

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian fortifikasi yoghurt menggunakan biji durian (*Durio ziberthinus murr*) sebagai antioksidan dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Makanan, Program Studi Kimia, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia. Penelitian ini berlangsung selama kurang lebih 4 bulan, yang dimulai pada bulan Maret 2025 sampai dengan bulan Juli 2025.

3.2 Alat

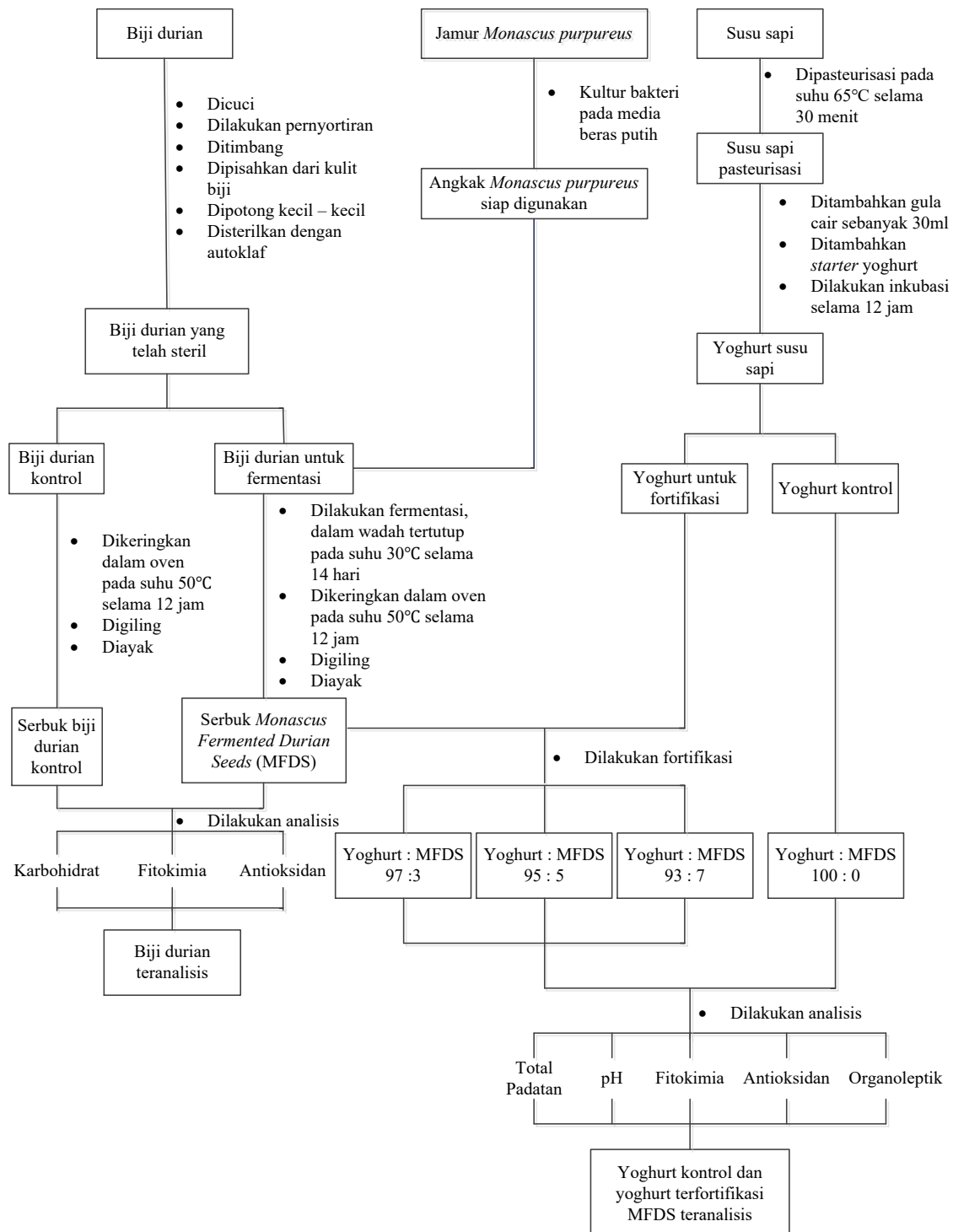
Alat yang digunakan dalam pembuatan dan pengujian produk fortifikasi yoghurt biji durian di antaranya yaitu tabung reaksi; batang pengaduk; spatula; magnetik stirrer; gelas kimia 100 ml; gelas kimia 600 ml; gelas kimia 500 ml; gelas kimia 100 ml; gelas kimia 250 ml; botol semprot; kondensor; selang; batu didih; pipet volume; cawan krus; labu erlenmeyer 250 ml; labu dasar bulat; termometer; labu dasar datar; labu ukur 250 ml; oven; neraca analitik; corong; sendok; pisau; *blender*; penangas air; *hotplate*; pH meter; pipet tetes; instrumen spektrofotometer UV – Vis.

3.3 Bahan

Bahan utama yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah susu sapi; *stater* yoghurt; angkak jamur *Monascus purpureus*; biji durian; metanol; etanol; aquades; natrium tiosulfat; amilum; H_2SO_4 ; kalium iodida; larutan *luff schoorl*; magnesium; HCl pekat; $FeCl_3$; pereaksi *dragendorff*; *1,1-diphenyl-2-pycrylhidrazil* (DPPH).

Selain itu terdapat bahan tambahan yang digunakan sebagai pendukung penelitian yaitu air dan gula pasir.

3.4 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.5 Prosedur Penelitian

Dalam penelitian ini, prosedur yang akan dilakukan yaitu pengolahan biji durian, fermentasi biji durian dengan angkak jamur *Monascus purpureus*, pembuatan yoghurt, analisis karbohidrat, analisis total padatan, analisis pH, analisis antioksidan, dan analisis organoleptik.

3.5.1 Pengolahan Biji Durian

Biji durian yang digunakan berasal dari jenis buah durian Medan memiliki bentuk biji lonjong dengan kulit biji berwarna cokelat tua. Tahap pertama yang dilakukan adalah proses sortir untuk memisahkan biji durian dalam kondisi baik, dan biji durian dalam kondisi kurang baik, selanjutnya biji durian dalam kondisi baik akan dicuci untuk menghilangkan sisa daging durian yang masih menempel pada biji. Tahap berikutnya adalah proses pemisahan kulit biji dari biji bagian dalam, kulit biji bagian luar memiliki tekstur yang keras dan kasar sehingga yang akan digunakan adalah biji bagian dalam yang memiliki tekstur tidak terlalu keras. Biji yang telah dipisahkan dari kulitnya, selanjutnya dipotong kecil – kecil untuk dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit. Biji yang telah steril dipisahkan ke dalam dua wadah, wadah pertama untuk pembuatan serbuk durian tanpa fermentasi, dan wadah kedua untuk pembuatan serbuk durian terfermentasi angkak *Monascus purpureus*.

Biji durian dalam wadah pertama merupakan biji durian kontrol yaitu tanpa fermentasi, biji durian ini selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 12 jam. Biji durian kering selanjutnya di *blender* hingga halus dan diayak untuk mendapatkan serbuk biji durian dengan ukuran partikel yang seragam. Biji durian kontrol nantinya akan menjadi pembanding untuk biji durian terfermentasi pada tahap analisis.

3.5.2 Fermentasi Biji Durian

Fermentasi pada biji durian dilakukan menggunakan angkak jamur *Monascus purpureus* dalam wadah tertutup yang disimpan dalam ruangan

gelap. Biji durian dicampurkan dengan 5% jamur *Monascus purpureus*, kemudian difermentasi selama 14 hari pada suhu 30°C, dengan tujuan meningkatkan antioksidan. Biji durian yang telah terfermentasi akan dilakukan proses pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 12 jam, setelah mendapatkan biji durian dalam kondisi kering, biji durian terfermentasi akan di *blender* hingga halus dan diayak untuk mendapatkan serbuk biji durian terfermentasi yang biasanya disebut *Monascus Fermented Durian Seeds* (MFDS).

Serbuk *Monascus Fermented Durian Seeds* (MFDS) inilah yang digunakan sebagai fortifikan ke dalam yoghurt untuk meningkatkan aktivitas antioksidan di dalamnya.

3.5.3 Proses Pembuatan Yoghurt

Susu sapi hasil perah sebanyak 1 liter dilakukan pasteurisasi pada suhu 65°C selama 30 menit. Susu hasil pasteurisasi kemudian ditambahkan gula cair dan *starter* yoghurt yang mengandung bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*, disertai dengan pengadukan selama 15 menit. Setelah tercampur secara homogen susu sapi dilakukan proses inkubasi selama 12 jam untuk memberikan kondisi optimal pada bakteri dalam melakukan fermentasi. Yoghurt susu sapi yang telah terbentuk dipisahkan ke dalam 2 botol, pada botol pertama menjadi yoghurt kontrol, dan pada botol kedua menjadi yoghurt untuk fortifikasi.

Yoghurt pada botol kedua dipisahkan kembali ke dalam 4 botol, dengan masing – masing botol berisi 150 ml yoghurt yang ditambahkan dengan MFDS dalam berbagai rasio penambahan. Rasio penambahan MFDS sebagai berikut:

Tabel 3.1 Formulasi Komposisi Yoghurt dengan Ekstrak MFDS

Y0	Y1	Y2	Y3
Yoghurt : MFDS	Yoghurt : MFDS	Yoghurt : MFDS	Yoghurt : MFDS
100 : 0	97 : 3	95 : 5	93 : 7

Yoghurt yang telah ditambahkan serbuk MFDS selanjutnya akan dianalisis berdasarkan total padatan, pH, antioksidan, dan organoleptik.

3.5.4 Analisis Karbohidrat

Analisis karbohidrat dilakukan dengan metode *luff schoorl*, sebanyak 20 ml sampel di pipet ke dalam labu erlenmeyer, kemudian di tambahkan aquades sebanyak 20 ml, selanjutnya dipanaskan dengan set alat refluks selama 10 menit. Larutan kemudian dilakukan pendinginan dengan menggunakan *water bath*, larutan yang telah dingin, ditambahkan kalium iodida 20% sebanyak 15 ml dan H₂SO₄ 15% sebanyak 15 ml, kemudian di titrasi dengan menggunakan natrium tiosulfat, hingga terjadi perubahan warna menjadi kuning jerami. Tahap selanjutnya, sampel ditambahkan indikator amilum 1% sebanyak 3 tetes, kemudian di titrasi kembali hingga terjadi perubahan warna menjadi putih susu.

3.5.5 Analisis Total Padatan

Analisis total padatan dilakukan pada yoghurt kontrol dan yoghurt terfortifikasi dengan tujuan untuk mengetahui perbandingan di antara kedua sampel tersebut. Dalam mengetahui total padatannya, analisis dilakukan dengan menggunakan cawan krus, sampel ditimbang sebanyak 10 gram ke dalam cawan krus yang telah diketahui beratnya, kemudian sampel di dalam cawan krus dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 3 jam. Sampel yang telah kering, selanjutnya disimpan dalam desikator dengan tujuan menurunkan suhu pada sampel, kemudian dilakukan penimbangan untuk mengetahui berat sampel dalam cawan krus setelah proses pengeringan. Perhitungan jumlah padatan yang tersisa sebagai berikut:

$$\text{Total padatan} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan:

W_0 : bobot cawan krus kosong

W_1 : bobot sampel sebelum proses pengeringan

W_2 : bobot cawan krus dan sampel hasil pengeringan

3.5.6 Analisis pH

Pengukuran derajat keasaman atau *potensial of hydrogen* (pH) dilakukan menggunakan pH meter digital yang telah dilakukan kalibrasi terlebih dahulu oleh *buffer* pH 4,00; pH 6,80; dan pH 9,18. Selanjutnya sampel yoghurt dengan berbagai konsentrasi pembahan MFDS disiapkan dalam gelas kimia 10 ml. Pengukuran derajat keasaman dilakukan dengan menyelupkan elektroda pada sampel dalam beberapa saat sampai pH meter memunculkan nilai pH yang stabil. Proses pembersihan pH meter dilakukan menggunakan aquades pada saat pergantian sampel yang diuji.

3.5.7 Analisis Antioksidan

Pengujian antioksidan terhadap yoghurt kontrol dan yoghurt terfortifikasi dilakukan dengan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Sebanyak 0,0039 gram DPPH dilarutkan dalam metanol yang bertujuan untuk membuat larutan DPPH. Dalam pengujian DPPH, blanko yang digunakan adalah metanol, sedangkan larutan kontrol yang digunakan adalah larutan DPPH. Sampel yoghurt kontrol dan yoghurt terfortifikasi dengan berbagai variasi, masing – masing diambil sebanyak 3 ml, ditambahkan 2 ml DPPH, dan ditanda batas kan dengan menggunakan metanol dalam labu ukur 10 ml. Sampel selanjutnya diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit, absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm (Abduh *et al.*, 2023). Perhitungan aktivitas antioksidan sampel sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%$$

Keterangan:

A_c : absorbansi larutan kontrol

A_s : absorbansi larutan sampel

3.5.8 Analisis Sensori

Pengujian sensori dilakukan dengan metode uji hedonik, yang meliputi pengujian terhadap rasa, warna, aroma dan tekstur sebagai keberterimaan produk. Pengujian ini melibatkan 25 panelis tidak terlatih. Panelis akan menguji tingkat kesukaan yoghurt terfortifikasi biji durian dalam berbagai variasi. Penilaian dilakukan berdasarkan tingkat kesukaan panelis dengan skala 1 – 5 (tidak suka – sangat suka).