

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan Jurusan Gizi Poltekkes Medan pada tanggal 29 Januari 2024 untuk uji organoleptik yang bertujuan mendapatkan puding dadih susu kerbau dengan penambahan ekstrak buah harimonting yang paling disukai panelis. Kemudian penelitian ini dilanjutkan untuk analisis kandungan vitamin A, C, dan E pada puding yang dilaksanakan pada tanggal 01 s/d 12 Februari 2024 di Laboratorium Saraswanti Indo Genetech Bogor.

B. Jenis Dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini bersifat deskriptif kualitatif. Dimana suatu metode yang bertujuan menampilkan data tanpa adanya proses pengolahan data. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menyajikan gambaran secara lengkap mengenai suatu kejadian atau dimaksudkan untuk mengekspos dan mengklarifikasi suatu fenomena yang terjadi. Untuk mengetahui kandungan vitamin A, vitamin C dan juga vitamin E pada puding dadih susu kerbau (*Bubalus bubalis*) dengan penambahan ekstra buah harimonting (*Rhodomyrtus tomentosa*).

C. Prosedur Pengiriman Sampel

Sampel pada penelitian ini yaitu puding dadih susu kerbau dengan penambahan ekstra buah harimonting yang paling disukai panelis pada uji organoleptik terhadap mutu fisik di laboratorium Teknologi Pangan Jurusan Gizi Lubuk Pakam. Puding yang paling disukai panelis yaitu puding dadih susu kerbau dengan dadih 100 gram dan penambahan 60 gram ekstrak buah harimonting. Kemudian sampel dijemput ke Kampus Jurusan Gizi Lubuk Pakam oleh penanggung jawab laboratorium Saraswanti Bogor sebanyak 300 gram, dikemas dalam cup puding dan di wrapping lalu dimasukkan ke dalam styrofoam box berisi ice gel agar puding tetap aman sampai tujuan. Kemudian puding akan dianalisis untuk mengetahui kandungan vitamin A, C, dan E.

D. Prosedur Analisis Vitamin A, C, Dan E

1. Preparasi Standar

A. Preparasi Standar Vitamin A

- a. Ditimbang 55 ± 0.1 mg retinyl acetate ke dalam labu ukur 100 mL
- b. Dilarutkan dengan < 3 mL aseton sampai larut lalu ditambahkan Etanol 95% sampai tanda tera lalu dihomogenkan (Larutan induk Vitamin A asetat 500 mg/L stabil selama 2 minggu dalam suhu 4°C dan terhindar dari cahaya)
- c. Dipipet 20 mL larutan induk ke dalam piala gelas 100 mL
- d. Ditambahkan 20 mL etanol 95% dan 50 mg asam pirogalat, dihomogenkan
- e. Dilewatkan gas nitrogen sebelum dipanaskan
- f. Ditambahkan KOH 50% sebanyak 10 mL
- g. Kocok larutan dan panaskan dalam waterbath pada suhu $+ 80^{\circ}\text{C}$ selama 45 menit, kocok setiap 10 menit
- h. Larutan didinginkan dan ditambahkan 10 mL asam asetat glasial, didinginkan kembali hingga suhu ruang
- i. Dipindahkan larutan ke dalam labu ukur 100 mL, dihipitkan larutan dengan THF-etanol 95% (1:1) dan dihomogenkan
- j. Didiamkan selama 1 jam pada suhu ruang atau selama 24 jam dalam lemari pendingin (Larutan Standar Vitamin A 100 mg/L).

B. Preparasi Standar Vitamin C

- a. Disiapkan larutan baku vitamin C 1000 ppm sebanyak 50 ml menggunakan labu ukur 50 ml
- b. Jumlah vitamin C baku adalah sebanyak 50 mg dan ditambahkan aquabides sebanyak 50 ml kemudian dihomogenkan.

C. Preparasi Standar Vitamin E

- a. Ditimbang 25 ± 0.1 mg tocopherol ke dalam labu ukur 25 mL
- b. Larutkan dengan metanol, himpitkan hingga tanda tera lalu dihomogenkan. (Larutan Standar Vitamin E 1000 mg/L)

- c. Dipipet 1 mL larutan standar vitamin E 1000 mg/L ke dalam labu ukur 10 mL, encerkan dengan pelarut hingga tanda tera, lalu dihomogenkan. (Larutan Standar Vitamin E 100 mg/L)

2. Penentuan Kadar Vitamin A, C, Dan E

- a. Ditimbang sampel yang telah dihomogenkan ke dalam piala gelas 100 mL (≤ 10 gram untuk sampel dengan lemak $\leq 40\%$, ≤ 2 gram untuk sampel dengan lemak tinggi, ditambahkan 3 mL air untuk sampel yang mengandung gula tinggi, 25 mL untuk sampel cair).
- b. Ditambahkan etanol 95% sebanyak 40 mL untuk sampel dengan lemak $<40\%$, 40 mL untuk sampel dengan lemak tinggi, 15 mL untuk sampel cair, ditambahkan asam pirogalat sebanyak 50 mg dan dilewatkan gas nitrogen sebelum dipanaskan.
- c. Ditambahkan KOH 50% sebanyak 10 mL.
- d. Dikocok larutan dan dipanaskan dalam waterbath pada suhu $+ 80^{\circ}\text{C}$ selama 45 menit, dikocok setiap 10 menit
- e. Didinginkan larutan
- f. Ditambahkan 10 mL asam asetat glasial, didinginkan kembali hingga suhu ruang
- g. Larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL, dihipitkan larutan dengan THF-etanol 95% (1:1) dan dihomogenkan
- h. Didiamkan selama 1 jam pada suhu ruang atau selama 24 jam dalam lemari pendingin
- i. Disaring larutan sampel dengan PTFE $0.45\ \mu\text{m}$ ke dalam vial dan diinjeksikan ke sistem HPLC

3. Perhitungan Kadar Vitamin A, C, Dan E

$$\text{Kadar Vitamin (ppm,mg/L,mg/kg)} = \frac{A_{\text{spl}} - a)/b \times V \text{ (ml)} \times f_p}{W_{\text{spl}} \text{ atau } V_{\text{spl}}}$$

Dimana:

A.spl = Luas area sampel

A = Intercept dari kurva kalibrasi standar

B = Slope dari kurva kalibrasi standar

Fp = Faktor pengenceran sampel

V = Volume labu akhir sampel (ml)

E. Jenis dan Cara Pengumpulan Data

Jenis data pada penelitian ini adalah data sekunder yang diperoleh dari hasil uji laboratorium analisis kandungan vitamin A, vitamin C, dan vitamin E dengan menggunakan metode 18-5-1/MU/SMM-SIG (HPLC-PDA) untuk vitamin A dan vitamin E sedangkan vitamin C menggunakan metode 18-5-19/MU/SMM-SIG (HPLC-PDA).