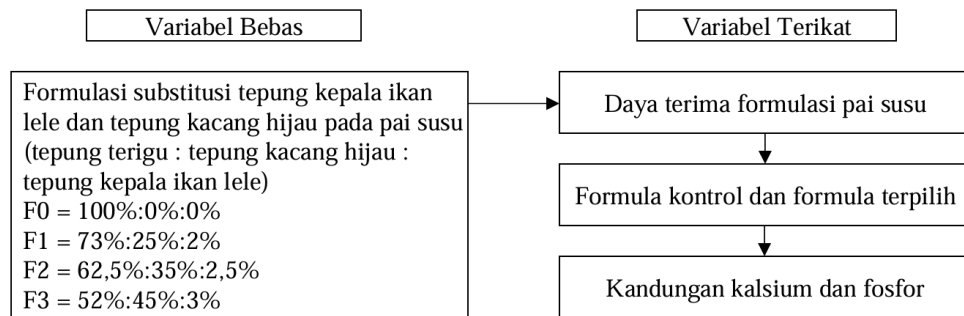


BAB III

METODE PENELITIAN

A. Kerangka Konsep



Gambar 3. 1
Kerangka Konsep

B. Hipotesis Penelitian

- H0: Tidak terdapat perbedaan daya terima remaja putri pada pai susu dengan substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau.

Ha: Terdapat perbedaan daya terima remaja putri pada pai susu dengan substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau.
- H0: Tidak terdapat perbedaan kandungan kalsium pada formula kontrol dan formula terpilih pai susu dengan substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau.

Ha: Kandungan kalsium pai susu dengan substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau pada formula terpilih lebih tinggi dibandingkan formula kontrol.

3. H₀: Tidak terdapat perbedaan kandungan fosfor pada formula kontrol dan formula terpilih pai susu dengan substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau.
- H_a: Kandungan fosfor pai susu dengan substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau pada formula terpilih lebih tinggi dibandingkan formula kontrol.

C. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah formulasi substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau pada pai susu dengan taraf yang berbeda-beda.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya terima terhadap formulasi substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau pada pai susu berdasarkan uji organoleptik (warna, aroma, rasa, dan tekstur), kandungan kalsium dan fosfor pada pai susu formula kontrol dan formula terpilih.

2. Definisi Operasional

Tabel 3. 1
Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Variabel Bebas					
1.	Formulasi substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau pada pai susu	Persentase substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau dalam pembuatan pai susu dengan formula yang berbeda-beda (F0, F1, F2, F3)	Penimbangan bahan sesuai dengan formulasi yang telah ditentukan	Formula F0, F1, F2, dan F3	Ordinal
Variabel Terikat					
2.	Daya terima remaja putri pada pai susu dengan substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau	Penilaian panelis terhadap pai susu berdasarkan uji organoleptik (warna, aroma, rasa, dan tekstur)	Pemberian formulir uji organoleptik kepada panelis	1 = Sangat tidak suka 2 = Tidak suka 3 = Cukup suka 4 = Suka 5 = Sangat suka (Winiastri, 2021)	Ordinal
3.	Kandungan kalsium	Kandungan kalsium yang terdapat pada substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau pada pai susu	Kandungan kalsium diukur menggunakan metode <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometric</i> (ICP-OES)	mg/100 g	Rasio

			(Badan Standarisasi Nasional, 2018)		
4.	Kandungan fosfor	Kandungan fosfor yang terdapat pada substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau pada pai susu	Kandungan kalsium diukur menggunakan metode <i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometric</i> (ICP-OES) (Badan Standarisasi Nasional, 2018)	mg/100 g	Rasio

D. Rancangan/Desain Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Desain penelitian ini menggunakan empat taraf yang berbeda dengan tiga kali pengulangan. Taraf yang dilakukan adalah persentase substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau pada pai susu dengan formula yang berbeda-beda (F0, F1, F2, F3). Formulasi pai susu dapat dilihat pada Tabel 3. 2.

Tabel 3. 2
Formulasi Substitusi Tepung Kepala Ikan Lele dan Tepung Kacang Hijau
pada Pai Susu

Bahan	F0 (kontrol)	F1	F2	F3
Kulit				
Tepung terigu (g)	250	182,5	156,25	130
Tepung kacang hijau (g)	0	62,5	87,5	112,5
Tepung kepala ikan lele (g)	0	5	6,25	7,5

Bahan	F0 (kontrol)	F1	F2	F3
Margarin (g)	100	100	100	100
Gula halus (g)	20	20	20	20
Kuning telur (g)	30	30	30	30
Vanili (g)	2	2	2	2
Isian				
Susu cair (g)	350	350	350	350
Telur (g)	100	100	100	100
Keju (g)	100	100	100	100
Maizena (g)	15	15	15	15
Susu kental manis (g)	20	20	20	20
Gula halus (g)	13	13	13	13
Pewarna makanan (g)	0,5	0	0	0
Jumlah (g)	1.000,5	1.000	1.000	1.000

Keterangan:

F0 = Tepung terigu : tepung kacang hijau : tepung kepala ikan lele (100%:0%:0%), diberi pewarna makanan untuk menyesuaikan warna

F1 = Tepung terigu : tepung kacang hijau : tepung kepala ikan lele (73%:25%:2%)

F2 = Tepung terigu : tepung kacang hijau : tepung kepala ikan lele (62,5%:35%:2,5%)

F3 = Tepung terigu : tepung kacang hijau : tepung kepala ikan lele (52%:45%:3%)

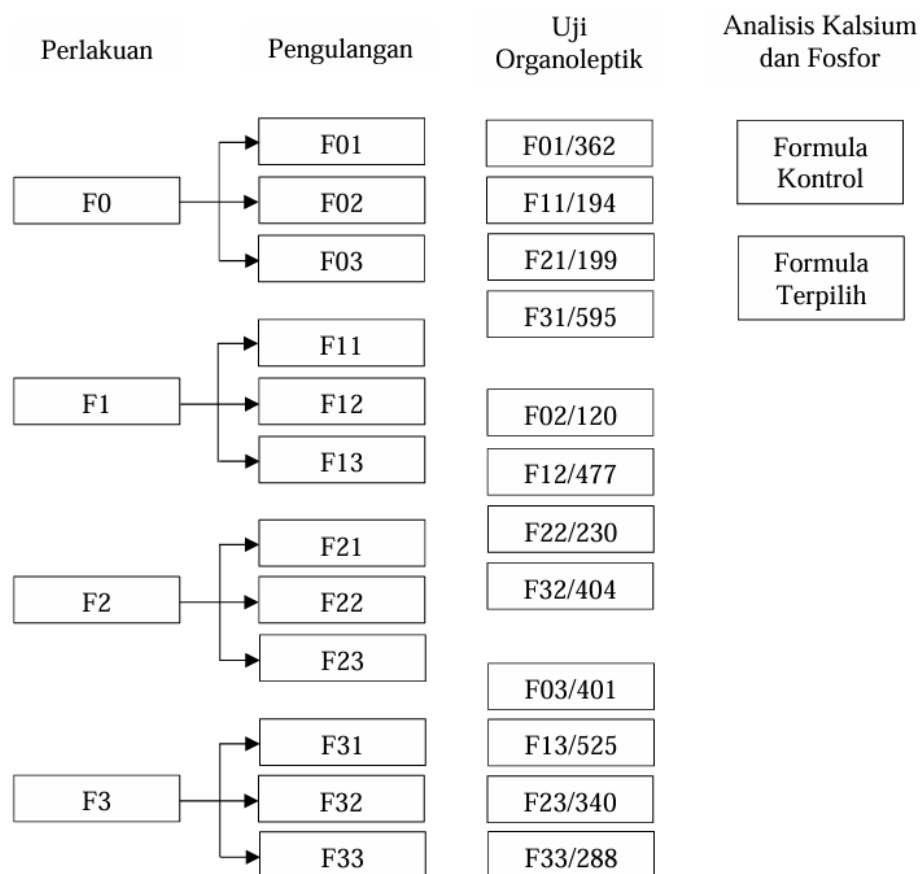
Sumber: Modifikasi Andrea dkk. (2024), Nuryanti dkk. (2023)

Formula kontrol (F0) adalah formula dasar yang digunakan sebagai pembandingan dalam penelitian pembuatan pai susu. Formula perlakuan F1, F2, dan F3 adalah formula dengan substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau yang diharapkan dapat meningkatkan kandungan kalsium dan fosfor pada pai susu.

Tabel 3. 3
Estimasi Gizi Formulasi Pai Susu berdasarkan *Nutrisurvey*

Zat Gizi	Satuan	per 100 gram			
		F0	F1	F2	F3
Energi	kkal	251,8	250,8	250,5	250
Protein	g	7,5	8,5	8,9	9,3
Lemak	g	12,9	13	13	13,1
Karbohidrat	g	28	26,3	25,7	25,1
Kalsium	mg	152,5	174,6	182,9	191,2
Fosfor	mg	140,6	146,2	148,2	150,2

Formula disesuaikan dengan klaim sebagai sumber kalsium dan fosfor berdasarkan ketentuan Badan Pengawas Obat dan Makanan, yaitu minimal 15% dari Acuan Label Gizi (ALG) per 100 g makanan. Nilai ALG yang digunakan adalah 1.100 mg untuk kalsium dan 700 mg untuk fosfor (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2022). Seluruh formula yang diuji organoleptik diberi kode pengulangan disertai kode hasil Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tujuan untuk menghindari bias. Pengkodean sampel dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3. 2
Bagan Rancangan Penelitian

E. Populasi dan Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah formulasi substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau pada pai susu yang terdiri dari empat taraf yang berbeda dengan tiga kali pengulangan. Formula kontrol (F0) merupakan formula pai susu dengan 100% tepung terigu dan diberi pewarna makanan untuk menyesuaikan warna dengan formula F1, F2, dan F3. Formula F1, F2, dan F3 merupakan formula pai susu dengan substitusi tepung kepala ikan lele dan tepung kacang hijau (Tabel 3. 2).

F. Instrumen Penelitian

1. Alat

a. Pembuatan Tepung Kepala Ikan Lele

Tabel 3. 4
Alat Pembuatan Tepung Kepala Ikan Lele

No.	Nama Alat	Merek	Kapasitas	Negara Produsen
1.	Timbangan digital	SF-400	10 kg	Indonesia
2.	Panci listrik	<i>Advance</i>	2 L	Indonesia
3.	Mangkuk	Tupperware	500 g	Amerika
4.	Sendok	<i>King Balance</i>	15 g	Indonesia
5.	Loyang	Galvalum	20 x 20 cm	Indonesia
6.	<i>Oven</i>	Mito	28 L	Indonesia
7.	<i>Blender</i>	Cosmos	-	Indonesia

b. Pembuatan Pai Susu

Tabel 3. 5
Alat Pembuatan Pai Susu

No.	Nama Alat	Merek	Kapasitas	Negara Produsen
1.	Timbangan digital	SF-400	10 kg	Indonesia
2.	Baskom	-	3 kg	Indonesia

No.	Nama Alat	Merek	Kapasitas	Negara Produsen
3.	Sendok	<i>King Balance</i>	15 g	Indonesia
4.	Cetakan pai	-	Diameter 7 cm	Indonesia
5.	<i>Oven</i>	Mito	28 L	Indonesia
6.	Mangkuk	Tupperware	500 g	Amerika
7.	Garpu	<i>King Balance</i>	-	Amerika

c. Uji Organoleptik

Tabel 3. 6
Alat Uji Organoleptik

No.	Nama Alat	Merek	Kapasitas	Negara Produsen
1.	Pulpen	Joyko	0,5 mm	Indonesia
2.	Formulir uji organoleptik	-	-	-
3.	Air mineral	<i>Air Cup</i>	220 mL	Indonesia
4.	Piring plastik	Damai	14 cm	Indonesia
5.	Label	Koala	8 x 20 mm	Indonesia

d. Analisis Kandungan Kalsium dan Fosfor

Tabel 3. 7
Alat Analisis Kandungan Kalsium dan Fosfor

No.	Nama Alat	Merek	Kapasitas	Negara Produsen
1.	Spectrometer emisi atom ICP-OES	-	-	-
2.	Lempeng pemanas atau pemanas listrik	-	-	-
3.	Penangas air (<i>water bath</i>)	-	-	-
4.	Erlenmeyer asah	-	125 mL	-
5.	Griffin gelas piala	-	150 mL	-
6.	Labu ukur	-	100 mL	-
7.	Pipet volumetrik	-	1 mL, 2 mL, 5 mL, dan 10 mL	-
8.	Gelas piala	-	250 mL	-
9.	Kaca arloji	-	-	-
10.	Pengaduk ujung berkaret	-	-	-

No.	Nama Alat	Merek	Kapasitas	Negara Produsen
11.	Pengaduk ujung tidak berkaret	-	-	-
12.	Argon UHP (kemurnian minimum 99,99%)	-	-	-
13.	Kertas saring			

2. Bahan

a. Pembuatan Pai Susu

Tabel 3. 8
Bahan Pembuatan Pai Susu

No.	Nama Bahan	Merk
1.	Tepung terigu	Segitiga Biru
2.	Tepung kacang hijau	Hasil Bumiku
3.	Tepung kepala ikan lele	-
4.	Vanili	Koepoe Koepoe
5.	Margarin	Palmia
6.	Gula halus	Dyna
7.	Telur	-
8.	Susu cair	Ultra Milk
9.	Maizena	Maizenaku
10.	Susu kental manis	Frisian Flag
11.	Keju	Prochiz
12.	Pewarna makanan	Koepoe Koepoe

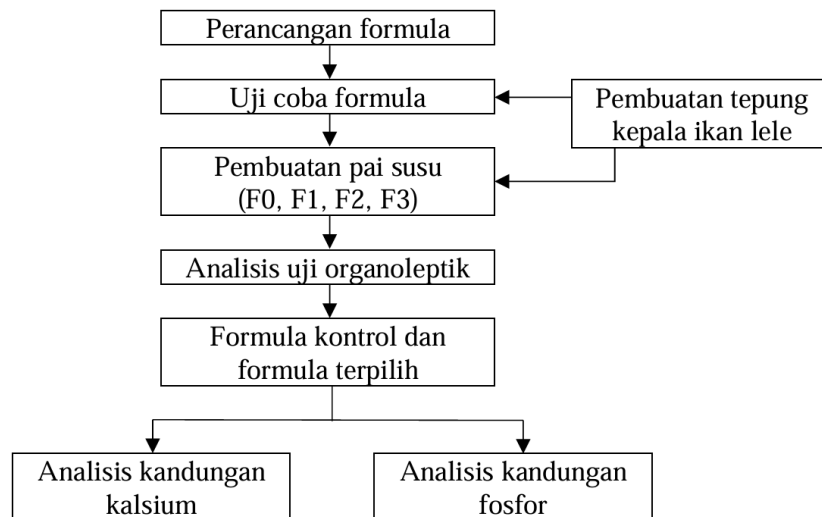
b. Analisis Kandungan Kalsium dan Fosfor

Tabel 3. 9
Bahan Analisis Kandungan Kalsium dan Fosfor

No.	Nama Bahan
1.	Air bebas mineral
2.	Asam klorida (HCl) 1 : 1
3.	Asam nitrat (HNO ₃) pekat
4.	Asam nitrat (HNO ₃) 1 : 1
5.	Larutan kalsium karbonat (CaCO ₃)
6.	Asam klorida (HCl) 1%, 10%, 20% (semuanya v/v), 1+5, 1+1, dan pekat
7.	Larutan lantan oksida (La ₂ O ₃)
8.	H ₂ O ₂ 30%
9.	Asam nitrat (HNO ₃) 2% (v/v), konsentrasi 1+1 dan konsentrasi pekat
10.	Larutan standar stok

G. Prosedur Penelitian

1. Prosedur Penelitian



Gambar 3. 3
Diagram Alir Prosedur Penelitian

2. Perancangan Formula dan Uji Coba Formula

Tahap perancangan formula dan uji coba formula digunakan untuk mencari resep acuan atau resep dasar sebelum dilakukan pengembangan. Pada tahap ini, dianalisis dan diuji coba beberapa sumber resep acuan untuk mendapatkan satu resep acuan yang dijadikan sebagai formula kontrol (F0). Resep acuan terpilih yang sudah diuji coba kemudian dilakukan pengembangan resep dengan penambahan tepung kacang hijau dan tepung kepala ikan lele.

3. Pembuatan Tepung Kepala Ikan Lele

Proses pembuatan tepung kepala ikan lele adalah sebagai berikut (Trisnawati dkk., 2024).

- a. Kepala ikan lele dipisahkan dari badannya.

- b. Selanjutnya kepala ikan lele direbus selama 10 – 15 menit agar daging pada tulang kepala lebih mudah dipisahkan.
- c. Setelah direbus, kepala ikan dibersihkan dari sisa-sisa daging yang masih menempel.
- d. Tulang kepala ikan dimarinasi dengan jeruk nipis selama 30 menit untuk menghilangkan bau amis dan memecah ikatan mineral melalui kerja asam sitrat, sehingga mineral lebih mudah diserap tubuh (Sulistiyati dkk., 2021). Selanjutnya tulang kepala ikan dikeringkan.
- e. Tulang kepala ikan yang sudah kering dihaluskan menggunakan *blender*.

4. Pembuatan Pai Susu

Proses pembuatan pai susu dilakukan di Laboratorium Program Studi Gizi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Siliwangi. Pembuatan pai susu menggunakan modifikasi penelitian Nursalma dkk. (2021), yaitu:

Pembuatan kulit pai:

- a. Disiapkan semua bahan yang diperlukan dan timbang sesuai dengan resep yang digunakan.
- b. Campurkan semua bahan kulit pai selanjutnya aduk hingga teksturnya padat berpasir.
- c. Uleni adonan sampai merata.
- d. Olesi cetakan pai dengan margarin.
- e. Timbang adonan masing-masing sebesar 12 g kemudian cetak ke dalam cetakan pai.

- f. Tusuk-tusuk bagian tengah adonan kulit pai menggunakan garpu agar tidak mengembang.
- g. Dinginkan dalam kulkas 3 – 5 jam untuk menghasilkan tekstur kulit pai yang kokoh, tidak rapuh, dan mudah dilepas dari cetakan.

Pembuatan isian pai:

- a. Masukkan keju *spread* ke dalam wadah, selanjutnya haluskan.
- b. Masukkan susu cair, telur, susu kental manis, gula halus, dan tepung maizena, selanjutnya campurkan semua bahan hingga merata.

Pembuatan pai susu:

- a. Keluarkan adonan yang sudah didinginkan, panggang sampai setengah matang selama 15 menit pada suhu 150 °C.
 - b. Masukkan isian pai sebanyak 2 – 3 sendok atau sekitar 18 g sehingga berat total pai susu menjadi 30 g, lalu panggang kembali selama 25 menit pada suhu yang sama sampai matang.
 - c. Angkat pai susu yang sudah matang.
5. Uji Organoleptik

Proses uji organoleptik dilakukan di Laboratorium Program Studi Gizi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Siliwangi. Penelitian ini menggunakan panelis sebanyak 30 orang yang merupakan mahasiswa Program Studi Gizi Universitas Siliwangi. Syarat menjadi panelis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- a. Mahasiswa/mahasiswi aktif Program Studi Gizi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Siliwangi dan sudah menempuh mata kuliah Percobaan Makanan.
- b. Bersedia berpartisipasi menjadi panelis.
- c. Panelis dalam keadaan sehat, tidak sakit.
- d. Tidak memiliki alergi terhadap ikan lele, kacang hijau, dan susu.

Langkah uji organoleptik yang dilakukan panelis adalah sebagai berikut.

- a. Panelis diberikan penjelasan terkait tata cara pengerjaan uji organoleptik.
- b. Panelis diarahkan pada bilik-bilik uji organoleptik yang sudah disajikan formulir uji organoleptik, sampel produk yang sudah diberi kode secara acak, dan air mineral.
- c. Panelis diminta untuk meminum air mineral terlebih dahulu pada setiap pergantian mencicipi produk untuk menetralkan indera pengecap.
- d. Panelis melakukan pengujian organoleptik berdasarkan warna, aroma, rasa, dan tekstur dengan mengisi formulir uji organoleptik dengan menggunakan 5 skala hedonik. Skala hedonik dapat dilihat pada Tabel 3. 12.

Tabel 3. 10
Parameter Skala Hedonik

Skala Numerik	Skala Hedonik
1	Sangat tidak suka
2	Tidak suka
3	Cukup suka
4	Suka
5	Sangat suka

6. Analisis Kandungan Kalsium dan Fosfor

Kandungan kalsium dan fosfor pada sampel diuji menggunakan metode *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometric* (ICP-OES). Tahapan uji *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometric* (ICP-OES) berdasarkan SNI 6989-82:2018 adalah sebagai berikut (Badan Standarisasi Nasional, 2018).

a. Pembuatan Larutan Standar Kalibrasi

- 1) Buat standar larutan kalibrasi dengan menggabungkan larutan stok yang sesuai di dalam labu ukur 100 mL;
- 2) Tambahkan 2 mL HNO_3 (1+1) dan 10 mL HCl (1+1) kemudian encerkan dengan air hingga 100 mL;

b. Pembuatan Larutan Blanko Kalibrasi

- 1) Encerkan 2 mL HNO_3 (1+1) dan 10 mL HCl (1+1) menjadi 100 mL dengan menggunakan air bebas mineral.

c. Pembuatan Larutan Blanko Metode

- 1) Buat blanko metode yang mengandung pereaksi asam sesuai dengan konsentrasi yang sama seperti larutan contoh.

- d. Pembuatan Larutan Baku Logam Campuran, 10 mg/L
 - 1) Ambil 10 mL larutan induk logam campuran 100 mg/L ke dalam labu ukur 100 mL;
 - 2) Tepatkan dengan larutan pengencer sampai tanda tera dan homogenkan.
- e. Pembuatan Larutan Baku Logam Campuran, 1 mg/L
 - 1) Ambil 10 mL larutan induk logam campuran 10 mg/L ke dalam labu ukur 100 mL;
 - 2) Tepatkan dengan larutan pengencer sampai tanda tera dan homogenkan.
- f. Pembuatan Larutan Kerja Logam Campuran
 - 1) Buat deretan larutan kerja dengan satu blanko dan minimal tiga kadar yang berbeda dalam labu ukur 50 mL secara proporsional dan berada pada rentang pengukuran.
- g. Preparasi Sampel Uji
 - 1) Pindahkan sejumlah volume terukur yang sudah homogen dengan pengawet sampel ke dalam gelas piala dan disesuaikan dengan perkiraan konsentrasi sampel uji;
 - 2) Tambahkan 3 mL HNO_3 pekat dan tutup dengan kaca arloji(lakukan di dalam lemari asam);
 - 3) Tempatkan gelas piala di atas penangas air dan uapkan dengan hati-hati sampai kurang dari 5 mL;

- 4) Dinginkan dan bilas dinding gelas piala dan kaca arloji dengan air bebas mineral dan tambahkan 5 mL HNO_3 pekat;
 - 5) Tutup wadah degan kaca arloji dan simpan di atas pemanas listrik;
 - 6) Tingkatkan suhu pemanas listrik sedemikian hingga mendidih;
 - 7) Lanjutkan pemanasan sampai tidak terbentuk gas NO_2 ;
 - 8) Setelah dingin tambahkan 10 mL HCl 1:1 dan 15 mL air bebas mineral, kemudian panaskan kembali selama 15 menit;
 - 9) Dinginkan, cuci dinding gelas piala dan kaca arloji dengan air bebas mineral, lalu saring;
 - 10) Pindahkan filtrat secara kuantitatif ke dalam labu ukur 100 mL.
- h. Pengukuran Sampel Uji
- 1) Aspirasikan larutan blanko pengujian dan larutan kerja logam campuran ke dalam ICP-OES;
 - 2) Buat kurva kalibrasi dan tentukan persamaan garis lurusnya;
 - 3) Aspirasikan larutan-larutan blanko metode dan sampel uji ke dalam ICP-OES, kemudian rekam hasil pengukuran.
- i. Perhitungan Kadar Logam dalam Sampel Uji

$$\text{Kadar logam} = C \times F_p$$

Keterangan:

C = kadar yang didapat dari hasil pengukuran (mg/L)

fp = faktor pengenceran

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Analisis Data Uji Organoleptik

Data hasil uji organoleptik dianalisis menggunakan program aplikasi *Microsoft Excel* dan *Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Data hasil uji organoleptik dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena sampel berjumlah kurang dari 50. Data tidak terdistribusi normal dianalisis menggunakan uji *Kruskall-Wallis* dengan taraf signifikansi 5%. Hasil uji *Kruskall-Wallis* yang signifikan dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Mann-Whitney* ($p < 0,05$). Hasil uji *Kruskall-Wallis* yang tidak signifikan tidak perlu dilakukan uji lanjutan.

2. Penentuan Formula Terpilih

Penentuan formula terpilih dilakukan berdasarkan hasil uji organoleptik yang meliputi beberapa parameter antara lain warna, aroma, rasa, dan tekstur. Formula terpilih ditentukan berdasarkan nilai rata-rata tertinggi dari hasil uji organoleptik pada setiap formula. Jika ditemukan nilai rata-rata yang sama, maka prioritas penentuan diberikan pada parameter yang paling mencerminkan karakteristik khas pai. Urutan prioritas tersebut dimulai dari tekstur kulit, diikuti oleh rasa, warna, dan aroma (Rezona dkk., 2021).

3. Analisis Data Kandungan Kalsium dan Fosfor

Data kandungan kalsium dan fosfor pada formula kontrol pai susu dibandingkan dengan formula terpilih pai susu untuk mengetahui perbedaan kandungan zat gizi tersebut. Analisis dilakukan secara

deskriptif dengan membandingkan hasil rata-rata dari masing-masing formula (Albab dkk., 2024). Pendekatan ini bertujuan untuk menunjukkan perbedaan kadar kalsium dan fosfor antar formula berdasarkan hasil uji laboratorium.

4. Penetapan Saran Saji

Perhitungan saran saji pada produk dilakukan berdasarkan berat akhir produk setelah dibuat. Berat total produk dibagi menjadi beberapa bagian sesuai dengan porsi konsumsi yang wajar untuk satu kali makan. Jumlah per saji disesuaikan dengan kebutuhan kalsium dan fosfor per hari untuk remaja putri usia 13 – 15 tahun berdasarkan Angka Kecukupan Gizi (AKG), khususnya yang diperoleh dari kudapan yaitu 10% dari AKG (Ningsih dkk., 2024). Jumlah per saji juga disesuaikan dengan klaim sebagai sumber kalsium dan fosfor berdasarkan ketentuan Badan Pengawas Obat dan Makanan, yaitu minimal 15% dari Acuan Label Gizi (ALG) per 100 g makanan. Nilai ALG yang digunakan adalah 1.100 mg untuk kalsium dan 700 mg untuk fosfor (Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, 2022).