

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian adalah eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK). Penelitian dilakukan dengan 4 jenis perlakuan, masing-masing perlakuan terdiri dari 4 kali ulangan, sehingga terdapat 16 unit percobaan. Adapun perlakuan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. P1 : perlakuan penambahan ekstrak daun bayam 5% dari tepung terigu
2. P2 : perlakuan penambahan ekstrak daun bayam 10% dari tepung terigu
3. P3 : perlakuan penambahan ekstrak daun bayam 15% dari tepung terigu
4. P4 : perlakuan penambahan ekstrak daun bayam 20% dari tepung terigu

Perbedaan penambahan ekstrak daun bayam yang dilakukan bertujuan untuk mendapatkan penambahan maksimum yang dapat menghasilkan produk roti tawar yang memiliki nilai gizi khususnya zat besi (Fe) dan antioksidan yang baik.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Pangan Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Denpasar, Jalan Gemitir No 72 Denpasar Timur, yang meliputi proses pembuatan roti tawar daun bayam. Uji organoleptik dilakukan di laboratorium uji organoleptik Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Denpasar, Jalan Gemitir No 72 Denpasar Timur. Analisis kadar zat besi (Fe) dan kapasitas antioksidan dilaksanakan di laboratorium Analisis Pangan Fakultas Pertanian Universitas Udayana, Jalan PB. Sudirman, Denpasar. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2021 sampai dengan Januari 2022.

## **C. Bahan dan Alat**

### **1. Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan roti tawar daun bayam ini adalah sebagai berikut:

- a. Pada proses pembuatan ekstrak daun bayam, daun bayam yang digunakan adalah daun bayam dalam keadaan bersih dengan ciri-ciri, segar, berwarna hijau, daun utuh, tidak cacat.
- b. Pada proses pembuatan roti tawar, bahan yang digunakan adalah tepung terigu berprotein tinggi, gula pasir, ragi instant, susu bubuk, telur ayam, garam, dan mentega dengan keseluruhan kondisi serta kualitas bahan yang baik.
- c. Bahan yang digunakan untuk analisis kadar zat besi adalah aquades, HNO<sub>3</sub> pekat p.a, larutan induk besi 1000 ppm, kertas saring Whatman No 4.1.
- d. Bahan yang digunakan untuk analisis kapasitas antioksidan adalah serbuk DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), etanol 96%, metanol p.a, aquades, dan vitamin C merk komersial.
- e. Bahan yang digunakan dalam uji organoleptik yaitu air dalam kemasan (tidak menggunakan crackers seperti pengujian organoleptik biasanya karena rasa dari cracker dan roti tawar memiliki rasa yang hampir sama, dan jika digunakan sebagai penetral dikhawatirkan dapat mempengaruhi proses pengujian produk).

Semua bahan diatas (bahan ekstrak daun bayam, bahan roti tawar, dan bahan untuk uji organoleptik) dibeli di satu tempat yang sama.

### **2. Alat**

Adapun alat-alat yang digunakan dalam pembuatan roti tawar daun bayam ini adalah sebagai berikut:

- a. Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun bayam yaitu panci, kompor, sendok, gelas ukur, blender, saringan.
- b. Alat yang digunakan dalam pembuatan roti tawar yaitu, timbangan makanan digital, oven listrik, rolling pin kayu, loyang/cetakan aluminium, baskom plastik, sendok, dan serbet bersih.
- c. Alat yang digunakan untuk uji kadar zat besi (Fe) yaitu Spektrofotometer, Serapan Atom (SSA), penangas listrik, neraca analitik, oven, tanur listrik, eksikator, labu takar (25,50,100 ml), erlenmayer 300 ml, pipet volum 25 ml, pipet skala 5 ml, pipet skala 10 ml, pisau, cawan penguap, corong, pipet tetes, batang pengaduk, sendok zat dan botol wadah.
- d. Alat yang digunakan untuk uji kapasitas antioksidan yaitu Erlenmeyer 250 ml, neraca analitik, gelas beaker 500 ml, gelas ukur, corong kaca, spatula, kompor listrik, kertas saring, termometer, dandang, aluminium foil, waterbath, kipas angin, pipet ukur, dan spektrofotometer UV-Vis.
- e. Alat yang digunakan untuk uji organoleptik yaitu piring kertas, nampan kayu, kuisioner dan alat tulis.

#### **D. Formulasi Pembuatan Roti Tawar**

Dalam penelitian ini roti tawar dengan masing-masing perlakuan dan ulangan yaitu dibuat dalam 1 porsi. Dalam penelitian ini, jumlah ekstrak daun bayam yang digunakan berbeda-beda di setiap perlakuan. Adapun komposisi bahan dalam pembuatan roti tawar dijelaskan pada Tabel 8 sebagai berikut.

**Table 1.**  
**Formulasi Pembuatan Roti Tawar**  
**Dengan Penambahan Ekstrak Daun Bayam Dalam Setiap Perlakuan**

| Bahan                   | Perlakuan  |             |             |             |
|-------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|
|                         | P1<br>(5%) | P2<br>(10%) | P3<br>(15%) | P4<br>(20%) |
| Ekstrak Daun Bayam (ml) | 10         | 20          | 30          | 40          |
| Terigu (gr)             | 200        | 200         | 200         | 200         |
| Telur (gr)              | 24         | 24          | 24          | 24          |
| Susu bubuk (gr)         | 27         | 27          | 27          | 27          |
| Ragi Roti (gr)          | 2          | 2           | 2           | 2           |
| Garam (gr)              | 4          | 4           | 4           | 4           |
| Gula (gr)               | 16         | 16          | 16          | 16          |
| Mentega (gr)            | 10         | 10          | 10          | 10          |
| Air (ml)                | 45         | 45          | 45          | 45          |

#### **E. Sampel Penelitian**

Sampel penelitian yang dianalisis yaitu roti tawar dengan penambahan ekstrak daun bayam sebagai berikut:

1. P1 : perlakuan penambahan ekstrak daun bayam 5% dari tepung terigu
2. P2 : perlakuan penambahan ekstrak daun bayam 10% dari tepung terigu
3. P3 : perlakuan penambahan ekstrak daun bayam 15% dari tepung terigu
4. P4 : perlakuan penambahan ekstrak daun bayam 20% dari tepung terigu

#### **F. Prosedur Kerja**

##### **1. Prosedur Pembuatan Ekstrak Daun Bayam**

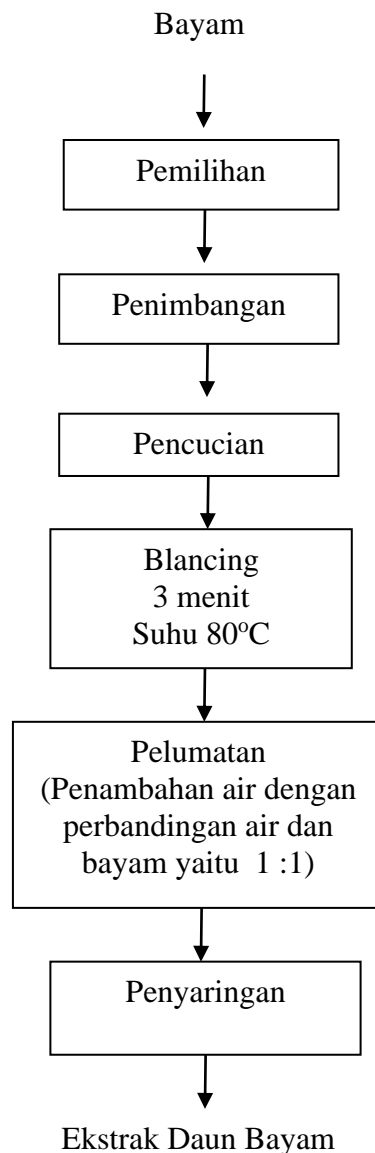
- a. Pertama-tama bayam dipilih atau disortir yaitu dengan tingkat kesegaran yang baik dan dalam keadaan tidak busuk dengan ciri khas bayam yaitu berwarna hijau.
- b. Bayam yang sudah dipilih sesuai dengan standar kemudian ditimbang. Setelah ditimbang bayam dibersihkan dan dicuci bersih dengan air bersih mengalir.

- c. Bayam yang sudah dicuci dengan bersih kemudian di blanching selama 3 menit pada suhu 80°C dengan api sedang.
- d. Setelah di blanching bayam kemudian diblender dan dilakukan penambahan air dengan perbandingan bayam dan air yaitu 1 : 1, menggunakan blender dengan kecepatan 4 selama 5 menit, hingga bayam menjadi halus merata.
- e. Bayam yang sudah dihaluskan kemudian dilakukan proses penyaringan untuk mendapatkan ekstraknya. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada diagram alir pembuatan ekstrak daun bayam pada Gambar 4.

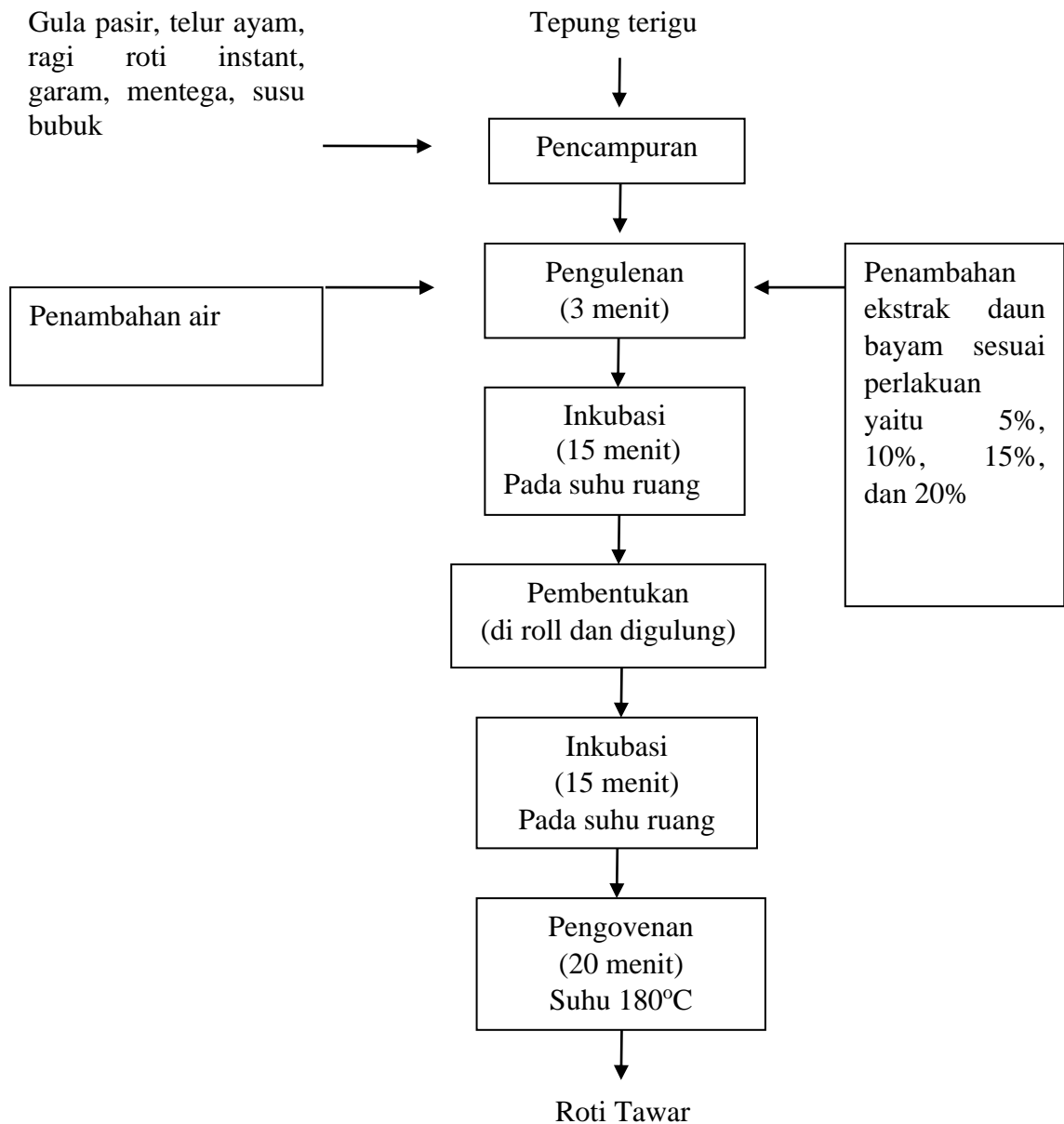
## **2. Prosedur Pembuatan Roti Tawar**

- a. Siapkan alat dan bahan yang diperlukan. Pastikan alat-alat yang digunakan dalam keadaan kering dan bersih.
- b. Timbang tepung terigu tinggi protein, telur, gula pasir, ragi roti instan, garam, susu bubuk, dan mentega.
- c. Masukkan keseluruhan tepung terigu, gula pasir, mentega, ragi, susu bubuk, telur dan garam ke dalam waskom, kemudian aduk-aduk hingga bahan tercampur rata. Secara perlahan kemudian bahan yang ada di dalam waskom ditambahkan air serta ekstrak daun bayam (sesuai masing-masing perlakuan).
- d. Setelah ditambahkan air dan ekstrak daun bayam, adonan diuleni selama 3 menit hingga adonan kalis dengan ciri-ciri adonan tidak lengket di tangan.
- e. Setelah adonan menjadi kalis, adonan didiamkan di dalam waskom yang ditutupi dengan serbet bersih selama 15 menit hingga adonan mengembang.
- f. Setelah mengembang, adonan dibentuk dengan diroll (untuk mengeluarkan gas selama proses fermentasi) dan digulung.

- g. Pindahkan adonan ke atas cetakan yang telah diolesi dengan margarin dan diamkan kembali selama 15 menit hingga adonan mengembang kembali.
- h. Adonan yang telah mengembang, kemudian siap dipanggang di dalam oven dengan suhu 180°C selama 20 menit.
- i. Setelah 20 menit dipanggang, roti tawar diangkat. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada diagram alir pembuatan roti tawar bayam pada Gambar 5.



**Gambar 4. Diagram Alir Pembuatan Ekstrak Daun Bayam**



**Gambar 5. Diagram Alir Pembuatan Roti Tawar Bayam**

**G. Parameter Yang Diamati**

**1. Mutu Subjektif**

**a. Uji Organoleptik**

Pengujian organoleptik disebut penilaian indera atau penilaian sensorik merupakan suatu cara penilaian dengan memanfaatkan panca indera manusia untuk mengamati rasa, warna, tekstur, aroma suatu produk makanan, minuman

ataupun obat. Pengujian organoleptik berperan penting dalam pengembangan produk. Evaluasi sensorik dapat digunakan untuk menilai adanya perubahan yang dikehendaki atau tidak dalam produk atau bahan-bahan formulasi, mengidentifikasi area untuk pengembangan, mengevaluasi produk pesaing, mengamati perubahan yang terjadi selama proses atau penyimpanan, dan memberikan data yang diperlukan untuk promosi produk (Ayustaningwarno, 2014).

Penilaian organoleptik terdiri dari enam tahapan yaitu menerima produk, mengenali produk, mengadakan klarifikasi sifat-sifat produk, mengingat kembali produk yang telah diamati, dan menguraikan kembali sifat inderawi produk. Dalam uji organoleptik harus dilakukan dengan cermat karena memiliki kelebihan dan kelemahan. Uji organoleptik memiliki relevansi yang tinggi dengan mutu produk karena berhubungan langsung dengan selera konsumen. Selain itu, metode ini cukup mudah dan cepat untuk dilakukan, hasil pengukuran dan pengamatan cepat diperoleh.

Kelemahan dan keterbatasan uji organoleptik diakibatkan beberapa sifat inderawi tidak dapat dideskripsikan, manusia yang dijadikan panelis terkadang dapat dipengaruhi oleh kondisi fisik dan mental sehingga panelis menjadi jenuh dan kepekaan menurun, serta dapat terjadi salah komunikasi antara manajer dan panelis (Ayustaningwarno, 2014). Didalam uji organoleptik berupa uji hedonik dan uji mutu hedonik pada penelitian ini terdapat empat komponen yang diujikan yaitu :



- 1) Mutu rasa adalah penilaian secara indrawi menggunakan indra pengecap atau indra lidah. Rasa juga merupakan salah satu faktor mutu yang dapat mempengaruhi suatu produk pangan.
- 2) Mutu warna, faktor warna akan tampil terlebih dahulu dalam penentuan mutu makanan, selain itu warna juga dapat digunakan sebagai indikator kesegaran dan kematangan suatu produk. Baik atau tidaknya cara pencampuran atau pengolahan dapat ditandai dengan adanya warna yang seragam dan merata.
- 3) Mutu tekstur adalah salah satu sifat bahan atau produk yang dapat dirasakan melalui sentuhan kulit ataupun pencicipan.
- 4) Penerimaan secara keseluruhan adalah tingkat kesukaan atau penerimaan dari indikator rasa, warna, maupun tekstur terhadap produk.

Sifat organoleptik ini diuji dengan uji hedonik dan uji mutu hedonik dengan rentang hedonik sebanyak 4 skala yang meliputi mutu rasa, mutu warna, mutu tekstur dan penerimaan keseluruhan. Skala hedonik, skala mutu hedonik dan skala numerik digunakan untuk mengetahui mutu rasa, mutu warna, mutu tekstur dan penerimaan keseluruhan dari roti tawar bayam. Skala hedonik, skala mutu hedonik dan numerik yang digunakan dalam uji organoleptik ini dapat dilihat pada table 9, 10, 11, dan 12 berikut.

**Table 2.**  
**Skala Mutu Hedonik dan Skala Numerik yang digunakan dalam**  
**Uji Mutu Hedonik Terhadap Mutu Rasa Roti Tawar**

| No | Skala Hedonik | Skala Numerik |
|----|---------------|---------------|
| 1  | Tawar         | 3             |
| 2  | Agak pahit    | 2             |
| 3  | Pahit         | 1             |

**Table 3.**  
**Skala Mutu Hedonik dan Skala Numerik yang digunakan dalam Uji Mutu Hedonik Terhadap Mutu Tekstur Roti Tawar**

| No | Skala Hedonik | Skala Numerik |
|----|---------------|---------------|
| 1  | Lembut        | 3             |
| 2  | Agak lembut   | 2             |
| 3  | Tidak lembut  | 1             |

**Table 4.**  
**Skala Mutu Hedonik dan Skala Numerik yang digunakan dalam Uji Mutu Hedonik Terhadap Mutu Warna Roti Tawar**

| No | Skala Hedonik    | Skala Numerik |
|----|------------------|---------------|
| 1  | Hijau terang     | 3             |
| 2  | Agak hijau       | 2             |
| 3  | Hijau kekuningan | 1             |

**Tabel 12.**  
**Skala Hedonik dan Skala Numerik yang digunakan dalam Uji Hedonik Terhadap Penerimaan Keseluruhan Roti Tawar Bayam**

| No | Skala Hedonik     | Skala Numerik |
|----|-------------------|---------------|
| 1  | Sangat suka       | 5             |
| 2  | Suka              | 4             |
| 3  | Netral            | 3             |
| 4  | Tidak suka        | 2             |
| 5  | Sangat tidak suka | 1             |

Penelitian organoleptik yang dilakukan menggunakan panelis agak terlatih sebanyak 30 orang. Panelis agak terlatih tersebut merupakan panelis yang merupakan Mahasiswa Jurusan Gizi Poltekkes Denpasar semester 4. Pemilihan panelis mahasiswa semester 4 tersebut berdasarkan alasan bahwa mereka telah memperoleh mata kuliah mengenai penilaian uji organoleptik. Penilaian yang dilakukan oleh panelis dengan menggunakan instrumen dalam skala hedonik dan skala mutu hedonik dan di transformasikan ke dalam skala numerik.

Penilaian terhadap produk oleh panelis dilakukan dengan mengisi angket yang disediakan, dimana dalam angket tersebut menggunakan skala hedonik dan skala mutu hedonik. Adapun langkah-langkah penilaian yang akan dilakukan adalah sebagai berikut :

- a) Peneliti menyiapkan produk, air mineral dan lembar penilaian (angket).
- b) Sampel yang digunakan adalah *roti tawar bayam*.
- c) Mengisi nama panelis, produk yang akan diuji dan tanggal pada lembar penilaian (angket) yang telah disediakan. Lembar penilaian uji organoleptik berupa uji hedonik (penerimaan keseluruhan) dan uji mutu hedonik (mutu rasa, mutu warna, dan mutu tekstur). Panelis meminum air dalam kemasan (air mineral) sebagai penetral sebelum dan sesudah melakukan penilaian terhadap masing-masing produk.
- d) Panelis menguji mutu rasa, mutu warna, mutu tekstur, dan penerimaan secara keseluruhan dari produk yang disediakan (*roti tawar bayam*).
- e) Panelis memberi penilaian terhadap produk dengan memberi tanda rumput ( $\surd$ ) pada tabel yang terdapat pada angket yang disediakan.
- f) Data yang diperoleh dari panelis kemudian dianalisis.

## **2. Objektif**

Kandungan zat gizi yang diteliti yaitu semua unit perlakuan dari *roti tawar bayam*. Zat gizi yang dianalisis adalah kadar zat besi (Fe) dan kapasitas antioksidan.

### **a. Kadar Zat Besi (Fe)**

Kadar zat besi (Fe) ditentukan dengan metode Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). Prosedur kerja sebagai berikut:

- 1) Sampel yang akan dianalisis terlebih dahulu diberi perlakuan pendahuluan yaitu disiapkan dengan berat yang dibutuhkan yaitu sebanyak 30 gr pada cawan dan dikeringkan pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 3 jam kemudian ditimbang hingga bobot konstan.
- 2) Pembuatan kurva baku besi yaitu dimulai dengan memplotkan absorbansi larutan standar terhadap konsentrasi larutan standar.
- 3) Pembuatan larutan baku kerja yaitu dimulai dari larutan induk besi (Fe) 1000 ppm dipipet sebanyak 10 ml dan diimpitkan dengan aquadest pada labu takar 100 ml dengan konsentrasi larutan 100 ppm. Larutan baku kerja 100 ml dipipet sebanyak 2,5 ml; 5 ml; dan 7,5 ml dan 10 ml dan diimpitkan dengan aquadest dalam labu takar 50 ml hingga tanda batas. Larutan tersebut berturut-turut 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm. Masing-masing larutan standar (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm) ditentukan absorbannya dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).
- 4) Sebanyak 5 gr sampel kering ditimbang dengan teliti dengan cawan penguap dan didestruksi pada tanur listrik dengan suhu  $500^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam kemudian didinginkan pada suhu kamar. Abu yang dihasilkan ditambah dengan aquades sebanyak 10 tetes dan asam nitrat ( $\text{HNO}_3$ ) pekat: aquadest (1:1) sebanyak 3 ml. Kelebihan asam nitrat ( $\text{HNO}_3$ ) diuapkan pada lemari asam. Cawan penguap yang berisi sampel dimasukkan dalam tanur listrik dan diabukan selama 1 jam suhu  $500^{\circ}\text{C}$ . Abu didinginkan dan ditambah 5 ml asam klorida ( $\text{HCl}$ ) pekat: aquadest (1:1), dan disaring. Filtrat dipindahkan dalam labu takar 25 ml dan cawan dibilas dengan aquadest sebanyak 3 kali lalu diimpitkan hingga tanda

batas. Setelah itu ukur serapan dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA) menggunakan lampu katoda besi (Fe).

## **b. Kapasitas Antioksidan**

Analisis kapasitas antioksidan yaitu menggunakan metode *Spektrofotometer* (Andriyani,2008). Cara analisis:

- 1) 1 gram bahan dimasukkan kedalam labu ukur 5 ml, kemudian ditambahkan dengan methanol sampai garis teratas.
- 2) 0,001 gram DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan dengan methanol sampai garis teratas.
- 3) Masing-masing konsentrasi ekstrak diambil 0,25 ml dan ditambahkan 3,5 ml DPPH 0,1 mM, kemudian dilakukan penambahan 0,25 ml methanol.
- 4) Divortex sampai homogen. Lalu diinkubasi selama 30 menit.
- 5) Dilakukan peneraan pada  $\lambda$  517 nm.

$$\text{Kapasitas Antioksidan} = \frac{\text{ppm X} \times \text{Total volume} \times \text{FP}}{\text{Berat sampel (kg)}}$$

## **H. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Pengolahan Data**

Pengolahan data dilakukan setelah pengumpulan data selesai. Setelah data terkumpul, kemudian dilakukan cleaning data kemudian diolah menggunakan kalkulator dengan bantuan laptop dengan menggunakan aplikasi *Microsoft excel*.

### **2. Analisis Data**

Data yang dikumpulkan kemudian di tabulasi dan dihitung, kemudian semua sampel akan dianalisis hasil uji organoleptik, kadar zat besi, dan kapasitas antioksidan. Selanjutnya akan dianalisis sidik ragam (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap parameter yang diuji.

**Table 5.**  
**Sidik Ragam**

| Sumber Keberagaman | Derajat Bebas | JK | KT | F Hitung | F Tabel 5% | F Tabel 1% |
|--------------------|---------------|----|----|----------|------------|------------|
| Perlakuan          | (k-1)         |    |    |          |            |            |
| Acak               | (k-1) (n-1)   |    |    |          |            |            |
| Total              | (kn - 1)      |    |    |          |            |            |

Keterangan :

K = banyak perlakuan

N = banyak ulangan

JK = jumlah kuadrat

KT = kuadrat tengah

Bila ada pengaruh maka akan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Berdasarkan langkah tersebut kemudian ditarik kesimpulan.

#### **I. Penentuan Perlakuan Terbaik**

Penentuan perlakuan terbaik pada roti tawar bayam didapat berdasarkan notasi tertinggi dari analisis subjektif pada roti tawar bayam. Analisis subjektif meliputi uji organoleptik berupa uji hedonik (penerimaan keseluruhan) dan uji mutu hedonik (mutu rasa, mutu warna, mutu tekstur).