

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Juli sampai dengan bulan Oktober 2015 di Laboratorium Kimia Riset Makanan dan Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan yaitu panci, blender, termometer 100⁰ C, saringan, kain kasa, kain bersih, gelas kimia, gelas ukur, *heater*, oven, neraca analitik, labu Erlenmayer, statip, klemp, labu ukur, pipet ukur, ball pipet, botol vial, aluminium foil, pH meter Mettler Toledo dan spektrofotometer UV-Vis Mini Shimadzu 1240.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu buah naga merah, air, NaOH, HCl pekat, metanol, DPPH, susu sapi murni, dan starter yoghurt mengandung bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus bulgaricus*.

3.3 Tahapan Penelitian

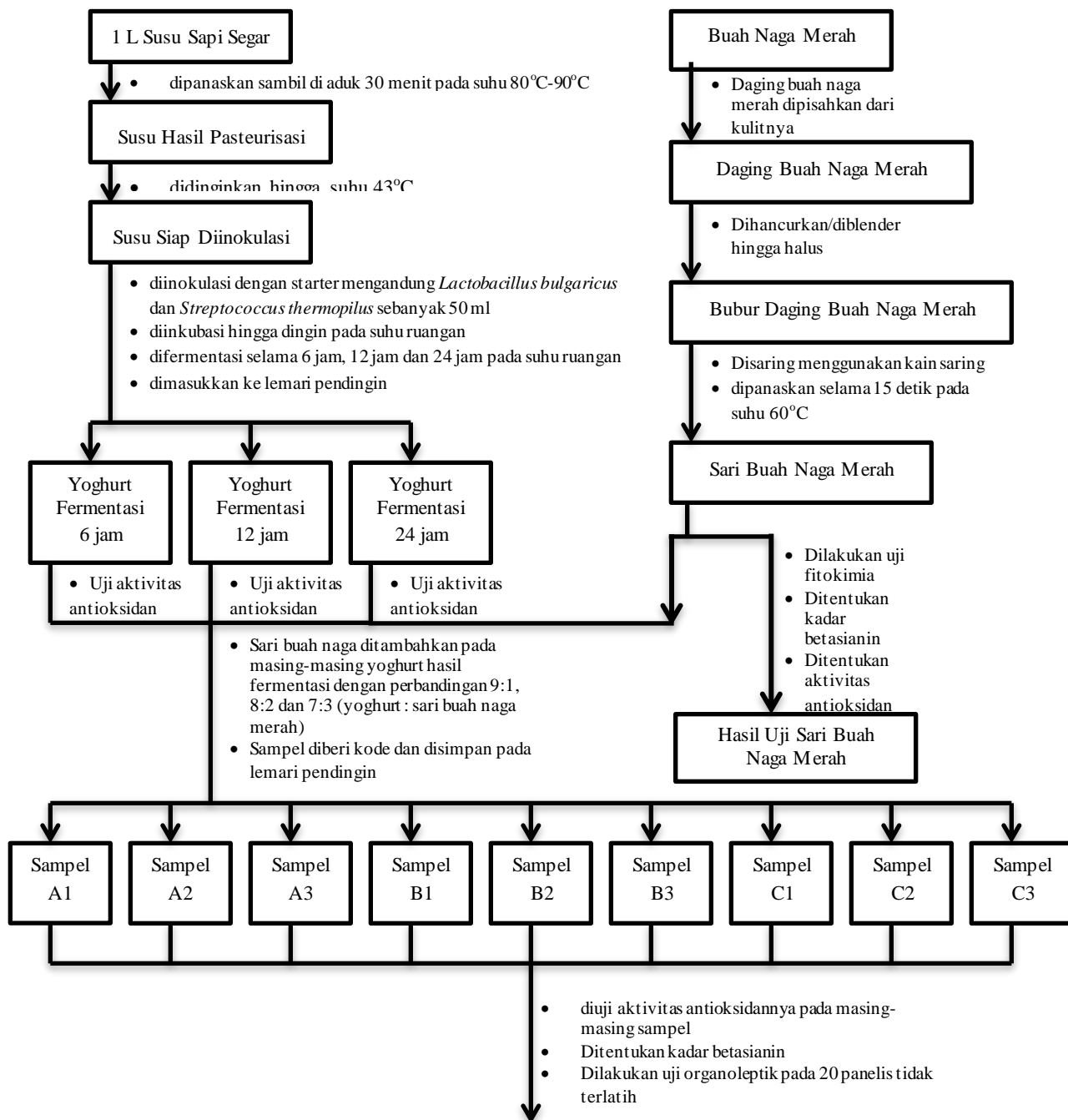
Tahapan penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Tahap determinasi tumbuhan buah naga merah.
2. Tahap penyiapan daging buah naga.
3. Tahap pembuatan sari buah naga merah.
4. Tahap analisis betasianin sari buah naga merah.

5. Tahap uji aktivitas antioksidan sari buah naga merah dengan metode DPPH.
6. Tahap pembuatan yoghurt dengan waktu fermentasi berbeda-beda.
7. Tahap uji aktivitas antioksidan yoghurt dengan variasi waktu fermentasi.
8. Tahap fortifikasi sari buah naga merah ke dalam yoghurt dengan waktu fermentasi berbeda-beda menggunakan berbagai perbandingan antara yoghurt dan sari buah naga merah.
9. Tahap uji pigmen betasianin yang terkandung dalam masing-masing yoghurt terfortifikasi sari buah naga merah.
10. Tahap uji aktivitas antioksidan masing-masing yoghurt terfortifikasi buah naga merah.
11. Tahap uji organoleptik masing-masing produk yoghurt terfortifikasi sari buah naga merah.

3.4. Bagan Alir Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan meliputi sebelas tahapan. Bagan alir penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1 berikut ini :



Data Hasil Uji Organolektik

Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan buah naga merah yang akan diteliti, dideterminasi di Laboratorium Struktur Tumbuhan Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI untuk mengetahui spesies dan *family* tumbuhan yang diteliti.

3.5.2 Pembuatan Sari Buah Naga Merah

Buah naga merah dipisahkan terlebih dahulu dari kulitnya, kemudian dipotong kecil-kecil dan diblender. Sari buah naga merah disaring dengan kain. Kemudian dilakukan pasteurisasi sari buah naga merah untuk menghilangkan bakteri patogen dengan suhu 60°C selama 15 detik.

3.5.3 Analisis Betasianin dan Aktivitas Antioksidan Sari Buah Naga Merah

3.5.3.1 Uji Kualitatif Betasianin

Uji kualitatif betasianin dilakukan dengan menambahkan larutan pereaksi ke dalam sari buah naga merah seperti pada tabel 3.1 berikut ini:

Tabel 3.1 Uji Betasianin

No	Perlakuan	Betasianin
1.	Tambahkan HCl 2M dan lakukan pemanasan selama ± 5 menit pada suhu 100°C	Warna merah pudar
2.	Tambahkan NaOH 2M tetes demi tetes	Warna merah berubah menjadi kuning

Sumber : (Harborne, 1996)

3.5.3.2 Uji Kuantitatif Betasianin

Aulia Pradita Effendy, 2015

Pengaruh Waktu Fermentasi Yoghurt Dan Penambahan Sari Buah Naga Merah Terhadap Aktivitas Antioksidan Yoghurt Terfortifikasi Sari Buah Naga Merah

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

Penentuan kandungan betasianin dilakukan dengan sedikit modifikasi (Lim dkk, 2012). Betacyanin diekstraksi menggunakan metanol. 1 g sari buah naga dan 1 g yoghurt terfortifikasi sari buah naga merah dicampur dengan 10 ml air suling kemudian dikocok dan disentrifugasi pada 3500 rpm selama 10 menit pada 24 °C. Hasil sentrifugasi kemudian disaring dan hasilnya disimpan dalam tabung reaksi yang dibungkus dengan aluminium foil untuk mencegah penetrasi cahaya dan disimpan untuk analisa lebih lanjut. Konsentrasi betasianin ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer dan penyerapan spektrum betacyanin ditentukan pada panjang gelombang 538 nm. Kandungan betasianin dihitung dengan menggunakan rumus di bawah ini:

$$\text{Kandungan Betasianin} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g sampel}} \right) = \frac{A \times DF \times MW \times V \times 100}{\varepsilon \times L \times W}$$

Keterangan :

A = Absorbansi pada panjang gelombang 538 nm

DF = Faktor pengenceran

MW = Berat molekul betasianin (550 g/mol)

V = Volume ekstrak

W = Berat sampel (g)

L = Lebar kuvet (cm)

ε = Absorptivitas molar (6.5×10^4 L/mol.cm)

3.5.3.3 Uji Aktivitas Antioksidan Sari Buah Naga Merah

Penentuan persentase aktivitas antioksidan (%AA) dilakukan dengan metode Brand-Williams dkk (1995). Hal pertama yang dilakukan adalah membuat larutan DPPH dengan cara melarutkan 4,9 mg DPPH dalam 25mL metanol. Selanjutnya untuk mengetahui persentase aktivitas antioksidan dalam suatu sampel, dibutuhkan beberapa larutan. Larutan yang pertama adalah larutan sampel tanpa tambahan DPPH yang merupakan campuran 0,5 mL larutan sampel yoghurt dengan berbagai perlakuan yang akan diuji, 3 mL pelarut metanol, dan 0,3 mL pelarut sampel (metanol atau air). Larutan kedua adalah larutan kontrol yang

merupakan campuran dari 0,3 mL DPPH dengan konsentrasi 0,5 mM, 3 mL pelarut metanol dan 0,5 mL pelarut sampel (metanol atau air). Larutan yang ketiga adalah larutan sampel yang merupakan campuran dari 0,5 mL sampel, 0,3 mL larutan DPPH 0,5 mM dan 3 mL metanol. Ketiga larutan tersebut diinkubasi dalam ruang gelap selama 60 menit, selanjutnya ketiga larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Penentuan persentase aktivitas antioksidan (%AA) ditentukan dengan rumus berikut :

$$\%AA = 100 - \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi sampel.TD}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

3.5.4 Pembuatan Yoghurt

Sebanyak 1 L susu sapi dipasteurisasi dengan dipanaskan pada suhu antara 80°C dan 90°C selama 30 menit. Kemudian didinginkan sampai 43°C, kemudian diinokulasikan (ditambahkan) starter campuran dengan perbandingan yang sama antara *L. bulgaricus* dengan *S. thermophilus*, sebanyak 50 mL. Lalu diinkubasi hingga dingin pada suhu ruangan selanjutnya difermetasi pada suhu ruang selama 6 jam, 12 jam, 24 jam kemudian hasilnya berupa yoghurt dimasukkan ke dalam lemari pendingin.

3.5.5 Fortifikasi Sari Buah Naga Merah ke dalam Yoghurt

Sari buah naga merah difortifikasi ke dalam masing-masing yoghurt dengan perbandingan antara yoghurt dan sari buah naga 9:1, 8:2 dan 7:3. Campuran selanjutnya diaduk hingga merata dan disimpan dalam lemari pendingin sampai akan digunakan.

3.5.6 Uji Aktivitas Antioksidan Yoghurt Sebelum dan Sesudah Terfortifikasi

Penentuan persentase aktivitas antioksidan (%AA) dilakukan dengan metode Brand-Williams dkk (1995). Hal pertama yang dilakukan adalah membuat larutan DPPH dengan cara melarutkan 4,9 mg DPPH dalam 25mL metanol. Selanjutnya untuk mengetahui persentase aktivitas antioksidan dalam suatu sampel, dibutuhkan beberapa larutan. Larutan yang pertama adalah larutan sampel

tanpa tambahan DPPH yang merupakan campuran 0,5 mL larutan sampel yoghurt dengan berbagai perlakuan yang akan diuji, 3 mL pelarut metanol, dan 0,3 mL pelarut sampel (metanol atau air). Larutan kedua adalah larutan kontrol yang merupakan campuran dari 0,3 mL DPPH dengan konsentrasi 0,5 mM, 3 mL pelarut metanol dan 0,5 mL pelarut sampel (metanol atau air). Larutan yang ketiga adalah larutan sampel yang merupakan campuran dari 0,5 mL sampel, 0,3 mL larutan DPPH 0,5 mM dan 3 mL metanol. Ketiga larutan tersebut diinkubasi dalam ruang gelap selama 60 menit, selanjutnya ketiga larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Penentuan persentase aktivitas antioksidan (%AA) ditentukan dengan rumus berikut :

$$\%AA = 100 - \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi sampel.TD}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

3.5.7 Uji Kadar Betasianin Yoghurt Terfortifikasi Sari Buah Naga Merah

Penentuan kandungan betasianin dilakukan dengan sedikit modifikasi (Lim dkk, 2012). Betacyanin diekstraksi menggunakan metanol. 1 g sari buah naga dan 1 g yoghurt terfortifikasi sari buah naga merah dicampur dengan 10 ml air suling kemudian dikocok dan disentrifugasi pada 3500 rpm selama 10 menit pada 24 °C. Hasil sentrifugasi kemudian disaring dan hasilnya disimpan dalam tabung reaksi yang dibungkus dengan aluminium foil untuk mencegah penetrasi cahaya dan disimpan untuk analisa lebih lanjut. Konsentrasi betasianin ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer dan penyerapan spektrum betacyanin ditentukan pada panjang gelombang 538 nm. Kandungan betasianin dihitung dengan menggunakan rumus di bawah ini:

$$\text{Kandungan Betasianin} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g sampel}} \right) = \frac{A \times DF \times MW \times V \times 100}{\epsilon \times L \times W}$$

Keterangan :

A = Absorbansi pada panjang gelombang 538 nm

DF = Faktor pengenceran

MW = Berat molekul betasianin (550 g/mol)

V = Volume ekstrak

Aulia Pradita Effendy, 2015

Pengaruh Waktu Fermentasi Yoghurt Dan Penambahan Sari Buah Naga Merah Terhadap Aktivitas Antioksidan Yoghurt Terfortifikasi Sari Buah Naga Merah

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

- W = Berat sampel (g)
L = Lebar kuvet (cm)
 ϵ = Absorptivitas molar (6.5×10^4 L/mol.cm)

3.5.8 Uji Organoleptik Yoghurt Terfortifikasi Sari Buah Naga Merah

Seluruh sampel yoghurt yang telah difortifikasi sari buah naga merah disajikan dalam wadah yang diberi label A1 (yoghurt hasil fermentasi 6 jam dengan perbandingan 9:1), A2 (yoghurt hasil fermentasi 6 jam dengan perbandingan 8:2), A3 (yoghurt hasil fermentasi 6 jam dengan perbandingan 7:3), B1 (yoghurt hasil fermentasi 12 jam dengan perbandingan 9:1), B2 (yoghurt hasil fermentasi 12 jam dengan perbandingan 8:2), B3 (yoghurt hasil fermentasi 12 jam dengan perbandingan 7:3), C1 (yoghurt hasil fermentasi 24 jam dengan perbandingan 9:1), C2 (yoghurt hasil fermentasi 24 jam dengan perbandingan 8:2) dan C3 (yoghurt hasil fermentasi 24 jam dengan perbandingan 7:3).

Analisis organoleptik yang dilakukan berupa aroma, warna, rasa dan tekstur (skala 1-tidak suka, 2-suka dan 3-sangat suka).