

## **BAB III**

### **METODE DAN PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian**

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

#### **3.2 Alat dan Bahan**

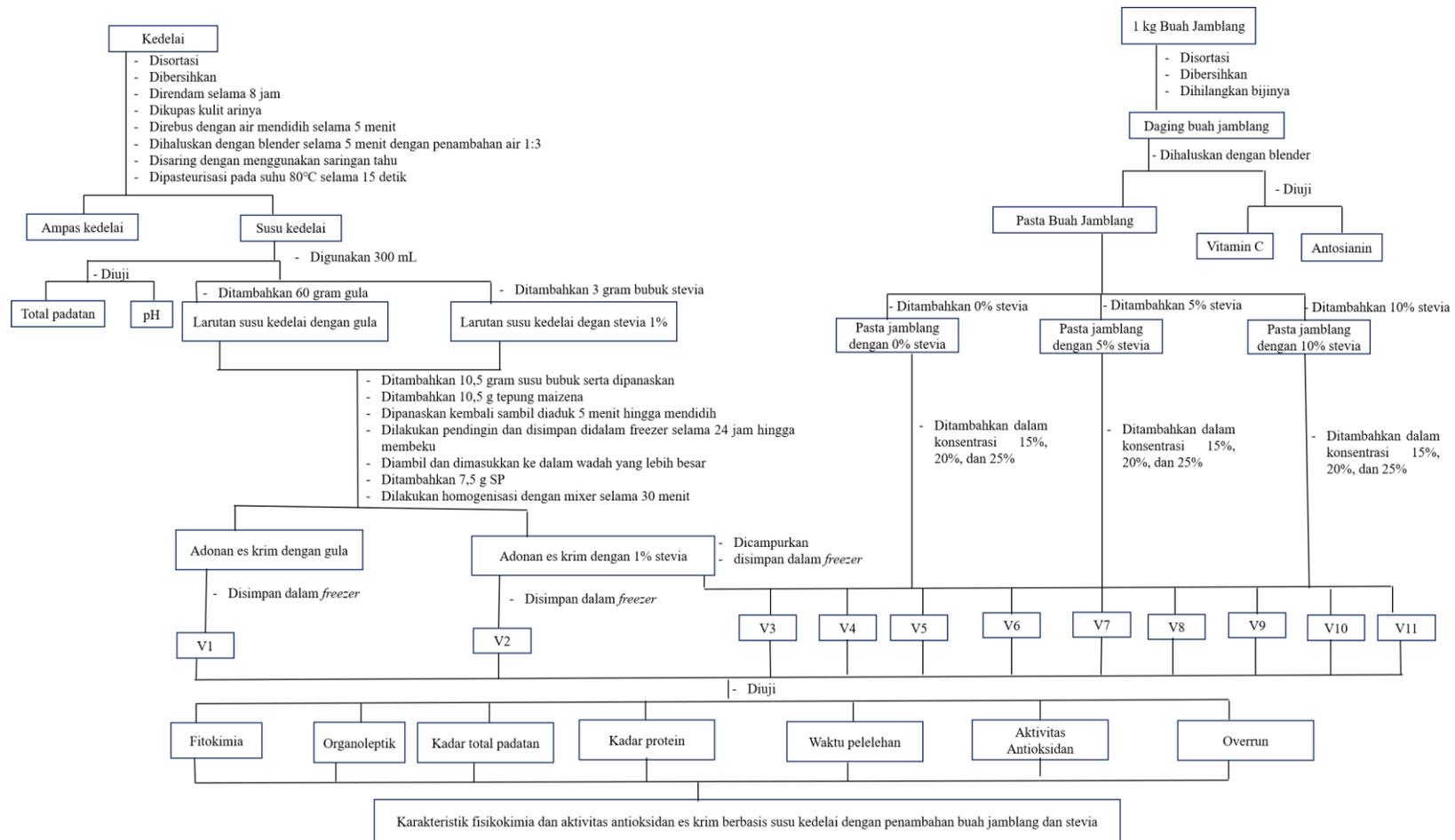
##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini berupa alat-alat laboratorium, yaitu berbagai macam alat gelas, blender, panci, *mixer*, kompor, pH meter, spektrofotometer UV Vis, neraca analitik, oven, desikator, cawan, dan wadah es krim.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu kacang kedelai, susu bubuk, tepung maizena, bahan pestabil (SP), bubuk daun stevia, buah jambang, kasein, metanol, asam klorida, DPPH,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , Na K Tartrat, NaOH, asam askorbat, bubuk Magnesium, buffer pH 1 dan pH 4,5.

### 3.3 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

### 3.4 Metode Penelitian

#### 3.4.1 Pembuatan Ekstrak Buah Jamblang

Buah jamblang dipilih berdasarkan tingkat kematangan lalu dicuci dengan air mengalir dan dihilangkan bijinya. Selanjutnya buah jamblang ditambahkan 0%, 5%, dan 10%g bubuk daun stevia dan dihaluskan dengan blender untuk mendapatkan pasta buah jamblang. Pasta buah jamblang dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit.

#### 3.4.2 Pembuatan Susu Kedelai

Pembuatan susu kedelai dilakukan dengan metode Shobur et al., (2021). Kedelai disortir dan dipisahkan dari kotoran, dicuci lalu direndam dalam air panas selama 8 jam. Selanjutnya dikupas kulit ari dan direbus kedelai selama 5 menit. Kacang kedelai yang sudah bersih dihaluskan dengan blender dan ditambahkan air sebanyak 1 : 3 (b/v). Setelah itu dilakukan pasteurisasi pada suhu 80°C selama 15 detik dengan penambahan daun pandan.

#### 3.4.3 Pembuatan Es Krim Susu Kedelai yang difortifikasi Ekstrak Buah Jamblang dan Pemanis Alami Stevia

Pembuatan es krim susu kedelai dilakukan dengan metode (Salamah, 2022) dengan beberapa modifikasi. Susu kedelai 300 mL dipanaskan dengan 3 gram stevia bubuk dan 10,5 gram susu bubuk hingga mencapai suhu 85°C lalu ditambahkan 10,5 g tepung maizena sebagai pengental. Kemudian, didinginkan pada *freezer* selama 24 jam dengan suhu -12°C. Lalu ditambahkan 7,5 gram SP dan dilakukan homogenisasi menggunakan mixer selama 15 menit lalu ditambahkan pasta buah jamblang dengan variasi 0%, 15%, 20%, dan 25% serta variasi stevia 0%, 5%, dan 10%. Es krim disimpan dalam wadah lalu disimpan pada *freezer* pada suhu -12°C.

#### 3.4.4 Uji Total Padatan Susu Kedelai

Cawan porselen disimpan pada suhu 105°C selama 1 jam lalu didiamkan dalam desikator selama 30 menit. Cawan porselen kemudian ditimbang beratnya dan dicatat. Sampel ditambahkan sebanyak 10 g ke dalam cawan porselen lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 3 jam. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang beratnya (AOAC, 1995). Total padatan susu kedelai dihitung sebagai berikut:

Yusrianti Sabrina Kurniadianti, 2023

PENGARUH PENAMBAHAN BUAH JAMBLANG (*Syzygium cumini*) DAN STEVIA (*Stevia rebaudiana*) PADA ES KRIM SUSU KEDELAI TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

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

*Total Padatan*

$$= \frac{(Massa\ cawan +\ susu\ kedelai\ setelah\ dipanaskan) -\ massa\ cawan\ kosong}{massa\ susu\ kedelai} \times 100$$

### 3.4.5 Uji pH pada Susu Kedelai

Pengukuran pH dilakukan menggunakan metode potensiometri dengan alat pH meter dan bahan merupakan  $\pm 20$  mL sampel. Kalibrasi pH meter perlu dilakukan terlebih dahulu dengan menggunakan larutan buffer pH 7 dan pH 4 kemudian elektoda alat pH meter dicelupkan ke dalam gelas kimia berisi sampel. Ditunggu beberapa saat hingga pH sampel stabil kemudian hasil uji pengukuran pH akan terbaca pada layar pH meter (AOAC, 1995).

### 3.4.6 Uji Kadar Antosianin dalam Buah Jamblang

Pengujian kandungan antosianin dilakukan dengan metode Salamah, (2022). 5 gram buah jamblang yang sudah dihaluskan dimaserasi dalam 20 mL metanol selama satu jam, lalu dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Pengukuran total antosianin dilakukan dengan metode perbedaan pH. Disiapkan larutan buffer pH 1 (KCl – HCl) dan larutan buffer pH 4,5 (C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>KO<sub>4</sub> – HCl- NaOH). Lalu, ekstrak metanol-buah jamblang diambil sebanyak 1 mL dan diencerkan dengan larutan buffer pH 1 dan pH 4,5 10 mL lalu diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 530 nm dan 700 nm. Konsentrasi antosianin dihitung dengan menggunakan hukum Lambert-Beer:

$$A = \epsilon b c$$

Keterangan:

$$A = [(A_{530} - A_{700})_{pH1} - (A_{530} - A_{700})_{pH4,5}]$$

$\epsilon$  = koefisien ekstingsi molar sianidin-3-glukosida, yaitu 29600 Lmol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>

$b$  = lebar kuvet, yaitu 1 cm

$c$  = konsentrasi antosianin (mol/L)

Sehingga untuk menentukan total konsentrasi antosianin dapat digunakan persamaan berikut:

$$Total\ antosianin\ \left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times b}$$

Keterangan

A= Absorbansi sampel

$\epsilon$  = koefisien ekstingsi molar sianidin-3-glukosida, yaitu  $29600 \text{ Lmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

b = lebar kuvet, yaitu 1 cm

MW= bobot molekul (449,2 gram/mol)

DF= faktor pengenceran (10 kali)

### 3.4.7 Uji Kadar Vitamin C dalam Buah Jamblang

Pengukuran kadar vitamin C dilakukan dengan metode (Salamah, 2022). Metode yang dilakukan menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis dengan langkah berikut:

1) Penetapan Larutan Induk Vitamin C 100 ppm

Vitamin C atau asam askorbat ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan aquades bebas  $\text{CO}_2$  sampai tanda batas.

2) Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan vitamin C 100 ppm dipipet sebanyak 3 mL lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquades hingga tanda batas untuk mendapatkan larutan asam askorbat 6 ppm. Larutan tersebut diukur serapannya maksimumnya pada panjang gelombang 200-400 nm dengan blanko aquades.

3) Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan vitamin C 100 ppm dipipet masing masing sebanyak 1, 2, 3, 4, dan 5 mL ke dalam labu ukur 50 mL sehingga mendapatkan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Masing-masing larutan ditambahkan aquades hingga tanda batas lalu dihomogenkan dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan. Dibuat kurva kalibrasi dengan x adalah konsentrasi dan y adalah absorbansi.

4) Penentuan Kadar Sampel

Daging buah jamblang dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Sampel kemudian ditambahkan aquades hingga tanda batas. Selanjutnya, larutan sampel dipipet sebanyak 2 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL

Yusrianti Sabrina Kurniadianti, 2023

PENGARUH PENAMBAHAN BUAH JAMBLANG (*Syzygium cumini*) DAN STEVIA (*Stevia rebaudiana*) PADA ES KRIM SUSU KEDELAI TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

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

dan ditambahkan aquades hingga tanda batas. Larutan sampel yang telah diencerkan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan.

#### **1.4.8 Uji Kadar Total Padatan pada Es Krim Susu Kedelai dengan Penambahan Buah Jamblang dan Stevia**

Pengujian total padatan dilakukan menurut SNI 3713:2018. Analisis total padatan dilakukan dengan mengeringkan cawan kosong pada oven dengan suhu 105°C selama 15 menit. Cawan kosong yang sudah kering kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 10 menit. Setelah itu sampel es krim ditimbang sebanyak 10 gram menggunakan cawan kering dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 3 jam. Sampel kering dalam cawan kemudian dimasukkan ke dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang massanya. Kadar total padatan dihitung sebagai berikut:

*Total padatan*

$$= \frac{(Massa\ cawan +\ susu\ kedelai\ setelah\ dipanaskan) -\ massa\ cawan\ kosong}{massa\ susu\ kedelai}$$

#### **1.4.9 Uji Fitokimia Es Krim Susu Kedelai dengan Penambahan Buah Jamblang dan Stevia**

Ekstraksi buah jamblang dilakukan dengan metode Sari (2015) dengan cara menimbang 5 gram es krim yang telah dihaluskan dimaserasi dalam 20 mL metanol selama satu jam, kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas saring.

##### 1) Flavonoid

Ekstrak sampel es krim dipipet sebanyak 2 mL, lalu ditambahkan 0,1 gram logam Mg dan 5 tetes HCl pekat. Jika masing-masing larutan terbentuk warna merah atau ungu maka sampel positif mengandung flavonoid.

## 2) Antosianin

Ekstrak sampel es krim dipipet sebanyak 1-2 mL, lalu ditambahkan HCl 2M dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit. Jika terjadi perubahan warna dari ungu ke merah maka sampel mengandung antosianin. Masing-masing larutan sampel kemudian ditambahkan NaOH 2M. Jika terbentuk warna hijau atau biru yang memudar secara perlahan maka antosianin dalam keadaan netral.

### 1.4.10 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH mengikuti prosedur (Salamah, 2022). Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL kemudian ditambahkan metanol hingga tanda batas, larutan sampel tersebut diambil sebanyak 4 mL dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH 20 ppm di dalam botol vial gelap. Campuran diinkubasi selama 30 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan persamaan :

$$\% AA = \frac{Abs\ DDPH\ kontrol - Abs\ DPPH\ sisa}{Abs\ DPPH\ Kontrol} \times 100$$

Keterangan:

- % AA = persen aktivitas antioksidan
- Abs DPPH kontrol = Absorbansi DPPH tanpa penambahan sampel
- Abs DPPH sisa = Absorbansi DPPH dengan penambahan sampel

### 1.4.11 Uji Kadar Protein dalam Es Krim Susu Kedelai dengan Penambahan Buah Jamblang

#### 1) Pembuatan Larutan Induk Kasein 10.000 ppm

Kasein ditimbang sebanyak 1 gram lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan NaOH 3% hingga tanda batas.

#### 2) Pembuatan Deret Larutan Standar Kasein

Larutan standar kasein 10.000 ppm diencerkan menjadi 1000, 2000, 3000, 4000 dan 5000 ppm dengan cara dipipet masing-masing sebanyak 5, 10, 15, 20, dan 25 mL larutan standar kasein 10.000 ppm lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan NaOH 3% hingga tanda batas.

### 3) Pembuatan Larutan Sampel

Sampel es krim ditimbang masing-masing 0,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquades. Larutan tersebut kemudian dipipet 5 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan aquades hingga tanda batas.

### 4) Pembuatan Reagen Biuret

Reagen biuret dibuat dengan cara menimbang  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  sebanyak 0,15 gram dan Na.K.Tartarat sebanyak 0,6 gram, lalu dilarutkan dengan aquades 50 mL. Larutan dipindahkan ke labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan NaOH 2M sebanyak 37,5 mL dan ditambahkan aquades hingga tanda batas.

### 5) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standar kasein 3000 ppm diambil sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 8 mL reagen biuret. Larutan kemudian dipanaskan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 10 menit. Larutan didiamkan selama 10 menit kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 500-700 nm dengan blanko 8 mL reagen biuret dan 2 mL aquades.

### 6) Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan deret standar kasein 1000, 2000, 3000 4000, 5000, dan 10.000 ppm dipipet masing-masing 2 mL ke dalam tabung reaksi berisi 8 mL reagen biuret. Larutan kemudian dipanaskan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 10 menit. Larutan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum dengan blanko 8 mL reagen biuret dan 2 mL aquades. Data absorbansi diolah menjadi kurva kalibrasi dengan x adalah konsentrasi dan y adalah absorbansi.

### 7) Pengujian Larutan Sampel Es Krim

Larutan sampel es krim masing-masing dipipet 2 mL ke dalam tabung reaksi berisi 8 mL reagen biuret. Larutan kemudian dipanaskan pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 10 menit. Larutan kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum dengan blanko 8 mL reagen biuret dan 2 mL aquades.

## 3.4.12 Uji Overrun

Uji *overrun* dinyatakan sebagai pengembangan volume dan dihitung berdasarkan perbedaan volume es krim dengan volume adonan dengan massa yang

Yusrianti Sabrina Kurniadianti, 2023

PENGARUH PENAMBAHAN BUAH JAMBLANG (*Syzygium cumini*) DAN STEVIA (*Stevia rebaudiana*) PADA ES KRIM SUSU KEDELAI TERHADAP KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

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

sama atau perbedaan massa es krim dan massa adonan pada volume yang sama. Sampel berupa adonan es krim dimasukkan ke dalam gelas ukur 50 ml lalu ditimbang sebanyak 10 g kemudian dicatat volumenya. Langkah berikutnya yaitu penimbangan es krim setelah dilakukan pengocokan, es krim dimasukkan ke dalam gelas ukur 50 mL lalu ditimbang 10 g, dan dicatat volumenya (Salamah, 2022) Dilakukan perhitungan dengan rumus:

$$\%overrun = \frac{Volume\ es\ krim - Volume\ adonan}{Volume\ adonan} \times 100\%$$

### 3.4.13 Uji Waktu Pelelehan

Uji pelelehan es krim dilakukan dengan metode (Khalish dkk., 2020) Es krim ditimbang sebanyak  $\pm 15$  gram kemudian ditempatkan pada piring datar dan dibiarkan meleleh secara sempurna pada suhu ruang ( $25^{\circ}\text{C}$ ). Waktu leleh diukur menggunakan *stopwatch*.

### 3.4.14 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan kepada 20 panelis (Pratiwi, 2015). Uji ini dilakukan dengan pemeriksaan dan penilaian sifat fisik es krim susu kedelai terfortifikasi buah jamblang dan stevia meliputi atribut aroma, rasa, warna, tekstur, dan kesuluruhan. Adapun tahap-tahapan yang dilakukan dalam tes organoleptik yaitu:

- 1) Meminta dan mengumpulkan panelis sebanyak 20 orang.
- 2) Membagikan formulir kepada panelis, dan menjelaskan cara pengisian formulir penilaian produk.
- 3) Panelis mengamati, dan mencoba produk es krim susu kedelai terfortifikasi buah jamblang dari segi aroma, rasa, warna, tekstur, dan kesuluruhan. Setelah diamati dan dicoba, panelis mengisi formulir yang sudah diberikan.