

BAB IV **METODE PENELITIAN**

4.1. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk proses antara lain anggak diproduksi dari isolat kapang *Monascus BSTO I* (Lampiran 1), asam sitrat diperoleh dari toko ‘Indo Aroma’ Jalan Pasar Kembang (Lampiran 2), karagenan dari toko CV. Tristar Chemical (Lampiran 3), gula pasir, air minum dalam kemasan komersial, dan *essence stroberi*, sedangkan bahan yang digunakan untuk analisa adalah akuades steril dan air-minum dalam kemasan komersial.

4.2. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan untuk proses adalah blender merk Phillips, timbangan kasar, *shaker waterbath* GFL 1083 J, autoklaf merk All American model no. 25X, *beaker glass* Iwaki Pyrex, termometer 150°C, bunsen, corong, *kitchen towel*, pipet ukur, pipet volume, gelas ukur, pengaduk, dan *cup* plastik, sedangkan alat-alat yang digunakan untuk analisa meliputi *beaker glass* Iwaki Pyrex, panelis tidak terlatih, timbangan digital Mettler Toledo, pH meter, dan botol semprot.

4.3. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan Desember 2011 di Laboratorium Biokimia Pangan-Gizi, Laboratorium Kimia, serta Laboratorium Pengujian Mutu Pangan dan Uji Sensoris Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

4.4. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang akan digunakan adalah metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari dua faktor, yaitu:
Faktor I: Konsentrasi karagenan yang digunakan, terdiri dari tiga taraf:

K₁ = karagenan 0,3% (b/v)

K₂ = karagenan 0,4% (b/v)

K₃ = karagenan 0,5% (b/v)

Faktor II: Konsentrasi ekstrak angkak yang digunakan, terdiri dari tiga taraf:

A_1 = ekstrak angkak 4% (v/v)

A₂ = ekstrak angkak 6% (v/v)

A₃ = ekstrak angkak 8% (v/v)

Dari kedua faktor tersebut diperoleh sembilan kombinasi perlakuan dengan masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Kesembilan perlakuan tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.1, sedangkan formulasi bahan penyusun *jelly drink* dalam persentase dan ukuran tiap perlakuan (200 mL) untuk pengujian secara objektif dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan Tabel 4.3.

Tabel 4.1. Rancangan Perlakuan

[ekstrak angkak] [karagenan]	A ₁	A ₂	A ₃
K ₁	K ₁ A ₁	K ₁ A ₂	K ₁ A ₃
K ₂	K ₂ A ₁	K ₂ A ₂	K ₂ A ₃
K ₃	K ₃ A ₁	K ₃ A ₂	K ₃ A ₃

Tabel 4.2. Formulasi Bahan Penyusun *Jelly Drink* dalam Persentase

Tabel 4.3. Formulasi Bahan Penyusun *Jelly Drink* per 200 mL

Bahan	Perlakuan								
	K ₁ A ₁	K ₂ A ₁	K ₃ A ₁	K ₁ A ₂	K ₂ A ₂	K ₃ A ₂	K ₁ A ₃	K ₂ A ₃	K ₃ A ₃
Gula (g)	40								
Karagenan (g)	0,6	0,8	1,0	0,6	0,8	1,0	0,6	0,8	1,0
<i>Essence</i> (mL)	0,02								
Asam sitrat (g)	0,2								
Air (mL)	151,18	150,98	150,78	147,18	146,98	146,78	143,18	142,98	142,78
Ekstrak angkak (mL)	8	8	8	12	12	12	16	16	16
Total (mL)	200								

Analisa data dilakukan dengan menggunakan *Analysis of Varians* (Anava) pada $\alpha = 5\%$. Apabila hasil Anava menunjukkan adanya beda nyata maka dilanjutkan dengan uji pembanding berganda. Uji Beda Jarak Nyata Duncan (*Duncan's Multiple Range Test / DMRT*) digunakan untuk membandingkan level perlakuan mana yang berjumlah > 5 , sedangkan uji Beda Nyata Terkecil (*Least Significant Difference / LSD*) digunakan untuk level perlakuan ≤ 5 .

4.5. Pelaksanaan Penelitian

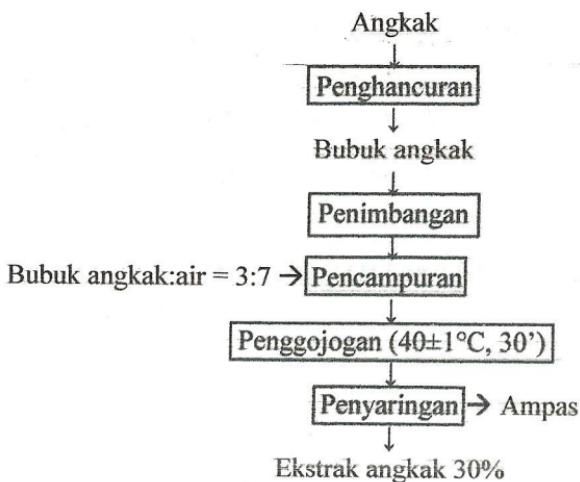
Penelitian direncanakan akan dilaksanakan dalam dua tahap yang meliputi penelitian pendahuluan dan penelitian lanjutan. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk mengetahui kisaran faktor-faktor yang diteliti, serta mengetahui formulasi *jelly drink* yang tepat, sedangkan penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh faktor yang diteliti.

4.5.1. Pembuatan Ekstrak Angkak

Ekstrak angkak dibuat menggunakan akuades sebagai bahan pengekstrak. Keuntungan dari ekstraksi menggunakan akuades yaitu aman, menghindari larutnya citrinin, dan menyebabkan pigmen intraselular berubah menjadi ekstraselular (Gandasusila, 2009). Proses pembuatan ekstrak angkak dapat dilihat pada Gambar 4.1. Tahapan pembuatan ekstrak angkak adalah sebagai berikut.

1. Penghancuran, dilakukan dengan blender biji pada kecepatan 3 selama ± 1 menit untuk mengecilkan ukuran beras angkak menjadi bubuk hingga homogen bila dilihat secara visual.
2. Penimbangan, dilakukan menggunakan timbangan kasar untuk mengukur berat bubuk angkak yang akan digunakan sebesar 30% (b/v).
3. Ekstraksi, dilakukan dengan menambahkan pelarut air sebanyak 70% (v/v).

4. Penggojogan, dilakukan dalam *shaker waterbath* pada suhu 40°C selama 30 menit dengan kecepatan 50 rpm untuk membantu proses ekstraksi agar pigmen angkak dapat lebih mudah terlarut dan diperoleh ekstrak angkak yang homogen, serta menjaga keseragaman kondisi ekstraksi di setiap perlakuan.
5. Penyaringan, dilakukan dengan corong dan *kitchen towel*. Proses ini bertujuan untuk memperoleh hasil ekstrak berupa cairan dengan pigmen angkak terlarut. Sisa penyaringan berupa ampas dari bubuk angkak yang telah terekstrak.



Gambar 4.1. Tahapan Pembuatan Ekstrak Angkak

Sumber: Timotius (2004), Carvalho *et al.* (2005), Leonita (2010)

4.5.2. Pembuatan *Jelly Drink*

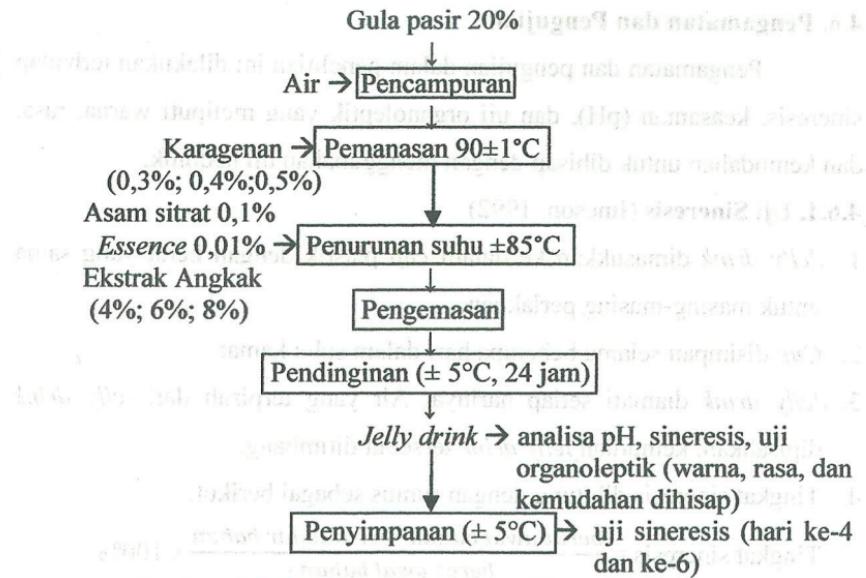
Jelly drink dibuat berdasarkan perbedaan perlakuan konsentrasi karagenan dengan jumlah ekstrak angkak yang ditambahkan. Diagram pembuatan *jelly drink* dapat dilihat pada Gambar 4.2. Tahapan pembuatan *jelly drink* adalah sebagai berikut.

1. Pencampuran

Gula pasir sebanyak 20% (b/v) dicampur dengan air dalam *beaker glass*.

2. Pemanasan

Proses ini disertai dengan pengadukan serta penambahan karagenan sesuai perlakuan hingga mencapai suhu 90°C. Tujuannya yaitu untuk melarutkan gula dan karagenan sampai diperoleh larutan yang homogen.



Gambar 4.2. Tahapan Proses Pengolahan Jelly Drink

Sumber: Nasrullah dkk. (2009) dengan modifikasi

3. Penurunan suhu

Proses ini disertai dengan penambahan asam sitrat sebanyak 0,3% (b/v), essence sebanyak 0,01% (v/v), serta ekstrak angkak sesuai perlakuan, sambil tetap dilakukan pengadukan hingga homogen dan mencapai suhu ± 80°C.

4. Pengemasan

Proses ini dilakukan secara *hot filling* ke dalam *cup* plastik dengan volume 50 mL kemudian ditutup.

5. Pendinginan dan penyimpanan

Proses ini dilakukan dalam *refrigerator* pada suhu $\pm 5^{\circ}\text{C}$ agar terbentuk *jelly* sehingga dihasilkan produk *jelly drink* yang akan diamati dan diuji lebih lanjut.

4.6. Pengamatan dan Pengujian

Pengamatan dan pengujian dalam penelitian ini dilakukan terhadap sineresis, keasaman (pH), dan uji organoleptik yang meliputi warna, rasa, dan kemudahan untuk dihisap dengan menggunakan uji hedonik.

4.6.1. Uji Sineresis (Imeson, 1992)

1. *Jelly drink* dimasukkan ke dalam *cup* plastik dengan berat yang sama untuk masing-masing perlakuan.
2. *Cup* disimpan selama beberapa hari dalam suhu kamar.
3. *Jelly drink* diamati setiap harinya. Air yang terpisah dari *jelly drink* dipisahkan, kemudian *jelly drink* tersebut ditimbang.
4. Tingkat sineresis dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\text{Tingkat sineresis} = \frac{\text{berat awal bahan} - \text{berat akhir bahan}}{\text{berat awal bahan}} \times 100\%$$

Berat awal bahan: berat *jelly drink* awal yang ada dalam *cup*

Berat akhir bahan: berat *jelly drink* akhir setelah air yang terpisah dari *jelly drink* dipisahkan dari produk.

4.6.2. Keasaman (pH) (Manual pH Meter micro BENCH T 12100)

1. Bilas elektroda dan *temperature probe* dengan akuades kemudian menyalaikan pH meter.
2. Celupkan elektroda dan *temperature probe* pada sampel.
3. Tunggu sampai pembacaan pada layar stabil dan indikator 'AUTOLOCK' muncul pada layar.
4. Catat angka yang tertera pada layar pH meter.

4.6.3. Uji Organoleptik

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat kesukaan konsumen terhadap produk *jelly drink*. Uji organoleptik yang dilakukan meliputi warna, rasa, kemudahan untuk dihisap, dan kemudahan untuk ditelan berdasarkan kesukaan panelis, dengan menggunakan skala garis. Metode yang digunakan adalah *Hedonic test*, yang memungkinkan panelis bebas untuk memberikan nilai berdasarkan tingkat kesukaan yang disesuaikan dengan intensitas kesukaan pada tiap garisnya mulai dari tingkat kesukaan terendah hingga tingkat kesukaan tertinggi. Pengujian ini dilakukan kepada 30 orang panelis tidak terlatih dengan masing-masing perlakuan disajikan dalam *cup* plastik sebanyak 25 mL (untuk pengujian rasa, kemudahan ditelan, dan kemudahan dihisap), serta 50 mL (untuk pengujian warna). Kuesioner uji organoleptik terdapat pada Lampiran 4.

DAFTAR PUSTAKA

- Agargel. 2003. *Carrageenan*. <http://www.agargel.com.br/carrageenan-tec.html> (9 November 2011).
- Anggraini, D.S. 2008. Pengaruh Konsentrasi Karagenan dan Tripotassium Sitrat terhadap Sifat Fisikokimia dan Organoleptik *Jelly Drink*, Skripsi S-1, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.
- Ardiansyah. 2006. *Minum Angkak Memurunkan Lemak dan Tekanan Darah*. <http://www.scribd.com/doc/19795074/Minum-angkak-menurunkan-lemak-dan-tekanan-darah> (10 Oktober 2011).
- Belitz, H.D. and W. Grosch. 1987. *Food Chemistry*. Berlin: Springer.
- Carvalho, J.C., B.O. Olshi, A. Pandey, and C.R. Soccol. 2005: Biopigments from Monascus: Strains Selection, Citrinin Production, and Color Stability, *Brazilian Archive of Biology and Technology an International Journal*, 48(6), 885-894.
- Chandra, N. 2009. Pengaruh Perbedaan Proporsi Air dengan Jumlah Ekstrak Angkak yang Ditambahkan dan pH terhadap Sifat Fisik, Jumlah *Bacillus* sp. dan organoleptik pada *Jelly Drink*, Skripsi S-1, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.
- Desrosier, N.W. 1988. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Jakarta: UI Press.
- Erdogrul, O. and S. Azirak. 2005. A Review on the Red Yeast Rice (*Monascus purpureus*), *KSU Journal of Science and Engineering*, 8 (1), 10-15.
- Fardiaz, S. 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi.
- Frando, E.E. 2011. *Pigmen Angkak*. http://www.agrilands.net/read/full_agriwacana/2011/02/18/pigmen-angkak.html (10 Oktober 2011).
- Gandasusila, R.S. 2009. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Angkak dan Lama Penyimpanan pada Suhu Rendah terhadap Penghambatan *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, dan *Bacillus subtilis*, Skripsi S-1, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.
- Glicksman, M. 1969. *Gum Technology in the Food Industry*. New York: Academic Press.

- Hamano, P.S., S.F.B. Orozco, and B.V. Kilikian. 2005. Concentration Determination of Extracellular and Intracellular Red Pigments Produced by *Monascus* sp., *Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal*, 48, 43-49.
- Hesseltine, C. W. 1965. Millenium of Fungi, Food, and Fermentation, *Mycologia*, 57 (2), 149-197.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia I*. Departemen Kehutanan Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan.
- Istini, S., A. Zatnika, dan Suhaimi. 1985. *Manfaat dan Pengolahan Rumput Laut*. <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB882E/AB882E14.htm#refIn> (10 Oktober 2011).
- Julianti, R. 2010. *Ekstrak Sari Buah dan Jelly Drink*. <http://www.scribd.com/doc/34639530/Ekstrak-Sari-Buah-Dan-Jelly-Drink> (31 Oktober 2011).
- Kanoni, S. 2008. Kajian tentang Keamanan Zat Warna dari *Monascus Purpureus*, Prosiding Seminar Nasional Pangan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Koswara, S. 2006. *Cara Sederhana Membuat Jam dan Jelly*. <http://www.ebookpangan.com/ARTIKEL/JAM%20DAN%20JELLY.pdf> (10 Oktober 2011).
- Kurnia, R. 2010. *Ekstraksi dengan Pelarut*. <http://lordbroken.wordpress.com/2010/02/17/ekstraksi-pelarut/> (10 Oktober 2011).
- Leonita, A. 2010. Pengaruh Penambahan Ekstrak Angkak pada Berbagai Konsentrasi terhadap Sifat Fisik, Kimia, Mikrobiologis, dan Organoleptik pada Saus Tomat, Skripsi S-1, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.
- Ma, J.Y., Y. Li, Q. Ye, J. Li, Y. Hua, D. Ju, D. Zhang, R. Cooper, and M. Chang. 2000. Constituents of Red Yeast Rice, a Traditional Chinese Food and Medicine, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5220-5225.
- Margono, T., D. Suryati, dan S. Hartinah. 1993. *Buku Panduan Teknologi Pangan*. Pusat Informasi Wanita dalam Pembangunan PDII-LIPI bekerjasama dengan Swiss Development Cooperation.
- Mydas, C. 2011. *Penentuan Kadar Sukrosa pada Minuman*. <http://jejaringkimia.blogspot.com/2009/06/penentuan-kadar-sukrosa-pada-minuman.html> (10 Oktober 2011).

- Nasrullah, F., F. Chandra, dan D. Natalia. 2009. Jelly Drink Rosella – Aloe Vera: Minuman Kesehatan Berbahan Baku Lokal, *Laporan Akhir NFIC*, Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian, Bogor.
- Ophardt, C.E. 2003. *Sucrose*. <http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/546sucrose.html> (10 Oktober 2011).
- Pattanagul, P., R. Pinthong, A. Phianmongkhon, and N. Leksawasdi. 2007. Review of Angkak Production (*Monascus purpureus*), *J. Sci.*, 34 (3), 319-328.
- Permana, D.R., S. Marzuki, D. Tisnadjaja. 2004. Analisis Kualitas Produk Fermentasi Beras (Red Fermented Rice) dengan *Monascus purpureus* 3090, *Biodiversitas*, 5(1), 7-12.
- Pomeranz, Y. 1991. *Functional Properties of Food Components*. 2nd ed. New York: Academic Press, Inc.
- Purdue University. 2009. *Guar and Locust Bean Gums*. <http://www.cfs.purdue.edu/class/f&n630/pdfs/guarandLBg.pdf> (9 November 2011)
- Rahayu, E.S. 1993. *Bahan Pangan Hasil Fermentasi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Rindiastuti, Y. 2008. Potensi Angkak Merah untuk Terapi Nutrisi Mengatasi Dislipidemia pada Diabetes Melitus Tipe 2, *Proposal Penelitian*, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Solo.
- Ristiarini, S., N. Kusumawati, I. Srianta. 2010. Isolasi *Monascus* sp dari Angkak yang Beredar di Surabaya dan Studi Potensinya untuk Produksi Pigmen Monascus, *Laporan Penelitian*, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya.
- Schmitt, M. and P. Blanc. 2001. *Microbial Biotechnology Part 2. Innovative Aspects in Biotechnology of Eukaryotes*. Sofia: Investpress Co.
- Schoenberger, C., M. Krottenthaler, and W. Back. 2002. Sensory and Analytical Characterization of Nonvolatile Taste-Active Compounds in Bottom-Fermented Beers, *Master Brewers Association of the Americans*, 39 (4), 210-217.
- Steinkraus, K.H. 1977. *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. New York: Institute of Science Cornell University.

- Steinkraus, K.H. 1983. *Handbook of Indigenous Fermented Food*. Volume IX. New York: Marcel Dekker.
- Suharna, N. 2009. Variasi Intraspesies *Monascus purpureus* dalam Berbagai Sampel Angkak dari Jawa Timur, *Berita Biologi*, 9(5), 577-583.
- Timotius, K.H. 2004. Produksi Pigmen Angkak oleh *Monascus*, *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 15 (1), 79-86.
- Warintek. 2002. *Permen Jelly*. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/pangan/ipb/Permen%20jelly.pdf (10 Oktober 2011).
- William, P.A. and G.O. Philips. 2000. *Handbook of Hydrocolloids*. New York: Woodhead Publishing Limited.
- Winarno, F.G. 1990. *Teknologi Pengolahan Rumput Laut*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia.
- Yongsmith, B. 1999. *Fermentative Microbiology of Vitamins and Pigments*. 1st ed. Thailand: Kasetsart University Press.