

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Mei 2022 – November 2023.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan didalam pelaksanaan penelitian ini dipilih yang kondisinya baik, bersih dan kering sehingga siap untuk digunakan. Alat-alat yang digunakan pada proses ekstraksi bunga telang meliputi timbangan, gelas ukur, blender, sendok, wadah tertutup, kain saring, corong, botol kaca gelap, dan lemari pendingin. Alat yang digunakan pada proses injeksi pada telur adalah *minidrill* (*Kintani* ukuran 1 mm), alat injeksi (*sprit* ukuran 5 mL), dan plaster solatip. Alat yang digunakan pada perebusan telur adalah panci, penjepit, kompor, tabung gas.

Alat-alat yang digunakan untuk analisis kimia adalah cawan, sarung tangan, pipet ukur, gelas beker, corong, tabung reaksi, mortal martil, kertas saring, plastik, gelas ukur, *aluminium foil*, kuvet, rak tabung reaksi, botol gelap, *tissue*, desikator, *vortex mixer*, lemari asam, lemari pendingin (*Polytron SCN140 & RSA*), pH meter (tipe Lab 875 *SI Analytics*), *texture analyzer* (*Shimadzu TPA EZ test Model SM-500 168*), spektrofotometer (*Shimadzu UV-1800*), timbangan analitik (*Pioneer Ohaus PA431*), *color reader CR 10 (KONICA MINOLTA)*, oven (*Romand*).

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada pembuatan telur berwarna adalah telur ayam RAS dengan berat rerata 51-55 gram, bunga telang segar yang didapat dari *e-commerce* yang dipetik di Surabaya, dan air. Bahan-bahan kimia yang digunakan pada analisis telur berwarna adalah aquades, serbuk DPPH (*2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil*), serbuk Na-asetat, etanol 96%, HCl 37%, kalium klorida (KCl), metanol.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) sederhana dengan perlakuan berupa telur dengan berbagai proporsi penambahan ekstrak bunga telang yang terdiri dari 6 level yaitu : T0 (Telang 0 mL) , T1 (Telang 1 mL), T2 (Telang 2 mL), T3 (Telang 3 mL), T4 (Telang 4 mL), T5 (Telang 5 mL). Formulasi bahan dapat dilihat pada Tabel 3. Setiap perlakuan diulangi sebanyak 3 kali ulangan, sehingga keseluruhan ada 18 unit percobaan. Data penelitian yang sudah didapatkan kemudian dilakukan analisis data menggunakan Analisis Ragam (ANOVA) dilanjutkan dengan Uji *Duncan's Range Test* (DMRT) sebagai uji lanjut, apabila antar perlakuan yang cukup signifikan pada taraf kepercayaan 5% ($\alpha=0,05$).

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian terdiri dari dua tahap yaitu tahap pertama pembuatan ekstrak pigmen alami dari bunga telang dan tahap kedua yaitu pengaplikasian pada telur.

3.4.1 Ekstraksi Pigmen Antosianin Bunga Telang (Marpaung, 2018)

Pigmen antosianin bunga telang diekstraksi dengan mengikuti metode yang dilakukan Marpaung (2018). Mahkota bunga telang ditimbang sebanyak 200 g untuk selanjutnya dilakukan pengecilan ukuran dengan blender. Tahap selanjutnya adalah proses maserasi dengan menggunakan pelarut aquades sebanyak 200 mL dan asam sitrat sebanyak 2 g. Setelah maserasi, dilakukan proses filtrasi dimana dilakukan penyaringan yang bertujuan untuk memisahkan filtrat dari ampas. Filtrat hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam botol gelap dan disimpan di dalam lemari pendingin. Selanjutnya dilakukan analisa bahan baku ekstrak bunga telang yaitu pH, total antosianin dan aktivitas antioksidan. Hal tersebut ditunjukkan pada Gambar 4.

3.4.2 Tahapan Injeksi Telur (Penyuntikan) dan Perebusan (Saputra, 2017)

Tahap awal mulai dari telur dilubangi pada bagian rongga udara, kemudian dibersihkan bagian lubang injeksi menggunakan larutan alkohol dan kapas sebelum dilakukan penyuntikan, kerabang telur dilakukan pelubangan dengan menggunakan alat *minidrill* ukuran 1 mm, pelubangan dilakukan sebanyak 1 lubang untuk perlakuan 1, 2 dan 3, sedangkan 2 lubang untuk perlakuan 4 dan 5. Ekstrak bunga telang diinjeksikan menggunakan alat injeksi *sprit* ukuran 5 mL sesuai dengan perlakuan ke dalam telur secara perlahan pada lubang dengan gerakan dihomogenkan secara perlahan dengan membentuk angka delapan, kemudian lubang telur ditutup dengan plester selotip. Setelah telur dilakukan injeksi dengan ekstrak bunga telang, direbus dengan air diatas kompor dengan suhu 100°C dan lama 25 menit. Hal tersebut ditunjukkan pada Gambar 5.

3.5 Parameter Penelitian

Parameter penelitian ini dilakukan terhadap telur rebus dengan beberapa pengamatan diantaranya meliputi uji kadar air, pH, kadar antosianin, aktivitas antioksidan, tekstur, intensitas warna dan uji organoleptik (kenampakan, tekstur, warna dan rasa).

Tabel 3. Formulasi Bahan

Perlakuan	Bahan Ekstrak (bunga telang/aquades)	Ekstrak Bunga Telang (ml)
T0	200g/200mL	0
T1	200g/200mL	1
T2	200g/200mL	2
T3	200g/200mL	3
T4	200g/200mL	4
T5	200g/200mL	5

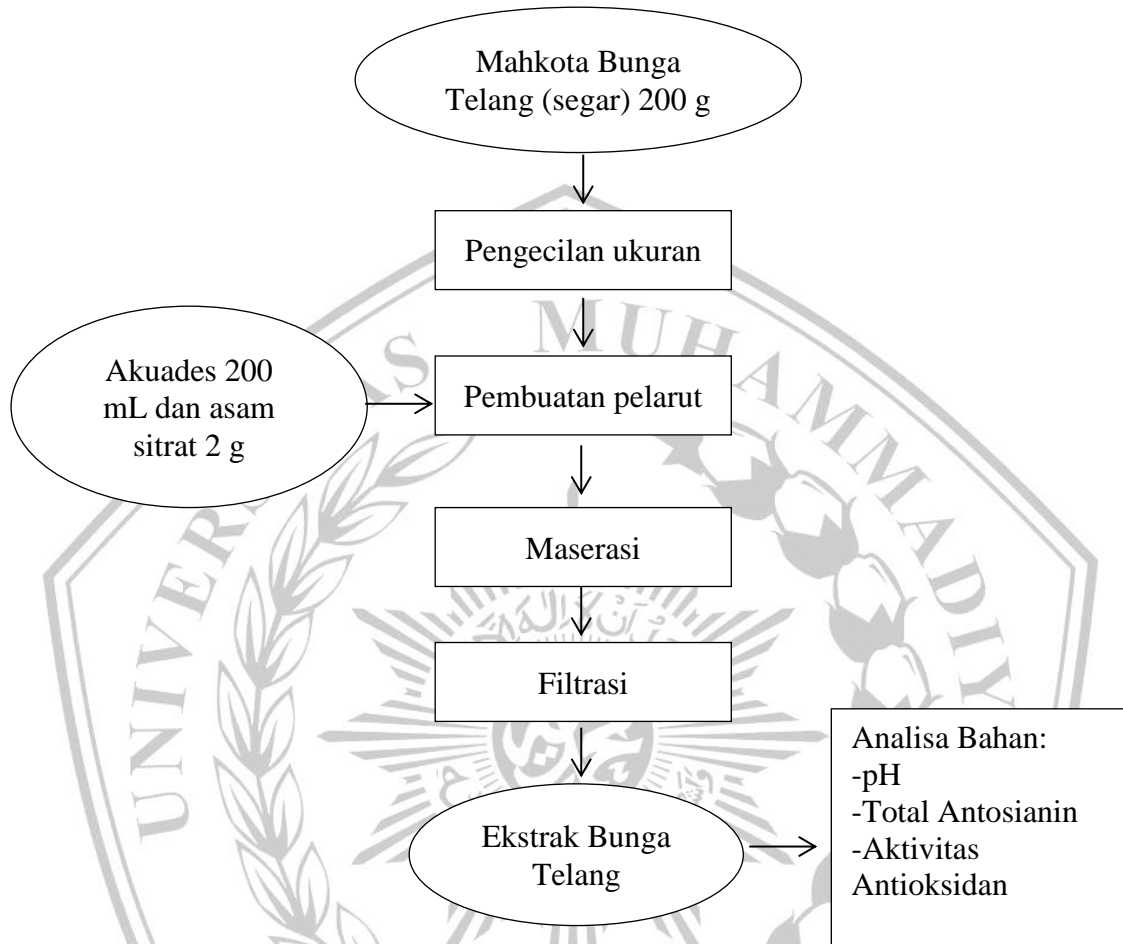
3.5.1 Analisis Kadar Air (AOAC, 2005)

Pengukuran kadar air dilakukan dengan menggunakan metode oven.

Berikut adalah cara analisis kadar air :

1. Cawan kosong dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 24 jam
2. Cawan kosong didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang menggunakan timbangan analitik
3. Sampel sebanyak 2 g ditimbang dan dimasukkan dalam cawan
4. Cawan yang berisi sampel dikeringkan dalam oven dengan suhu 105°C selama 4 jam
5. Cawan didinginkan dalam desikator selama 15 menit
6. Cawan ditimbang berat akhirnya dan menghitung kadar air dengan rumus:

$$\% \text{Kadar Air} = \frac{(\text{berat cawan} + \text{berat bahan}) - \text{berat akhir}}{\text{berat bahan}} \times 100\%$$

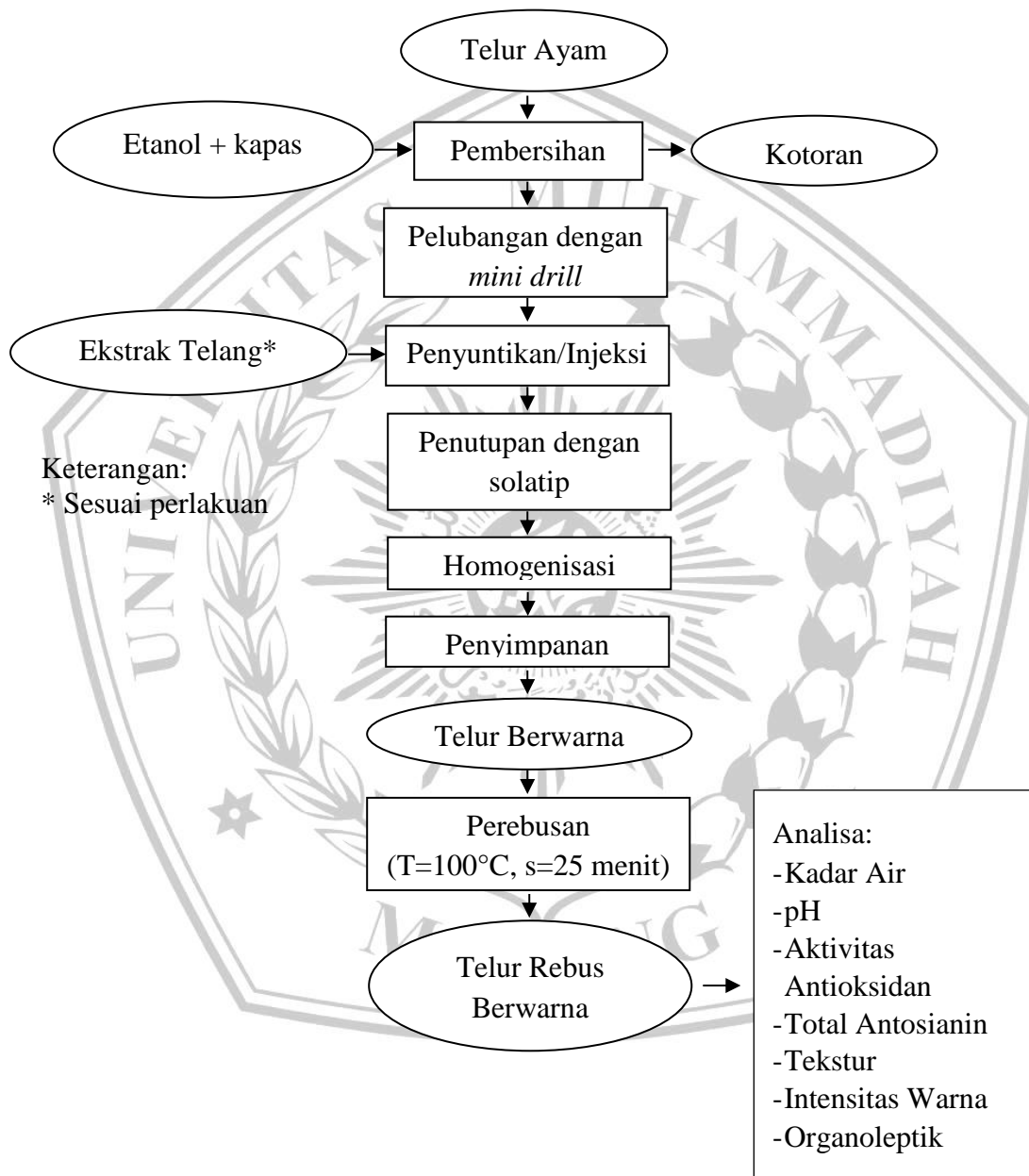


Gambar 4. Diagram Alir Ekstraksi Bunga Telang (Marpaung, 2018) dengan Modifikasi

3.5.2 Analisis Nilai pH

Pengukuran pH sampel dilakukan dengan mencelupkan elektroda ke dalam sampel. Prinsip dari analisis nilai pH dengan menggunakan pH meter adalah berdasarkan pengukuran potensial antara elektroda indikator dengan elektroda pembanding atau pengukuran aktivitas ion hidrogen secara potensiometri/ elektrometri. Tahapan pengujian diawali dengan menyalakan pH meter dan membilas elektroda serta temperature probe dengan menggunakan aquades.

Selanjutnya dilakukan kalibrasi pH meter dengan mencelupkan elektroda pada larutan penyangga (pH 7) serta asam (pH 4) lalu dibilas menggunakan aquades dan dikeringkan.



Gambar 5. Diagram Alir Pengolahan Telur (Saputra, 2017) dengan Modifikasi

3.5.3 Aktivitas Antioksidan (Hidayah, 2013)

a. Pembuatan Larutan DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan diawali dengan pembuatan larutan DPPH 0,25 mM. Kebutuhan serbuk dihitung dengan rumus : Konsentrasi = massa (mg) Mr x volume (L). Serbuk DPPH dilarutkan dengan etanol 96% pada labu ukur 50 mL hingga mencapai batas tera, dan dihomogenkan dengan menggunakan vortex. Larutan DPPH disimpan pada kondisi gelap dan tertutup rapat pada kondisi dingin selama kurang lebih 30 menit, serta sesegera mungkin untuk digunakan.

b. Ekstraksi Bahan Aktif

Sampel dihaluskan dan ditimbang sebanyak 1 mL ke dalam tube sentrifuge dan tambahkan etanol 96% sebanyak 9 mL. Larutan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Pisahkan supernatan untuk uji aktivitas antioksidan.

c. Analisis Aktifitas Antioksidan

Supernatan diambil sebanyak 4 mL ke dalam tabung reaksi dan tambahkan larutan DPPH 0,25 mM sebanyak 1 mL dan dihomogenkan. Sampel disimpan pada kondisi gelap dan tertutup selama 30 menit (larutan DPPH radikal akan berubah warna dari ungu menjadi kuning pucat). Ukur absorbansi larutan sampel dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 517 nm (Abs). Inhibisi dihitung dengan rumus dibawah ini :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

3.5.4 Analisis Kadar Antosianin (AOAC, 2005)

Prinsip pengujian kadar antosianin dengan metode perbedaan nilai pH adalah penentuan total antosianin monomer konten, berdasarkan perubahan struktur kromofor antosianin pada pH 1 dan pH 4,5. Pembuatan larutan buffer pH 1,0 dibuat dengan cara melarutkan 0,186 gram KCl (Kalium klorida) dalam 980 mL akuades dan ditambahkan 0,63 mL HCl 37%. Pembuatan larutan buffer pH 4,5 dibuat dengan melarutkan 5,443 gram Na-asetat dalam 960 mL akuades dan ditambahkan dengan 20 mL HCl 37%. Pengujian diawali dengan melarutkan sampel dalam pelarut metanol asam dengan perbandingan (1:1) ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan lalu seluruh permukaan ditutup dengan aluminium foil. Sampel dimaserasi pada suhu -23°C selama 1 hari. Sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi. Tambahkan buffer pH 1 sebanyak 9 mL ke dalam tabung pertama dan tambahkan buffer pH 4,5 sebanyak 9 mL ke dalam tabung reaksi kedua. Scanning antosianin dilakukan dengan rentang panjang gelombang 400 nm – 550 nm pada kedua buffer larutan ekstrak untuk mengetahui panjang gelombang maksimal antosianin yang dimiliki masing-masing sampel. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimal dan panjang gelombang 700 nm pada masing-masing sampel dan hasilnya dikalkulasi berdasarkan persamaan berikut:

$$A = (A_{\text{vis-maks}} - A_{700\text{nm}}) \text{ nilai pH} - (A_{\text{vis-maks}} - A_{700\text{nm}}) \text{ nilai pH}4,5$$

$$\text{Konsentrasi antosianin } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Keterangan:

A : Absorbansi

MW : Molecular Weight (Berat molekul sianidin glukosida = 449,2)

DF : Dilution Factor (Faktor pengenceran = 10 ml/0,1 ml)

ϵ : Absorptivitas molar/koefisien ekstingsi molar (26.900 L cm⁻¹)

l : Lebar kuvet (1 cm)

3.5.5 Analisis Tekstur (Istinganah & Widyaningsih, 2017)

Analisis tekstur menggunakan alat *tekstur analyzer* dengan pengujian *hardness*. Berikut adalah tahapan analisis tekstur:

1. Alat *tekstur analyzer* diatur terlebih dahulu dan dikalibrasi
2. Sampel diletakkan pada dasar alat dan dipastikan jarum menempel diatas bahan, ditekan 1 kali dan dilakukan 3 kali pengulangan
3. Dilihat skala tertera pada nilai berapa
4. Sampel dihitung lalu dicatat nilai tekstur (*hardness*)

3.5.6 Analisa Intensitas Warna Metode L, a, b Hunter (Yuwono, 1998)

Tahapan analisa intensitas warna pada menggunakan alat *color reader*. Berikut adalah tahapan analisis intensitas warna:

1. Sampel disiapkan di dalam palstik cup (transparan).
2. *Colour reader* disiapkan dan dihidupkan dengan menekan tombol on.
3. Sampel disiapkan dikaca L, a, b. Dimana; L, adalah kecerahan, nilai positif (+) berarti cerah, nilai (-) berarti suram; axis a, nilai positif (+) berarti merah, nilai (-) berarti hijau; axis b, nilai positif (+) berarti kuning, dan nilai negatif (-) berarti biru.
4. Diukur warna pada sampel dan dicatat.

3.5.7 Analisis Organoleptik (Robot dkk., 2020)

Pengamatan untuk uji organoleptik dilakukan menggunakan skala hedonik. Skala hedonik yang digunakan ada enam skala seperti amat sangat suka, sangat suka, suka, agak suka, netral dan tidak suka (Wahyuningtias dkk., 2014). Telur disajikan secara acak dengan kode tertentu. Kemudian panelis diminta untuk memberikan penilaian menurut tingkat kesukaannya berdasarkan kriteria yang telah ditentukan sebelumnya. Panelis berjumlah 25 orang tidak terlatih. Kriteria skor pada pengujian skala hedonik berkisar 1-7 dan parameter yang diujikan kepada panelis diantaranya kenampakan, tekstur, warna dan rasa.

Tabel 3. Kriteria Skor Pengujian Hedonik

Skala Numerik	Skala Hedonik			
	Kenampakan (Bentuk)	Tekstur	Warna	Rasa
1	Sangat tidak menarik	Sangat tidak kenyal	Sangat tidak biru	Sangat tidak enak
2	Tidak menarik	Tidak kenyal	Tidak biru	Tidak enak
3	Agak tidak menarik	Agak tidak kenyal	Agak tidak biru	Agak tidak enak
4	Agak menarik	Agak keras kenyal	Agak cerah biru	Agak enak
5	Agak menarik	Agak keras kenyal	Agak cerah biru	Enak
6	Sangat menarik	Sangat kenyal	Sangat biru	Sangat enak
7	Amat sangat menarik	Amat sangat kenyal	Amat sangat biru	Amat sangat cerah