

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan November 2016 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang. Pengujian yang dilakukan yaitu aktivitas antioksidan, total mikroba, pH dan uji organoleptik.

3.1. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan terdiri atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Kelompok kontrol merupakan SPK tanpa penambahan EMJ. Kelompok perlakuan merupakan SPK dengan penambahan 5% EMJ.

Perlakuan disimpan selama 6 hari, setiap 3 hari dilakukan pengujian parameter aktivitas antioksidan, total bakteri, pH, dan sifat organoleptik. Masing – masing perlakuan diulangi 3 kali pengulangan yang disimpan dalam suhu 5°C.

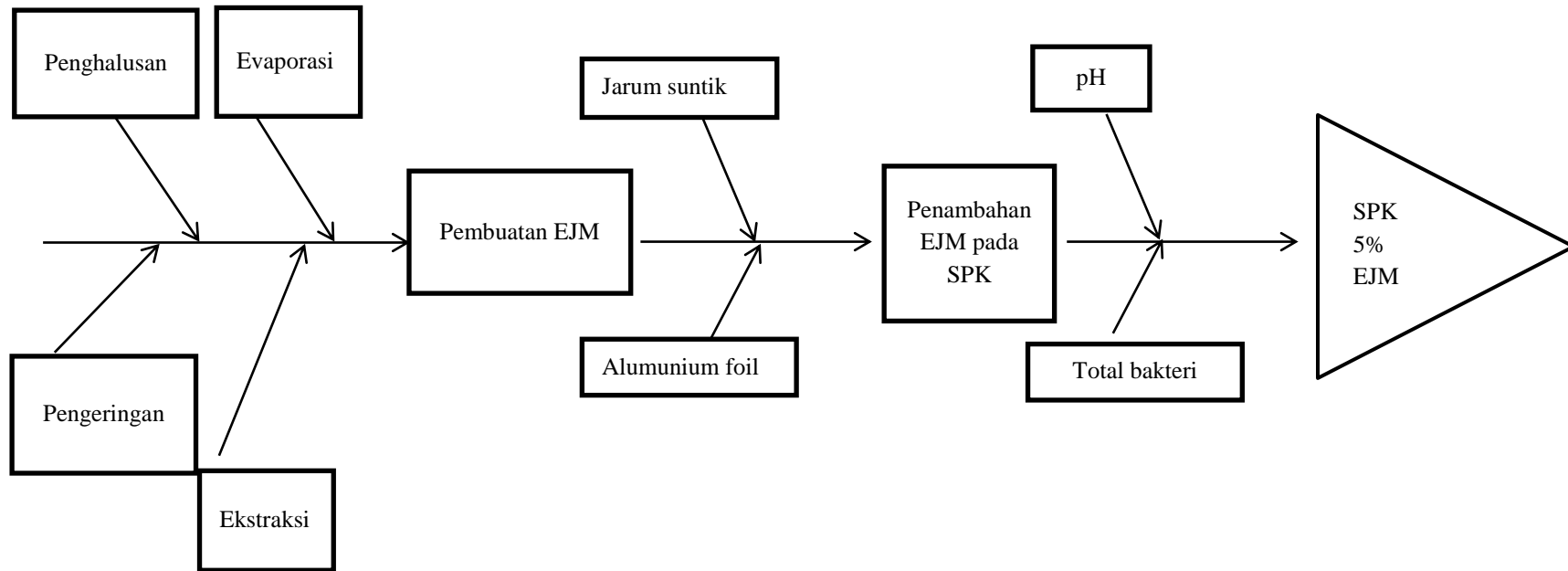
3.2. Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian meliputi daun jahe merah dari petani Gunung Kidul, air, susu pasteurisasi komersial dari PT. Citanas, NaCl fisiologis, aquades, metanol, media *Plate Count Agar* (PCA) dan diphenylpicrylhydrazyl (DPPH). Alat yang digunakan dalam penelitian meliputi blender, oven, autoclave, timbangan analitik, gelas beker, pipet tetes, gelas ukur, erlenmeyer, spektrofotometer UV-VIS, evaporator, mikropipet, tip mikropipet, saringan,

cawan petri, tabung reaksi, lemari pendingin, pH meter, vortex, alumunium foil, lakban, inkubator, sarung tangan, masker, dan jarum suntik.

3.3. Metode Penelitian

Metode penelitian meliputi proses pembuatan EJM, proses penambahan EJM pada SPK, analisa kuantitatif dan pengolahan data. Penelitian ini dimulai dengan penentuan latar belakang, menganalisis masalah hingga penyelesaian dengan pelaksanaan penelitian yang dapat dilihat pada diagram *fishbone* pada Ilustrasi 1.

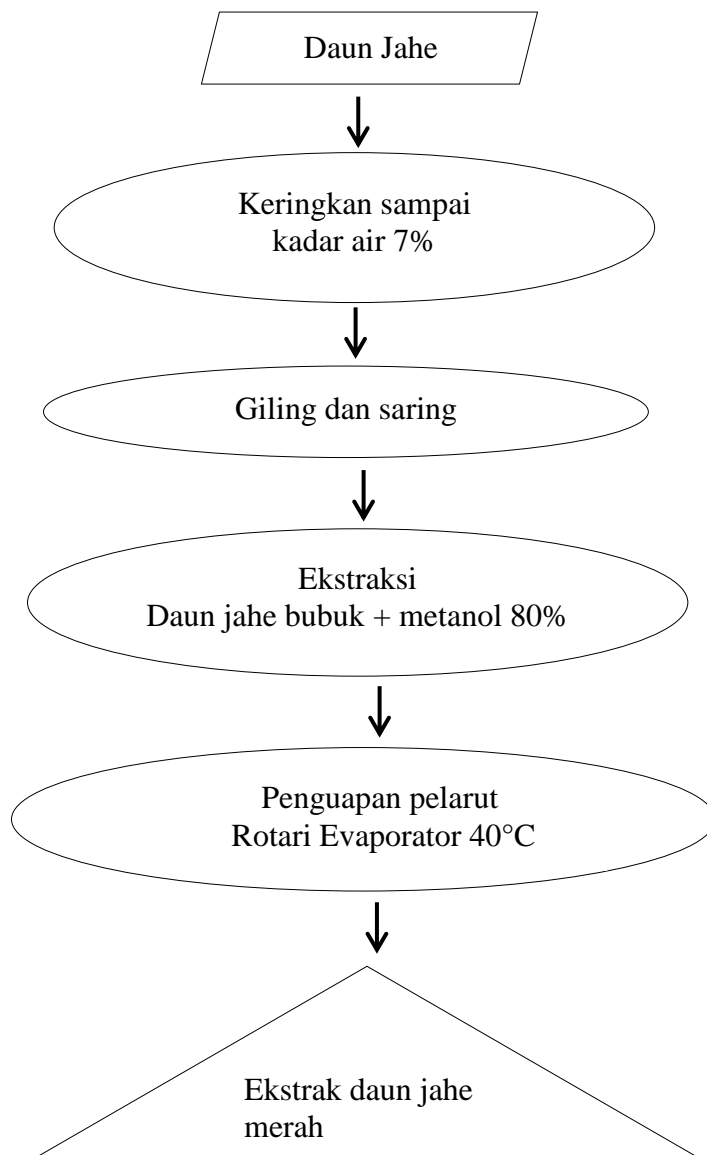


Ilustrasi 1. Digram *Fishbone* SPK dengan Penambahan EJM

3.3.1 Pembuatan EJM

Prosedur yang dilakukan dalam proses pembuatan EJM yaitu pada Ilustrasi

2.

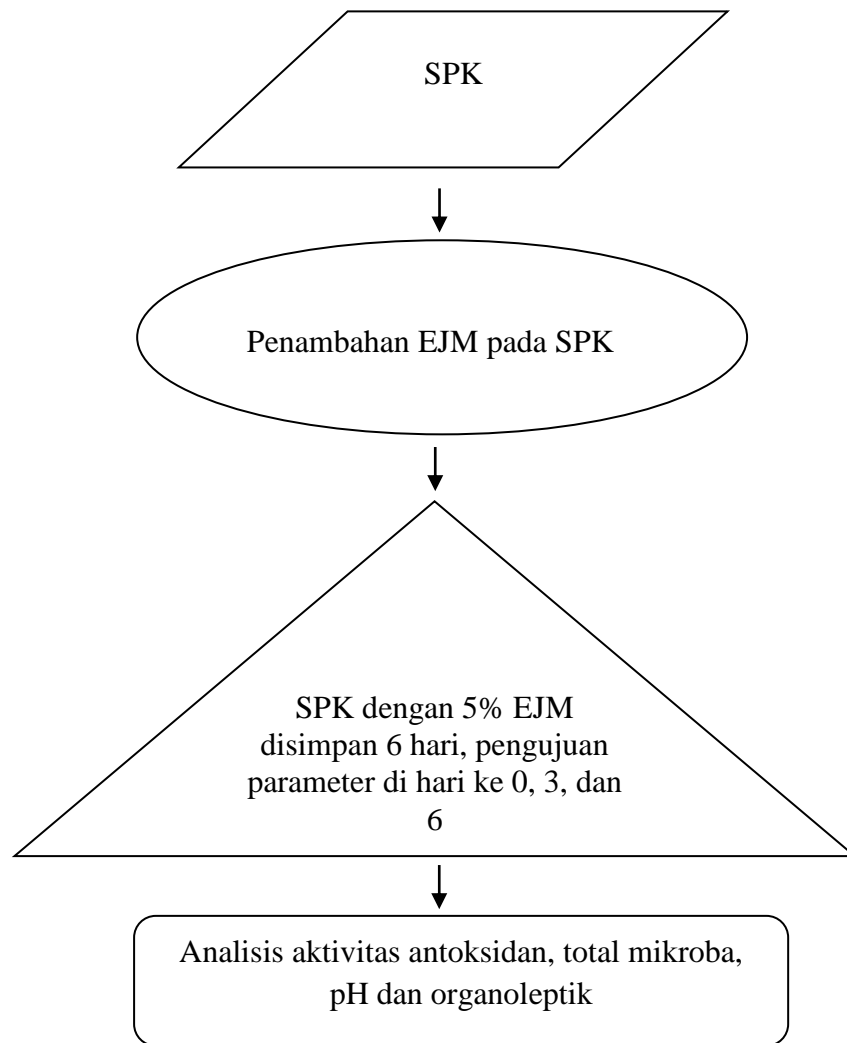


Ilustrasi 2 Diagram Alir Pembuatan EJM

EJM didapat dengan mengeringkan 20 kg daun jahe merah sampai kadar air 7%. Daun jahe merah digiling menggunakan blender sampai terbentuk bubuk. Bubuk daun jahe merah dipisahkan antara bubuk halus dan bubuk kasar menggunakan ayakan. Setiap 1 gram daun jahe dilarutkan pada 13,66 ml pelarut methanol 80% (Sivasothy *et al.*, 2011). Larutan dihomogenisasi setiap 2 jam selama 24 jam. Larutan disaring menggunakan kertas saring. Hasil ekstraksi disimpan pada suhu refrigerator. Ampas sampel daun jahe dilarutkan lagi menggunakan pelarut methanol 80%, dihomogenisasi setiap 2 jam selama 24 jam, disaring dan disimpan pada suhu refrigerator. Hasil ekstraksi dievaporasi menggunakan *Rotary Vacum Evaporator*.

3.3.2 Penambahan EJM pada SPK

Prosedur yang dilakukan dalam proses pembuatan EJM yaitu dapat dilihat pada Ilustrasi 3.



Ilustrasi 3. Diagram Alir Proses Penambahan EJM

SPK dengan penambahan EJM didapat dengan menyuntikkan EJM sebanyak 5%. Susu pasteurisasi ditutup kembali dengan aluminium foil dan penyimpanan dilakukan pada suhu 5°C selama 6 hari. Penghitungan aktivitas antioksidan, total bakteri, dan pH dilakukan dihari ke 0, 3, dan 6, sedangkan uji organoleptik dilakukan hari ke 0.

3.4. Analisis Eksperimen

Parameter yang diuji pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan, total bakteri, pH, dan sifat oragnoleptik.

3.4.1. Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dianalisis dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan cara sampel 100 μ l SPK diencerkan dengan metanol 100% untuk menghasilkan konsentrasi 1000 ppm. Sebanyak 0,15 ml sampel yang telah diencerkan ditambahkan dengan 0,9 ml metanolik DPPH 0,1 mM, sedangkan kontrol dibuat dengan mencampurkan 0,15 ml 0,1 mM larutan DPPH dengan 0,9 ml larutan metanol. Setelah dicampur di homogenkan menggunakan vortex. Larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 517 nm dan *operating time* 40 menit, kemuduan dibaca absorbansinya (Tangkanakul *et al.*, 2009).

3.4.2. Uji total mikroba

Uji total bakteri dilakukan dengan cara pengujian *Total Plate Count* (TPC) yaitu dengan membuat media PCA (*Plate Count Agar*), alat dan bahan disterilkan menggunakan oven pada suhu 105°C selama 1 jam dan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15-30 menit, 1 ml sampel susu pasteurisasi komersial diencerkan dengan 9 ml NaCl fisiologis hingga pengenceran 10^6 , tiga pengenceran terakhir (10^4 , 10^5 , dan 10^6) dimasukkan dalam cawan petri dengan cara duplo, media agar dimasukkan dalam cawan petri sampai memadat, cawan petri di inkubasi selama

24 jam pada suhu 38°C (Sasongko *et al.*, 2012). Hasil total bakteri uji TPC SPK dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3951-1995.

3.4.3. Uji pH

Pengukuran nilai pH SPK menggunakan alat pH meter. Sampel diambil sebanyak 30 ml atau sampai elektroda pH meter terendam dan sampel ditempatkan pada gelas beker ukuran 50 ml. Penggunaan pH meter yaitu, pH meter dikalibrasi menggunakan larutan buffer pH 4, 7, dan 9. Elektroda pH meter dicelupkan pada sampel sampai angka pH yang ditunjukkan pH meter stabil (Richana, 2011).

3.4.4. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan oleh 25 panelis semi terlatih, untuk mengukur daya terima atau hedonik dengan memberikan nilai skala untuk atribut rasa yaitu: 1 = tidak enak, 2 = netral, 3 = agak enak, 4 = enak, dan 5 = sangat enak; atribut warna yaitu: 1 = putih susu, 2 = cukup putih, 3 = cukup coklat, 4 = coklat, dan 5 = sangat coklat; atribut aroma yaitu: 1 = khas susu, 2 = cukup khas susu, 3 = cukup khas EJM, 4 = khas EJM, dan 5 = sangat khas EJM, nilai skala untuk *overall* kesukaan yaitu 1 = tidak suka, 2 = netral, 3 = agak suka, 4 = suka, dan 5 = sangat suka, serta membandingkannya dengan perlakuan kontrol dan EM yang telah diberi kode acak dengan cara membagikan kuisioner pada panelis semi terlatih (Andrestian dan Hatimah, 2015).

3.5. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran aktivitas antioksidan, total bakteri dan nilai pH di olah secara deskriptif. Data yang diperoleh dari hasil uji organoleptik yang meliputi warna, rasa dan aroma dianalisis menggunakan uji *Mann - Withney* dengan taraf signifikansi 5% (Purbasari *et al.*, 2014).