

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2023 bertempat di Laboratorium Sumberdaya Universitas Pendidikan Indonesia Kampus Serang dalam pembuatan sampel *snack bar* beserta uji hedonik yang akan dilakukan. Setelah pengujian hedonik pada *snack bar*, selanjutnya akan dilakukan Uji Proksimat yang dilaksanakan pada bulan Oktober 2023 di Laboratorium AUP Jakarta.

#### 3.2 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif, karena data yang diperoleh berupa angka-angka dan pengolahan data menggunakan analisis statistik dengan metode statistik non parametrik test karena menggunakan uji hedonik yang merupakan *human centric* dengan menggunakan 30 panelis tidak terlatih yang memenuhi minimal panelis pada standar SNI (Badan Standardisasi Nasional, 2006). Penelitian ini menggunakan 2 formulasi kontrol yaitu kontrol negatif (F02) dan kontrol positif (F01). Formulasi kontrol negatif merupakan formulasi kontrol dengan komposisi jumlah bahan sama rata (15%) tanpa penambahan bubuk *Spirulina* sebanyak 6%, sedangkan kontrol positif merupakan formulasi kontrol dengan komposisi jumlah bahan sama rata (15%) dengan penambahan bubuk *Spirulina* 6%. Formulasi F1, F2, F3, dan F4 merupakan formulasi dengan *snack bar* dengan komposisi multigrain acak (bervariasi) dengan penambahan bubuk *Spirulina* sama rata yaitu 6% pada setiap formulasinya.

#### 3.3 Populasi dan Sampel

##### 3.3.1 Populasi

Populasi adalah suatu wilayah umum atau kumpulan subjek atau objek yang mempunyai ciri-ciri tertentu dan harus dipelajari oleh peneliti dengan pertimbangan tertentu untuk dapat diambil kesimpulan (Sugiyono, 2019). Populasi dalam

penelitian ini yaitu panelis dari Kelas A dari Program Studi Pendidikan Kelautan dan Perikanan Angkatan 2023.

### 3.3.2 Sampel

Sampel merupakan sebagian dari suatu karakteristik tertentu dan kuantitas yang termasuk juga dalam populasi (Sugiyono, 2019). Sampel pada penelitian ini yaitu *snack bar* dengan penambahan bubuk *Spirulina* sebanyak 6% pada setiap formulasi kecuali kontrol negatif.

## 3.4 Instrumen Penelitian

### 3.4.1 Alat

#### a. Alat Pembuatan *Snack bar*

Peralatan yang dibutuhkan dalam pembuatan *snack bar* adalah wajan, kompor, food processor, sendok, spatula, loyang, kertas roti, timbangan analitik, mangkok, dan kulkas

#### b. Alat Uji Organoleptik

Peralatan yang dibutuhkan dalam uji hedonik adalah label, piring kecil, sendok, borang, air mineral

#### c. Alat Uji Proksimat

Peralatan yang dibutuhkan dalam analisis kimia adalah *food processor*, gelas ukur, tabung Erlenmeyer, pengaduk, *aluminium foil*, kertas wrap, kertas saring, corong, timbangan digital, botol hitam, pipet ukur, labu ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, dan *food dehydrator*.

### 3.4.2 Bahan

#### a. Bahan Pembuat *Snack bar*

Bahan bahan penyusun *snack bar* yaitu: kelapa parut kering (merek Granology), kurma (merek Date Crown), kenari (merek Granology), almond (merek Granology), *chia seed* (merek Granology), *oat* (merek Granology), *rice crispy* (merek Quinature). Bahan pelengkap *snack bar* terdiri dari: sirup *maple* (merek Pondan), sirup fruktosa (merek Rose Brand), *pumpkin seed* dan *sunflower seed* (merek Granology). Bubuk *Spirulina* (merek Polaris Food).

#### b. Bahan Analisis Kimia

Bahan yang dibutuhkan dalam analisis kimia antara lain: ekstrak etanol *Spirulina*, n-heksana, etanol, aquades, bubuk magnesium, air hangat, HCl, FeCl<sub>3</sub>, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, larutan kloroform, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dan larutan Lieberman Burchard, vitamin C dan DPPH.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Pembuatan *Snack Bar*

Formulasi tetap *snack bar* multigrain dengan penambahan bubuk *Spirulina platensis* tertera pada Tabel 3.1 sebagai berikut:

Tabel 3.1  
Formulasi Tetap *Snack Bar*

FORMULASI	BAHAN	BOBOT (%)
<b>F01 Kontrol (Tanpa Bubuk <i>Spirulina</i>)</b>	Kelapa	14,2
	<i>Rice crispy</i>	14,2
	Kenari	14,2
	Almond	14,2
	Chia	14,2
	<i>Oat</i>	14,2
	Kurma	14,2
<b>F02 Kontrol (Dengan <i>Spirulina</i>)</b>	Kelapa	13,4
	<i>Rice crispy</i>	13,4
	Kenari	13,4
	Almond	13,4
	Chia	13,4
	<i>Oat</i>	13,4
	Kurma	13,4
	<i>Spirulina</i>	6
<b>F1</b>	Kelapa	20
	<i>Rice crispy</i>	21
	Kenari	17
	Almond	17
	Chia	8
	<i>Oat</i>	8
	Kurma	3
<i>Spirulina</i>	6	
<b>F2</b>	Kelapa	12,5
	<i>Rice crispy</i>	7
	Kenari	25
	Almond	28
	Chia	5,5
	<i>Oat</i>	13
	Kurma	3
<i>Spirulina</i>	6	
<b>F3</b>	Kelapa	10
	<i>Rice crispy</i>	12
	Kenari	18
	Almond	22
	Chia	13
	<i>Oat</i>	16
	Kurma	3
<i>Spirulina</i>	6	
<b>F4</b>	Kelapa	7
	<i>Rice crispy</i>	17
	Kenari	21
	Almond	20
	Chia	6,6
	<i>Oat</i>	19,4
	Kurma	3
<i>Spirulina</i>	6	

Tabel bahan pelengkap dalam formulasi *snack bar Spirulina* disajikan pada Tabel 3.2 sebagai berikut:

Tabel 3.2  
Bahan Pelengkap *Snack Bar*

<b>Bahan Pelengkap</b>	
<b>Bahan</b>	<b>Bobot (g)</b>
<i>Sirup Maple</i>	20
Sirup Fruktosa	40
<i>Pumpkin seed</i>	5
<i>Sunflower seed</i>	5

Langkah pertama dari pembuatan *snack bar* yaitu menyiapkan alat dan bahan, setelah semua siap dilakukan penimbangan bahan dengan timbangan digital sesuai dengan formulasi yang telah ditentukan, khusus untuk kurma dilakukan pemisahan antara daging buah dan biji. Selanjutnya, kelapa parut kering yang sudah ditimbang kemudian dipanggang didalam oven dengan suhu 90° sampai berwarna agak keemasan. Setelah mencapai warna keemasan, dilanjut dengan proses pemanggangan *rice crispy*, kacang-kacangan, *oat*, serta biji-bijian selama 3-4 menit. Setelah semua bahan kering telah melalui proses pemanggangan dilanjutkan dengan memanaskan sirup *maple* dengan campuran sirup fruktosa pada kompor dengan api kecil sampai mulai mengental, dan mulai dimasukan *Spirulina* bubuk hingga tercampur merata, kemudian matikan kompor. Tuangkan semua bahan kering yang telah dipanggang termasuk kurma yang sudah dipisahkan dari bijinya, kemudian aduk rata hingga semua tercampur. Kemudian siapkan loyang yang dialaskan kertas roti, dan tata adonan diatas loyang. Tekan adonan hingga padat dan diamkan dalam kulkas selama 1-2 jam hingga padat dan sedikit mengeras.

### 3.5.2. Proses Uji Hedonik

Panelis yang melakukan uji hedonik sebanyak 30 orang dan merupakan panelis tidak terlatih dari lingkungan Universitas Pendidikan Indonesia Kampus Serang, kemudian panelis diberi arahan penjelasan singkat tentang maksud dan tujuan dilakukan uji hedonik. Panelis kemudian dibimbing untuk menempati ruang

Febi Anisa, 2023

**KARAKTERISTIK ORGANOLEPTIK DAN NILAI GIZI SNACK BAR MULTIGRAIN DENGAN PENAMBAHAN BUBUK *Spirulina platensis* YANG BERPOTENSI SEBAGAI PANGAN ANTIINFLAMASI**

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

uji organoleptik dengan syarat antar panelis saling tidak berdiskusi. Selanjutnya sampel akan diberikan dan panelis mulai menguji sesuai kriteria yang telah ditentukan pada formula pengujian hedonik. Kriteria skor awal pada pengujian hedonik dengan parameter yang diukur (warna, aroma, rasa dan tekstur). Nilai daya terima didasarkan pada urutan peringkat 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 hedonik ini berupa kuesioner dan pengujian dilakukan di Laboratorium Sumber Daya Universitas Pendidikan Indonesia Kampus Serang. Tiga peringkat teratas dari hasil uji hedonik akan diteruskan pada uji proksimat.

### 3.5.3. Uji Proksimat

#### a. Analisis Kadar Air dengan Metode Thermogravimetri (AOAC, 2006)

Kadar air tiga formulasi sampel (F1, F2 dan F3) diuji dengan metode termogravimetri. Timbang terlebih dahulu botol dalam oven bersuhu 105°C selama 24 jam. Botol timbang kemudian didinginkan dalam desikator selama 10-15 menit. Botol timbang dingin kemudian ditimbang hingga bobot botol timbang konstan. Sampel sebanyak dua gram dari ketiga formulasi tersebut kemudian diambil dan dimasukkan ke dalam botol timbang yang telah konstan. Botol timbang yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, botol timbang yang berisi sampel dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator selama 10-15 menit. Botol timbang bersama sampel ditimbang hingga bobot konstan.

$$\text{Air (\%wb)} = \frac{(B+S) \text{ awal} - (B+S) \text{ terkecil}}{\text{Bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

#### b. Analisis Kadar Abu dengan Metode Pengabuan Kering (AOAC, 2006)

Kadar abu ketiga formulasi sampel (F1, F2 dan F3) diuji dengan metode pengabuan kering. Cawan terlebih dahulu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 24 jam. Cawan tersebut kemudian didinginkan dalam desikator selama 10 sampai 15 menit. Cawan tersebut kemudian ditimbang hingga beratnya konstan. Kemudian, 2 gram sampel dari ketiga formula tersebut dimasukkan ke dalam cawan yang telah

konstan. Kemudian, 2 gram sampel dari ketiga formula tersebut dimasukkan ke dalam gelas kimia standar. Kemudian dilanjutkan pengarang cawan yang berisi sampel hingga tidak ada lagi asap yang keluar dari susunan tersebut dan terbentuk abu berwarna keabu-abuan. Cawan yang berisi abu kemudian diabu dalam tungku pembakaran bersuhu 600 °C selama 3 jam. Cawan tersebut kemudian didinginkan dalam desikator selama 10 sampai 15 menit. Cawan yang berisi abu kemudian ditimbang hingga beratnya konstan.

$$\text{Abu (\%wb)} = \frac{\text{Berat abu (g)}}{\text{Bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Abu (\%db)} = \text{Kadar abu (\%wb)} - \text{kadar air sampel}$$

c. Analisis Kadar Protein dengan Metode Mikrokjeldahl (AOAC, 2006)

Kadar protein ketiga formulasi sampel (P1, P2 dan P3) diuji menggunakan metode Mikrokjeldahl. Sampel diambil dari ketiga resep sebanyak 0,1 gram, dibungkus dengan kertas saring, kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl. Sebanyak 0,7 gram katalisator HgO dan 2,5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat ditambahkan ke dalam labu Kjeldahl. Proses destruksi kemudian dilakukan hingga sampel dalam ruang asam menjadi jernih. Labu Kjeldahl kemudian didinginkan dan ditambahkan kurang lebih 10 ml aquades. Distilasi dilanjutkan dengan menambahkan 12,5 ml NaOH.Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Larutan destruksi yang telah melalui proses distilasi ditampung dalam labu Erlenmeyer yang berisi 5 ml asam borat 4%, yang sebelumnya ditambahkan 2 tetes indikator BCG-MR. Larutan hasil distilasi kemudian dititrasi dengan HCl 0,02N hingga warna larutan berubah menjadi merah muda.

$$\%N = \frac{(T_s - T_b) \times N_{HCl} \times 14,008}{\text{Berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

$$\text{Protein (\%wb)} = \%N \times \text{Faktor konversi} \quad \text{Faktor konversi} = 6,25$$

$$\text{Protein (\%db)} = \%wb \text{ protein} - \text{kadar air sampel}$$

d. Analisis Kadar Lemak dengan Metode Soxhlet (AOAC, 2006)

Kadar lemak ketiga formula sampel (P1, P2 dan P3) diuji dengan menggunakan metode Soxhlet. Panggang terlebih dahulu labu lemak dalam

oven dengan suhu 105°C selama 24 jam. Labu lemak kemudian didinginkan dalam desikator selama 10-15 menit. Labu lemak lalu ditimbang sampai berat konstan. Kemudian diambil sampel sebanyak 2 gram dari ketiga formula tersebut dan dibungkus dengan kertas saring, kemudian diletakkan kapas pada masing-masing bagian bawah dan atas. Kertas saring yang berisi sampel kemudian ditempatkan pada rangkaian alat Soxhlet. Dengan secukupnya, petroleum eter ditambahkan melalui kondensor dan air yang digunakan untuk pendinginan dialirkan melalui kondensor. Refluks minimal 3 jam. Setelah selesai, labu lemak dimasukkan kembali ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, labu lemak didinginkan dalam desikator selama 10 sampai 15 menit. Labu lemak yang berisi ekstrak sampel kemudian ditimbang hingga beratnya konstan.

$$\text{Lemak (\%wb)} = \frac{\text{Berat lemak (g)}}{\text{Bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Lemak (\%db)} = \text{Lemak (\%wb)} - \text{kadar air sampel}$$

e. Analisis Kadar Karbohidrat dengan Metode *by difference*

Kadar karbohidrat ketiga formula dihitung dengan menggunakan rumus berikut.

$$\text{Karbohidrat (\%wb)} = 100\% - (\text{KA} + \text{A} + \text{P} + \text{L})$$

Keterangan:

KA = Kadar air (%)

A = Kadar abu (%)

P = Kadar protein (%)

L = Kadar lemak (%)

### 3.5.4. Uji Skrining Fitokimia

a. Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan 2 ml n-heksana, akan muncul dua lapisan: lapisan asam dan lapisan basa. Tambahkan 1 ml metanol, lapisan yang digunakan untuk pengujian adalah lapisan asam. Tambahkan 5 tetes HCL dan 0,5 mg bubuk, lalu kocok kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.



#### b. Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan ke dalam 2 ml air dan diaduk kuat selama 1 menit, kemudian ditambahkan 2 tetes HCl. Amati terbentuknya busa, bila stabil  $\pm$  7 menit maka ekstrak positif mengandung saponin.

#### c. Pemeriksaan Tanin

Sebanyak 1 ml ekstrak kemudian ditambah 10 tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Ekstrak yang positif mengandung fenol akan menghasilkan warna hijau, merah kecoklatan, biru atau hitam pekat.

#### d. Pemeriksaan Alkaloid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan ke setiap tabung reaksi. Pada tabung reaksi 1 ditambahkan 5 tetes pereaksi Dragendorff. Pada tabung reaksi 2, tambahkan 5 tetes pereaksi Wagner. Dalam tabung reaksi 3 ekstrak ditambahkan 3 sampai 5 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat terlebih dahulu kemudian kocok rata hingga terbentuk dua lapisan. Bagian asam (di atas) diambil, kemudian ditambahkan pereaksi Mayer. Jika terbentuk endapan, hal ini menandakan sampel mengandung alkaloid, dimana pereaksi Mayer menghasilkan endapan berwarna putih-kekuningan, pereaksi Dragendorff menghasilkan endapan berwarna kuning, merah atau jingga, dan pereaksi Wagner menghasilkan endapan berwarna coklat.

#### e. Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan kloroform. Kemudian, kocok pelan larutan dan biarkan selama beberapa menit. Selanjutnya, tambahkan 10 tetes pereaksi Lieberman-Buchard. Steroid memberi warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberi warna merah atau ungu.

### 3.5.5. Uji Antioksidan

Kemampuan sampel uji dalam mereduksi proses oksidasi radikal bebas DPPH (1,1 *diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dalam larutan metanol. Reaksi ini dapat diamati melalui perubahan warna larutan pereaksi DPPH dari ungu menjadi kuning (Molyneux, 2004).

#### a. Persiapan Larutan Uji dan Kontrol

Febi Anisa, 2023

**KARAKTERISTIK ORGANOLEPTIK DAN NILAI GIZI SNACK BAR MULTIGRAIN DENGAN PENAMBAHAN BUBUK *Spirulina platensis* YANG BERPOTENSI SEBAGAI PANGAN ANTIINFLAMASI**

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

Timbang total 9,8 mg DPPH lalu larutkan dalam metanol hingga volume 50 ml (konsentrasi 200 ppm). Vitamin C kontrol positif dilarutkan dalam etanol 1: 1. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 2ml, kemudian direaksikan dengan larutan DPPH sebanyak 4 ml, larutan akan bereaksi dan menimbulkan warna kuning jernih dikarenakan vitamin C mengandung aktivitas antioksidan tinggi sehingga dijadikan sebagai kontrol positif pada pengujian aktivitas antioksidan

b. Persiapan Larutan Pengenceran Ekstrak Etanol

Ekstrak *snack bar* dibuat dengan pengenceran 10x dan 100x. Pada pengenceran 10x dilakukan pencampuran ekstrak kasar *snack bar* 1ml dengan 9ml etanol. Pada pengenceran 100x dilakukan pencampuran dengan ekstrak kasar 1 ml ditambah 99 ml etanol.

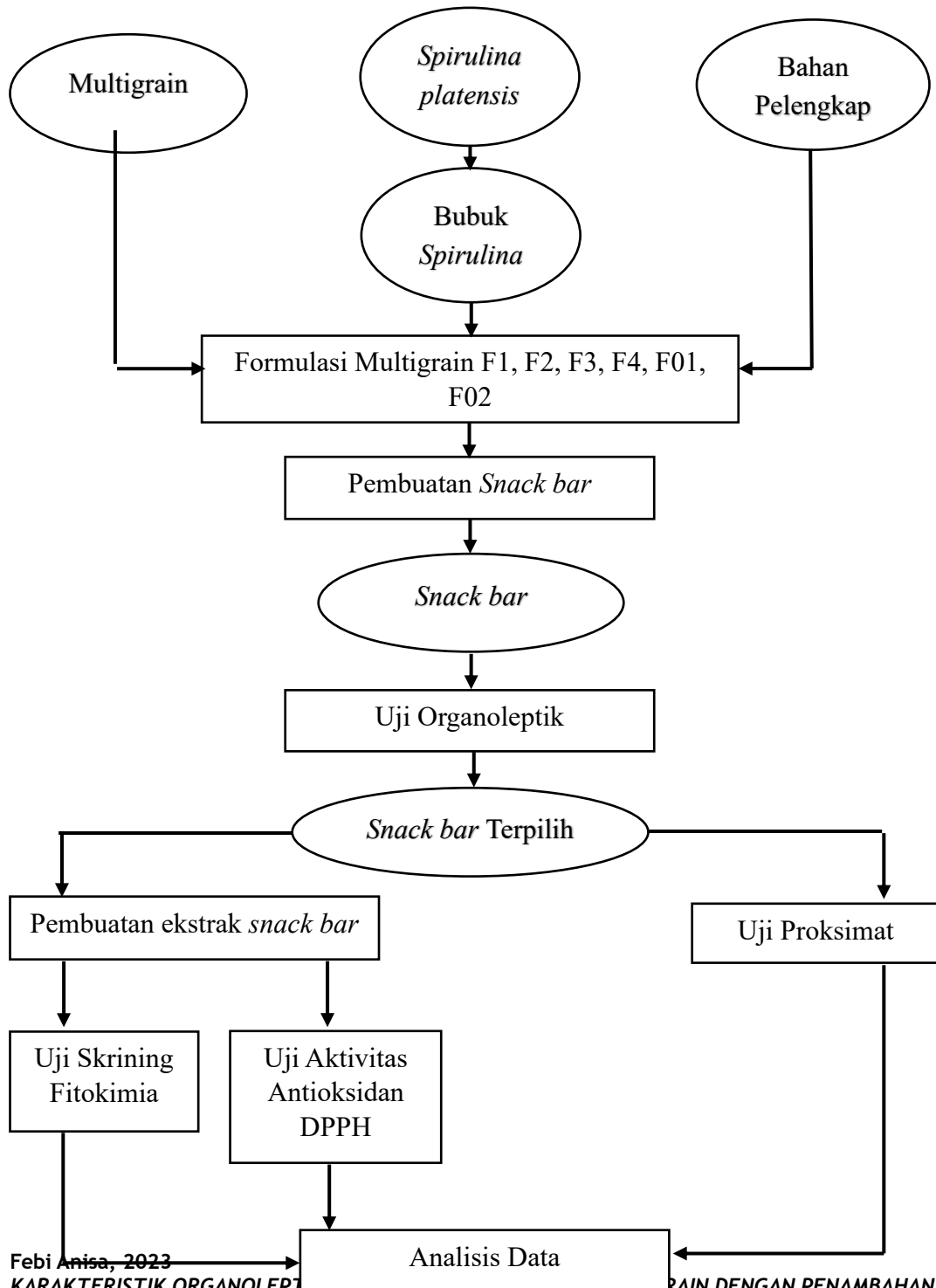
c. Analisis Kualitatif Aktivitas Antioksidan

Dengan menggunakan pipet, ambil 2 ml larutan sampel murni ekstrak etanol simplisia dan larutan pengenceran ekstrak etanol 10x juga pengenceran 100x kedalam masing-masing tabung reaksi, kemudian tambahkan 4 ml larutan DPPH sedikit demi sedikit dan amati perubahan warnanya. Adanya antioksidan ditunjukkan dengan warna yang terbentuk dari setiap sampel uji yaitu kuning (Molyneux, 2004).

### 3.6 Analisis Data

Hasil data organoleptik dianalisis menggunakan software IBM SPSS Statistic 25 dengan uji statistik *Kruskal Wallis* untuk membandingkan lebih dari dua variabel dengan data berbentuk kategorik (ordinal), apabila signifikan  $p < 0.05$  maka dapat dilanjutkan dengan Uji *Mann Whitney*.

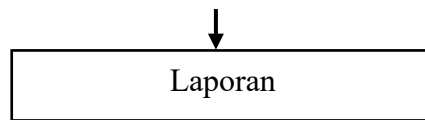
### 3.7 Alur Penelitian



Febi Anisa, 2023

KARAKTERISTIK ORGANOLEPTIK DAN AKTIVITAS ANTIINFLAMASI SNACK BAR DENGAN PENAMBAHAN BUBUK *Spirulina platensis* YANG BERPOTENSI SEBAGAI PANGAN ANTIINFLAMASI

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



Gambar 3.1 Alur Penelitian