

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

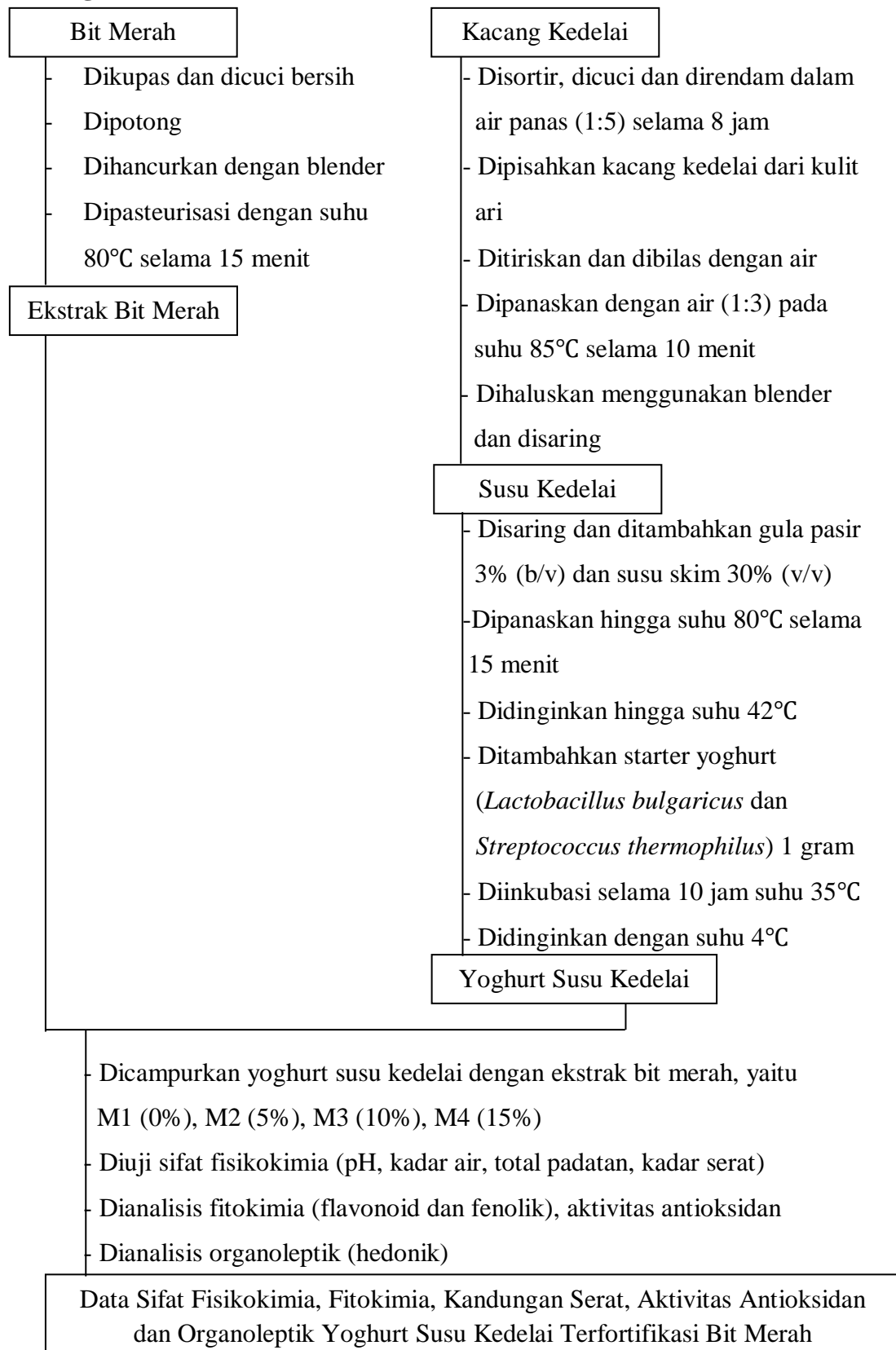
Penelitian dilakukan pada bulan Maret hingga bulan Juli 2023 di Laboratorium Riset Kimia Makanan dan Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

#### 3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain gelas kimia 250 mL dan 100 mL, termometer, waterbath, batang pengaduk, spatula, blender, pisau, juicer, kain saring, batang pengaduk, gelas ukur 10 mL dan 100 mL, pH meter, botol kaca, neraca analitik, botol timbang, hotplate, oven, eksikator, pipet tetes, spektrofotometer UV-Vis, kuvet, inkubator, labu ukur 100 mL dan 25 mL, pipet volumetri 5 mL, labu erlenmeyer 250 mL, tabung reaksi, kertas saring, biuret, klem dan statif, botol vial gelap, cawan porselin dan wadah.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kacang kedelai, susu skim, starter yoghurt (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*), gula pasir, bit merah, air, aquades, larutan buffer pH 4 dan pH 7, logam Mg, HCl, etanol, asam oksalat 0,4%, larutan fehling A dan fehling B, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,3 N, NaOH 1,5 N, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, aseton, KMnO<sub>4</sub> 0,1 N, asam nitrat 65%, metanol, dan larutan DPPH 20 ppm.

### 3.3. Bagan Alir



**Gambar 3.1.** Bagan Alir

### 3.4. Tahapan Penelitian

#### 3.4.1. Pembuatan Ekstrak Bit Merah

Bit merah didapatkan dari daerah Bandung. Bit merah dikupas dan dicuci sampai bersih. Selanjutnya, bit merah dipotong menjadi beberapa bagian dan dihancurkan dengan blender sehingga diperoleh filtrat (ekstrak). Kemudian, ekstrak bit merah disimpan dalam wadah. Ekstrak bit merah kemudian dipasteurisasi dengan suhu 80°C selama 15 menit (Tanjung, 2018). Ekstrak bit merah digunakan sebagai penambahan konsentrasi pada masing – masing formulasi (0%, 5%, 10%, 15%).

#### 3.4.2. Pembuatan Susu Kacang Kedelai

Kacang kedelai didapatkan dari daerah Bandung. Kacang kedelai disortir dan dicuci sampai bersih, kemudian kacang kedelai direndam dengan air panas (1:5) selama 8 jam, lalu ditiriskan. Selanjutnya, kacang kedelai dipisahkan dengan kulit ari, dipanaskan dengan air (1:3) pada suhu 85°C selama 10 menit, lalu kacang kedelai dihaluskan menggunakan blender. Setelah terbentuk menjadi bubur, kacang kedelai diambil ekstrak air nya (susu) menggunakan kain saring (Salsabila, 2022). Selanjutnya, kualitas susu kedelai dianalisis.

#### 3.4.3. Optimasi Susu Kedelai

Optimasi susu kedelai dilakukan untuk menguji kelayakan susu kedelai untuk digunakan lebih lanjut menjadi produk yoghurt. Optimasi susu kedelai dapat dilakukan dengan uji total padatan dan uji pH setelah produksi susu kedelai. Uji pH susu kedelai dilakukan dengan menggunakan pH meter. Uji total padatan susu kedelai dilakukan dengan menimbang  $\pm 10$  g susu kedelai pada cawan penguapan yang diketahui massa sebelumnya, lalu diuapkan hingga kering dan dilanjutkan pemanasan dengan oven pada suhu 105°C selama 3 jam. Setelah pemanasan 3 jam, didinginkan dalam eksikator dan ditimbang.

Hasil optimasi akan dinilai layak atau tidak, sesuai standar nilai pada SNI (Tabel 3.1).

**Tabel 3.1.** Persyaratan Total Padatan dan pH Susu

Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
Total Padatan	% b/b	Min. 11,50
pH	-	6,5 – 7,0

Sumber: (Badan Standardisasi Nasional, 2009)

#### 3.4.4. Pembuatan Yoghurt Susu Kedelai

Susu kedelai ditambahkan gula pasir 3% (b/v) dan susu skim 30% (b/v). Dipasteurisasi campuran susu dengan suhu 85°C selama 15 menit, kemudian didinginkan hingga suhu 42°C. Selanjutnya, ditambahkan starter yoghurt (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) sebanyak 1 gram dan diaduk hingga merata. Inkubasi selama 10 jam pada suhu 40°C, untuk menghentikan bakteri dapat diaduk dan disimpan pada lemari pendingin suhu 4°C hingga akan digunakan. Yoghurt susu kedelai yang telah dihasilkan dicampur dengan ekstrak bit merah sesuai formulasi pada tabel 3.2. Disiapkan juga satu yoghurt susu kedelai sebagai kontrol (M1).

**Tabel 3.2.** Formulasi Yoghurt Susu Kedelai dan Ekstrak Bit Merah

Kode	Yoghurt Susu Kedelai (mL)	Ekstrak Bit Merah (mL)
M1 (0%)	100	0
M2 (5%)	95	5
M3 (10%)	90	10
M4 (15%)	85	15

#### 3.4.5. Pengujian Sifat Fisikokimia

##### - Uji pH

Uji pH yoghurt ini menggunakan metode AOAC, disiapkan alat pH meter dan sampel yoghurt yang akan diuji. pH meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan buffer pH 4, pH 7 dan pH 10. Selanjutnya, elektroda pH meter dibilas dengan aquades dan dilakukan pengukuran

dengan mencelupkan elektroda pH meter kedalam 10 mL sampel sampai menunjukkan angka pH yang stabil. Menurut SNI 2009, syarat mutu yoghurt yang baik memiliki nilai pH berkisar antara 4,1 – 4,5.

- Uji Total Asam Laktat

Uji total asam laktat ini menggunakan metode titrasi asam basa. Ditimbang 10 gram sampel dalam erlenmeyer, lalu ditambahkan 5 tetes indikator pp dan titrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terbentuk warna merah muda (Af'idah, 2019).

$$\text{Total asam laktat (\%)} = \frac{V \times N \times 90}{W} \times 100\%$$

V: Volume larutan NaOH (mL)

N: Normalitas larutan NaOH

90: Massa setara asam laktat

W: Massa sampel (g)

- Uji Kadar Air

Uji kadar air yoghurt ini menggunakan metode AOAC. Cawan kosong disiapkan, kemudian dikeringkan dalam oven selama 1 jam pada suhu 105°C. Selanjutnya, cawan didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Kemudian, sampel sebanyak 2 gram ditimbang dan diletakkan dalam cawan lalu dipanaskan dalam oven selama 3 – 4 jam atau diperkirakan sampai berat konstan pada suhu 105°C. Kemudian, cawan didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan setelah dingin ditimbang kembali (Kumesan, 2017).

$$\text{Kadar air} = \frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \times 100\%$$

W1: Berat wadah kosong (g)

W2: Berat wadah kosong dan sampel awal (g)

W3: Berat wadah kosong dan sampel setelah dikeringkan (g)

- Uji Kadar Serat

Pengujian kadar serat ini menggunakan metode AOAC, ditimbang 1 gram sampel, dimasukkan kedalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan 50 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,3 N dan dipanaskan selama 30 menit dengan pendingin balik di atasnya. Kemudian ditambahkan 25 mL NaOH 1,5 N dan dipanaskan kembali selama 30 menit. Cairan yang sudah dididihkan tersebut disaring menggunakan kertas saring yang sudah ditimbang sebelumnya, kemudian dicuci dengan 50 mL air panas, 50 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,3 N, 50 mL air panas dan 25 mL heksana. Selanjutnya kertas saring dimasukkan ke dalam cawan porselin dan dilakukan pengeringan dengan oven pada suhu 105°C. Kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 1 jam dan ditimbang hingga berat konstan. Kadar serat ditentukan dengan rumus:

$$\text{Kadar serat kasar (\%)} = \frac{a-b}{c} \times 100\%$$

Keterangan:

a = bobot residu serat dalam kertas saring (g)

b = bobot kertas saring (g)

c = bobot bahan awal (g)

#### 3.4.6. Pengujian Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan meliputi uji flavonoid dan fenolik. Pada uji flavonoid, pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing – masing sebanyak 5 mL sampel, kemudian dipanaskan kurang lebih 5 menit. Setelah dipanaskan masing – masing ditambahkan dengan 0,1 gram logam Mg dan HCl sebanyak 5 tetes. Jika masing – masing larutan terbentuk warna kuning jingga sampai merah, maka positif mengandung flavonoid. Pada uji fenolik, pengujian dilakukan dengan cara mengambil masing – masing sebanyak 1 mL sampel, kemudian ditambahkan 5 tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Jika masing – masing larutan terbentuk warna ungu, hijau, merah, biru atau hitam, maka positif mengandung fenolik (Muhammad Nur Fauzi, 2021; Yuningtyas et al, 2021).

### 3.4.7. Analisis Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Larutan DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) 0,1 mM dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 0,0017 gram kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. Selanjutnya, masukkan kedalam labu ukur 50 mL yang telah dilapisi alumunium foil dan homogenkan.

Selanjutnya, untuk menganalisis aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara sebagai berikut, sampel sebanyak 2 mL ditambahkan dengan 3 mL DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) 0,1 mM. Kemudian sampel dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruangan dan tempat gelap selama 30 menit. Absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Absorbansi kontrol diperoleh dari pengukuran 3 mL DPPH 0,1 mM yang ditambahkan ke dalam 2 mL metanol p.a. Metanol p.a digunakan sebagai blanko (Sami, 2016). Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan persamaan berikut.

$$\%AA = \frac{Abs\ kontrol - Abs\ sampel}{Abs\ kontrol} \times 100\%$$

Keterangan:

%AA: Persen aktivitas antioksidan

Abs kontrol: Absorbansi DPPH kontrol

Abs sampel: Absorbansi DPPH yang ditambahkan sampel

### 3.4.8. Pengujian Organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan dengan metode uji hedonik terhadap atribut rasa, warna dan aroma sebagai keberterimaan produk pada konsumen. Panelis merupakan panelis tidak terlatih yang terdiri dari mahasiswa UPI Bandung sebanyak 25 panelis. Panelis akan menguji tingkat kesukaan terhadap masing – masing perlakuan yoghurt (M1 0%, M2 5%, M3 10%, dan M4 15%). Penilaian panelis terhadap tingkat kesukaan rasa, warna dan aroma yoghurt dilakukan menggunakan skala likert 1 – 5. Adapun tahapan yang dilakukan dalam uji hedonik, yaitu:

- a. Meminta dan mengumpulkan panelis sebanyak 25 orang.

Sinta Susilo, 2023

**FORTIFIKASI YOGHURT SUSU KEDELAI MENGGUNAKAN BIT MERAH (*Beta vulgaris L.*) SEBAGAI SUMBER SERAT DAN ANTIOKSIDAN**

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

- b. Membagikan formulir penilaian produk kepada panelis, peneliti menjelaskan cara pengisian formulir.
- c. Peneliti meminta panelis untuk mencoba yoghurt susu kedelai terfortifikasi dan memberikan penilaiannya.
- d. Setelah dicoba, panelis mengisi formulir yang sudah diberikan.