

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2019 hingga bulan Januari 2020. Formulasi produk *cookies*, pembuatan tepung komposit, dan pembuatan *cookies* dilakukan di Laboratorium Rekayasa Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro. Pengujian parameter produk *cookies* dilakukan di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Laboratorium Fisiologi dan Pemuliaan Tanaman, Laboratorium Ilmu dan Nutrisi Pakan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, dan Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Materi

Bahan penelitian yang digunakan, yaitu bekatul, kacang merah, tepung terigu, gula halus, garam, air, telur, margarin, susu skim, baking soda, daun pandan, katalisator *selenium reagent mixture* (Merck, Jerman), H_2SO_4 0,3 N (Merck, Jerman), *aquadest*, NaOH 45% (Merck, Jerman), NaOH 1,5 N (Merck, Jerman), n-hexana (Merck, Jerman), HCL 0,1 N (Merck, Jerman), H_2SO_4 pekat (Merck, Jerman), H_3BO_3 4% (Merck, Jerman), indikator (MR+MB) (Merck, Jerman), etanol (Merck, Jerman), dan DPPH (Sigma-Aldrich, USA). Alat yang digunakan, yaitu oven, baskom, wajan, loyang, *mixer*, *cabinet drier*, *grinder*, *buchner*, *beaker glass*, tanur, ayakan, labu destruksi, labu destilasi, lemari asam, erlenmeyer, buret, kertas saring, desikator, neraca analitik (Excellent DJ Scale, Indonesia), cawan porselin, dan spektrofotometer (Shimadzu, Jepang).

3.2. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan pembuatan rancangan percobaan, prosedur penelitian, uji parameter, dan analisis data yang diperoleh dari hasil percobaan.

3.2.1. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan terdiri atas empat perlakuan komposisi tepung terigu serta tepung komposit bekatul dan tepung kacang merah (Tepung Komposit BKM), yaitu T1 90%:10% (b/b), T2 85%:15% (b/b), T3 80%:20% (b/b), dan T4 75%:25% (b/b). Masing-masing perlakuan akan dilakukan sebanyak 5 kali ulangan (n=5). Desain percobaan pembuatan *cookies* substitusi tepung komposit bekatul dan kacang merah pada tepung terigu dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Desain Penelitian Pembuatan *Cookies* Substitusi Tepung Komposit BKM pada Tepung Terigu

Ulangan (R)	Perlakuan (T)			
	T1	T2	T3	T4
1	T1R1	T2R1	T3R1	T4R1
2	T1R2	T2R2	T3R2	T4R2
3	T1R3	T2R3	T3R3	T4R3
4	T1R4	T2R4	T3R4	T4R4
5	T1R5	T2R5	T3R5	T4R5

T1 : tepung terigu 90% : tepung komposit BKM 10%

T2 : tepung terigu 85% : tepung komposit BKM 15%

T3 : tepung terigu 80% : tepung komposit BKM 20%

T4 : tepung terigu 75% : tepung komposit BKM 25%

Hipotesis :

H0 : Tidak ada pengaruh dari substitusi tepung komposit bekatul dan kacang merah (BKM) pada tepung terigu terhadap serat kasar, protein, dan abu, *cookies*.

H1 : Terdapat pengaruh dari substitusi tepung komposit bekatul dan kacang merah (BKM) pada tepung terigu terhadap serat kasar, protein, dan abu, *cookies*.

Kriteria pengujian analisis statistik yang digunakan adalah sebagai berikut:

$p < 0,05$, maka H0 diterima dan H1 ditolak

$p \geq 0,05$, maka H0 ditolak dan H1 diterima

Empat perlakuan *cookies* dari tepung terigu serta tepung komposit bekatul dan tepung kacang merah (Tepung Komposit BKM) akan dievaluasi sifat kimia, meliputi serat kasar, protein, abu, dan aktivitas antioksidan.

3.2.2. Prosedur Penelitian

3.2.2.1. Pembuatan Tepung Bekatul (Mulyani *et al.*, 2016). Tepung bekatul dibuat dengan bekatul yang telah disortasi diayak 60 mesh, kemudian disangrai selama 3 – 7 menit pada suhu 70 – 90°C untuk menginaktifkan enzim lipase dan memperbaiki *flavour* dari bekatul dengan penambahan 3 lembar daun pandan. Setelah itu, dilakukan pengayakan 80 mesh.

3.2.2.2. Pembuatan Tepung Kacang Merah (Irawan *et al.*, 2014). Pembuatan tepung kacang merah dilakukan dengan kacang merah direndam 48 jam, dicuci, ditiriskan, dan dikeringkan dengan *cabinet drier* pada suhu 60°C selama ± 24 jam. Setelah itu, kacang merah disangrai selama 5 menit pada suhu 80 – 90°C, kemudian ditepungkan, dan diayak 80 mesh.

3.2.2.3. Pembuatan Tepung Komposit Bekatul dan Kacang Merah. Pembuatan tepung komposit BKM dilakukan dengan mencampur tepung bekatul dan tepung kacang merah dengan rasio 1:1.

3.2.2.4. Pembuatan Cookies (Affandi dan Ferdiansyah, 2016). Pembuatan *cookies* dilakukan dengan margarin, gula halus, dan garam dicampur dengan *mixer*, kemudian ditambahkan air dan kuning telur. Pada tahap akhir, ditambahkan tepung terigu, tepung komposit BKM, susu skim serta baking soda. Adonan dicetak bentuk bulat dengan cetakan serta dipanggang dengan suhu 160 – 170°C selama 10 menit.

Tabel 8. Komposisi Bahan *Cookies* Substitusi Tepung Komposit BKM pada Tepung Terigu

Bahan (g)	T1	T2	T3	T4
Tepung terigu	90	85	80	75
Tepung Komposit BKM	10	15	20	25
Margarin	40	40	40	40
Gula halus	60	60	60	60
Garam	0,5	0,5	0,5	0,5
Susu skim	5	5	5	5
Kuning telur	16	16	16	16
Air	5	5	5	5
Baking soda	0,5	0,5	0,5	0,5

3.2.3. Pengujian Parameter

Parameter yang akan di uji pada *cookies*, yaitu serat kasar, protein, abu, dan aktivitas antioksidan.

3.2.3.1. Serat Kasar (SNI 01-2891-1992). Uji serat kasar dilakukan dengan kertas saring Whatman 41 dikeringkan dalam oven suhu 105 – 110°C selama 1 jam, dimasukkan 15 menit dalam desikator, dan ditimbang. ± 1 g sampel dimasukkan dalam *beaker glass* 250 ml, kemudian ditambah 50 ml H₂SO₄ 0,3 N dan dididihkan

30 menit sembari digoyang-goyangkan. Sampel ditambahkan 25 ml NaOH 1,5 N dan dididihkan kembali selama 30 menit. Sampel disaring dengan kertas saring menggunakan *buchner*, kemudian dicuci berturut-turut dengan 50 ml *aquadest* panas, 50 ml H₂SO₄ 0,3 N, 50 ml *aquadest* panas, dan 5 ml n-hexana. Kertas saring dan isinya diangin-angikan, kemudian dioven ±6 jam suhu 105°C. Setelah itu, kertas saring dan isinya dimasukkan 15 menit dalam desikator dan ditimbang, kemudian dimasukkan dalam tanur dan dipijarkan 6 jam suhu 515°C. Setelah itu, dimasukkan 15 menit dalam desikator dan ditimbang. Kadar serat dihitung dengan rumus berikut:

$$(\%) \text{ Serat Kasar} = \frac{y-z-a}{x} \times 100\%$$

Keterangan:

y = berat kertas saring + sampel setelah dioven (g) a = berat kertas saring kosong (g)

z = berat kertas saring + sampel setelah ditanur (g) x = berat aktual sampel (g)

3.2.3.2. Protein (Legowo *et al.*, 2005). Uji protein dilakukan dengan 0,5 g sampel dimasukkan dalam labu destruksi dan ditambahkan 0,5 g katalisator *selenium reagent mixture*, kemudian ditambahkan 10 ml H₂SO₄ pekat untuk didestruksi selama 1 – 1,5 jam dalam lemari asam dengan api kecil hingga terbentuk warna bening. Setelah itu, hasil destruksi dipindahkan dalam erlenmeyer 1000 ml yang akan ditambahkan 40 ml NaOH 45% dan 100 ml *aquadest*. Hasil destilasi ditampung dalam 5 ml H₃BO₃ 4% dan 2 tetes indikator (MR+MB). Hasil destilat dititrasi dengan HCL 0,1 N hingga terjadi perubahan warna dari biru tua menjadi warna ungu. Kadar protein dihitung dengan rumus berikut:

$$(\%) \text{ N} = \frac{(\text{ml HCL} - \text{ml Blanko}) \times 14,008}{\text{berat sampel} \times 1000} \times 100\%$$

(%) Kadar Protein = % N x 6,25 (faktor konversi)

3.2.3.3. Abu (SNI 01-2891-1992). Uji kadar abu dilakukan dengan cawan porselin kosong dan penutupnya dikeringkan dalam oven selama 15 menit pada suhu 105°C, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang bobotnya. Sampel sebanyak 3 – 5 g ditimbang dalam cawan porselin dan dimasukkan dalam tanur dengan suhu 550°C hingga proses pengabuan sempurna. Setelah itu, cawan berisi sampel dimasukkan dalam desikator, kemudian ditimbang. Penimbangan diulangi hingga diperoleh bobot tetap. Kadar abu (dalam g/100 g bahan kering) dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Kadar abu (g/100 g bahan)} = \frac{\text{bobot abu (g)}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar abu (g/100 g bahan kering)} = \frac{\text{kadar abu (g/100 g bahan)}}{(100 - \text{kadar air})} \times 100\%$$

3.2.3.4. Aktivitas Antioksidan (Irmawati et al., 2018). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan sampel sebanyak 1 g ditambahkan dengan etanol 5 ml, setelah itu diinkubasi selama 24 jam, kemudian disaring dan disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 500 rpm. Sampel sebanyak 200 mikroliter ditambahkan 1 ml DPPH dan didiamkan selama 30 menit pada ruangan tertutup. Pembuatan blanko dilakukan dengan 200 mikroliter etanol ditambahkan dengan 1 ml DPPH. Blanko dan sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan sampel dihitung dengan rumus berikut:

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

3.2.4. Analisis Data

Data hasil analisis uji serat kasar, protein dan abu *cookies* dianalisis dengan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf keyakinan 95% menggunakan perangkat lunak pengolah data untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh antara perlakuan. Apabila terdapat pengaruh, maka dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Hasil analisis uji aktivitas antioksidan dianalisis secara deskriptif.