**Lampiran 1. Prosedur Analisis Kimia**

1. Penentuan kadar total Antosianin dengan metode Spektrofotometri (pH differensial) (AOAC, 2006).

Tujuan: Untuk menentukan konsentrasi total antosianin dalam jus ubi jalar ungu

Prinsip: Berdasarkan penyerapan cahaya polikromatis yang diubah menjadi monokromatis yang sesuai dengan hukum Lambert-Beer. Adsorban sampel yang terukur merupakan cahaya yang diteruskan oleh foto tube dan diubah menjadi energi listrik yang terukur pada panjang gelombang tertentu.

* Penentuan Total Antosianin dengan metode pH Differensial

Penetapan antosianin dilakukan dengan metode perbedaan pH yaitu pH 1,0 dan pH 4,5. Pada pH 1,0 antosianin berbentuk senyawa berwarna oxonium dan pada pH 4,5 berbentuk karbinol tak berwarna. Hal tersebut dapat dilakukan dengan membuat suatu alikuot larutan antosianin dalam air yang pH-nya 1,0 dan 4,5 untuk kemudian diukur absorbansinya.

* Pembuatan larutan buffer pH 1,0 dan pH 4,5

Untuk pembuatan buffer pH 1,0 digunakan KCl sebanyak 1,49 gram dilarutkan dalam 100 ml aquades. Sebanyak 25 ml larutan KCl dipipet dan ditambah dengan 48,5 ml larutan HCl pekat dan ditandabataskan sampai dengan 100ml dalam labu takar. Sedangkan untuk larutan buffer pH 4,5 digunakan C6H8O7 (asam sitrat) sebanyak 2,101 g dilarutkan dalam 100 ml (A), dan C6H5O7Na32H2O (Na.sitrat) sebanyak 2,941 g dilarutkan dalam 100 ml (B). Kemudian 26,75 ml larutan A dan 23,25 ml larutan B dipipet kedalam labu takar dan ditandabataskan sampai 100 ml.

* Pengukuran dan perhitungan konsentrasi antosianin total
* Faktor pengenceran yang tepat untuk sampel harus ditentukan terlebih dahulu dengan cara melarutkan sampel dengan buffer KCl pH 1 hingga diperoleh absorbansi kurang dari 1,2 pada panjang gelombang 510 nm.
* Selanjutnya diukur absorbansi aquades pada pajang gelombang yang akan digunakan (510 dan 700 nm) untuk mencari titik nol. Panjang gelombang 510 nm adalah panjang gelombang maksimum untuk sianidin-3-glukosida sedangkan panjang gelombang 700 nm untuk mengoreksi endapan yang masih terdapat pada sampel. Jika sampel benar-benar jernih maka absorbansi pada 700 nm adalah 0.
* Dua larutan sampel disiapkan, pada sampel pertama digunakan buffer KCl dengan pH 1 dan untuk sampel kedua digunakan buffer Na-asetat dengan pH 4,5. Masing-masing sampel dilarutkan dengan larutan buffer berdasarkan DF (dilution faktor / faktor pengenceran) yang sudah ditentukan sebelumnya. Sampel yang dilarutkan menggunakan buffer pH 1 dibiarkan selama 15 menit sebelum diukur, sedangkan untuk sampel yang dilarutkan dengan buffer pH 4,5 siap diukur setelah dibiarkan bercampur selama 5 menit.
* Absorbansi dari setiap larutan pada panjang gelombang 510 dan 700 nm diukur dengan buffer pH 1 dan buffer 4,5 sebagai blankonya.
* Absorbansi dari sampel yang telah dilarutkan (A) ditentukan dengan rumus :

A = (A510 – A700)pH 1, – (A510 – A700)pH 4,5

Kandungan pigmen antosianin pada sampel dihitung dengan rumus :

Total Antosianin**** = ****

Keterangan :

A = Absorbansi dari sampel yang telah dilarutkan

ε = Absortivitas molar Sianidin-3-glukosida = 26.900 L / (mol.cm)

DF = Faktor Pengenceran

I = Lebar Kuvet = 1 cm

MW = Berat molekul Sianidin-3-glukosida = 449,2 g/mol

1000 = faktor g ke mg

Contoh perhitungan: Antosianin pada hari ke 0

pH 1: A510 = 0,195

A700 = 0,015

pH 4,5:A510 = 0,046

A700 = 0,005

A = (A510 – A700)pH 1, – (A510 – A700)pH 4,5

A = (0,915-0,015) – (0,046-0,005)

A = 0,14

Total Antosianin**** = ****

Total Antosianin**** = ****

Total Antosianin**** = 58,03

2. Pengukuran pH dengan menggunakan pH-meter (Ranggana, 1986)

Tujuan: Untuk mengukur pH pada jus ubi jalar ungu.

Prinsip Analisis : Berdasarkan perbedaan karakteristik bahan yang mempengaruhi ketepatan buffer dan juga ketepatan pengukuran pH.

Penentuan pH dilakukan dengan menggunakan pH-meter, *hand set* dengan cara mengkalibrasikan dahulu pH-meter sebelum digunakan dengan menggunakan larutan buffer fosfat 7,0 dan 4,0. Setelah itu maka pengukuran pH dapat dilakukan dengan mencelupkan pH meter ke dalam sampel yang banyaknya 10 ml, kemudian dibaca skalanya pada layar monitor.

**Lampiran 2. Prosedur Analisis Fisika**

Pengukuran Total Padatan Terlarut (TSS) dengan menggunakan alat *handrefractometer* (Ranggana, 1986)

Tujuan: Untuk mengukur kadar padatan total terlarut pada jus ubi jalar ungu.

Prinsip: Berdasarkan putaran spektrum prisma oleh sampel, dimana besarnya putaran menyatakan banyaknya kadar padatan terlarut dan dinyatakan dalam persen.

Total padatan terlarut dari jus ubi jalar ungu diukur dengan menggunakan alat *hand refractometer*. Alat *hand refractometer* sebelum digunakan terlebih dahulu ditetesi dengan aquadest untuk mengukur kecepatannya, setelah itu dilap, kemudian diteteskan sampel dan diukur indeksnya. Skala yang digunakan adalah 0 – 10%.



Gambar 19. *Hand Refractometer*

**Lampiran 3. Analisis Mikrobiologi**

Penentuan Total Mikroba (Fardiaz, 1986)

Tujuan: Untuk mengetahui ada tidaknya dan jumlah dari mikroba yang mengkontaminasi jus ubi jalar ungu.

Prinsip: Berdasarkan reaksi yang timbul disebabkan pengawetan dengan suhu tertentu dan penyimpanan dari jus ubi jalar ungu.

Penentuan jumlah mikroba dilakukan dengan metode *total plate count*. Sterilisasi cawan petri, tabung reaksi, dan pipet dalam oven pada suhu 2100C selama 2 jam. Sampel diambil sebanyak 1 ml, ditambahkan 9 ml air steril dalam tabung reaksi, kemudian dikocok sampai homogen. Setelah itu dipipet 1 ml larutan tersebut dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air steril dan dihomogenkan (pengenceran ke 1) sampai pengenceran ke tiga. Dari setiap pengenceran diambil 1 ml lalu dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian ke dalam cawan tersebut ditambahkan agar kuning (*plate count agar)* encer yang telah disterilkan dan diaduk sampai dengan merata lalu dibiarkan hingga membeku kemudian disimpan dalam inkubator dalam keadaan terbalik dan dibungkus dengan rapi pada suhu 37,5 0C selama 24 jam lalu koloni dihitung. Satu bintik agar merupakan satu koloni mikroba.

Ketentuan:

∑ koloni/sel = ∑ koloni/pengenceran

Jika < 30 maka pengenceran yang paling pekat yang diambil

Jika > 300 maka pengenceran yang paling encer yang diambil

Jika 30< ∑koloni<300, maka gunakan rumus

∑ koloni /gram = ∑ koloni/sel terbanyak = A

∑ koloni/sel terkecil

A< 2, maka ambil rata-rata

A> 2, maka ambil yang paling kecil pengencerannya / paling pekat

Contoh perhitungan:

Total Mikroba pada hari ke 0

Pengenceran 10-1 = 5

Pengenceran 10-2 = 3

Pengenceran 10-3 = 1

Dengan mengikuti ketentuan jumlah koloni < 30, yaitu mengambil pengenceran yang pekat yaitu pada pengenceran 10-1 yaitu 5 koloni/sel.

**Lampiran 4. Prosedur Uji Organoleptik**

Pengujian organoleptik yang dilakukan untuk penelitian pendahuluan adalah uji mutu hedonik. Uji mutu hedonik yang dilakukan dengan menilai warna, konsistensi dan rasa manis pada jus ubi jalar ungu dari beberapa sampel yang diujikan. Panelis yang digunakan adalah panelis semi terlatih sebanyak 15 orang.

Pengujian organoleptik yang dilakukan untuk penelitian utama adalah uji mutu hedonik. Uji hedonik dilakukan dengan menilai warna, rasa, dan kekentalan dari beberapa sampel yang diujikan. Contoh skala penilaian yang diberikan terhadap penilaian warna, yaitu (1) Sangat Tidak Suka, (2) Tidak Suka, (3) Agak Tidak Suka, (4) Biasa, (5) Agak Suka, (6) Suka, (7) Sangat Suka.

**Lampiran 5. Contoh Formulir Pengujian Organoleptik Dengan Uji Hedonik (Penelitian Pendahuluan)**

FORMULIR UJI HEDONIK

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Sampel | : | Jus Ubi Jalar Ungu |
| Nama Panelis | : |  |
| Tanggal | : |  |
| Instruksi | : | Berikan penilaian pada warna, rasa, kekentalan dan aroma berdasarkan kesukaan. dengan kriteria sebagai berikut :  1. Sangat Tidak Suka  2. Tidak Suka  3. Agak Tidak Suka  3. Biasa  4. Agak Suka  5. Suka  6. Sangat Suka |

**Tabel Penilaian Uji Hedonik**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Kode Sampel** | **Warna** | **Rasa** | **Kekentalan** | **Aroma** |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |