

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian minuman fungsional berbasis whey dengan penambahan stroberi (*Fragaria x ananassa Duch*), jahe merah, dan pemanis alami stevia dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Makanan, Prodi Kimia, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung, Jawa Barat, Indonesia. Penelitian ini berlangsung selama kurang lebih tiga bulan sejak Oktober 2024 hingga Desember 2024

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

##### **3.2.1 Alat**

Peralatan yang digunakan untuk proses produksi minuman yaitu: Lemari pendingin, blender, timbangan digital, botol minuman, saringan, pisau, sendok, talenan, dan gelas ukur. Peralatan yang digunakan untuk uji hedonik yaitu gelas plastik, tisu, kuisisioner uji organoleptik, dan alat tulis. Peralatan yang digunakan untuk analisis kadar pH yaitu: pH universal. Peralatan yang digunakan untuk analisis protein yaitu: tabung reaksi, pipet mikro, dan spektrofotometer UV-Vis. Peralatan yang digunakan untuk analisis antioksidan yaitu: Spektrofotometer UV-Vis, timbangan analitik, botol semprot, beaker glass, labu ukur, pipet gondok, bola hisap, dan pipet mikro. Peralatan yang digunakan untuk uji antimikroba yaitu gelas ukur, cawan petri, dan pipet tetes.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan untuk formulasi minuman whey-stroberi, yaitu: bubuk whey, buah stroberi, jahe merah, stevia, dan air mineral. Bahan yang

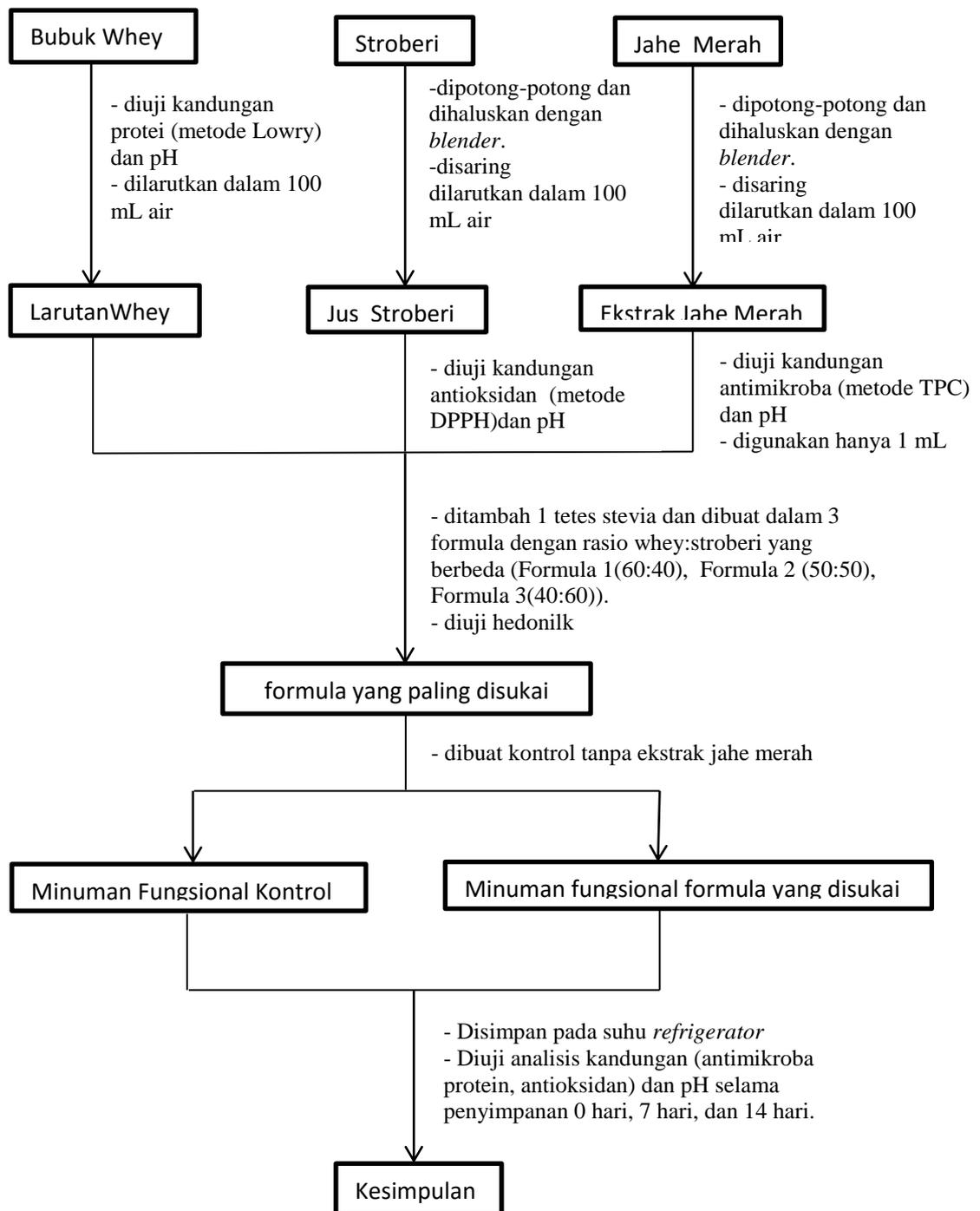
Devona Ozora Toelle, 2025

**MINUMAN FUNGSIONAL BERBASIS WHEY DENGAN PENAMBAHAN STROBERI (*Fragaria x ananassa*), JAHE MERAH (*Zingiber officinale var Rubrum*), DAN PEMANIS ALAMI STEVIA (*Stevia rebaudiana*)**

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

digunakan untuk analisis, yaitu: aquades, pH Universal, dan reagen Lowry A dan reagen Lowry B, Natrium Agar (NA), dan larutan standar BSA.

### 3.3 Bagan Alir Penelitian



Devona Ozora Toelle, 2025

MINUMAN FUNGSIONAL BERBASIS WHEY DENGAN PENAMBAHAN STROBERI (*Fragaria x ananassa*), JAHE MERAH (*Zingiber officinale var Rubrum*), DAN PEMANIS ALAMI STEVIA (*Stevia rebaudiana*)

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

### 3.4 Formulasi Sampel

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya mengenai minuman whey-wortel dengan perbandingan 45:55, 50:50, dan 55:45 (Naik et al., 2023), pada penelitian ini dilakukan sedikit modifikasi dalam perbandingan whey:stroberi yang dibuat dalam beberapa variasi formulas seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.1. Hal ini bertujuan menemukan formula yang paling disukai oleh konsumen.

Tabel 3.1. Formulasi minuman whey-stroberi

Sampel	Bahan			
	Whey(%)	Jus stroberi(%)	Stevia	Ekstrak Jahe Merah (mL)
Formula 1	60	40	1 tetes	1
Formula 2	50	50	1 tetes	1
Formula 3	40	60	1 tetes	1

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1. Persiapan Minuman Whey-stroberi

Daun stroberi dipisahkan dari daging buah stroberi yang sudah dicuci dan dipotong-potong untuk dihaluskan dengan menggunakan *juicer*. Sari buah kemudian disaring. Bubuk whey dilarutkan dalam 100 mL air mineral lalu dicampurkan dengan jus stroberi, 1 mL ekstrak jahe merah 1%, dan 1 tetes stevia.. Kemudian disimpan pada suhu *refrigerator*( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) untuk penggunaan lebih lanjut.

#### 3.5.2. Uji Hedonik/Kesukaan

Pengujian organoleptik hedonik dilakukan dengan 30 panelis semi terlatih diminta untuk mengamati, mencium dan mencicipi 3 sampel dan masing – masing telah diberi kode pada setiap perlakuan. Terdapat tiga kategori penilaian: sangat

suka, suka, kurang suka, tidak suka dengan menggunakan skala 1 sampai 4 poin terhadap intensitas warna, aroma, rasa, dan tekstur.

### **3.5.3. Uji Antimikroba**

Uji Total Mikroba dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Pengujian total mikroba terhadap kontrol dan formula yang disukai pada penelitian ini digunakan metode *Total Plate Count* (TPC) yang berfungsi untuk memperkirakan jumlah mikroba yang tumbuh pada media kultur dengan penambahan ekstrak jahe (kontrol dan sampel) setelah pengujian nilai pH dengan cara menghitung banyaknya koloni bakteri yang mengalami pertumbuhan pada media media NA (*Nutrient Agar*) dengan metode tuang (*pour plate method*). Pengujian TPC ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas dari penambahan ekstrak jahe yang berperan sebagai anti-mikroba alami yang ditambahkan pada formulasi *whey*-stroberi.

Dipipet sebanyak 1 mL kontrol, formula yang disukai, serta ekstrak jahe atau sisa hasil pengujian nilai pH. Kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri dan dicampurkan dengan media pertumbuhan mikroba berupa media padat Nutrient Agar (NA). Dipipet kembali sampel 1 mL dan dilakukan pengenceran mulai dari pengenceran  $10^{-1}$  hingga pengenceran  $10^{-5}$  Media PCA/NA yang telah steril dituangkan ke dalam cawan petri sebanyak 15 sampai 20 mL. Dihomogenkan dengan membentuk angka 8 hingga sampel dan media tercampur homogen. Dikerjakan blanko dan diinkubasi di inkubator dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Diamati dan dihitung jumlah bakteri yang ada menggunakan plate counter.

### **3.5.4. Analisis pH**

Nilai pH sampel dan standar *whey*-stroberi dianalisis menggunakan pH meter. Sebelum melakukan pengujian pH, alat pH meter distandarisasi dengan menggunakan buffer pH 4, lalu dibilas dengan aquades, dilanjutkan dengan standard buffer pH 7. Sampel yang akan diamati dimasukan ke dalam gelas

Devona Ozora Toelle, 2025

MINUMAN FUNGSIONAL BERBASIS WHEY DENGAN PENAMBAHAN STROBERI (*Fragaria x ananassa*), JAHE MERAH (*Zingiber officinale var Rubrum*), DAN PEMANIS ALAMI STEVIA (*Stevia rebaudiana*)

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

beaker 100mL, kemudian pH meter dicelupkan ke dalam sampel hingga pH meter menunjukkan angka yang stabil.

### 3.5.5. Analisis Protein

Larutan standar BSA dibuat dengan melarutkan 100 mg BSA ke dalam aquades 100 ml. Larutan standar BSA memiliki konsentrasi 1 mg/ml. Selanjutnya 2,5ml larutan standar BSA dengan konsentrasi 1mg/mL ditambahkan ke dalam 7,5 ml aquades. Konsentrasi Larutan BSA menjadi 250 µg/mL. Larutan standar BSA 0 ml; 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml; 0,8ml dan 1 ml dimasukkan ke dalam 6 tabung reaksi lalu ditambahkan 1 ml aquades kedalam masing-masing 6 tabung reaksi. Ditambahkan 4 ml reagen Lowry B, dan dibiarkan selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 500 µL reagen Lowry A, dikocok lalu didiamkan selama 20 menit. Larutan lalu dibaca dalam Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 600nm dengan campuran reaksi yang tidak mengandung protein digunakan sebagai blanko. Absorbansi kemudian dicatat dan dibuat grafik kurva standar antara absorbansi dan konsentrasi protein.

Kontrol dan Formula yang disukai masing-masing diencerkan dengan pengenceran 1:50 sebelum dilakukan analisis protein. Analisis protein dilakukan dengan memasukkan 500µL larutan protein dan aquades ke dalam tabung reaksi berbeda, lalu ditambahkan 4 ml reagen Lowry B, dan dibiarkan selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 500 µL reagen Lowry A, dikocok lalu didiamkan selama 20 menit. Larutan lalu dibaca dalam Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 600nm. Aquades digunakan sebagai larutan blanko. Persentase protein dihitung dengan memasukkan absorbansi sampel ke dalam persamaan linear standar untuk mencari nilai (x) kemudian dihitung dengan persamaan:

$$\%Protein = X \times fp \times 100\%$$

### 3.5.6. Uji Antioksidan

Devona Ozora Toelle, 2025

MINUMAN FUNGSIONAL BERBASIS WHEY DENGAN PENAMBAHAN STROBERI (*Fragaria x ananassa*), JAHE MERAH (*Zingiber officinale var Rubrum*), DAN PEMANIS ALAMI STEVIA (*Stevia rebaudiana*)

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

Analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dimodifikasi dari prosedur Susilo (2023). Larutan DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 40 ppm dibuat dengan cara menimbang padatan DPPH sebanyak 0,0020 gram dan larutkan dengan etanol 80% hingga homogen di dalam botol vial gelap. Selanjutnya, larutan DPPH tersebut dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL yang telah dilapisi aluminium foil. Tambahkan etanol 80% hingga tanda batas dan homogenkan.

Kontrol dan Formula yang disukai masing-masing diencerkan dengan pengenceran 1:50 dan disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3000 rpm sebelum dilakukan analisis aktivitas antioksidan. Analisis aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara mencampurkan kontrol dan Formula yang disukai sebanyak 3 mL dengan 2 mL DPPH 40 ppm di dalam botol vial gelap. Selanjutnya, campuran tersebut dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Etanol 80% sebanyak 5 mL dipipet ke dalam botol vial gelap, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit digunakan sebagai larutan blanko. Absorbansi kontrol diperoleh dari pengukuran 5 mL larutan DPPH 40 ppm. Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan persamaan:

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

### 3.5.7. Analisis Statistika

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis varian satu arah (ANOVA) untuk mencari signifikansi. Jika diperoleh  $p < 0,05$ , maka terdapat perbedaan nyata yang harus diuji lanjut menggunakan Independen T dengan taraf kepercayaan 5% (Artaya, 2018)