

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli – Desember 2015 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian dan Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro, Semarang.

#### **3.1 Materi**

Bahan yang digunakan dalam pembuatan yogurt bubuk adalah susu segar di dapatkan dari Fakultas Peternakan dan Pertanian Universitas Diponegoro, karagenan di dapatkan dari Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro, starter bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* di dapatkan dari Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan Universitas Diponegoro, dan buah nangka di dapatkan dari Pasar Bandungan Semarang. Susu dan nangka didapatkan dalam kondisi segar. Alat yang digunakan meliputi inkubator, refrigerator, gelas beker, aluminium foil, stirrer, tabung reaksi, refractometer *hand-held*, spektrofotometer (Shimadzu, Japan), *juicer*, alat penepung berkecepatan 25.000 rpm dan pengering kabinet.

#### **3.2 Metode**

Prosedur yang dilakukan dalam penelitian terdiri dari pembuatan ekstrak buah nangka, persiapan starter bakteri, pembuatan yogurt drink, proses pengeringan, penepungan, rehidrasi dan pengukuran variabel.

### 3.2.1 Pembuatan Ekstrak Buah Nangka

Ekstrak buah nangka dibuat dengan cara buah nangka dipisahkan dari biji, dipotong kecil-kecil berukuran 1x1 cm. Pembuatan ekstrak buah nangka menggunakan perbandingan 1:1 menggunakan air kemudian dimasukkan ke dalam *juicer*. Cairan atau sari dari daging nangka yang dihasilkan dari *juicer* dinamakan ekstrak buah nangka. Setelah itu, ekstrak buah nangka dimasukkan ke dalam tube, dimasukkan ke dalam yogurt yang telah dibuat sebanyak 5% (v/v). Penambahan ekstrak buah nangka dilakukan pada jam ke-tiga saat yogurt diinkubasi.

### 3.2.2 Pembuatan Yoghurt

Starter pembuatan yogurt menggunakan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dalam bentuk bubuk. Pembuatan yogurt dilakukan dengan menyiapkan susu segar, susu dipasteurisasi dengan suhu 72°C selama 15 menit untuk membunuh bakteri pembusuk sehingga tidak mengganggu perkembangan starter yogurt. Setelah susu dipasteurisasi kemudian dilakukan penambahan 5% (b/v) starter bakteri. Kemudian yogurt diinkubasi pada suhu 42°C selama 6 jam, pada jam ke-tiga dilakukan penambahan 5% (v/v) ekstrak buah nangka. Setelah itu proses inkubasi selesai, dilakukan penambahan karagenan sebanyak 1, 2, dan 3% (Ranadheera *et al.*, 2012).

### 3.2.3 Pengeringan Yogurt

Yogurt drink yang telah ditambahkan ekstrak buah nangka dan karagenan kemudian dilakukan proses pengeringan menggunakan alat pengering kabinet yang telah dikontrol suhunya. Pengeringan yogurt dilakukan pada tempat penampang yang memiliki luas 28x30 cm sehingga dapat mempersingkat waktu

pengeringan. Pengeringan yogurt dilakukan pada suhu 50°C selama 24 jam, setelah yogurt kering dilakukan penepungan dengan miller. Yogurt bubuk yang telah memiliki tekstur halus kemudian disimpan menggunakan alat vakum untuk meminimalisir kerusakan. Pengujian yogurt bubuk dilakukan dengan merehidrasi terlebih dahulu menggunakan aquades. Rehidrasi yogurt bubuk dilakukan dengan 10 g yogurt bubuk ditambahkan 90 ml aquades sehingga mendapatkan 100 ml rehidrasi yogurt. Yogurt yang telah direhidrasi dilakukan pengujian variabel yaitu aktivitas antioksidan, kadar protein, kadar gula dan kestabilan emulsi. Diagram alir proses pembuatan yogurt bubuk terdapat pada Lampiran 1.

#### **3.2.4 Uji Aktivitas Antioksidan**

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2, 2-*diphenyl-1-picrylhydrazil*) yang merupakan senyawa radikal yang stabil, memberikan warna ungu pada larutan methanol dan etanol. Metode pengujian ini adalah sesuai dengan yang dilakukan oleh Sun *et al.* (2006). Cara pengujiannya yaitu dengan menambahkan yogurt bubuk sebanyak 0,5 ml kedalam 2 ml DPPH dengan konsentrasi 0,125 mmol yang dilarutkan dengan methanol/etanol setelah tercampur kemudian didiamkan selama 30 menit pada ruang gelap atau tidak terkena paparan sinar kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  517 nm. Kontrol dibuat dengan cara yang sama menggunakan aquades. Persentase penangkapan radikal DPPH dihitung dengan persamaan rumus:

$$\text{Aktivitas Antioksidan (\%)} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

### 3.2.5 Uji Kadar Protein

Pengujian kadar protein dilakukan dengan metode *Bradford*. Reagen *Bradford* dibuat dengan cara membuat *Coomasie Brilliant Blue (CBB) 0,2%* yaitu 10 mg CBB dilarutkan kedalam 500 ml etanol 95% kemudian ditambahkan 100ml *phosptic acid 85%* lalu dilarutkan ke dalam labu takar dengan aquades perbandingan 1 : 2 dan disaring. Preparasi sampel dilakukan menggunakan alat spektrofotometer dengan cara sampel diambil 100 ml kemudian masukan 3 ml kit *Bradford* lalu cek absorpsi 465 (Carpette, 2005) Standar kurva dibuat dengan gradual konsentrasi ovalbumin yang berkisar 0,5-4% .

### 3.2.6 Uji Kadar Gula

Pengujian kadar gula pada yogurt bubuk dilakukan sesuai metode yang digunakan sebelumnya oleh Ihsan dan Wahyudi (2010). Pengujian kadar gula dapat diukur dengan refraktometer tipe *hand-held* dan satuan yang digunakan adalah Brix. Cara penyiapan bahan dengan menimbang yogurt bubuk sebanyak 1 g, kemudian dilarutkan dengan aquades perbandingan 1 : 10 lalu sampel tersebut diaduk dengan menggunakan *stirrer* agar tercampur rata dan pengamatan sampel dilakukan sebanyak 2-3 tetes dengan menggunakan refraktometer tipe *hand-held*.

### 3.2.7 Uji Kestabilan Emulsi

Kestabilan Emulsi pada yogurt bubuk dianalisis dengan metode Hartomo dan Widiatmoko (1993). Sampel yogurt bubuk ditimbang sebanyak 10 g, lalu air hangat 37°C sebanyak 90 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk mempercepat proses pelarutan. Pengamatan fenomena pemisahan air dari emulsi dilakukan untuk

mengetahui flokulasi yang terjadi selama proses. Kestabilan emulsi dilakukan dengan menghitung jumlah flokulasi yang terjadi selama 4 jam dan air yang terpisah diukur dengan menggunakan penggaris. Pengamatan dilakukan setiap jam dan dihitung selisih tinggi dari dua fase tersebut. Kemudian dihitung dengan rumus volume tabung  $V = \pi \cdot r^2 \cdot t$  dan hasil perhitungan volume dikonversi dalam bentuk ml. Yogurt bubuk dikatakan baik apabila waktu pemisahan dan jumlah flokulasi berbanding terbalik. Hal ini disebabkan karena semakin lama waktu yang diperlukan maka jumlah flokulasi yang dihasilkan sedikit.

### 3.2.8 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Split Plot yang terdiri dari main plot, yaitu penambahan ekstrak buah nangka (A1) dan tanpa buah nangka (B1) dan sub plot yaitu penambahan (T<sub>1</sub>) karagenan 1%, (T<sub>2</sub>) karagenan 2% dan (T<sub>3</sub>) karagenan 3%. Penambahan karagenan dengan jumlah yang berbeda dilakukan ulangan sebanyak 4 kali sehingga terdapat 24 unit percobaan yang siap untuk diuji.

Model matematika rancangan percobaan yang digunakan adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \tau I + \epsilon_{ij}$$

Keterangan :

- Y<sub>ij</sub> : hasil pengamatan dari perlakuan dan ulangan ke-j
- μ : nilai tengah seluruh perlakuan
- τ<sub>I</sub> : pengaruh perlakuan ke-i
- ε<sub>ij</sub> : pengaruh galat yang timbul pada perlakuan ke-I dan ulangan ke-j
- i : perlakuan (1,2,3,4,5,6)
- j : ulangan (1,2,3,4)

### **3.2.9 Hipotesis Penelitian**

Hipotesis yang digunakan dalam pengujian kestabilan emulsi, kadar gula, uji protein, dan aktivitas antioksidan adalah sebagai berikut :

$H_0$  : tidak ada pengaruh nyata terhadap perlakuan penambahan karagenan yang berbeda pada penambahan ekstrak buah nangka dan tanpa ekstrak buah nangka.

$H_1$  : ada pengaruh nyata terhadap perlakuan penambahan karagenan yang berbeda pada penambahan ekstrak buah nangka dan tanpa ekstrak buah nangka.

### **3.2.10 Analisis Data**

Data hasil kestabilan emulsi, kadar gula, uji kadar protein, dan aktivitas antioksidan dianalisis statistik dengan Anova. Apabila hasil uji Anova signifikan, maka dilakukan uji lanjut Duncan (Gomez dan Gomez, 1995). Diuji dengan tingkat kepercayaan 5%.