

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 JENIS PENELITIAN**

Jenis penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental yaitu penelitian dengan pengambilan data menggunakan perlakuan terhadap subjek uji dimana peneliti mengontrol variabel yang akan diteliti dengan cara mengendalikan situasi penelitian dari ancaman yang mungkin merusak hasil penelitian dari keadaan sesungguhnya.

#### **3.2 WAKTU DAN TEMPAT PELAKSANAAN**

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 5 Maret 2024 di Laboratorium Farfit Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang yang berlokasi di Kampus Pusat, Jl. Besar Ijen 77 C, Kota Malang.

#### **3.3 BAHAN DAN ALAT**

##### **3.3.1 Alat**

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah instrument spektrofotometer UV-Vis *Jasco*, labu ukur 25 mL, 10 mL, dan 5 mL Pyrex, pipet tetes, mikro pipet, wadah kaca, Hot plate, Gelas ukur 100 mL, beaker glass 2 L, beaker glass 50 mL, saringan, sendok, kain, waterbath, neraca analitik, spatula, batang pengaduk, bola hisap, kain, botol kaca, rotary evaporator, centrifuge.

##### **3.3.2 Bahan**

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah teh hijau, gula, SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*), aquades, DPPH, tisu, kapas, kertas saring, kertas label, dan aluminium foil.

#### **3.4 VARIABEL PENELITIAN**

##### **3.4.1 Variabel independen (variabel bebas)**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi penambahan BTP pengawet kalium sorbat dan variasi masa simpan.

### 3.4.2 Variabel dependen (variabel terikat)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah cita rasa, tingkat keasaman, dan aktivitas antioksidan teh kombucha.

### 3.5 DEFINISI OPERASIONAL

Variabel	Definisi operasional	Metode ukur	Alat ukur	Skala ukur
Aktivitas antioksidan	Kemampuan suatu senyawa yang menghambat reaksi oksidasi dapat dinyatakan dengan % inhibisi hingga nilai $IC_{50}$ untuk mengetahui kekuatan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan diukur dengan instrumen spektrofotometer UV-Vis.	Uji DPPH	Spektrofotometer UV-Vis	Rasio
Cita rasa	Suatu cara pemilihan mutu produk dengan membedakan rasa, aroma dan bau.	Uji organoleptik	Form kuisioner	Interval
Tingkat keasaman (pH)	Suatu ukuran yang menunjukkan tingkat keasaman atau kebasaaan suatu larutan. Semakin kecil nilainya maka tingkat keasaman semakin kuat.	Tingkat keasaman (pH)	pH meter	Interval

Tabel 3.1 Definisi Operasional

## **3.6 PROSEDUR PENELITIAN**

### **3.6.1 Pembuatan teh kombucha** (Khaerah & Akbar, 2019)

Aquades sebanyak 5 L direbus kemudian ditambahkan 350 gram gula dan 9 kantong teh hijau celup (10 gram). Diaduk hingga homogen menggunakan batang pengaduk kemudian ditunggu hingga dingin di suhu ruang. Larutan teh dituang kedalam wadah kaca bersih kemudian starter kombucha sebanyak 500 ml dan 1 keping SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) dimasukkan kedalam larutan teh. Wadah berisi teh tersebut ditutup menggunakan kain. Fermentasi teh kombucha dengan SCOBY disimpan disuhu ruang selama 7 hari. Setelah difermentasi selama 7 hari SCOBY diambil. Teh kombucha dipanaskan dengan suhu 70°C selama 5 menit kemudian ditunggu hingga dingin di suhu ruang.

### **3.6.2 Penambahan BTP kalium sorbat**

Asam sorbat ditimbang sebanyak 100, 300, dan 500 mg dan masing-masing dilarutkan dengan 600 ml teh kombucha di dalam botol. Kemudian disimpan di suhu ruang dengan lama penyimpanan 0; 7; 14; dan 21 hari. Dilakukan replikasi sebanyak 2 kali.

### **3.6.3 Uji Organoleptik**

Uji hedonik dilakukan menggunakan panelis tidak terlatih sebanyak 30 orang. Setiap panelis memberikan penilaian aspek warna, aroma, dan rasa dengan skala 5 yaitu skor 1= sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = cukup suka, 4 = suka, 5 = sangat suka. Setiap panelis melakukan uji pada teh kombucha berupa mengamati, membau dan merasakan tanpa ditelan yang kemudian melakukan pengisian formulir penilaian (*Lampiran 1*).

### **3.6.4 Uji pH** (AOAC, 2005)

- a) pH meter dikalibrasi dengan cara memasukkan elektroda dalam larutan buffer pH 4 dan 7 kemudian dibilas dengan aquades dan dikeringkan menggunakan kertas tisu, selanjutnya elektroda dimasukkan dalam larutan buffer pH 4 dan dibilas kembali.
- b) Teh kombucha (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>) dimasukkan kedalam beaker glass 50 mL. Elektroda pH meter yang telah dikalibrasi dicelupkan kedalam masing-

masing sampel. Nilai pH akan terlihat pada pH meter beberapa saat setelah pH meter menunjukkan angka yang konstan.

### **3.6.5 Pengukuran Antioksidan**

#### **a) Preparasi larutan induk DPPH**

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 3,9 mg dan dilarutkan dengan 25 mL methanol p.a pada labu ukur yang telah dilapisi aluminium foil kemudian dihomogenkan sehingga didapatkan *stok* DPPH 0,4 mM.

#### **b) Preparasi larutan kontrol DPPH**

Larutan induk DPPH dipipet sebanyak 2 ml dan ditambahkan 0,5 ml methanol dalam tabung reaksi yang dilapisi aluminium foil kemudian diinkubasi selama 30 menit.

#### **c) Preparasi sampel**

Sampel sebanyak 50 ml diuapkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 60 sampai 70 °C hingga mendapatkan sampel pekat. Kemudian sampel dilarutkan dalam 10 ml aquades. Sampel dipipet sebanyak 50  $\mu$ L; 100  $\mu$ L; 200  $\mu$ L; 400  $\mu$ L dan 800  $\mu$ L yang masing-masing dilarutkan dalam labu 10 ml. Kemudian masing-masing larutan dipipet sebanyak 2 mL dan ditambahkan 0,5 mL larutan induk DPPH dalam tabung reaksi yang dilapisi aluminium foil, kocok kuat hingga homogen kemudian simpan di tempat gelap.

#### **d) Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH**

Larutan kontrol yang telah diinkubasi diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm.

#### **e) Pengukuran Absorbansi**

- Larutan kontrol

Larutan kontrol DPPH dipindahkan ke dalam kuvet yang telah dibilas dengan aquades kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum yang telah didapat.

- Larutan sampel

Larutan sampel dipindahkan ke dalam kuvet yang telah dibilas dengan aquades kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum yang telah didapat.

### **3.7 PENGOLAHAN DAN ANALISIS DATA**

Data pengukuran aktivitas antioksidan teh kombucha yang telah diberi perlakuan penambahan BTP asam sorbat disajikan dalam bentuk grafik dan tabel. Hasil yang diperoleh dianalisis dalam statistik dengan menggunakan one-way anova dengan taraf kepercayaan 95% dan dilakukan uji lanjut dengan Duncan dengan taraf 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.