III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan April 2023 sampai dengan Oktober 2023. Tempat penelitian adalah Laboratorium Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian-Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya *blender* (*Miyako*), panci, kompor (*Rinnai, Maspion*), timbangan digital (*SF-400*), timbangan analitik (*Ohaus*), labu ukur (*Iwaki*), erlenmeyer (*Iwaki*, *Pyrex*), corong (*Pyrex*), kapas medis (*OneMed*), mikropipet (*DragonLab*), pipet tetes, pipet ukur (*Pyrex*), filler (*Pipette*), gelas beker (*Iwaki*, *Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), *thermometer* digital (*TP101*), tabung reaksi (*Iwaki*, *Pyrex*), batang L, spidol (*Snowman*), rak tabung reaksi, cawan petri (*Anumbra*), *colony counter* (*Faithful),* inkubator (*Memmert*), *pH meter* (*Benchtop*), labu Kjedahl (*Pyrex*), kompor destruksi (*Gerhard*), *autoclave* (*alamy*)*,* lemari asam, destilator, buret (*Pyrex*), vortex (*Thermo Scientific*), jarum spindel No.2, *viscometer* (*NDJ-1*), dan *colour reader* (*Konica Minolta*).

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya susu kambing dari peternakan Bapak Achmad Wahyudi di daerah Kecamatan Dau, Kabupaten Malang dengan ciri-ciri kambing yaitu jenis saanen peranakan Etawa (Sapera F3), berumur ± 2 tahun (laktasi 2) dengan kambing pejantan berasal dari Swiss dan kambing betina berasal dari peranakan Etawa; buah naga merah (*Hylocereus poyrhizus*) didapat dari UD. Naga Merah di daerah Kelurahan Gadang, Kecamatan Sukun, Kota Malang. Starter bakteri menggunakan starter bakteri asam laktat produksi rumahan "Yaa Milko" di daerah Kecamatan Dau, Kabupaten Malang; akuades, indicator *phenolphtalein* (pp), natrium hidroksida (NaOH) 0,1N, etanol (C_2H_5OH) 96%, asam klorida (HCl) 37%, katalisator (Na_2SO_4+HgO), asam sulfat (H_2SO_4), asam borat (H_3BO_3), natrium hidroksidan (NaOH 50%), asam klorida (HCl) 0,02N, reagen DPPH, kertas saring.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari dua faktor dengan pola 3x2. Rancangan penelitian yang digunakan ini sangat penting untuk meminimalisir kesalahan

pengambilan sampel dan memberikan representasi yang akurat dari populasi yang diteliti. Faktor pertama dalam penelitian ini adalah perbedaan konsentrasi buah naga dengan tiga tingkat, yaitu :

F1 : Ekstrak buah naga 5%,

F2 : Ekstrak buah naga 10%,

F3 : Ekstrak buah naga 15%.

Sedangkan faktor kedua adalah lama waktu fermentasi dengan dua tingkat pula, yaitu :

P1 : Fermentasi selama 8 jam,

P2 : Fermentasi selama 10 jam,

	F1	F2	F3
P1	F1P1	F2P1	F3P1
P2	F1P2	F2P2	F3P2

Dengan menggunakan kombinasi kedua faktor tersebut, maka didapatkan 6 perlakuan yang terdiri dari :

F1P1 : Buah naga 5% dan fermentasi 8 jam

F1P2 : Buah naga 5% dan fermentasi 10 jam

F2P1 : Buah naga 10% dan fermentasi 8 jam

F2P2 : Buah naga 10% dan fermentasi 10 jam

F3P1 : Buah naga 15% dan fermentasi 8 jam

F3P2 : Buah naga 15% dan fermentasi 10 jam

Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali untuk memastikan keakuratan hasil.

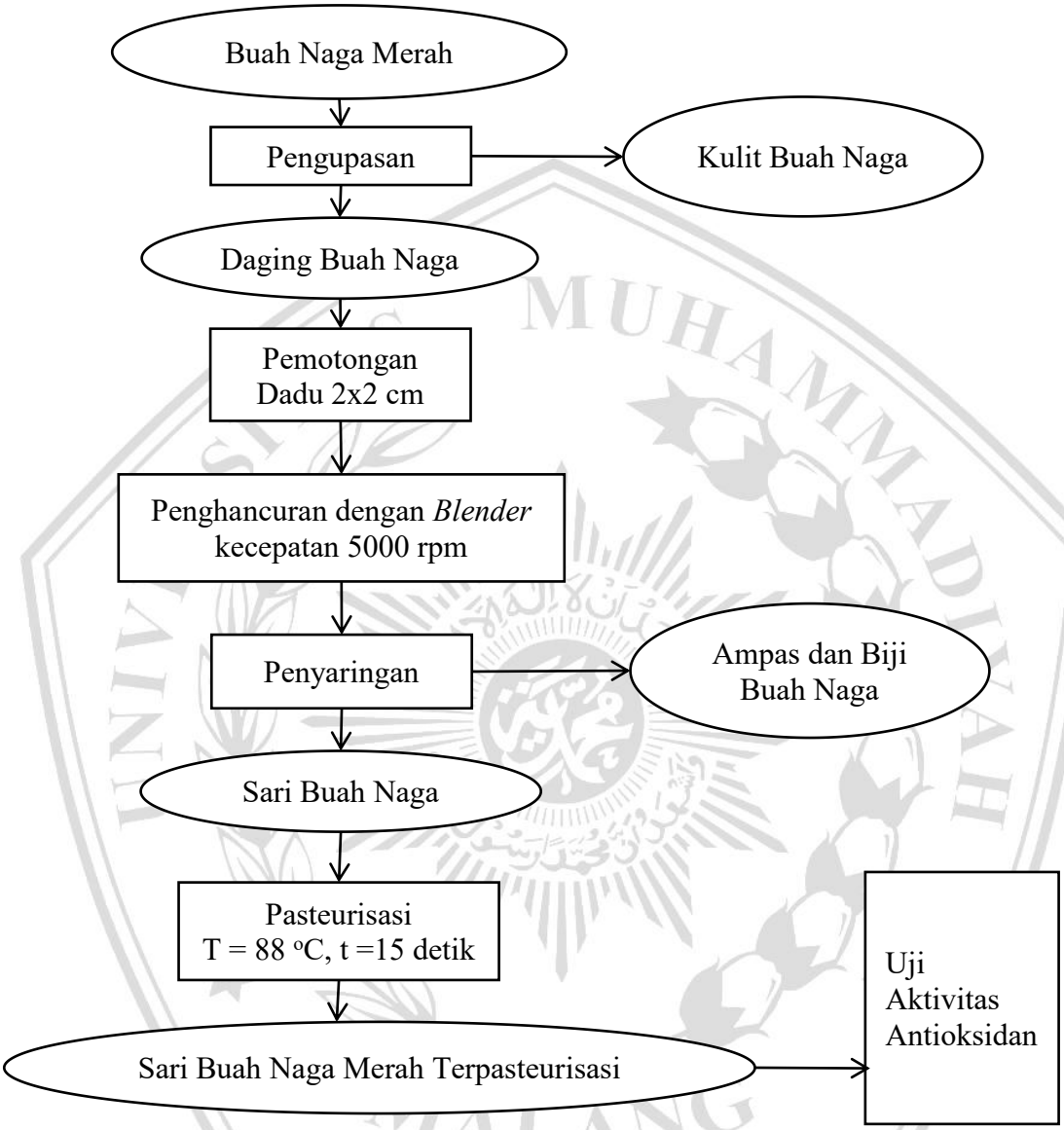
Penelitian ini menggunakan metode *Analysis of Variance* (Anova) dalam analisis statistiknya. Metode Anova digunakan untuk membandingkan rata-rata dari beberapa kelompok yang berbeda dan menentukan apakah perbedaan antara kelompok-kelompok tersebut signifikan atau tidak. Jika berbeda nyata, dilakukan uji lanjut menggunakan metode *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) $\alpha = 5\%$.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Prosedur Pembuatan Sari Buah Naga

Prosedur pembuatan sari buah naga merah mengikuti penelitian yang dilakukan oleh Zulaikhah (2021), bahwa daging buah naga merah dihaluskan menggunakan blender pada kecepatan satu selama 10 detik. Setelah itu, sari buah

naga merah disaring dan dipasteurisasi pada suhu 88 °C selama 15 detik. Dengan proses tersebut, sari buah naga merah dapat dihasilkan dan siap untuk digunakan. Diagram alir pembuatan sari buah naga merah dapat dilihat pada Gambar 1.



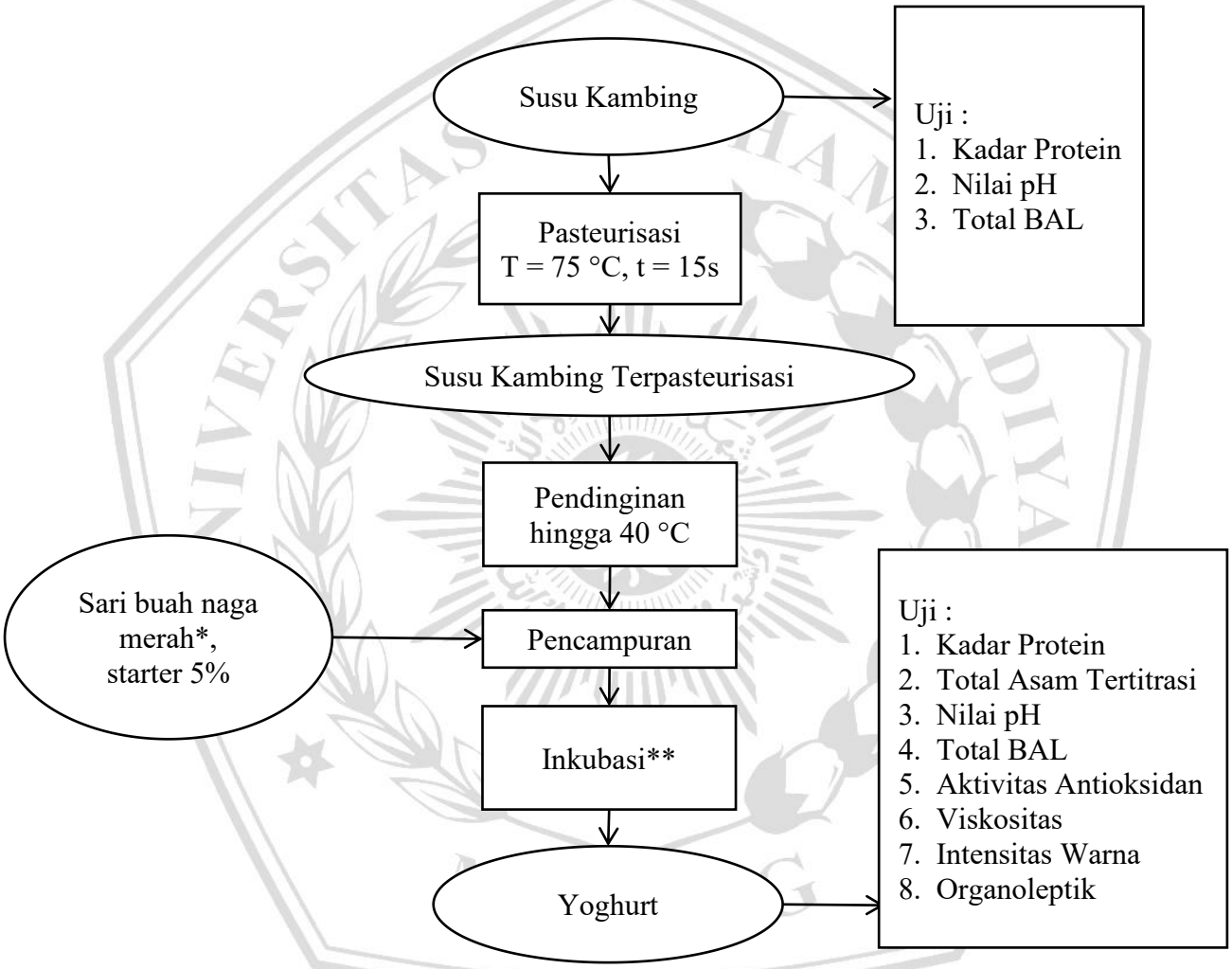
Gambar 1. Prosedur Pembuatan Ekstrak Buah Naga

Keterangan : Menunjukkan bahan baku, bahan setengah jadi, bahan jadi
Menyatakan proses pengolahan
Menyatakan analisis

3.4.2 Prosedur Pembuatan Yoghurt (Zulaikhah dan Luthfi, 2022)

Dalam penelitian ini, susu kambing diolah menjadi yoghurt dengan beberapa tahap mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Zulaikhah dan Luthfi, (2022).

Pertama, susu kambing dipasteurisasi pada suhu 75 °C selama 15 detik, kemudian diturunkan suhunya hingga mencapai 40 °C. Selanjutnya, dilakukan penambahan ekstrak buah naga merah dengan perlakuan masing-masing sebanyak 5%, 10%, dan 15% berdasarkan perbandingan volume. Setelah itu, ditambahkan 5% starter (v/v) dan diinkubasi pada suhu sekitar 40 °C dan dengan perlakuan waktu masing -masing 8 dan 10 jam. Setelah proses fermentasi selesai, produk disimpan dalam suhu refrigerator. Diagram alir pembuatan Yoghurt dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Prosedur Pembuatan Yoghurt

Keterangan :
1. *Perlakuan I 5%, 10% dan 15%
   **Perlakuan II 8 jam dan 10 jam
2. Menunjukkan bahan baku, bahan setengah jadi, bahan jadi
   Menyatakan proses pengolahan
   Menyatakan analisis

3.5 Analisis Penelitian

3.5.1 Prosedur Analisis Kadar Protein Metode Kjedhal (AOAC, 2005)

Langkah-langkah analisis kadar protein dilakukan dengan metode Kjeldahl sebagai berikut: 0,1 g sampel dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl, diikuti dengan penambahan katalisator Na2SO4+HgO (20:1) sebanyak 1 spatula dan 2 ml H2SO4. Kemudian, sampel didihkan selama 4-5 jam di dalam lemari asam sampai cairan menjadi jernih dan kemudian didinginkan. Selanjutnya, disiapkan Erlenmeyer 125 ml yang diisi dengan 15 ml H3BO3 dan diletakkan di bawah kondensor. Sampel dituang ke dalam tabung destilasi dengan penambahan 10 ml larutan NaOH 50% dan 15 ml akuades, lalu didestilasi dan hasil destilat ditampung dalam Erlenmeyer yang berisi 15 ml H3BO3. Destilasi dilakukan sampai berubah warna menjadi hijau. Selanjutnya, destilat dititrasi dengan larutan HCl 0,02 N sampai terjadi perubahan warna dari hijau menjadi merah muda. Kadar total nitrogen dan protein kemudian dihitung menggunakan rumus :

$$\text{N (\%)} = \frac{\text{ml HCl x N HCl x 14,008 x 100\%}}{\text{berat bahan (mg)}}$$

Protein (%) = %N x faktor konversi

3.5.2 Prosedur Analisis Total Asam Tertitrasi (Asam Laktat) (AOAC, 1995)

Metode titrasi asam-basa digunakan untuk mengukur total asam. Prosedur pengukuran dimulai dengan menimbang 5 gram bahan dan memasukkannya ke dalam labu ukur 50 ml, kemudian ditambahkan akuades sampai batas tera. Larutan sampel dihomogenkan dengan menggoyang-goyangkannya, disaring dengan corong yang sudah dilapisi kapas, dan diambil 25 ml filtrat dengan pipet untuk dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml. Selanjutnya, ditambahkan 3 tetes indicator pp dan sampel dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai warnanya berubah menjadi merah muda. Kadar total asam tertitrasi pada sampel dihitung dengan perhitungan :

$$\text{TAT (\%)} = \frac{\text{Vol NaOH x N NaOH x FP x BM asam organik x 100\%}}{\text{berat bahan (mg) x 1000}}$$

3.5.3 Prosedur Analisis pH (Badan Standarisasi Nasional, 2004)

Alat pH meter dihidupkan. Elektroda dan temperature probe dibilas dengan akuades kemudian dikeringkan. Kalibrasi dilakukan dengan mencelupkan elektroda pada larutan penyangga (pH 7) dan asam (pH 4) serta membersihkannya.

Elektroda dibilas kembali menggunakan akuades dan dikeringkan. Sampel yang ingin diukur dicelupkan pada elektroda dengan menekan tombol Ar (hold) dan Enter, hingga pembacaan stabil dan indikator autolock muncul pada layar. Nilai yang tertera pada layar dicatat.

3.5.4 Prosedur Analisis Total Bakteri Asam Laktat Metode TPC (Agustina, *dkk.*, 2021)

Metode *Total Plate Count* (TPC) digunakan untuk melakukan analisis total bakteri asam laktat. Pada metode ini, yoghurt diencerkan dalam rentang 10-1 hingga 10-8 dengan blanko. Kemudian, sebanyak 1 ml dari masing-masing pengenceran dipipet ke dalam cawan petri dan ditambahkan media MRSA steril. Selanjutnya, sampel dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil dari analisis dinyatakan dalam satuan koloni/gram.

3.5.5 Prosedur Analisis Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Ana *dkk.*, 2012)

Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazl) digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan dengan panjang gelombang 517 nm. Larutan DPPH dibuat dengan 2 mg bubuk DPPH + 10ml etanol dalam botol vial gelap dan dilapisi alummunium foil. Sampel diambil sebanyak 1 ml dan dilarutkan dengan 9ml etanol, kemudian dihomogenkan. Filtrat sampel diambil sebanyak 4ml dimasukkan kedalam tabung reaksi yang sudah dilapisi alummunium foil, ditambahkan 1ml larutan DPPH dan ditutup dengan alummunium foil. Kemudian, sampel divortex dan disimpan dalam ruang tertutup selama 15-20 menit. Setelah itu, sampel divortex kembali dan nilai absorbansi diukur dengan panjang gelombang 517 nm. Setelah mendapat nilai absorbansi, data dianalisis dengan menggunakan persentase (%) inhibisi menggunakan rumus :

$$\text{Aktivitas Antioksidan (\%)} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \text{ x } 100\%$$

3.5.6 Prosedur Analisis Viskositas (Utomo, 2016)

Prosedur pengukuran viskositas bahan menggunakan alat viskometer sebagai berikut: Bahan yang akan diukur viskositasnya dimasukkan ke dalam gelas piala atau tabung uji, lalu dipilih jarum spindle yang sesuai dengan tingkat kekentalan bahan. Setelah itu, pangkal jarum spindle dimasukkan pada lubang penghubung

rotor dan jarum spindle diturunkan hingga batas mengenai bahan. Kemudian, saklar alat dinyalakan hingga nilai yang ditunjukkan skala stabil. Viskositas diukur dengan menggunakan alat viskometer, dan nilai viskositas yang tertera pada alat dibaca.

3.5.7 Prosedur Analisis Intensitas Warna (Hutching, 2011)

Alat color reader dihidupkan dengan menekan tombol on dan pengukuran dimulai. Kemudian, alat dikalibrasi dengan menggunakan keramik standar yang memiliki nilai L, a, dan b. Kecerahan direpresentasikan oleh nilai L, dengan nilai positif menunjukkan cerah dan nilai negatif menunjukkan suram. Kemerahan direpresentasikan oleh nilai a, dengan nilai positif menunjukkan merah dan nilai negatif menunjukkan hijau. Kekuningan direpresentasikan oleh nilai b, dengan nilai positif menunjukkan kuning dan nilai negatif menunjukkan biru. Ujung lensa alat ditempelkan pada permukaan sampel yang akan diukur dan warnanya diukur dengan menekan tombol target. Hasil pengukuran intensitas warna dicatat.

3.5.8 Prosedur Analisis Organoleptik (Rasbawati *dkk*., 2019)

Uji organoleptik pada penelitian menggunakan metode skor dengan 30 orang panelis tidak terlatih, berusia 19-25 tahun, baik pria maupun wanita dan berstatus mahasiswa. Pengujian meliputi evaluasi citarasa, aroma, warna, dan tekstur pada yoghurt yang disajikan dalam wadah plastik tipe ice cup. Skala penilaian yang digunakan berkisar dari 1 hingga 5. Skala skor uji organoleptik dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Skala Organoleptik Yoghurt

Nilai	Uji			
	Warna	Aroma	Rasa	Kekentalan
1	Sangat merah muda	Sangat tidak beraroma yoghurt	Sangat tidak asam	Sangat tidak kental
2	Merah muda	Tidak beraroma yoghurt	Tidak asam	Tidak kental
3	Merah	Cukup beraroma yoghurt	Cukup Asam	Cukup Kental
4	Merah Gelap	Beraroma yoghurt	Asam	Kental
5	Merah sangat gelap	Sangat beraroma yoghurt	Sangat asam	Sangat Kental