

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan yaitu eksperimental dengan mengkombinasikan *oat*, *rice crispy*, almond, wijen, kismis dan bubuk *Spirulina* sebagai komposisi multigrain *snack bar Spirulina* dan dibagi menjadi 6 formulasi yang masing-masing memiliki konsentrasi multigrain yang berbeda serta konsentrasi bubuk *Spirulina* yang sama yaitu 6%. Keenam formulasi akan diujikan kepada panelis melalui uji organoleptik, data yang didapatkan selanjutnya diolah dengan metode statistik non parametrik menggunakan SPSS 25. Kemudian tiga formulasi terpilih diteruskan untuk dilakukan uji proksimat dan aktivitas antioksidan.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah panelis yang melakukan uji organoleptik yaitu panelis tidak terlatih. Panelis tersebut diambil dari mahasiswa dan mahasiswi Universitas Pendidikan Indonesia Kampus Serang, dengan rentang umur 18-21 tahun dan berjenis kelamin laki-laki dan perempuan.

3.2.2 Sampel

Sampel *snack bar Spirulina* untuk setiap perlakuan dibuat dengan basis berat keseluruhan dalam satu perlakuan yaitu 150 g bahan kering dengan 50 bahan basah sehingga menghasilkan hasil akhir sekitar 200 g *snack bar Spirulina*.

3.3 Instrumen penelitian

Instrumen penelitian yang digunakan saat melakukan uji organoleptik berupa kuesioner yang meliputi 4 indikator penilaian yaitu warna, aroma, tekstur

dan rasa pada 6 formulasi *snack bar* yang berbeda. Kemudian Instrumen penelitian untuk menguji aktivitas antioksidan *snack bar* menggunakan metode DPPH. Berikut ini merupakan alat dan bahan yang digunakan saat melakukan metode DPPH: bahan (aquades, larutan DPPH, etanol, larutan FeCl₃, dan sampel *snack bar*) dan alat (neraca analitik, labu ukur, pipet ukur, dan *stopwatch*)

Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan sampel *snack bar Spirulina* dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Perikanan Universitas Pendidikan Indonesia. Uji hedonik, pembuatan ekstrak, uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dilaksanakan di Laboratorium Sumberdaya Kelautan dan Perikanan Universitas Pendidikan Indonesia Kampus Serang. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan September-November 2023.

3.5 Prosedur Penelitian

Dalam penelitian ini terdiri dari beberapa langkah diantaranya adalah pembuatan *snack bar Spirulina*, uji hedonik, uji proksimat, pembuatan ekstrak, uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan.

3.5.1 Persiapan Alat dan Bahan

A. Alat

Peralatan yang digunakan untuk pembuatan *snack bar* diantaranya adalah oven (merk Electrolux), wajan, loyang, mangkuk berukuran sedang, spatula, sendok, sarung tangan, talenan, pisau, *food processor* (merk Philips), kompor (merk Rinnai), *freezer*, kertas roti dan timbangan digital. Peralatan untuk analisis kimia yaitu *food processor* (merk Philips), gelas ukur (merk IWAKI), tabung Erlenmeyer (merk IWAKI), pengaduk, alumunium foil, kertas wrap, kertas saring, corong (merk PYREX), timbangan digital, botol hitam, pipet ukur, labu ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, dan *food dehydrator* (merk Kris).

B. Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam membuat *snack bar* adalah bubuk *Spirulina* (merk Polaris), *rice crispy* (merk Queenature), *oat* (merk Australian Instan *Oats*), kacang almond, wijen, kismis (merk LION Raisin), susu bubuk (merk Dancow), *corn syrup* dan fruktosa. Bahan yang dibutuhkan dalam kegiatan ekstraksi adalah sampel *snack bar Spirulina*, dan etanol. Bahan yang dibutuhkan untuk uji antioksidan dan fitokimia adalah ekstrak etanol *Spirulina*, n-heksana, etanol, aquades, bubuk magnesium, air hangat, HCl, FeCl₃ (merk Nitra Kimia), pereaksi Wagner (merk Nitra Kimia), pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer (merk Nitra Kimia), larutan kloroform, H₂SO₄, dan larutan Lieberman Burchard, vitamin C dan DPPH.

3.5.2 Pembuatan *Snack bar*⁵²

Proses pembuatan *snack bar* mengacu pada penelitian Lucas (2019) dengan beberapa modifikasi, terdapat 6 formulasi yang diantaranya adalah F0, F1, F2, F3, F4 dan F5 yang setiap sampel mempunyai konsentrasi multigrain yang berbeda dengan bubuk *Spirulina* sebanyak 6%. Formulasi keenam sampel dan bahan binder terdapat pada Tabel 3.1 dan Tabel 3.2 berikut ini:

Tabel 3.1
Formulasi *snack bar*

| Bahan | Bobot (g) | | | | | |
|------------------------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | F0 | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 |
| Bubuk <i>Spirulina</i> | - | 9 | 9 | 9 | 9 | 9 |
| <i>Rice crispy</i> | 24.80 | 33.20 | 24.80 | 38.40 | 26.20 | 23.00 |
| <i>Oat</i> | 24.80 | 27.60 | 23.40 | 11.60 | 22.50 | 23.00 |
| Almond | 24.80 | 19.60 | 25.20 | 28.80 | 26.00 | 23.00 |
| Kismis | 24.80 | 18.00 | 31.00 | 28.00 | 15.30 | 23.00 |
| Wijen | 24.80 | 16.60 | 10.60 | 17.20 | 25.00 | 23.00 |
| Susu bubuk | 26.00 | 26.00 | 26.00 | 26.00 | 26.00 | 26.00 |

^{52 52} Tia Nurfitriani, 2023

Tabel 3.2
Bahan Binder

| Bahan | Bobot (g) |
|-------------------|-----------|
| <i>Corn Syrup</i> | 30 |
| Fruktosa | 20 |

Berdasarkan formulasi pada Tabel 3.1, pembuatan *snack bar* dimulai dengan menimbang semua bahan sesuai formulasi yang telah ditentukan dengan menggunakan timbangan digital. Masukkan *oat*, *rice crispy*, almond, dan wijen kedalam loyang lalu masukan kedalam oven dengan suhu 140°C selama 5 menit. Panaskan wajan dengan panas api kecil lalu masukan binder atau bahan basah seperti fruktosa dan *corn syrup* lalu aduk merata sampai binder terlihat cair. Tambahkan bubuk *Spirulina*, susu bubuk, dan kismis satu persatu dan sedikit demi sedikit kedalam binder lalu aduk sampai merata. Masukan bahan yang tadi dioven sedikit demi sedikit ke dalam binder lalu aduk kembali sampai semua bahan tercampur merata. Cetak adonan seperti batangan dengan menggunakan loyang yang sebelumnya sudah dilapisi dengan kertas roti. Dinginkan *snack bar* didalam *freezer* selama 1-2 jam lalu potong sesuai dengan keinginan.

3.5.3 Uji Organoleptik

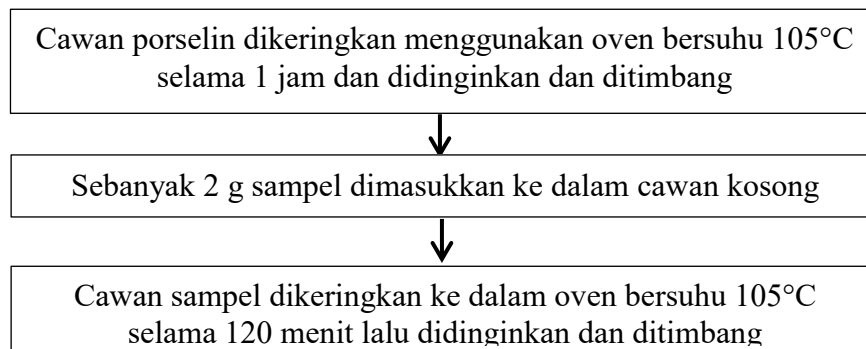
Pada uji organoleptik ini peneliti mengumpulkan 34 panelis tidak terlatih dari lingkungan Universitas Pendidikan Indonesia Kampus Serang untuk dilakukan uji hedonik yang meliputi 4 indikator penilaian yaitu uji aroma, rasa, tekstur, dan warna pada keenam sampel *snack bar*. Skala pengukurannya yaitu 1 (sangat tidak suka), 2 (tidak suka), 3 (agak tidak suka), 4 (biasa saja), 5 (agak suka), 6 (suka) dan 7 (sangat suka). Instrumen yang digunakan saat melakukan uji organoleptik ini adalah berupa kuesioner seperti yang tertera pada Lampiran 4. Setiap panelis masing-masing diberikan 6 sampel *snack bar Spirulina*, lembar kuesioner, dan air minum. Setelah

selesai memberikan penilaian pada satu sampel setiap panelis diharuskan untuk meminum air putih terlebih dahulu.

3.5.4 Uji Proksimat

A. Analisis Kadar Air (AOAC 2005)

Pengujian untuk menentukan kadar air pada *snack bar* menggunakan metode oven atau termogravimetri. Prosedur kerja analisis kadar air dapat dilihat pada Gambar 3.1 sebagai berikut:



Gambar 3.1 Prosedur kerja analisis kadar air

Rumus Perhitungan Analisis Kadar Air:

$$\% \text{ Kadar air} = (b - c) / (b - a) \times 100\%$$

Keterangan :

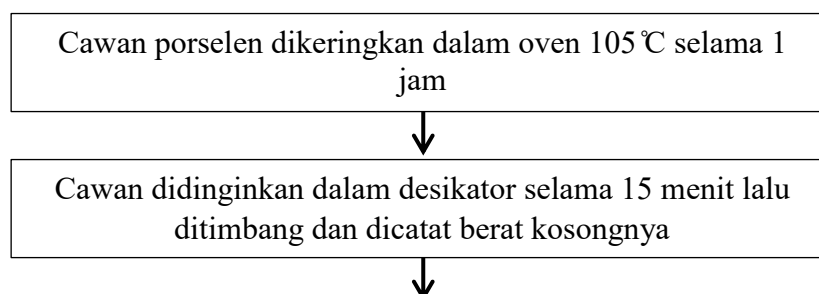
a: Berat cawan kosong (g)

b: Berat cawan + sampel sebelum dikeringkan (g)

c: Berat cawan + sampel setelah dikeringkan (g)

B. Analisis Kadar Abu dengan Metode Tanur (AOAC 2005)

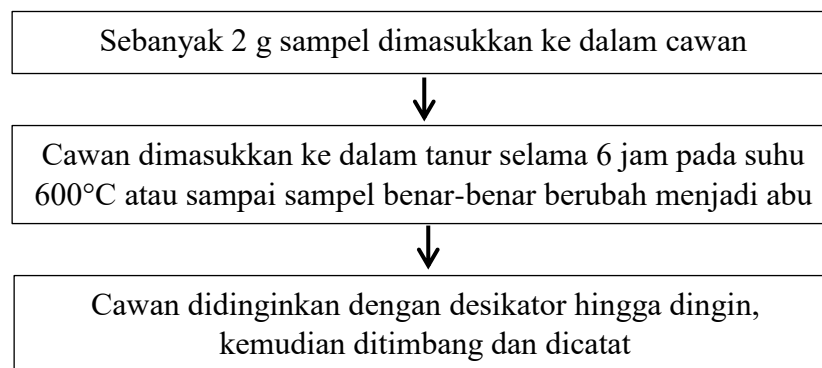
Pengujian untuk menentukan kadar abu pada biskuit, yaitu menggunakan metode AOAC 2005 dengan metode Tanur. Prosedur kerja analisis kadar abu dapat dilihat pada Gambar 3.2 sebagai berikut (Saprudin *et al.*, 2019):



Tia Nurfitriani, 2023

ANALISIS UJI ORGANOPTIK AN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA FORMULASI *SNACK BAR* DENGAN PENAMBAHAN *Spirulina plantesis*

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



Gambar 3.2 Prosedur kerja analisis kadar abu

Rumus Perhitungan Analisis Kadar Abu:

$$\% \text{ Kadar Air} = (b - c) / (b - a) \times 100\%$$

Keterangan :

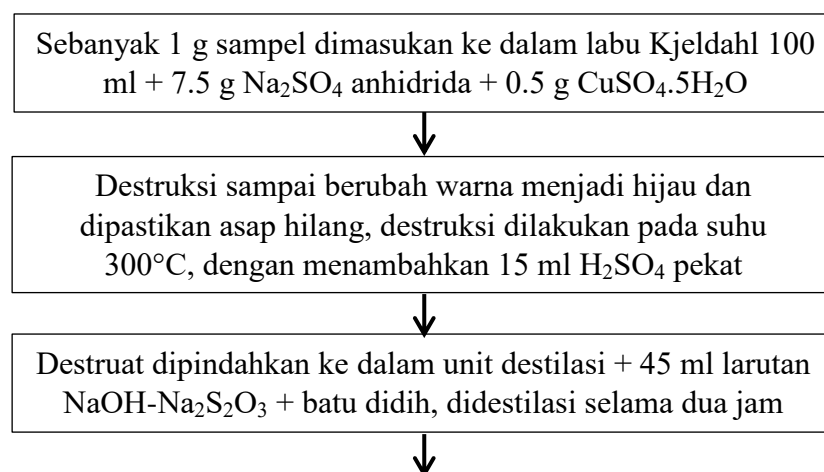
a: Berat cawan kosong (g)

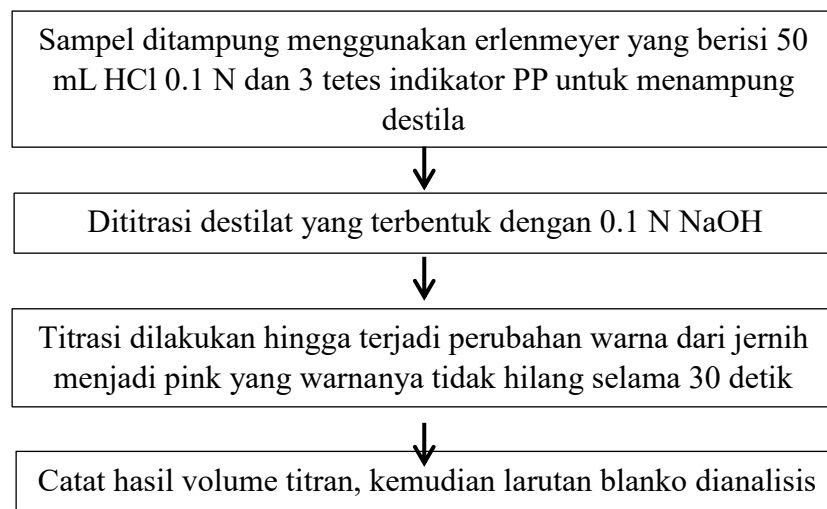
b: Berat cawan + sampel sebelum dikeringkan (g)

c: Berat cawan + sampel setelah dikeringkan (g)

C. Analisis Kadar Protein dengan Metode Kjeldahl (AOAC 2005)

Pengujian untuk menentukan kadar protein pada *snack bar* berdasarkan AOAC 2005 menggunakan metode Kjeldahl dengan proses tiga tahap yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Prosedur kerja analisis protein dapat dilihat pada Gambar 3.3 sebagai berikut:





Gambar 3.3 Prosedur kerja analisis protein

Rumus Perhitungan Analisis Kadar Protein :

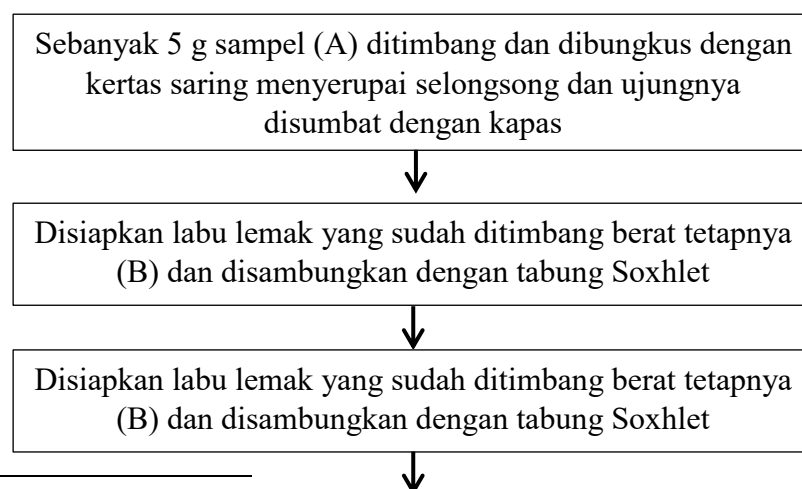
$$\% N = \frac{(\text{ml NaOH Blanko} - \text{ml NaOH Sampel}) \times N \times 14,007}{\text{mg Sampel}} \times 100$$

Keterangan :

Kadar protein (%) = % N x Faktor konversi (6.25)

D. Analisis Kadar Lemak dengan Metode Soxhlet (AOAC 2005)

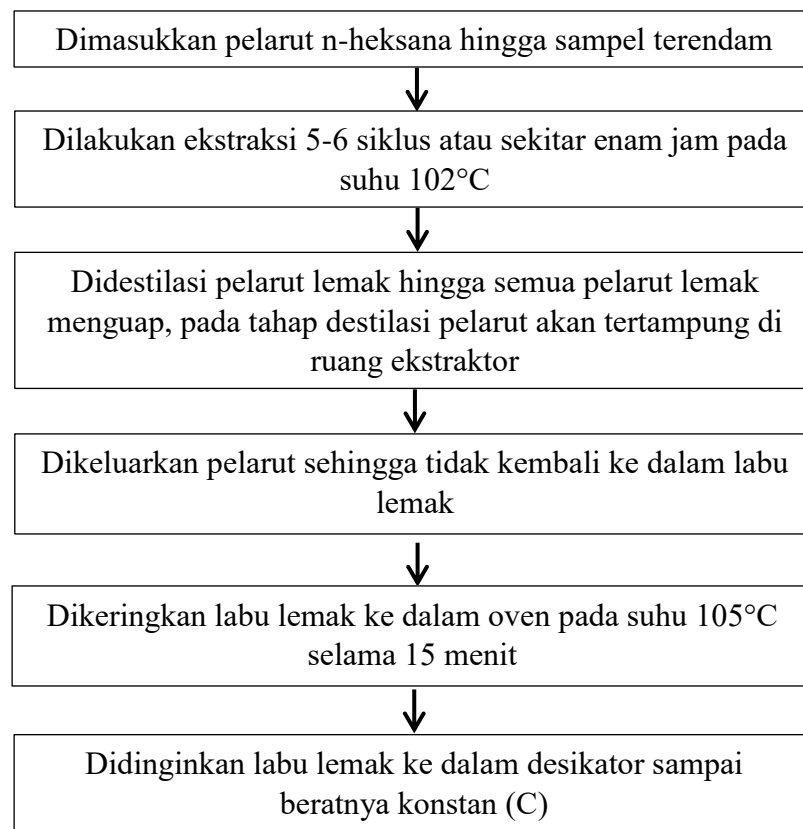
Pengujian untuk menentukan kadar lemak pada biskuit yaitu menggunakan AOAC 2005 dengan metode Soxhlet. Prosedur kerja analisis lemak dapat dilihat pada Gambar 3.4 sebagai berikut :



Tia Nurfitriani, 2023

ANALISIS UJI ORGANOPTIK AN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA FORMULASI SNACK BAR DENGAN PENAMBAHAN *Spirulina plantesis*

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



Gambar 3.4 Prosedur kerja analisis kadar lemak

Rumus perhitungan analisis kadar lemak :

$$\text{Kadar lemak} = (C - B)/A \times 100\%$$

Keterangan:

A: bobot sampel(g)

B: bobot labu lemak dan lemak (g)

C: bobot labu lemak kosong (g)

E. Analisis Kadar Karbohidrat dengan metode *by difference* (AOAC 2005)

Penentuan kadar karbohidrat dihitung menggunakan metode *by difference* yang dihitung dengan berdasarkan hasil pengurangan analisis kadar air, abu, protein dan lemak dengan rumus sebagai berikut :

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

3.5.5 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak mengacu pada penelitian Puspitasari (2017) dengan menggunakan metode maserasi perbandingan 1:3. Seratus gram serbuk simplisia *snack bar Spirulina* dimasukkan ke dalam wadah, lalu ditambahkan 300 mL pelarut etanol 96% dan ditutup rapat serta terhindar dari cahaya matahari langsung. Proses perendaman selama 3 hari sambil diaduk tiap 8 jam sekali. Setelah 3 hari, campuran simplisia dan etanol disaring sehingga diperoleh maserat. Ampas direndam kembali dengan 100 mL etanol selama 1 hari, disaring kembali dan diperoleh maserat. Setiap maserat diterapkan semalam kemudian dipisahkan dari residu dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental etanol.

3.5.6 Uji Fitokimia

A. Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan dengan 2 mL n-heksana, kemudian akan muncul 2 lapisan. Tambahkan metanol sebanyak 1 ml, lapisan yang digunakan untuk uji yaitu lapisan bawah. Tambahkan 5 tetes HCL dan 0.5 g serbuk Mg, kemudian kocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

B. Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 1 ml air hangat sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 5 tetes HCl 2 N. Bila busa yang terbentuk tetap stabil ± 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin.

C. Tanin

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 20 tetes FeCl_3 1%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat.

D. Steroid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan sebanyak 1 ml n-heksana dan 5 tetes larutan Lieberman Burchard. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau.

E. Alkaloid

Sebanyak 2 ml ekstrak masing-masing ditambahkan pada 3 tabung reaksi yang kemudian masing-masing tabung ditambahkan pereaksi yang berbeda di antaranya:

1. Pereaksi Wagner : tambahkan ekstrak sebanyak 2 ml, kemudian tambahkan pereaksi Wagner sebanyak 5 tetes.
2. Pereaksi Dragendorff : tambahkan ekstrak sebanyak 2 ml, kemudian tambahkan pereaksi Dragendorff sebanyak 5 tetes.
3. Pereaksi Mayer : tambahkan ekstrak sebanyak 2 ml dan ditambahkan larutan kloroform sebanyak 2 ml kemudian kocok perlahan. Tambahkan H_2SO_4 sebanyak 5 tetes. Selanjutnya larutan asam dan basa dipisahkan serta larutan basa ditambahkan pereaksi Mayer.

Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Mayer memberikan endapan berwarna putih, pereaksi Wagner terbentuknya endapan berwarna coklat muda sampai kuning, dan pereaksi Dragendorff memberikan endapan berwarna kuning-merah.

3.5.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dapat dideteksi menggunakan beberapa metode, salah satunya adalah metode transfer elektron menggunakan radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Prinsip dari metode DPPH adalah sampel uji mampu menangkap atau meredam proses oksidasi radikal bebas DPPH dalam larutan etanol sehingga terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Molyneux, 2004). Adapun prosedur uji aktivitas antioksidan secara kualitatif adalah sebagai berikut:

1. Persiapan Larutan Pereaksi

Sebanyak 9.8 mg DPPH ditimbang, kemudian dilarutkan dalam etanol hingga volume 50 ml (konsentrasi 200 ppm).

2. Persiapan Larutan Vitamin C

Larutkan vitamin C sebanyak 0.5 g dengan etanol p.a. sebanyak 500 ml. Vitamin C digunakan sebagai control positif dalam pengujian aktivitas antioksidan

3. Pembuatan Larutan Pengenceran Ekstrak Etanol

Pembuatan larutan pengenceran ekstrak etanol simplisia dengan pengenceran 10 X dan pengenceran 100 X, untuk pengenceran 10 X dengan mencampurkan ekstrak sebanyak 0.1 ml dan 0.9 mL etanol p.a. kemudian dalam membuat pengenceran 100 X tambahkan ekstrak sebanyak 0.01 ml dan 0.99 mL etanol p.a.

4. Analisis Kualitatif Aktivitas Antioksidan

Dipipet sebanyak 2 mL larutan sampel murni ekstrak etanol simplisia dan larutan pengenceran ekstrak etanol 10 X juga pengenceran 100 X ke dalam masing-masing tabung reaksi, kemudian tambahkan 4 ml larutan DPPH sedikit demi sedikit dan amati perubahan warnanya. Adanya antioksidan ditandai dengan warna yang terbentuk dari masing-masing sampel uji adalah warna kuning (Molyneux, 2004).

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian berupa hasil uji organoleptik dan pengujian kimia. Pengujian organoleptik meliputi uji hedonik dengan parameter warna, aroma, tekstur dan rasa. Pengujian kimia, yaitu analisis fitokimia dan analisis aktivitas antioksidan secara kualitatif. Data hasil uji organoleptik selanjutnya dianalisis dengan menggunakan analisis metode uji *Kruskall Wallis* yang dibantu dengan menggunakan aplikasi SPSS 25. Apabila terdapat perbedaan secara signifikan pada keenam formulasi dalam uji organoleptik maka akan dilakukan analisis lanjut menggunakan *Mann Whitney Test*.⁶¹

3.7 Alur Penelitian

