

BAB III METODE PENELITIAN

Bab ini menyajikan uraian mengenai hal-hal yang berkaitan dengan metode penelitian. Metode penelitian ini mencakup waktu dan tempat penelitian, alat dan bahan, tahapan penelitian, bagan alir penelitian dan metode penelitian.

1.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Riset dan Laboratorium Kimia Instrumen Departemen Pendidikan Kimia Universitas Pendidikan Indonesia. Waktu Penelitian dimulai bulan Februari sampai Juni 2018.

1.2 Alat dan Bahan

1.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu alat-alat gelas, neraca analitik, blender, saringan, panci, kompor gas, *rotatory* evaporator, sentrifugasi, autoklaf, mikropipet, makropipet, kawat ose, cawan petri, lampu spirtus, inkubator, vortex, saringan *Millipore* ukuran 0,2 μm , kertas whatman no. 42, pH meter, laminar, spektronik 20.

1.2.2 Bahan

Bahan utama adalah daun kemangi dan kedelai. Bahan uji fitokimia serbuk Mg, HCl pekat, CHCl_3 , pereaksi Mayer, H_2SO_4 pekat, FeCl_3 1 %. Bahan untuk pembuatan susu kedelai yaitu biji kedelai. Bahan untuk uji aktivitas antibakteri medium *nutrient agar*, *nutrient broth*, *thiamphenicol*. Bahan untuk uji aktivitas enzim lipoksigenase asam linoleat, buffer fospat 0,1M pH 4-5, natrium tetraborat 0,1M, tween 20.

1.3 Tahapan Penelitian

1. Tahap determinasi tumbuhan kemangi.
2. Tahap pembuatan ekstrak daun kemangi.
3. Tahap uji fitokimia ekstrak daun kemangi.
4. Tahap pembuatan susu kedelai dengan penambahan ekstrak daun kemangi.
5. Tahap uji sifat kimia produk susu kedelai.
6. Tahap uji antibakteri dengan metode difusi cakram.

Desi Sriwulan, 2018

PENGARUH EKSTRAK DAUN KEMANGI TERHADAP TINGKAT KESUKAAN DAN AKTIVITAS BAKTERI *Escherichia coli* PADA SUSU KEDELAI

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

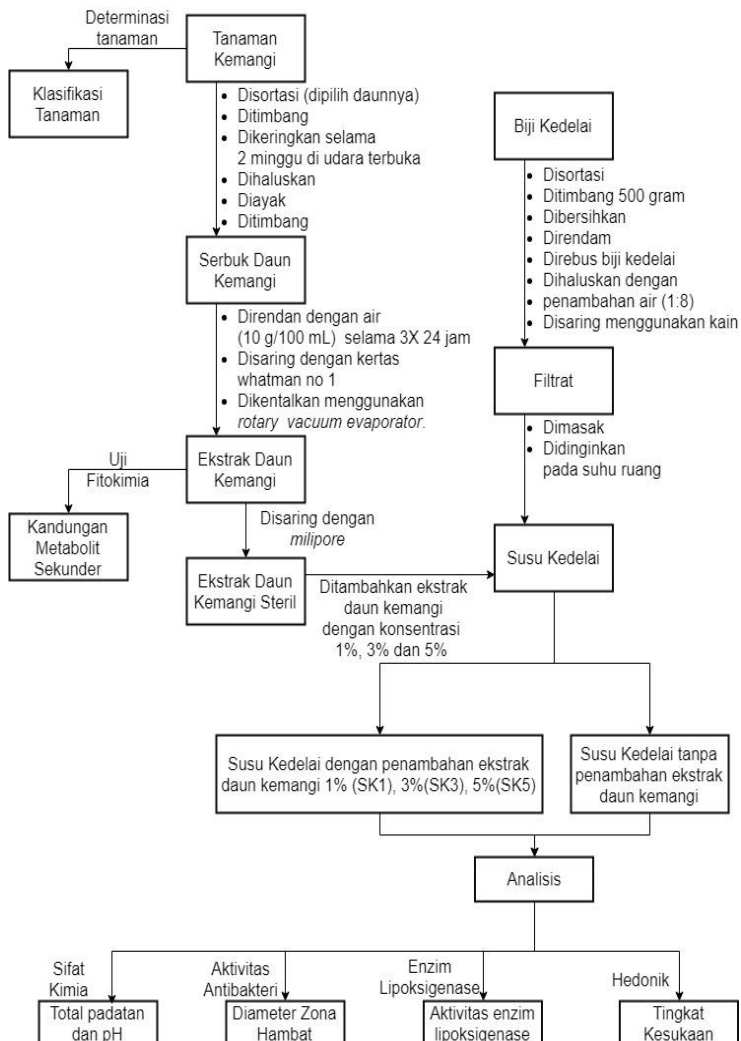
7. Tahap uji aktivitas enzim lipoksigenase.
8. Tahap uji hedonik susu kedelai dengan penambahan ekstrak daun kemangi

Desi Sriwulan, 2018

**PENGARUH EKSTRAK DAUN KEMANGI TERHADAP TINGKAT KESUKAAN DAN
AKTIVITAS BAKTERI *Escherichia coli* PADA SUSU KEDELAI**

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

1.4 Bagan Alir Penelitian



Desi Sriwulan, 2018

PENGARUH EKSTRAK DAUN KEMANGI TERHADAP TINGKAT KESUKAAN DAN AKTIVITAS BAKTERI *Escherichia coli* PADA SUSU KEDELAI

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

Gambar 3. 1 Bagan Alir Penelitian

1.5 Metode Penelitian

1.5.1 Preparasi Daun Kemangi

Daun kemangi yang digunakan pada penelitian ini adalah kemangi segar. Daun Kemangi dipisahkan dari batang dan tangkainya (yang diambil hanya daunnya). Daun kemangi dicuci lalu ditimbang 1,5 kg. Sampel dikeringkan selama 2 minggu di udara terbuka. Kemudian simplisia kering dihaluskan, diayak dan ditimbang (Setiani, 2014).

1.5.2 Ekstraksi Daun Kemangi

Serbuk daun kemangi yang telah kering direndam selama 3×24 jam dengan aquades (1:10), disaring dengan corong buchner dan vakum. Filtrat disaring kembali untuk mendapatkan hasil yang lebih murni. Filtrat dikentalkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Kemudian dilakukan sterilisasi untuk menghilangkan bakteri patogen secara mekanik (filtrasi) menggunakan saringan *millipore* dari membran berpori sangat kecil (0,2-0,45µm), corong buchner dan vakum. Ekstrak disimpan dilemari pendingin sampai digunakan.

1.5.3 Uji Fitokimia Ekstrak Daun Kemangi

1.5.3.1 Uji Flavonoid

1 mL ekstrak ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat menghasilkan warna jingga-merah menunjukkan adanya flavonoid.

1.5.3.2 Uji Alkaloid

1 mL ekstrak ditambahkan 15 mL CHCl_3 dan beberapa tetes pereaksi Mayer. Terbentuk endapan putih menunjukkan adanya alkaloid.

1.5.3.3 Uji Saponin

1 mL ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air panas lalu dikocok atau menggunakan vortex selama 10 detik. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil.

Desi Sriwulan, 2018

PENGARUH EKSTRAK DAUN KEMANGI TERHADAP TINGKAT KESUKAAN DAN AKTIVITAS BAKTERI *Escherichia coli* PADA SUSU KEDELAI

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

1.5.3.4 Uji Terpenoid

1 mL ekstrak ditambahkan 1 mL CH_3COOH glasial dan 1 mL H_2SO_4 pekat. Terbentuk warna merah menunjukkan terpenoid.

1.5.3.5 Uji Tanin

1 mL ekstrak ditambahkan larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan oleh warna hijau kehitaman (Roopalatha & Mala Nair, 2013).

1.5.4 Pembuatan Susu Kedelai dengan Penambahan Ekstrak Daun Kemangi

Tahap pertama adalah sortasi dari kacang kedelai. Kacang kedelai ditimbang sebanyak 500 gram kemudian dibersihkan, setelah itu direndam selama semalam dengan perbandingan air : kedelai adalah 1:3. Biji kedelai yang telah direndam dilakukan pencucian dan pengupasan kulit. Setelah itu, dilakukan perebusan biji kedelai untuk melunakkan biji dan melemahkan kegiatan enzim lipoksigenase. Lama perebusan sekitar 30 menit. Tahap selanjutnya adalah proses penggilingan biji kedelai dengan perbandingan kedelai:air = 1:8. Kemudian disaring menggunakan kain untuk mendapatkan susu kedelai. Susu kedelai dipasteurisasi selama 30 menit pada suhu 70-90°C. Susu kedelai dibagi menjadi empat bagian, satu tidak ditambahkan ekstrak sebagai kontrol (SK0) dan sisanya masing-masing ditambahkan ekstrak daun kemangi dengan perbandingan konsentrasi 1% (SK1) , 3 % (SK3), dan 5% (SK5).

1.5.5 Uji pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter yang telah dikalibrasi menggunakan larutan buffer pH 4 dan 7. Elektroda dibilas dan dikeringkan dengan kertas kemudin dicelupkan ke dalam 10 mL sampel. pH meter dibiarkan hingga menunjukkan angka yang stabil (SNI, 1995).

1.5.6 Uji Total Padatan

Pengukuran total padatan digunakan metode oven. Susu kedelai sebanyak 3 gram di oven selama 3-4 jam pada suhu 100-105°C. Ditimbang, lalu di oven kembali dan ditimbang hingga konstan. Bobot dianggap konstan apabila selisih penimbangan tidak melebihi 0,0002 gram (SNI, 1995).

1.5.7 Inokulasi Bakteri *E.coli*

Kultur bakteri *E. coli* diambil sebanyak satu ose dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 100 ml media *Nutrient Broth*, kemudian diinkubasi pada suhu 40 °C selama 8 jam di dalam *water bath shaker*.

1.5.8 Uji Aktivitas Antibakteri Susu Kedelai dengan Penambahan Ekstrak Daun Kemangi Terhadap *E. coli*

Cawan petri yang telah disterilisasi dan diberi tanda, diisi dengan 9 mL medium *Nutrient Agar* (NA) kemudian dimasukkan 1 ml inokulum lalu dihomogenkan hingga merata dengan cara diputar di atas meja dan dibiarkan hingga memadat. Simpan masing-masing cakram kertas yang telah direndam dalam susu kedelai yang diproduksi pada cawan petri sesuai dengan tanda konsentrasi, dilakukan sebanyak 2 kali replikasi (Ranjan, Bajaj, Sekhawat, & Singh, 2013). Sebagai kontrol positif digunakan *thiamphenicol* 500 ppm dan kontrol negatif air. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona bening di sekitar cakram kertas diamati dan diukur dengan menggunakan penggaris (Anggraeni, 2010).

3.5.9 Uji Aktivitas Enzim Lipoksigenase

Substrat yang terdiri asam linoleat sebanyak 10µl ditambahkan dengan 25 mL natrium tetraborat yang mengandung 0,1 % Tween 20 yang telah disonikasi. Substrat diambil 0,1 mL lalu dikocok dengan 2,9 mL *buffer phosphate* 0,1 M pH 4-5. Susu kedelai sebanyak 10 mL disentrifugasi pada 2500 rpm selama 15 menit. Filtrat digunakan untuk diuji. Filtrat diambil 0,1 mL dicampurkan dengan campuran substrat dan buffer fosfat. Diuji

menggunakan spektronik dengan panjang gelombang 234 nm. Dicatat absobansinya setiap 30 detik (Olaiya, 2010).

3.5.10 Uji Hedonik

Uji hedonik digunakan untuk menentukan produk susu kedelai mana yang paling disukai konsumen. Jumlah panelis pada uji hedonik ini sebanyak 35 orang panelis. Metode pengukuran respon panelis yang digunakan yaitu penskalaan (*scaling*) . Panelis diminta untuk menilai dengan menggunakan skala angka yaitu 1-3 (tidak suka = 1; 2= kurang suka; 3= suka). Sampel diletakkan dalam wadah bersih yang telah diberi kode mewakili jenis produk yang digunakan. Panelis diminta untuk menilai masing-masing sampel pada lembaran kuesioner yang telah disediakan. Para panelis harus memilih skala yang sesuai dengan apa yang telah dirasakan, dilihat dan dicium terhadap sampel yang diuji (Apandi, Restuhadi, & Yusmarini, 2016). Data yang diperoleh kemudian diolah menggunakan aplikasi *IBM SPSS 24*.