

Pengaruh Fortifikasi Pigmen Antosianin Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap Mutu Organoleptik dan Aktivitas Antioksidan *Nugget* Tempe



I LUH CHANDENY

H031201033



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**Pengaruh Fortifikasi Pigmen Antosianin Kulit Buah Naga Merah
(*Hylocereus polyrhizus*) terhadap Mutu Organoleptik dan Aktivitas
Antioksidan *Nugget Tempe***

I LUH CHANDENY

H031201033



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**Pengaruh Fortifikasi Pigmen Antosianin Kulit Buah Naga Merah
(*Hylocereus polyrhizus*) terhadap Mutu Organoleptik dan Aktivitas
Antioksidan *Nugget* Tempe**

I LUH CHANDENY

H031201033

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Kimia

pada

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

SKRIPSI
**PENGARUH FORTIFIKASI PIGMEN ANTOSIANIN KULIT BUAH NAGA
MERAH (*Hylocereus polyrhizus*) TERHADAP MUTU ORGANOLEPTIK
DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN NUGGET TEMPE**

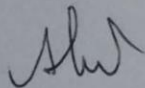
I LUH CHANDENY
H031201033

Skripsi,

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Program Studi Kimia pada
tanggal 27 Agustus 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada

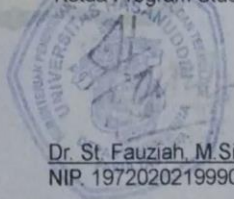
Program Studi Kimia
Departemen Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:
Pembimbing Tugas Akhir,



Prof. Dr. Ahyar Ahmad
NIP.196712311991031020

Mengetahui:
Ketua Program Studi,



Dr. St. Fauziah, M.Si
NIP. 197202021999032002

**PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Pengaruh Fortifikasi Pigmen Antosianin Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) terhadap Mutu Organoleptik dan Aktivitas Antioksidan *Nugget Tempe*" adalah benar karya saya dengan arahan dari Prof, Dr. Ahyar Ahmad sebagai Pembimbing Utama. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar 08 Agustus 2024



H031201033

UCAPAN TERIMA KASIH

Om Swastyastu

Om awignam astu namo sidham

Segala puji dan syukur penulis haturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia yang tak terhingga, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “ Pengaruh Fortifikasi Pigmen Antosianin Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap Mutu Organoleptik dan Aktivitas Antioksidan *Nugget Tempe.*” Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk diperoleh gelar sarjana dari Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan baik dari segi isi pembahasan maupun sistematika penulisan sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran untuk dapat memperbaiki kekurangan penulis dikemudian hari.

Selama penelitian sampai dengan tersusunnya skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada berbagai pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Kepada orang tua penulis, Ibunda Ni Putu Junedi dan Ayahanda Nyoman Wibawa serta saudara-saudara penulis, terima kasih yang tak terhingga atas segala cinta kasih, doa, pengertian seta dukungan yang telah dilakukan. Kepada Bapak Prof. Dr. Ahyar Ahmad selaku dosen pembimbing dalam penelitian ini, penulis mengucapkan terima kasih banyak atas segala bantuan yang diberikan baik berupa bimbingan, kritik, saran, serta motivasi yang membantu penulis selama proses penulisan skripsi ini hingga selesai.

Demikian pula penulis mengucapkan terima kasih kepada:

- Ibu Dr. St. Fauziah, S.Si, M.Si selaku Ketua Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta jajarannya
- Bapak dan Ibu dosen Departemen Kimia yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Laboran dan pegawai Departemen Kimia, terima kasih atas bantuan yang telah diberikan dari awal hingga akhir
- Saya sendiri, I Luh Chandeny, terima kasih telah bertahan selama proses perkuliahan dan proses penyusunan tugas akhir ini
- Para sahabat, terima kasih telah memberikan semangat dan dukungan dari awal hingga akhir

- Teman-teman seperjuangan, Kimia 2020 UNHAS (ISOMER), atas kebersamaannya baik suka dan duka selama perkuliahan
- Serta berbagai pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih.

Penulis hanya berharap semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan. Akhirnya hanya ucapan terima kasih banyak yang dapat penulis haturkan kepada semua pihak yang mungkin terlupa untuk dituliskan.

Makassar, 08 Agustus 2024

Penulis

ABSTRAK

I LUH CHANDENY. **Pengaruh Fortifikasi Pigmen Antosianin Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap Mutu Organoleptik dan Aktivitas Antioksidan Nugget Tempe** (dibimbing oleh Prof. Dr. Ahyar Ahmad).

Latar belakang. Senyawa antosianin dalam kulit buah naga merah memiliki potensi sebagai antioksidan yang baik, namun bagaimana pengaruh penambahan antosianin kulit buah naga merah ke dalam *nugget* tempe belum diketahui. **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penambahan antosianin kulit buah naga merah yang diharapkan dapat menghasilkan *nugget* tempe dengan karakteristik dan kandungan gizi terutama kandungan antioksidan yang baik. **Metode.** Penelitian ini dibagi menjadi tiga tahap, yakni: 1) ekstraksi dan karakterisasi antosianin pada kulit buah naga merah; 2) pembuatan *nugget* tempe dengan berbagai perlakuan yaitu penambahan antosianin sebanyak 0%, 5%, dan 10%; 3) Uji organoleptik dan uji aktivitas antioksidan antosianin dan *nugget* tempe yang diperoleh. Analisis organoleptik dilakukan dilakukan oleh 20 orang panelis yaitu mahasiswa kimia Universitas Hasanuddin dan datanya diolah dengan program SPSS 23. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) dan dianalisis dengan Spektrofotometer UV-Vis. **Hasil.** Penambahan antosianin kulit buah naga merah terhadap warna diperoleh nilai signifikansi (sig) bernilai $0,04 < 0,05$, terhadap aroma diperoleh nilai signifikansi (sig) bernilai $0,003 < 0,05$, dan terhadap tekstur diperoleh nilai signifikansi (sig) bernilai $0,219 > 0,05$. Nilai IC_{50} yang diperoleh pada penelitian ini yaitu antosianin kulit buah naga merah sebesar $385,0959 \mu\text{g/mL}$, variasi penambahan 0% ekstrak sebesar $647,9170 \mu\text{g/mL}$, variasi penambahan 5% ekstrak sebesar $626,1679 \mu\text{g/mL}$, dan variasi penambahan 10% ekstrak sebesar $587,3364 \mu\text{g/mL}$. **Kesimpulan.** Penambahan antosianin kulit buah naga merah berpengaruh terhadap rasa dan aroma, namun tidak berpengaruh terhadap tekstur dari *nugget* tempe yang diperoleh. Penambahan antosianin kulit buah naga merah dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dari *nugget* tempe yang diperoleh.

Kata kunci: antosianin; antioksidan; fortifikasi; kulit buah naga merah; *nugget* tempe.

ABSTRACT

I LUH CHANDENY. **Effect of Anthocyanin Pigment Fortification of Red Dragon Fruit Peel (*Hylocereus polyrhizus*) on Organoleptic Quality and Antioxidant Activity of Tempeh *Nuggets*** (supervised by Prof. Dr. Ahyar Ahmad).

Background. Anthocyanin compounds in red dragon fruit skin have the potential as a good antioxidant, but how the effect of adding anthocyanin from red dragon fruit skin into tempeh *nuggets* is not yet known. **Purpose.** This study aims to analyze the effect of the addition of red dragon fruit skin anthocyanins which are expected to produce tempeh *nuggets* with characteristics and nutritional content, especially good antioxidant content. **Methods.** This research is divided into three stages, namely: 1) extraction and characterization of anthocyanins in red dragon fruit skin; 2) preparation of tempeh *nuggets* with various treatments, namely the addition of anthocyanins as much as 0%, 5%, and 10%; 3) Organoleptic test and antioxidant activity test of anthocyanins and tempeh *nuggets* obtained. Organoleptic analysis was conducted by 20 panelists, namely chemistry students of Hasanuddin University and the data were processed with the SPSS 23 program. Antioxidant activity test was carried out by DPPH (2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method and analyzed by UV-Vis Spectrophotometer. **Results.** The addition of red dragon fruit skin anthocyanins to the color obtained a significance value (sig) worth $0.04 < 0.05$, to the aroma obtained a significance value (sig) worth $0.003 < 0.05$, and to the texture obtained a significance value (sig) worth $0.219 > 0.05$. The IC_{50} value obtained in this study is red dragon fruit skin anthocyanin of $385.0959 \mu\text{g/mL}$, variation addition of 0% extract of $647.9170 \mu\text{g/mL}$, variation addition of 5% extract of $626.1679 \mu\text{g/mL}$, and variation addition of 10% extract of $587.3364 \mu\text{g/mL}$. **Conclusion.** The addition of red dragon fruit peel anthocyanins affects the taste and aroma, but has no effect on the texture of the tempeh *nuggets* obtained. The addition of red dragon fruit skin anthocyanins can increase the antioxidant activity of the obtained tempeh *nuggets*.

Keywords: anthocyanin; antioxidant; fortification; red dragon fruit skin tempeh *nuggets*.

DAFTAR ISTILAH

| Istilah | Arti dan penjelasan |
|------------------------|---|
| Absorbansi | rasio intensitas cahaya yang diserap dengan intensitas cahaya yang datang |
| Degeneratif | beberapa penyakit kronis yang muncul akibat penurunan fungsi organ atau jaringan |
| Degradasi | berkaitan dengan sebuah penurunan, kemunduran, ataupun kemerosotan |
| Ekstrak | sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian, hingga memenuhi baku yang ditetapkan |
| Ekstraksi | proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut, pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya |
| Fortifikasi | metode penambahan vitamin serta mineral tertentu ke dalam bahan pangan yang merupakan sebuah peluang dalam menyediakan pangan bergizi bagi seluruh lapisan masyarakat, terlebih lagi bagi populasi rawan gizi |
| % Inhibisi | menggambarkan kemampuan senyawa antioksidan dalam sampel untuk menangkap radikal bebas pada konsentrasi larutan uji |
| Nilai IC ₅₀ | konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal bebas DPPH |
| Organoleptik | pengujian yang didasarkan pada proses penginderaan |
| Signifikan | benar, berarti, bermakna, istimewa, penting, relevan, dan substansial |

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

| Lambang/singkatan | Arti dan penjelasan |
|--------------------------|---|
| λ_{maks} | panjang gelombang maksimum |
| DPPH | 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil. |
| FTIR | fourier transform infrared spectroscopy |
| L | liter |
| M | molar |
| mL | mililiter |
| mM | milimolar |
| nm | nanometer |
| °C | derajat celcius |
| p.a | pro analisa |
| pH | potential of hydrogen |
| ppm | bagian perjuta |
| sig | signifikan |
| UV-Vis | ultraviolet-visibel |
| WHO | world health organization |
| μg | mikrogram |

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| PERNYATAAN PENGAJUAN | ii |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | iii |
| PERNYATAAN KEASLIAN SRIPSI | iv |
| UCAPAN TERIMA KASIH..... | v |
| ABSTRAK | vii |
| ABSTRACT | viii |
| DAFTAR ISTILAH | viii |
| DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG..... | ix |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR TABEL | xiii |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xv |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Teori | 9 |
| 1.3 Rumusan Masalah | 9 |
| 1.4 Tujuan Penelitian | 9 |
| 1.5 Manfaat Penelitian | 3 |
| 2.1 Bahan Penelitian | 10 |
| 2.2 Alat Penelitian | 10 |
| 2.3 Waktu dan Tempat Penelitian..... | 10 |
| 2.4 Prosedur Penelitian..... | 10 |
| 2.4.1 Preparasi Sampel..... | 10 |
| 2.4.2 Ekstraksi Kulit Buah Naga Merah | 10 |
| 2.4.3 Identifikasi Senyawa Pigmen Antosianin | 11 |
| 2.4.4 Analisis Kadar Total Antosianin dengan Spektrofotometer | 11 |
| 2.4.5 Pembuatan <i>Nugget</i> Tempe dengan Penambahan Pigmen UV-Vis Antosianin Kulit Buah Naga Merah | 12 |
| 2.4.6 Uji Organoleptik..... | 12 |
| 2.4.7 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM | 12 |

| | |
|---|-----------|
| 2.4.8 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) | 12 |
| 2.4.9 Pembuatan Larutan Induk Asam Askorbat | 12 |
| 2.4.10 Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat dengan Metode DPPH | 13 |
| 2.4.11 Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak dan <i>Nugget</i> Tempe dengan Metode DPPH | 13 |
| BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN | 14 |
| 3.1 Ekstraksi Antosianin dari Kulit Buah Naga Merah | 14 |
| 3.2 Identifikasi Senyawa Antosianin | 14 |
| 3.3 Penentuan Kadar Antosianin | 17 |
| 3.4 Uji Organoleptik <i>Nugget</i> Tempe..... | 18 |
| 3.4.1 Warna..... | 19 |
| 3.4.2 Aroma..... | 19 |
| 3.4.3 Tekstur | 20 |
| 3.4.4 Rasa | 21 |
| 3.5 Analisis Aktivitas Antioksidan..... | 22 |
| BAB IV KESIMPULAN | 28 |
| 4.1 Kesimpulan | 28 |
| DAFTAR PUSTAKA | 29 |
| LAMPIRAN..... | 33 |

DAFTAR TABEL

| No urut | Halaman |
|--|---------|
| 1. Uji identifikasi warna antosianin | 14 |
| 2. (λ_{maks}) antosianin pada penelitian sebelumnya | 15 |
| 3. Bilangan gelombang antosianin dengan analisis FTIR..... | 17 |
| 4. Kadar total antosianin ekstrak etanol kulit buah naga merah | 17 |
| 5. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah naga merah | 23 |
| 6. Aktivitas antioksidan <i>nugget</i> tempe | 23 |
| 7. Aktivitas antioksidan asam askorbat sebagai kontrol positif | 24 |
| 8. Tingkat kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} | 24 |
| 9. Nilai IC_{50} dan tingkat kekuatan antioksidan dari ekstrak etanol kulit buah naga merah dan variasi <i>nugget</i> tempe serta pembandingan | 25 |

DAFTAR GAMBAR

| No urut | Halaman |
|---|---------|
| 1. <i>Nugget</i> | 4 |
| 2. Tempe Kedelai | 5 |
| 3. Buah Naga Merah | 6 |
| 4. Struktur Antosianin | 7 |
| 5. Panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) ekstrak etanol buah naga | 15 |
| 6. Gugus fungsi dalam ekstrak etanol kulit naga merah | 16 |
| 7. Hasil uji organoleptik warna | 19 |
| 8. Hasil uji organoleptik aroma | 20 |
| 9. Hasil uji organoleptik tekstur | 21 |
| 10. Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas | 26 |
| 11. Reaksi senyawa sianidin dengan DPPH | 27 |

DAFTAR LAMPIRAN

| No urut | Halaman |
|---|---------|
| 1. Diagram Alur Penelitian | 33 |
| 2. Bagan Kerja | 34 |
| 3. Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) | 41 |
| 4. Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks}) DPPH..... | 42 |
| 5. Gugus-gugus Fungsi yang terdapat dalam Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah (<i>Hylocereus polyrhizus</i>) | 43 |
| 6. Perhitungan Pembuatan Larutan pH 1 dan pH 4,5 | 44 |
| 7. Perhitungan Pembuatan Larutan DPPH dan Pembuatan Deret | 45 |
| 8. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah dan Kadar Total Antosianin | 47 |
| 9. Kurva Aktivitas Asam Askorbat | 48 |
| 10. Kurva Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah | 50 |
| 11. Kurva Aktivitas <i>Nugget</i> Tempe dengan Penambahan 0% Ekstrak | 52 |
| 12. Kurva Aktivitas <i>Nugget</i> Tempe dengan Penambahan 5% Ekstrak | 54 |
| 13. Kurva Aktivitas <i>Nugget</i> Tempe dengan Penambahan 10% Ekstrak | 56 |
| 14. Penilaian Panelis terhadap Warna <i>Nugget</i> Tempe | 58 |
| 15. Penilaian Panelis terhadap Aroma <i>Nugget</i> Tempe | 59 |
| 16. Penilaian Panelis Terhadap Tekstur <i>Nugget</i> Tempe | 60 |
| 17. Uji Signifikan Univariat (<i>Tests of Between Subjects Effects</i>) | 61 |
| 18. Uji Post Hoc (<i>Duncan test</i>) | 63 |
| 19. Syarat mutu organoleptik <i>nugget</i> ayam menurut SNI 6683-2014 | 62 |
| 20. Dokumentasi Penelitian | 65 |

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit degeneratif merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia saat ini. Menurut World Health Organization (WHO), badan lembaga kesehatan dari Perserikatan Bangsa Bangsa (PBB), terdapat hampir sekitar 17 juta orang meninggal dunia setiap tahunnya sebagai akibat dari penyakit degeneratif (Nuzul et al., 2022). Penyakit degeneratif merupakan penyakit yang disebabkan oleh penurunan fungsi sel, jaringan, dan organ tubuh seiring dengan bertambahnya usia seseorang, beberapa diantaranya yaitu kanker, jantung dan stroke (Rosdiana, 2014). Penyakit degeneratif muncul seiring dengan pola hidup yang buruk seperti kurang beraktifitas, kurang memperhatikan makro dan mikro nutrien pada pola makan serta kurangnya pengetahuan dalam mencegah penyakit (Marwiati et al., 2021). Penyakit degeneratif dipicu oleh adanya radikal bebas berlebih di dalam tubuh sehingga menyebabkan kerusakan di berbagai bagian sel. Tubuh manusia sesungguhnya dapat menetralkan radikal bebas dengan antioksidan yang diproduksi tubuh, tetapi jumlahnya seringkali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh, sehingga diperlukan asupan makanan sumber antioksidan yang berasal dari luar tubuh (Aina et al., 2020).

Makanan diperlukan oleh manusia untuk mempertahankan kehidupannya. Makanan berasal dari bahan pangan yang telah atau tidak mengalami pengolahan. Makanan telah banyak diinovasi di era yang semakin modern seperti saat ini (Aina et al., 2020). Inovasi makanan mempengaruhi semua tahapan proses produksi pangan, mulai dari bahan mentah, pengembangan formulasi, hingga pemrosesan. Proses pengolahan di bidang pangan yang semakin berkembang akan mendukung dihasilkannya produk-produk olahan yang semakin beragam yang banyak digemari dan beredar dipasaran. Salah satu produk olahan yang digemari oleh masyarakat adalah makanan beku yang bahan utamanya adalah daging sebagai produk hasil peternakan yang dikenal dengan *nugget* (Rohaya et al., 2013).

Nugget merupakan salah satu produk pangan berprotein yang kini menjadi tren konsumsi pangan praktis oleh masyarakat. *Nugget* merupakan bentuk lain dari daging olahan yang digiling dan dibumbui yang kemudian dilapisi dengan bahan pengikat tepung, pelumuran tepung roti, dan digoreng setengah matang kemudian dibekukan untuk mempertahankan mutunya selama penyimpanan (Suhaemi et al., 2021). *Nugget* yang dijual dipasaran sebagian besar terbuat dari daging ayam tanpa adanya penambahan sayur atau buah di dalamnya sehingga rendah zat gizi mikro. Oleh karena itu, kandungan vitamin C dan antioksidan dalam sayur atau buah yang tinggi sangat baik untuk ditambahkan dalam pembuatan *nugget* (Aina et al., 2020). Selain dibuat dari bahan daging dan ikan, *nugget* juga dapat dibuat dari bahan nondaging (vegetarian) seperti tempe (Rohaya et al., 2013). Tempe merupakan produk olahan kedelai yang terbentuk atas jasa kapang jenis *Rhizopus sp.* terutama spesies *Rhizopus oligosporus*, melalui proses fermentasi. Banyak perubahan yang

terjadi selama proses fermentasi kedelai menjadi tempe, baik perubahan fisik, biokimia, maupun mikrobiologi, yang semuanya sangat menguntungkan terhadap sumbangan gizi dan kesehatan (Aryanta, 2020).

Cara pembuatan *nugget* dengan bahan utama tempe tidak jauh berbeda dengan *nugget* yang berbahan utama daging ayam atau ikan. Setiap 100 gram tempe mengandung protein 20,8 gram, lemak 8,8 gram, serat 1,4 gram, kalsium 155 mg, fosfor 326 mg, dan zat besi 4 mg. Mutu protein tempe lebih tinggi jika dibandingkan dengan kedelai rebus. Tempe memiliki padatan terlarut 34% sedangkan kedelai rebus 14%, nitrogen terlarut tempe sebesar 39%, kedelai rebus 6,5%, asam amino bebas pada tempe 7,3-12%, kedelai rebus 0,5%, dan daya cerna tempe sebesar 83%, sedangkan kedelai rebus 75% (Bastian et al., 2013). *Nugget* tempe juga dapat divariasikan dengan menambahkan bahan pangan lainnya dengan tujuan menambah nilai gizi atau memberi warna alami yang menambah daya tarik dari *nugget* yang dibuat.

Buah naga merupakan tumbuhan yang berasal dari daerah beriklim tropis kering. Pertumbuhan buah naga dipengaruhi oleh suhu, kelembaban udara, keadaan tanah dan curah hujan. Buah naga merupakan salah satu buah yang banyak digemari oleh masyarakat karena memiliki khasiat dan nilai gizi yang cukup tinggi. Jenis buah naga yang telah dibudidayakan ada empat, antara lain buah naga daging putih (*Hylocereus undatus*), buah naga daging merah (*Hylocereus polyrhizus*), buah naga daging super merah (*Hylocereus costaricensis*), dan buah naga kulit kuning daging putih (*Selenicereus megalanthus*) (Anwar, 2020). Sebanyak 30-35% bagian dari buah naga adalah kulit buah yang seringkali dibuang sebagai sampah. Kulit buah naga mengandung zat warna alami antosianin yang cukup tinggi. Antosianin merupakan pigmen golongan flavonoid. Salah satu fungsi dari antosianin adalah sebagai antioksidan di dalam tubuh. Antosianin dengan gugus hidroksi bebas mempunyai aktivitas dalam mengikat radikal dan adanya gugus hidroksi lebih dari satu akan meningkatkan aktivitas antioksidannya (Sani, 2018). Antosianin merupakan zat warna yang berperan memberikan warna merah yang berpotensi menjadi pewarna alami untuk pangan dan dapat dijadikan alternatif pengganti pewarna sintetis yang lebih aman bagi kesehatan. Beberapa hasil penelitian tentang kulit buah naga telah dilakukan. Keunggulan dari kulit buah naga yaitu kaya polifenol dan merupakan antioksidan, kulit buah naga juga mengandung vitamin C, vitamin E, vitamin A, alkaloid, terpenoid, flavonoid, tiamin, niasin, piridoksin, kabolamin, fenolik, karoten dan fitoalbumin (Anwar, 2020).

Antioksidan adalah suatu senyawa atau komponen kimia yang dalam kadar atau jumlah tertentu mampu menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi. Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi. Efek antioksidan senyawa fenolik dikarenakan sifat oksidasi yang berperan dalam menetralisasi radikal bebas (Sayuti & R., 2015). Antioksidan dapat berupa antioksidan sintetik dan alami. Penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi karena dapat bersifat karsinogenik. Bahan pangan alami yang mengandung antioksidan diantaranya kedelai, tempe, rempah-rempah, teh, coklat, dedaunan, biji-biji sereal, buah-buahan dan sayur-sayuran (Sajidah et al., 2018).

Nugget tempe memiliki kadar air (49,8-51,1 % b/b), kadar lemak (14,95-17,52% b/b) dan karbohidrat (15,4-19,6% b/b) (Asatawan, 2014). *Nugget* tempe tinggi protein (12,93-14,15% b/b) dan mengandung isoflavin yang mempunyai kemampuan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan yang terkandung dalam produk olahan tempe dapat ditingkatkan dengan menambahkan bahan pangan lain yang juga mengandung antioksidan (Sajidah et al., 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Madane et al (2020) melaporkan bahwa kulit buah naga dapat digunakan sebagai serat pangan antioksidan dan penggabungannya secara signifikan meningkatkan kualitas, penerimaan, dan umur simpan *nugget* ayam. Sehingga kulit buah naga dapat dijadikan sebagai bahan tambahan makanan yang dapat disubstitusi pada *nugget* tempe. Adanya senyawa yang bermanfaat dalam tempe dan kulit buah naga inilah yang melatarbelakangi penelitian ini, sehingga penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh penambahan pigmen antosianin kulit buah naga merah yang diharapkan dapat menghasilkan *nugget* tempe dengan karakteristik dan kandungan gizi terutama kandungan antioksidan yang baik.

1.2 Teori

1.2.1 Penyakit Degeneratif

Penyakit degeneratif secara umum didefinisikan sebagai penyakit yang disebabkan oleh proses penurunan fungsi organ tubuh yang umumnya terjadi pada usia tua. Penyakit degeneratif merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia. Menurut World Health Organization (WHO) menjelaskan bahwa setiap tahun terdapat sekitar tujuh belas juta orang meninggal dunia akibat penyakit degeneratif. Beberapa penyakit degeneratif terdiri dari hipertensi, stroke, penyakit kardiovaskuler, *diabetes melitus*, *rheumatoid arthritis*, *gouth arthritis* digolongkan dalam penyakit tidak menular (Nuzul et al., 2022). Penyakit degeneratif dipicu karena adanya radikal bebas berlebih di dalam tubuh sehingga menyebabkan kerusakan di berbagai bagian sel. Tubuh manusia sesungguhnya dapat menetralkan radikal bebas dengan antioksidan yang diproduksi tubuh, tetapi jumlahnya seringkali tidak cukup untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh, sehingga diperlukan asupan makanan sumber antioksidan yang berasal dari luar tubuh (Aina et al., 2020).

Penyakit degeneratif adalah penyakit tidak menular yang berlangsung kronis karena kemunduran fungsi organ tubuh akibat proses penuaan (Fatihaturahmi & A., 2023). Penyakit degeneratif memiliki korelasi yang cukup kuat dengan bertambahnya proses penuaan usia seseorang, meski faktor keturunan cukup berperan besar. Ini terjadi karena perubahan pola atau gaya hidup, termasuk pola konsumsi makanan, di samping itu malnutrisi yang lama pada lansia akan mengakibatkan kelemahan otot dan kelelahan karena energi yang menurun (Sriyanah, 2023).

Perubahan gaya hidup masyarakat perihal konsumsi makanan terutama dipicu oleh peningkatan disektor pendapatan ekonomi, kesibukan kerja yang tinggi dan promosi makanan *trendy* asal barat, utamanya *fast food* yang populer di Amerika dan Eropa, namun tidak diimbangi dengan pengetahuan dan kesadaran gizi. Akhirnya budaya makan berubah menjadi tinggi lemak jenuh dan gula, serta rendah serat dan

rendah zat gizi mikro. Perubahan sosial ekonomi dan selera makan akan mengakibatkan perubahan pola makan masyarakat yang cenderung menjauhkan konsep makanan yang seimbang, sehingga berdampak negatif terhadap kesehatan dan gizi. Pola makan tinggi lemak jenuh dan gula, serta rendah serat dan rendah zat gizi mikro akan menyebabkan masalah kegemukan, gizi lebih, serta meningkatkan radikal bebas yang akhirnya mengakibatkan munculnya penyakit degeneratif (Fatihaturahmi & A., 2023).

1.2.2 Nugget

Nugget merupakan makanan populer yang berada dikalangan masyarakat dunia khususnya Indonesia. *Nugget* banyak tersedia di pasaran seperti *minimarket* dan *supermarket*. *Nugget* yang sering dijumpai adalah *nugget* dengan bahan utama daging ayam dan ikan, sedangkan *nugget* dengan bahan utama tempe masih sangat jarang dijumpai di pasaran (Nurhayatun et al., 2020).

Nugget merupakan salah satu makanan yang banyak digemari oleh berbagai macam kalangan usia, terutama anak-anak. *Nugget* dikenal sebagai makanan pendamping lauk, namun saat ini *nugget* telah mengalami pergeseran fungsi menjadi jajan. Jenis *nugget* yang umum dijumpai adalah *nugget* dengan bahan utama daging ayam yang biasanya dikonsumsi oleh kalangan menengah keatas karena harganya yang relatif mahal. Masyarakat menengah kebawah biasa menikmati *nugget* dengan mengganti bahan utamanya dengan tempe yang harganya relatif lebih murah dan memiliki kandungan gizi yang tinggi (Syahrianti et al., 2022).



Gambar 1. *Nugget* (Ayu & Sormin, 2020)

Cara pembuatan *nugget* tempe tidak jauh berbeda dengan *nugget* daging ayam atau *nugget* ikan. Bahan pengisi dan bahan dasar menentukan karakteristik *nugget* yang dihasilkan. Bahan dasar yang biasa digunakan adalah daging ayam, ikan, udang, dan ranjungan yang merupakan bahan utamanya, sedangkan bahan pengisi berupa tepung terigu, tepung tapioka ataupun tepung maizena (Rohaya et al., 2013). *Nugget* tempe tinggi protein (12,93-14,15% b/b) dan mengandung isoflavon yang mempunyai kemampuan sebagai antioksidan (Sajidah et al., 2018).

1.2.3 Tempe

Tempe merupakan makanan asli tradisional masyarakat Indonesia yang sangat populer sebagai makanan yang murah dan memiliki kandungan protein tinggi

serta banyak manfaatnya bagi kesehatan manusia (Wahyudi, 2018). Tempe adalah makanan tradisional Indonesia yang diminati hampir di seluruh dunia. Banyak kaum vegetarian yang mengonsumsi tempe sebagai pengganti daging (Andayani & S., 2017). Tempe dikenal sebagai makanan fermentasi yang berasal dari bahan dasar kedelai. Namun, beberapa inovasi tempe lainnya menggunakan kacang-kacangan seperti kacang merah sebagai pengganti kacang kedelai (Safitry et al., 2021).



Gambar 2. Tempe Kedelai (Barus et al., 2021)

Fermentasi kedelai pada pembuatan tempe membutuhkan peran kapang khususnya *Rhizopus sp.* Contoh kapang yang banyak digunakan dalam pembuatan tempe adalah *Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus*. Kapang ini nantinya akan membentuk benang-benang halus berwarna putih (hifa) yang akan tumbuh di permukaan biji kedelai yang nantinya akan menyatu membentuk miselium berwarna putih (Ellent et al., 2022). Keberadaan jamur pada tempe yang ditunjukkan dengan adanya miselium berwarna putih mampu memproduksi beberapa enzim, seperti enzim protease yang mampu menguraikan protein sehingga menjadi peptida yang lebih pendek serta asam amino bebas, selain itu juga dihasilkan enzim lipase yang akan menguraikan lemak sehingga menjadi asam lemak, serta juga memproduksi enzim amilase yang dapat menguraikan karbohidrat kompleks menjadi karbohidrat yang sederhana (Suknia, 2020).

Produksi tempe di Indonesia sebagian besar masih dilakukan dengan cara tradisional. Hal ini dikarenakan pelaku usaha tempe berasal dari kalangan industri rumah tangga. Produksi diawali dengan merendam kedelai dengan air panas, memisahkan kedelai dari kulitnya, dikukus, dan akhirnya diberi tepung tapioka secara merata (Alvina et al., 2019). Pengeringan dilakukan pada kedelai sebelum ragi diberikan. Dosis pemberian ragi dapat berpengaruh pada kualitas tempe yang dihasilkan nantinya setelah pemeraman selama 24 jam. Selain dosis pemberian ragi, jenis bungkus yang digunakan pada tempe juga memengaruhi kualitas tempe pada akhirnya (Kristiadi & T, 2022).

1.2.4 Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Buah naga (*Hylocereus sp*) merupakan tanaman jenis kaktus yang berasal dari Amerika Tengah, Amerika Selatan, dan Meksiko. Tanaman ini mempunyai nilai ekonomi yang tinggi karena buahnya berkhasiat obat yaitu dapat menurunkan kadar gula darah, mencegah kanker usus, penguat fungsi ginjal dan tulang, pelindung

kesehatan mulut, pencegah pendarahan, menguatkan daya kerja otak, dan meningkatkan ketajaman mata. Tanaman buah naga di Indonesia termasuk tanaman semusim atau tahunan yang mempunyai nilai jual yang tinggi karena disukai oleh semua masyarakat baik orang dewasa maupun anak-anak (Yustin et al., 2021).

Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan buah yang hidup dan tumbuh pada daerah tropis. Menurut Waladi et al (2015), sekitar 30-35% kulit buah naga merah tidak dimanfaatkan dan hanya dibuang padahal kulit buah naga merah memiliki kandungan gizi yang tinggi. Salah satu kandungan kulit buah naga merah antosianin yang memiliki manfaat sebagai pewarna alami makanan. Kandungan lainnya yang terdapat pada kulit buah naga adalah protein, lemak, karbohidrat, dan serat pangan berbentuk pektin. Selain itu kulit buah naga merah juga mengandung senyawa bioaktif yaitu antioksidan. Buah naga merah merupakan tumbuhan yang termasuk golongan kaktus. Klasifikasi buah naga merah menurut (Sigarlaki & A., 2016), adalah sebagai berikut:

Divisi : Spermatohyta
 Subdivisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledonae
 Ordo : Cactales
 Famili : Cactaceae
 Subfamili : Hylocereanae
 Genus : *Hylocereus*
 Spesies : *Hylocereus polyrhizus*

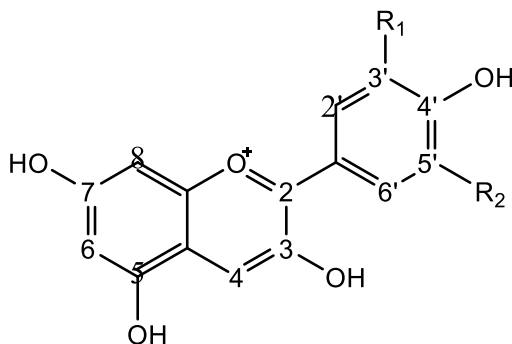


Gambar 3. Buah Naga Merah (Mariana et al., 2023)

Morfologi buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yaitu buah naga merah termasuk tanaman tidak lengkap karena tidak memiliki daun. Buah naga merah hanya memiliki akar, batang, buah bunga, biji dan cabang. Akar buah naga merah tidak hanya tumbuh dipangkal batang tetapi ada juga pada celah-celah batang. Fungsi akar pada celah batang yaitu agar dapat melekat pada tumbuhan lain. Akar pelekat ini memungkinkan buah naga tetap tumbuh walaupun tanpa tanah. Kulit buah naga dapat dimanfaatkan menjadi ekstrak dan kemudian digunakan sebagai bahan dasar pangan fungsional yang ditambahkan dalam suatu produk dengan memanfaatkan kandungan senyawa antioksidan antosianin dan serat pangan yang baik untuk kesehatan (Ekawati & Syahraeni, 2015).

1.2.5 Antosianin

Antosianin termasuk dalam senyawa golongan flavonoid yang mengakibatkan warna merah, ungu, dan biru pada tanaman (bunga, sayur, dan buah-buahan). Antosianin memiliki ciri khas yaitu mengalami perubahan warna pada pH tertentu. Antosianin pada kondisi pH yang sangat asam (pH 1-2) cenderung berwarna (jingga-ungu) yaitu ketika berada dalam bentuk kation flavilium. Pada pH di atas 4, antosianin berada pada bentuk kalkon yang berwarna kuning, basa quinoid yang berwarna biru, atau basa karbinol tidak berwarna. Sifat antosianin yang dapat berubah warna pada pH yang berbeda ini memungkinkan untuk diaplikasikan sebagai indikator titrasi asam-basa (Meganingtyas & M., 2021). Struktur kimia antosianin cenderung kurang stabil dan mudah mengalami degradasi, stabilitas antosianin diantaranya dipengaruhi oleh pH dan temperatur. Antosianin lebih stabil pada larutan asam dibanding larutan basa. Antosianin memberikan serapan maksimum di daerah sinar tampak, yaitu pada daerah 505-535 nm. Degradasi pada antosianin cenderung meningkat selama proses penyimpanan apabila diiringi dengan kenaikan suhu. Degradasi termal menyebabkan hilangnya warna pada antosianin yang akhirnya terjadi pencoklatan. Kenaikan suhu bersamaan dengan pH dapat menyebabkan degradasi antosianin.



Gambar 4. Struktur Antosianin

Metode ekstraksi antosianin yang pernah dilakukan sebelumnya yaitu menggunakan cara sederhana, yakni dengan cara maserasi dan soxhletasi. Proses ekstraksi antosianin dipengaruhi oleh jumlah *solvent* dan temperatur. Semakin asam pH antosianin pada saat disimpan maka semakin baik kestabilan zat warna. Penyimpanan pada 10°C dan tanpa terpapar cahaya lebih baik daripada penyimpanan pada suhu kamar dan terpapar cahaya (Purwaniati et al., 2020). Antosianin merupakan pigmen warna yang tersebar pada tanaman yang dapat diaplikasikan sebagai pewarna alami pada produk pangan. Antosianin diyakini memiliki efek antioksidan yang baik. Kandungan antioksidan pada bahan pangan berfungsi untuk memperpanjang umur simpan karena sifatnya yang dapat menghambat degradasi komponen organik dalam bahan pangan (Hasanah & Suyanto, 2022).

1.2.6 Radikal Bebas

Radikal bebas didefinisikan sebagai molekul yang membawa satu atau lebih elektron tak berpasangan dan mampu eksis secara independen. Radikal bebas memiliki jumlah elektron ganjil sehingga berumur pendek, sangat reaktif, dan tidak stabil. Radikal bebas dapat bereaksi dengan cepat dengan molekul lain dengan menangkap elektron untuk menjadi stabil. Radikal bebas akan menjadi seimbang dengan mengambil elektron pada molekul lain dalam tubuh untuk mencapai stabilitas yang berpotensi merusak biomolekul seperti lipid, protein, dan DNA (Theafelicia & N, 2023). Sementara itu molekul yang menjadi radikal bebas disebabkan kehilangan elektron dan memulai reaksi berantai sehingga menyebabkan kerusakan pada sel. Contoh radikal bebas adalah termasuk radikal superoksida (O_2^{\cdot}), hidroksil (OH^{\cdot}), nitrogen monoksida (NO^{\cdot}) dan nitrogen dioksida (NO_2^{\cdot}). Reaktivitas tinggi dari radikal ini adalah karena adanya satu elektron tak berpasangan sehingga cenderung menyumbangannya atau untuk mendapatkan elektron lain untuk mencapai stabilitas (Suryadinata, 2018).

Radikal bebas pada tubuh manusia tidak hanya diperoleh dari endogen (hasil produk metabolisme sel secara normal), namun juga dapat diperoleh dari sumber eksogen (polusi udara, asap kendaraan, asap rokok). Reaksi radikal yang terjadi terus menerus dalam tubuh apabila tidak dihentikan akan mengakibatkan berbagai penyakit degeneratif. Penyakit yang ditimbulkan bersifat kronis, seperti serangan jantung, kanker, katarak, dan penurunan fungsi ginjal (Fawwaz et al., 2023).

1.2.7 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal efek negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat dihambat. Antioksidan merupakan substansi yang mampu mencegah atau memperlambat terjadinya proses oksidasi akibat adanya radikal bebas dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif tersebut, sehingga kerusakan sel akan dihambat. Antioksidan berdasarkan sumbernya dibagi menjadi dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik memiliki kelemahan yaitu bersifat toksik, sedangkan antioksidan alami lebih aman digunakan. Oleh karena itu, antioksidan alami yang bersumber dari tumbuhan sangat diperlukan. Antioksidan yang digunakan saat ini banyak bersumber dari buah-buahan maupun sayur-mayur (Widuri & Mediawati, 2017). Beberapa contoh makanan sumber antioksidan antara lain vitamin A seperti wortel, brokoli, sayur hijau, bayam, labu, hati, kentang, telur, aprikot, mangga, susu dan ikan. Sumber vitamin C seperti lada (merica), cabe, peterseli, jambu biji, kiwi, brokoli, taoge, kesemek, pepaya, stroberi, jeruk, lemon, bunga kol, bawang putih, anggur, raspberri, jeruk, kepruk, bayam, tomat dan nanas. Sumber vitamin E seperti asparagus, alpukat, buah zaitun, bayam, kacang-kacangan, biji-bijian, minyak sayur, sereal. Sumber polifenol seperti buah beri, teh, bir, anggur, minyak zaitun, cokelat, kopi, buah kenari, kacang, kulit buah, buah delima dan minuman anggur (Sayuti & R., 2015).

1.2.8 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH

Salah satu uji yang dilakukan untuk menentukan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH(2-2-difenil-1-pikrihidrazil). Metode DPPH merupakan metode uji untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Metode ini lebih sering digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan karena ini lebih secara cepat, sederhana, dan tidak membutuhkan biaya yang mahal (Muthia et al., 2019). Aktivitas antioksidan pada DPPH diukur berdasarkan transfer elektron yang dilakukan antioksidan. Senyawa DPPH akan menghasilkan radikal bebas aktif bila dilarutkan dalam alkohol. Absorbansi berkurang ketika radikal bebas DPPH dihambat oleh antioksidan melalui donor hidrogen untuk membentuk DPPH stabil. Reaksi tersebut menyebabkan terjadinya perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Aktivitas antioksidan diketahui melalui nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi sampel yang menyebabkan hilangnya 50% dari aktivitas DPPH (Mulia & Hasan, 2016).

1.3 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. bagaimana pengaruh penambahan pigmen antosianin kulit buah naga merah terhadap mutu organoleptik yang meliputi warna, aroma, dan tekstur pada *nugget* tempe?
2. bagaimana pengaruh penambahan pigmen antosianin kulit buah naga merah terhadap aktivitas antioksidan pada *nugget* tempe?
3. bagaimana kombinasi yang terbaik dalam pembuatan *nugget* tempe dengan penambahan pigmen antosianin kulit buah naga merah?

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. menentukan mutu organoleptik yang meliputi warna, aroma, dan tekstur pada *nugget* tempe dengan penambahan pigmen antosianin kulit buah naga merah
2. menentukan aktivitas antioksidan pada *nugget* tempe dengan penambahan pigmen antosianin kulit buah naga merah
3. menentukan kombinasi terbaik dalam pembuatan *nugget* tempe dengan penambahan pigmen antosianin kulit buah naga merah

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi kepada masyarakat terkait pentingnya antioksidan pada produk pangan olahan lokal yang bersumber dari limbah kulit buah naga merah dan memberikan kontribusi bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), tempe, tepung terigu, gula, garam, lada, telur, minyak goreng, larutan DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), asam askorbat (Merck), akuades, etanol p.a (Merck), HCl 1%, HCl 2 M, HCl 37 %, NaOH 2 M, CH₃COOH 0,2 M, CH₃COONa 0,2, pH universal, kertas saring Whatman No. 42, *aluminium foil*, plastik wrap, *tissue roll* dan label.

2.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender, neraca kasar, neraca analitik, pisau *stainless stell*, loyang, talenan, pengukus, wajan, baskom, sendok, *freezer*, botol vial gelap, corong *buchner*, *rotary vacuum evaporator*, spektrofotometer UV-Vis T60 (PG Instruments), spektrofotometer IRPrestige-21 (Shimadzu), dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Mei di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Organik, dan Laboratorium Terpadu, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Preparasi Sampel

Kulit buah naga yang digunakan adalah yang sudah matang dan berwarna merah. Kulit buah naga dicuci bersih dengan air kemudian dikeringanginkan ditempat yang terlindungi dari sinar matahari, lalu dipotong kecil-kecil, kemudian dihaluskan dengan blender.

2.4.2 Ekstraksi Kulit Buah Naga Merah

Sebanyak 90 g sampel kulit buah naga merah yang telah halus diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol p.a dan HCl 1% dengan perbandingan voume 9:1 sebanyak 300 mL. Maserasi dilakukan selama 24 jam sebanyak 5 kali, kemudian disaring dan filtratnya ditampung dalam botol vial gelap. Kemudian filtrat tersebut disatukan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat etanol kemudian ditimbang beratnya, dihitung rendamen menggunakan persamaan berikut.

$$\text{Rendamen ekstrak} = \frac{\text{bobot total ekstrak}}{\text{bobot total serbuk sampel}} \times 100\% \quad (1)$$

2.4.3 Identifikasi Senyawa Pigmen Antosianin

2.4.3.1 Identifikasi Reaksi Warna

a. Reaksi Warna dengan HCl

Ekstrak kulit buah naga merah merah dilarutkan dengan etanol lalu dipanaskan selama 5 menit pada suhu 100 °C kemudian ditambahkan dengan HCl 2 M setetes demi tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan warna merah yang tidak pudar.

b. Reaksi Warna dengan NaOH

Ekstrak kulit buah naga merah merah dilarutkan dengan etanol lalu dipanaskan selama 5 menit pada suhu 100 °C, kemudian ditambahkan dengan NaOH 2 M setetes demi tetes. Hasil positif ditunjukkan dengan warna merah yang berubah menjadi hijau biru dan memudar perlahan-lahan.

2.4.3.2 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak yang diperoleh kemudian diidentifikasi panjang gelombang maksimumnya pada rentang panjang gelombang 465-560 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrum yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan spektrum senyawa antosianin standar.

2.4.3.3 Identifikasi Gugus Fungsi dengan FTIR

Ekstrak yang diperoleh kemudian diidentifikasi gugus fungsinya dengan menggunakan FTIR, kemudian dibandingkan dengan gugus fungsi senyawa antosianin standar.

2.4.4 Analisis Kadar Total Antosianin dengan Spektrofotometer UV-Vis

2.4.4.1 Pembuatan Larutan pH 1,0 dan pH 4,5

a. Larutan pH 1,0

Larutan HCl 37 % dipipet sebanyak 0,4145 mL ke dalam labu ukur 50 mL, kemudian ditambahkan akuades hingga tanda batas.

b. Larutan pH 4,5

Padatan CH₃COONa sebanyak 1,640 gram dilarutkan dengan akuades ke dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas. Kemudian larutan CH₃COONa dipipet sebanyak 15,8 mL dan ditambahkan 50 mL CH₃COOH 0,2 M.

2.4.4.2 Analisis Kadar Total Antosianin

Dua larutan sampel disiapkan dari masing-masing filtrat, pada sampel pertama digunakan larutan pH 1 dan sampel kedua digunakan larutan pH 4,5. Masing-masing sampel dilarutkan berdasarkan faktor pengenceran. Kemudian dibiarkan selama beberapa menit sebelum diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi dari setiap larutan pada panjang gelombang maksimum dan panjang gelombang 700 nm. Kadar total antosianin dapat dihitung dengan menggunakan rumus pada persamaan 1 dan 2 :

$$A = (A_{\lambda_{\text{maks}}} - A_{700})_{\text{pH 1}} - (A_{\lambda_{\text{maks}}} - A_{700})_{\text{pH 4,5}} \quad (2)$$

$$\text{Total antosianin (mg/L)} = A \times \text{BM} \times \text{DF} \times 1000 / e \times 1 \quad (3)$$

Keterangan, BM = berat molekul sianidin-3-glukosida (449,2 g/mol)

DF = faktor pengenceran

e = absorptivitas molar sianidin-3glukosida (26.900 L/(mol.cm))

1 = tebal kuvet (1 cm)

2.4.5 Pembuatan *Nugget* Tempe dengan Penambahan Pigmen Antosianin Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Tahap pembuatan *nugget* tempe yaitu tempe dikukus selama 30 menit, kemudian dihaluskan dan dibagi menjadi 3 adonan. Dicampurkan 50 gram tepung terigu dengan 100 gram tempe yang telah dikukus. Ditambahkan sebanyak 1 gram lada, 2 gram garam, 1 gram gula, dan ekstrak pigmen antosianin kulit buah naga (0%, 5%, dan 10%) untuk masing-masing adonan. Adonan kemudian dikukus selama 20 menit. Setelah *nugget* tempe matang, *nugget* didinginkan pada suhu ruang selama 15 menit. Kemudian *nugget* dipotong dengan ukuran 3 x 2 cm. Selanjutnya *nugget* dicelupkan ke dalam telur dan ditaburi tepung roti dan kemudian disimpan dalam *freezer* selama 12 jam.

2.4.6 Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan berdasarkan tingkat kesukaan dengan menggunakan skala hedonik. Penilaian terhadap mutu organoleptik *nugget* tempe penambahan ekstrak kulit buah naga merah meliputi: warna, aroma dan tekstur. Skala penilaian terdiri dari lima tingkatan, yaitu 1 (sangat tidak suka); 2 (tidak suka); 3 (netral); 4 (suka); 5 (sangat suka). Panelis terdiri dari 20 mahasiswa prodi kimia dan setiap panelis diberikan format penilaian dan diminta memberikan tanggapan secara pribadi terhadap sampel yang disajikan.

2.4.7 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Pembuatan larutan DPPH dilakukan dengan cara serbuk DPPH ditimbang sebanyak 0,0157 g kemudian dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu ukur hingga volume 100 mL, lalu dihomogenkan.

2.4.8 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{maks})

Sebanyak 1 mL DPPH ditempatkan dalam tabung reaksi, ditambah etanol p.a sebanyak 4 mL, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450-545 nm terhadap blanko 5,0 mL etanol p.a, diplotkan harga absorbansi maksimum.

2.4.9 Pembuatan Larutan Induk Asam Askorbat

Asam askorbat ditimbang sebanyak 0,005 g dilarutkan dengan 10 mL etanol p.a, dihomogenkan sehingga didapatkan larutan asam askorbat konsentrasi 500 ppm. Kemudian asam askorbat 500 ppm dipipet 0,1 mL kemudian ditambahkan

etanol p.a sebanyak 9,9 mL sehingga didapatkan larutan asam askorbat konsentrasi 5 ppm dengan volume total 10 mL.

2.4.10 Penentuan Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan asam askorbat dilakukan dengan membuat deret standar asam askorbat dengan cara memipet asam askorbat konsentrasi 5 ppm masing-masing 0,25 mL; 0,5 mL; 1 mL; 2 mL dan 4 mL ke dalam tabung reaksi yang berbeda untuk membuat deret standar 0,25 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm dan 4 ppm. Masing-masing larutan campuran di dalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM. Setelah itu larutan asam askorbat ditambahkan etanol p.a masing-masing 3,75 mL; 3,5 mL; 3 mL; 2 mL, dan 0 mL sehingga didapatkan volume total 5 mL untuk masing-masing deret standar. Setelah deret standar diinkubasi dengan ditempatkan pada ruangan gelap pada suhu ruang selama 30 menit. Deret standar kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm.

2.4.11 Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Nugget Tempe dengan Metode DPPH

Sampel ditimbang sebanyak 0,01 g dan dilarutkan dalam 20 mL etanol p.a sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 500 ppm. Larutan masing-masing dipipet sebanyak 0,1 mL, 0,2 mL, 0,4 mL, 0,8 mL, dan 1,6 mL, untuk membuat deret ukur 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm dan 160 ppm. Setelah itu larutan deret ukur ditambahkan masing-masing 1 mL larutan DPPH 0,4 mM kemudian ditambahkan etanol p.a masing-masing 3,9 mL; 3,8 mL; 3,6 mL; 3,2 mL dan 2,4 mL, sehingga didapatkan volume total 5 mL. Kemudian larutan deret ukur dan larutan kontrol diinkubasikan pada suhu ruang selama 30 menit di ruang yang gelap. Kemudian diukur pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan akan ditentukan oleh besarnya serapan DPPH dengan perhitungan inhibisi (%) serapan DPPH sebagai berikut:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban blanko}} \times 100 \quad (4)$$

Keterangan:

- Absorban blanko: serapan radikal DPPH dengan panjang gelombang 517nm
- Absorban sampel: serapan sampel dalam radikal DPPH dengan panjang gelombang 517 nm.

Nilai IC_{50} masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier dengan sumbu x konsentrasi sampel dan sumbu y % inhibisi. Rumus untuk menentukan nilai IC_{50} yaitu:

$$y = ax + b \quad (5)$$

$$IC_{50} = \frac{y - b}{a} \quad (6)$$

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad (7)$$