

BAB III

METODE

3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian kandungan nutrisi bolu pisang kukus yang ditambahkan dengan bubuk daun kelor dan bubuk kayu manis dilakukan selama kurang lebih 5 bulan, pada bulan Maret 2023 sampai dengan Juli 2023. Penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Makanan Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

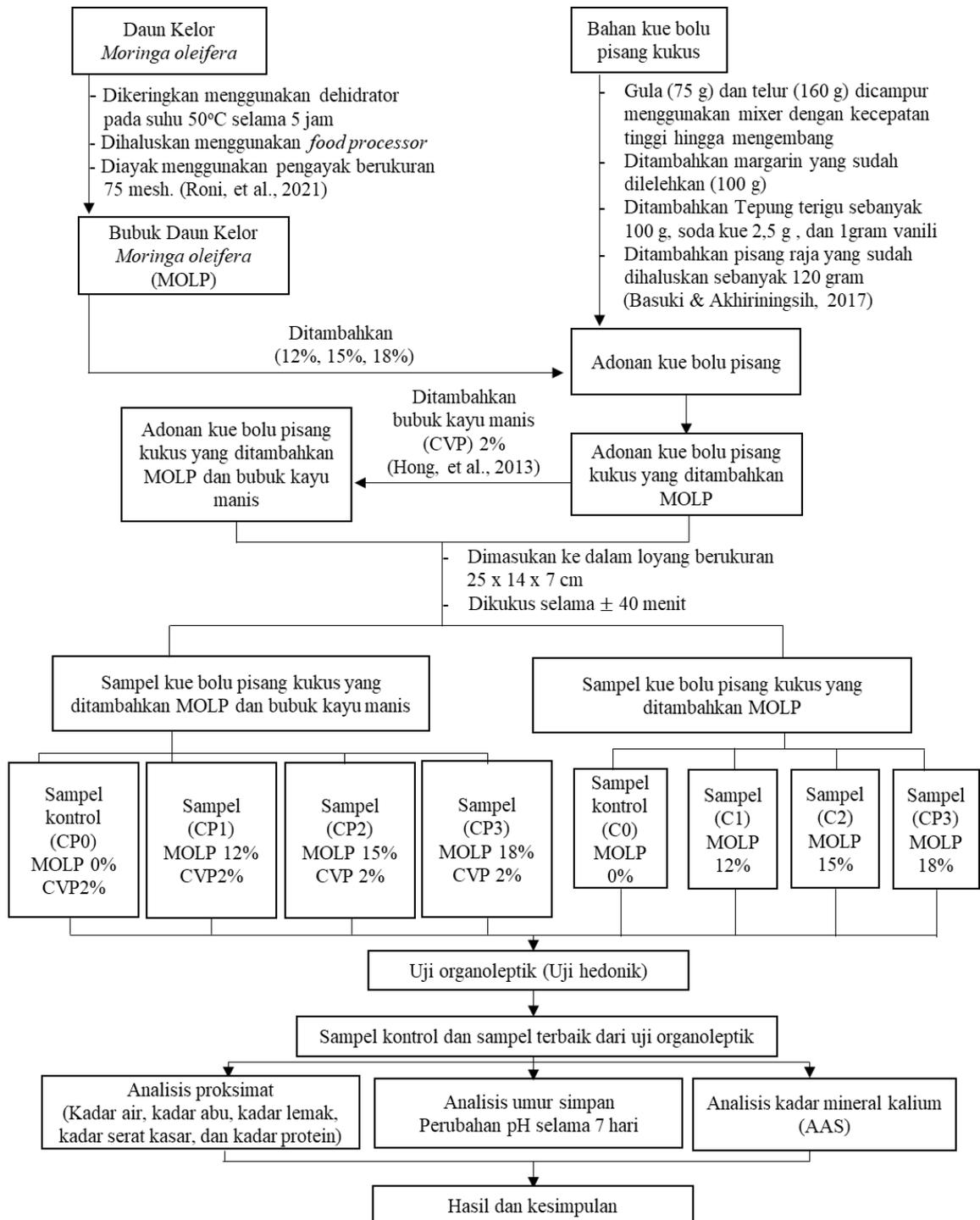
Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain adalah dehidrator, *food processor*, saringan (berukuran 75 mesh), panci pengukus, *mixer*, pisau, sendok, loyang kue, plastik *ziplock*, kemasan makanan, neraca analitik Mettler Toledo ME204, timbangan bahan, desikator, oven, *hot plate*, *furnace*, cawan krus, tang krus, pipet ukur 100 mL, corong kaca, corong Buchner, set alat filtrasi vakum, gelas kimia, gelas ukur 50 mL, labu ukur 500 mL, kertas saring (Whatman No 541), *Atomic Absorption Spectrometry* (AAS), set alat soklet, pH meter padatan, statif, klem, labu ukur 200 mL, labu destilasi, labu kjedahl, dan erlenmeyer .

3.2.2. Bahan

Bahan yang diperlukan untuk membuat bolu pisang diantaranya tepung terigu, pisang raja yang sudah matang, margarin, gula, telur, garam, soda kue, vanili, bubuk daun kelor (*Moringa oleifera*), bubuk kayu manis (*Cinnamomum verum*). Bahan yang digunakan untuk analisis yaitu aquades, asam sulfat (H₂SO₄), natrium hidroksida (NaOH), n-Heksana,

kalium sulfat (K_2SO_4), tembaga sulfat ($CuSO_4$), asam borat (H_3BO_3), metilen biru, metilen merah, asam nitrat (HNO_3), asam klorat ($HClO_4$), deret standar K, natrium sulfat (Na_2SO_4), dietil eter, asam asetat glasial (CH_3COOH), kloroform ($CHCl_3$), KI, indikator amilum, dan natrium tiosulfat ($Na_2S_2O_3$).

3.3. Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.1 Bagan alir penelitian

Afviva Nissa, 2023

KARAKTERISTIK ORGANOLEPTIK, NUTRISI, DAN UMUR SIMPAN KUE BOLU PISANG DENGAN PENAMBAHAN DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) DAN KAYU MANIS (*Cinnamomum verum*)

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.4. Tahapan Penelitian

3.4.1. Preparasi Bubuk Daun Kelor (*Moringa oleifera*)

Daun kelor *Moringa oleifera* segar yang berwarna hijau tua dan tidak berpenyakit diambil dan dicuci hingga bersih. Daun yang sudah dicuci disembarkan diatas tampah dan dilakukan pengeringan awal selama kurang lebih 2 hari. Setelah itu, daun dikeringkan pada suhu 50°C selama 10 jam dalam oven. Daun yang kering dihaluskan menggunakan *food processor* dan diayak dengan (ukuran ayakan 75 mesh). Bubuk daun kelor kemudian dikemas dan disimpan pada suhu ruang.

3.4.2. Preparasi sampel kue bolu pisang kukus

Preparasi sampel kue bolu pisang raja kukus yang difortifikasi dengan bubuk daun kelor (*Moringa oleifera*) mengikuti prosedur pada penelitian yang dilakukan oleh Basuki & Akhiriningsih, 2017. Proses preparasi kue bolu pisang raja kukus meliputi persiapan bahan – bahan yang terdiri dari tepung terigu (100 gram), lumatan pisang raja yang sudah matang berwarna kecoklatan (120 gram), margarin (100 gram), gula (75 gram), garam (1 gram), soda kue (2,5 gram), vanili (1 gram), bubuk daun kelor (MOLP) sebanyak 12% b/b, 15% b/b, dan 18% b/b dan bubuk kayu manis (CVP) banyak 2% untuk sampel kue bolu pisang kukus yang diberi pengawet sebanyak 2% (Hong, et al., 2013).

Tahap selanjutnya gula dan telur dicampur menggunakan mixer dengan kecepatan tinggi sampai mengembang selama ± 20 menit. Tambahkan tepung terigu, soda kue dan vanili kemudian margarin yang telah dicairkan dimasukkan sedikit demi sedikit sambil terus diaduk. Pisang raja yang sudah kecoklatan dihaluskan hingga menjadi bubur lalu ditambahkan ke dalam adonan sambil diaduk perlahan (mixer kecepatan rendah) setelah adonan

kue bolu pisang raja sudah homogen ditambahkan bubuk daun kelor sebanyak 12% untuk sampel C1, 15% untuk sampel C2, 18% untuk sampel C3 dan tidak diberikan bubuk daun kelor untuk sampel kontrol (C0). Sampel kue bolu pisang yang difortifikasi dengan bubuk daun kelor yang diberikan pengawet alami berupa bubuk kayu manis (CVP) sebanyak 2% yaitu sampel CP1 yang diberikan MOLP sebanyak 12%, CP2 yang diberikan MOLP sebanyak 15% dan CP3 yang diberikan MOLP sebanyak 18%. Adonan kemudian dimasukkan ke dalam loyang dengan diameter atas 9 cm, diameter bawah 6,5 cm dan tinggi 3 cm yang sudah diolesi margarin. Dikukus menggunakan panci pengukus selama \pm 40 menit. Setelah matang didiamkan pada suhu ruang, setelah suhu menurun bolu kukus dikemas menggunakan plastik kemasan makanan.

3.4.3. Evaluasi sensori

Evaluasi sensori dari kue hasil fortifikasi ini dilakukan menggunakan panelis yang tidak terlatih yang merupakan konsumen kue biasa sebanyak 25 orang. Teknik evaluasi sensorik yang dilakukan sesuai dengan standar untuk meminimalkan bias, memastikan bahwa panelis tidak saling mempengaruhi, seperti yang dijelaskan oleh Watts, et al., 1989. Atribut sensori yang dinilai yaitu penampilan, warna, rasa, rasa, tekstur, rasa di mulut, dan penerimaan secara keseluruhan, panelis menilai penerimaan sampel pada skala hedonis 9 poin (Wichchukit & O'Mahony, 2015). Skala penilaian berkisar dari 1 = sangat tidak suka, 2 = sangat tidak suka, 3 = tidak suka, 4 = agak tidak suka, 5 = biasa saja, 6 = agak suka, 7 = suka, 8 = sangat suka, dan 9 = sangat suka. Alasan digunakannya skala hedonis 9 poin dikarenakan mudah digunakan dan dipelajari secara luas untuk evaluasi sensorik.

3.4.4. Penentuan kadar air

Prosedur penentuan kadar air sesuai dengan yang terdapat pada AOAC, 2005 yaitu pertama – tama cawan krus kosong dikeringkan selama 1 jam dalam oven pada suhu 105°C, didinginkan dalam desikator selama (\pm 60 menit), dan ditimbang setelah mencapai suhu ruang hingga massanya konstan. Setelah itu, sampel kue sebanyak 3 gram dimasukkan ke dalam krus yang sudah dikeringkan. Cawan krus yang berisi sampel dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam, didinginkan ke desikator selama (\pm 60 menit) dan ditimbang setelah mencapai suhu kamar dan dicatat massanya. Kadar air sampel kue bolu pisang ditentukan berdasarkan persamaan berikut:

$$\% \text{ kadar air} = \frac{a - b}{b} \times 100\%$$

Keterangan:

A: Berat sampel awal (gram)

B: Berat sampel setelah dikeringkan (gram)

3.4.5. Penentuan kadar abu

Prosedur penentuan kadar abu pada sampel kue bolu pisang sesuai dengan yang terdapat pada AOAC, 2005. Pertama - tama cawan krus dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Cawan tersebut didinginkan dalam desikator selama (\pm 60 menit), kemudian ditimbang setelah mencapai suhu ruang hingga massanya konstan, kemudian sampel bolu pisang dimasukkan sebanyak 3 gram. Pengabuan sampel dilakukan menggunakan tanur dengan suhu 600°C selama 6 jam atau sampai didapatkan abu berwarna putih. Selanjutnya cawan didinginkan dalam desikator selama (\pm 60 menit), kemudian ditimbang setelah mencapai suhu ruang hingga massanya konstan. Kadar abu dalam sampel kue bolu pisang ditentukan berdasarkan persamaan berikut:

$$\% \text{ kadar air} = \frac{b}{a} \times 100\%$$

Keterangan:

a : Berat sampel sebelum pengabuan (gram)

b : Berat sampel setelah pengabuan (gram)

3.4.6. Kadar Karbohidrat

Kadar karbohidrat pada sampel ditentukan dengan penjumlahan kadar protein, lemak, air dan abu dari 100 gram sampel. Kadar karbohidrat didapatkan dengan perhitungan berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Kadar karbohidrat (\%)} = 100 - (\text{kadar protein} + \text{lemak} + \text{air} + \text{abu}) (\text{g}) \times 100\%$$

3.4.7. Kalori total

Kalori total dari sampel kue bolu ditentukan dengan menghitung banyak karbohidrat, lemak dan protein, yang dihitung berdasarkan faktor Atwater pada persamaan berikut:

$$\text{Kalori total} = (\text{Karbohidrat} \times 4) + (\text{Lemak} \times 9) + (\text{Protein} \times 4)$$

3.4.8. Penentuan kadar serat kasar

Sampel bolu pisang dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 4 jam, lalu dihaluskan. Dalam erlenmeyer 500 mL dimasukkan 1-3 g (W1) sampel bolu pisang yang sudah dihaluskan, dan 50 mL H₂SO₄ 1,25% (reagen 1) lalu dididihkan selama kurang lebih 30 menit. Setelah mendidih, dalam keadaan panas ditambah dengan 50 mL NaOH 3,25% (reagen 2) dan dididihkan kembali selama 30 menit. Setelah mendidih, larutan disaring menggunakan corong Buchner dengan bantuan alat pompa vakum yang berisi kertas saring Whatman No. 541 yang sudah dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam dan ditimbang massanya. Setelah disaring,

endapan pada kertas saring dicuci menggunakan H₂SO₄ 1,25% panas, aquades panas dan pelarut lemak (heksan). Kertas saring yang berisi serat dimasukkan ke dalam cawan krus yang sudah diketahui massanya dan dikeringkan dalam oven suhu 105°C selama 4 jam. Setelah dioven, cawan yang berisi kertas saring didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang massanya hingga konstan. Bila kadar serat kasar yang didapatkan melebihi 1% maka tahap selanjutnya yaitu pengabuan menggunakan *furnace* suhu 600°C selama 3 jam dan didinginkan dalam desikator selama 1 jam lalu ditimbang hingga didapatkan massa konstan. Kadar serat kasar dari sampel kue bolu pisang didapatkan dari perhitungan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Serat kasar (\%)} = \frac{(b - (W1 + W2) - c)(g)}{a (g)} \times 100\%$$

Keterangan:

a: Berat sampel

b: Berat cawan + kertasaring berisi serat

c: Berat abu

W1: Berat cawan

W2: Berat kertas saring kering

3.4.9. Penentuan kadar lemak kasar

Kandungan lemak dari sampel kue ditentukan sesuai dengan metode yang dijelaskan oleh SNI 01-2891-1992 menggunakan ekstraksi Soxhlet. Pertama – tama sampel ditimbang sebanyak 1 – 2 gram lalu dimasukkan ke dalam selongsong kertas saring yang dialasi dengan kapas. Sumbat selongsong kertas berisi sampel dengan kapas, keringkan dalam oven pada suhu tidak lebh dari 105°C selama kurang lebih 1 jam, kemudian dimasukkan ke dalam alat soxhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak berisi batu didih yang telah dikeringkan dan telah diketahui bobotnya. Ekstrak dengan

pelarut heksana selama kurang lebih 44 – 6 jam. Ekstrak lemak yang didapatkan dikeingkan dalam oven pada suhu 105°C. Setelah kering ekstrak lemak didinginkan menggunakan desikator dan ditimbang hingga tercapai massa konstan. Kandungan lemak kasar dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ Lemak dalam sampel} = \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100\%$$

Keterangan:

W : bobot contoh (g)

W₁ : bobot labu lemak sebelum ekstraksi (g)

W₂ : bobot labu lemak sesudah ekstraksi (g)

3.4.10. Penentuan kadar protein kasar

Analisis kandungan protein pada sampel kue bolu pisang diukur menggunakan metode Kjeldahl sesuai dengan prosedur yang terdapat pada SNI 01-2891-1992. Pertama dibuat campuran selen yang terdiri dari 2,5 gram bubuk SeO₂, 100 gram K₂SO₄, dan 20 gram CuSO₄.5H₂O. Lalu dilakukan tahapan destruksi, pertama – tama sampel kue bolu pisang kukus ditimbang sebanyak 1 gram, lalu dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl dan ditambahkan 2 gram campuran selen dan 25 ml H₂SO₄ pekat. Dipanaskan menggunakan di atas Bunsen sampai larutan mendidih dan berubah warna menjadi jernih kehijau – hijauan (sekitar 2 jam). Biarkan dingin, kemudian diencerkan menggunakan akuades di dalam labu ukur berukuran 100 mL. Pipet 5 mL larutan dan dimasukkan ke dalam alat destilasi, ditambahkan 5 mL NaOH 30% dan beberapa tetes indikator PP. didestilasi selama kurang lebih 10 menit, di dalam labu Erlenmeyer yang berfungsi sebagai penampung destilat dimasukan 10 mL larutan asam borat 2% yang telah dicampur indikator. Setelah selesai tertampung seluruh destilat di dalam labu Erlenmeyer dilakukan titrasi menggunakan larutan HCl 0,01 N sebagai

titar. Dilakukan juga titrasi terhadap larutan blanko. Dicatat volume HCl 0,01 N yang diperlukan untuk mentitrasi blanko dan sampel. Kadar protein didapatkan melalui perhitungan pada persamaan berikut:

$$\% \text{ Protein dalam sampel} = \frac{(V1 - V2) \times N \times 0,014 \times f_k \times f_p}{W}$$

Keterangan:

V1 : Volume HCl 0,01 N yang digunakan untuk titrasi sampel (mL)

V2 : Volume HCl 0,01 N yang digunakan untuk titrasi blanko (mL)

N : Normalitas HCl

F : Faktor konversi untuk protein dari makanan secara umum: 6,25

W : Faktor pengenceran

3.4.11. Penentuan Kandungan Mineral Kalium

Kandungan mineral pada kue bolu pisang yang ditambahkan bubuk daun kelor (*Moringa oleifera*) (MOLP) dan bubuk kayu manis (*Cinnamomum verum*) (CVP) yang ditentukan yaitu mineral kalium. Prosedur penentuan kadar kalium pada sampel dilakukan sesuai dengan prosedur yang terdapat pada SNI 6989.69:2009. Sampel dipreparasi menggunakan metode destruksi basah (Athiya & Anwar, 2016) yaitu dengan cara peratama – tama, sampel dikeringkan menggunakan oven selama 4 jam 105°C, lalu dihaluskan dan ditimbang 3 - 5 gram sampel ke dalam labu Kjeldahl. Tambahkan 5 mL HNO₃ 65% dan 1 mL hidrogen peroksid, lalu diamkan satu malam. Setelah itu, labu kjeldhal didestruksi menggunakan Bunsen hingga larutan berwarna kuning muda jernih. Didinginkan kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 25 mL. Bilas labu Kjeldahl dengan akuades, masukan bilasan ke dalam labu ukur 25 mL kemudian ditanda bataskan. Larutan kemudian disaring dengan kertas saring *Whatman* No 42, hasil penyaringan pertama sebanyak 5 mL digunakan sebagai bilasan wadah dan yang lainnya dipakai untuk analisis.

Analisis kadar kalium ditentukan menggunakan instrumen *Atomic Absorption Spectroscopy* (AAS) sesuai prosedur yang tertera pada SNI 6989.69:2009, analisis dilakukan sebanyak dua kali pengulangan (duplo). Pertama – tama, dibuat deret standar Kalium dengan membuat larutan induk logam kalium 100 ppm yaitu ditimbang $\pm 0,190$ gram KCl (yang sudah dikeringkan pada suhu 110°C), dimasukkan ke dalam labu ukur 1000 mL dan ditambahkan akuades yang sudah bebas mineral hingga tanda batas, lalu homogenkan. Kadar larutan kalium yang dibuat dihitung kembali berdasarkan hasil penimbangannya. Selanjutnya, pembuatan larutan untuk kurva kalibrasi dengan pengenceran larutan induk kalium 100 ppm menjadi 10 ppm dengan cara memipet sebanyak 5 mL dan memasukan ke dalam labu ukur 50 mL. Setelah itu dibuat larutan deret standar dengan konsentrasi (0,5; 1,0; 2,0; dan 2,5) ppm dengan memipet larutan kalium 10 ppm secara berurutan sebanyak (0,5; 1; 1,5; 2,0; dan 2,5) mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Setelah disiapkan larutan deret standar untuk membuat kurva kalibrasi selanjutnya dilakukan pengukuran menggunakan AAS. Instrumen AAS dioperasikan dan dioptimalkan sesuai dengan petunjuk penggunaan alat untuk pengukuran kalium. Pertama, ukur larutan blanko kemudian atur serapan hingga nol, lalu dilakukan pengukuran terhadap deret larutan standar secara berurutan dari konsentrasi terendah ke tertinggi pada panjang gelombang 766,5 nm. Catat hasil konsentrasi terhadap serapan larutan standar untuk membuat kurva kalibrasi. Tentukan persamaan linear dari konsentrasi terhadap absorbansi, perhatikan koefisien regresi (r) dari kurva kalibrasi jika lebih kecil dari 0,995, maka periksa kondisi alat dan ulangi kembali pengukuran larutan deret standar sampai diperoleh nilai koefien regresi $r \geq 0,995$. Setelah didapatkan kurva kalibrasi yang baik, selanjutnya dilakukan pengukuran terhadap sampel yang sudah didestruksi sebelumnya. Sampel kue bolu pisang yang sudah didestruksi diukur

menggunakan AAS pada panjang gelombang 766,5 nm. Kadar kalium sampel kue bolu pisang didapatkan setelah memasukkan absorbansi dari kalium pada sampel kue bolu ke dalam persamaan linear kurva kalibrasi dan didapatkan konsentrasinya. Kadar kalium didapatkan setelah dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Kadar logam kalium (K) (mg/L)} = C \times fp$$

Dimana C adalah konsentrasi kalium yang didapatkan dari hasil pengukuran (mg/L) dan fp adalah faktor pengenceran.

3.4.12. Penentuan Umur Simpan dengan Perubahan pH

Analisis umur simpan dari sampel kue bolu pisang diamati dari perubahan pH selama tujuh hari penyimpanan pada suhu -15°C , 5°C , dan 25°C . Pengukuran pH menggunakan pH meter padatan (YY – 103 series). Perubahan pH bisa dijadikan indikasi kerusakan suatu makanan yang diakibatkan dari aktivitas mikroorganisme pembusuk yang umum terdapat pada kue seperti *Aspergillus niger*, *Penicillium corylophilum* dan *Eurotium repens* dan jenis kapang lainnya (Dagnas, et al., 2014).

Setelah didapatkan perubahan pH dari sampel kue bolu pisang (C0, CP0, C2, dan CP2) selama penyimpanan tujuh hari akan diprediksi lama umur simpan menggunakan metode *Accelerated Shelf Life Testing* (ASLT) dengan model Arrhenius. Model Arrhenius menggambarkan hubungan antara suhu dengan konstanta laju reaksi (Córdova, et al., 2011) pada penelitian ini laju reaksi diprediksi berdasarkan perubahan pH dari kue bolu pisang selama tujuh hari penyimpanan pada tiga suhu yang berbeda (-15°C , 5°C , dan 25°C).

Penentuan laju reaksi perubahan pH digunakan orde nol yang diplotkan sebagai fungsi pH dan lama waktu penyimpanan (Ganje, et al., 2016). Persamaan regresi linear didapatkan dari persamaan (1) seperti berikut:

$$\text{pH} = \text{pH}_0 + kt \dots (1)$$

Hubungan antara suhu dengan perubahan pH disimulasikan dengan persamaan Arrhenius (2) seperti berikut:

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{R.T} \quad \dots (2)$$

Dimana E_a , R , T dan A masing – masing adalah energi aktivasi ($J.mol^{-1}$) dari setiap reaksi pada sampel (C0, CP0, C2 dan CP2), konstanta gas ($8,314 J.mol^{-1}. K^{-1}$), temperatur (K), dan faktor praeksponensial ($hari^{-1}$). Karena perubahan pH mengikuti orde nol, maka persamaan (3) digunakan untuk memprediksi waktu yang diperlukan untuk perubahan yang terjadi pada pH.

$$t_{pred} = \frac{\Delta CQ}{k} \quad \dots (3)$$

Dimana ΔCQ adalah perubahan kualitas berdasarkan pH dan t_{pred} adalah waktu yang diprediksi untuk terjadinya perubahan tersebut.

3.4.1. Analisis statistik

Data yang dihasilkan dari analisis nutrisi dan evaluasi sensorik (organoleptik) dilakukan sebanyak dua kali (duplo). Rata-rata dan standar deviasi (SD) diuji menggunakan metode *one-way* (ANOVA). Analisis statistik untuk menentukan nilai signifikansi dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak statistik SPSS. Perbandingan rata-rata dilakukan dengan Duncan's Multiple Range Test (DMRT) pada tingkat signifikansi $p \leq 0,05$ untuk memastikan signifikansi rata-rata.