

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **III.1 Alat dan Bahan**

##### **III.1.1 Alat**

Alat yang digunakan untuk pembuatan konnyaku tepung porang dan residu jus jeruk adalah timbangan *digital*, sendok ukur, pisau, mangkuk besar, baskom, panci, kompor, kain lap, gelas takar, *whisker*. Alat yang digunakan dalam analisis kimia antara lain cawan, timbangan analitik, desikator, mortar, tanur, oven, pembakar Bunsen, kertas saring, labu kjeldahl 30ml, erlenmeyer, dan corong Buchner. Alat yang digunakan dalam analisis fisik (analisis kekerasan dan derajat warna) antara lain texture-analyzer dan chromameter.

##### **III.1.2 Bahan**

Bahan yang digunakan untuk pembuatan konnyaku tepung porang dan residu jus jeruk adalah tepung porang, residu jus jeruk, kapur sirih *food grade*, dan air. Bahan yang digunakan untuk uji kandungan gizi (uji proksimat) adalah HCl Pekat, larutan hexane, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HgO, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, NaOH-Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, akuades, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, HCl. Bahan yang digunakan untuk analisa antioksidan adalah reagen asetat, DPPH dan asam askorbat.

#### **III.2 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilakukan selama 4 bulan, yakni dari bulan September sampai dengan bulan Desember 2020. Waktu pengambilan data organoleptik dilakukan pada bulan Desember 2020. Tempat penelitian dilakukan di beberapa tempat. Uji organoleptik dilakukan di Laboratorium Pangan Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta. Preparasi sampel, formulasi, serta pembuatan produk dilakukan di Rumah Peneliti. Setiap uji dilakukan sesuai dengan anjuran protokol kesehatan pandemi COVID-19. Analisis kandungan gizi (uji proksimat) dan serat pangan dilakukan di Laboratorium Saraswati Indo Genetech (SIG) Bogor dan Laboratorium Pangan Mbrio Bogor.

### III.3 Desain Penelitian

Rancangan percobaan dari penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua kali pengulangan. Model yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \bar{\alpha} + A_i + E_{ij}$$

Keterangan:

$Y_{ij}$  = nilai pengamatan respon pengaruh penambahan residu jus jeruk (10,23%; 9,37%; 8,52%) terhadap konnyaku tepung porang

$i$  = perlakuan yang dilakukan ( $i = 1, 2, 3$ )

$j$  = banyaknya ulangan ( $j = 1, 2$ )

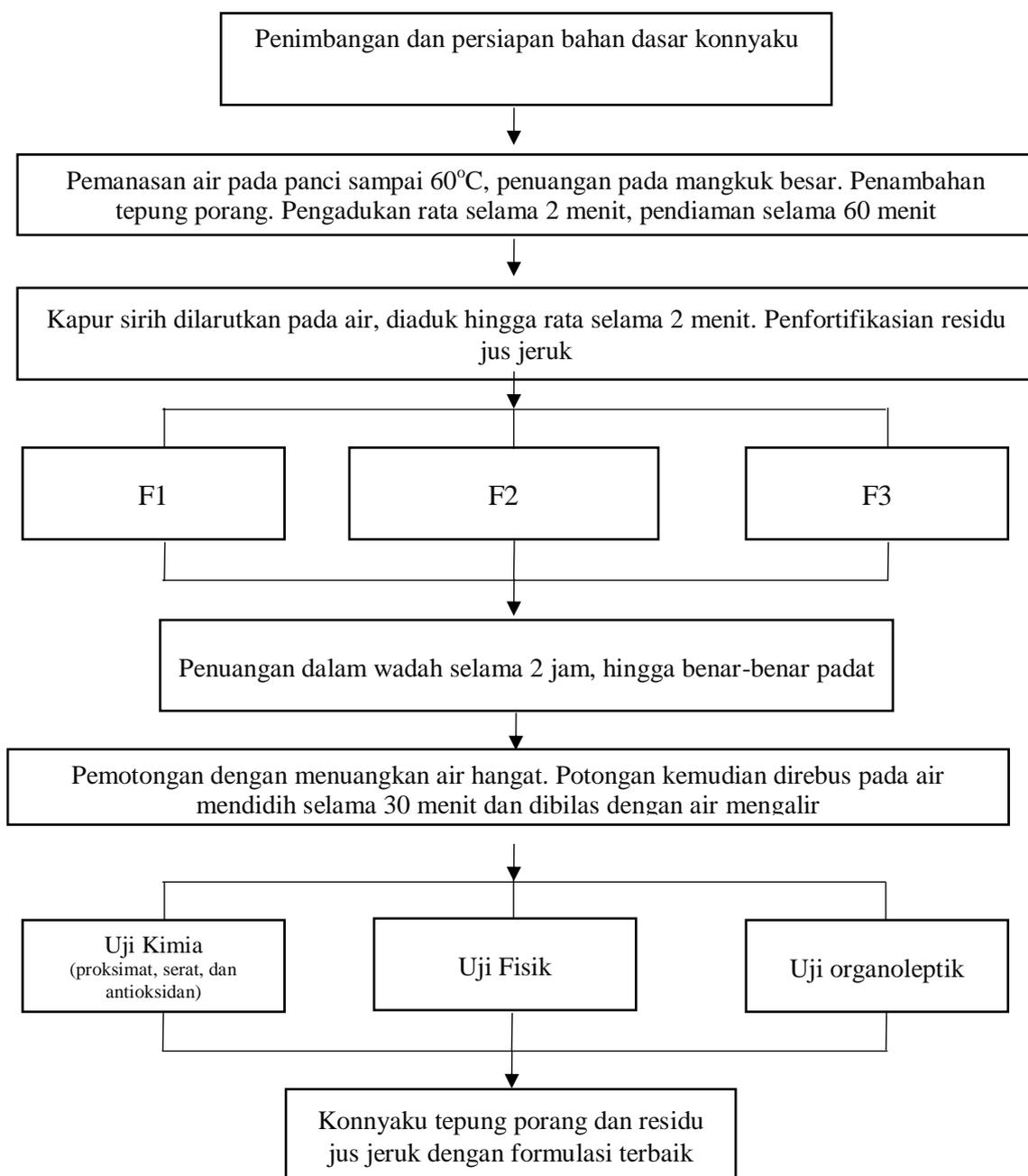
$\bar{\alpha}$  = nilai rata-rata

$A_i$  = pengaruh tingkat penambahan residu jus jeruk (10,23%; 9,37%; 8,52%) terhadap konnyaku tepung porang

$E_{ij}$  = Kesalahan percobaan pada keseluruhan perlakuan

### III.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan. Tahap awal yaitu dimulai dengan pembuatan bahan baku konnyaku, kemudian penentuan formulasi dan pencampuran dengan residu jus jeruk. Tahapan selanjutnya adalah analisa uji proksimat, uji serat pangan, analisa antioksidan, uji fisik, dan uji organoleptik produk (uji hedonik). Setelah itu dilakukan penentuan formula terpilih. Tahap terakhir adalah analisa kandungan zat gizi pada formula terpilih tersebut.

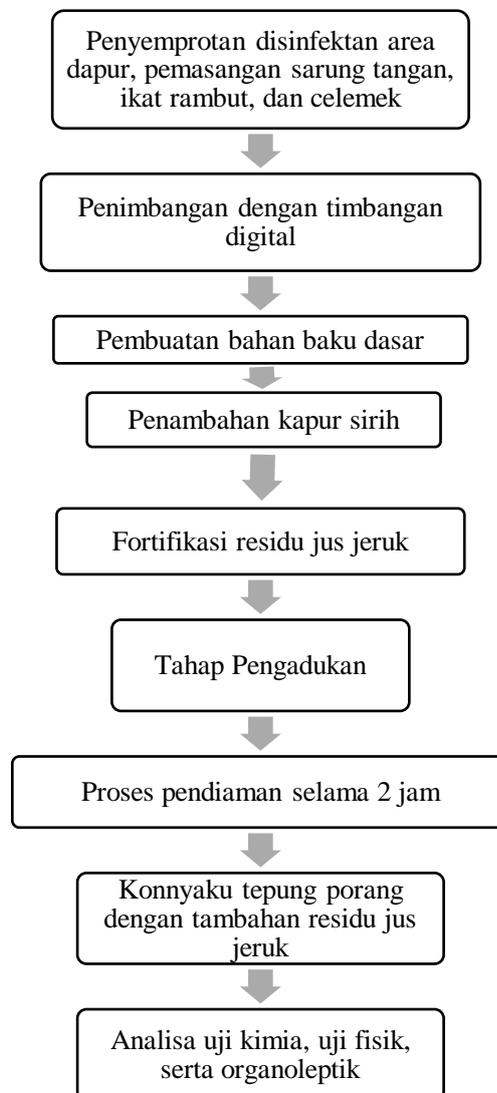


**Gambar 1. Tahapan Penelitian**

### III.5 Tahapan Pembuatan Bahan Baku Produk

#### III.5.1 Pembuatan Konnyaku Tepung Porang Residu Jus Jeruk

Semua bahan yang dibutuhkan dibeli melalui pasar dan toko online lokal dengan pemilihan mutu dan kualitas terbaik. Pembuatan konnyaku tepung porang dan residu jus jeruk diawali dengan penyemprotan disinfektan area dapur, penggunaan sarung tangan, ikat rambut, dan celemek. Sebelum memulai proses pembuatan, alat dan bahan disiapkan dan ditimbang dengan timbangan digital terlebih dahulu. Tahap selanjutnya adalah pembuatan bahan baku dasar. Bahan baku dasar terdiri dari tepung porang yang dibeli secara *online* dan residu jus jeruk.



**Gambar 2. Tahapan Pembuatan**

Cold Pressed Juice adalah teknik pembuatan jus dengan perasan bertekanan tinggi (*pressed*) dan sangat minimal menghasilkan panas (Khaksar, 2019). Residu jus jeruk didapat dari hasil residu buah jeruk utuh yang telah dikupas dan melalui proses *cold press juicing*. Residu ini bukan berasal dari limbah pembuangan, melainkan bersih dan diolah sendiri oleh penulis. Penyimpanan diletakkan dalam *container* kedap udara pada *freezer*.

Bahan baku dasar dicampur dan diaduk rata, kemudian didiamkan selama 2 jam agar adonan mengeras. Tekstur konnyaku yang elastis dan tidak mudah putus disebabkan oleh tambahan kapur sirih. Larutan air kapur mampu membantu glukomannan membuat gel yang khas dan tidak mudah rusak (Saleh *et al.*, 2015). Setelah kapur sirih ditambahkan, dimasukkan juga residu jus jeruk sesuai formulasi. Adonan kemudian dituang pada wadah dan didiamkan hingga mengeras. Konnyaku fortifikasi yang telah mengeras sebelum dikonsumsi dimasak terlebih dahulu kemudian dibilas dengan air mengalir. Menurut Saleh *et al.* (2015) hal ini berfungsi untuk menetralkan rasa dari konnyaku itu sendiri.

### III.5.2 Formulasi Produk

Konnyaku pada umumnya memiliki kandungan 97% air dan 3% tepung porang (ITPC, 2014). Penambahan residu jus jeruk untuk memenuhi klaim tinggi antioksidan guna mengatasi obesitas mengacu pada Oliveira *et al.*, 2017 yang mengamati kadar antioksidan konsentrasi efektif ( $EC_{50}$ ) pada 7,9  $\mu\text{g/mL}$ ; 9,7  $\mu\text{g/mL}$ ; dan 12,4  $\mu\text{g/mL}$  tanaman huber. Penelitiannya mengatakan bahwa aktivitas antioksidan terbukti berperan sebagai anti lipase yang baik untuk pengembangan produk makanan guna mengatasi kelebihan berat badan, obesitas, serta dislipidemia. Penelitian juga mengacu pada Juanda *et al.*, 2015 yang meneliti kadar antioksidan lima buah jenis jeruk, termasuk jeruk yang penulis teliti yaitu jenis *Citrus Sinensis*. Kandungan aktivitas antioksidan konsentrasi efektif ( $EC_{50}$ ) dalam 100 gram *Citrus sinensis* diperkirakan senilai 732  $\mu\text{g/mL}$  (Juanda *et al.*, 2015). Hal ini menunjukkan bahwa dalam 10 gram jeruk, aktivitas antioksidannya senilai 7,32  $\mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan pernyataan tersebut, dibuatlah formulasi penambahan residu jus jeruk pada F1 sebesar 10 g, F2 sebesar 15 g dan F3 sebesar 25 g. Diperkirakan

semakin banyak residu jus jeruk yang ditambahkan, maka aktivitas antioksidan pada formula tersebut akan semakin tinggi pula.

Selain berdasarkan antioksidan, formulasi juga dibuat berdasarkan perkiraan kadar serat pangan produk. Suatu produk dapat diklaim “sumber” serat pangan jika mengandung 1,5 g serat per 100 kkal dalam bentuk cair atau mengandung 3 g serat per 100 g dalam bentuk padat (BPOM, 2016). Konnyaku termasuk dalam makanan semi padat sehingga klaim sumber serat menggunakan rentang antara 1,5 g – 3 g. Diketahui bahwa kadar serat tepung porang kasar sebanyak 2 g – 5 g per 100 g (Saleh *et al.*, 2015), sedangkan kadar serat dalam residu jus jeruk adalah 41,5 gram per 100 g (Lopez *et al.*, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa formulasi dan perkiraan kadar serat pangan konnyaku tepung porang dengan penambahan jus jeruk secara teori memenuhi klaim dan dapat dilihat dalam Tabel 4.

**Tabel 1. Formulasi**

Nama Bahan	F1		F2		F3	
	%	gram	%	gram	%	gram
Tepung Porang	2,5	3	3,41	4	4,26	5
Residu Jus Jeruk	10,23	12	9,37	11	8,52	10
Kapur Sirih	0,25	0,3	0,25	0,3	0,25	0,3
Air	86,95	102	86,95	102	86,95	102
Total	100	60	100	60	100	60

### III.6 Tahapan Analisis Produk Konnyaku

#### III.6.1 Uji Sifat Kimia

Uji sifat kimia meliputi uji proksimat yaitu kadar karbohidrat, lemak, protein, kadar air, kadar abu, serat pangan, dan juga antioksidan. Penjelasan lebih lanjut tiap-tiap metode akan ditinjau secara mendalam pada pembahasan berikutnya.

#### III.6.2 Analisis Proksimat

Uji konsentrasi protein dilakukan dengan metode Kjeldahl, uji konsentrasi lemak dilakukan dengan metode Soxhlet, uji karbohidrat dilakukan dengan metode *by difference*, kemudian serat pangan dilakukan dengan metode enzimatik (*Association of Official Analytical Chemists/AOAC*, 2012).

a. Kadar Air (AOAC, 2012)

Kadar air ditentukan dengan metode cawan kering, yaitu uji dengan menggunakan oven pada suhu 105°C. Cawan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Cawan kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit kemudian ditimbang. Setiap 5 gram sampel dikeringkan selama 3 jam, dinginkan dalam desikator dan dilakukan penimbangan ulang. Dilakukan pemanasan kembali dalam oven selama 30 menit, pendinginan dalam desikator dan penimbangan ulang. Proses ini dilakukan hingga mendapat berat konstan (selisih penimbangan 0,001 g). Kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar air \%} = \frac{[\text{berat cawan + sampel awal (g)}] - [\text{berat cawan + sampel kering (g)}]}{[\text{berat cawan + sampel awal (g)}]} \times 100 \%$$

b. Kadar Abu (AOAC, 2012)

Pemanasan cawan porselen dalam oven selama 15 menit, lalu didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Sebanyak 3-5 gram sampel dimasukkan ke dalam cawan porselen, ditimbang, lalu dibakar sampai tidak berasap lagi. Kemudian, diabukan dalam tanur bersuhu 550°C sampai berwarna putih dan beratnya konstan. Setelah itu didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Kadar abu dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar abu \%} = \frac{\text{Berat Abu}}{\text{Berat Sampel}} \times 100 \%$$

c. Kadar Lemak, Metode Soxhlet (AOAC, 2012)

Uji kadar lemak menggunakan labu lemak yang dioven selama 15 menit pada suhu 105°C, kemudian didinginkan 25 dalam desikator untuk menghilangkan uap air selama 15 menit dan ditimbang. Sampel sebanyak 5 gram dibungkus dengan kertas timbel, ditutup dengan kapas bebas lemak kemudian masuk ke ekstraksi Soxhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak yang telah dioven dan diketahui bobotnya. Pelarut heksan dituangkan sampai sampel terendam dan dilakukan refluks atau ekstraksi lemak selama 5-6 jam atau sampai pelarut lemak turun ke labu lemak berwarna jernih. Pelarut lemak yang telah digunakan, disuling, ditampung,

dan ekstrak lemak yang ada dalam labu lemak dikeringkan dalam oven bersuhu 100-105°C selama 10 menit. Labu lemak didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Tahap pengeringan labu lemak diulangi sampai diperoleh bobot yang konstan. Kadar lemak dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar lemak \%} = \frac{[\text{berat labu alas dan lemak hasil ekstraksi (g)}] - [\text{berat alas labu bulat kosong (g)}] \times 100\%}{\text{berat sampel (g)}}$$

d. Kadar Protein, Metode Kjeldahl (AOAC, 2012)

Kadar protein, metode kjeldahl prinsipnya adalah oksidasi bahan-bahan berkarbon dan konversi nitrogen menjadi amonia oleh asam sulfat. Selanjutnya amonia bereaksi dengan kelebihan asam membentuk amonium sulfat. Amonium sulfat yang terbentuk diuraikan dan larutan dijadikan basa dengan NaOH. Sampel ditimbang sebanyak 0,1 - 0,5 g, dimasukkan ke dalam labu kjeldahl 100 mL, ditambahkan dengan 1/4 buah tablet, kemudian didekstruksi sampai larutan menjadi hijau jernih dan SO<sub>2</sub> hilang. Larutan dibiarkan dingin dan dipindahkan ke labu 50 mL kemudian diencerkan dengan akuades sampai tanda tera. Selanjutnya larutan dimasukkan ke dalam alat destilasi, ditambahkan dengan 5-10 mL NaOH 30-33%, dan dilakukan destilasi. Penentuan kadar protein dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar protein \%} = \frac{\text{ml HCL titrasi sampel} - \text{ml HCL titrasi blangko} \times N \text{ HCL} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\%}{\text{berat sampel 9g} \times 1000}$$

e. Kadar Karbohidrat, Metode *by difference* (AOAC, 2012)

Kadar karbohidrat dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

### III.6.3 Analisa Serat Pangan (AOAC, 2012)

Analisa serat pangan berdasarkan metode enzimatik gravimetri menggunakan enzim untuk hidrolisis karbohidrat yang dapat dicerna, lemak, dan protein. Molekul yang tidak terhidrolisis atau tidak larut disaring agar terpisah. Molekul tersebut atau yang sering disebut dengan residu selanjutnya dikeringkan dan ditimbang.

Kemudian dilakukanlah analisis kadar protein dan abu pada residu. Kadar serat pangan merupakan hasil dari residu dikurang dengan kadar protein dan kadar abu.

#### III.6.4 Analisa Antioksidan Metode DPPH (Sudirman, 2011)

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam IC50. Langkah awal yaitu pembuatan ekstrak masing-masing sampel dengan konsentrasi 25, 50, 100, 200 dan 400 ppm. Selanjutnya sebanyak 2,5 ml larutan ekstrak dicampur dengan DPPH 1 mM sebanyak 2,5 ml. Kemudian campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C dengan waktu 30 menit dan terhindar dari cahaya matahari. Setelah itu, absorbansinya diukur dengan panjang gelombang 517 nm. Absorbansi blanko yang telah diperoleh sebelumnya dan absorbansi yang diperoleh dari pengukuran tersebut akan digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan melalui persentase penghambatan radikal bebas (persen inhibisi). Berikut adalah rumus perhitungan persen inhibisi:

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

Persen inhibisi yang diperoleh digunakan dalam persamaan regresi sederhana untuk mencari persamaan  $y=b(x)+a$ . Persamaan ini berguna dalam menentukan nilai IC50 (inhibitor concentration 50%) masing-masing sampel. Nilai y sebesar 50 dan nilai x sebagai nilai IC50. IC50 merupakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi DPPH sebesar 50%.

#### III.6.5 Uji Sifat Fisik

Uji sifat fisik meliputi pengujian kekuatan gel dan sineresis. Penjelasan lebih mendalam akan diulas dalam pembahasan selanjutnya.

##### a. Kekuatan Gel (Darmawan *et al.*, 2014)

Kekuatan gel adalah beban maksimal yang digunakan agar matriks polimer pada daerah yang dibebani terpecah. Untuk mengetahui kekuatan gel dapat menggunakan texture analyzer. Produk gel dengan penyimpanan suhu rendah perlu kekuatan gel yang tinggi. Sampel dapat menjadi lembek jika kekuatan gelnya rendah sehingga konsumen kurang menyukainya

### b. Sineresis (AOAC, 2012)

Produk gel yang disimpan pada suhu rendah perlu sineresis rendah. Sampel akan mengkerut atau kering selama penyimpanan jika sineresisnya tinggi, sehingga tingkat penerimaan konsumen menurun. Sineresis diamati dengan cara menyimpan sampel dalam *refrigerator* pada suhu 10°C yang dilakukan selama 24, 48 dan 72 jam. Sampel diwadahi cawan agar air yang dibebaskan dari dalam sampel tertampung. Selanjutnya berat sampel yang hilang selama penyimpanan dihitung dan dibandingkan dengan berat awal sampel untuk mengetahui besarnya sineresis. Rumus perhitungan sineresis adalah sebagai berikut:

$$\text{Sineresis} = \frac{\text{berat awal sebelum penyimpanan (g)} - \text{berat akhir setelah penyimpanan}}{\text{berat awal sebelum penyimpanan (g)}} \times 100\%$$

### III.6.6 Uji Organoleptik (AOAC, 2012)

Uji organoleptik dilakukan dengan metode uji hedonic. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui sifat sensoris (rasa, warna, aroma, dan tekstur) pada konnyaku tepung porang dan residu jus jeruk. Uji kesukaan ini dilakukan terhadap 30 orang panelis tidak terlatih yang diambil secara acak berumur 20-50 tahun. Panelis diminta untuk memberikan tanda centang (√) pada skala atau pernyataan yang sesuai dengan persepsi masing-masing panelis tanpa membandingkan dengan produk-produk sebelumnya. Parameter dalam uji organoleptik terdiri atas warna, aroma, rasa dan tekstur. Penilaian yang diberikan menggunakan skala satu sampai sembilan berdasarkan tingkat kesukaan panelis yaitu: (1) amat sangat tidak suka, (2) sangat tidak suka, (3) tidak suka, (4) agak tidak suka (5) netral, (6) agak suka, (7) suka, (8) sangat suka dan (9) amat sangat suka. Semakin besar angka yang diberikan oleh panelis maka produk semakin disukai oleh panelis.

### III.6.7 Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan data penelitian memakai program SPSS 20 dan Microsoft Excel 2016. Data yang didapat dari hasil analisis sifat kimia dan analisis sifat fisik dijelaskan secara deskriptif. Hasil uji organoleptik dianalisis statistik dengan uji Kruskal Wallis yang dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Data hasil uji total

antioksidan dari semua formula dianalisis menggunakan ANOVA (analysis of variance), jika ada perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ), dilanjutkan menggunakan uji Duncan.

### III.6.8 Penentuan Formula Terpilih

Penentuan formula terpilih menggunakan Metode Perbandingan Eksponensial (MPE). Terdapat peringkat yang dalam metode perbandingan eksponensial ini disebut dengan ranking. Data setiap parameter, produk diranking mulai dari yang terkecil sampai dengan yang terbesar berdasarkan kriteria yang telah ditetapkan. Nilai ranking yang semakin kecil menunjukkan semakin mendekati nilai yang diharapkan. Semua nilai dijumlahkan dan nilai terendah adalah formula terpilih atau formula terbaik (Rahmawati, 2018).

### III.7 Etik Penelitian

Tahapan dari suatu penelitian yaitu mengajukan surat ethical clearance di Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Universitas Pembangunan Nasional Veteran Jakarta yang terdiri dari melengkapi berkas. Penelitian ini berjudul “Konnyaku Tepung Porang (*Amorphophallus muelleri*) dengan Fortifikasi Residu Jus Jeruk (*Citrus sinensis*) Sebagai Alternatif Kudapan Penderita Obesitas”. Pelaksanaan penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jakarta berupa *Ethical Approval* atau Persetujuan Etik dengan Nomor **159/IV/2021/KEPK**.

### III.8 Definisi Operasional

Definisi operasional penelitian ini dapat dilihat dalam tabel 5.

**Tabel 2. Definisi Operasional**

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1	Kadar Air (AOAC, 2012)	Persen kadar air dalam konnyaku	Metode gravimetri	Cawan porselin, oven, timbangan analitik, desikator	% dalam 100 gram	Rasio
2	Kadar Abu (AOAC, 2012)	Persen kadar abu dalam konnyaku	Metode pengabuan kering	Cawan porselen, tanur, desikator, timbangan analitik, pembakar bunsen	% dalam 100 gram	Rasio
3	Kadar Protein (AOAC, 2012)	Persen kadar protein dalam konnyaku	Metode kjeldahl	Timbangan analitik, labu kjeldahl, alat destilasi, erlenmeyer, pembakar bunsen	% dalam 100 gram	Rasio
4	Kadar lemak (AOAC, 2012)	Persen kadar lemak dalam konnyaku	Metode Soxhlet	Labu soxhlet, kertas saring, oven, kapas bebas lemak, labu takar, bunsen, timbangan analitik	% dalam 100 gram	Rasio
5	Kadar Karbohidrat (AOAC, 2012)	Persen kadar karbohidrat dalam konnyaku	Metode <i>by difference</i>	Perhitungan dari 100% dikurangi kadar lemak, kadar protein, kadar abu, dan kadar air	% dalam 100 gram	Rasio
6	Kadar Serat Pangan (AOAC, 2012)	Persen kadar serat pangan dalam konnyaku	Metode gravimetri	Timbangan analitik, kain saring, oven	% dalam 100 gram	Rasio

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
7	Aktivitas Antioksidan (Sudirman, 2011)	Jumlah aktivitas antioksidan dalam konnyaku	Metode Kubo	Tabung reaksi, vortex mixer, spektrofometer	IC <sub>50</sub> (%b/v)	Rasio
8	Kekuatan Gel (Darmawan <i>et al.</i> , 2014)	Bahan maksimal yang digunakan agar matriks polimer pada daerah yang dibebani menjadi terpecah	Metode Bourne	<i>Texture analyzer</i>	gf (gram rasio force)	Rasio
9	Sineresis (AOAC, 2012)	Banyaknya air keluar dari gel konnyaku	Pengamatan langsung	<i>Refrigrator</i> , cawan, jam, dan timbangan analitik	%	Rasio
10	Uji Organoleptik (AOAC, 2012)	Penilaian kesukaan terhadap produk konnyaku berdasarkan parameter warna, aroma, rasa, dan tekstur	Pengisian formulir organoleptik	Formulir organoleptik	1. Amat sangat tidak suka 2. Sangat tidak suka 3. Tidak suka 4. Agak tidak suka 5. Netral 6. Agak suka 7. Suka 8. Sangat suka 9. Amat sangat suka	Ordinal