

Kode / Nama Rumpun Ilmu : 162 / Tekn. Hsl. Pert.

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN HIBAH BERSAING



**APLIKASI TAPIOKA TEROKSIDASI PADA ENKAPSULASI
ANTIOKSIDAN DARI AMPAS SEDUHAN KOPI DENGAN
TEKNIK *COACERVATION***

Tahun ke dua dari rencana dua tahun

Oleh :

Ir. Yhulia Praptiningsih S., MS. (NIDN0026065302)

Niken Widya Palupi, STP., MSc. (NIDN 0005027804)

UNIVERSITAS JEMBER

November 2015

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Aplikasi Tapioka Teroksidasi Pada Enkapsulasi Antioksidan Dari Ampas Seduhan Kopi Dengan Teknik Coacervation

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : YHULIA PRAPTININGSIH S
Perguruan Tinggi : Universitas Jember
NIDN : 0026065302
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian
Nomor HP : 08123214640
Alamat surel (e-mail) : yhuli_ftp@yahoo.com

Anggota (1)
Nama Lengkap : NIKEN WIDYA PALUPI S.T.P., M.Sc.
NIDN : 0005027804
Perguruan Tinggi : Universitas Jember
Institusi Mitra (jika ada) :
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 57.500.000,00
Biaya Keseluruhan : Rp 90.000.000,00

Mengetahui,
Dekan Fakultas Tek. Pertanian



Dr. Yuli Witono, S.T.P., M.P)
NIP/NIK 196912121998021001

Jember, 13 - 11 - 2015
Ketua,



(YHULIA PRAPTININGSIH S)
NIP/NIK 195306261980022001

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian



(Prof. Ir. Achmad Sabagio, M.Agr., Ph.D)
NIP/NIK 196905171992011001

RINGKASAN

Aplikasi Tapioka Teroksidasi pada Encapsulasi Antioksidan dari Ampas Seduhan Kopi dengan Teknik *Coacervation*

Proses penyangraian pada pengolahan biji kopi menghasilkan produk-produk reaksi Maillard yang mempunyai aktivitas antioksidan. Dengan demikian dapat dikatakan ampas seduhan kopi juga memiliki aktivitas antioksidan tersebut. Ampas seduhan kopi merupakan limbah dalam proses pengolahan kopi, terutama di industri pengolahan kopi instan. Antioksidan merupakan senyawa yang mudah rusak karena sensitifitasnya yang tinggi terhadap cahaya, oksigen, dan suhu.

Encapsulasi mampu melindungi komponen bioaktif pangan seperti antioksidan dengan cara menciptakan barrier yang menguntungkan bagi bahan yang dikapsul. *Coacervation* merupakan metode encapsulasi yang biasanya diaplikasikan untuk encapsulasi probiotik dan enzim karena *beads* yang dihasilkan mempunyai dinding pengkapsul yang tebal. Aplikasi teknik *coacervation* untuk encapsulasi antioksidan merupakan *novelty* di bidang pangan.

Tapioka teroksidasi mempunyai kelebihan dibanding tapioka native yaitu adanya gugus karboksilat sebagai produk oksidasi. Karboksilat bermuatan anionik dan mampu membentuk matriks dengan Ca. Karakteristik ini mirip dengan alginat. Dengan demikian tapioka teroksidasi berpotensi sebagai substitusi alginat sebagai bahan pengkapsul. Dua faktor penting yang berpengaruh terhadap kualitas kapsul adalah konsentrasi suspensi dan komposisi penyusun dinding kapsul.

Berdasarkan hasil penelitian tahun pertama diperoleh kesimpulan bahwa kapsul terbaik yang dihasilkan adalah konsentrasi suspensi 5% dengan jumlah tapioka teroksidasi yang disubstitusikan 25%. Kadar antioksidan, efisiensi encapsulasi, aktivitas antioksidan dan ukuran kapsul berbeda tidak nyata dengan kontrol yaitu kapsul tanpa substitusi tapioka teroksidasi.

Oleh karena itu penelitian tahun ke dua adalah aplikasi antioksidan terencapsulasi pada susu yang disterilisasi dan disimpan pada suhu dingin serta suhu ruang. Sebagai kontrol adalah susu tanpa perlakuan penambahan antioksidan, susu dengan penambahan

antioksidan ekstrak ampas kopi yang tidak dikapsulasi, dan susu dengan penambahan BHT. Hal ini untuk meyakinkan bahwa antioksidan yang ditambahkan tidak berpengaruh negatif terhadap kualitas produk pangan yang dihasilkan. Pengamatan yang dilakukan globula emulsi (dengan pengecatan), kenampakan susu (dengan pemotretan), warna/kecerahan (menggunakan colour reader), stabilitas emulsi (dengan pengukuran total padatan terlarut), meliputi aktivitas antioksidan, kadar asam lemak bebas, tingkat ketengikan (spektroskopi), aktivitas antioksidan (spektroskopi). Pengamatan dilakukan setiap 2 minggu selama 8 minggu penyimpanan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa, penambahan kapsul antioksidan ampas kopi lebih efektif dalam penghambatan proses oksidasi pada susu yang ditunjukkan dengan kadar asam lemak bebas dan angka peroksida yang lebih rendah daripada susu dengan penambahan antioksidan BHT dan ekstrak cair antioksidan ampas kopi. Penambahan kapsul antioksidan ampas kopi yang mengandung 150 mg antioksidan/kg lemak susu mampu menghambat kerusakan oksidasi lemak susu.

PRAKATA

Dengan telah tersusunnya laporan kemajuan penelitian tahun ke dua dengan judul **Aplikasi Tapioka Teroksidasi pada Enkapsulasi Antioksidan dari Ampas Seduhan Kopi dengan Teknik *Coacervation***, penyusun merasa sangat bersyukur kepada Allah SWT. Penelitian ini memperoleh dana dari BOPTN Universitas Jember.

Pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dirjen DIKTI yang telah memberikan dana untuk kegiatan penelitian ini
2. Rektor Universitas Jember
3. Kepala Lembaga Penelitian Universitas Jember
4. Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
5. Semua pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

Penyusun berharap semoga usulan penelitian tahun ke dua ini mendapat tindak lanjut pendanaannya, serta hasil penelitian dapat bermanfaat.

Jember, November 2015

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN.....	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR SKEMA.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Antioksidan Ampas Seduhan Kopi	4
2.2Aktivitas Antioksidan.....	5
2.3 Enkapsulasi	5
2.3.1Manfaat Enkapsulasi	5
2.3.2Teknik Enkapsulasi secara <i>Coacervation</i>	6
2.4 Bahan Pengkapsul	7
2.4.1 Pati Teroksidasi	7
2.4.2 Alginat.....	8
2.4.3 Sodium Kaseinat.....	8
2.5 Susu.....	9
III. TUJUAN DAN MANFAAT	10
3.1 Tujuan Penelitian	10
3.2 Manfaat Penelitian	10
IV. METODOLOGI	11
4.1 Bahan dan Alat Penelitian	11
4.1.1 Bahan Penelitian.....	11

4.1.2 Alat Penelitian	11
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	11
4.3 Pelaksanaan Penelitian	11
4.3.1 Penyiapan antioksidan ekstrak ampas seduhan kopi terenkapsulasi	12
4.3.2 Aplikasi antioksidan ampas seduhan kopi terenkapsulasi pada susu	16
4.4 Prosedur Analiasis	18
4.4.1 Pengujian Kadar Air	18
4.4.2 Kadar Lemak Susu.....	18
4.4.3 Pengujian Kenampakan Susu	19
4.4.4 Pengujian Globula Emulsi Susu	19
4.4.5 Pengujian Kecerahan.....	19
4.4.6 Pengujian Kadar antioksidan.....	19
4.4.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan.....	19
4.4.8 Pengujian Asam Lemak Bebas.....	20
4.4.9 Pengujian Tingkat Ketengikan	20
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	21
5.1 Karakteristik Bahan	27
5.2 Perubahan kenampakan susu selama penyimpanan	21
5.3 Perubahan globula emulsi susu selama penyimpanan	28
5.4 Perubahan nilai kecerahan susu selama penyimpanan	34
5.5 Perubahan kadar padatan terlarut susu selama penyimpanan	36
5.6 Perubahan aktivitas antioksidan susu selama penyimpanan.....	38
5.7 Perubahan kadar asam lemak bebas susu selama penyimpanan.....	40
5.8 Perubahan angka peroksida susu selama penyimpanan	42
VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
6.1 Kesimpulan.....	46
6.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	51

DAFTAR SKEMA

Skema 4.1 Skema pembuatan tapioka teroksidasi	14
Skema 4.2 Skema ekstraksi antioksidan ampas seduhan kopi	14
Skema 4.3 Skema enkapsulasi	15
Skema 4.4 Skema pelaksanaan penelitian	17

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Karakteristik Bahan.....	21
Tabel 5.2 Perubahan nilai kecerahan susu selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang	34
Tabel 5.3 Perubahan nilai kecerahan susu yang diperlakukan dengan penambahan BHT (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang	35
Tabel 5.4 Perubahan nilai kecerahan susu yang diperlakukan dengan penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	35
Tabel 5.5 Perubahan nilai kecerahan susu yang diperlakukan dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	35
Tabel 5.6 Perubahan padatan terlarut ($^{\circ}$ Brix) susu selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang	36
Tabel 5.7 Perubahan padatan terlarut ($^{\circ}$ Brix) kadar asam lemak bebas susu yang diperlakukan dengan penambahan BHT (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	37
Tabel 5.8. Perubahan terlarut ($^{\circ}$ Brix) kadar asam lemak bebas susu yang diperlakukan dengan penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	37
Tabel 5.9 Perubahan padatan terlarut ($^{\circ}$ Brix) kadar asam lemak bebas susu yang diperlakukan dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin.....	37
Tabel 5.10 Perubahan aktivitas antioksidan susu selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang penyimpanan.....	38
Tabel 5.11 Perubahan aktivitas antioksidan susu yang diperlakukan dengan penambahan BHT (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	38

Tabel 5.12 Perubahan aktivitas antioksidan susu yang diperlakukan dengan penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	39
Tabel 5.13 Perubahan aktivitas antioksidan susu yang diperlakukan dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin.....	39
Tabel 5.14 Perubahan kadar asam lemak bebas susu selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang	40
Tabel 5.15 Perubahan kadar asam lemak bebas susu yang diperlakukan dengan penambahan BHT (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	40
Tabel 5.16 Perubahan kadar asam lemak bebas susu yang diperlakukan dengan penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	41
Tabel 5.17 Perubahan kadar asam lemak bebas susu yang diperlakukan dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	41
Tabel 5.18 Perubahan kadar peroksida susu selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang	42
Tabel 5.19 Perubahan kadar peroksida susu yang diperlakukan dengan penambahan BHT (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	43
Tabel 5.20. Perubahan kadar peroksida susu yang diperlakukan dengan penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	43
Tabel 5.21 Perubahan kadar peroksida susu yang diperlakukan dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang.....	43

DAFTAR GAMBAR

- Gambar 5.1 Kenampakan susu sebelum disterilisasi, setelah sterilisasi, dan setelah disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8)22
- Gambar 5.2 Kenampakan susu dengan penambahan antioksidan BHT (T), kapsul antioksidan ampas kopi (K), dan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (E) dengan konsentrasi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) sebelum penyimpanan 23
- Gambar 5.3 Kenampakan susu dengan penambahan antioksidan BHT (T) dengan konsentarsi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8).....25
- Gambar 5.4 Kenampakan susu dengan penambahan kapsul antioksidan ampas kopi (K) dengan konsentrasi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8).....26
- Gambar 5.5 Kenampakan susu dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (E) dengan konsentrasi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8).....27
- Gambar 5.6 Globula emulsi susu tanpa penambahan antioksidan yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8).28
- Gambar 5.7 Globula emulsi susu dengan penambahan antioksidan BHT (T) dengan konsentrrsi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8).....30
- Gambar 5.8 Globula emulsi susu dengan penambahan kapsul antioksidan ampas kopi (K) dengan konsentrasi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8).....32
- Gambar 5.9 Globula emulsi susu dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (E) dengan konsentrasi 100,150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan

pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8).....34

LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat seminar 51

I.PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara produsen kopi keempat terbesar dunia setelah Brazil, Vietnam, dan Colombia. Kopi merupakan salah satu minuman yang populer dan banyak dikonsumsi masyarakat dunia karena rasa dan aromanya menyenangkan. Bukti eksperimental telah menunjukkan bahwa kopi memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Daglia *et al.*, 1994). Para kelompok peneliti yang sama juga mencatat bahwa kopi sangrai bisa bertindak sebagai antioksidan kuat dan menghambat peroksidasi lipid dalam suatu sistem model (Stadler *et al.*, 1994).

Ampas kopi adalah residu dari pengolahan kopi larut. Peningkatan produksi kopi larut menyebabkan peningkatan ampas seduhan kopi. Pada pembuatan kopi larut, setiap 1 kg kopi biji (dengan kadar air 12-13%), menghasilkan ampas seduhan kopi sebesar 0,743 kg (kadar air 58,65%) atau 0,312 kg (kadar air 4,24%). Oleh karena itu limbah ampas seduhan kopi perlu mendapatkan solusi, salah satunya adalah sebagai sumber antioksidan alami. Sifat antioksidan ampas seduhan kopi diharapkan memiliki implikasi yang menarik pada stabilitas lipid dan sifat fungsionalnya. Di sisi lain, Yen *et al.* (2005) melaporkan bahwa ekstrak residu kopi sangrai menunjukkan sifat antioksidan yang kuat secara keseluruhan, yang mungkin terutama dikaitkan dengan polifenol dan senyawa nonpolifenolik. Senyawa ini dapat bertindak baik sebagai antioksidan primer dan sekunder. Produk reaksi Maillard (MRPs) terbentuk selama proses pemanasan tetap dalam residu kopi sangrai dan juga dapat menyebabkan efek antioksidan residu kopi sangrai. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ampas seduhan kopi sangrai dapat digunakan sebagai antioksidan alami yang potensial.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Antioksidan bekerja dengan cara menangkap radikal bebas sehingga tidak memiliki kesempatan untuk menempel dan merusak DNA (Kumalaningsih, 2006). Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek

samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Sunarni, 2005).

Enkapsulasi merupakan proses pemerangkapan suatu bahan atau zat – zat sensitif oleh polimer pelindung (zat pengkapsul). Bahan atau zat yang dikapsul terlindung dari kondisi lingkungan yang merugikan, dan bahan terlindungi dari reaksi-reaksi yang dapat merusak bahan tersebut (Hogan, 2001). Enkapsulasi dapat dilakukan dengan berbagai metode salah satunya adalah *coacervation*. *Coacervation* merupakan teknik enkapsulasi dengan cara pembentukan emulsi. Bahan pengkapsul yang umumnya digunakan adalah polimer yang bersifat anionik dan dapat membentuk matriks dengan kalsium (Ca). Salah satu bahan yang digunakan sebagai pengkapsul adalah alginat.

Tapioka teroksidasi memungkinkan digunakan sebagai pensubstitusi alginat sebagai pengkapsul. Kelebihan karakteristik tapioka teroksidasi dengan tapioka native adalah adanya gugus karboksilat sebagai produk oksidasi pati yang bermuatan anionik. Karakteristik ini mirip dengan alginat sehingga memungkinkan pati teroksidasi membentuk matriks dengan Ca dan digunakan sebagai bahan pengkapsul dengan teknik pembentukan gelasi (*coacervation*). Beberapa pati teroksidasi yaitu pati jagung dan pati amaranth teroksidasi pernah dicobakan sebagai bahan pengkapsul dengan teknik spray drying (Kshirsagar, 2008). Namun, aplikasi tapioka teroksidasi sebagai bahan pengkapsul, terutama dengan teknik *coacervation* belum diteliti. Oleh karena itu hal ini merupakan novelty bagi perkembangan ilmu dan industri pangan.

Berdasarkan hasil penelitian tahun pertama diperoleh bahwa konsentrasi suspensi yang baik adalah 5%, dan jumlah tapioka teroksidasi yang disubstitusikan pada alginat sebagai bahan pengkapsul sebanyak 25% (tapiokateroksidasi:alginat = 25:75).

Pada tahun kedua dilakukan aplikasi antioksidan terenkapsulasi pada susu yang disterilisasi, disimpan pada berbagai suhu dingin dan suhu ruang, dilengkapi dengan uji sensoris. Hal ini untuk meyakinkan bahwa antioksidan yang ditambahkan tidak berpengaruh negatif terhadap kualitas produk pangan yang dihasilkan.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan penelitian tahun pertama, diperoleh bahwa untuk enkapsulasi antioksidan ekstrak ampas seduhan kopi menggunakan konsentrasi suspensi 5% dengan perbandingan tapioka teroksidasi:alginat= 25:75. Bagaimana aplikasi kapsul tersebut dalam produk pangan belum diketahui. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian aplikasi antioksidan terenkapsulasi pada susu segar yang disimpan pada berbagai suhu dilengkapi dengan uji sensoris. Untuk aplikasinya dipilih susu segar, karena kapsul yang dihasilkan ada citarasa kopi, sehingga sekaligus berfungsi sebagai perisa.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antioksidan Ampas Seduhan Kopi

Kopi merupakan salah satu minuman yang populer dan banyak dikonsumsi masyarakat dunia karena rasa dan aromanya menyenangkan. Kecuali kafein, bioaktivitas dan efek farmakologis sebagai hasil yang terjadi secara alami oleh senyawa fenolik dan Produk Reaksi Mailard (MRPs) yang dikembangkan selama proses penyangraian (Nicoli *et al.*, 1997) masih belum jelas. Bukti eksperimental telah menunjukkan bahwa kopi memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Daglia *et al.*, 1994). Sebaliknya, beberapa pustaka telah melaporkan bahwa kopi sangrai memiliki aktivitas mutagenik (Miller *et al.*, 1993) dan aktivitas prooksidan (Turesky *et al.*, 1993). Namun, kelompok penelitian yang sama juga mencatat bahwa kopi sangrai dapat bertindak sebagai antioksidan kuat dan menghambat peroksidasi lipid dalam suatu sistem model (Stadler *et al.*, 1994).

Ampas kopi adalah residu dari pengolahan kopi larut. Volume harian ampas kopi berkisar 0,91 sampai 1,86 kg untuk setiap kilogram kopi larut (Silva *et al.*, 1998). Sejauh ini aktivitas antioksidan dari ampas seduhan kopi mulai diteliti. Sifat antioksidan yang muncul dari ampas seduhan kopi diharapkan memiliki implikasi yang menarik terkait stabilitas lipid dan dampaknya terhadap kesehatan. Di samping itu, substitusi antioksidan alami yang aman terhadap antioksidan sintetik akan bermanfaat karena dampaknya terhadap kesehatan dan dalam fungsi sistem pangan.

Hasil dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak ampas seduhan kopi menunjukkan sifat antioksidan yang kuat secara keseluruhan, yang mungkin terutama dikaitkan dengan polifenol dan senyawa nonpolifenolik. Senyawa ini dapat bertindak baik sebagai antioksidan primer dan sekunder. MRPs terbentuk selama proses pemanasan tetap dalam ampas seduhan kopi dan juga dapat menimbulkan efek antioksidan ampas seduhan kopi. Di samping itu, mengingat konsumsi kopi di dunia begitu besar, hasil tersebut harus berguna karena mereka menunjukkan bahwa ampas seduhan kopi dapat digunakan sebagai antioksidan alami yang potensial.

2.2Aktivitas Antioksidan

Antioksidan cenderung bereaksi dengan radikal bebas terlebih dahulu dibandingkan dengan molekul yang lain karena antioksidan bersifat sangat mudah teroksidasi atau bersifat reduktor kuat dibanding dengan molekul yang lain. Jadi keefektifan antioksidan bergantung dari seberapa kuat daya oksidasinya dibanding dengan molekul yang lain. Semakin mudah teroksidasi maka semakin efektif antioksidan tersebut (Anonim, 2010).

Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan uji DPPH, analisis Total Fenol, dan uji Kemampuan Mereduksi . Uji DPPH merupakan salah satu metode analisis kapasitas antioksidan yang sederhana menggunakan senyawa pendeteksi, yaitu *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Senyawa DPPH adalah senyawa radikal bebas stabil yang dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan membentuk DPPH tereduksi. (Kubo *et al.*, 2002 dalam Radianti 2005)

2.3Enkapsulasi

2.3.1 Manfaat Enkapsulasi

Enkapsulasi adalah proses atau teknik untuk menyalut inti yang berupa suatu senyawa aktif padat, cair, gas, ataupun sel dengan suatu bahan pelindung tertentu yang dapat mengurangi kerusakan senyawa aktif tersebut. Material inti yang dilindungi disebut core dan struktur yang dibentuk oleh bahan pelindung yang menyelimuti inti disebut sebagai dinding, membran, atau kapsul (Kailasapathy, 2002).

Kapsul merupakan bahan semipermeabel, tipis, berbentuk bulat dan kuat dengan diameter bervariasi dari beberapa mikrometer hingga millimeter. Mikro kapsul merupakan suatu ruang kecil dengan lapisan dinding yang seragam di sekelilingnya (Anal dan Singh 2007). Enkapsulasi merupakan proses penjeratan zat-zat sensitif atau bahan inti oleh polimer pelindung sebagai agen pengkapsulasi. Bahan inti terlindungi dari reaksi yang dapat merusak dan kondisi lingkungan yang merugikan (Hogan, 2001).

Mikroenkapsulasi memberikan sarana untuk mengubah komponen dalam bentuk cairan menjadi partikel padat dan melindungi bahan dari pengaruh lingkungan. Perlindungan yang diberikan oleh bahan pengkapsul dapat mencegah terjadinya degradasi bahan inti karena pengaruh cahaya dan atau oksigen serta dapat memperlambat terjadinya evaporasi (Risch, 1995).

2.3.2 Teknik Enkapsulasi dengan *Coacervation*

Coacervation merupakan sebuah teknologi modifikasi emulsi. Prinsipnya relatif sederhana. Ketika larutan dari bahan inti dan bahan pengkapsul dicampurkan, maka akan terbentuk struktur yang kompleks. Ukuran kapsul dan karakteristiknya bisa bervariasi dengan perubahan pH, konsentrasi ion, rasio bahan inti dan bahan pengkapsul, dan jenis bahan pengkapsul. Teknik *coacervation* sebagian besar dipengaruhi oleh interaksi elektrostatis tapi juga termasuk interaksi hidrofobik (Augustin & Hemar, 2009; Girard *et al.*, 2004; Laneuville *et al.*, 2006).

Mekanisme dasar dalam metode *coacervation* adalah pembentukan emulsi dan selanjutnya pengendapan fase kontinyu di sekitar tetesan fase terputus-putus. Sistem yang bekerja terdiri dari tiga fase, yang mencakup pelarut, bahan yang akan dikemas, dan bahan pelapis. Ada tiga tahapan utama dalam proses *coacervation* (Heath, 1978; Heath dan Reineccius, 1986; King, 1995; Shay, 1994):

- a) Pembentukan campuran tiga fase dalam kondisi terkendali.
- b) Deposisi bahan pelapis di sekitar bahan inti. Deposisi ini melibatkan penyerapan antarmuka dari fase hidrofilik pada tetesan bahan inti. Untuk membentuk kapsul, pH dan suhu harus disesuaikan sehingga saat enkapsulan keluar dari solusi dapat mengental dan membentuk dinding kapsul. Pada tahap ini dinding kapsul masih cair dan perlu pengerasan.
- c) Penyusutan dan pemadatan lapisan cairan untuk membentuk mikrokapsul padat. Penyusutan dan pemadatan lapisan dapat dilakukan melalui pemanasan, *desolvation*, atau teknik silang.

2.4 Bahan Pengkapsul

2.4.1 Pati teroksidasi

Pati teroksidasi diperoleh dari reaksi antara zat pengoksidasi dan gugus hidroksil bebas dalam monomer glukosa, sehingga terbentuk karbonil dan karboksil. Proses oksidasi biasanya menyebabkan depolimerisasi molekul pati dengan pemotongan ikatan glikosida (Richardson & Gorton, 2003). Bozel (1968) pertama kali melaporkan bahwa pati teroksidasi mempunyai kemampuan yang sempurna sebagai film. Penggunaan pati teroksidasi dalam industri pangan semakin meningkat karena viskositasnya rendah, stabilitasnya tinggi, jernih, dapat membentuk film dan memiliki kemampuan untuk mengikat bahan lain (Rivera *et al.*, 2005).

Rendahnya viskositas pati teroksidasi disebabkan oleh terhidrolisisnya ikatan glikosidik yang mengarah pada terjadinya depolimerisasi. Viskositas yang rendah ini juga meningkatkan kejernihan pati (Parovuori *et al.*, 1995). Lawala *et al.* (2005) melaporkan bahwa pati teroksidasi mempunyai sifat coating (penyalut bahan) dan penutup permukaan produk pangan yang baik. Kegunaan lainnya adalah sebagai emulsifier dan sebagai coating dan *sealing agent* di industri pangan.

Pati teroksidasi mengalami degradasi yang menyebabkan pati akan bersifat larut dalam air, seiring dengan meningkatnya kadar karbonil dan karboksil (El-Sheikh *et al.*, 2010). Wiadyani (2011) dan Palupi (2011) melaporkan kejernihan pada pati teroksidasi diduga akibat oksidasi dari gugus OH menghasilkan gugus karbonil dan karboksil yang selanjutnya menghalangi ikatan hidrogen mengisi rantai polimer karena gugus karboksil bersifat anionik sehingga lebih mudah mengikat air yang pada akhirnya akan meningkatkan kelarutan pati dan menghasilkan pasta yang transparan. Sifat ini menguntungkan bila digunakan sebagai bahan pengkapsul karena akan memudahkan penyerapan produk yang akan dikapsulkan, selain sifat teksturnya yang fleksibel. Tapioka teroksidasi juga berpotensi sebagai pengganti gum arab. Pati jagung dan pati amaranth telah pernah dicobakan sebagai substitusi gum arab pada enkapsulasi rempah dengan teknik *spray drying* (Chattopadhyaya *et al.*, 1998).

2.4.2 Alginat

Alginat tergolong dalam hidrokoloid alami. Alginat merupakan kopolimer rantai lurus dari residu asam β -(1-4)-D-manuronat (M) dan asam α -(1-4)-L-guluronat (G) yang membentuk homopolimer M atau G dan blok heteropolimer MG (Cardenas *et al.* 2003). Struktur molekul alginat dapat dilihat pada Gambar 2.1. Alginat telah digunakan secara luas untuk enkapsulasi probiotik skala laboratorium (Rokka dan Rantamaki, 2010). Garam alginat larut dalam air, tetapi mengendap dan membentuk gel pada pH lebih rendah dari tiga. Alginat dapat membentuk gel (formasi *egg-box*), film, manik (*beads*), pelet, mikropartikel, dan nano partikel (Sarmiento *et al.* 2007).

Penambahan kation divalen (misalnya Ca^{2+}) yang berfungsi sebagai penaut silang antar molekul alginat, akan menyebabkan terjadinya gelatinisasi yang akan membentuk jel matriks kalsium alginat. Kapsul kalsium alginat sangat berpori yang memungkinkan air dapat berdifusi keluar masuk matriks (Rokka dan Rantamaki, 2010).

2.4.3 Sodium Kaseinat

Natrium kaseinat (Na-Kas) salah satu contoh senyawa protein susu yang merupakan bahan penyalut yang potensial. Natrium kaseinat dilaporkan mempunyai stabilitas panas yang cukup baik ($\pm 140^\circ\text{C}$), bersifat tidak (sulit) larut dalam air dan aman untuk digunakan sebagai produk pangan (Singh, 1995).

Ruis (2007) menyatakan, kemampuan fungsional natrium kaseinat atau juga dikenal sebagai sodium kaseinat ini mencakup beberapa fungsi seperti emulsifikasi, *water-fat binding*, agen pengeras, dan pengental (*gelation*). Sebagai penstabil emulsi, natrium kaseinat dapat menurunkan tegangan permukaan antara dua fase disebabkan adanya sifat ampifilik yang kuat dari komponen utama kasein yakni α S1- dan β -kasein. Kasein tipe α S1- lebih bersifat hidrofilik sehingga dapat mengikat komponen polar, sedangkan tipe β -kasein lebih bersifat hidrofobik yang dapat mengikat komponen non-polar (Swaisgood, 1982).

Banyak penelitian telah menelaah penggunaan natrium kaseinat sebagai penyalut. Seperti pada penelitian minyak jeruk, retensi flavor yang diperoleh cukup baik dengan kadar minyak pada permukaan rendah (Kim dan Morr, 1996).

2.5 Susu

Susu merupakan produk/cairan hasil pemerahan hewan ternak seperti sapi, domba, kambing, unta dan lain-lain, yang dapat digunakan sebagai pangan yang aman. Air susu merupakan emulsi minyak dalam air. Komposisi air susu terdiri dari air 87-88%, protein 4%, lemak 3,7-4%, laktosa 4-4,8%, mineral 0,7-0,8% dan vitamin A.

Lemak termasuk lemak susu, mengalami kerusakan oksidasi oleh adanya panas, cahaya, dan oksigen. Lemak yang teroksidasi dapat menyebabkan kerusakan komponen lain seperti protein, dan vitamin larut lemak, Baik oleh hasil antara oksidasi lemak maupun peroksida yang dihasilkan. Perlindungan kerusakan lemak dapat dilakukan dengan penambahan antioksidan. Antioksidan komersial yang banyak digunakan untuk produk-produk pangan antara lain BHT. Penggunaan BHT pada susu dan produknya berkisar 100-200 mg per kg lemak (BPOM RI, 2013).

III. TUJUAN DAN MANFAAT

3.1 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian tahun kedua adalah untuk memperoleh konsentrasi /jumlah penggunaan yang tepat dari antioksidan ampas seduhan kopi terenkapsulasi pada produk susu segar yang disterilisasi dan disimpan pada suhu ruang dan suhu dingin (suhu refrigerator 8-10°C). .

3.2 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini sebagai berikut:

- a. Pemanfaatan ampas seduhan kopi sebagai antioksidan alami akan meningkatkan nilai jual ampas seduhan kopi yang selama ini hanya merupakan limbah. Diharapkan dengan naiknya nilai jual ampas seduhan kopi maka pendapatan petani kopi akan meningkat, yang pada akhirnya berdampak pada kesejahteraan nasional, mengingat kopi banyak ditanam di berbagai wilayah di Indonesia.
- b. Penggunaan tapioka teroksidasi sebagai pensubstitusi bahan pengkapsul komponen bioaktif pangan dapat mengurangi penggunaan alginat yang mahal harganya dan bervariasi kualitasnya. Selain itu, adanya potensi tapioka teroksidasi sebagai bahan pengkapsul diharapkan dapat menambah cabang pohon industri tapioka, yang pada akhirnya dapat memunculkan lapangan kerja baru, sehingga dapat meningkatkan kesejahteraan bangsa
- c. Penggunaan antioksidan ampas kopi terenkapsulasi pada produk susu segar, merupakan teknologi pengawetan pada produk pangan berlemak.

Manfaat pengembangan ilmu

Penggunaan tapioka teroksidasi sebagai bahan pengkapsul senyawa antioksidan merupakan terobosan baru di bidang ilmu teknologi pangan.

IV. METODOLOGI

4.1 Bahan dan Alat Penelitian

4.1.1 Bahan Penelitian

Ampas seduhan kopi yang diperoleh dari PUSLITKOKA Indonesia, tapioka (merk 99 produksi Malang), alginat, kasein, aquades, reagen DPPH, etanol 97 %, air, buffer fosfat 0,2M, $K_3Fe(Cn)_6$ 1 %, TCA 10 %, $FeCl_3$ 0,1 %, larutan H_2O_2 1,5 % (pH 7), larutan NaOH 2N, sodium asetat 0,4M, asam sitrat, kertas saring Whatman (d = 24 cm), ethanol, isobutanol, DPPH. Susu segar diperoleh dari produksi susu segar “Asifa” Jember.

4.1.2 Alat Penelitian

Pengukus, penangas timer, blender, beaker glass 50 ml, 250 ml dan 500 ml, spatula, *magnetic stirrer*, *aluminium foil*, Erlenmeyer 250 ml, labu rotary evaporator 1000 ml, *rotary evaporator* (Buchi Rotavapor R – 124), waterbath (Buchi waterbath B – 480), sentrifuge (Medifriger 1200 rpm), tabung reaksi 10 ml, corong, kain saring, gelas ukur 100 ml, tabung sentrifuge, kompor gas, pH meter (Jenway), Spektrofotometri (Secomam *version 1.10*), *digital color reader* (Minolta), neraca analitik (Ohaus), syringe, oven, sentrifuse, vortex, refraktometer, almari pendingin, pengering kabinet.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Hasil Pertanian, laboratorium Rekayasa Proses Hasil Pertanian, dan laboratorium Analisis Terpadu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember, Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan mulai Maret sampai dengan November 2015.

4.3 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian tahun kedua adalah uji stabilitas kapsul dan aplikasinya pada produk pangan (susu yang disterilisasi) dan disimpan pada suhu dingin dan suhu ruang.

Untuk uji stabilitas: kontrol adalah ekstrak antioksidan ampas seduhan kopi yang tidak dienkapsulasi, sedangkan kontrol aplikasinya pada produk pangan adalah produk pangan tanpa penambahan antioksidan, produk pangan yang ditambahkan ekstrak antioksidan yang tidak dienkapsulasi dan produk pangan dengan penambahan antioksidan BHT.

4.3.1 Penyiapan antioksidan ekstrak ampas seduhan kopi terenkapsulasi

Kegiatan pada tahap ini meliputi pembuatan tapioka teroksidasi, ekstraksi antioksidan dari ampas seduhan kopi dan pembuatan kapsul (antioksidan ekstrak ampas seduhan kopi terenkapsulasi).

a. Pembuatan Tapioka Teroksidasi

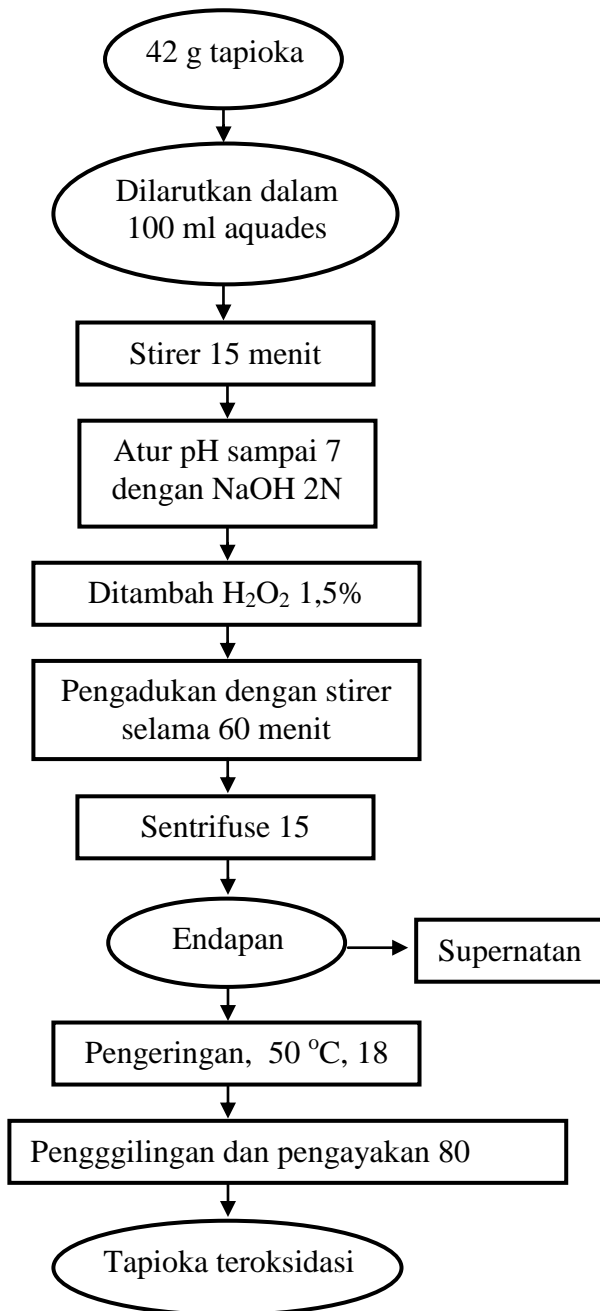
Tapiokaseberat 42 g dilarutkan dalam 100 ml aquades. Suspensi diaduk dengan stirer dan diukur pH awalnya. Selanjutnya suspensi diatur pH nya dengan ditambahkan NaOH 2N hingga pH 7. Kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Lalu ditambahkan H₂O₂ dengan konsentrasi tetap 1,5% (v/v). Suspensi yang telah ditambahkan H₂O₂ diaduk selama 60 menit (1 jam) menggunakan magnetic stirer. Selanjutnya suspensi dimasukkan kedalam tabung sentrifuse dan disentrifuse selama 15 menit sehingga terbentuk endapan dan supernatan. Endapan diambil dan dikeringkan dengan oven selama 18 jam dengan suhu 50°C. Setelah kering, bahan dihaluskan dan diayak pada ukuran 80 mesh sehingga didapatkan tapioka teroksidasi (Skema4.1)

b. Ekstraksi antioksidan ampas seduhan kopi

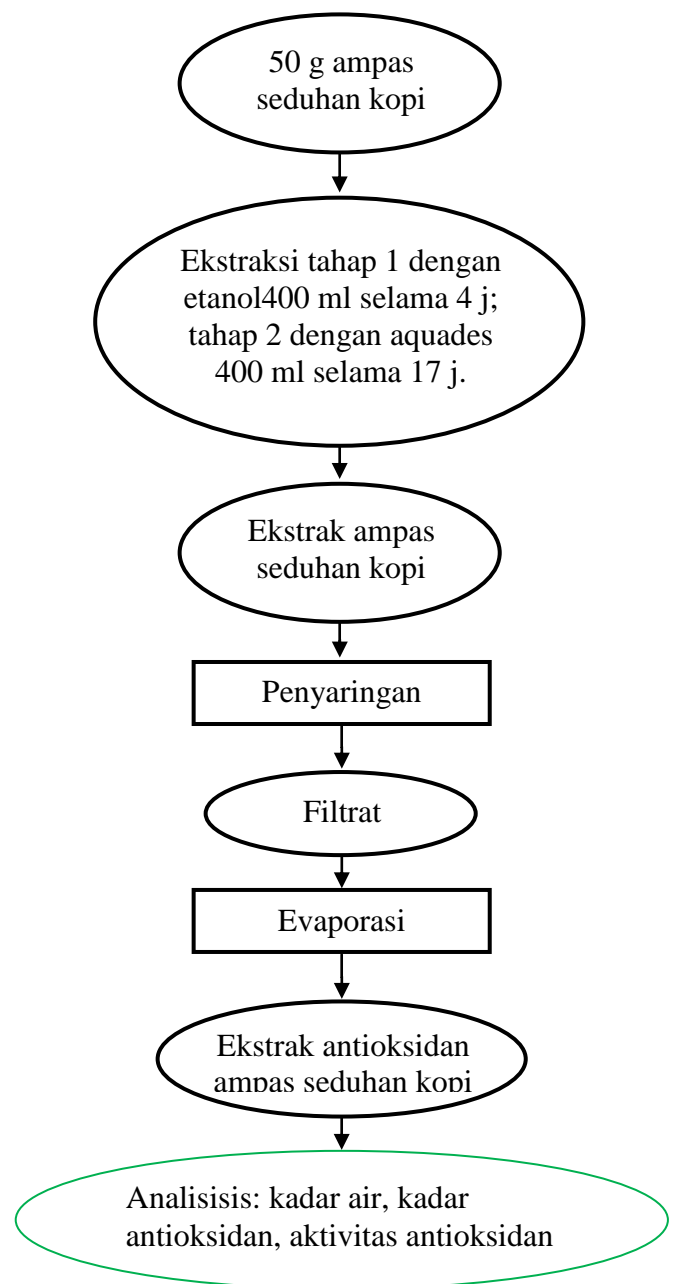
Ampas seduhan kopi dikeringkan pada suhu 50 °C, selama 48 jam hingga kadar air berkisar 4%. Ampas seduhan kopi yg sudah kering, diekstraksi secara bertahap. Ekstraksi pertama menggunakan alkohol 96% (bahan:alkohol=1:8), diaduk selama 30 menit dan dimaserasi selama 4 jam. Filtrat dipisahkan, ampasnya diekstraksi menggunakan aquades selama (bahan:aquades=1:8), diaduk selama 30 menit, dan dimaserasi selama 17 jam. Filtrat dipisahkan dan dicampur dengan filtrat pertama, kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C, hingga volume menjadi berkisar seperempatnya (Skema 4.2).

c. Pembuatan ekstrak antioksidan ampas seduhan kopi terenkapsulasi

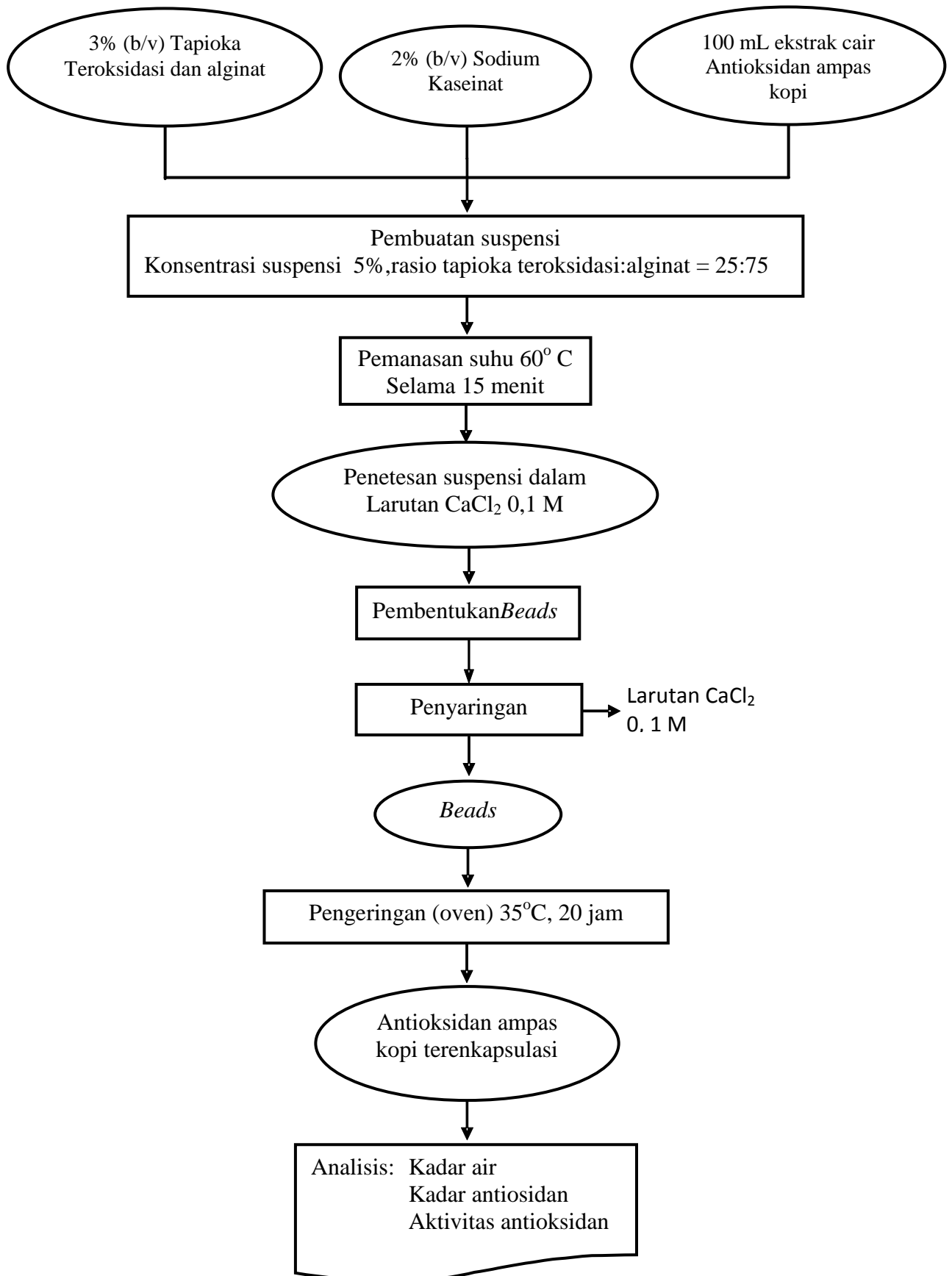
Enkapsulasi antioksidan ekstrak ampas seduhan kopi, dilakukan menggunakan konsentrasi suspensi 5% dengan komposisi campuran tapioka teroksidasi dan alginat sebagai pengkapsul (tapioka teroksidasi : alginat = 25:75). Suspensi yang terbentuk dicetak dengan meneteskan menggunakan syringe dalam larutan CaCl_2 0,1M. *Bead* yang terbentuk disaring, dikeringkan pada suhu 35 °C menggunakan *tray dryer* selama 20 jam (Skema 4.3)



Skema4.1 Skema pembuatan tapioka teroksidasi



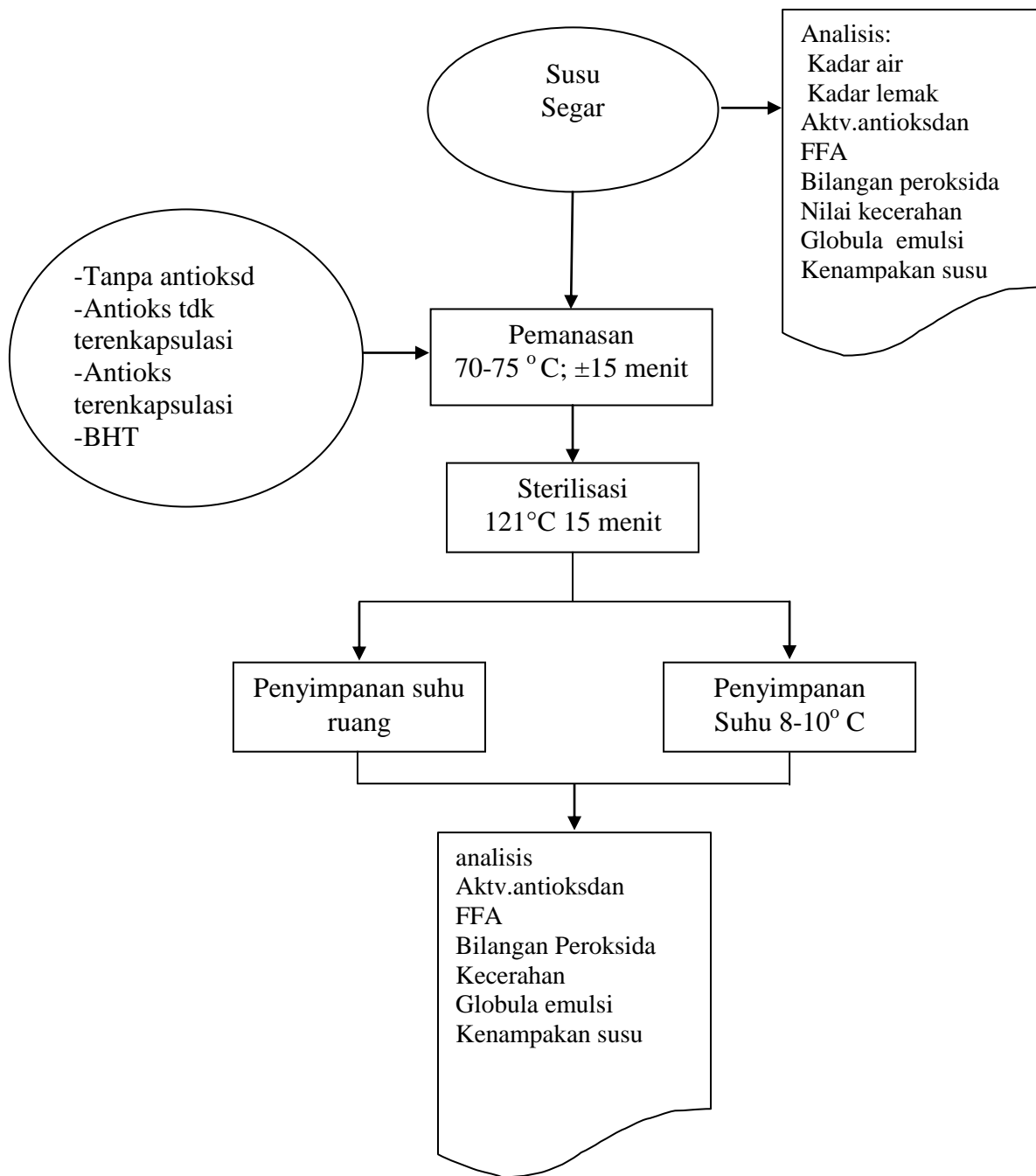
Skema4.2 Skema ekstraksi antioksidan ampas seduhan kopi



Skema 4.3 Skema enkapsulasi

4.3.2 Aplikasi antioksidan terenkapsulasi pada susu

Dalam penelitian tahap ke dua ini, antioksidan terenkapsulasi diaplikasikan pada susu. Hal ini karena antioksidan terenkapsulasi mempunyai citarasa kopi, sehingga sekaligus juga berfungsi sebagai perisa. Penambahan antioksidan dilakukan pada suhu 70-75°C selama 15 menit, agar mudah terekstrak dan tercampur dengan sampel. Kadar antioksidan yang diberikan setara dengan 100, 150, dan 200 mg/kg lemak. Konsentrasi tersebut mengacu pada panduan penggunaan antioksidan BHT (*butyl hidroxy toluene*) pada produk susu (BPOM RI, 2013). Sebagai kontrol: susu tanpa penambahan antioksidan; susu dengan penambahan antioksidan tidak dienkapsulasi (ekstrak cair antioksidan), dan susu dengan penambahan antioksidan BHT. Setelah diperlakukan dengan perlakuan tersebut di atas, maka sampel susu disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit. Selanjutnya susu yang telah disterilisasi disimpan pada suhu dingin (suhu refrigerator 8-10 °C) dan suhu ruang. Selanjutnya diamati: nilai kecerahan, distribusi globula emulsi, kadar asam lemak bebas, tingkat ketengikan, dan aktivitas antioksidan secara periodik selama 0, 2, 4, 6, dan 8 minggu (Skema 4.4).



Skema 4.4 Skema pelaksanaan penelitian

4.4 Prosedur analisis

4.4.1 a. Pengujian Kadar air (thermografimetri; AOAC, 1970)

Menimbang bahan sebanyak 1-2 g dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya (misal berat botol a gram, berat botol dan bahan b gram), kemudian dioven pada suhu 105 °C selama 4 jam, dimasukkan ke dalam eksikator dan ditimbang beratnya. Hal ini diulangi sampai diperoleh berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut maksimal 0,0002 g), misal c gram.

$$\text{Kadar air} = (b-a) (100\%) / (c-a)$$

4.4.1 b Pengujian Kadar Air (cara distilasi; AOAC, 1970)

Menimbang bahan secukupnya, dan dipindah ke dalam tabung distilasi. Ditambahkan 75-100 ml xylene dan didistilasi. Pemanasan diatur hingga kira-kira 4 tetes per menit xylene jatuh dari kondensor. Distilasi dilanjutkan hingga semua air menguap (kurang lebih selama 1 jam). Volume air dibaca dan dihitung dalam % dari berat contoh.

4.4.2 Kadar lemak susu (menggunakan metode mojonier)

Mula-mula sampel susu ditimbang sebanyak 10 g dan dimasukkan ke dalam tabung mojonier. Ditambahkan 1,5 mL amoniak, 10 mL alkohol dan sumbat dipasang diikuti dengan penggojogan selama 30 detik. Selanjutnya dilakukan penambahan 25ml etil eter dan 25 ml petroleum eter, yang masing-masing diikuti dengan penggojogan selama 20 detik. Minyak yang terektraksi dan pelarut dipindahkan ke dalam beaker glass, sedangkan residunya yang tertinggal di dalam tabung mojonier diesktraksi ulang menggunakan campuran pelarut 5 ml alkohol, 15 ml etil eter, dan 15 ml petroleum eter. Campuran pelarut dan minyak yang terktraksi dituang ke dalam beaker glass. Pelarut di dalam beaker glass diuapkan diatas penangas apada suhu 80C. Pemanasan dihentikan jika sudah diperoleh ekstrak yang pekat. Selanjutnya sisa pelarut pada ekstrak ekstrak diuapkan menggunakan oven pada suhu 110 C sampai beratnya konstan. Kadar lemak sampel dihitung menggunakan persamaan :

Kadar lemak = (berat minyak yang terekstrak/g sampel) x 100%

4.4.3 Pengujian Kenampakan susu (menggunakan kamera)

Kenampakan susu dipotret menggunakan kamera digital merk SONY type DSC-W310.

4.4.4 Pengujian Globula Emulsi (menggunakan pewarnaan)

Contoh ditetesi larutan metlene blue 0,3 %, dan diamati di bawah mikroskop, kemudian dilakukan pemotretan.

4.4.5 Pengujian Kecerahan (Menggunakan *colour reader*)

Alat ditempelkan pada bahan dan dibaca nilai L (kecerahan) yang terbaca pada alat. Pengamatan dilakukan pada 5 tempat yang berbeda.

4.4.6 Pengujian Kadar antioksidan (total polifenol secara spektrofotometri)

Analisis kadar antioksidan dilakukan dengan analisis kandungan total polifenol secara spektrofotometri dengan metode folin-ciocalteau (Slinkard dan Singleton, 1977 yang dimodifikasi). Sampel ekstrak dengan volume tertentu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah aquades hingga volume 5 ml, dan ditambahkan 0,5 ml folin-ciocalteau, dikocok menggunakan vortex dan didiamkan 15 menit. Kemudian ditambahkan 1 ml Na₂ CO₃ (7%), dikocok menggunakan vortex dan didiamkan 60 menit ditempat gelap. Dilakukan pengukuran absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm. Dibuat kurva standar dari asam galat (GA). Kandungan total polifenol dinyatakan dalam mgGAE/g sampel.

4.4.7 Pengujian aktivitas antioksidan (metode penghambatan DPPH)

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (Gadow dkk, 1997). Untuk penentuan aktivitas antioksidan ini sebelumnya dibuat reagen DPPH dengan cara 0,0394 gram 1,1 *diphenyl-2-picrylhydrazyl* dilarutkan dengan etanol 97 % hingga mencapai 250 ml (konsentrasi 400 µmol/l) penentuan daya

antioksidan ini menggunakan metode DPPH dengan cara 10 µl sampel ditambah dengan 1 ml DPPH didiamkan 20 menit + etanol 97 % sampai 5 ml, kemudian divorteks dan diamati absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer Secomam *version 1.10*. Kurva standart dibuat dengan melihat nilai absorbansi DPPH pada berbagai pengambilan (100µl, 500µl, 700µl, 800µl, 1000µl), sedangkan blanko dibuat dari DPPH murni.

Persamaan kurva standart $Y = a + bx$

Y= absorbansi

X= konsentrasi (µmol DPPH)

4.4.8 Pengujian asam lemak bebas (metode titrasi) (Sudarmaji, dkk., 1997)

Pengujian asam lemak bebas menggunakan metode (Mehlenbaker, 1960). Menimbang sampel dalam keadaan cair sebanyak $28,2 \pm 0,2$ g dalam erlenmeyer, ditambahkan 50 ml alkohol netral panas dan 2 ml indikator pp. Selanjutnya dititrasi menggunakan larutan 0,1 N NaOH sampai tercapai warna merah jambu dan tidak hilang dalam 30 detik. Asam lemak bebas dinyatakan sebagai % FFA (sebagai asam oleat untuk susu)

$$\% \text{ FFA} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N} \times \text{BM asam lemak} \times 100}{\text{Berat sampel} \times 1000}$$

4.4.9 Pengujian tingkat ketengikan (angka peroksida spektrofotometri)

Penentuan tingkat ketengikan menggunakan penentuan angka peroksida. Menimbang 0,05-0,1 g contoh, ditambahkan larutan TBA 1 ml (larutan TBA: 15 g TCA, 0,375 g TBA, 25 ml HCl dan dilarutkan menggunakan aquadest hingga 100 ml), dipanaskan pada penangas air 100°C selama 15 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Ditambahkan 3 ml etanol dan 1 ml isobutanol, dicampur hingga homogen, dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 535 nm.

$$\text{TBA} = \left[\frac{(\text{abs contoh} - \text{abs blanko}) \times 1000 \text{ Mm} \times 5 \text{ ml} / 1000 : \{1,56 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}\}} \right] \times 1000 / \text{berat contoh} \text{ mMol/kg}$$

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Karakteristik Bahan

Karakteristik bahan yang digunakan untuk penelitian meliputi: ampas seduhan kopi, ekstrak antioksidan ampas seduhan kopi (tidak terenkapsulasi), antioksidan ampas seduhan kopi terenkapsulasi, BHT dan susu ditunjukkan pada tabel 5.1.

Tabel. 5.1 Karakteristik Bahan

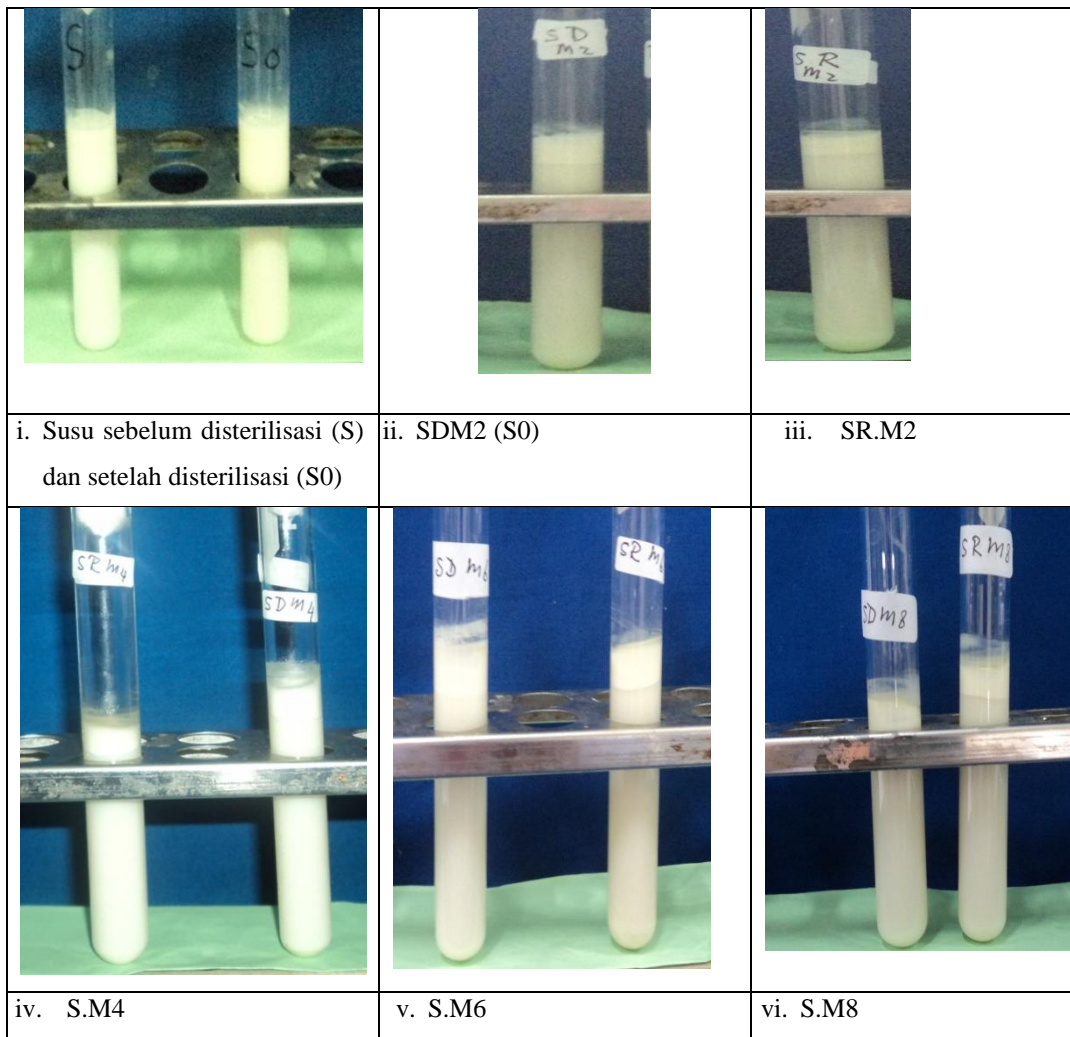
Bahan	Kadar air (%)	Kadar antioksidan (%)	Aktivitas antioksidan (% penghambatan)	Kadar asam lemak bebas (%)	Angka peroksida
Ampas kopi	4,83±0,1	1,13±0,003	8,46±0,129	*	*
Ekstrak cair antioksidan ampas kopi	97,33±1,15	1,17±0,035	28,84±0,66	*	*
Antioksidan ampas kopi terenkapsulasi	11,32±0,07	1,145±0,012	25,38±0,73	*	*
BHT	*	24,284±1,19	43,35±0,31	*	*
Susu	88,00±0	*	3,22±0,67	0,628±0,002	10,35±0,25

Keterangan: * tidak dianalisis

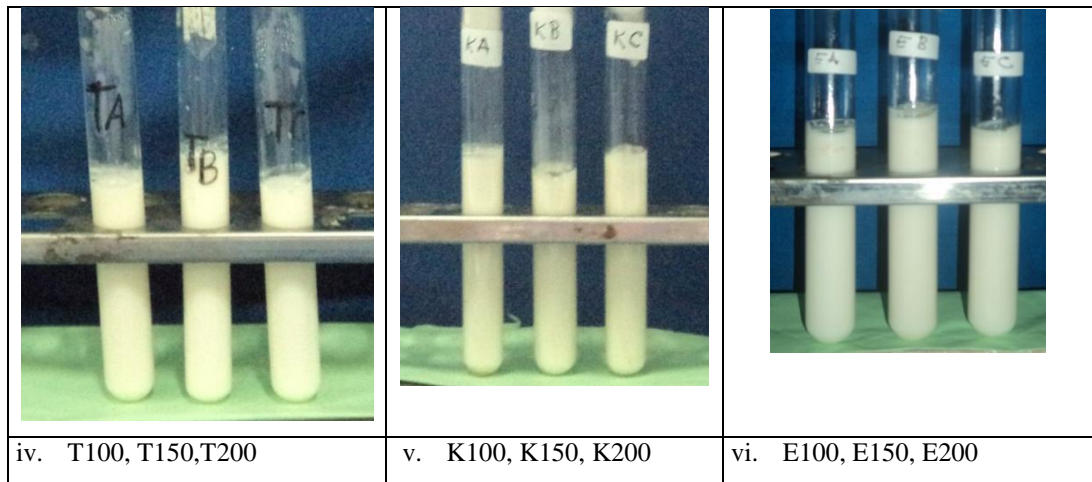
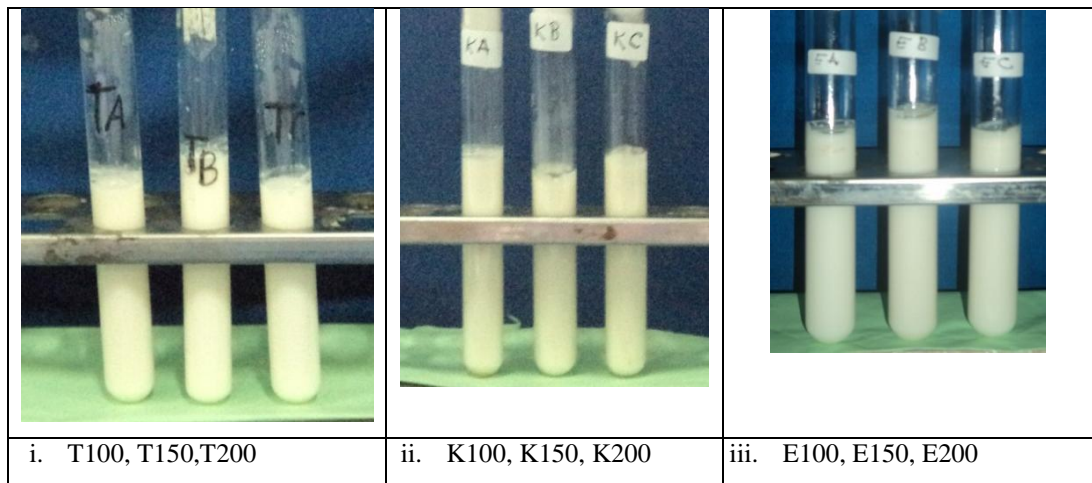
Kadar lemak susu segar yang digunakan sebesar 3,7%. Efisiensi enkapsulasi kapsul antioksidan ampas kopi adalah 54,3038%.

5.2 Perubahan kenampakan susu selama penyimpanan

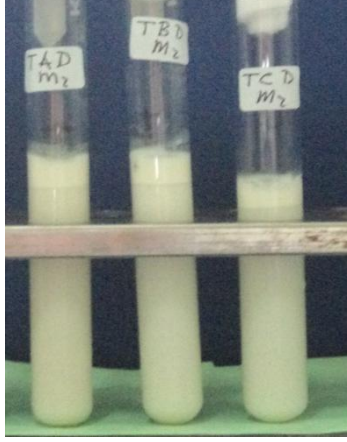
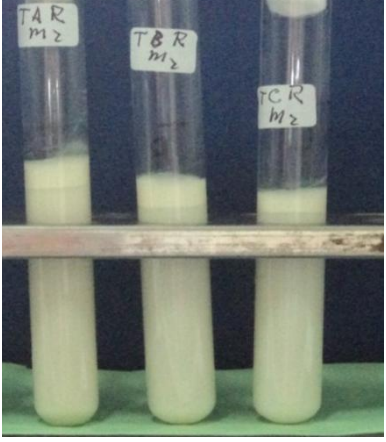


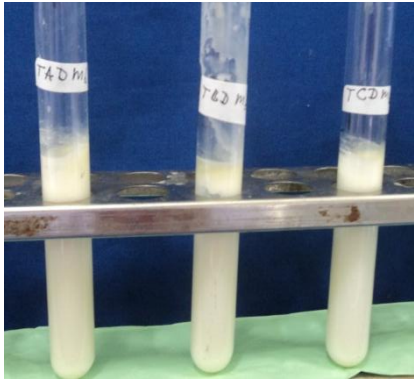
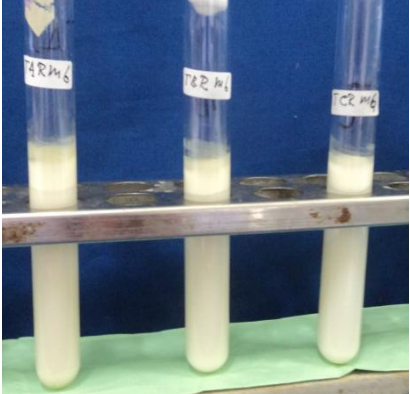
Perubahan kenampakan susu selama penyimpanan ditunjukkan pada gambar 5.1; 5.2; 5.3; dan 5.4.

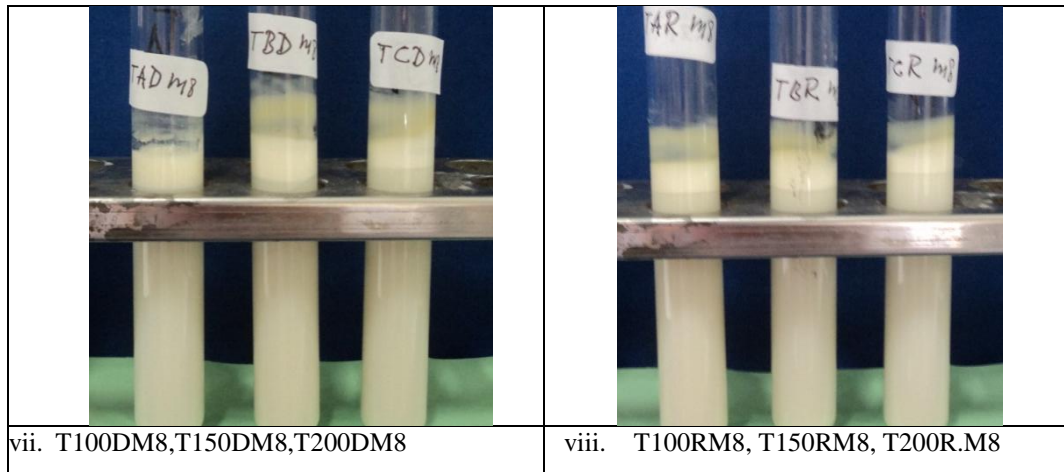


Gambar 5.1 Kenampakan susu sebelum disterilisasi, setelah sterilisasi, dan setelah disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8)

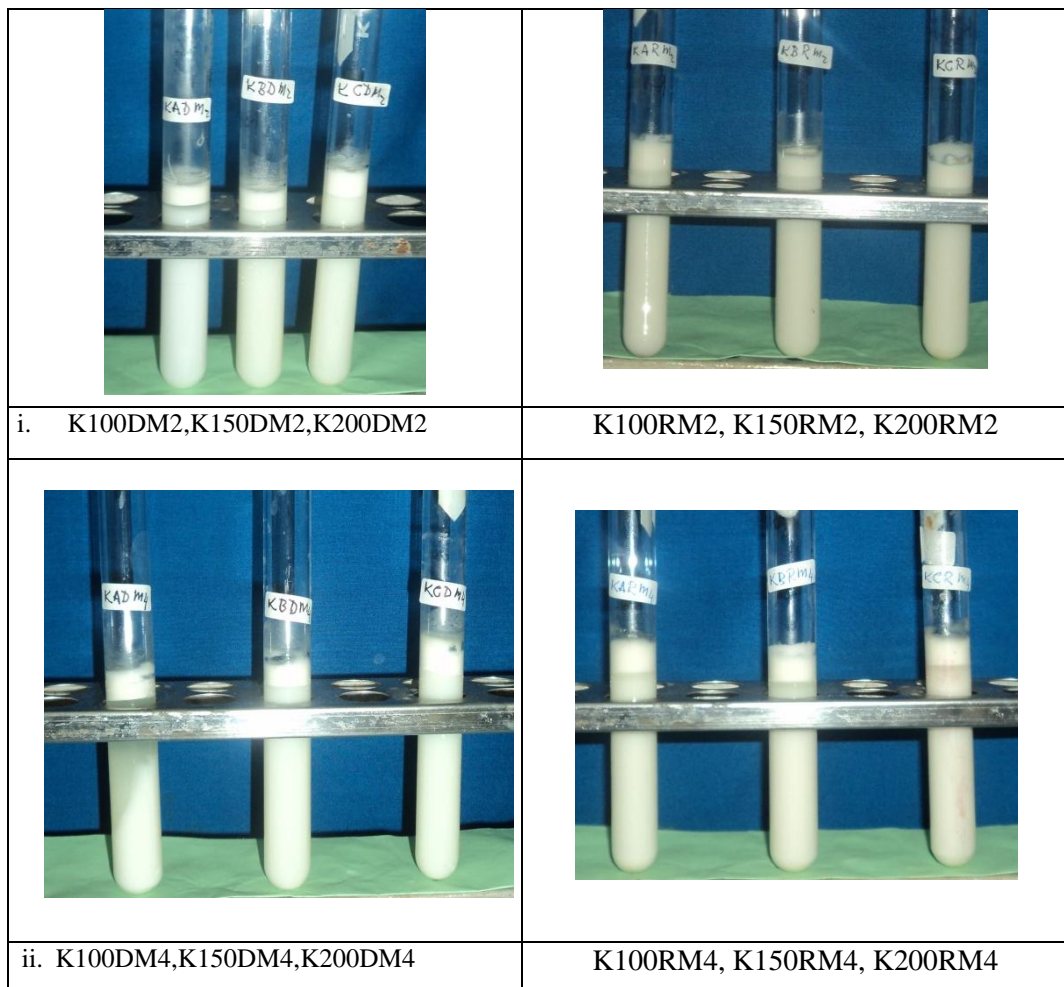


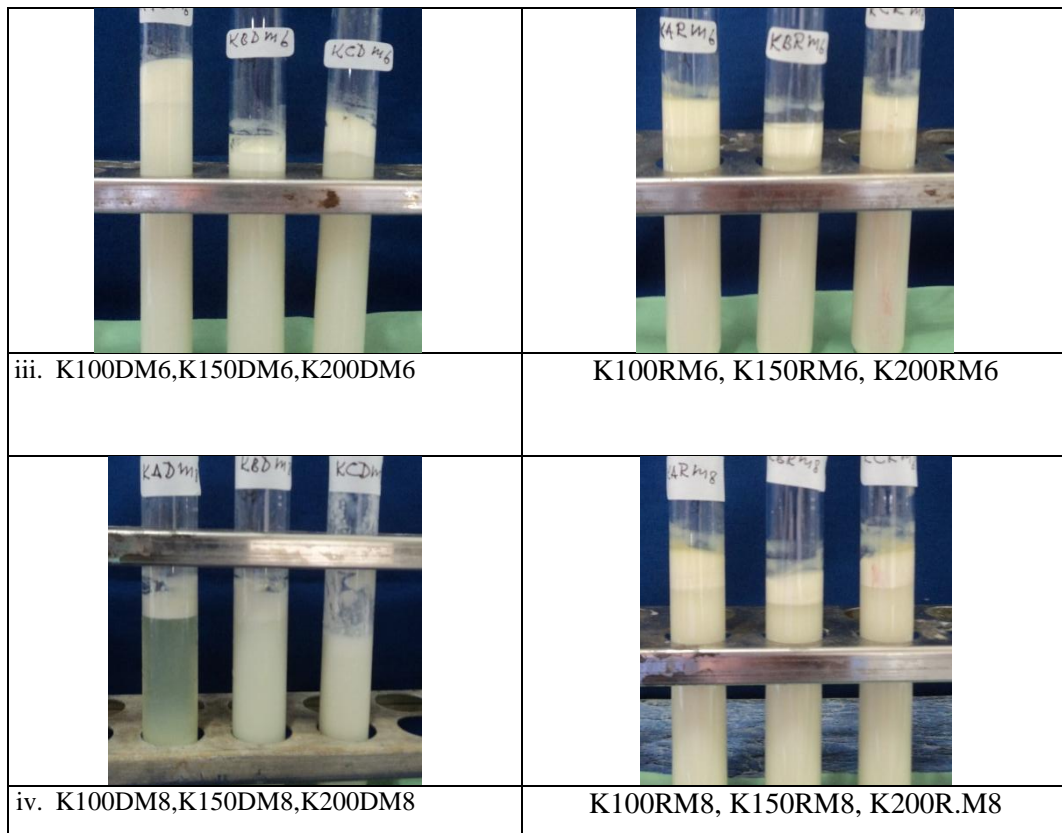
Gambar 5.2 Kenampakan susu dengan penambahan antioksidan BHT (T), kapsul antioksidan ampas kopi (K), dan ekstrak cair antioksidan ampas kopi dengan konsentrasi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) sebelum penyimpanan

	
i. T100DM2,T150DM2,T200DM2	ii. T100RM2, T150RM2, T200RM2
	
iii. T100DM4,T150DM4,T200DM4	iv. T100RM4, T150RM4, T200RM4
	
v. T100DM6,T150DM6,T200DM6	vi. T100RM6, T150RM6, T200R.M6

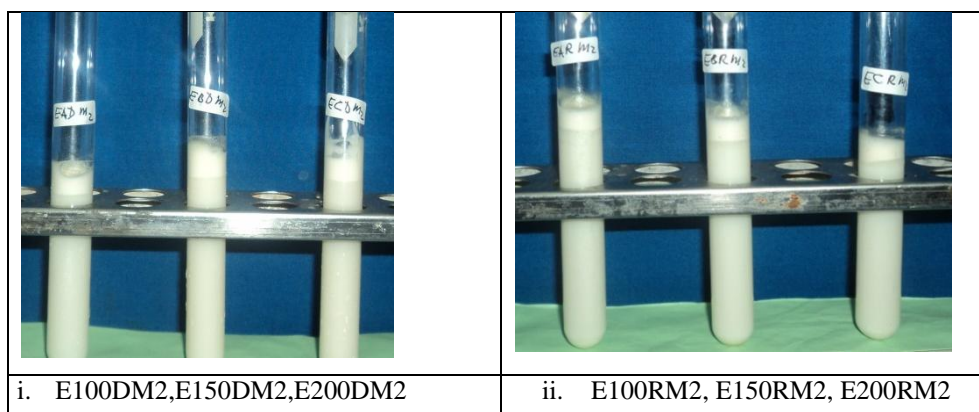


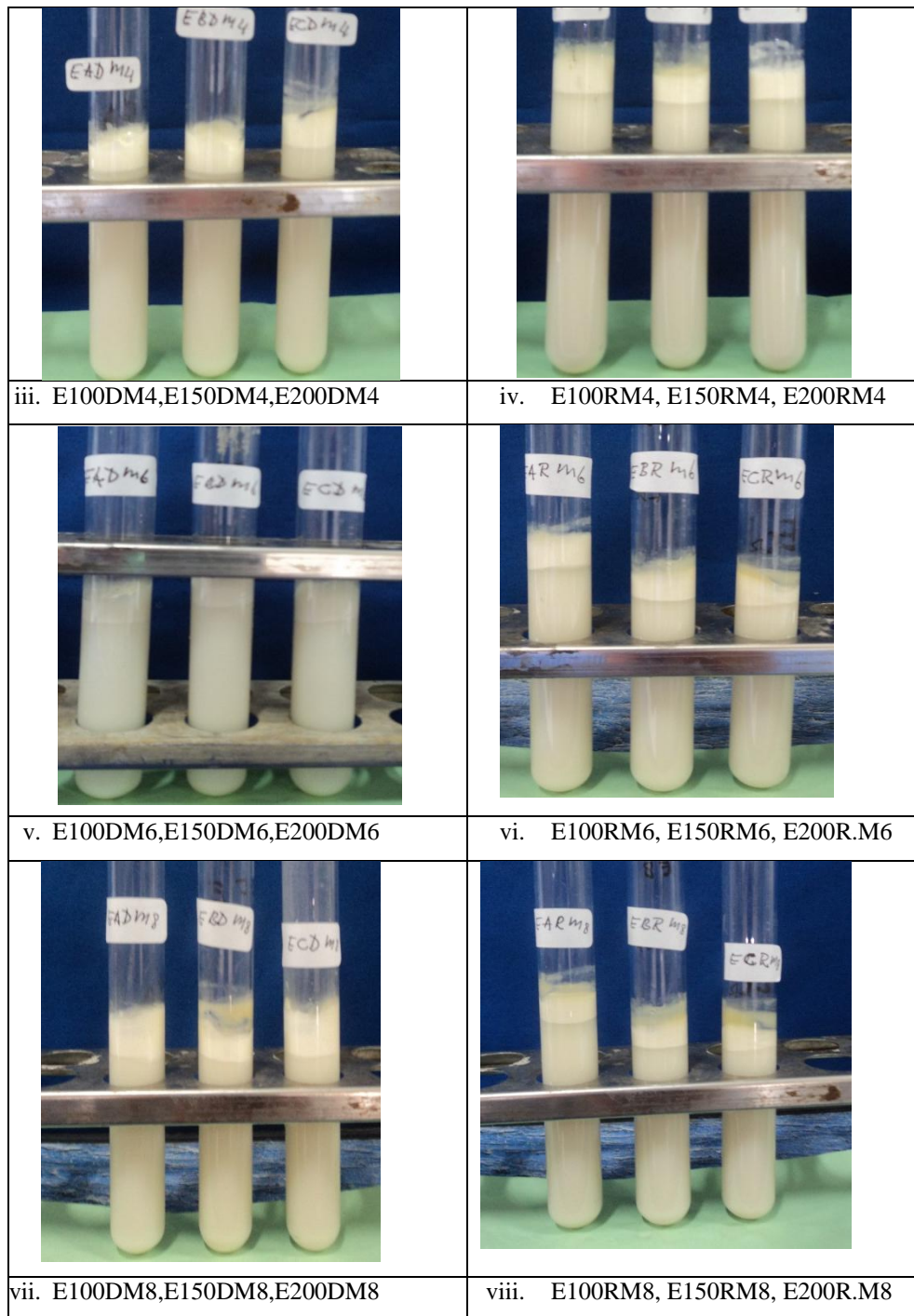
Gambar 5.3 Kenampakan susu dengan penambahan antioksidan BHT (T) dengan konsentrasi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8)





Gambar 5.4 Kenampakan susu dengan penambahan kapsul antioksidan ampas kopi(K) dengan konsentrasi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8)



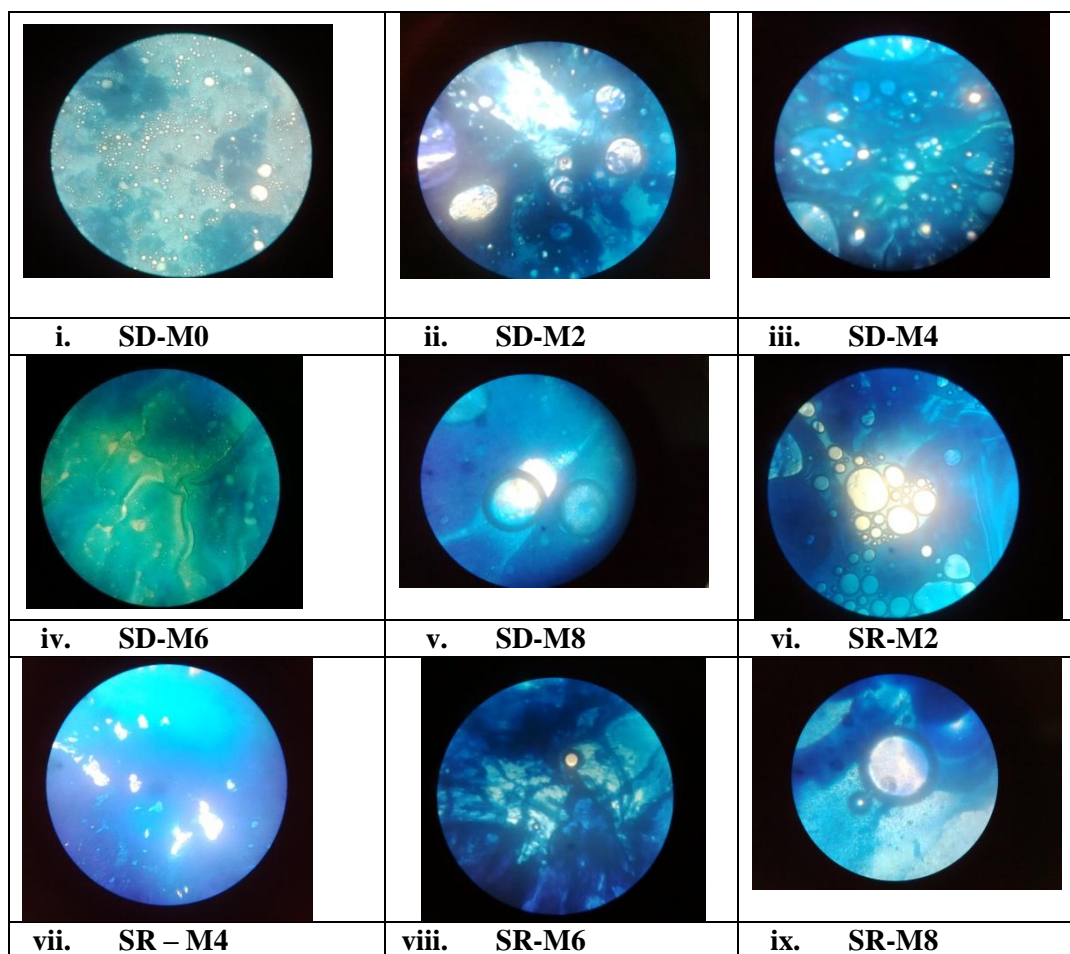


Gambar 5.5 Kenampakan susu dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi(E) dengan konsentrasi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8)

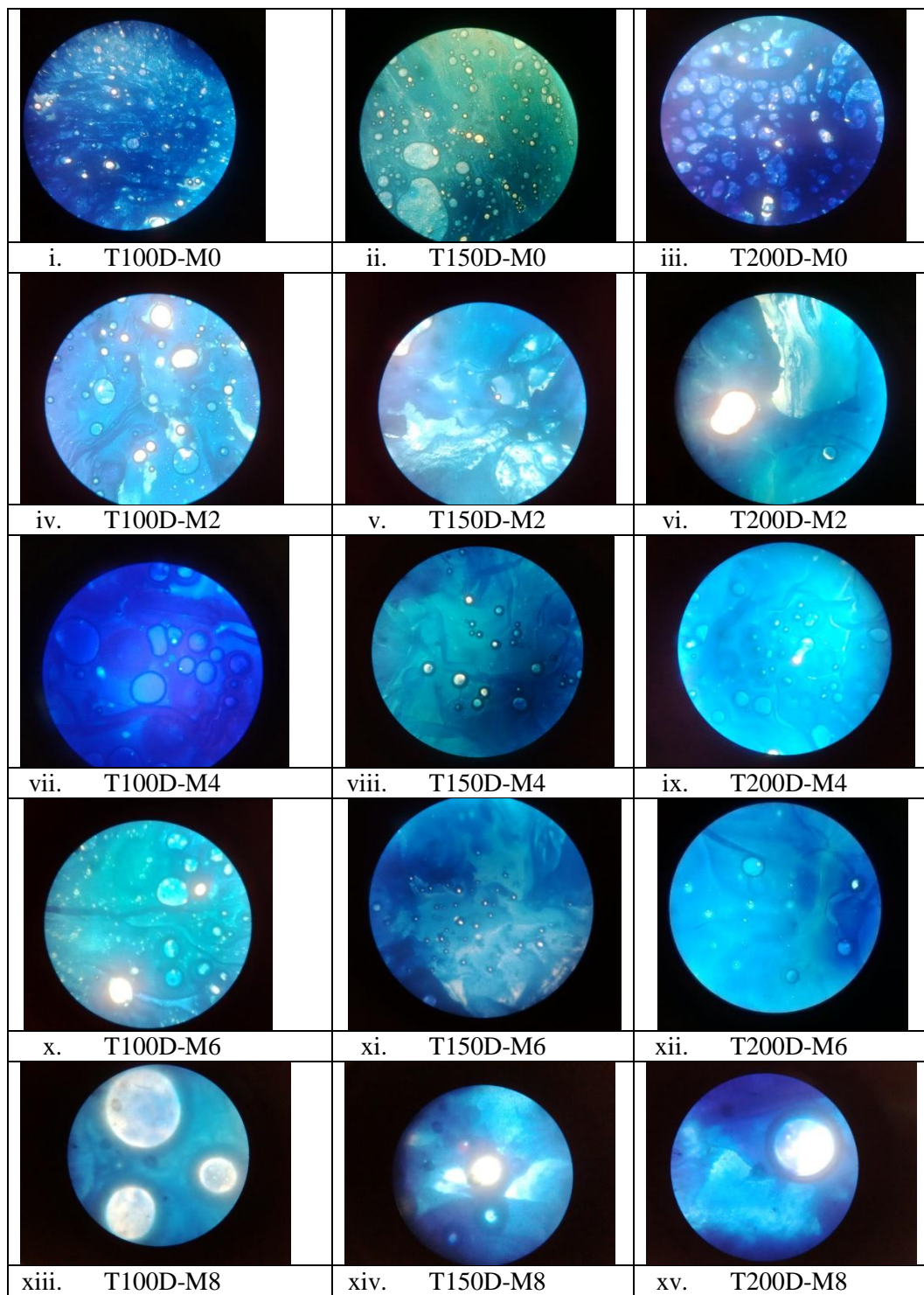
Pembahasan

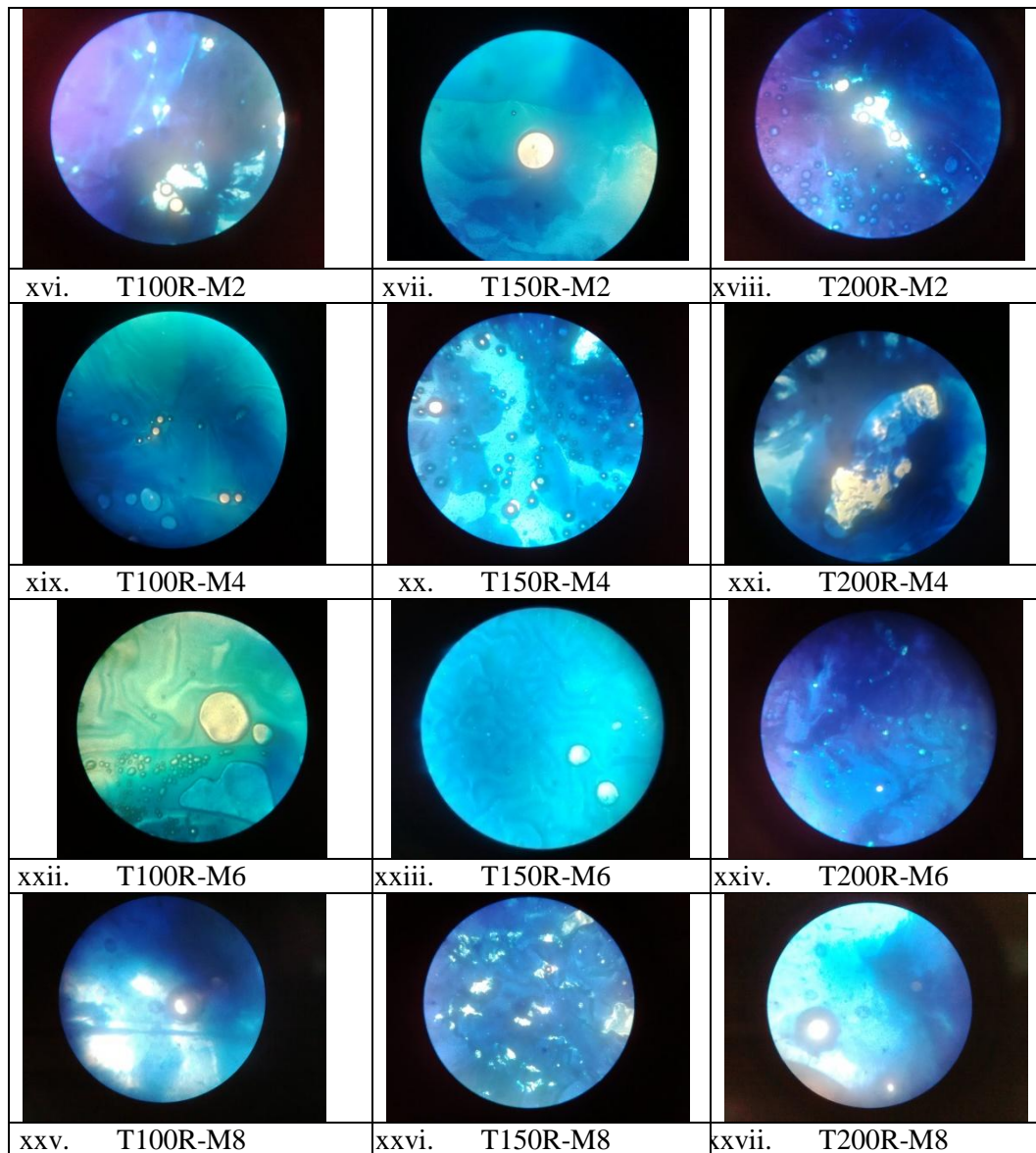
Selama masa penyimpanan, kenampakan emulsi susu tidak stabil, sehingga terjadi kriming (pemisahan lemak). Semakin lama penyimpanan lapisan lemak semakin tebal. Hal ini terjadi pada semua sampel. Dengan demikian, perlakuan penambahan antioksidan dan penyimpanan pada suhu dingin tidak dapat mencegah terjadinya kriming.

5.3 Perubahan globula emulsi susu selama penyimpanan

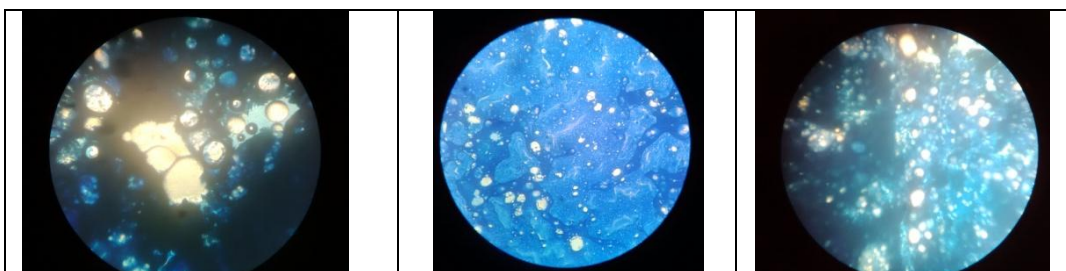


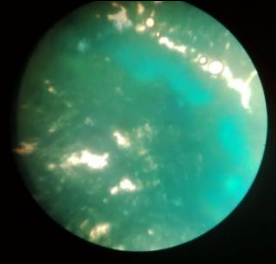
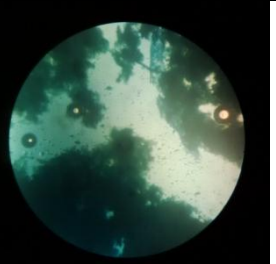
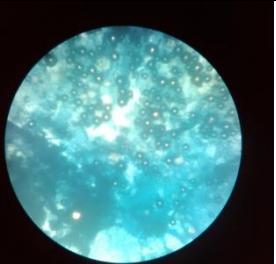
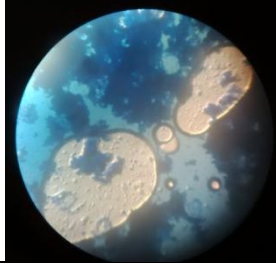
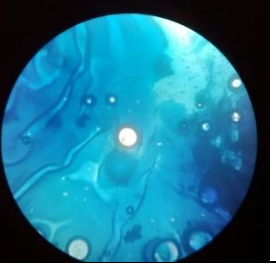
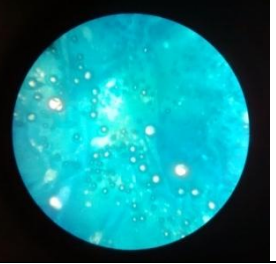
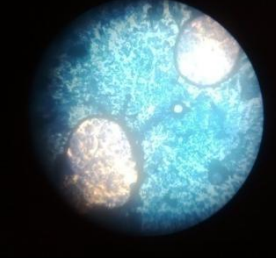
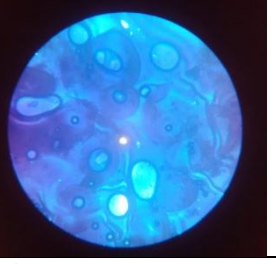
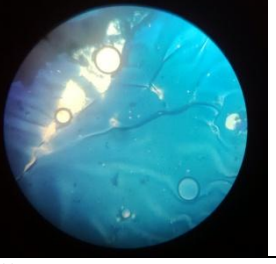
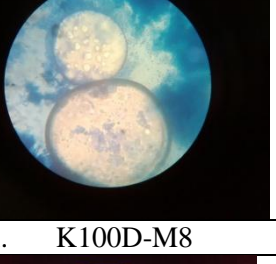
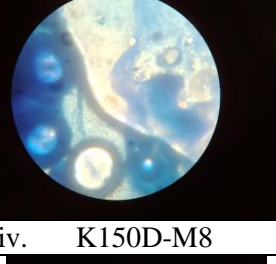
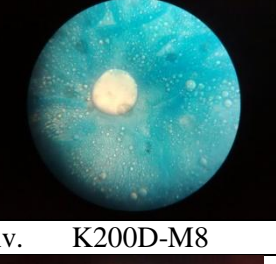
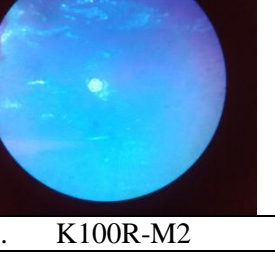
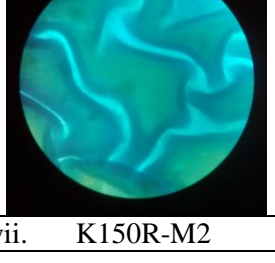
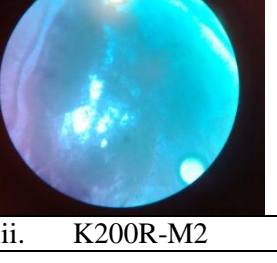

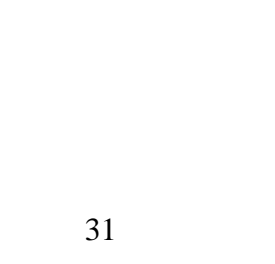

Gambar 5.6. Globula emulsi susu tanpa penambahan antioksidan yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8).

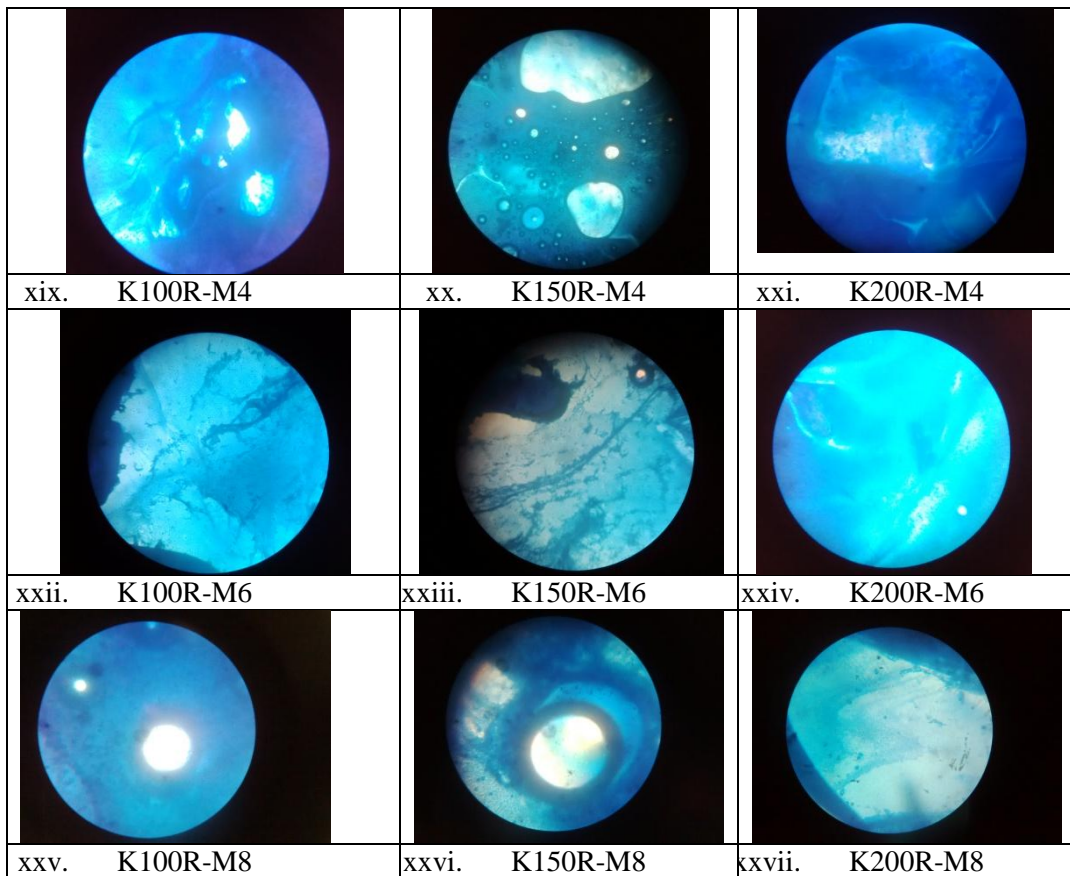




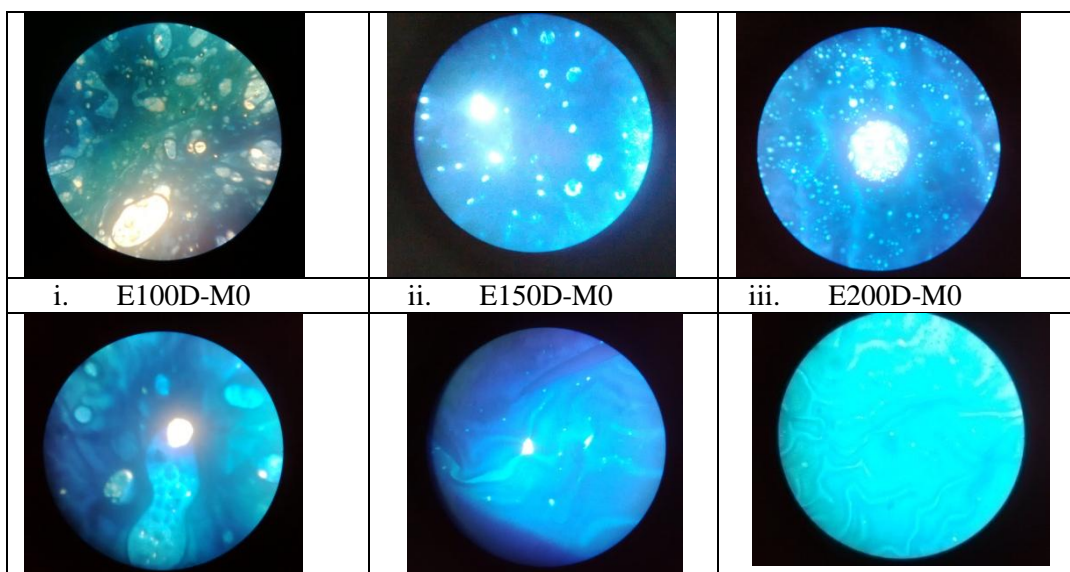
Gambar 5.7. Globula emulsi susu dengan penambahan antioksidan BHT (T) dengan konsentrasi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8).


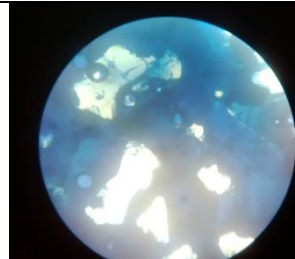
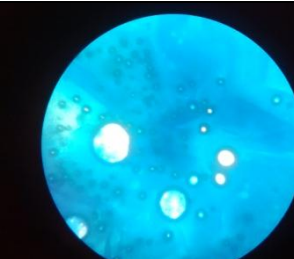
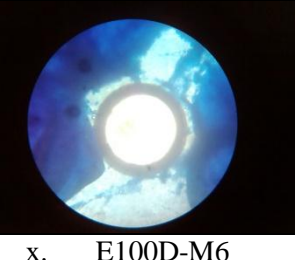
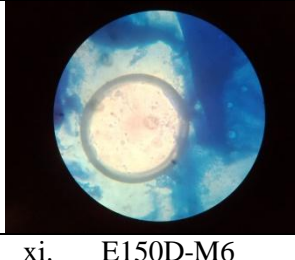
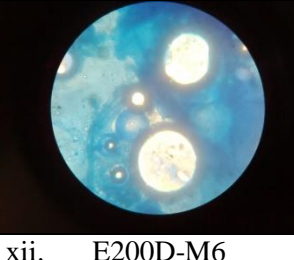
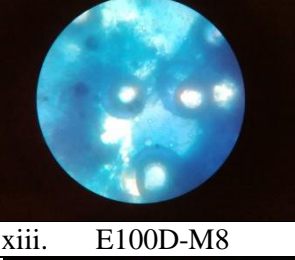
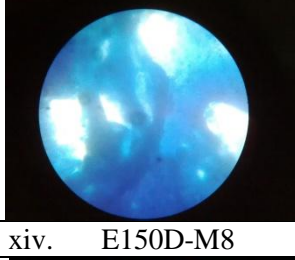
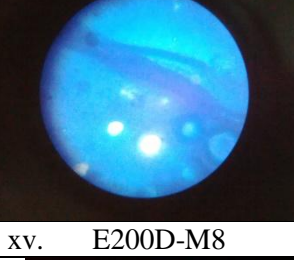
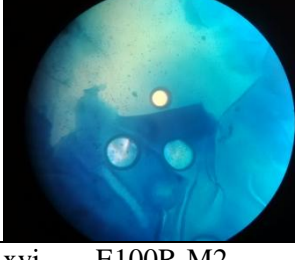

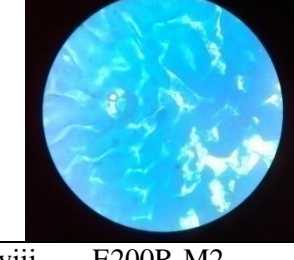
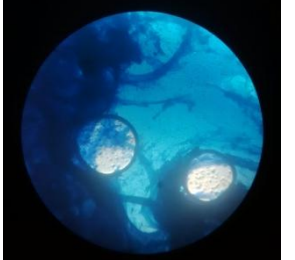
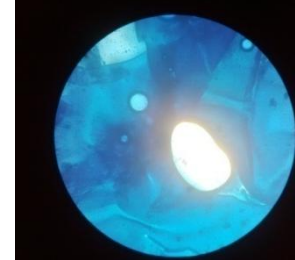
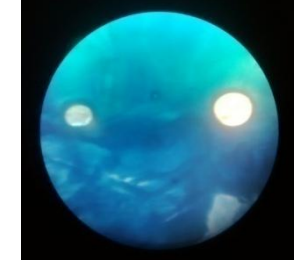





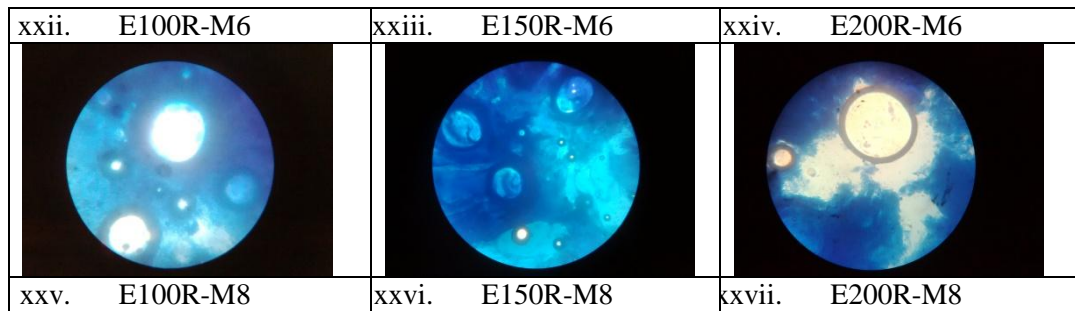
i. K100D-M0	ii. K150D-M0	iii. K200D-M0
		
iv. K100D-M2	v. K150D-M2	vi. K200D-M2
		
vii. K100D-M4	viii. K150D-M4	ix. K200D-M4
		
x. K100D-M6	xi. K150D-M6	xii. K200D-M6
		
xiii. K100D-M8	xiv. K150D-M8	xv. K200D-M8
		
xvi. K100R-M2	xvii. K150R-M2	xviii. K200R-M2
		



Gambar 5.8. Globula emulsi susu dengan penambahan kapsul antioksidan ampas kopi (K) dengan konsentrasi 100, 150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8)



iv. E100D-M2	v. E150D-M2	vi. E200D-M2
		
vii. E100D-M4	viii. E150D-M4	ix. E200D-M4
		
x. E100D-M6	xi. E150D-M6	xii. E200D-M6
		
xiii. E100D-M8	xiv. E150D-M8	xv. E200D-M8
		
xvi. E100R-M2	xvii. E150R-M2	xviii. E200R-M2
		
xix. E100R-M4	xx. E150R-M4	xxi. E200R-M4
		



Gambar 5.9. Globula emulsi susu dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi(E) dengan konsentrasi 100,150, dan 200 (mg/kg lemak susu) yang disimpan pada suhu dingin (D) dan suhu ruang (R) selama 2 minggu (M2), 4 minggu (M4), 6 minggu (M6), dan 8 minggu (M8).

Pembahasan

Selama penyimpanan, emulsi susu menjadi tidak stabil, globula lemak susu cenderung untuk bergabung. Tahapan penggabungan globula, diawali dengan globula-globula lemak susu yang saling mendekat. Setelah bergabung, ukuran globula lemak mejadi semakin besar dan akhirnya terjadi krimming yang menyebabkan globula lemak naik ke permukaan. Dengan demikian, semakin lama penyimpanan, ukuran globula lemak cenderung semakin besar.

5.4 Perubahan nilai kecerahan susu selama penyimpanan

Tabel 5.2. Perubahan nilai kecerahan susu selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Suhu penyimpanan	Mingguk -				
	M0	M2	M4	M6	M8
Ruang	74,27	77,88	72,13	71,12	70,55
Dingin	74,27	75,63	71,4	72,56	72,26

Tabel 5.3. Perubahan nilai kecerahan susu yang diperlakukan dengan penambahan BHT (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan antioksidan BHT (mg/kg lemak)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	72,61	72,61	74,57	74,57	75,63	75,63
M2	74,25	75,63	77,99	75,78	75,2	75,33
M4	71,93	72,73	72	75,66	71,1	73,83
M6	71,9	71,92	74,08	71,06	71,5	75,10
M8	71,45	71,85	73,85	70,85	71,15	74,75

Tabel 5.4. Perubahan nilai kecerahan susu yang diperlakukan dengan penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (mg/kg lemak)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	75,78	75,78	77,22	77,22	77,34	77,34
M2	78,60	78,6	69,29	77,52	69,49	69,49
M4	73,7	73,7	69,8	73,42	70,36	70,36
M6	72,75	72,75	70,01	73,12	69,7	69,64
M8	72,5	72,5	70	72,8	68,51	69,44

Tabel 5.5. Perubahan nilai kecerahan susu yang diperlakukan dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (mg/kg lemak)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	75,86	75,86	73,75	73,75	71,2	71,2
M2	73,56	74,64	73,61	72,68	72,62	69,52
M4	70,62	71,49	69,08	72,32	70,13	70,76
M6	69,5	70,2	68,87	71,15	69,15	69,7
M8	68,74	67,08	68,32	67,65	67,1	68,51

Pembahasan :

Susu dengan penambahan kapsul mempunyai nilai kecerahan mirip dengan susu dengan penambahan BHT pada konsentrasi penambahan 100 dan 150 mg antioksidan/kg lemak, dan lebih cerah daripada kapsul dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi. Hal ini diduga kapsul yang disubstitusi dengan tapioca teroksidasi mengandung H_2O_2 dalam jumlah kecil (0,67%) (Praptiningsih dan Palupi, 2014). Oksidator H_2O_2 mampu mengoksidasi pigmen susu, sehingga kenampakan lebih cerah daripada susu dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi. BHT yang mempunyai kenampakan kristal putih meningkatkan nilai kecerahan susu. Oleh karena itu, pada konsentrasi penambahan kapsul 200 mg/kg lemak susu, warna susu lebih gelap daripada susu dengan penambahan BHT karena kandungan antioksidan ampas kopi yang mempunyai warna gelap dari produk-produk maillard semakin banyak.

Pada semua sampel, semakin lama penyimpanan, nilai kecerahan semakin rendah diduga sebagai akibat reaksi pencoklatan enzimatis. Pada suhu dingin aktivitas enzimatis lebih terhambat, sehingga pada suhu dingin, warna susu lebih cerah daripada susu yang disimpan pada suhu ruang.

5.5 Perubahan kadar padatan terlarut susu selama penyimpanan

Tabel 5.6. Perubahan padatan terlarut ($^{\circ}$ Brix) susu selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Suhu penyimpanan	Mingguke -				
	M0	M2	M4	M6	M8
Ruang	9,6	9,6	10	10	10
Dingin	9,6	9,8	9,8	10	10

Tabel 5.7. Perubahan padatan terlarut ($^{\circ}$ Brix) susu yang diperlakukan dengan penambahan BHT (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan antioksidan BHT (mg/kg lemak)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	9,6	9,6	10	10	10	10
M2	9,6	9,75	9,6	9,4	9,6	9,6
M4	10	9	10	10	10	10
M6	10	10,2	10	10,1	10,4	10,2
M8	10	10,2	10	10,4	10,3	10,2

Tabel 5.8. Perubahan padatan terlarut ($^{\circ}$ Brix) susu yang diperlakukan dengan penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (mg/kg lemak)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	9	9	9	9	9	9
M2	9,6	10	9,6	10,3	9,6	10,7
M4	8	10,8	9,03	10,8	9,1	11
M6	9	11	9,6	11	9,6	11
M8	9	11	9,8	10,4	9,8	11,2

Tabel 5.9. Perubahan padatan terlarut ($^{\circ}$ Brix) susu yang diperlakukan dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (mg/kg lemak)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8
M2	9	8,9	9,17	8,83	9,03	8,83
M4	10	9	10	9	10	9
M6	10	9,2	10	9,2	10	9,2
M8	9,87	9,47	10	9,4	10	9,4

Pembahasan

Pengukuran padatan terlarut dilakukan pada 50% volume sampel bagian bawah. Selama penyimpanan, susu mengalami kriming sehingga pada volume susu bagian bawah, kadar lemaknya berkurang. Dikarenakan sifat lemak yang tidak larut air, maka naiknya lemak ke permukaan menyebabkan total padatan terlarut pada volum susu bagian bawah meningkat selama penyimpanan.

Nilai kadar padatan terlarut pada sampel yang diperlakukan dengan penambahan antioksidan hampir sama dengan susu tanpa penambahan antioksidan. Proses kriming yang terjadi selama penyimpanan, terjadi lebih cepat pada suhu ruang, sehingga nilai padatan terlarut susu yang disimpan pada suhu ruang lebih tinggi daripada susu yang disimpan pada suhu dingin.

5.6 Perubahan aktivitas antioksidan susu selama penyimpanan

Tabel 5.10 Perubahan aktivitas antioksidan susu selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Suhu penyimpanan	Minggu ke -				
	M0	M2	M4	M6	M8
Ruang	12.7671	11.7043	10.2821	9.468	7.9171
Dingin	12.7671	9.9636	9.468	8.2293	7.3094

Tabel 5.11 Perubahan aktivitas antioksidan susu yang diperlakukan dengan penambahan BHT (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan antioksidan BHT (mg/g)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	10.7370	10.7370	11.8744	11.8744	13.6438	13.6438
M2	8.6798	9.6906	8.2765	11.6291	9.9499	13.3330
M4	8.3618	8.6798	7.8446	8.4167	7.4232	7.7337
M6	7.8195	8.5464	7.2576	8.1870	7.3811	7.4158
M8	7.7208	6.3620	5.1849	6.2849	6.2676	6.6276

Tabel 5.12 Perubahan aktivitas antioksidan susu yang diperlakukan dengan penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (mg/g)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	15.9305	15.9305	16.4211	16.4211	19.0822	19.0822
M2	9.203	15.8579	9.5825	14.6334	9.63	17.3744
M4	8.4994	10.5168	8.187	12.9953	9.3914	15.0841
M6	6.362	6.597	7.0598	9.9075	7.7337	9.1726
M8	6.1853	4.4159	6.4317	6.9935	7.1705	6.7772

Tabel 5.13 Perubahan aktivitas antioksidan susu yang diperlakukan dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (mg/g)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	17.2444	17.2444	20.2004	20.2004	21.823	21.8243
M2	7.9696	16.9992	10.3954	19.1508	11.106	18.8908
M4	7.9653	10.9202	9.0607	10.3954	10.832	10.8322
M6	6.8752	6.8752	7.6966	10.092	7.9933	9.4172
M8	4.2636	4.7906	7.1828	5.2496	7.4197	5.4791

Pembahasan

Selama penyimpanan, semua sampel mengalami penurunan aktivitas antioksidan. Susu dengan penambahan kapsul antioksidan mempunyai kemampuan penghambatan DPPH lebih tinggi daripada susu dengan penambahan ekstrak cair antioksidan. Hal ini menunjukkan enkapsulasi mampu melindungi senyawa antioksidan dan pelepasan senyawa antioksidan dari dalam kapsul ke susu berlangsung secara bertahap. Sebaliknya, ekstrak yang tidak dienkapsulasi, aktivitas penghambatannya berlangsung cepat di awal, sehingga di sisa masa penyimpanan, penurunannya tajam.

Susu dengan penambahan kapsul mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada susu dengan penambahan BHT. Hal ini diduga karena komponen senyawa antioksidan pada kapsul antioksidan ampas kopi lebih beragam, sehingga mempunyai kemampuan penghambatan DPPH lebih tinggi daripada BHT.

Secara keseluruhan, aktivitas antioksidan sampel pada suhu ruang lebih tinggi daripada sampel yang disimpan di suhu dingin. Hal ini dikarenakan pada kecepatan reaksi penghambatan dipengaruhi oleh suhu. Semakin tinggi suhu, reaksi semakin cepat, sehingga aktivitas antioksidan yang terukur semakin tinggi.

5.7 Perubahan kadar asam lemak bebas susu selama penyimpanan

Tabel 5.14 Perubahan kadar asam lemak bebas susu selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Suhu penyimpanan	Minggu ke -				
	M0	M2	M4	M6	M8
Ruang	0.7374	0.639	0.7496	1.0579	1.0618
Dingin	0.7374	0.6081	0.6923	0.9522	1.0192

Tabel 5.15 Perubahan kadar asam lemak bebas susu yang diperlakukan dengan penambahan BHT (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan antioksidan BHT (mg/g)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	0.516	0.516	0.5145	0.5145	0.5072	0.5072
M2	0.5988	0.843	0.5766	1.0949	0.5854	0.6318
M4	0.7379	0.7451	0.7382	0.7503	0.743	0.7495
M6	0.9529	0.9515	0.952	1.2839	0.9539	1.1667
M8	1.2648	0.8808	1.2593	1.4414	1.2652	1.6183

Tabel 5.16 Perubahan kadar asam lemak bebas susu yang diperlakukan dengan penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (mg/g)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	0.5983	0.5983	0.6039	0.6039	0.6091	0.6091
M2	0.3	0.356	0.303	0.3632	0.3105	0.3601
M4	0.7391	1.0594	0.7365	1.0593	0.7398	1.0557
M6	0.7368	0.9505	1.0508	0.9506	0.9523	0.9491
M8	1.1503	1.147	1.1455	1.1405	1.1495	1.1458

Tabel 5.17 Perubahan kadar asam lemak bebas susu yang diperlakukan dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (mg/g)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	0.3069	0.3069	0.3129	0.3129	0.3149	0.3149
M2	0.545	0.8441	0.8456	0.842	0.8401	0.8425
M4	0.8454	0.7397	0.8405	0.8435	0.5226	0.8437
M6	1.0066	1.1472	1.0086	1.1506	1.0069	1.1477
M8	1.0034	0.9694	0.9603	1.006	0.9905	0.9663

Pembahasan :

Seiring dengan lama penyimpanan, semua sampel mengalami peningkatan kadar FFA. FFA dihasilkan dari perubahan lemak atau trigliserida selama penyimpanan karena adanya oksidasi dan hidrolisis (Gupta, 2004). Susu dengan perlakuan penambahan kapsul memiliki nilai FFA lebih tinggi daripada susu yang diperlakukan dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi. Hal ini dikarenakan kapsul menggunakan dinding pengkapsul tapioca teroksidasi mengandung residu oksidator H_2O_2 . Residu H_2O_2 yang juga merupakan asam kuat, dapat menghidrolisis lemak menjadi asam lemak bebas, sehingga asam lemak bebas yang terukur lebih tinggi. Kadar H_2O_2 tapioka teroksidasi yang digunakan

sebagai pengkapsul 0,67 %, dan masih jauh di bawah kadar maksimal yang diijinkan oleh FDA Dan GRAS yaitu 15 % (Praptiningsih dan Palupi, 2014).

Susu dengan penambahan BHT mempunyai kadar asam bebas paling tinggi daripada susu dengan penambahan kapsul dan ekstrak cair antioksidan ampas kopi. Hal ini diduga ampas kopi mempunyai kandungan antioksidan yang lebih banyak jenis/macamnya, sedangkan BHT hanya terdiri dari 1 macam senyawa antioksidan, sehingga lemak susu yang teroksidasi pada susu dengan penambahan BHT lebih banyak.

Menariknya, susu tanpa perlakuan penambahan antioksidan mempunyai kadar FFA lebih rendah daripada susu dengan penambahan BHT. Hal ini diduga ada hubungannya dengan kadar padatan terlarut. Susu dengan penambahan BHT mempunyai kadar padatan terlarut lebih tinggi, yang berarti lemak yang mengalami kriming dan di permukaan lebih banyak, sehingga lebih banyak lemak yang teroksidasi dan terhidrolisis.

Sampel susu yang disimpan pada suhu dingin mempunyai kadar FFA lebih rendah daripada susu yang disimpan pada suhu ruang karena pada suhu ruang kecepatan reaksi pemecahan lemak menjadi asam lemak bebas lebih cepat.

5.8 Perubahan angka peroksida susu selama penyimpanan

Tabel 5.18 Perubahan angka peroksida bebas susu selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Suhu penyimpanan	Minggu ke -				
	M0	M2	M4	M6	M8
Ruang	8.475	10.6812	11.1404	11.572	13.7782
Dingin	8.475	10.6812	10.7158	12.2527	13.0158

Tabel 5.19 Perubahan angka peroksida susu yang diperlakukan dengan penambahan BHT (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan antioksidan BHT (mg/g)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	8.6152	8.6152	5.0564	5.0564	5.637	5.637
M2	9.6146	9.6146	6.3981	8.2404	6.989	7.697
M4	10.7514	10.1956	11.2451	9.2391	12.4157	10.3735
M6	11.1715	10.4567	13.0202	12.1974	12.4871	12.3774
M8	13.1526	15.0099	18.4808	13.8126	17.1006	13.1803

Tabel 5.20 Perubahan angka peroksida susu yang diperlakukan dengan penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan kapsul ekstrak antioksidan ampas kopi (mg/g)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	6.1542	6.1542	5.0628	5.0628	6.7866	6.7866
M2	6.2266	7.9328	5.9946	7.3107	7.3933	8.3962
M4	7.754	10.2256	8.0051	10.5258	7.7777	10.3379
M6	8.407	10.4415	8.5321	10.5822	8.4266	11.3096
M8	10.6609	11.0766	9.17	12.8055	9.2885	11.702

Tabel 5.21. Perubahan angka peroksida susu yang diperlakukan dengan penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (100, 150, dan 200 mg/kg lemak) selama penyimpanan pada suhu dingin dan suhu ruang

Lama Penyimpanan	Konsentrasi penambahan ekstrak cair antioksidan ampas kopi (mg/g)					
	100		150		200	
	Suhu penyimpanan					
	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang	Dingin	Ruang
M0	8.1041	8.1041	8.6064	8.6064	8.3124	8.3124
M2	9.4732	8.6011	9.0697	8.6273	8.6857	9.1799
M4	10.4567	9.0968	9.8578	9.4173	9.6978	9.5877
M6	10.9911	12.9871	12.1974	9.8578	11.2958	9.6978
M8	15.203	15.203	13.3975	13.2596	12.3774	13.4278

Pembahasan :

Semakin lama penyimpanan, angka peroksida pada semua sampel cenderung meningkat. Susu tanpa perlakuan penambahan antioksidan mengalami tajam di minggu kedua, pada minggu selanjutnya hanya terjadi sedikit peningkatan angka peroksida. Sebaliknya, susu dengan perlakuan penambahan antioksidan, peningkatan angka peroksidanya berjalan bertahap.

Menariknya, susu tanpa perlakuan penambahan antioksidan mempunyai angka peroksida lebih rendah daripada susu dengan penambahan BHT. Hal ini diduga ada hubungannya dengan kadar padatan terlarut. Susu dengan penambahan BHT mempunyai kadar padatan terlarut lebih tinggi, yang berarti lemak yang mengalami kriming dan di permukaan lebih banyak, sehingga lebih banyak lemak yang teroksidasi dan lebih banyak peroksida yang dihasilkan.

Susu dengan penambahan kapsul antioksidan mempunyai kadar peroksida lebih rendah daripada susu dengan penambahan ekstrak cair antioksidan. Hal ini diduga terkait dengan kemampuan penghambatan DPPH kapsul yang lebih tinggi ekstrak cair antioksidan ampas kopi. Hal ini menunjukkan enkapsulasi mampu melindungi senyawa antioksidan dan pelepasan senyawa antioksidan dari dalam kapsul ke susu berlangsung secara bertahap. Sebaliknya, ekstrak yang tidak dienkapsulasi aktivitas penghambatannya berlangsung cepat di awal, sehingga produk peroksida yang terbentuk cukup banyak dan angka peroksida yang terukur lebih banyak.

Susu dengan penambahan kapsul mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada susu dengan penambahan BHT. Hal ini diduga karena komponen senyawa antioksidan pada kapsul antioksidan ampas kopi lebih beragam, sehingga mampu menghambat pembentukan peroksida.

Secara keseluruhan, angka peroksida sampel pada suhu ruang lebih tinggi daripada sampel yang disimpan di suhu dingin. Hal ini dikarenakan pada kecepatan reaksi penghambatan dipengaruhi oleh suhu. Semakin tinggi suhu, reaksi semakin cepat, sehingga aktivitas antioksidan yang terukur semakin tinggi.

Angka peroksida susu dengan penambahan antioksidan terenkapsulasi sampai dengan penyimpanan minggu ke 8 yang disimpan pada suhu dingin

dengan konsentrasi 150 dan 200 mg/kg lemak masih memenuhi standar, maksimal 30 meq/kg (ISO 3960 tahun 2007).

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

- a. Penambahan kapsul antioksidan ampas kopi lebih efektif dalam penghambatan proses oksidasi pada susu yang ditunjukkan dengan kadar asam lemak bebas dan angka peroksida yang lebih rendah daripada susu dengan penambahan antioksidan BHT dan ekstrak cair antioksidan ampas kopi.
- b. Penambahan kapsul antioksidan ampas kopi yang mengandung 150 mg antioksidan/kg lemak susu mampu menghambat kerusakan oksidasi lemak susu.

6.2 Saran

Kapsul yang dihasilkan agak mengalami kesulitan aplikasinya dalam produk, perlu dilakukan pembuatan kapsul dalam bentuk mikroemulsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anal, A.K. and Singh, H. (2007) Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 240-251
- Anonim. 2010. Antioksidan: Apa yang Kamu Ketahui Tentangnya. <http://belajar.kimia.com/antioksidan-apa-yang-anda-ketahuitentangnya/> [03 Februari 2011].
- AOAC. 2006. Official methods of analysis (18th ed.). Association of official analytical chemist, Gaithersburg, Maryland.
- Augustin, M.A., & Hemar, Y. (2009). Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chemical Society Reviews*, 38, 902–912.
- Barbosa C.G.V., Ortega E., Juliano P. and Yan H. (2005) *Food Powders: Physical Properties, Processing, and Functionality*. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York.
- Bozel, N. (1968). Modified starch. French Patent 1 542 721 (cited from Chemical Abstract 71: 92921 t).
- BPOM RI. 2013. Peraturan BPOM no 38. Tahun 2013 tentang Batas Maksimal Penggunaan Bahan Tambahan Pangan Antioksidan.
- Cardenas, A., Monal W.A., Goycoolea, F.M., Ciapara, I.H., Peniche, C. (2003) Diffusion through membranes of the polyelectrolyte complex of chitosan and alginate. *Macromolecular Bioscience*, 10(3), 535-539
- Chattopadhyaya, S., Singhal, R.S., and Kulkarni, P.R. (1998) Oxidised starch as gum arabic substitute for encapsulation of flavours. *Carbohydrate Polymers*, 37, 143-144
- Demiante, I.M., Dupuy, N., Huvenne, J.P., Cereda, M.P. and Wosiacki, G. 2000. *Relationship Between Baking Behavior of Modified Cassava Starches and Starch Chemical Structure Determined by FTIR Spectroscopy*. *Carbohydrate Polymer* 42: 149-158.
- El-Sheikh, M.A., Ramadan, M.A., & El-Shafie, A. (2010). Photo-oxidation of rice starch. Part I: using hydrogen peroxide. *Carbohydrate Polymers*, 80, 266-269.
- Fagen, H. J., Kolen, E. P., & Hussong, R. V. (1955). Spectrophotometer method for determining piperine in oleoresin of black pepper. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 3, 860–862.
- Frascareli, E.C., Silva, V.M., Tonon, R.V., Hubinger, M.D. (2012). Effects of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food and Bioproducts Processing*, 90, 413-424.
- Ghosh, P.K., Chatterjee, D., Bhattacharjee, P., 2012. Alternatives methods of frying and antioxidant stability in soybean oil. *Advance Journal of Food Science and Technology* 4, 26–33.

- Girard, M., Sanchez, C., Laneuville, S. I., Turgeon, S. L., & Gauthier, S. F. (2004). Associative phase separation of beta-lactoglobulin/pectin solutions: a kinetic study by small angle static light scattering. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 35, 15–22.
- Gupta, RB. 2004. Effect of Cydodextrines on the Flavor of Guat Milk and its Yoghurt. Thesis. Auckland University of Technology. Auckland.
- Heath, H.B. (1978). Flavoring materials. In *Flavor Technology: Profiles, Products, Applications*. AVI Publishing Company, Inc., Westport, CN, pp. 359–366.
- Heath, H.B. and Reineccius, G.A. (1986). Flavor production. In *Flavor Chemistry and Technology*. AVI Publishing Company, Inc., Westport, CN, Chapter 11, pp. 354–371.
- Hogan, S.A., McNamee, B.F., O’Riordan, E.D., O’Sullivan, M. (2001) Emulsification and microencapsulation properties of sodium caseinate/carbohydrate blends. *International Dairy Journal*, 11, 137-144
- Kailasapathy, K. 2002. Microencapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and Potential Applications. *Microencapsulation of Probiotic Bacteria* 3: 39 – 48.
- Kim, Y.D dan C.V. Morr. 1996. Microencapsulation properties of gum arabics and several food proteins : spray dried orange oil emulsion particles. *J. Agric. Food Chem.* 44(5) : 1314-1320.
- King, A.H. (1995). Encapsulation of food ingredients. In *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*, Risch, S.J. and Reineccius, G.A. (eds.). American Chemical Society, Washington, DC, Chapter 3, pp. 26–39.
- Kong, X., Bao, J., Corke, H. (2009) Physical properties of amaranthus strach. *Food Chemistry*, 113, 371-376.
- Laneuville, S. I., Turgeon, S. L., Sanchez, C., & Paquin, P. (2006). Gelation of native beta-lactoglobulin induced by electrostatic attractive interaction with xanthan gum. *Langmuir*, 22, 7351–7357.
- Lawala, O.S., Adebowaleb, K.O., Ogunsanwoa, B.M., Barbac, L.L., Ilo, N.S. (2005) Oxidized and acid thinned starch derivatives of hybrid maize: functional characteristics, wide-angle X-ray diffractometry and thermal properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 35(1–2), 71–79
- LeRoy Jr., D., 1976. Lipids. In: Fenema, O.W. (Ed.), *Principles of Food Science, Part I, Food Chemistry*. Marcel Dekker Inc., NY, USA, p. 183.
- Morrison, W. R., Laignelet. 1983. *An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches*. *J. Cereal Science*, 1: 9–20.
- Newlander, J.A. and H.V. Atherton. 1964. *The Chemistry and Testing of Dairy Products 3th Edition*. Olsen Publishing Co., Milwaukee, Wisconsin, pp 365.
- Niba, Bokanga, Jackson, Schilimme, dan Li. 2001. *Physicochemical Properties and starch Granular Characteristics of Flour from Various Manihot*

- Esculenta (Cassava) Genotypes*. University of Maryland: Food Chemistry and Toxicology.
- North, H. (1949). Colorimetric determination of capsaicin in oleoresin of capsicum. *Anal. Chem.*, 21, 934-936.
- Palupi, N.W. 2010. Pengaruh konsentrasi hidrogen peroksida dan lama penyinaran UV-C terhadap tingkat oksidasi dan pengembangan pati kasava pada proses pemanggangan. Universitas Gadjah Mada.
- Parovuori, P., Hamunen, A. Forsell, P., Autio, K., Poutanen, K. (1995). Oxidation of potato starch by hydrogen peroxide. *Starch/Starke*, 47, 19-23.
- Ponce, A., Roura, S.I., Moreira, M.R., 2011. Essential oils as biopreservatives: Different methods for the technological application in Lettuce leaves. *Journal of Food Science* 76, 34–39.
- Praptiningsih Y., dan Palupi, N. W. 2014. Aplikasi Tapioka Teroksidasi pada Enkapsulasi Aantioksidan dari Ampas Seduhan Kopi dengan Teknik *Coacervation*. Laporan Penelitian. UNEJ. Jember.
- Radianti MA. 2005. Studitentang Pembuatan Minuman Fungsional Tomat-Kayu Manis. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Richardson, S., & Gorton, L. (2003). Characterization of the substituen of distribution in starch and cellulose derivates. *Analytica Chimica Acta*, 497, 27-65.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi ke-6. Penerjemah : Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.
- Risch, S.J & G.A. Reineccius, 1995. Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients. Ed. Risch S.J, Reineccius G.A., ACS Symposium Series, Washington, pp: 214.
- Rivera, M.M.S., Suarez, F.J.L.G., Valle, M.V., Meraz, F.G., Perez, L.A.B. (2005). Partial characterization of banana starches oxidised by different levels of sodium hypochlorit. *Carbohydrate Polymers*, 62, 50-56.
- Rokka, S. and Rantamaki, P.(2010) Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: Challenges for industrial applications. *Eur. Food Res. Technol.*, 231: 1-12.
- Ruis, H.G.M. 2007. Structure rheology relations in sodium caseinate in containing systems. Tesis. Wengenigen University, Netherland
- Sarkar, S., Gupta, S., Variyar, P.S., Sharma, A., Singhal, R.S. (2012) Irradiation depolymerized guar gum as partial replacement of gum Arabic for microencapsulation of mint oil. *Carbohydrate Polymers*, 90, 1685 – 1694
- Sarmiento, B., Ribeiro, A., Veiga, F., Sampaio, P., Neufeld, R., Ferreira, D. (2007) Alginate/chitosan nanoparticles are effective for oral insulin delivery. *Pharmaceutical Research*, 24(12)
- Schoch, T.J. 1964. *Swelling power and solubility of granular starches*. In *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Vol 4 (R.L. Whistler, ed.) pp. 106–108. New York: Academic Press
- Shaikh, J., Bhosale, R., Singhal, R. (2006) Microencapsulation of blkc pepper oleoresin. *Food Chemistry*, 94, 105-110.

- Shay, R. (1994). Flavor manufacturing, Part I. In Source Book of Flavors, Reineccius, G. (ed.). Chapman & Hall, New York, Chapter 11, pp. 538–605.
- Singh, H. 1995. Heat induced changes in casein, including interactions with whey proteins. Heat Induced Changes in Milk. P. F. Fox. Brussels, *International Dairy Federation*: 86-104.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi, 1997. Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty, Yogyakarta.
- Subagio. 2006. *Ubi Kayu Substitusi berbagai Tepung-tepungan*. Vol 1-Edisi 3. Food Review (April, 2006) : hal 18-22.
- Swaigood, H.E. 1982. Chemistry of Milk Protein. Di dalam P. F. Fox (Eds.). *Developments in Dairy Chemistry-4. Proteins*. London: Applied Science Publishers. 1-59.
- Syarief, R. dan H. Halid. 1993. *Teknologi Penyimpanan Pangan*. Jakarta: Arcan.
- Thoenes, P., 2004. VIIth World Soybean Research Conference, Foz do Iguassu, Brazil, March 1–4.
- Wiadyani, A.A.I.S. 2010. Modifikasi Pati Kasava dengan Oksidasi dan Asidifikasi untuk Meningkatkan Pengembangan pada Baking. Universitas Gadjah Mada

Lampiran 1. Sertifikat seminar internasional

