

### III. METODE PENELITIAN

#### A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian telah dilaksanakan pada bulan Februari 2016 – Juni 2016 di Laboratorium Teknobia – Pangan dan Laboratorium Teknobia – Produksi Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

#### B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *mixer*, baskom, pisau, sendok, panci, *roller*, loyang, cetakan biskuit, pengayak tepung (80 mesh), pemanggang (oven) *Signora*, *blender*, kompor gas, toples, tampah, gelas beker, tabung reaksi, *vortex 37600 Mixer*, penjepit, kantong plastik, labu destilasi, labu Kjeldahl, *soxhlet Isopad*, erlenmeyer, cawan aluminium, cawan petri, cawan porselin, mortar, lampu bunsen, eksikator, kertas saring, propipet, pipet ukur, pipet tetes, mikropipet, mikropipet tip, trigalski, *microwave Electrolux*, tanur, timbangan analitik, corong, buret, statif, batu didih, autoklaf *My Life MA631*, inkubator *Memmert*, desikator, *laminar air flow SV1200SG*, almari asam, kertas payung, kapas, karet, gelas pengaduk, *texture analyzer LFRA Texture Analyzer Brookfield*, *moisturizer balance Phoenix Instrument*, *probe*, komputer, *chromamometer Konica Minolta*, diagram kromatisasi CIE, *aluminium foil*, sarung tangan, masker.

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisang kepok putih yang diperoleh di Pasar Legi (Surakarta), tempe kedelai yang dibeli di

Pasar Gedhe (Surakarta), tepung terigu Segitiga Biru, telur, soda kue, gula pasir, garam halus, margarin, dan susu bubuk yang diperoleh dari toko bahan kue di daerah Janti (Yogyakarta). Bahan yang digunakan untuk analisis fisik, kimia, dan mikrobiologi adalah akuades, petroleum eter,  $H_2SO_4$  pekat, katalisator  $K_2SO_4$ , indikator *phenol ptalein*, NaOH 40 %, HCl 0,1 N, indikator *methyl red*, NaOH 0,1 N, NaOH 0,3 N, larutan  $K_2SO_4$  10%, alkohol 95%, alkohol 70%, medium *Plate Count Agar* dan *Potato Dextrose Agar*.

### C. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian dilakukan menggunakan 3 kali ulangan dengan 5 jenis variasi kombinasi tepung pisang kepok putih dengan penambahan tepung tempe untuk mendapatkan produk biskuit yang baik (warna, tekstur, aroma, rasa, dan kandungan gizi). Variasi komposisi tepung pisang kepok putih dengan tepung tempe dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Variasi Kombinasi Tepung Pisang Kepok Putih dengan Tepung Tempe

Ulangan	Kombinasi Tepung Pisang Kepok Putih (%) : Tepung Tempe (%)				
	0 : 0 A	40 : 10 B	35 : 15 C	30 : 20 D	25 : 25 E
1	A1	B1	C1	D1	E1
2	A2	B2	C2	D2	E2
3	A3	B3	C3	D3	E3

Keterangan : Huruf A, B, C, D, dan E adalah variasi perlakuan dan angka 1, 2, dan 3 adalah ulangan ke –

#### **D. Cara Kerja**

##### **1. Pembuatan Tepung Pisang Kepok Putih (Adriani dan Nasriati, 2011; Nurhayati dan Andayani, 2014 dengan modifikasi)**

Pisang dikukus selama 10 menit. Kulit buah dikupas dan potong tipis memanjang dengan ukuran (5 x 1 x 0,5 cm). Pisang *diblanching* dengan cara dikukus selama 10 menit.

Potongan pisang dihamparkan di atas loyang lalu keringkan dengan menggunakan alat pengering (oven) pada suhu 80°C selama ±1,5 jam. Pisang yang telah mengering digiling menggunakan mesin penggilingan (*blender*) sampai halus. Pisang yang telah digiling diayak dengan ayakan 80 mesh agar dihasilkan tekstur tepung pisang yang lembut. Tepung pisang yang telah jadi disimpan pada wadah tertutup yaitu kantong plastik tebal kemudian dimasukkan ke dalam toples yang ditutup rapat.

##### **2. Pembuatan Tepung Tempe (Bastian dkk., 2013 dengan modifikasi)**

Pembuatan tepung tempe dimulai dengan pengirisan tempe dengan ketebalan 0,5 – 1 cm. Tempe yang telah diiris – iris kemudian *diblanching* dengan dikukus menggunakan air panas (90°C) selama 15 menit. Tempe yang telah *diblanching* kemudian ditiriskan lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 90°C selama ±2 jam. Tempe yang telah kering kemudian digiling menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan 80 mesh.

### 3. Uji Proksimat Tepung Pisang Kepok Putih

Uji proksimat meliputi kadar karbohidrat, serat kasar, air, protein, lemak, dan abu (cara kerja dapat dilihat pada uji kimia mutu biskuit).

### 4. Uji Proksimat Tepung Tempe

Uji proksimat meliputi kadar karbohidrat, serat kasar, air, protein, lemak, dan abu (cara kerja dapat dilihat pada uji kimia mutu biskuit).

### 5. Tahapan Pembuatan Biskuit

#### a. Biskuit dari Tepung Terigu (Kontrol Positif) (Sulistyo, 1999, dengan modifikasi)

Pembuatan biskuit pada percobaan ini menggunakan 100 g tepung terigu (kandungan protein sedang), 20 g margarin, 50 g gula pasir, susu bubuk 7 g, 1,7 g garam, 1,17 g soda kue, dan 1 butir telur. Margarin, susu bubuk, gula, soda kue, garam, dan kuning telur, diaduk rata menggunakan *mixer* dengan kecepatan tinggi selama  $\pm 15$  menit. Tepung terigu ditambahkan sedikit demi sedikit, selanjutnya diaduk dan ditambahkan air sedikit demi sedikit sampai adonan tidak terasa lengket di tangan.

Adonan yang sudah jadi dicetak dan dipanggang dengan oven pada suhu  $140^{\circ}\text{C}$  selama 40 menit. Biskuit yang sudah masak didinginkan pada suhu kamar ( $26 - 27^{\circ}\text{C}$ ) selama  $\pm 15$  menit. Biskuit yang dibuat dari tepung terigu pada percobaan ini digunakan sebagai kontrol positif dengan konsentrasi tepung terigu 100%.

**b. Biskuit dengan Variasi Tepung Pisang Kepok Putih Dan Tepung Tempe**

Pembuatan biskuit variasi tepung pisang kepok putih dan tepung tempe pada dasarnya sama dengan pembuatan biskuit dari tepung terigu, perbedaannya terletak pada variasi tepung pisang kepok putih dan tepung tempe yang digunakan. Variasi komposisi tepung pisang kepok putih (%) dan tepung tempe (%) yang digunakan yaitu sebesar 0 : 0, 40 : 10, 35 : 15, 30 : 20, dan 25 : 25.

Pembuatan biskuit dilakukan setelah analisis proksimat tepung pisang kepok putih dan tepung tempe. Bahan – bahan yang dibutuhkan dalam pembuatan biskuit ditimbang (komposisi bahan dapat dilihat pada cara kerja pembuatan biskuit dari tepung terigu). Bahan – bahan seperti gula, kuning telur, margarin, susu bubuk, soda kue, dan garam dicampur hingga rata. Tepung pisang kepok putih, tepung tempe, dan tepung terigu dimasukkan ke dalam adonan tersebut, selanjutnya diaduk dan ditambahkan air sedikit demi sedikit sampai adonan tidak terasa lengket di tangan. Adonan yang sudah jadi dicetak dan dipanggang dengan oven pada suhu 140°C selama 40 menit.

**6. Analisis Mutu Biskuit, meliputi :**

**1. Uji Kimia, meliputi :**

**a. Penentuan Kadar Air (Sembiring, 2009 dengan modifikasi)**

Alat *moisturizer balance* dihidupkan dan angkanya dinolkan. Sampel biskuit sebanyak 5 gram ditempatkan dalam cawan aluminium.

Alat *moisturizer balance* ditutup dan ditunggu sampai memberikan tanda. Angka yang tercatat pada alat *moisturizer balance* dibaca dan dicatat kadar airnya.

**b. Penentuan Kadar Abu (Sudarmadji dkk., 1997)**

Wadah dipanaskan dalam oven selama kurang lebih satu jam lalu ditimbang dan dicatat beratnya. Sampel ditimbang sebanyak 2 gram lalu dipijarkan dalam tanur dengan suhu 550°C selama 8 jam hingga diperoleh abu berwarna keputih-putihan. Wadah didinginkan kemudian kadar abu sampel dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar abu} = \frac{((\text{berat cawan+abu}) - \text{berat cawan})}{\text{berat sampel mula-mula}} \times 100\%$$

**c. Penentuan Kadar Protein Metode Kjeldhal (Sudarmadji dkk., 1997)**

Sampel biskuit ditimbang sebanyak 1 gram. Sampel dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl lalu ditambahkan katalisator  $\text{K}_2\text{SO}_4$  sebanyak 1 gram dan larutan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat sebanyak 10 ml dan didestruksi dalam lemari asam hingga cairan berwarna bening. Sampel kemudian diangkat dan didinginkan hingga benar – benar dingin.

Setelah dingin, sampel dimasukkan ke dalam labu destilasi dan akuades sebanyak 50 ml, indikator PP sebanyak 3 tetes dan larutan NaOH 40% ditambahkan hingga basa (warna biru pada kertas lakmus) dan batu didih ditambahkan secukupnya. Larutan HCl 0,1N sebanyak 10 ml dan indikator *methyl red* sebanyak 2 tetes dimasukan kedalam gelas beker

sebagai penampungan. Sampel didestilasi hingga menghasilkan filtrat sebanyak 50 ml. Filtrat tersebut kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0,1N hingga berwarna kuning jerami. Kadar protein dihitung dengan rumus:

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

$$\% P = \% N \times 6,25$$

Keterangan : N = nitrogen, P = protein

#### d. Penentuan Kadar Lemak (Sudarmadji dkk., 1997)

Sampel dihaluskan dan diambil sebanyak 2 gram. Air pendingin dialirkan melalui kondensor. Tabung ekstraksi dipasang pada alat destilasi *soxhlet* dengan pelarut petroleum eter selama 4 jam. Residu dalam tabung ekstraksi diaduk dan ekstraksi dilanjutkan kembali selama 2 jam dengan pelarut yang sama. Petroleum eter yang telah mengandung ekstrak lemak dipindahkan ke dalam botol timbang yang bersih dan telah diketahui beratnya lalu diuapkan dengan pemanas air hingga agak pekat. Pengeringan diteruskan di dalam oven dengan suhu 100°C hingga berat konstan. Berat residu dalam botol dinyatakan sebagai berat lemak. Kadar lemak dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar lemak} = \frac{\{(\text{berat labu} + \text{lemak}) - \text{berat labu}\}}{\text{berat sampel (g)}}$$

**e. Penentuan Kadar Karbohidrat (Sudarmadji dkk., 1997)**

Penentuan kadar karbohidrat dengan cara perhitungan yang disebut *carbohydrate by different* yaitu angka 100 dikurangi kadar air, kadar abu, kadar lemak, dan kadar protein. Rumus yang digunakan adalah :

$$\text{Kadar karbohidrat (\%b/b)} = 100\% - (\text{KA} + \text{A} + \text{P} + \text{L})$$

Keterangan :

KA = Kadar air (%)

A = Kadar abu (%)

P = Kadar protein (%)

L = Kadar lemak (%)

**f. Penentuan Kadar Serat Kasar (Sudarmadji dkk., 1997)**

Sampel biskuit dihaluskan dan ditimbang sebanyak 2 gram. Lemak sampel diekstraksi dengan *soxhlet*. Sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat ditambahkan sebanyak 200 ml, kemudian ditutup dengan pendingin balik. Larutan dididihkan selama 30 menit dengan sesekali digoyangkan.

Suspensi disaring dengan menggunakan kertas saring. Residu yang tertinggal dalam erlenmeyer dicuci dengan akuades mendidih. Residu dalam kertas saring dicuci sampai air cucian tidak bersifat asam (diuji dengan kertas lakmus). Residu dipindahkan secara kuantitatif dari kertas saring ke dalam erlenmeyer dan sisanya dicuci dengan larutan NaOH 0,3 N mendidih sebanyak 200 ml sampai semua residu masuk ke dalam

erlenmyer. Residu dididihkan dengan pendingin balik selama 30 menit dengan sesekali digoyangkan.

Residu disaring dengan kertas saring yang telah diketahui beratnya sambil dicuci dengan  $K_2SO_4$  10%. Residu dicuci lagi dengan akuades mendidih dan dengan alkohol 95% sebanyak 15 ml. Kertas saring dikeringkan pada suhu  $110^\circ C$  hingga berat konstan (1 – 2 jam). Kertas saring didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Kadar serat kasar dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Berat residu} = \text{Berat serat kasar}$$

## 2. Uji Fisik, meliputi :

### a. Analisis Tekstur (Winarni, 1995)

Tekstur biskuit ditentukan secara objektif dengan menggunakan LI (*Lyod Instrument*) dengan kecepatan 3 mm/menit. Sampel biskuit dipotong bentuk kubus dengan ukuran 1,5 x 1,5x 1,5 cm<sup>2</sup> kemudian diletakkan di atas meja obyek kemudian tombol *enter* pada komputer ditekan sehingga jarum penetrometer (*probe*) akan menekan biskuit sampai tidak dapat ditekan lagi. Jarum penetrometer kemudian ditarik lagi ke atas secara otomatis, setelah itu alat *texture analyzer* akan menampilkan grafik tekstur biskuit pada layar komputer. Hasil analisa tekstur biskuit dapat dibaca dari hasil *print out* komputer.

### b. Analisis Warna Menggunakan *Chromamometer* (deMan, 1997)

Dalam analisis warna dengan *chromamometer*, sampel biskuit disiapkan kemudian alat dinyalakan sehingga muncul salah satu sistem pengukuran pada layar. Pengukurannya menggunakan sistem L.a.b. Alat tersebut dikalibrasi menggunakan warna standar  $\text{CaSO}_4$  dipilih warna putih. Warna putih menunjukkan warna netral. Dengan nilai  $L=100,13$ ;  $a=-3,73$ ;  $b=174,37$  dan hasil kalibrasi disimpan dalam memori. Pengukuran terus dilakukan hingga alat memberi cahaya terhadap sampel sebanyak 2 kali. Hasil pengukuran berupa nilai L, a, b. Kemudian nilai L, a, b dimasukkan dalam rumus x dan y, lalu dibandingkan dengan diagram kromatisitas CIE, dan diperoleh warna dari produk yang dihasilkan. Rumus perhitungan x dan y adalah sebagai berikut :

$$x = \frac{a+1,75 \times L}{5,645 \times L+a-3,012 \times b} \quad y = \frac{1,786 \times L}{5,645 \times L+a-3,012 \times b}$$

## 3. Uji Mikrobiologi

### a. Perhitungan Angka Lempeng Total (Fardiaz dan Margino, 1993)

Dalam perhitungan angka lempeng total, sampel biskuit diambil sebanyak 1 gram dan dilarutkan ke dalam 9 ml akuades steril kemudian *divortex* selama 2 menit sampai tercampur homogen untuk pengenceran  $10^{-1}$ . Larutan diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril (konsentrasi  $10^{-2}$ ) dan dibuat seri pengenceran dengan konsentrasi  $10^{-3}$ . Larutan dengan pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$  masing-

masing diambil sebanyak 0,1 ml dan diinokulasi pada medium *Plate Count Agar* (PCA) dalam petri secara *pour plate*.

Petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh dihitung dengan *colony counter*. Jumlah total mikroorganisme dihitung dengan mengalikan jumlah koloni yang tumbuh dengan faktor pengenceran.

**b. Angka Kapang Khamir (Pitt dan Hocking, 1985)**

Perhitungan jumlah kapang dan khamir dilakukan pada sampel biskuit. Larutan dengan pengenceran  $10^{-1}$  dan  $10^{-2}$ , masing-masing diambil sebanyak 0,1 ml dan diinokulasikan pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) dalam Petri secara *spread plate* dengan menggunakan trigalski. Petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh dihitung dengan *colony counter*. Perhitungan jumlah koloni dipilih pada tingkat pengenceran yang mengandung koloni antara 30 – 300 atau sesuai dengan *Standard Plate Count* sebagai berikut :

Bila jumlah koloni kurang dari 30 ( $< 30$ ) :

$$N = < 30 \times \frac{1}{d}$$

Bila jumlah koloni antara 30 – 300 :

$$N = \frac{\sum c}{\{(1 \times n1) + (0.1 \times n2)\} \times d}$$

Keterangan :

N = jumlah koloni setiap gram contoh uji pada medium PCA (CFU/mg)

$\sum C$  = total koloni dari seluruh cawan yang dihitung

n1 = jumlah cawan pada pengenceran pertama yang dihitung

n2 = jumlah cawan pada pengenceran kedua yang dihitung

d = pengenceran pertama yang dihitung

### **7. Uji Organoleptik (Larmond, 1997)**

Uji organoleptik dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui tingkat kesukaan konsumen terhadap produk biskuit dari tepung pisang kepok putih dan tepung tempe. Uji ini dilakukan dengan cara menyebar kuisioner kepada 30 orang. Uji ini meliputi uji warna, rasa, tekstur dan aroma. Hasil uji kemudian diurutkan sesuai tingkatan yang paling disukai hingga yang paling tidak disukai. Skor yang digunakan adalah: 4 = sangat suka; 3 = suka; 2 = agak suka; dan 1 = tidak suka.

### **8. Analisis Data (Gasperz, 1991)**

Data yang diperoleh akan dianalisis dengan menggunakan ANAVA, dan untuk mengetahui letak beda nyata antar perlakuan digunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat kepercayaan 95%. Data diproses dengan menggunakan program SPSS versi 15.