

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2024. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Riset Prodi Kimia, FPMIPA, Universitas Pendidikan Indonesia dan Laboratorium Chem-Mix Pratama, Bantul, Yogyakarta.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian meliputi gelas ukur, gelas kimia, erlenmayer, *jar*, tabung reaksi, *autoklaf*, lemari es, kompor, panci, pengaduk plastik, termos, *cooler bag*, yogurt maker, termometer, sendok, neraca analitik, wadah yogurt, vortex, spektrofotometer Uv-Vis, pH meter, mikro pipet, serta alat untuk analisa sensori seperti label, cup plastik, sendok plastik, kertas, dan alat tulis.

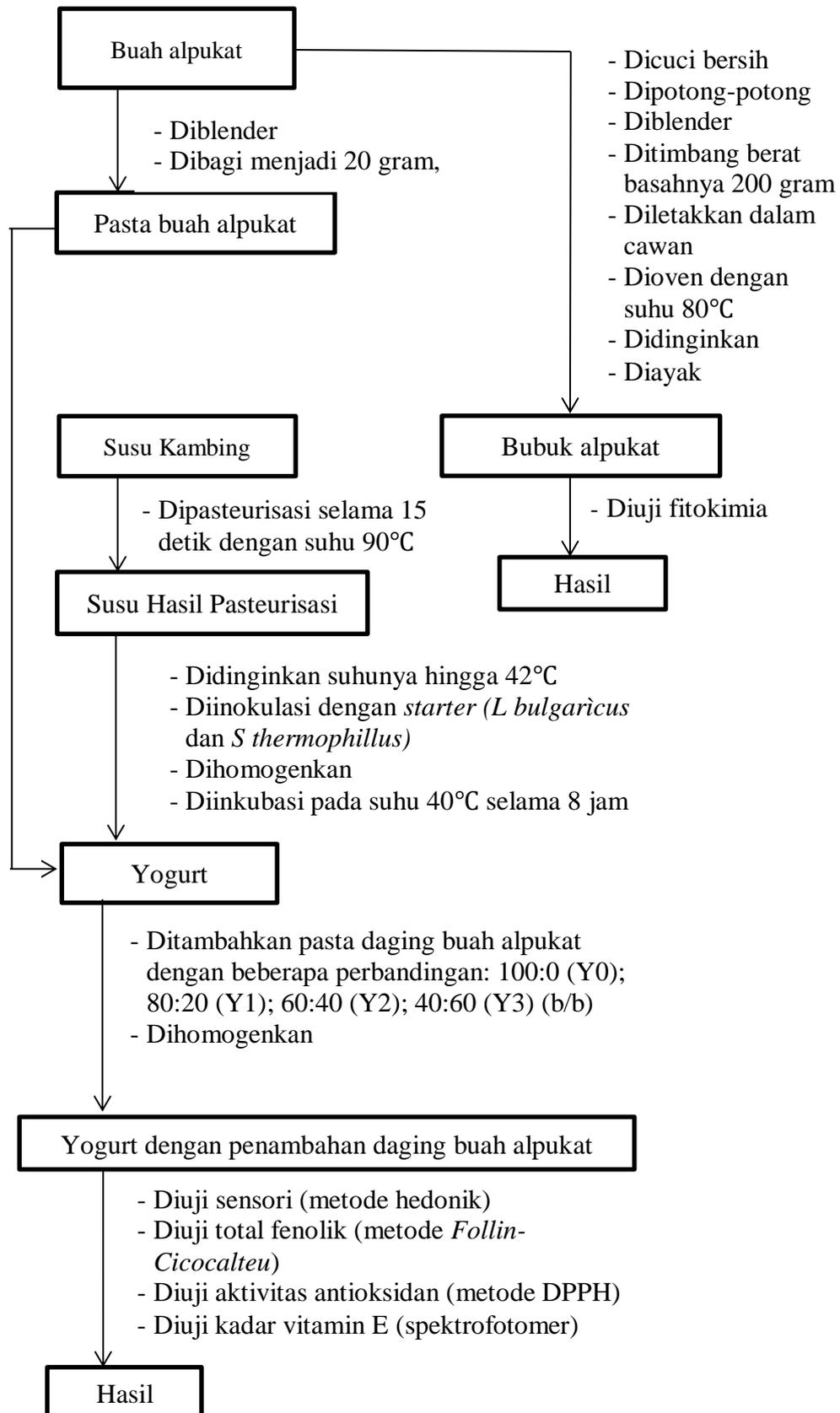
3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah susu kambing etawa yang diambil dari peternakan di Cilengkrang, bakteri *starter* yogurt 5%, buah alpukat ijo bundar yang diambil dari Arjasari, aquades, DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrihidrazin), metanol, kloroform, asam sulfat, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, CH_3COOH , etanol, HCl, serbuk magnesium, larutan FeCl_3 1% dan 0,02%, Na_2CO_3 7.5%, larutan *Follin-Ciocalteu* 10%, standar vitamin E, dan 2,2 bipyridin 0,07%.

3.3. Variabel Pengamatan

Variabel yang diamati adalah skrining fitokimia buah alpukat, total fenolik, aktivitas antioksidan, kadar vitamin E serta sifat sensori (warna, rasa, aroma, konsistensi) dari yogurt yang dikembangkan.

3.4. Bagan Alir Penelitian



Dian Fitria Purnami Wulan, 2024

Yogurt Susu Kambing Etawa (*Capra aegagrus hircus*) dengan penambahan Daging Buah Alpukat (*Persea americana mill.*) Sebagai Minuman Fungsional

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

3.5. Cara Kerja

3.5.1. Uji Fitokimia Buah Alpukat

Sampel yang digunakan yaitu buah alpukat dengan varietas bulat hijau yang segar. Sampel sebanyak 1000 gram dicuci dan dipotong-potong kecil kemudian diblender. Sampel dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 60°C selama 12 jam, hingga kering. Simplisia kemudian dimaserasi menggunakan etanol 96% selama 5 hari. Setelah 5 hari, ekstrak etanol disaring dan diuapkan untuk menghilangkan etanol menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C selama 2 jam. Pengujian fitokimia buah alpukat didasarkan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Marlinda, Sangi, dan Wuntu 2012).

a. Uji alkaloid

Sebanyak 2 mL ekstrak daging alpukat dimasukkan dalam tabung reaksi dan kemudian ketiga tabung tersebut ditetesi dengan Wagner dan Dragendorff. Dari pengujian tersebut akan terbentuk endapan yang mengindikasikan adanya kandungan alkaloid. Pereaksi Wagner membentuk endapan coklat, sedangkan pereaksi Dragendorff membentuk endapan merah.

b. Uji steroid dan terpenoid

Sebanyak 2 mL ekstrak daging dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 3 tetes CH_3COOH dan didiamkan sejenak selama 3 menit, kemudian ke dalam tabung reaksi ditambahkan H_2SO_4 . Apabila terbentuk warna merah maka terindikasi adanya kandungan terpenoid, sedangkan jika terbentuk warna biru maka terindikasi kandungan steroid.

c. Uji tanin

Sebanyak 2 mL ekstrak daging dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol hingga sampel terendam seluruhnya, kemudian ke dalam tabung reaksi ditambahkan FeCl_3 sebanyak 3 tetes. Apabila terbentuk warna hijau atau biru kehitaman, maka positif mengandung tannin.

d. Uji flavonoid

Sebanyak 2 mL ekstrak daging dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol hingga seluruh sampel terendam, kemudian ditambahkan

3 tetes HCl pekat. Sampel dipanaskan sejenak, lalu ditambahkan sedikit

bubuk magnesium (Mg). Jika terbentuk warna merah, menandakan sampel positif mengandung flavonoid.

e. Uji saponin

Ekstrak kental alpukat sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan aquades hingga sampel terendam sempurna, kemudian dikocok secara kuat. Jika terbentuk buih stabil selama 3 menit, maka sampel positif mengandung saponin.

f. Uji fenolik

Ekstrak kental alpukat sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan FeCl_3 1%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna hijau atau kehitaman, merah, ungu dan biru tua.

3.5.2. Proses Pembuatan Yogurt

Susu kambing segar sebanyak 1 liter dipasteurisasi dengan suhu 90°C selama 15 detik. Kemudian susu yang telah dipasteurisasi didinginkan sampai 42°C dan ditambahkan *starter* (*L bulgaricus* dan *S thermophilus*) 1 gram lalu dihomogenkan. Pengemasan yogurt dilakukan dalam *jar* steril bertutup dan diinkubasi selama 8 jam dengan suhu 40°C kemudian dimasukkan ke dalam kulkas dengan suhu konstan (Robiah 2020).

3.5.3. Proses Penambahan Daging Buah Alpukat

Setelah proses pembuatan yogurt selesai, tahap selanjutnya adalah menambahkan vitamin E dari daging buah alpukat ke dalam yogurt yang diproduksi. Penambahan yogurt variasi 20 gr (Y1), 40 gr (Y2) dan 60 gr (Y3). Dan dibuat juga varian tanpa penambahan daging buah alpukat sebagai kontrol (Y0) (Zulaikhah 2021).

3.5.4. Uji Total Fenolik

Pengujian total fenolik dilakukan berdasarkan (SNI 2013). Dimana sebanyak 0,2 gram sampel dilarutkan dalam 1 mL methanol 70% dan dipanaskan dalam suhu 70°C , disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit, pisahkan filrat dan diamkan selama 24 jam. Ditambahkan 5 ml larutan *follin-cicocalteau* dan kocok dengan vortex kemudian diamkan larutan selama 3 menit dalam suhu ruang. Campuran kemudian ditambahkan

dengan larutan Na_2CO_3 7,5% lalu kocok kembali dan diamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Panjang gelombang maksimal larutan diukur dalam 760 nm dengan spektrofotometer. Pengukuran dilakukan sebanyak dua kali pengulangan (duplo). Kandungan total senyawa fenolik pada yogurt yang diproduksi dapat diketahui dengan pembuatan deret standar dari larutan asam galat **Lampiran 9**. Berikut merupakan rumus penentuan % kadar total fenoliknya sebagai berikut (SNI 2013).

$$\text{kadar fenolik (mg/g)} = \frac{\text{volume (L)} \times \text{konsentrasi} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right)}{\text{massa (gr)}}$$

3.5.5. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan pada yogurt yang telah diproduksi dilakukan menggunakan metode DPPH. Sebanyak 2 mL yogurt ditambahkan dengan larutan DPPH 0,1 M dan dihomogenkan. Larutan kemudian disimpan ke dalam ruangan kedap cahaya selama 30 menit, kemudian diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada gelombang 517 nm dengan etanol sebagai blanko (Aulia Pradita 2015). Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan nilai absorbansi dari analisis sampel. Dimana untuk mengetahui % antioksidan sampel yang dihitung dengan rumus berikut (Af'idah dan Trimulyono 2019).

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \left[\frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100 \right]$$

3.5.6. Pengukuran Kadar Vitamin E

Uji kadar vitamin E menurut AOAC (1988) adalah sebagai berikut.

- a. Pembuatan larutan induk vitamin E dengan konsentrasi 1000 ppm

Ditimbang sebanyak 50 mg padatan tokoferol dan dimasukkan kedalam gelas ukur 50 mL. Berikutnya ditambahkan 3,5 mL 2,2-bipiridin 0,07% dan 0,5 FeCl_3 0,02% ke dalam larutan. Kemudian diterra dengan etanol sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen homogen.

- b. Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang maksimum vitamin E didapatkan dari pengukuran absorbansi larutan induk vitamin E pada panjang gelombang 200 hingga 400 nm.

- c. Pembuatan Larutan Standar Vitamin E 20 ppm; 40 ppm; 60 ppm; 80 ppm dan 100 ppm

Larutan induk vitamin E dipipet masing-masing sebanyak 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL dan 1,0 mL ke dalam labu ukur 5 mL dan masing-masing ditambahkan 3,5 mL 2,2-bipiridin 0,07% dan 0,5 FeCl₃ 0,02%. Kemudian diterra dengan etanol hingga tanda batas dan dikocok hingga larutannya homogen.

- d. Pengukuran kadar vitamin E

Pengukuran kadar vitamin E dilakukan pada panjang gelombang 286 nm. Hasil absorbansi diplotkan untuk mendapatkan nilai regresi. Perhitungan kadar vitamin E, dilakukan dengan rumus berikut.

$$\text{Kadar Vitamin E} = \frac{X \times \text{Faktor pengenceran}}{\text{berat sampel (mg)}}$$

Keterangan:

$$X = \frac{y-a}{b}$$

3.5.8. Analisis Sensori

Pengujian organoleptik pada penelitian ini menggunakan uji hedonik. Dimana nantinya panelis akan disajikan sampel satu per satu dan secara bersamaan. Panelis akan melakukan pengujian terhadap sampel yang disajikan dan memberi diminta untuk memberi penilaian berdasarkan rasa, tekstur, aroma, dan warna.

Penilaian yang diberikan oleh panelis didasarkan pada skala *likert* 1-5 (Tabel 7), panelis akan memberikan penilaian berdasarkan suka atau tidak sukanya yogurt yang disajikan. Nilai kesukaan panelis akan dijumlahkan dan dirata-rata dari setiap parameternya kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan ANOVA.

Tabel 3. 1 Penilaian analisis sensori

Skor	Keterangan
1	Sangat Tidak Suka
2	Tidak Suka
3	Netral
4	Suka
5	Sangat suka

Hasil analisa sensori yang telah dilakukan oleh panelis terhadap masing-masing parameter dalam bentuk grafik jaring laba-laba. Kemudian untuk melihat nilai signifikansi dilakukan uji *One-Way Anova* (Sari, Septiani, dan Melati 2024). Dari hasil anova kemudian dilakukan uji lanjutan, yaitu uji Duncan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pada setiap data yang diperoleh (Robiah 2020).