

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimen dengan menggunakan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 4 taraf perlakuan. Formulasi ini di desain untuk minuman fungsional tinggi antioksidan yang dapat bermanfaat mencegah dan mengurangi radikal bebas dalam tubuh. Masing-masing perlakuan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali sehingga jumlah unit percobaan adalah 12 unit. Rincian perlakuan secara lengkap disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Taraf Perlakuan

Taraf perlakuan Jus Bit + (Yoghurt + Jeruk nipis) (%)	Replikasi		
	1	2	3
P ₀ 100% + (0% + 0%)	X ₀₁	X ₀₂	X ₀₃
P ₁ 100% + (28% + 7%)	X ₁₁	X ₁₂	X ₁₃
P ₂ 100% + (30% + 5%)	X ₂₁	X ₂₂	X ₂₃
P ₃ 100% + (32% + 3%)	X ₃₁	X ₃₂	X ₃₃

Keterangan:

X₀₁ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₀ replikasi 1

X₁₁ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₁ replikasi 1

X₂₁ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₂ replikasi 1

X₃₁ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₃ replikasi 1

X₀₂ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₀ replikasi 2

....

X₃₃ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₃ replikasi 3

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2024 yang bertempat di:

1. Laboratorium Ilmu Teknologi Pangan Gizi Politeknik Kesehatan Malang untuk proses pengolahan jus bit dan uji organoleptik
2. Laboratorium Ilmu Teknologi Pangan Universitas Brawijaya Malang untuk analisis aktivitas antioksidan

C. Alat dan Bahan

1. Alat

a. Jus Bit

Alat yang digunakan dalam pengolahan jus buah bit adalah timbangan digital, pisau, juicer, sendok, saringan dan gelas ukur, kompor gas, gas, baskom ukuran sedang, panci ukuran sedang, dan spatula.

b. Analisis Aktivitas Antioksidan

Alat yang digunakan untuk analisis aktivitas antioksidan adalah timbangan analitik, pipet ukur, pipet tetes, karet penghisap, gelas beker 250 ml, corong kaca, labu ukur, tabung reaksi, erlenmeyer, spektrofotometer, dan refrigerator.

c. Analisis Mutu Organoleptik

Alat yang digunakan untuk analisis mutu organoleptik adalah form kuisisioner uji kesukaan (*Hedonic Scale Test*), alat tulis, nampan kayu kecil, cup plastik kecil, kertas label dan sedotan plastik.

d. Analisis Taraf Perlakuan Terbaik

Alat yang digunakan untuk uji taraf perlakuan terbaik yaitu formulir uji taraf perlakuan terbaik dan alat tulis.

2. Bahan

a. Jus Bit

Bahan yang dibutuhkan dalam pembuatan jus bit adalah bit merah (*Beta vulgaris*) dan gula. Standart resep pembuatan jus bit disajikan pada Tabel 9,


Tabel 9. Standar Resep Jus Bit

Bahan makanan	Tarf perlakuan			
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃
Jus Bit (ml)	200	200	200	200
Gula (g)	11,5	11,5	11,5	11,5
Yoghurt (g)	0	56	60	64
Jeruk Nipis (ml)	0	14	10	6
Total	211,5	281,5	281,5	281,5

SSumber: Maghfiroh 2018 dengan modifikasi

Berdasarkan kebutuhan bahan tersebut, spesifikasi dari masing-masing bahan pembuatan jus bit disajikan pada tabel 10.

Tabel 10. Jenis dan spesifikasi bahan makanan yang digunakan

Jenis bahan makanan	Gambar	Spesifikasi
Bit		Bit merah didapatkan pada petani bit daerah kota batu, Malang dengan umur panen kisaran 2,5-3 bulan, ukuran diameter 6 – 7,2 cm, memiliki berat kisaran 200-250 gram per bit, bentuk bulat, ukuran sedang, kulit tidak cacat, tidak terlihat adanya lender ataupun cairan yang keluar dari daging buahnya, permukaan mulus tanpa retakan, serta akar

Jenis bahan makanan	Gambar	Spesifikasi
		tunggangnya menempel. Dengan presentase bagian yang dapat dimakan 75%.
Gula		Gula pasir dibeli di minimarket indomaret, dengan merk 'Gulaku', warna putih, tidak menggumpal, kemasan tidak rusak dan bocor.
Jeruk Nipis		Jeruk nipis didapatkan di petani kota Malang, dengan umur panen antara 22-25 minggu, dengan warna kulit hijau mengkilat, dengan bentuk bulat, segar berwarna hijau, tidak berlubang, tidak penyok, dengan kisaran ukuran per kg diperoleh 15-16 buah jeruk nipis.
Yoghurt		Yoghurt dibeli di supermarket superindo, dengan merk "biokul Greek" rasa plain, kemasan tidak bocor dan rusak, serta tidak kadaluwarsa.

b. Analisis Aktivitas Antioksidan

Bahan yang digunakan untuk analisis aktivitas antioksidan adalah sample jus bit, larutan DPPH, methanol (pa), aquades.

c. Analisis Mutu Organoleptik

Bahan yang digunakan untuk pengujian mutu organoleptik adalah produk berupa jus bit pada masing-masing taraf perlakuan dan air mineral untuk setiap panelis.

D. Variabel Penelitian

Variabel merupakan sesuatu yang digunakan sebagai ciri, sifat, atau ukuran yang dimiliki atau didapatkan oleh satuan penelitian tentang suatu konsep pengertian tertentu (Notoatmodjo, 2010).

1. Variabel bebas (independent variabel)

Variabel bebas dalam penelitian adalah perbedaan konsentrasi yoghurt dan jeruk nipis pada jus bit

2. Variabel terikat (dependent variabel)

Variabel terikat dalam penelitian adalah aktivitas antioksidan dan mutu organoleptik (warna, aroma, rasa, dan kekentalan).

E. Definisi Operasional Variabel

Tabel 11. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Metode dan Alat Ukur	Hasil ukur	Skala Pengukuran
Penambahan yoghurt dan jeruk nipis pada jus bit	Perbandingan konsentrasi yoghurt dan jeruk nipis (%) P0 (100+0+0) P1 (100+28+7) P2 (100+30+5) P3 (100+32+3)	-	-	-
Aktivitas Antioksidan	Kemampuan suatu senyawa yang menghambat reaksi oksidasi yang dinyatakan dengan IC_{50} dengan satuan mg/ml yang diukur menggunakan alat spektrofotometer	Metode DPPH	- <0,05 mg/ml= sangat kuat - 0,05 – 0,10 mg/ml = Kuat - 0,10 – 0,15 mg/ml = Sedang - > 0,15 mg/ml = Lemah	Rasio
Mutu organoleptik	Tingkat kesukaan panelis terhadap karakteristik jus bit meliputi warna, aroma, rasa, kekentalan.	Metode uji: <i>Hedonic scale test</i> Jumlah dan jenis panelis: 30 panelis semi terlatih Skala hedonik: 1-4	1= sangat tidak suka 2= tidak suka 3= suka 4= sangat suka	Ordinal

F. Metode Penelitian

1. Penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan adalah penelitian yang dilakukan sebelum penelitian utama. Tujuan penelitian pendahuluan ialah merancang

formulasi bahan dan penentuan formulasi terpilih serta mempelajari cara pengolahan jus bit agar didapatkan minuman yang layak dan amann dikonsumsi. Kegiatan yang dilakukan dalam penelitian pendahuluan adalah percobaan pembuatan jus bit yang kemudian ditambahkan dengan yoghurt dan jeruk nipis. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2023.

2. Penelitian utama

Selain penelitian pendahuluan selanjutnya dilakukan penelitian utama. Rancangan kebutuhan bahan pembuatan jus bit dengan penambahan yoghurt dan jeruk nipis disajikan dalam Tabel 12. Berdasarkan perhitungan rendemen umbi bit sebesar 72% dibutuhkan sebanyak 139 gram umbi bit untuk menghasilkan ekstrak bit sebanyak 100 ml.

$$\text{rendemen} = \frac{\text{berat cairan yang diperoleh}}{\text{berat bahan baku awal}}$$

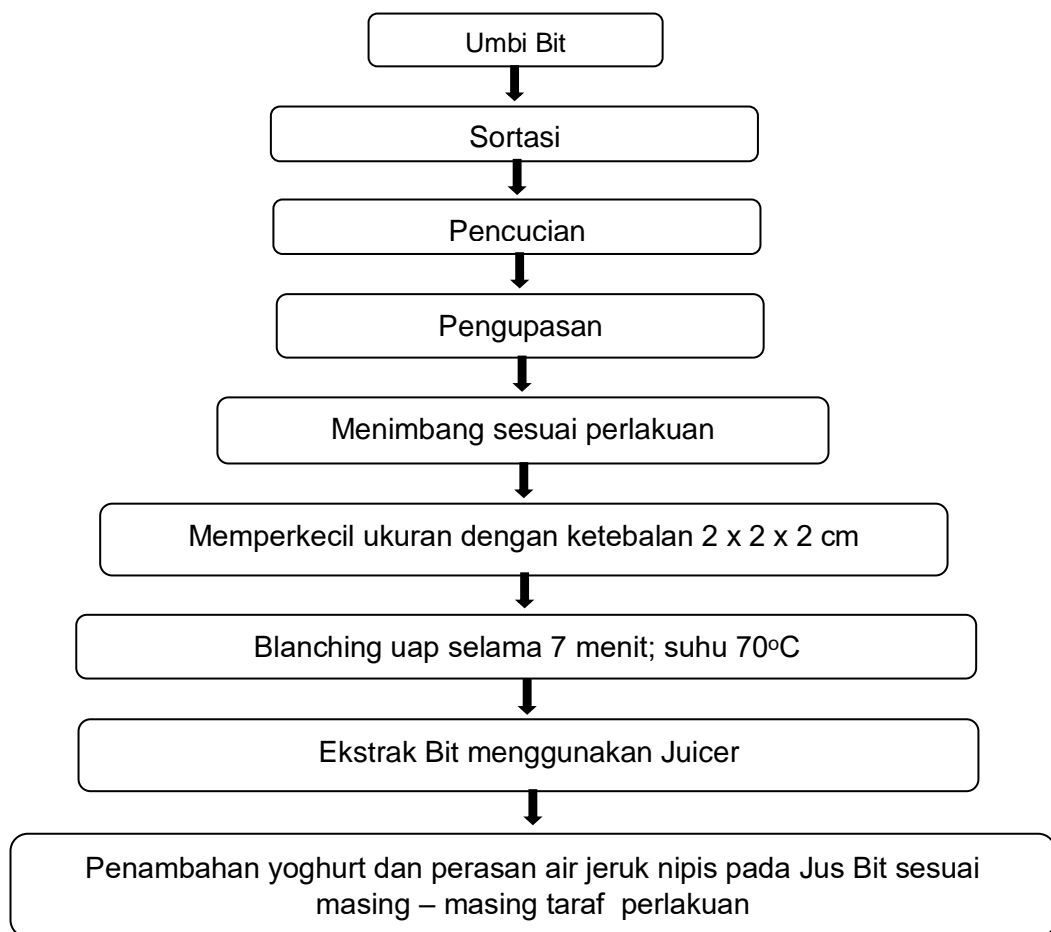
$$\text{rendemen} = \frac{300}{416}$$

$$\text{rendemen} = 72\%$$

Tabel 12. Total Bahan Penyusun Jus Bit dengan Penambahan Yoghurt dan Jeruk Nipis pada Seluruh Taraf Perlakuan

Bahan makanan	Tarf perlakuan				Total kebutuhan
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	
Jus Bit (ml)	1050	1050	1050	1050	4.200
Gula (g)	60	60	60	60	240
Yoghurt (g)	0	294	315	336	945
Jeruk Nipis (ml)	0	73,5	52,5	31,5	157,5

Kemudian dilanjutkan dengan pembuatan jus bit yang dimulai dari tahap persiapan yang bahan disesuaikan dengan taraf perlakuan. Selanjutnya dilakukan analisis aktivitas antioksidan, mutu organoleptik, dan taraf perlakuan terbaik. Gambar 3 adalah diagram alir dari pembuatan jus bit.



Sumber: Maghfiroh, 2018 dengan modifikasi

Gambar 3. Diagram Alir Pembuatan Jus Bit

G. Metode Analisis

1. Analisis Aktivitas Antioksidan

Analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sebagai berikut:

- a) Menyiapkan 12 sampel jus bit, kemudian membuat larutan induk dengan melarutkan 100 mg sampel pada 20 ml metanol (pa).
- b) Melakukan pengenceran menggunakan pelarut methanol p.a di labu ukur 50 ml hingga tanda batas pada tiap masing-masing sampel.
- c) Masing-masing larutan sampel dipipet 5 ml kedalam tabung reaksi. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan dengan 5 ml DPPH 8 ppm.
- d) Kemudian homogenisasikan dan didiamkan selama 30 menit di ruangan yang gelap.
- e) Masukkan dalam kurvet dan ukur absorbansi pada panjang gelombang 517,5 nm menggunakan spektrofotometer dan bandingkan dengan absorbansi blanko. Metode ini didasarkan perubahan warna radikal DPPH dari ungu menjadi kuning hingga bening.
- f) Setelah dibaca dengan spektrofotometer maka akan keluar nilai absorbansi, dimana nilai absorbansi dilakukan perhitungan untuk mendapatkan % inhibisi. Adapun rumus yang digunakan yaitu:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

2. Mutu Organoleptik

Hasil penelitian dilakukan dengan pengkajian fisik secara organoleptik dengan atribut warna, aroma, dan rasa. Uji organoleptik menggunakan metode Hedonic Scale Test. Tingkat kesukaan pada metode hedonik yang digunakan, yaitu :

- 1 = Sangat Tidak Suka
- 2 = Tidak Suka
- 3 = Suka
- 4 = Sangat Suka

Panelis yang digunakan dalam melakukan uji organoleptik adalah 30 panelis semi terlatih dengan kriteria :

1. Bersedia menjadi panelis
2. Dalam keadaan sehat

3. Tidak mempunyai pantangan terhadap produk yang dinilai
4. Sebelum pelaksanaan tidak dalam keadaan lapar atau kenyang

Langkah-langkah yang dilakukan dalam pengujian organoleptik antara lain:

1. Panelis ditempatkan pada ruangan khusus (ruang penilaian mutu organoleptik)
2. Masing-masing produk diletakkan pada air mineral
3. Setiap menilai satu unit perlakuan, panelis disediakan air putih untuk diminum sebagai penetralisir rasa dari produk sebelumnya
4. Setelah selesai menilai semua produk, panelis dapat menulis hasil penilaian pada form mutu organoleptic, sebagaimana disajikan pada Lampiran 1.

3. Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

Penentuan taraf perlakuan terbaik menggunakan metode indeks efektifitas. Metode tersebut dilakukan dengan cara mengukur beberapa variabel yang mempengaruhi mutu jus bit yang dihasilkan seperti aktivitas antioksidan, serta mutu organoleptik (warna, aroma, rasa dan tekstur). Panelis yang digunakan adalah 10 dosen jurusan gizi bidang pangan Poltekkes Kemenkes Malang yang kemudian diminta untuk memberikan pendapat yaitu variabel mana yang menurutnya mempengaruhi mutu jus bit dan memberikan nilai pada variabel tersebut. Panelis dapat memberikan nilai yang sama pada variabel yang dianggap memberikan pengaruh yang sama pentingnya terhadap mutu jus bit. Panelis diharapkan untuk mengisi form penilaian perlakuan terbaik, sebagaimana disajikan pada Lampiran 2.

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Aktivitas antioksidan

Pengolahan data aktivitas antioksidan jus bit ditujukan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh penambahan yoghurt terhadap mutu aktivitas antioksidan jus bit. Data masing - masing variabel diolah dengan software *SPSS 20.0 Windows* dan dianalisis statistik dengan One Way Anova pada tingkat kepercayaan 95%.

Hipotesis Statistik:

- a. H_0 : Tidak ada pengaruh penambahan yoghurt terhadap aktivitas antioksidan jus bit
- b. H_1 : Ada pengaruh penambahan yoghurt terhadap aktivitas antioksidan jus bit

Penarikan Kesimpulan:

- a. H_0 ditolak apabila $Sig \leq 0,05$ berarti ada pengaruh penambahan yoghurt terhadap aktivitas antioksidan jus bit.
- b. H_0 diterima apabila $Sig > 0.05$, berarti tidak ada pengaruh penambahan yoghurt terhadap aktivitas antioksidan jus bit.

Jika H_0 ditolak, maka dilanjutkan dengan uji statistik lanjutan Duncan Multiple Range Test (DMRT) untuk menentukan pasangan perlakuan mana yang berbeda signifikan.

2. Mutu Organoleptik

Pengolahan data mutu organoleptik jus bit ditujukan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh penambahan yoghurt terhadap mutu aktivitas antioksidan jus bit. Data masing - masing variabel diolah dengan software *SPSS 20.0 Windows* menggunakan analisis statistik Kruskal Wallis pada tingkat kepercayaan 95%.

Hipotesis Statistik:

- a. H_0 : Tidak ada pengaruh penambahan yoghurt terhadap aktivitas antioksidan jus bit
- b. H_1 : Ada pengaruh penambahan yoghurt terhadap aktivitas antioksidan jus bit

Penarikan Kesimpulan:

- a. H_0 ditolak apabila $Sig \leq 0,05$ berarti ada pengaruh penambahan yoghurt terhadap aktivitas antioksidan jus bit.
- b. H_0 diterima apabila $Sig > 0.05$, berarti tidak ada pengaruh penambahan yoghurt terhadap aktivitas antioksidan jus bit.

Jika H_0 ditolak, maka dilanjutkan uji statistik perbandingan ganda Mann Whitney untuk menentukan pasangan perlakuan mana yang berbeda signifikan.

3. Taraf Perlakuan Terbaik

Penentuan taraf perlakuan terbaik dilakukan dengan metode indeks efektivitas. Berikut langkah-langkah yang dilakukan, yaitu:

1. Hasil penelitian dari masing-masing panelis dilakukan tabulasi sehingga diperoleh jumlah nilai masing-masing variabel dan rata-rata.
2. Meranking variabel ditentukan berdasarkan nilai rata-rata setiap variabel dimana variabel yang memiliki rata-rata terbesar diberi ranking satu.
3. Bobot variabel ditentukan dengan membagi nilai rata-rata setiap variabel dengan rata-rata tertinggi. Variabel dengan nilai rata-rata semakin besar maka rata-rata terendah sebagai nilai terjelek dan rata-rata tertinggi sebagai nilai terbaik

$$\text{Bobot variabel} = \frac{\text{Rata-rata variabel}}{\text{Rata-rata tertinggi}}$$

4. Bobot normal masing-masing variabel didapat dari variabel dibagi bobot total variabel

$$\text{Bobot normal} = \frac{\text{Bobot variabel}}{\text{Bobot total variabel}}$$

5. Menghitung nilai efektifitasnya (N_e) pada setiap variabel dengan rumus :

$$\text{Bobot normal} = \frac{\text{Nilai perlakuan} - \text{Nilai terjelek}}{\text{Nilai terbaik} - \text{Nilai terjelek}}$$

6. Nilai yang digunakan untuk menentukan taraf perlakuan terbaik adalah jumlah nilai hasil (N_h). Nilai hasil dapat dihitung dengan cara mengalikan bobot normal masing-masing variabel dengan N_e dan selanjutnya dijumlahkan.

$$N_h = \text{Bobot normal} \times N_e$$

7. Taraf perlakuan terbaik adalah taraf perlakuan yang memiliki nilai hasil tertinggi.