

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang pada bulan Agustus 2019 sampai Juli 2022..

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada pembuatan puree kale di penelitian ini adalah pisau, telenan, timbangan digital, panci kukus, sendok, baskom, blender. Alat-alat yang digunakan pada pembuatan es krim diantaranya adalah mixer, panci, gelas takar, spatula, kompor, baskom, sendok, thermometer, timbangan analitik, *freezer*, *Ice Cream Maker*, lemari pendingin, cup plastik. Sedangkan alat-alat yang digunakan untuk analisis adalah seperangkat alat kaca (glassware Iwaki Pyrex), timbangan analitik merk Pioneer Ohaus PA413, centrifuge, spatula, color reader CR10 merk Konica Minolta, *hand refractometer* tipe N1- α merk ATAGO, vortex.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada pembuatan es krim dalam penelitian ini adalah susu segar yang diperoleh dari Balai Besar Pelatihan Peternakan di Kota Batu, susu skim dan agar-agar diperoleh dari toko bahan kue Prima Rasa Dinoyo, *shortening*, CMC, dan gula diperoleh dari toko bahan kue Yani Landungsari, kale *curly* yang diperoleh dari PT. Orgo Organic Farm Indonesia Kedungkandang, Kota Malang. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis diantaranya adalah aquades, serbuk DPPH (2,2 – *diphenyl* – 1 *pycridilhidrazine*), methanol 70% yang diperoleh dari Laboratorium Teknologi Pangan UMM.

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian ini didesain menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial. Faktor 1 adalah jenis penstabil yang terdiri dari 2 level yaitu penstabil CMC (P1) dan Agar-agar (P2). Faktor 2 adalah penambahan puree kale yang terdiri dari 5 level yaitu B0 (0% puree kale), B1 (5% puree kale b/v dari 250 ml susu segar), B2 (10% puree kale b/v dari 250 ml susu segar), B3 (15% puree

kale b/v dari 250 ml susu segar), B4 (20% puree kale b/v dari 250 ml susu segar). Kombinasi dari kedua faktor diatas menghasilkan 10 kelompok kombinasi yang dapat dilihat pada tabel.

	P1	P2
B0	P1B0	P2B0
B1	P1B1	P2B1
B2	P1B2	P2B2
B3	P1B3	P2B3
B4	P1B4	P2B4

Terdapat 10 kombinasi yakni :

P1B0: Penambahan CMC tanpa penambahan *puree* kale

P2B0 : Penambahan Agar-agar tanpa penambahan *puree* kale

P1B1 : Penambahan CMC dan penambahan *puree* kale 5%

P2B1 : Penambahan Agar-agar dan penambahan *puree* kale 5%

P1B2 : Penambahan CMC dan penambahan *puree* kale 10%

P2B2 : Penambahan Agar-agar dan penambahan *puree* kale 10%

P1B3 : Penambahan CMC dan penambahan *puree* kale 15%

P2B3 : Penambahan Agar-agar dan penambahan *puree* kale 15%

P1B4 : Penambahan CMC dan penambahan *puree* kale 20%

P2B4 : Penambahan Agar-agar dan penambahan *puree* kale 20%

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian terdiri dari dua kegiatan. Kegiatan pertama adalah proses pembuatan *puree* kale dan kegiatan kedua adalah pembuatan es krim kale dengan perbedaan jenis penstabil dan penambahan konsentrasi *puree* kale. Analisa akan pada produk akhir yang dihasilkan. Es krim kale yang dihasilkan dilakukan analisis antara lain Total Padatan Terlarut (TPT) dalam Brix, aktivitas antioksidan, intensitas warna, kecepatan meleleh, *overrun* dan uji organoleptik (kenampakan, aroma, tekstur dan rasa.)

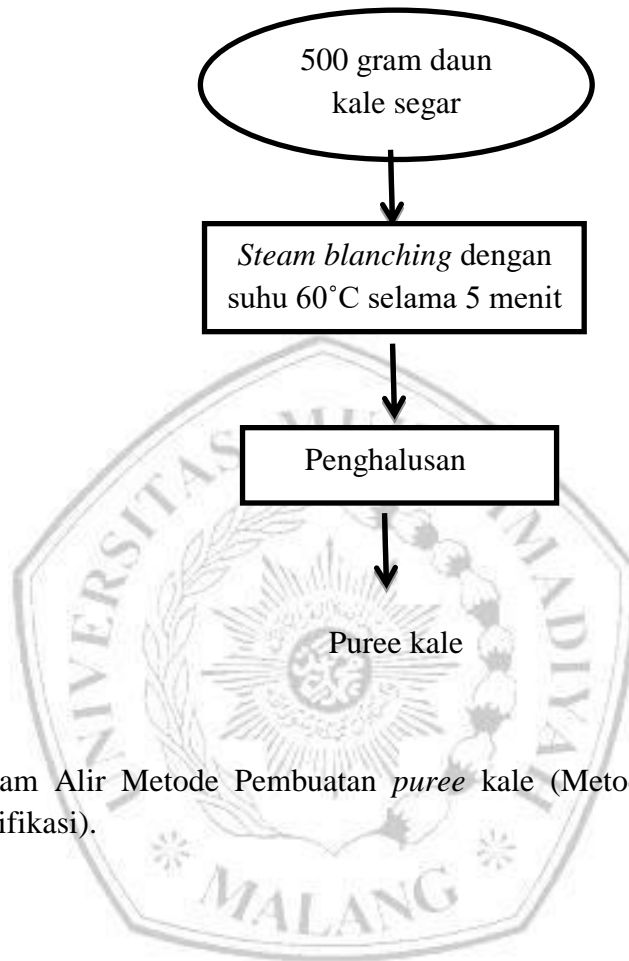
3.4.1 Pembuatan *Puree* Kale (Metode Rahmawati, 2017 dengan Modifikasi)

Menyiapkan daun kale sebanyak 500 gram, kemudian dibersihkan dan dicuci sampai bersih. Daun kale di *steam blanching* dengan suhu 60°C selama 5 menit setelah kale dingin kemudian daun kale dihaluskan menggunakan blender.

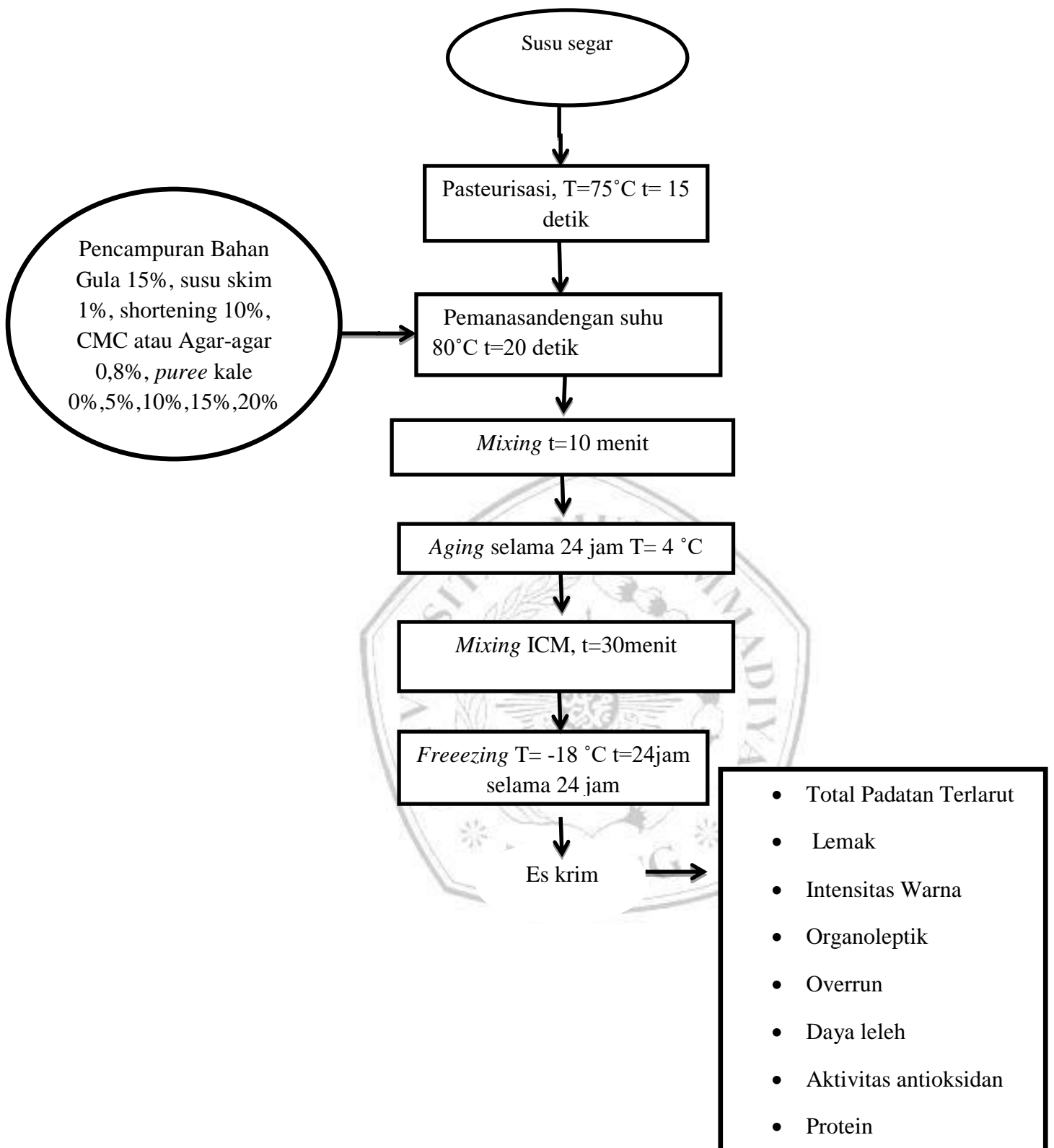
3.4.2 Pembuatan Es Krim Kale (Metode Saputro, 2017 dengan Modifikasi)

Prosedur pembuatan es krim berdasarkan metode dari (Saputro, D.W, 2017) yang telah dimodifikasi, yakni kale di *steam blanching* dengan suhu 60°C selama 5 menit dan dihaluskan menggunakan blender. Kale yang telah dihaluskan diletakkan pada wadah tersendiri. Menyiapkan bahan pembuatan es krim dengan formulasi 250 ml adonan yang terdiri dari susu segar, susu skim, gula pasir, mentega putih, CMC dan Agar-agar. Susu segar di pasteurisasi dengan suhu 75°C dipertahankan 15 detik, kemudian ditambahkan puree kale, gula, susu skim, mentega putih, CMC dan agar-agar, dipanaskan dengan suhu 80°C dipertahankan 20 detik. Adonan es krim yang telah dipanaskan, di dinginkan beberapa menit lalu di mixer selama 10 menit. Setelah itu adonan di dinginkan kedalam lemari pendingin (proses *aging*).

Setelah adonan didinginkan selama kurang lebih 24 jam adonan di masukkan ke dalam ICM (*Ice Cream Maker*) untuk di dapatkan es krim yang memiliki tekstur lembut. Kegiatan ini dilakukan selama 30 menit, setelah itu es krim diletakkan kedalam wadah dan diberi label kemudian dibekukan kedalam *freezer*.



Gambar 3. Diagram Alir Metode Pembuatan *puree* kale (Metode Rahmawati, 2017 dengan modifikasi).



Gambar 4. Diagram Alir Pembuatan Es Krim Kale (Metode Saputro, 2017 dengan Modifikasi)

3.5 Parameter Penelitian

Analisis pada produk es kale yaitu analisis kimia seperti total padatan terlarut, kadar lemak, aktivitas antioksidan, kadar protein. Analisis fisik pada produk es krim kale diantaranya adalah kecepatan meleleh, *overrun*, intensitas warna. Analisis organoleptik pada es krim kale menggunakan uji *hedonic scale*.

3.5.1 Penentuan Aktivitas Antioksidan Metode *Radical Scavenging Activity* (Khasani, 2004)

1. Serbuk DPPH dilarutkan sebanyak 1,182 mg ke dalam 50 mL metanol di erlenmeyer.
2. Larutan DPPH 1 mL 0,1 mP dipipet dan 1 mL senyawa uji ditambahkan ke dalam tabung reaksi.
3. Methanol diencerkan di dalam erlenmeyer sampai 5 mL.
4. Campuran larutan dihomogenisasikan dengan *vortex* selama 10 detik.
5. Campuran larutan yang sudah homogen diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit. Selama proses reduksi oleh antioksidan, larutan DPPH radikal akan berubah warna dari ungu menjadi kuning pucat.
6. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 517 nm (As).
7. Larutan blanko yang terdiri dari 4 mL metanol dalam 1 mL DPPH digunakan dan diukur pada panjang gelombang yang sama (Ab). Trolox digunakan sebagai kontrol positif. Perlakuan pada uji DPPH ini dengan tiga kali pengulangan (*triplicate*).

Menghitung % inhibisi dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Abs. blanko} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. blanko}} \times 100\%$$

3.5.2 Intensitas warna (Yuwono dan Susanto, 2001)

1. Sampel disiapkan ke dalam plastik PP (*polypropilene*) atau transparan.
2. *Colour Reader* dihidupkan dengan memencet tombol *ON*.
3. Target L, a, b, ditentukan dimana, L adalah kecerahan, nilai positif (+) berarti cerah, nilai negatif (-) berarti suram; Axis a nilai positif (+) berarti merah, nilai (-) berarti hijau; Axis b, nilai (+) berarti kuning, nilai (-) berarti biru

4. Sampel ditempelkan pada *color reader*, kemudian angka L, a, b akan tertera pada skala baca.

3.5.3 TPT (Total Padatan Terlarut) (Yuwono dan Susanto, 2001)

1. Alat dan bahan disiapkan, penutup kaca prisma dibuka, lalu satu tetes aquades diteteskan dengan menggunakan pipet tetes ke penutup kaca prisma dengan perlahan dan memastikan aquades memenuhi kaca prisma.
2. Refraktometer diarahkan ke cahaya terang, pembacaan skala dapat dilihat melalui lubang teropong, jika skala kabur, lubang teropong diputar dan pastikan garis biru tepat pada 0° Brix.
3. Kalibrasi dilakukan dengan cara kaca prisma dibuka dan dibersihkan dengan menggunakan bahan lembut dan kering dengan cara diusap satu arah.
4. Kaca prisma dibuka kembali kemudian diteteskan sampel sebanyak 1 tetes kemudian tutup kaca prisma.
5. Skala dilihat melalui lubang teropong, batas garis skala adalah antara garis putih dan biru.

3.5.4 Analisa Kadar Lemak Metode Hidrolisis Asam (Sudarmadji dkk, 1989)

1. Persiapan cawan lemak
Cawan porselen sejumlah sampel yang akan dianalisa disiapkan. Kemudian cawan dioven selama 24 jam. Cawan didinginkan dengan desikator sebelum digunakan analisa lemak. Cawan kosong (b) ditimbang dan dicatat hasilnya.
2. Persiapan sampel
 - a. Erlenmeyer ukuran 250 ml disiapkan di meja preparasi.
 - b. Sampel ± 2 gram (a) ditimbang di timbangan analitik dan ditambahkan 4 ml etanol 96%
 - c. HCL 10 ml yang sudah dilarutkan ditambahkan kedalam aquades (setiap 25 ml HCL dilarutkan dalam 11 ml aquades)
 - d. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil, kemudian diwaterbath dengan suhu 70°C selama 40 menit dan ditambahkan 10 ml etanol 96%.
 - e. Petroleum benzene 25 ml ditambahkan kedalam erlenmeyer.
 - f. Lemak dan rendemen dipisahkan, pemisah lemak menggunakan titrasi corong.

- g. Hasil titrasi dituangkan kedalam cawan kosong kemudian oven selama 30menit
- h. Cawan yang berisi sampel setelah proses pengovenan ditimbang menggunakan timbangan analitik.
- i. Dihitung kadar lemak dengan rumus :

$$\text{Kadar lemak (\%)} : \frac{c-b \times 100\%}{a}$$

3.5.5 Kecepatan Leleh

Uji kecepatan leleh es krim dengan metode dari modifikasi Malaka, dkk (2011) yaitu, es krim yang telah dikemas dalam kemasan es krim yang telah dibekukan, kemudian di keluarkan pada suhu kamar dan diukur cairan yang meleleh setiap interval 10 menit sampai semua es krim meleleh.

3.5.6 Overrun

Pengembangan volume (*overrun*) yaitu kenaikan volume es krim karena udara yang membusa ke dalam campuran selama proses pembuihan dan pembekuan dengan rumus (Malaka dkk, 2011) :

$$\% \text{ overrun} = \frac{\text{Volume es krim} - \text{Volume campuran bahan}}{\text{Volume campuran bahan}} \times 100\%$$

3.5.7 Uji Protein Menggunakan Metode Lowry (Sudarmadji dkk,1989)

Metode lowry mengkombinasikan pereaksi biuret dengan pereaksi lain (Folin-Ciocalteuphenol) yang bereaksi dengan residutyrosine dan tryptohan dalam protein. Reaksi ini menghasilkan warna kebiruan yang bisa dibaca diantara 500-700 nm, tergantung sensitivitas yang dibutuhkan. Puncak kecil akan muncul disekitar 500 nm yang dapat digunakan untuk menentukan protein dengan konsentrasi tinggi dan sebuah puncak besar disekitar 750 nm yang dapat digunakan untuk menentukan kadar protein dengan konsentrasi rendah. Metode ini lebih sensitif untuk protein konsentrasi rendah dibandingkan dengan metode biuret (Soeharsono,2006)

1. Pembuatan Reagen Lowry A

Larutan asam fosfotungstat : fosfomolibdat dengan perbandingan (1:1) dilarutkan pada erlenmeyer.

2. Pembuatan Reagen Lowry B

2% natrium karbonat dicampurkan dalam 100 ml natrium hidroksida 0,1 N. Kemudian ditambahkan ke dalam larutan tersebut 1 ml tembaga (II) sulfat 1% dan 1 ml kalium tartrat 2%.

3. Penetapan Kadar Protein

Larutan bovin serum albumin dengan konsentrasi 300 g/ml (Li) disiapkan. Seri konsentrasi dibuat dalam tabung reaksi 0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan 8 ml reagen lowry B dan dibiarkan 10 menit, kemudian ditambahkan 1 ml reagen lowry A, kocok dan dibiarkan 20 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 600 nm terhadap blanko (sebagai blanko adalah tabung reaksi pertama).

4. Persiapan Sampel

Sampel protein diambil dengan sejumlah tertentu, yang terlarut misal albumin, diendapkan dahulu dengan penambahan amonium sulfat kristal (jumlahnya tergantung dari jenis proteinnya, kalau perlu sampai mendekati kejenuhan amonium sulfat dalam larutan). Protein yang mengendap dipisahkan dengan sentrifuse 11.000 rpm selama 10 menit, supernatannya dipisahkan. Persipitat yang merupakan protein kemudian dilarutkan kembali dengan dapar asam asetat pH 5 sampai 10,0 ml, diambil volume tertentu dan dilakukan penetapan selanjutnya seperti kurva baku mulai dari penambahan 8 ml reagen lowry A, kocok dan dibiarkan 20 menit. Adsorbansi dibaca pada panjang gelombang 600 nm terhadap blanko.

3.5.8 Uji Organoleptik (Rahayu, 2001)

Analisis organoleptik dilakukan untuk mengetahui daya terima produk es krim oleh konsumen melalui beberapa parameter. Parameter yang diujikan pada uji ini adalah kesukaan terhadap rasa, aroma, dan kenampakan. Analisis organoleptik ini menggunakan *hedonic test*. Metode ini memungkinkan para panelis untuk memberikan nilai terhadap tingkat kesukaan pada masing-masing parameter. Kisaran nilai yang ada pada skala *hedonic* berkisar antara 1-7 pada skala numerik untuk masing-masing parameter. Skor yang diberikan untuk atribut rasa, aroma, dan kenampakan adalah 1= sangat suka, 2= suka, 3= cukup suka, 4= netral, 5=agak tidak suka, 6= tidak suka,7= sangat tidak suka. Semakin tinggi nilai yang diberikan maka semakin tinggi pula tingkat ketidak sukaan konsumen.

Masing-masing sampel akan diberi kode yang berbeda, untuk menghindari terjadinya perbandingan tingkat kesukaan panelis antar sampel. Pengujian kesukaan ini menggunakan panelis tidak terlatih dengan jumlah minimal 30 orang.

3.6 Analisis Data

Data pengamatan terhadap fisikokimia dan uji organoleptik dianalisa menggunakan analisa Ragam atau *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh dari kedua perlakuan. Hasil yang menunjukkan adanya pengaruh nyata akan dianalisa menggunakan uji DMRT dengan taraf signifikan $\alpha=5\%$.

