

II. METODE

2.1 Waktu dan tempat penelitian

Kegiatan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian-Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang, pada bulan Agustus-September 2024.

2.2 Alat dan bahan

Alat yang digunakan untuk pembuatan puding antara lain meliputi kompor, lemari pendingin, mangkuk, gelas, sendok, cetakan, gunting, Alat-alat yang digunakan pada proses ekstraksi bunga telang dan ekstraksi bunga mawar merah antara lain timbangan analitik, gelas ukur, sendok, ember, saringan, botol, plastik *wrap*, *tissue*, alumunium foil, blender dan lemari pendingin. Alat-alat yang digunakan untuk analisis kimia adalah sarung tangan, gelas beker, gelas ukur, pipet ukur, pipet pump, corong, tabung reaksi, kertas saring, *whatman*, *tissue*, mortal martil, spatula, plastik, alumunium foil, kuvet, rak tabung reaksi, botol vial gelap, botol *scott*, lemari asam, vortex mixer (*Barn Stead*), lemari pendingin (*Polytron* SCN140), pH meter (lab 875 *SI Analytics*), *texture analyzer* (*Shimadzu* TPA EZ test Model SM-500 168), spektrofotometer UV-Vis (*Bel*), timbangan analitik (*Pioneer Ohaus* PA431), dan *color reader* (*Conica Minolta*).

Bahan yang digunakan untuk ekstrak bunga telang dan bunga mawar adalah bunga telang segar mekar yang berasal dari Mulyorejo Kecamatan Sukun Kota Malang, bunga mawar merah segar mekar yang berasal dari Kota Batu Jawa Timur, aquades dan asam sitrat. Bahan yang digunakan dalam pembuatan puding adalah agar-agar *swallow* ID00310000197930321, susu cair *full cream* ultramilk 00040007670298, ekstrak bunga telang, dan ekstrak bunga mawar merah. Bahan yang digunakan untuk analisa sampel antara lain aquades, serbuk DPPH (2,2-Difenil-1Pikrilhidrazil), serbuk Na-asetat, etanol 96%, HCl 37%, kalium klorida (KCl), metanol.

2.3 Rancangan penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara sederhana dengan 6 level perlakuan dan 3 kali replikasi. Penentuan formulasi penambahan jumlah ekstrak bunga telang dan mawar merah pada puding didapatkan dari hasil uji coba. Adapun formulasi puding dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Formulasi pembuatan puding (Idrus *et al.*, 2023)

Komposisi Bahan	Formulasi					
	K0	K1	K2	K3	K4	K5
Ekstrak bunga telang (mL)	0	180	135	90	45	0
Ekstrak bunga mawar (mL)	0	0	45	90	135	180
Agar-agar (g)	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5
Susu cair <i>Full Cream</i> (mL)	540	450	450	450	450	450
Air (mL)	540	450	450	450	450	450
Gula (g)	90	90	90	90	90	90

K0 : kontrol (Tanpa ekstrak bunga)

K1 : 20% ekstrak bunga telang : 0% ekstrak bunga mawar merah

K2 : 15% ekstrak bunga telang : 5% ekstrak bunga mawar merah

K3 : 10% ekstrak bunga telang : 10% ekstrak bunga mawar merah

K4 : 5% ekstrak bunga telang : 15% ekstrak bunga mawar merah

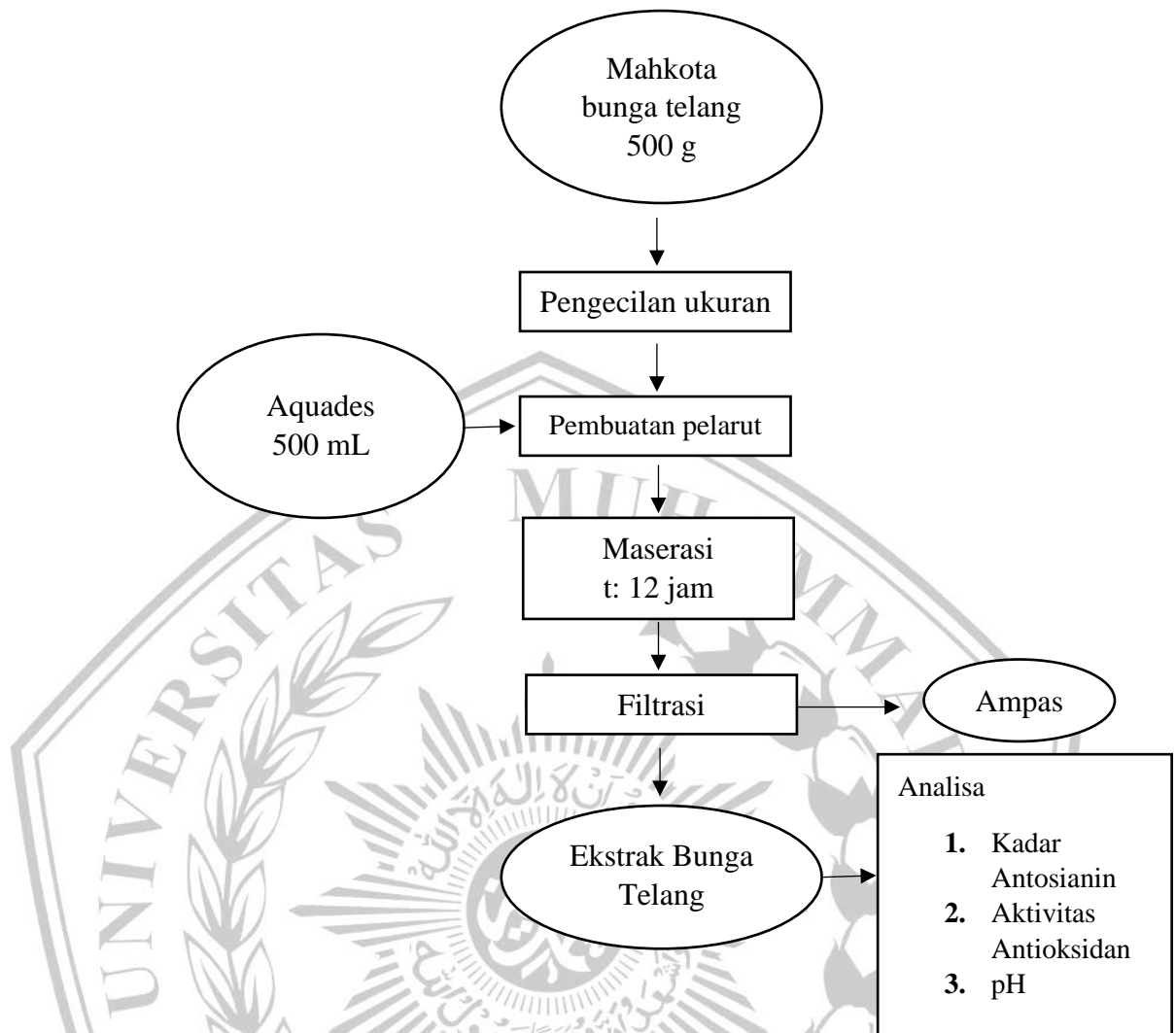
K5 : 0% ekstrak bunga telang : 20% ekstrak bunga mawar merah

Berdasarkan rancangan tersebut maka dapat dibuat analisis variansi (ANOVA). Jika F hitung lebih besar atau sama dengan F tabel maka analisis akan dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5% untuk mendapatkan kesimpulan mengenai pengaruh perlakuan.

2.4 Pelaksanaan penelitian

A. Ekstraksi bunga telang

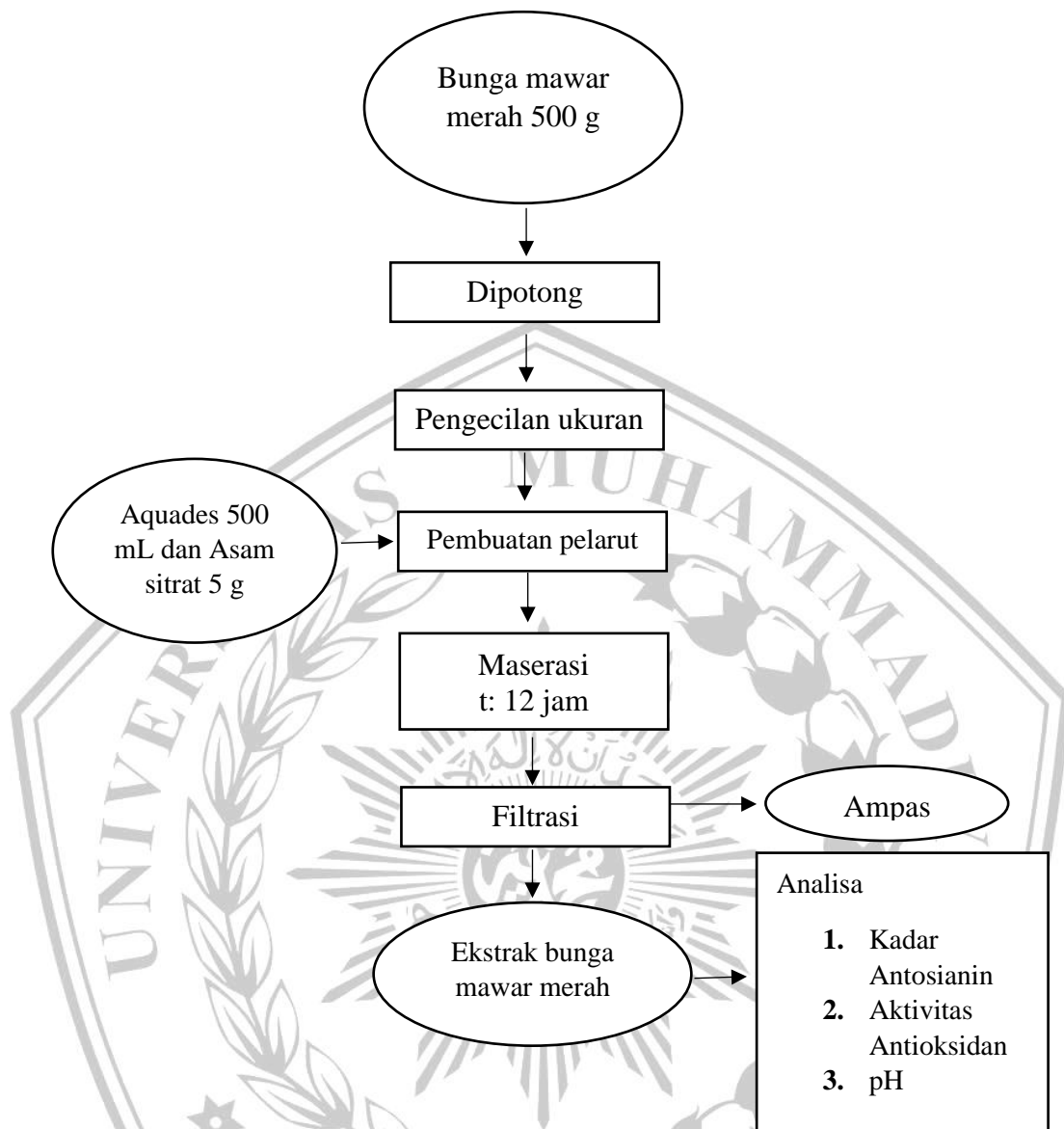
Ekstrak pada bunga telang dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan tujuan untuk mengambil pigmen. Tahap awalnya dengan mengambil sebanyak 500 g mahkota bunga telang kemudian dilakukan pengecilan ukuran dengan dipotong-potong dan diperkecil ukurannya hingga halus. Tahap selanjutnya yaitu adalah proses maserasi selama 12 jam pada suhu ruang dan kondisi gelap tertutup.



Gambar 1. Ekstraksi bunga telang (Idrus *et al.*, 2023) dimodifikasi

B. Ekstraksi bunga mawar merah

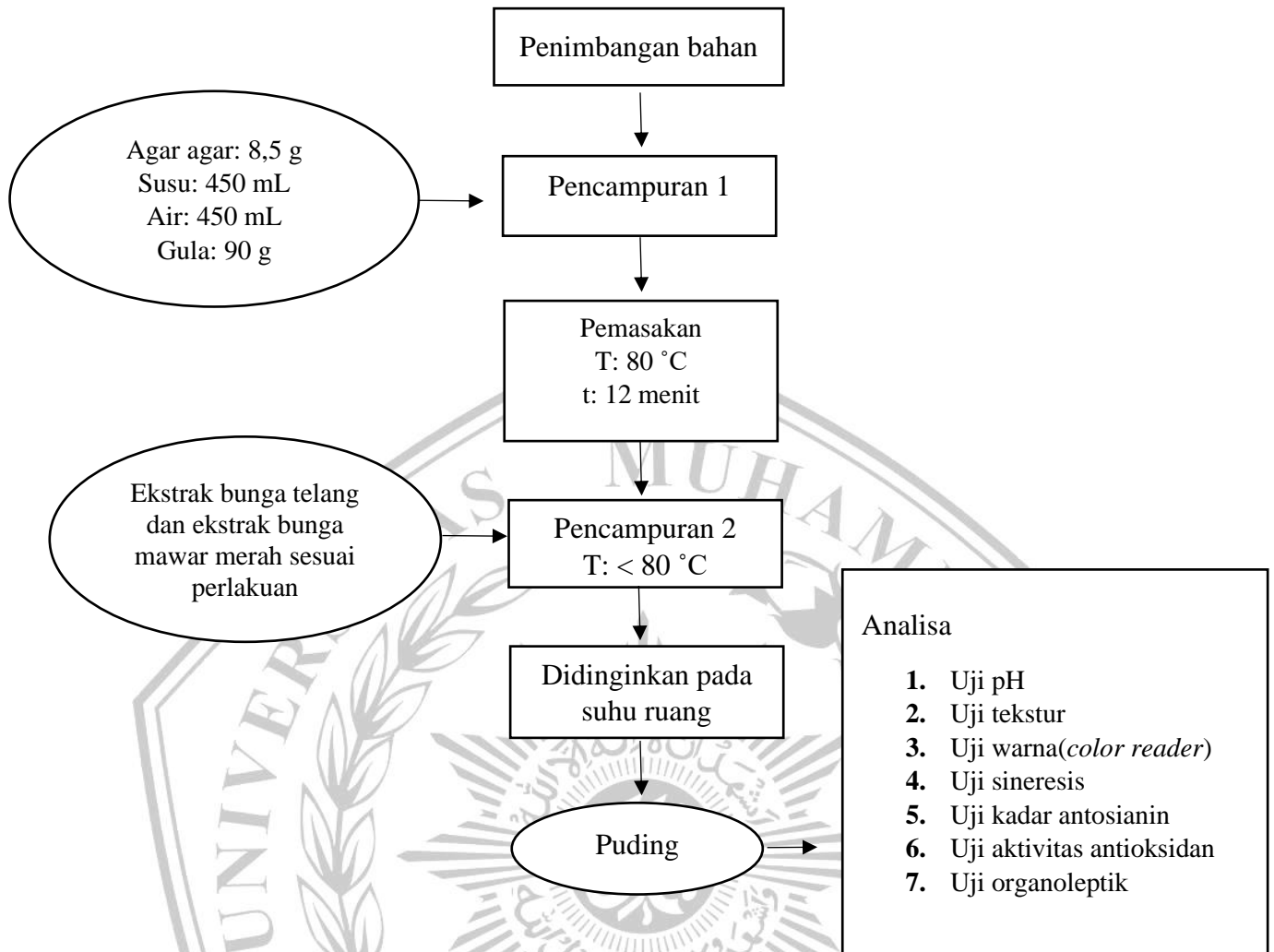
Bunga mawar merah dipilih dengan bunga yang masih baik, berwarna cerah dan tidak kecoklatan sebanyak 500 g, kemudian bunga dipisahkan dari tangkainya dan dicuci, setelah itu bunga mawar merah dipotong kecil-kecil dan diperkecil ukurannya hingga halus, tahap selanjutnya yaitu adalah proses maserasi selama 12 jam pada suhu ruang dan kondisi gelap tertutup.



Gambar 2. Ekstraksi bunga mawar merah (Saati, 2014) dimodifikasi

C. Pembuatan puding

Bahan baku yang telah disiapkan ditimbang dan diukur seperti agar-agar 8,5 g, gula 90 g, air 450 mL, susu 450 mL, ekstrak bunga telang dan ekstrak bunga mawar merah sesuai perlakuan. Kemudian campur agar-agar, gula, dan susu ke dalam panci dan masak dengan api sedang pada suhu 80 °C dengan waktu selama 12 menit kemudian diaduk, ketika sudah mendidih kemudian masukan ekstrak bunga telang dan ekstrak bunga mawar merah sesuai perlakuan dan diaduk, setelah itu adonan puding dimasukan ke dalam cetakan hingga dingin dan masukan kedalam lemari pendingin dengan suhu 10-12 °C.



Gambar 3. Diagram alir pembuatan puding (Faridah & Rahmawati, 2022) dimodifikasi

2.5 Parameter penelitian

A. Uji pH (Gani *et al.*, 2014)

Analisis pH dilakukan dengan alat pH meter. Berikut merupakan tahapan dalam analisis pH. Pada awal pH meter dikalibrasi terlebih dahulu dengan aquades, kemudian dikalibrasi pada buffer pH 4, kemudian sampel disiapkan dan diletakan diwadah sebanyak 80 mL, kemudian ujung elektroda pada pH meter dicelupkan pada sampel puding, dan yang terakhir nilai pH didapatkan dari pembacaan angka yang tertera pada pH meter.

B. Analisis intensitas warna (Rahayuningsih *et al.*, 2022)

Tahap analisis intensitas warna pada sample menggunakan alat yang bernama *color reader*. Berikut merupakan tahapan pada analisis intensitas warna. Pada awal

sampel disiapkan pada wadah plastik bening transparan (*polypropilene*), kemudian membuka penutup lensa dan menghidupkan *Color reader* dengan menekan tombol on, kemudian menekan tombol pengukur warna yang dihadapkan pada sumber cahaya, dan nilai akan keluar pada layar digital dan dicatat.

Nilai color reader terdiri dari L, a, b. L adalah kecerahan, nilai + berarti cerah, nilai – berarti gelap; kemudian nilai a, jika positif (+) berarti merah dan negatif(-) berarti hijau; dan nilai b, jika positif(+) berarti kuning, jika negatif(-) berarti biru.

C. Analisis kekenyalan (*gumminess*) (Abdo Qasem *et al.*, 2016)

Analisis tekstur menggunakan alat yang bernama *tekstur analyzer*. Berikut ini merupakan tahapan dalam analisis tekstur. Pada awal alat diatur dengan sesuai kemudian di kalibrasi, kemudian sampel diletakan pada bagian bawah alat/jarum, dan harus menempel dan ditekan, kemudian dilihat nilai yang tertera, dan kemudian dihitung dan dicatat nilai kekenyalan yang tertera (*gumminess*).

D. Analisis sineresis (Gani *et al.*, 2014)

Analisis sineresis dilakukan selama 3 hari, dengan menimbang semua perlakuan pada berat 40 g, diletakan pada cawan agak lebar, dimasukan ke dalam refrigerator dengan suhu 5-10 °C, setelah 3 hari air yang keluar dipisahkan kemudian ditimbang berat akhirnya dan dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Sineresis} = \frac{\text{Berat awal (g)} - \text{Berat akhir (g)}}{\text{Berat awal (g)}} \times 100\%$$

Keterangan:

Berat awal : berat saat awal ditimbang

Berat akhir: berat saat sudah terpisah dengan air

E. Analisis kadar antosianin (AOAC, 2005)

Prinsip metode perbedaan nilai pH untuk menguji kadar antosianin adalah untuk menghitung semua monomer antosianin. Ini didasarkan pada perubahan struktur kromofor antosianin pada pH 1 dan pH 4,5.

a. Pembuatan larutan Buffer pH 1 dan pH 4,5

Pembuatan buffer pH 1 diawali dengan melarutkan 1,86 g KCl pada 980 mL aquades dan kemudian ditambahkan 6,3 mL HCl 37%. Pembuatan buffer pH 4,5 dengan melarutkan 54,43 g Na-asetat pada 960 mL aquades dan diambahkan 20 mL HCl 37%

b. Analisis Total Antosianin

Sampel diambil dan dilarutkan pada pelarut asam metanol perbandingan 1:5 pada tabung reaksi kemudian ditutup dengan aluminium foil dan dimaserasi pada suhu -23 °C selama 1 jam. Kemudian pengujian antosianin dengan pH differensial, yaitu mengambil masing-masing sampel sebanyak 1 mL dan masing-masing sampel dilarutkan secara terpisah pada tabung reaksi dalam buffer pH 1 sebanyak 9 mL dan buffer pH 4,5 sebanyak 9 mL. kemudian scanning dilakukan pada kedua sampel dengan panjang gelombang maksimal. Selanjutnya dihitung absorbansi pada panjang gelombang maksimal dan panjang gelombang 700 nm dan hasilnya dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$A = (A \lambda_{\text{max}} - A \lambda_{700 \text{ nm}})_{\text{pH 1}} - (A \lambda_{\text{max}} - A \lambda_{700 \text{ nm}})_{\text{pH 4,5}}$$

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

Keterangan :

A: Absorbansi

MW: Berat Molekul cynidin 3-glucoside= 449,2 g/mol

DF: Faktor Pengenceran

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

L: Lebar kuvet (1cm)

F. Analisis aktivitas antioksidan (Van Harling, 2019)

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Berikut adalah Langkah-langkah uji aktivitas antioksidan:

a. Pembuatan larutan induk DPPH dan larutan blanko

Pada awal 4 mg serbuk DPPH dilarutkan menggunakan 20 mL etanol 96% pada botol vial gelap yang sudah dilapisi aluminium foil, kemudian dikocok hingga homogen, kemudian larutan ditutup rapat dan disimpan pada lemari pendingin selama 30 menit. Pembuatan larutan blanko dengan mengambil larutan induk DPPH sebanyak 1 mL dan ditambahkan 4 mL etanol 96% kemudian divortex dan dimasukkan lemari pendingin selama 30 menit, setelah itu diukur absorbansi menggunakan Spektro UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm hingga mencapai absorbansi 0,800 – 1,000.

b. Analisis aktivitas antioksidan

Pada awal sampel ditimbang sebanyak 2 g dan dimaserasi menggunakan 20 mL etanol 96% semalaman, kemudian ekstrak maserasi disaring menggunakan

kertas saring *whatman* 41. Filtrat diambil sebanyak 4 mL kemudian ditambahkan dengan 1 ml larutan DPPH pada tabung reaksi yang sudah dilapisi aluminium foil, kemudian sampel divortex dan disimpan dalam lemari pendingin selama 30 menit, kemudian diukur absorpsi dilakukan pada Panjang gelombang 517 nm dan dihitung dengan menggunakan rumus:

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

G. Analisis organoleptik (Arysanti *et al.*, 2019)

Penilaian sensori pada uji hedonik dilakukan dengan menggunakan 25 panelis tidak terlatih dengan tujuan untuk mengetahui tingkat kesukaan konsumen terhadap puding. Taraf yang digunakan pada uji hedonik organoleptik dengan tingkat kesukaan puding yaitu dengan tingkat rasa, tekstur, aroma dan warna dengan total nilai 1-7 point. Penjelasan 1-7 point tersebut dijelaskan pada tabel 2 dibawah ini:

Tabel 2. Taraf nilai analisis organoleptik

Skor	Rasa	Tekstur	Aroma	Warna
1	Sangat tidak enak	Sangat tidak kenyal	Sangat tidak suka	Sangat tidak Menarik
2	Tidak enak	Tidak kenyal	Tidak suka	Tidak Menarik
3	Agak tidak enak	Agak tidak kenyal	Agak tidak suka	Agak tidak Menarik
4	Agak enak	Agak kenyal	Agak suka	Agak Menarik
5	Enak	Kenyal	Suka	Menarik
6	Sangat enak	Sangat kenyal	Sangat suka	Sangat Menarik
7	Amat sangat enak	Amat sangat kenyal	Amat sangat suka	Amat sangat Menarik

2.6 Analisis data

Analisis data dibantu dengan *software* SPSS. Analisa data diawali dengan uji asumsi berupa uji normalitas dan homogenitas data, setelah itu analisis statistik menggunakan uji *One-Way* ANOVA dari enam sampel perlakuan. Apabila perlakuan berpengaruh signifikan ($< 0,05$) pada parameter pengamatan, maka akan dilanjutkan menggunakan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) $\alpha = 5\%$.