

## BAB III

### MATERI DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2016 – Mei 2017 di Laboratorium Kimia dan Gizi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian serta Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro; Laboratorium Kimia Pangan, UNIKA Soegijapranata dan Laboratorium Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gajah Mada.

#### 3.1. Materi

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah 20 kg daun jahe merah dari daerah Gunung Kidul, Yogyakarta; methanol 80%, aquades, 1140 gram cokelat hitam *compound* merk Collata. Bahan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metanol p.a, *1,1-difenil-2-picrilhidrazil* (DPPH), aquades, dan asam askorbat. Bahan untuk pengujian FFA adalah NaOH dan ethanol 95%.

Alat yang digunakan dalam pembuatan cokelat adalah oven, erlenmeyer, timbangan analitik, kertas saring, *rotary vacuum evaporator*, pencetak cokelat, baskom, kompor, timbangan, solet dan *refrigerator*. Alat yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan spektrofotometer (Spectroquant Pharo 300, Merck, Germany), timbangan analitik (Shimadzu ATX 224, Japan), vortex (*Thermolyne* Tipe 37680 Mixer, USA). Uji FFA menggunakan timbangan, erlenmeyer, pipet tetes, gelas ukur, sedangkan untuk tekstur menggunakan *Texture Profile Analyzer* (TPA) Brooklyn CT3.

## **3.2. Metode**

Metode penelitian diawali dengan menetapkan rancangan percobaan kemudian dilakukan tahapan penelitian seperti, proses pembuatan ekstrak daun jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum), pembuatan permen coklat ekstrak daun jahe merah, analisis kuantitatif dan kualitatif serta pengolahan data.

### **3.2.1. Rancangan Percobaan**

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimen variasi komposisi permen coklat yang berbeda, yaitu permen coklat tanpa fortifikasi ekstrak daun jahe merah (CK) sebagai kontrol dan permen coklat dengan fortifikasi ekstrak daun jahe merah (CJM) dengan level fortifikasi 1,5%. Masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan (n=3). Selanjutnya antara CK dan CJM dibandingkan sifat fisikokimia yang meliputi aktivitas antioksidan, kadar FFA dan tekstur serta sifat sensoris yang meliputi *bitterness*, *melting in hand*, warna, aroma dan *overall* kesukaan. CK dan CJM dibandingkan aktivitas antioksidan, kadar FFA dan tekstur secara deskriptif, dan diduga terdapat perbedaan sensoris antara CK dan CJM yang meliputi *bitterness*, *melting in hand*, warna, aroma dan *overall* kesukaan.

### 3.2.2. Prosedur Penelitian

#### a) Pembuatan Ekstrak Daun Jahe Merah (*Zingiber Officinale Var. Rubrum*)

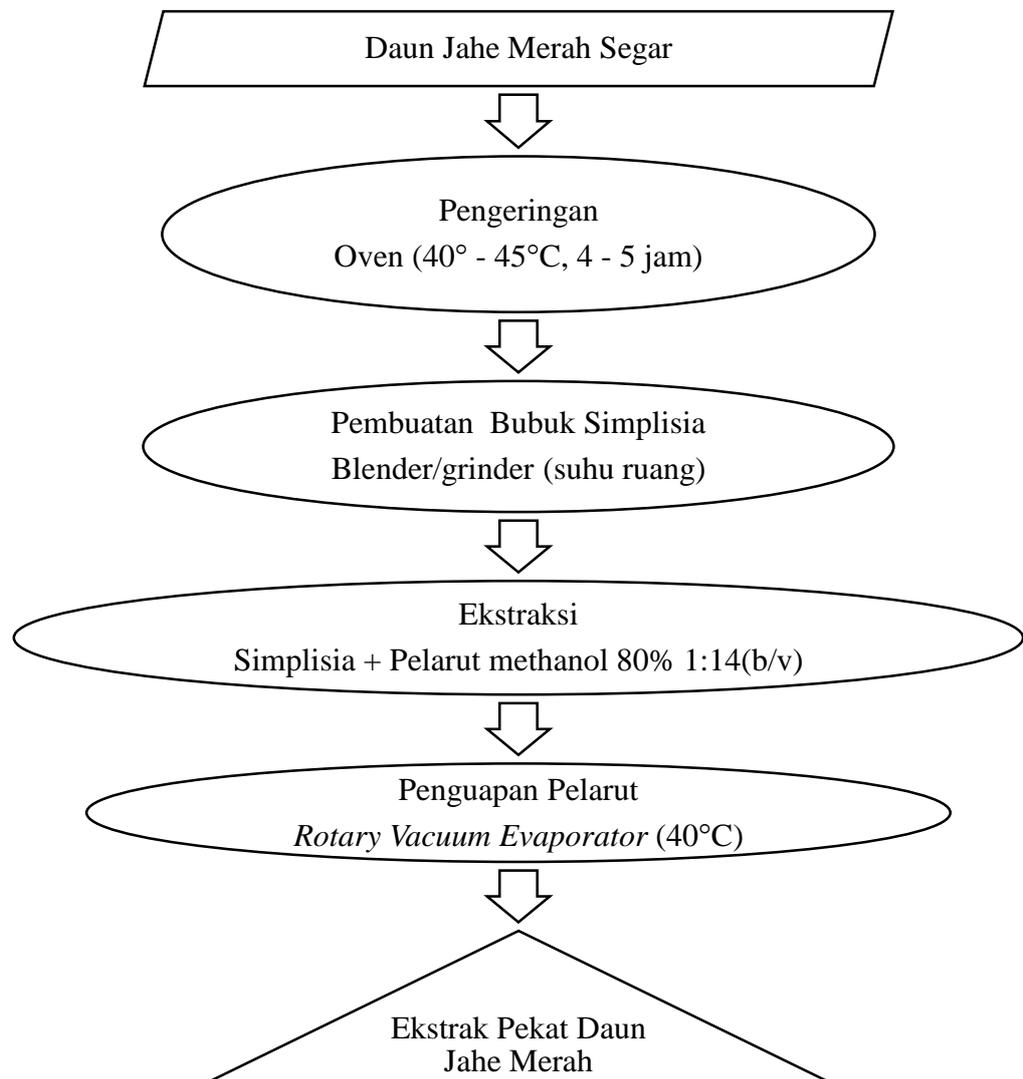
Pembuatan ekstrak daun jahe merah terdiri dari beberapa tahap, yaitu pengeringan daun, pembuatan simplisia, proses maserasi, dan penguapan ekstrak (Tyagi *et al.*, 2016 dengan beberapa modifikasi). Tahap pertama yaitu pemilihan daun jahe merah yang masih segar kemudian dikeringkan dengan cara dimasukkan kedalam oven dengan suhu 40° - 45°C selama 4 - 5 jam. Tahap kedua yaitu pembuatan simplisia dengan cara menghaluskan daun kering dengan menggunakan blender dan grinder yang kemudian diayak menggunakan ayakan. Tahap ketiga yaitu proses maserasi dengan mencampurkan simplisia dengan pelarut metanol teknis 80% (1:14) dengan cara digojog setiap 2 jam sekali selama 24 jam. Tahap keempat yaitu penguapan pelarut dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C hingga pelarut menguap sempurna yang ditandai dengan wujud ekstrak yang kental. Ekstrak kental disimpan didalam botol vial yang ditutup rapat dengan menggunakan alumunium foil dan disimpan pada refrigerator untuk kemudian dianalisis dan diencerkan menjadi beberapa konsentrasi. Perhitungan konsentrasi dapat dilihat pada Ilustrasi 1.

Cara Pengenceran konsentrasi :

Berat ekstrak daun jahe merah pekat = 5 gr (5000 mg)

Cairan Induk = 5000 mg/50 ml susu putih manis

Konsentrasi ekstrak pekat = 100 mg/ml

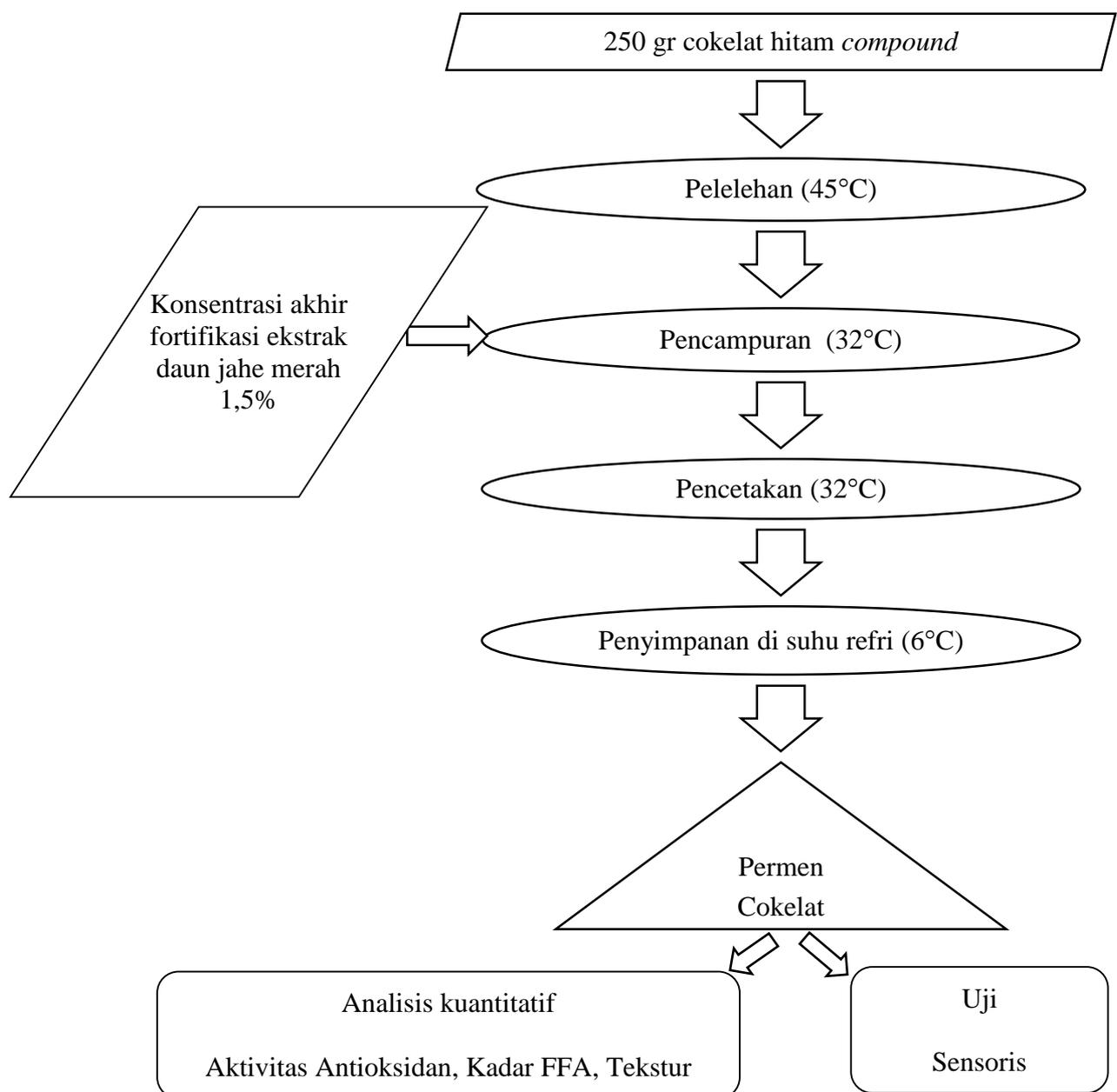


Ilustrasi 1. Diagram Alir Pembuatan Ekstrak Daun Daun Jahe Merah

### b) Pembuatan Cokelat Ekstrak Daun Jahe Merah

Tahapan pembuatan cokelat antara lain pelelehan, pencampuran dengan ekstrak daun jahe merah dan pencetakan lalu pendinginan. Pelelehan cokelat diawali dengan pemotongan blok cokelat menjadi bentuk kecil-kecil kemudian dipanaskan pada suhu 45°C hingga meleleh. Kemudian suhu diturunkan menjadi 32°C dan dilakukan pencampuran dengan larutan ekstrak daun jahe merah pada

konsentrasi akhir 1,5%. Selanjutnya adalah pencetakan pada suhu yang sama, lalu disimpan pada suhu 6°C (CJM) hingga dilakukan pengujian parameter penelitian. Sedangkan proses pembuatan permen coklat CK sama seperti CJM, hanya saja tanpa penambahan susu maupun larutan ekstrak daun jahe merah. Tahap pembuatan coklat dan fortifikasi ekstrak (Sim *et al.*, 2016 dengan modifikasi) dijelaskan pada Ilustrasi 2.



Ilustrasi 2. Diagram Alir Pembuatan Permen Cokelat Ekstrak Daun Jahe Merah

### 3.2.3. Analisis Parameter

Analisis parameter yang dilakukan pada permen coklat adalah uji sifat fisikokimia yang meliputi aktivitas antioksidan, kadar FFA dan tekstur serta uji sifat sensoris. Metode analisis sifat fisikokimia dan sensoris permen coklat yang dilakukan adalah sebagai berikut :

#### a) Uji Aktivitas Antioksidan

Penetapan aktivitas antioksidan mengacu pada metode Kekuda *et al.*, 2009 dalam Fermanasari *et al.*, (2016) yang menggunakan metode penangkapan radikal bebas *1,1-difenil-2-picrilhidrazil* (DPPH). Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Sampel permen coklat diencerkan dengan methanol 100% untuk memperoleh konsentrasi 1000 ppm. Sebanyak 0,15 mL larutan tersebut ditambahkan 0,9 mL metanol DPPH 0,1 mM, sedangkan kontrol dibuat dengan mencampurkan 0,1 mL larutan DPPH dengan 0,9 mL larutan metanol. Kemudian dihomogenkan dengan vortex. Larutan diukur absorbansinya dengan  $\lambda_{maks}$  517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan waktu operasi 30 menit. Aktivitas antioksidan di hitung melalui rumus inhibisi yang hasilnya dinyatakan dalam bentuk %.

Kekuatan inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus :

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

### b) Uji Kadar FFA

Bahan atau sampel ditimbang 14 gram pada tiap tahap pemurnian dan dimasukkan ke dalam 250 ml, lalu ditambahkan 25 ml ethanol 95% dan dipanaskan pada suhu 40°C, setelah itu ditambahkan 2 ml indikator pp untuk titrasi. Titrasi dilakukan dengan menambahkan larutan 0,05 M NaOH sampai muncul warna merah muda dan tidak hilang selama 30 detik (Aisyah *et al.*, 2010).

$$\% \text{ FFA} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{M NaOH} \times \text{BM}}{\text{Berat sampel} \times 1000} \times 100$$

Keterangan :

% FFA : kadar asam lemak bebas

ml NaOH : volume titran NaOH

M NaOH : molaritas larutan NaOH (mol/L)

BM : berat molekul asam lemak (asam lemak palmitat) 256 g/mol

### c) Uji Tekstur

Pengujian tekstur menggunakan *texture property analyzer* (TPA) atau atribut tekstur untuk produk cokelat antara lain *hardness*, *cohesiveness* dan *adhesiveness* (Afoakwa *et al.*, 2008). Pengujian ini dilakukan untuk menentukan kualitas fisik produk dengan mengukur jarak optimum penetrasi *probe texture analyzer* dengan produk melalui tekanan saat penetrasi *probe*. *Texture Analyzer* yang digunakan adalah jenis CT3, deformasi 10 mm menggunakan mode normal dengan kecepatan 0,1 mm/s pada jarak 2, 4 atau 6 mm ke dalam produk.

#### **d) Uji Sensoris**

Uji sensoris dilakukan oleh 25 panelis semi terlatih, untuk mengukur daya terima dengan memberikan nilai skala untuk atribut *bitterness* yaitu: 1 = tidak pahit, 2 = agak pahit, 3 = cukup pahit dan 4 = pahit; atribut *melting in hand* yaitu : 1 = tidak lengket, 2 = agak lengket, 3 = cukup lengket dan 4 = lengket; atribut warna yaitu: 1 = cokelat, 2 = agak cokelat, 3 = agak hitam, 4 = hitam; atribut aroma yaitu: 1 = tidak khas permen cokelat, 2 = agak khas permen cokelat, 3 = cukup khas permen cokelat, 4 = sangat khas permen cokelat; nilai skala untuk *overall* kesukaan yaitu 1 = tidak suka, 2 = agak suka, 3 = cukup suka, dan 4 = suka, serta membandingkannya dengan permen cokelat tanpa penambahan ekstrak daun jahe merah dan permen cokelat dengan penambahan ekstrak daun jahe merah yang telah diberi kode acak dengan cara menyebarkan kuisioner pada panelis semi terlatih (O' Sullivan, 2017). Form uji organoleptik sensoris dapat dilihat pada Lampiran 1.

### **3.3. Analisis Data**

Data kuantitatif berupa aktivitas antioksidan, kadar FFA dan tekstur dianalisis secara deskriptif, sedangkan untuk data sensoris dianalisis menggunakan uji *Mann-Whitney U*. Hasil analisis data sensoris dapat dilihat pada Lampiran 2.