

## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 1.1.Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk mengetahui pengaruh substitusi tepung ikan teri terhadap mocaf pada karakteristik fisik, kimia, dan organoleptik *crispy cookies* sebagai alternatif makanan selingan remaja anemia. Pada penelitian ini, terdapat 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan substitusi tepung ikan teri. Masing-masing sampel akan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Tabel 3. 1

Formulasi substitusi tepung ikan teri terhadap mocaf pada *crispy cookies*

| Perlakuan        | Mocaf | Tepung Ikan Teri |
|------------------|-------|------------------|
| Kontrol (C0)     | 100%  | 0%               |
| Perlakuan 1 (C1) | 95%   | 5%               |
| Perlakuan 2 (C2) | 90%   | 10%              |
| Perlakuan 3 (C3) | 85%   | 15%              |

#### 3.2. Variabel Penelitian

##### 3.2.1 Variabel Bebas (Independen)

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat memengaruhi variabel lain dalam suatu penelitian. Variabel bebas umumnya juga disebut dengan variabel independen. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah substitusi tepung ikan teri terhadap mocaf pada *crispy cookies*.

##### 3.2.2 Variabel Terikat (Dependen)

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel terikat umumnya juga disebut dengan variabel dependen. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah karakteristik fisik (tekstur), karakteristik

kimia (kadar protein dan zat besi) dan karakteristik organoleptik (kenampakan, citarasa, aroma, tekstur, *mouthfeel*, dan kesukaan keseluruhan).

### 3.3 Definisi Operasional

Definisi operasional variabel penelitian dapat dilihat pada Tabel 3.2 :

Tabel 3. 2  
Definisi Operasional

| Variabel                              | Definisi Operasional                                                                                                                                         | Alat ukur/metode                                                                                                                | Hasil Ukur                                                             | Skala Data |
|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|------------|
| Substitusi Tepung Ikan Teri           | Jumlah persentase substitusi dari tepung ikan teri<br><br>Tepung Mocaf : Tepung Ikan Teri<br>C0= 100% : 0%<br>C1= 95% : 5%<br>C2= 90% : 10%<br>C3= 85% : 15% | Menimbang tepung dengan timbangan digital                                                                                       | Gram                                                                   | Rasio      |
| Karakteristik Fisik (tekstur)         | Jumlah daya kekerasan, dan daya patah yang ada pada <i>crispy cookies</i>                                                                                    | Pengukuran dengan alat <i>Texture Analyzer</i> yang dilakukan dengan memberikan gaya tekan kepada bahan dengan besaran tertentu | <i>Newton</i>                                                          | Rasio      |
| Kadar Zat Besi                        | Jumlah zat besi yang terdapat dalam <i>crispy cookies</i>                                                                                                    | Metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)                                                                                      | mg/100 g                                                               | Rasio      |
| Kadar Protein                         | Persentase protein yang terdapat dalam <i>crispy cookies</i>                                                                                                 | Metode <i>Kjehdahl</i>                                                                                                          | Persentase (%)                                                         | Rasio      |
| Karakteristik Organoleptik Kenampakan | Penilaian panelis dari kesan pertama panelis sesuai dengan indera penglihatan saat melihat <i>crispy cookies</i> dengan substitusi tepung ikan teri.         | Uji Hedonik <i>Preference test</i> dengan metode skoring                                                                        | 1. Tidak menarik<br>2. Agak menarik<br>3. Menarik<br>4. Sangat menarik | Interval   |

|                                                 |                                                                                                                                                                    |                                                          |                                                                                    |          |
|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| Karakteristik Organoleptik Tekstur              | Penilaian panelis dari sensasi yang dihasilkan dari gigitan pertama panelis saat memakan <i>crispy cookies</i> dengan substitusi tepung ikan teri.                 | Uji <i>Difference test</i> dengan metode skoring         | 1. Tidak renyah (keras)<br>2. Agak renyah (keras)<br>3. Renyah<br>4. Sangat renyah | Interval |
| Karakteristik Organoleptik Aroma                | Penilaian panelis aroma yang tercium melalui indera penciuman saat mencium aroma <i>crispy cookies</i> dengan substitusi tepung ikan teri.                         | Uji <i>Difference test</i> dengan metode skoring         | 1. Sangat amis<br>2. Amis<br>3. Agak amis<br>4. Tidak amis                         | Interval |
| Karakteristik Organoleptik Citarasa             | Penilaian panelis dari rasa yang sesuai dengan indera pengecap saat memakan <i>crispy cookies</i> dengan substitusi tepung ikan teri.                              | Uji Hedonik <i>Preference test</i> dengan metode skoring | 1. Tidak suka<br>2. Agak suka<br>3. Suka<br>4. Sangat suka                         | Interval |
| Karakteristik Organoleptik <i>Mouthfeel</i>     | Penilaian panelis dari sensasi berpasir atau kasar yang dirasa di mulut saat memakan <i>crispy cookies</i> dengan substitusi tepung ikan teri.                     | Uji <i>Difference test</i> dengan metode skoring         | 1. Sangat kasar<br>2. Kasar<br>3. Agak kasar<br>4. Tidak kasar (halus)             | Interval |
| Karakteristik Organoleptik Kesukaan Keseluruhan | Penilaian panelis terkait kesan pertama saat melihat rasa, aroma, tekstur, <i>mouthfeel</i> saat memakan <i>crispy cookies</i> dengan substitusi tepung ikan teri. | Uji Hedonik <i>Preference test</i> dengan metode skoring | 1. Tidak suka<br>2. Agak suka<br>3. Suka<br>4. Sangat suka                         | Interval |

### 3.4 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan dalam pembuatan *crispy ookies* yang di substitusi tepung ikan teri dapat dilihat pada Tabel 3.3 dan Tabel 3.4.

#### 3.4.1 Alat

Alat yang akan digunakan dalam pembuatan *crispy ookies* yang di substitusi tepung ikan teri dapat dilihat pada Tabel 3.3:

Tabel 3. 3  
Alat Yang Digunakan

| No. | Alat                   | Jumlah |
|-----|------------------------|--------|
| 1.  | Oven                   | 1      |
| 2.  | Mixer                  | 1      |
| 3.  | Baskom                 | 1      |
| 4.  | Sendok makan           | 2      |
| 5.  | Timbangan digital      | 1      |
| 6.  | Mangkok                | 2      |
| 7.  | Loyang persegi panjang | 2      |
| 8.  | Spatula plastik        | 1      |

#### 3.4.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam pembuatan *crispy ookies* yang di substitusi tepung ikan teri dapat dilihat pada Tabel 3.4:

Tabel 3. 4  
Bahan yang Digunakan

| Nama Bahan       | Spesifikasi                                       | Merk Bahan    | Tempat Pembelian  |
|------------------|---------------------------------------------------|---------------|-------------------|
| Mocaf            | Tidak berbau apek, tidak lembab, tidak menggumpal | Ladang Lima   | Toko Kue Sariboga |
| Tepung Ikan Teri | Tidak berbau apek, tidak lembab, tidak menggumpal | Tidak ada     | Membuat sendiri   |
| Margarin         | Padat, tidak berbau apek                          | Blueband      | Toko Kue Sariboga |
| Butter           | Padat, tidak berbau apek                          | Palmia butter | Toko Kue Sariboga |

|                             |                                                      |               |                   |
|-----------------------------|------------------------------------------------------|---------------|-------------------|
| Gula halus                  | Butiran halus, tidak lembab, tidak menggumpal        | Tidak ada     | Toko Kue Sariboga |
| Putih telur                 | Telur ayam bukan telur bebek atau telur ayam kampung | Tidak ada     | Pasar Gayamprit   |
| Tepung maizena              | Butiran halus, tidak menggumpal, tidak berbau apek   | Maizenaku     | Toko Kue Sariboga |
| Vanili bubuk                | Tidak menggumpal                                     | Koepoe-koepoe | Toko Kue Sariboga |
| <i>Roasted almond slice</i> | Tidak berjamur                                       | Tidak ada     | Toko Kue Sariboga |

### 3.4.3 Formulasi substitusi tepung ikan teri terhadap mocaf pada *crispy cookies*

Formulasi substitusi tepung ikan teri terhadap mocaf pada *crispy cookies* melihat dan mengkombinasikan penelitian (Rahman & Naiu, 2021; Rauf & Mustamin, 2020; Wicaksono & Handayani, 2023), sebagai berikut:

Tabel 3. 5  
Formulasi Substitusi Tepung Ikan Teri terhadap mocaf pada *crispy cookies*

| Bahan                       | Kontrol (C0) | Perlakuan 1 (C1) | Perlakuan 2 (C2) | Perlakuan 3 (C3) |
|-----------------------------|--------------|------------------|------------------|------------------|
| Mocaf                       | 100 g        | 95 g             | 90 g             | 85 g             |
| Tepung ikan teri            | -            | 5 g              | 10 g             | 15 g             |
| Margarin                    | 80 g         | 80 g             | 80 g             | 80 g             |
| <i>Butter</i>               | 20 g         | 20 g             | 20 g             | 20 g             |
| Gula halus                  | 80 g         | 80 g             | 80 g             | 80 g             |
| Putih telur                 | 30 g         | 30 g             | 30 g             | 30 g             |
| Tepung maizena              | 20 g         | 20 g             | 20 g             | 20 g             |
| Vanili bubuk                | 2 g          | 2 g              | 2 g              | 2 g              |
| <i>Roasted almond slice</i> | 20 g         | 20 g             | 20 g             | 20               |

Sumber : Modifikasi (Rahman & Naiu, 2021; Rauf & Mustamin, 2020; Wicaksono & Handayani, 2023)

#### 3.4.4 Metode

##### 3.4.4.1 Cara pembuatan tepung ikan teri nasi

Pembuatan tepung ikan teri nasi mengacu pada penelitian (Rahmi et al., 2018) dengan prosedur sebagai berikut:

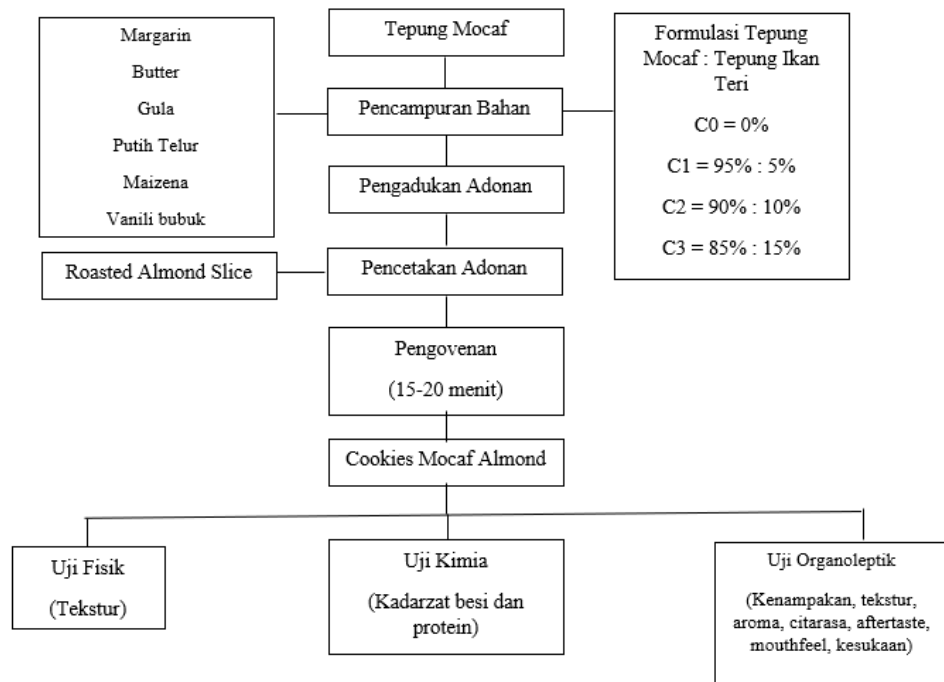
- 1) Ikan teri nasi basah dicuci hingga bersih.
- 2) Setelah dicuci dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 80° selama 5 jam.
- 3) Ikan teri yang sudah melewati proses pengeringan akan diblender hingga halus, dan akan diayak.
- 4) Setelah diayak, tepung ikan teri nasi bisa disangrai dan setelah itu dapat langsung digunakan.

##### 3.4.4.2 Cara pembuatan *crispy cookies* dengan substitusi tepung ikan teri

Pembuatan *crispy cookies* mengacu pada Wicaksono & Handayani (2023) serta Rauf & Mustamin (2020) dengan penyesuaian, dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- 1) Kocok putih telur, butter dan gula hingga mengembang.
- 2) Masukkan tepung mocaf dan tepung ikan teri, tepung maizena, vanili bubuk, aduk sampai tercampur rata.
- 3) Adonan dimasukkan ke dalam piping bag.
- 4) Lakukan pencetakan ke loyang dalam bentuk lingkaran yang kemudian dipipihkan menggunakan sendok.
- 5) Setelah dipipihkan dapat diberi *roasted almond slice* sebagai topping di atasnya.
- 6) Panggang di oven dengan suhu 150°C selama 15-20 menit dengan api atas bawah.
- 7) Jika sudah matang, dapat didinginkan di suhu ruang kemudian siap untuk dikemas.

Berikut merupakan diagram alir dalam pembuatan *crispy cookies* dengan substitusi tepung ikan teri:



Gambar 2. 1

Diagram alir pembuatan *crispy cookies* dengan substitusi tepung ikan teri

### 3.5 Tempat dan waktu penelitian

Pengujian organoleptik akan dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan STIKes Panti Rapih Yogyakarta. Pengujian kimia berupa kadar protein, kadar zat besi dan pengujian fisik tekstur akan dilakukan di Laboratorium Institut Pertanian STIPER Yogyakarta. Pelaksanaan penelitian dimulai pada Maret sampai Juli 2025.

### 3.6 Teknik dan instrumen pengumpulan data

#### 3.6.1 Uji fisik

Dalam penelitian ini dilakukan pengujian fisik berupa tekstur. Analisis terhadap tekstur diperlukan untuk menentukan sifat fisik bahan yang berhubungan dengan daya tahan atau kekuatan suatu bahan terhadap tekanan. Analisis ini menggunakan alat yaitu *texture analyzer*. *Texture Analyzer* adalah alat yang terkait dengan penilaian dari karakteristik mekanis

suatu materi, di mana alat tersebut diperlakukan untuk menentukan kekuatan materi dalam bentuk kurva (Hawa et al., 2016).

### 3.6.2 Uji kimia

#### 3.6.2.1 Zat besi

Uji zat besi akan menggunakan metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). Untuk alat yang dibutuhkan dalam metode ini yaitu pipet volume, beaker glass, erlenmeyer, hot plate, corong, kertas saring, batang pengaduk, pump pipette, neraca analitik, dan spektrofotometri serapan atom (SSA). Untuk prosedur pengujian zat besi menurut Shafriani (2022) seperti berikut:

1. Preparasi (destruksi) sampel *cookies* mocaf almond yang disubstitusi tepung ikan teri

Preparasi sampel diawali dengan mengumpulkan sampel produk. Persiapkan beaker glass 100 mL, kemudian dimasukkan sebanyak 20 gram sampel, ditambahkan 30 mL aquadest. serta 10 mL HNO<sub>3</sub>. Lalu dipanaskan hingga volume menjadi 20 mL dan didinginkan. Kemudian disaring menggunakan whatman no 5 dan filtrat siap dianalisa.

2. Pembuatan Larutan Standar Fe

Sebanyak 1000 mg/L larutan standar Fe yang telah tersedia diambil 5,0 mL lalu ditambahkan aquades hingga menjadi 50,0 mL dan didapatkan 100 mg/L larutan standar logam Fe. Setelah itu, larutan tersebut dipipet masing-masing yaitu 0,5 mL, 1 mL, 2 mL 4 mL dan dicukupkan dengan HNO<sub>3</sub> 0,1 N sampai 100 mL. Kemudian diukur menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom. Lalu dilakukan pembuatan kurva.kalibrasi. Setelah itu dilakukan pengukuran dengan rumus  $CV\% = (SD/X) \times 100\%$ .

#### 3.6.2.2 Protein

Uji kadar protein menggunakan metode *Kjehdahl*. Metode *Kjehdahl* adalah metode penetapan kadar protein total dengan menghitung unsur nitrogen (N%) dalam sampel. Penetapan kadar protein total secara kuantitatif dengan



metode Kjeldahl, dimana penetapan kadar protein berdasarkan kandungan nitrogen yang terdapat dalam bahan. Analisis kadar protein dengan metode Kjeldahl pada dasarnya dibagi menjadi tiga yaitu tahap destruksi, destilasi dan titrasi. Untuk prosedur pengujian protein menurut Wardani & Sujana (2020) sebagai berikut:

a) Penimbangan Sampel

Sampel yang akan digunakan untuk analisis berupa padatan, sampel dimasukan kedalam mortir dan stempel untuk dilakukan penggerusan agar luas permukaan sampel menjadi lebih kecil. Setelah didapatkan sampel yang halus lalu dilakukan penimbangan sampel dengan jumlah sekitar 1 sampai 5 gram.

b) Tahap Destruksi

Sampel yang telah dilakukan penimbangan lalu dimasukkan ke dalam labu *Kjeldahl* setelah itu dilakukan penambahan secara berturut-turut yaitu garam *Kjeldahl* sebanyak 5 gram, 3 butir batu didih, 30 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dimasukan melalui dinding tabung, tabung dimiringkan dengan kemiringan 45°, lalu panaskan (destruksi) dengan api kecil sampai terbentuk arang, api diperbesar (biarkan mendidih) sampai terbentuk larutan jernih tambahkan 50 mL aquadest setelah itu dinginkan.

c) Tahap Destilasi

Larutan dalam labu yang sudah didinginkan diambil sebanyak 10 mL kedalam labu takar berukuran 100 mL dan tambahkan aquadest hingga tanda batas.

d) Tahap Titrasi

Destilat yang telah tertampung di dalam Erlenmeyer kemudian dititrasi dengan menggunakan larutan NaOH 0,1N sampai titik akhir titrasi berwarna merah muda. Penetapan yang sama juga dilakukan untuk blanko yang akan digunakan sebagai faktor koreksi dalam perhitungan. Untuk penetapan kadar protein terlebih dahulu harus dihitung persen dari nitrogennya dengan rumus:

$$\%N = \frac{(\text{mL blanko} - \text{mL NaOH sampel}) \times \text{Normalitas } x \text{ Ar nitrogen } x \text{ Faktor konversi}}{\text{Mg Sampel}} \times 100\%$$

Dimana F adalah Faktor Konversi = 100/(6,25N dalam Protein sampel).

### 3.6.3 Uji organoleptik

Pengujian sensoris yang akan dilakukan yaitu uji *preference test* untuk kenampakan, citarasa, dan kesukaan keseluruhan, sedangkan uji *difference test* untuk tekstur, aroma, dan *mouthfeel*. Pengujian dengan metode ini akan dilakukan oleh 30 panelis semi terlatih yang terpilih dengan metode random sampling, yaitu responden dipilih secara acak dengan menggunakan *spin wheel*. Penentuan jumlah panelis semi terlatih ditentukan berdasarkan SNI 01-2346-2006 (Petunjuk Pengujian Organoleptik dan atau Sensoris), dalam SNI 01-2346-2006 disebutkan bahwa jumlah panelis terlatih adalah 6 orang sedangkan panelis semi terlatih adalah 30 orang. Pengujian ini akan dilakukan dengan memberikan produk yang sudah diberi nomor yang berbeda pada masing-masing perlakuannya. Panelis yang dapat terlibat dalam uji organoleptik ini adalah mahasiswa prodi sarjana gizi STIKes Panti Rapih Yogyakarta.

#### a. Kriteria inklusi panelis

- 1) Mahasiswa program studi sarjana gizi STIKes Panti Rapih Yogyakarta tingkat 2 dan 3 yang hadir dalam proses pengujian.
- 2) Sudah pernah terlibat dalam pengujian organoleptik sebelumnya.
- 3) Berjenis kelamin perempuan maupun laki-laki.
- 4) Tidak memiliki alergi terkait bahan yang digunakan.
- 5) Tidak memiliki gangguan pada indera perasa, pengecap, penciuman, dan penglihatan.

#### a. Kriteria eksklusi panelis

- 1) Bukan mahasiswa program studi sarjana gizi STIKes Panti Rapih Yogyakarta tingkat 2 dan 3.
- 2) Tidak hadir pada saat proses pengujian.

- 3) Memiliki alergi terhadap bahan yang digunakan.
- 4) Sedang dalam keadaan sakit.

### **3.7 Etika penelitian**

#### **3.7.1 Surat izin penelitian**

Mengajukan permohonan kepada ketua STIKes Panti Rapih Yogyakarta dalam rangka mendapatkan surat izin penelitian karena menggunakan mahasiswa sebagai panelis, laboratorium kampus, dan mengajukan permohonan untuk mendapatkan surat pendamping dari kampus untuk menguji produk di Laboratorium Institut Pertanian STIPER Yogyakarta.

#### **3.7.2 Izin kelaikan etik (*Ethical Clearance*)**

Mengajukan izin kelaikan etik (*Ethical clearance*) terkait penelitian di bidang Kesehatan dengan mengajukan permohonan ke Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) di Rumah Sakit Panti Rapih. Prinsip standar kelaikan etik menurut (Putra *et al.*, 2023), yaitu:

1. Menghormati dan menghargai harkat martabat manusia sebagai subjek penelitian  
Seorang peneliti wajib memperhatikan setiap hak-hak dari subyek penelitian seperti kebebasan dalam menyampaikan informasi, kebebasan dalam menentukan pilihan dan tidak ada paksaan untuk ikut berpartisipasi dalam kegiatan penelitian. Peneliti akan mempersiapkan formulir persetujuan (*informed consent*) yang akan diberikan kepada subjek penelitian.
2. Menghormati privasi dan kerahasiaan subjek penelitian  
Setiap individu memiliki hak-hak dasar individu termasuk privasi dan kebebasan individu. Dalam pengolahan data, peneliti akan menjamis kerahasiaan dan menuliskan dengan inisial jika subjek tidak berkenan untuk dipublikasikan.
3. Memegang prinsip keadilan dan kesetaraan  
Peneliti harus memperlakukan seluruh subjek penelitian dengan baik, adil, dan tidak membedakan.

4. Memperhitungkan dampak positif maupun negatif dari penelitian  
Peneliti dapat melaksanakan penelitian dengan prosedur yang sesuai sehingga akan meminimalisir dampak negatif yang timbul dalam penelitian.

### 3.7.3 *Informed consent*

Dalam penelitian melibatkan subjek penelitian yaitu panelis semi terlatih. Panelis diberikan lembar *informed consent* yang kurang lebih berisi bahwa pada penelitian ini panelis mau ikut secara sukarela tanpa adanya paksaan, sudah mengetahui dampak yang mungkin terjadi ketika penelitian, tanda tangan persetujuan calon panelis, dan lain sebagainya. Apabila calon panelis setuju, panelis dapat melanjutkan untuk mengikuti penelitian, namun jika panelis tidak setuju, maka tidak akan dilibatkan dalam penelitian. Ketika menyampaikan isi dari lembar *inform consent*, peneliti juga tidak bisa melakukan ajakan atau paksaan kepada calon panelis dalam bentuk apapun.

## 3.8 Analisis data

### 3.8.1. Analisis Univariat

Analisis univariat bertujuan untuk menjelaskan atau mendeskripsikan karakteristik setiap variabel penelitian. Data yang ditampilkan dalam bentuk nilai mean dan standar deviasi yang akan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Analisis ini digunakan untuk menyajikan hasil uji kadar zat besi, kadar protein, dan fisik tekstur. Selain itu, data uji organoleptik akan disajikan dalam bentuk *spider web*.

### 3.8.2 Analisis Bivariat

#### 3.8.2.1 Analisis bivariat fisik dan kimia

Semua data yang terkumpul dari uji fisik tekstur, uji kimia kadar protein, uji kimia kadar zat besi akan diuji normalitas dan homogenitas datanya. Jika data berdistribusi normal dan homogen dapat dianalisis menggunakan analisis parametrik yaitu uji ANOVA (*Analysis of Variance*) dengan derajat kepercayaan 95%. Jika hasil nilai  $p < 0,05$  diartikan adanya perbedaan yang signifikan. Untuk mengetahui perbedaan nyata dari masing-masing sampel

maka dapat dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test*. Jika data berdistribusi tidak normal dan tidak homogen maka dapat diuji menggunakan analisis non parametrik yaitu dapat menggunakan uji Kruskal Wallis dengan derajat kepercayaan 95%. Jika hasil nilai  $p < 0,05$  diartikan adanya perbedaan secara signifikan, kemudian untuk mengetahui perbedaan nyata dari masing-masing sampel maka akan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

#### 3.8.2.2 Analisis bivariat organoleptik

Semua data yang terkumpul dari uji organoleptik akan diuji menggunakan uji Friedman Test dengan derajat kepercayaan 95%. Jika hasil nilai  $p < 0,05$  diartikan adanya perbedaan secara signifikan, kemudian untuk mengetahui perbedaan nyata dari masing-masing sampel maka akan dilanjutkan dengan uji Wilcoxon.