

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari satu faktor, yaitu lama waktu penyimpanan. Lama penyimpanan jus jambu biji merah pada suhu refrigerator (5 °C) terdiri dari 5 taraf perlakuan, yaitu P₀ (segar), P₁ (30 menit), P₂ (60 menit), P₃ (90 menit), P₄ (120 menit) dengan tiga kali pengulangan pada setiap taraf perlakuan, sehingga terdapat 15 unit penelitian sebagaimana disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Taraf Perlakuan dan Unit Penelitian pada Percobaan RAL

Taraf Perlakuan	Replikasi		
	1	2	3
P ₀ (Segar)	X ₀₁	X ₀₂	X ₀₃
P ₁ (4 - 5 °C, 30 menit)	X ₁₁	X ₁₂	X ₁₃
P ₂ (4 - 5 °C, 60 menit)	X ₂₁	X ₂₂	X ₂₃
P ₃ (4 - 5 °C, 90 menit)	X ₃₁	X ₃₂	X ₃₃
P ₄ (4 - 5 °C, 120 menit)	X ₄₁	X ₄₂	X ₄₃

Keterangan :

X₀₁ – X₄₃ = Unit Penelitian Taraf Perlakuan P₀ Replikasi 1 – Unit Penelitian Taraf Perlakuan P₄ Replikasi 3

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2024, yang bertempat di :

1. Laboratorium Ilmu Teknologi Pangan (ITP) Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk pengolahan jus jambu biji merah.
2. Laboratorium Analisis Farmasi dan Makanan Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk analisis kadar vitamin C dan aktivitas antioksidan jus jambu biji merah..
3. Laboratorium Organoleptik Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk uji mutu organoleptik.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

a) Pengolahan Jus Jambu Biji Merah

Bahan yang digunakan dalam pengolahan jus jambu biji merah adalah jambu biji merah, air mineral, dan gula pasir yang didasarkan pada resep pembuatan jus jambu biji merah (Dalimunte and Rahman, 2020) yang disajikan pada Tabel 3. Adapun spesifikasi bahan-bahan yang akan digunakan dalam pengolahan jus jambu biji merah disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 3. Kebutuhan Bahan Untuk Pembuatan Jus Jambu Biji Merah

Bahan Makanan	Berat	Satuan
Jambu biji merah	75	g
Gula pasir	10	g
Air	100	ml

Tabel 4. Jenis dan Spesifikasi Bahan Makanan yang Digunakan untuk Membuat Jus Jambu Biji Merah

Jenis Bahan Makanan	Spesifikasi Bahan
Jambu biji merah	Jambu biji merah varietas pomifera, tingkat kematangan 85 – 90% atau 3 hari setelah panen, umur panen 6 – 9 bulan, diperoleh dari daerah di Kota Batu
Gula pasir	Merk <i>Rose Brand</i>
Air	Air dalam kemasan yang disimpan pada suhu ruang

b) Analisis Zat Gizi

1) Kadar Vitamin C

Bahan yang diperlukan dalam melakukan analisis terhadap kadar vitamin C pada jus jambu biji merah meliputi sampel jus jambu biji merah, reagen untuk standar vitamin C (asam askorbat), pelarut (aquades).

2) Aktivitas Antioksidan

Bahan yang digunakan dalam melakukan analisis terhadap aktivitas antioksidan pada jus jambu biji merah meliputi sampel jus jambu biji merah, pelarut (metanol p.a.), larutan DPPH p.a., dan standar antioksidan.

2. Alat

a) Pengolahan Jus Jambu Biji Merah

Alat yang digunakan dalam pengolahan jus jambu biji merah antara lain pisau, talenan, blender, corong, saringan, dan botol kemasan.

b) Analisis Zat Gizi

1) Kadar Vitamin C

Alat yang digunakan dalam melakukan analisis terhadap kadar vitamin C pada jus jambu biji merah antara lain spektrofotometri UV-Vis, kuarsa atau cuvette kaca, pipet, labu ukur, timbangan analitik, dan kertas saring.

2) Aktivitas Antioksidan

Alat yang digunakan dalam melakukan analisis terhadap aktivitas antioksidan pada jus jambu biji merah antara lain spektrofotometri UV-Vis, kuarsa atau cuvette kaca, pipet, labu takar, timbangan analitik, kertas saring, dan mesin kocok shaker.

D. Varibel Penelitian

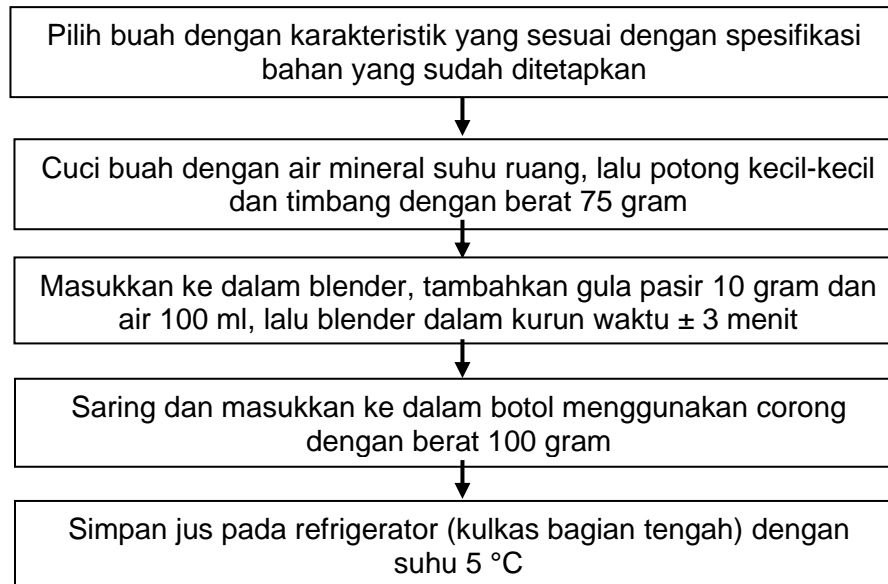
1. Variabel bebas : Lama penyimpanan jus jambu biji merah pada suhu refrigerator
2. Variabel terikat : Kadar vitamin C, aktivitas antioksidan, dan mutu organoleptik (warna, konsistensi, rasa, aroma)

E. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Metode dan Alat Ukur	Skala Ukur
Lama penyimpanan jus jambu biji merah	Penyimpanan terdiri dari 3 taraf perlakuan, yaitu : P ₀ (segar) P ₁ (4 - 5 °C, 30 menit) P ₂ (4 - 5 °C, 60 menit) P ₃ (4 - 5 °C, 90 menit) P ₄ (4 - 5 °C, 120 menit)	-	-
Kadar vitamin C	Kandungan vitamin C yang terdapat dalam jus jambu biji merah yang dinyatakan dalam satuan gram per 100 mg	Metode spektrofotometri UV-Visible	Rasio
Aktivitas antioksidan	Aktivitas antioksidan yang terdapat dalam jus jambu biji merah yang dinyatakan dengan parameter nilai IC ₅₀ (<i>Inhibitory Concentration</i>)	Metode spektrofotometri dengan DPPH (2,2- <i>diphenyl</i> -1-picrylhydrazyl)	Rasio
<i>Preference Test</i>	Tingkat kesukaan panelis terhadap warna, aroma, rasa, dan konsistensi terhadap karakteristik jus jambu biji merah	Menggunakan uji hedonik, jenis panelis semi terlatih 30 orang, metode <i>Hedonic scale test</i> dengan tingkat kesukaan : 4 = sangat suka 3 = suka 2 = tidak suka 1 = sangat tidak suka	Ordinal
<i>Descriptive Test</i>	Mengidentifikasi karakteristik mutu sensori secara keseluruhan pada jus jambu biji merah	Menggunakan uji deskriptif, jenis panelis terlatih sebanyak 8 orang, metode <i>descriptive analysis</i> dengan menggunakan parameter mutu penilaian sebagai berikut: 1. Warna merah muda 2. Aroma khas jambu biji merah 3. Rasa asam-manis 4. Sepat/kelat 5. Kekentalan 6. Kehalusan	Ordinal

F. Prosedur Pengolahan Jus Jambu Biji Merah

Pengolahan jus jambu biji merah mengacu pada Ekawati et al (2020). Diagram alir proses pengolahan jus jambu biji merah disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Pengolahan Jus Jambu Biji Merah

G. Metode Analisis

1. Analisis Kadar Vitamin C (Metode Spektrofotometri UV-Visible)

a. Persiapan standar vitamin C

- 1) Menyiapkan larutan standar vitamin C dengan konsentrasi yang diketahui.
- 2) Melarutkan asam askorbat dalam pelarut yang sesuai (aquades) untuk membuat berbagai konsentrasi standar.

b. Persiapan sampel

Menyaring jus untuk mendapatkan cairan bening.

c. Pengukuran standar

- 1) Menyetel spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang spesifik untuk vitamin C (panjang gelombang maksimum absorbansi vitamin C).
- 2) Kalibrasi spektrofotometri dengan pelarut murni untuk mendapatkan nilai blanko.
- 3) Mengukur absorbansi dari setiap larutan standar vitamin C dan mencatat hasilnya.

d. Pembuatan kurva kalibrasi

- 1) Plot absorbansi standar terhadap konsentrasi vitamin C untuk membuat kurva kalibrasi.
- 2) Menggunakan metode linier untuk mendapatkan persamaan garis kalibrasi ($Y = aX + b$).

e. Pengukuran sampel jus

- 1) Mengukur absorbansi sampel jus pada panjang gelombang yang sama.
- 2) Mencatat nilai absorbansinya.

f. Perhitungan kadar vitamin C

Analisis data dilakukan dengan absorbansi sampel ke kurva kalibrasi dengan menggunakan persamaan regresi linear $Y = aX + b$. persamaan ini digunakan untuk menghitung kadar vitamin C dalam sampel. Jika jus diencerkan, maka hasil perhitungan dari persamaan regresi linier $Y = aX + b$ dikalikan dengan factor pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi asli.

$$Y = aX + b$$

Dimana, a = Tetapan regresi (*intercept* = titik potong)

Y = Absorbansi sampel

X = Konsentrasi sampel

b = Koefisien regresi (*slope* = kemiringan)

$$\text{Kadar vitamin C (mg/100 g bahan)} = \frac{\text{konsentrasi } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \cdot \text{volume (L)}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100$$

2. Analisis Aktivitas Antioksidan (Metode Spektrofotometri dengan DPPH)

a. Persiapan larutan DPPH

- 1) Menyiapkan larutan DPPH dengan konsentrasi tertentu dalam metanol.
- 2) Menyimpan larutan DPPH di tempat gelap karena DPPH sensitif terhadap cahaya.

b. Persiapan standar antioksidan

Menyiapkan larutan standar antioksidan dengan berbagai konsentrasi dalam pelarut yang sama dengan DPPH.

c. Persiapan sampel

- 1) Menyaring jus buah untuk mendapatkan cairan bening.

- 2) Mengencerkan jus buah dengan pelarut (metanol).
- d. Pengukuran blanko dan control
- 1) Menyetel spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang spesifik untuk DPPH (panjang gelombang maksimum absorbansi DPPH).
 - 2) Kalibrasi spektrofotometer dengan pelarut murni untuk mendapatkan nilai blanko.
 - 3) Mengukur absorbansi larutan DPPH tanpa sampel atau standar (kontrol).
- e. Pengukuran standar
- 1) Mencampur larutan standar antioksidan dengan larutan DPPH dalam rasio tertentu (misalnya 1:1).
 - 2) Mengocok larutan yang sudah dicampur.
 - 3) Inkubasi campuran pada suhu kamar dan dalam gelap selama 30 menit.
 - 4) Mengukur absorbansi campuran dan mencatat hasilnya.
- f. Pengukuran sampel jus
- 1) Mencampur sampel jus dengan larutan DPPH dalam rasio yang sama seperti standar.
 - 2) Mengocok larutan yang sudah dicampur.
 - 3) Inkubasi campuran pada suhu kamar dan dalam gelap selama 30 menit.
 - 4) Mengukur absorbansi campuran dan mencatat hasilnya.
- g. Perhitungan aktivitas antioksidan

Analisis hasil penelitian aktivitas antioksidan dihitung % aktivitas antioksidan dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Aktivitas antioksidan} = \frac{(\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi blanko}} \times 100$$

Dimana, absorbansi blanko adalah absorbansi DPPH + metanol
absorbansi sampel adalah absorbansi DPPH radikal + sampel

Parameter untuk menginterpretasi hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). IC_{50} merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan linier persen penghambatan radikal DPPH terhadap beberapa konsentrasi ekstrak sampel. Persamaan regresi linier, yaitu $y = ax + b$.

3. Analisis Mutu Organoleptik

a. Preference Test

Pengujian mutu organoleptik menggunakan uji hedonik, jenis panelis semi terlatih berjumlah 30 orang dengan metode *Hedonis Scale Test* yang bertujuan untuk mengetahui daya terima terhadap jus jambu biji merah. Formulir uji disajikan pada lampiran 2.

Skala kesukaan dinyatakan dalam 4 tingkat kesukaan. Tingkat kesukaan pada metode hedonik yang digunakan adalah :

4 = sangat suka

3 = suka

2 = tidak suka

1 = sangat tidak suka

Panelis dalam pengisian form ini adalah mahasiswa Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang berjumlah 30 orang dengan kriteria :

- a. Bersedia menjadi panelis
- b. Tidak boleh dalam keadaan lapar atau kenyang
- c. Dalam keadaan sehat
- d. Tidak mempunyai pantangan terhadap buah jambu biji merah.

Langkah-langkah yang dilakukan dalam pengujian ini yaitu :

- a. Panelis ditempatkan pada suatu ruang khusus (laboratorium organoleptik)
- b. Masing-masing produk dikemas menggunakan botol plastik
- c. Setiap kali selesai menilai suatu unit perlakuan, maka untuk menghilangkan rasa dari unit yang sebelumnya, panelis diberikan air putih.

Panelis diharapkan untuk menilai sampel dan diminta untuk mengisi kuesioner uji mutu organoleptik yang terlampir pada lampiran 2. Jenis parameter yang diuji, yaitu warna, rasa, aroma, dan kenampakan

b. Descriptive Test

Uji dilakukan oleh panelis terlatih sebanyak 8 orang yaitu dosen dan Pranata Laboratorium Pendidikan (PLP) Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang Jurusan Gizi. Panelis diberikan produk masing-masing taraf perlakuan, air mineral, sendok,

dan formulir uji deskriptif yang disajikan pada Lampiran 3. Panelis kemudian diminta untuk menilai sampel dengan parameter mutu penilaian meliputi warna merah muda, aroma khas jambu biji merah, rasa asam-manis, sepat/kelat, kekentalan dan kehalusan. Skala penilaian mutu pada masing-masing parameter mutu disajikan pada Lampiran 3.

Cara persiapan sampel yaitu masing-masing taraf perlakuan dimasukkan ke dalam botol kecil tertutup dan dilakukan penyimpanan pada suhu refrigerator sesuai dengan masing-masing taraf perlakuan. Panelis diberikan satu botol air mineral untuk menetralkan mulut setiap akan menilai sampel dengan taraf perlakuan yang berbeda.

4. Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

Penentuan taraf terbaik menggunakan metode indeks efektivitas. Metode tersebut dilakukan dengan cara mengukur beberapa variabel yang mempengaruhi mutu jus buah yang dihasilkan, seperti vitamin C, aktivitas antioksidan, aroma, rasa, warna, dan konsistensi.

Panelis diminta untuk memberikan pendapat, yaitu variabel mana yang menurutnya mempengaruhi mutu dan memberikan nilai pada variabel tersebut. Panelis dapat memberikan nilai yang sama pada variabel yang dianggap memberikan pengaruh yang sama pentingnya terhadap jus jambu biji merah. Adapun kriteria panelis sebagai berikut :

- a. Panelis terlatih
- b. Mengerti tentang variabel penting yang terdapat dalam jus jambu biji merah.

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Kadar Vitamin C dan Aktivitas Antioksidan

Pengolahan data hasil penelitian terhadap kadar vitamin C dan aktivitas antioksidan pada jus jambu biji merah bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pengaruh lama penyimpanan pada suhu refrigerator terhadap kadar vitamin C dan aktivitas antioksidan jus jambu biji merah. Analisis data kadar vitamin C dan aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan analisis statistik

parametrik uji *One Way ANOVA* pada tingkat kepercayaan 95%. Penarikan kesimpulan adalah sebagai berikut :

- a. H_0 ditolak apabila $Sig < 0,05$ berarti ada pengaruh lama penyimpanan pada suhu refrigerator terhadap kadar vitamin C dan aktivitas antioksidan jus jambu biji merah.
- b. H_0 diterima apabila $Sig > 0,05$ berarti tidak ada pengaruh lama penyimpanan pada suhu refrigerator terhadap kadar vitamin C dan aktivitas antioksidan jus jambu biji merah.

Jika H_0 ditolak artinya ada pengaruh lama penyimpanan jus jambu biji merah pada suhu refrigerator terhadap kadar vitamin C dan aktivitas antioksidan. Untuk mengetahui taraf perlakuan yang berbeda nyata digunakan uji lanjutan *Duncan Multiple Range Test*, selanjutnya data kadar vitamin C dan aktivitas antioksidan disajikan secara deskriptif.

2. Mutu Organoleptik

a. Preference Test

Pengaruh lama penyimpanan pada suhu refrigerator terhadap mutu organoleptik jus jambu biji merah dari masing-masing taraf perlakuan diuji menggunakan uji statistik *Kruskal Wallis*. Penarikan kesimpulan adalah sebagai berikut :

- a) H_0 ditolak apabila $sig < 0,05$ berarti ada pengaruh penyimpanan jus jambu biji merah terhadap mutu organoleptik (warna, rasa, aroma, dan konsistensi).
- b) H_0 diterima apabila $sig > 0,05$ berarti tidak ada pengaruh penyimpanan jus jambu biji merah terhadap mutu organoleptik (warna, rasa, aroma, dan konsistensi).

Jika H_0 ditolak artinya ada pengaruh lama penyimpanan jus jambu biji merah pada suhu refrigerator terhadap mutu organoleptik (warna, aroma, rasa, konsistensi) jus jambu biji merah. Untuk mengetahui taraf perlakuan yang berbeda nyata digunakan uji lanjutan dengan *Multiple Comparison*, yaitu *Mann-Whitney* untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan.

b. Descriptive Test

Data hasil uji deskriptif disajikan menggunakan diagram laba-laba untuk menunjukkan karakteristik jus jambu biji merah pada masing-masing taraf perlakuan.

3. Uji Taraf Perlakuan Terbaik

- a. Hasil penelitian taraf perlakuan terbaik dari masing-masing responden ditabulasi sehingga diperoleh jumlah nilai masing-masing variabel dan rata-ratanya.
- b. Ranking variabel ditentukan berdasarkan nilai rata-rata masing-masing variabel, dimana variabel yang memiliki rata-rata terbesar diberi ranking ke-1 dan variabel dengan rata-rata terendah diberi ranking ke-6.
- c. Bobot variabel ditentukan dengan membagi nilai rata-rata tiap 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.

$$\text{Bobot Variabel} = \frac{\text{Rata-rata Variabel}}{\text{Rata-rata Tertinggi}}$$

- d. Bobot normal variabel didapat dari variabel dibagi bobot total variabel.

$$\text{Bobot Normal} = \frac{\text{Bobot Variabel}}{\text{Bobot Total Variabel}}$$

- e. Setiap variabel kemudian dihitung nilai efektifitasnya (N_e) dengan rumus:

$$N_e = \frac{\text{Nilai Perilaku} - \text{Nilai Terjelek}}{\text{Nilai Terbaik} - \text{Nilai Terjelek}}$$

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

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

- g. Taraf perlakuan terbaik adalah taraf perlakuan yang memiliki nilai hasil tertinggi.