analisis Kadar Protein dengan Metode Semimikro Kjeldahl

Berdasarkan AOAC (2005), prosedur yang digunakan yaitu:

- a. Timbang sampel sebanyak 0,5 g, masukkan ke dalam labu Kjeldahl 100ml
- b. Tambahkan 0,5 g tablet kjedahl selen dan 2 ml H₂SO₄ pekat
- c. Panaskan dengan pemanas listrik atau api pembakar hingga mendidih dan larutan berubah menjadi jernih kehijauan (sekitar 3 jam)
- d. Tunggu hingga dingin, lalu encerkan dan masukkan ke dalam labu ukur 100ml (tepat hingga tanda garis)
- e. Ambil larutan dengan pipet sebanyak 5ml NaOH 30% dan 2 tetes indikator PP

- f. Suling larutan selama kurang lebih 10 menit (penampung menggunakan larutan asam borat 4% dengan campuran indikator MR-BCG sebanyak 4 tetes
- g. Menambahkan 5 ml aquades ke tabung untuk mencuci sisa larutan dan menampung desilat dalam larutan asam borat 3%
- h. Jika sudah bersifat basa, titrasi dengan HCl 0,02 N hingga terbentuk warna merah muda

Kadar protein dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ total nitrogen} = \frac{(ml \text{ HCl} - ml \text{ blanko}) \times N \text{ HCl} \times 14,007 \times 100}{mg \text{ sampel}}$$

$$\% \text{ protein} = \% \text{ total nitrogen} \times \text{faktor konversi}$$

Keterangan:

Berat atom nitrogen = 14,007

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

5. Analisis Kadar Lemak dengan Metode Soxhlet Extraction

Berdasarkan AOAC (2005), prosedur yang digunakan yaitu:

- a. Menimbang 5g sampel, memasukkan sampel ke dalam selongsong kertas dan memasukkan dalam soxhlet extraction
- b. Memasang alat kondensor diatas dan labu lemak di bawah
- c. Menambahkan pelarut cloroform (1,5 x vol ekstraktor) dan ekstrak selama 3 jam
- d. Mendestilasi pelarut yang berada dalam abu lemak dan mengangkat labu lemak
- e. Mengeringkan dalam oven dengan suhu 1005°C hingga berat konstan
- f. Mendinginkan dalam desikator dan menimbang berat

Kadar lemak dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ lemak} = \frac{\text{Berat lemak (gr)}}{\text{Berat sampel (gr)}} \times 100\%$$

6. Analisis Kadar Karbohidrat dengan Metode By Difference

Berdasarkan Tejasari (2005), kadar karbohidrat dihitung sebagai pengurangan persentase total kadar air, kadar abu, kadar protein, dan kadar lemak. Kadar karbohidrat dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$KH(\%) = 100 - \%(air + abu + lemak + protein)$$

7. Analisis Nilai Energi dengan Metode Atwater

Berdasarkan Almatsier, S (2009), nilai energi ditetapkan melalui perhitungan komposisi protein, lemak, dan karbohidrat. Nilai energi dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$Nilai\ energi = (4 \times \%karbohidrat) + (4 \times \%protein) + (9 \times \%lemak)$$

8. Analisis Kadar Besi dengan Metode SSA (Spektrofotometri Serapan Atom)

Berdasarkan SNI 6989-84:2019, prosedur yang digunakan yaitu

- a. Menimbang sampel sebanyak 5 gram, kemudian ditambahkan HNO₃ pekat 10mL. Memanaskan diatas waterbath selama 10 menit dengan suhu kurang lebih 80 °C. Penyaringan kedalam labu ukur 25mL dan tambahkan aquades hingga tanda batas
- b. Pembuatan larutan baku Fe 100mg/L. Ambil 10mL larutan induk Fe 1.000 mg/L, masukkan ke dalam labu ukur 100 mL, tambahkan larutan pengencer hingga tanda batas dan homogen
- c. Pembuatan larutan kerja Fe. Pipet larutan baku besi 10 mg/L masing-masing ke labu ukur 100mL, tambahkan larutan pengencer hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi Fe 0,0 mg/L; 0,5 mg/L; 1,0 mg/L; 2,0 mg/L; 3,0 mg/L; 4,0 mg/L; 6,0 mg/L
- d. Melakukan optimalisasi alat SSA sesuai petunjuk penggunaan alat, ukur masing-masing larutan kerja pada panjang gelombang 248,3 nm. Membuat kurva kalibrasi untuk mendapatkan korelasi regresi linier dan melakukan pengukuran contoh uji yang telah dipersiapkan. Kadar besi dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$Kadar\ Besi\ (mg/L) = C \times fp$$

Keterangan

C = kadar besi yang berasal dari hasil pengukuran (mg/L)

Fp = faktor pengenceran

9. Uji Mutu Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan menggunakan metode Hedonic Scale Test untuk mengetahui tingkat kesukaan terhadap *muffin* substitusi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai. Parameter yang diuji yaitu warna, aroma, rasa, dan tekstur. Skala kesukaan dinyatakan dalam 4 tingkat, yaitu:

- 4 = sangat suka
- 3 = suka
- 2 = tidak suka
- 1 = sangat tidak suka

Panelis dalam penelitian ini adalah mahasiswa Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang Jurusan Gizi yang berjumlah 30 orang dengan kriteria:

- a. Bersedia menjadi panelis
- b. Tidak boleh berada dalam kondisi kenyang atau lapar
- c. Dalam keadaan sehat
- d. Tidak memiliki pantangan terhadap bahan penyusun produk

Langkah-langkah penilaian uji organoleptik:

- a. Panelis ditempatkan pada ruangan khusus (laboratorium organoleptik)
- b. Masing-masing taraf perlakuan produk diletakkan pada piring kecil berwarna putih yang telah diberi kode sebagai wadah
- c. Panelis diberi air mineral setiap selesai melakukan penilaian unit perlakuan makan untuk menghilangkan rasa setiap unit percobaan yang sebelumnya
- d. Panelis diharapkan untuk menilai setiap sampel yang diberikan dan diminta untuk mengisi form uji mutu organoleptik seperti yang terlampir pada Lampiran 5

10. Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

Penentuan taraf perlakuan terbaik menggunakan metode indeks efektivitas. Panelis diminta untuk memberikan pendapat tentang variabel yang mempengaruhi mutu seperti kadar abu, kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar karbohidrat, nilai energi, warna, aroma, rasa, dan tekstur dengan memberi nilai pada variabel tersebut. Panelis dapat

memberi nilai yang sama pada beberapa variabel yang dianggap memiliki pengaruh yang sama pentingnya terhadap *muffin*. Panelis diminta untuk mengurutkan 11 variabel dari tertinggi ke terendah dengan memberikan nilai 1-11. Angka tertinggi untuk variabel terpenting dan angka terendah untuk variabel kurang penting.

Panelis yang digunakan pada penentuan taraf perlakuan terbaik yaitu berjumlah 10 panelis terlatih. Berikut adalah kriteria panelis:

- a. Panelis terlatih (dosen Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang)
- b. Memahami tentang variabel penting yang terdapat dalam *muffin* untuk selingan wanita usia subur

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Kadar Zat Gizi dan Kadar Kimia

Pengolahan data kadar zat gizi dan kadar kimia *muffin* bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh substitusi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai pada masing-masing taraf perlakuan. Analisis kadar zat gizi dan kadar kimia pada penelitian ini menggunakan analisis statistik *One Way Anova* pada tingkat kepercayaan 95% pada variabel terikat (*dependent variable*) dengan skala data interval atau rasio.

Penarikan kesimpulan:

H_0 ditolak apabila nilai *Sig* < 0,05 diartikan bahwa adanya pengaruh substitusi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai terhadap kadar zat gizi dan kadar kimia *muffin*

H_0 diterima apabila nilai *Sig* > 0,05 diartikan bahwa tidak adanya pengaruh substitusi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai terhadap kadar zat gizi dan kadar kimia *muffin*

Apabila H_0 ditolak, maka dilakukan analisis lanjutan dengan uji statistik lanjutan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat kepercayaan 95% dalam menentukan pasangan perlakuan dengan perbedaan signifikan.

2. Mutu Organoleptik

Analisis mutu organoleptik pada penelitian ini menggunakan analisis *Kruskal Wallis* dengan tingkat kepercayaan 95%

Penarikan kesimpulan:

H_0 ditolak jika nilai *Sig* < 0,05 diartikan bahwa adanya pengaruh substitusi tepung ikan teri dan tepung kecambah kacang kedelai terhadap mutu gizi (protein, lemak, karbohidrat, energi, dan Fe), dan mutu kimia (kadar air dan kadar abu) *muffin* sebagai selingan wanita usia subur.

Apabila H_0 ditolak, maka dilakukan analisis lanjutan dengan uji statistik perbandingan ganda Mann Whitney dengan tingkat kepercayaan 95% dalam penentuan pasangan perlakuan dengan perbedaan signifikan.

Penarikan kesimpulan:

Hasil uji antara taraf perlakuan dikatakan memiliki perbedaan signifikan ditunjukkan dengan angka *Sig* < 0,05.

3. Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

- Hasil penentuan taraf perlakuan terbaik dari setiap responden ditabulasi dan diperoleh jumlah masing-masing variabel dan rata-ratanya
- Ranking variabel dapat ditentukan berdasarkan nilai rata-rata setiap variabel. Variabel dengan rata-rata tertinggi diberi ranking ke-1 dan variabel dengan rata-rata terendah diberi ranking ke-11
- Bobot variabel dapat ditentukan dengan nilai rata-rata setiap variabel dibagi dengan rata-rata tertinggi. Variabel dengan nilai rata-rata tertinggi sebagai nilai terbaik dan variabel dengan nilai rata-rata terendah sebagai nilai terjelek.

$$\text{bobot variabel} = \frac{\text{rata - rata variabel}}{\text{rata - rata tertinggi}}$$

- Bobot normal setiap variabel diperoleh dari variabel dibagi bobot total variabel

$$\text{bobot normal} = \frac{\text{bobot variabel}}{\text{bobot total variabel}}$$

- e. Menghitung nilai efektivitas (N_e) setiap variabel dengan menggunakan rumus:

$$N_e = \frac{\text{nilai perlakuan} - \text{nilai terjelek}}{\text{nilai terbaik} - \text{nilai terjelek}}$$

- f. Penentuan taraf perlakuan terbaik menggunakan jumlah nilai hasil (N_h), nilai diperoleh dengan bobot normal masing-masing variabel dikali dengan N_e dan dijumlahkan

$$N_h = \text{bobot normal} \times N_e$$

- g. Taraf perlakuan terbaik yaitu taraf perlakuan dengan nilai hasil tertinggi.