BAB III METODE PENELITIAN

Bab ini menyajikan uraian mengenai hal-hal yang berkaitan dengan metode penelitian. Metode penelitian ini meliputi waktu dan lokasi penelitian, alat dan bahan, bagan alir penelitian, tahap penelitian, dan prosedur penelitian.

3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Februari sampai dengan bulan Juli 2018 di Laboratorium Kimia Instrumen dan Laboratorium Kimia Riset Makanan 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 dalam penelitian ini meliputi panci, blender, saringan, termometer 100°C, neraca analitik, gelas kimia, corong Buchner, labu Erlenmeyer, gelas ukur, *hot plate*, *rotary evaporator*, tabung reaksi, pipet tetes, inkubator, labu takar, spektrofotometer serapan atom, oven, pH meter, spektrofotometer UV-Vis.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu daun kelor, susu sapi, starter yoghurt mengandung bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophillus*, gula, aqua demineralisasi, kertas saring, *milipore filter*, FeCl₃, HNO₃ 65%, kasein, NaOH, reagen Biuret.

3.3. Bagan Alir Penelitian determinasi Daun kelor Susu murni Disortasi Dipanaskan sambil • Ditimbang diaduk perlahan selama Data • Dikeringkan 30 menit pada suhu 85°C klasifikasi 1-2 minggu Didinginkan hingga suhu Dihaluskan 44°C Diayak Susu terpasteurisasi Ditimbang Diinokulasi dengan starter Serbuk daun kelor mengandung bakteri Lactobacillus bulgaricus • Dimaserasi dengan air dan Streptococcus selama 3 x 24 jam thermophillus sebanyak Disaring 5% (v/v) • Dilakukan evaporasi • Diinkubasi pada suhu hingga terbentuk 44°C selama 4 jam ekstrak kental • Ditambahkan larutan gula Disimpan pada suhu sebanyak 15% (v/v) 4°C Dimasukkan ke lemari uji Ekstrak daun kelor pendingin hingga siap digunakan Data metabolit sekunder Yoghurt Ekstrak daun kelor ditambahkan ke dalam yoghurt dengan variasi konsentrasi 3%, 5%, dan 7% Campuran diaduk hingga merata Produk yoghurt disimpan pada lemari pendingin hingga siap digunakan Yoghurt terfortifikasi ekstrak daun kelor analisis total padatan kandungan kandungan hedonik dan nilai pH kalium protein Jumlah total Tingkat Kandungan Kandungan padatan dan nilai kalium pada protein kesukaan voghurt pH yoghurt produk yoghurt G FORTIFIKASI YOGHURT DENGAN EKSTRAK DAUN KELOR (Moringa

oleifera) SEBAGAI SUMBER KALIUM Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Gambar 3.1. Bagan alir penelitian

3.4. Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang akan dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1. Preparasi daun kelor
- 2. Ekstraksi daun kelor
- 3. Uji fitokimia
- 4. Produksi yoghurt
- 5. Fortifikasi yoghurt
- 6. Uji hedonik yoghurt terfortifikasi ekstrak daun kelor
- 7. Analisis total padatan dan nilai pH
- 8. Uji kandungan kalium
- 9. Uji kandungan protein

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. Preparasi Daun Kelor

Daun kelor disortasi untuk mendapatkan kualitas daun yang baik dan dipisahkan antara bagian daun dan ranting. Daun kelor basah ditimbang 1 kg. Daun kelor dikeringkan di udara terbuka, kemudian dihaluskan dan dimaserasi (Awodele, dkk. 2012).

3.5.2. Ekstraksi Daun Kelor

Serbuk daun kelor yang telah kering direndam selama 3 x 24 jam dengan aqua demineralisasi (10 g per 100 mL). Penggantian pelarut dilakukan setiap 1 x 24 jam. Maserat yang diperoleh disaring dengan corong Buchner dan diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental daun kelor. Ekstrak yang diperoleh disaring kembali menggunakan Sartorius *Filter Cellulose* dengan ukuran pori 0,2 µm untuk selanjutnya ditambahkan pada yoghurt.

3.5.3. Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada tanin dilakukan menggunakan metode menurut Sangi (2008). Uji tanin dilakukan dengan cara menambahkan beberapa tetes larutan FeCl₃ 1% pada 1 mL ekstrak

Gine Ariani, 2018 FORTIFIKASI YOGHURT DENGAN EKSTRAK DAUN KELOR (Moringa oleifera) SEBAGAI SUMBER KALIUM Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

daun kelor. Hasil positif terhadap tanin jika timbul warna hijau kebiruan.

3.5.4. Pembuatan Yoghurt

Susu murni dipanaskan pada suhu 85°C selama 30 menit sambil diaduk perlahan. Kemudian susu didinginkan sampai suhu 44°C dan ditambahkan 5% (v/v) starter yoghurt yang mengandung bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophillus*. Selanjutnya susu diinkubasi pada suhu 44°C selama 4 jam dan ditambahkan larutan gula sebanyak 15% (v/v). Yoghurt disimpan di lemari pendingin hingga siap untuk digunakan.

3.5.5. Fortifikasi Yoghurt

Ekstrak daun kelor ditambahkan ke dalam yoghurt dengan tiga variasi konsentrasi, yaitu 3% (Y1); 5% (Y2); dan 7% (Y3) (Diantoro, dkk. 2015). Campuran kemudian diaduk hingga merata dan disimpan dalam lemari es hingga siap untuk digunakan.

3.5.6. Analisis Total Padatan

Penentuan total padatan dilakukan dengan metode pengeringan (gravimetri). Prinsipnya yaitu menguapkan air yang ada pada bahan pangan dengan cara dipanaskan pada suhu 105°C. Cawan kosong dikeringkan dalam oven selama 15 menit, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang sampai diperoleh berat cawan tetap. Ditimbang sampel yang telah dihaluskan sebanyak 2 gram. Cawan berisi sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Cawan dipanaskan kembali dalam oven selama 30 menit dan didinginkan dalam desikator serta ditimbang hingga diperoleh berat konstan (AOAC, 1995).

3.5.7. Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter dengan cara dinyalakan dan distabilkan terlebih dahulu selama 15-30 menit. Kemudian distandarisasi dengan larutan buffer pH 4 dan pH 7. Elektroda dibilas dan dikeringkan lalu dicelupkan pada sampel hingga diperoleh angka yang stabil (AOAC, 1995).

Gine Ariani, 2018 FORTIFIKASI YOGHURT DENGAN EKSTRAK DAUN KELOR (Moringa oleifera) SEBAGAI SUMBER KALIUM Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.5.8. Uji Hedonik Yoghurt Terfortifikasi Ekstrak Daun Kelor

Ketiga sampel yoghurt yang terfortifikasi ekstrak daun kelor, yakni 3% (Y1), 5% (Y2), 7% (Y3), dan kontrol (Y0) disajikan dalam wadah yang telah diberi kode 4592, 8273, 1031 dan 6830 secara berturut-turut. Kemudian ketiga sampel tersebut dianalisis sifat sensorisnya oleh 35 panelis tidak terlatih. Sifat sensoris yang dianalisis yaitu rasa, aroma, tekstur, dan warna dari produk yoghurt.

3.5.9. Uji Kandungan Kalium

Sebanyak 5 g sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer. Ditambahkan 25 mL HNO₃ 65% v/v dan dibiarkan di suhu ruang selama 24 jam. Campuran dipanaskan di atas *hot plate* pada suhu sekitar 100°C selama 2 jam atau lebih hingga terbentuk larutan kuning jernih dan uap nitronya hilang. Kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan diencerkan dengan aquades hingga tanda batas. Dipipet sebanyak 5 mL larutan sampel dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan diukur menggunakan AAS pada panjang gelombang 766,5 nm (AOAC, 1995).

3.5.10. Uji Kandungan Protein

Uji kandungan protein dilakukan dengan metode Biuret. Pengujian diawali dengan mengukur absorbansi larutan deret standar hingga diketahui panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang yang diperoleh digunakan untuk mengukur absorbansi sampel. Pengujian dilakukan dengan memasukkan blanko terlebih dahulu ke dalam kuvet, kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan absorbansinya dinolkan. Selanjutnya sampel dimasukkan dan diukur absorbansinya. Kandungan protein diperoleh dengan cara mengkonversi data absorbansi ke konsentrasi melalui persamaan regresi linier kurva standar kasein.