**BAB III**

**METODE PENELITIAN**

1. **Jenis dan Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen laboratorium dengan desain penenlitian Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan 3 taraf perlakuan dengan formulasi berdasarkan kadar konsumsi untuk satu sampai 2 jam latihan yaitu 300 mg kalium. Bahan utama dari penelitian ini adalah jus jeruk pacitan dengan kandungan 234 mg kalium dalam 300 ml jus jeruk pacitan. Penambahan nanas bertujuan untuk menambahkan kadar kalium yang belum memenuhi kebutuhan sebesar 300-500 mg kalium dalam minuman ini. Nanas mengandung 130 mg kalium dalam 100 gram. Masing masing taraf perlakuan dilakukan 3 kali pengulangan. Perlakuan dari konsep tersebut akan dibuat taraf perlakuan sebagai berikut:

Tabel 2. Rancangan Acak Lengkap (RAL)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Taraf perlakuan (%)**  **(Jus Jeruk Manis:Buah nanas)** | **Replikasi** | | |
| **1** | **2** | **3** |
| **P1 (100:16)** | **X11** | **X12** | **X13** |
| **P2 (100:21)** | **X21** | **X22** | **X23** |
| **P3 (100:25)** | **X31** | **X32** | **X33** |

Keterangan :

X11 : Unit penelitian pada taraf perlakuan P1 replikasi 1

X22 : Unit penelitian pada taraf perlakuan P1 replikasi 2

X33 : Unit penelitian pada taraf perlakuan P1 replikasi 3

Penempatan unit penelitian digunakan randomisasi atau pengacakan dengan langkah-langkah yang terdapat pada Lampiran 1. Selanjutnya *lay-out* penelitian disajikan dengan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 3 replikasi seperti yang disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. *Layout* penelitian desain rancangan acak lengkap

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **1**  X23 | **2**  X32 | **3**  X31 |
| **4**  X11 | **5**  X21 | **6**  X13 |
| **7**  X22 | **8**  X33 | **9**  X12 |

**Keterangan :**

1-12 : Nomor urut (Penempatan Unit)

X1-X12 : Unit Penelitian

1. **Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada Mei 2018, bertempat di:

1. Laboratorium Ilmu Bahan Makanan Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk pengolahan jus buah.
2. Laboratorium BPKI Surabaya untuk mutu kimia. (Untuk uji kalium dan antioksidan)
3. Laboratorium Organoleptik Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk uji mutu organoleptik.
4. **Alat dan Bahan**
5. **Alat**
   * 1. Alat Pengolahan jus buah

Alat untuk pengolahan jus Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*) dan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) adalah timbangan digital, baskom, sendok stainless, pisau, sendok sayur kayu, spatula, alat peras jeruk , saringan teh , telenan dan blender.

* + 1. Alat analisis mutu kimia (Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Kalium)

Peralatan untuk analisis aktivitas antioksidan adalah pipet ukur, pipet volume, tabung reaksi, sentrifugal, spektofotometri, refrigerator. Alat yang digunakan untuk analisis kadar kalium adalah labu takar, pipet tetes, gelas kimia, corong kecil, pipet ukur, dan *hot plate*.

* + 1. Alat analisis mutu organoleptik

Peralatan untuk analisis mutu organoletik adalah formulir kuisioner ( Lampiran 2), alat tulis (bolpoin), piring kecil, sendok, gelas, nampan kecil.

* + 1. Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

Alat yang digunakan untuk menentukan taraf perlakuan terbaik adalah form kuisioner yang tercantum dalam

Lampiran 3, alat tulis, komputer, program *microsoft word* dan *microsoft excel*.

1. **Bahan** 
   * 1. **Pengolahan jus buah**

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan jus buah adalah buah jeruk manis, nanas, air dan gula pasir. Dan spesifikasinya terdapat dalam Tabel 4.

Tabel 4. Kebutuhan bahan tiap perlakuan dalam pengolahan jus buah

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Bahan | Σ Bahan Setiap Unit Penelitian pada Masing-masing Taraf Perlakuan | | |
| P1 | P2 | P3 |
| Jus Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*) (ml) | 300 ml | 300 ml | 300 ml |
| Nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) (g) | 50 | 65 | 75 |
| Gula Pasir (g) | 7.5 | 7.5 | 7.5 |
| Air minum (ml) | 50 | 50 | 50 |

Tabel 5. Kandungan gizi jus buah dalam setiap taraf perlakuan

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Zat Gizi | Kandungan Gizi Unit Penelitian pada Masing-masing Taraf Perlakuan | | |
| P1 | P2 | P3 |
| Energi (kkal) | 158.5 | 166.5 | 171.75 |
| Karbohidrat (g) | 46 | 47.8 | 49 |
| Kalium (mg) | 300 | 318 | 331 |
| Vitamin C (mg) | 168.9 | 175.47 | 179.85 |

Tabel 6. Spesifikasi bahan pembuatan jus buah

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Bahan** | **Spesifikasi** | **Foto** |
| Jeruk Manis Pacitan | Jeruk Manis Pacitan dibeli di SUPERINDO Kota Malang/ Pasar Besar Malang dengan ukuran buah sebesar 6-5 buah/kg berwarna hijau kekuningan, permukaan buah mulus tanpa jamur dan tidak terbuka, memar. Presentase bagian yang dapat dimakan sekitar 70%. | Hasil gambar untuk Jeruk pacitan |
| Buah nanas | Buah nanas *smooth cayenne* dibeli di superindo kota malang dengan berat 500-750 gr/ buah, berwarna kuning cerah, bonggol masih berdaun hijau, tidak ada memar pada kulitnya dan berbau khas manis. | Hasil gambar untuk nanas smooth cayenne |
| Air minum | Air yang sudah melalui proses pengolahan atau tanpa proses pengolahan yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum (PERMENKES No. 492/MENKES/PER/IV/2010). | Hasil gambar untuk Air mineral vit |
| Gula pasir | Gula pasir yang berwarna putih, tekstur kasar dan tidak berair/basah. | Hasil gambar untuk Gula pasir |

* + 1. **Bahan Analisis Mutu Kimia**

1. **Bahan analisis mutu kimia kadar kalium**

Larutan H2SO4 pekat 5 mL, Larutan HCl pekat 3 mL, NaCl 30 gram KNO3 1,7 mL, Naptilamin 1 gram Asam sulfanilat 0,1 dan 10 mL sampel jus buah.

1. **Bahan Analisis Mutu Kimia Aktivitas antioksidan**

Air bebas ion 5 mL, 1 ml DPPH 1 mM dan 20 ml sampel jus buah.

1. **Variabel Penelitian**

Variabel penelitian yang diteliti adalah sebagai berikut :

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jus Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*) dan jus nanas smooth cayenne *Ananas comosus (L) merr.*)

1. Variabel terikat

Variabel terikat di dalam penelitian ini adalah Mutu Organoleptik (warna, aroma, rasa), kandungan kalium dan aktivitas antioksidan.

1. **Definisi Operasional Variabel**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Variabel** | **Definisi** | **Hasil Ukur** | **Skala Data** |
| Proporsi jus Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*)dan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) | Perbandingan taraf perlakuan proporsi jus buah jeruk manis jus buah nanas dalam pembuatan jus buah berbasis Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*) dengan penambahan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) sebagai minuman fungsional bagi atlet. | P1 (100:16)  P2 (100:21)  P3 (100:25) | Rasio |
| Mutu Kimia Kadar kalium | Kadar kalium dari jus buah berbasis Jeruk Manis (*Citrus sinensis.)*dengan penambahan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) sebagai pangan fungsional bagi olahragawan/ atlet. dengan metode uji SAA. | Dinyatakan dalam satuan mg/l | Rasio |
| Mutu Kimia Aktivitas Antioksidan | Aktivitas antioksidan dari jus buah berbasis buah Jeruk Manis (Citrus sinensis.) dengan penambahan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) sebagai pangan fungsional bagi olahragawan/ atlet. dengan metode uji DPPH menurut nilai IC50. Metode DPPH didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan men[donorkan](https://id.wikipedia.org/wiki/Donor) [atom hidrogen](https://id.wikipedia.org/wiki/Atom_hidrogen). | Sangat kuat=  < 50 µg/ml  Kuat=  50-100 µg/ml  Sedang=  101-250 µg/ml  Lemah=  250-500 µg/ml  Tidak Aktif=  >500 µg/ml  (Jun,2006) | Rasio |
| Mutu Organoleptik | Tingkat kesukaan panelis yang ditentukan dengan uji kesukaan meliputi warna, aroma dan rasa terhadap karakteristik jus buah berbasis Jeruk Manis (*Citrus sinensis.)*dengan penambahan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) sebagai minuman fungsional bagi olahragawan/ atlet. | Dinyatakan dalam skala likert :  1 = Sangat tidak suka  2= Tidak suka  3 = Suka  4= Sangat Suka | Ordinal |

**Metode Penelitian**

Penelitian dilakukan mulai dari pengolahan jus buah, mutu organoleptik analisis mutu kimia (uji kadar kalium dan aktivitas antioksidan), serta penentuan perlakuan terbaik jus buah.

* + 1. **Persiapan Pengolahan Jus Buah**

Tahapan persiapan yang perlu dilakukan adalah sortasi Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*) dan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) sesuai spesifikasi, pembersihan dari kotoran kemudian pengupasan dan pemotongan.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Sortasi Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*) |  | Sortasi Nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) |
|  |  |  |
| Mencuci bahan menggunakan air bersih dan memotong menjadi 2 bagian. |  | Mengupas kulit, menghilangkan bagian tengah nanas, menghilangkan mata nanas dan mencuci bahan menggunakan air bersih |
|  |  |  |

Tahap pembuatan jus

Gambar 1. Diagram alir persiapan pengolahan Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*) dengan penambahan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*)

* + 1. **Tahapan Pembuatan Jus Buah**

Berikut adalah tahapan pembuatan jus buah jeruk dengan penambahan nanas *smooth cayenne*, disajikan pada Gambar 2.

|  |
| --- |
| Menimbang gula pasir seberat 7.5 gr dan  menyiapkan air minum sebanyak 50 ml |
|  |
| Menghaluskan nanas dengan menggunakandengan ditambhakan air sebanyak 50 ml kemudian diblender dan saring jus nanas |
|  |
| Campurkan dengan perasan jeruk, tambahakan gula pasir sebanyak 7.5 gr, aduk hingga merata |
|  |
| JusJeruk Manis (Citrus sinensis.)dengan penambahan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) |

Gambar 2. Diagram alir pembuatan jus Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*)dengan penambahan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*)

1. **Menganalisis Mutu Organoleptik**

Uji organoleptik dilakukan dengan menggunakan *Hedonic Scale Test.* Atribut organoleptik yang digunakan adalah rasa, aroma, dan warna. Panelis yang digunakan untuk uji organoleptik adalah panelis agak terlatih yaitu 20 orang dari mahasiwa gizi tingkat III semester 6 Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang 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.

Panelis diharapkan untuk menilai sampel dan diminta mengisi form penilaian mutu organoleptik yang terlampir pada Lampiran 2.

1. **Menganalisis Mutu Kimia ( Uji Kadar Kalium)**

Prosedur uji kandungan kalium dilakukan menggunakan metode SAA dengan prosedur sebagai berikut :

* 1. Menimbang 1,9067 gram jus buah dan melarutkannya dalam *aquadest* kemudian memindahkannya kedalam labu takar 1L.
  2. Menandabataskan dengan aquadest hingga tepat 1 L sehingga larutan induk Kalium (K) 1000 ppm siap digunakan.
  3. Menyiapkan 7 labu takar 50 mL.
  4. Membuat larutan deret standar 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 4 ppm, dan 8 ppm dengan memipet dari larutan induk dan masukan kedalam masing-masing labu takar 50 mL.
  5. Menandabataskan masing-masing labu takar dengan *aquadest*.
  6. Mengukur masing-masing larutan deret standar menggunakan SAA.
  7. Aspirasikan contoh uji kedalam SSA-nyala lalu ukut serapannya pada Panjang gelombang 766.5 nm
  8. Catat hasil pengukuran.
  9. Perhitungan kadar kalium (K)

K (Mg/L = Cx fp(1)

Keterangan:

C adalah kadar yang didapt dari hasil pengukuran (Mg/L)

Fp adalah faktur pengenceran (SNI 6989.69:2009)

1. **Menganalisis Mutu Kimia (Uji Aktivitas Antioksidan)**

Tahapan analisis mutu kimia uji kadar kalium aktivitas antioksidan jus buah sebagai berikut :

Jus buah 20 µl + 1 ml DPPH 1 mM

Menambahkan air bebas ion 5 ml

Inkubasi pada suhu ruang (25˚C selama 30 menit) dalam keadaan gelap

Mengukur absorbansi larutan dengan spektrofotometer (panjang gelombang 517 nm)

Gambar 2. Diagram Alir Uji Aktiitas Antioksidan Jus buah Berbasis Jeruk Manis (Citrus sinensis.)dengan Penambahan Nanas *Smooth Cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*)sebagai Pangan Fungsional bagi olahragawan/ atlet. (Einbond *et. al.* 2004 dalam IPB).

1. **Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik**

Penentuan taraf perlakuan terbaik menggunakan metode indeks efektifitas. Metode tersebut dilakukan dengan cara mengukur beberapa variabel yang mempengaruhi mutu jus buah yang dihasilkan seperti mutu kimia (uji kadar kalium dan aktivitas antioksidan) dan mutu organoleptik (aroma, rasa, dan warna). Responden yang digunakan adalah dosen Jurusan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang yang kemudian diminta untuk memberikan pendapat yaitu variabel mana yang menurutnya mempengaruhi mutu dan memberikan nilai pada variabel tersebut. Responden dapat memberikan nilai yang sama pada variabel yang dianggap memberikan pengaruh yang sama pentingnya terhdap mutu jus buah. Responden diharapkan untuk mengisi form penilaian perlakuan terbaik, sebagaimana disajikan pada Lampiran 3.

1. **Metode Pengolahan dan Analisis Data**
2. **Mutu Organoleptik**

Pengolahan data pengaruh proporsi sari jeruk dan jus buah nanas pada jus buah berbasis buah jeruk manis (*Citrus Sinensis*) dengan penambahan nanas (*ananas comosus*) sebagai minuman fungsional bagi olahragawan/ atlet. terhadap mutu organoleptik pada tingkat kepercayaan 95% dengan analisis statistik *Krusskal walis.*

Hipotesis statistik :

Ho : Tidak ada pengaruh penambahan nanas terhadap mutu organoleptik berbasis Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*)dengan penambahan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) sebagai minuman fungsional bagi olahragawan/ atlet.

H1 : ada pengaruh penambahan nanas terhadap mutu organoleptik jus buah berbasis Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*)dengan penambahan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) sebagai minuman fungsional bagi olahragawan/ atlet.

Penarikan kesimpulan :

1. H0 ditolak apabila sig ≤ 0,05 berarti ada pengaruh penambahan nanas terhadap mutu organoleptik jus buah berbasis Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*)dengan penambahan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*) sebagai minuman fungsional bagi olahragawan/ atlet.
2. H0 diterima apabila sig ≥ 0,05 berarti tidak ada pengaruh penambahan nanas terhadap mutu organoleptik jus buah berbasis Jeruk Manis (*Citrus sinensis.*) dengan penambahan nanas *smooth cayenne* (*Ananas comosus (L) merr.*)sebagai minuman fungsional bagi olahragawan/ atlet.

Jika H0 ditolak, maka dilanjutkan uji statistik perbandingan ganda *Mann Whitney* untuk menemukan pasangan perlakuan mana yang berbeda signifikan.

Penarikan kesimpulan :

Taraf perlakuan satu dengan taraf perlakuan lainnya yang menghasilkan perbedaan signifikan oleh angka sig ≤ 0,05.

1. **Mutu Kimia Uji Kadar Kalium**

Hasil ujilaboratorium uji kadar kalium diolah menggunakan analisis statistika ANOVA untuk mengukur ada atau tidaknya perbedaan bermakna diantara kadar kalium jus buah dengan sebeumnya dilakukan normality test untuk melihat kenormalan data serta test of homogenitas varian untuk melihat varians yang sama atau tidak sebagai syarat untuk uji ANOVA. Setelah didapatkan hasil, jika terdapat perbedaan yang signifikan selanjutnya akan dilakukan uji post hoc menggunakan analisis *Tukey HSD*.

1. **Mutu Kimia Uji Aktivitas Antioksidan**

Pengolahan data untuk nilai aktivitas antioksidan jus buah berdasarkan hasil uji laboratorium. Selanjutnya dilakukan perhitungan data untuk memperoleh hasil presentase nilai aktivitas antioksidan (Amrun, 2014).

Perhitungan :

Aktivitas Antioksidan (%) = X 100%

Pengolahan dan analisis data dilakukan untuk mengetahui pengaruh aktivitas antioksidan dengan uji statistic One-way ANOVA pada tingkat kepercayaan 95%.

Uji lanjutkan Tukey HSD pada tingkat kepercayaan 95% digunakan untuk mnegetahui taraf perlakuan yang berbeda nyata. Selanjutnya data rata-rata kandungan antioksidan disajikan secara diskriptif.

1. **Penentuan Perlakuan Terbaik**
2. Hasil penentuan perlakuan taraf perlakuan terbaik dari masing-masing responden ditabulasi sehingga diperoleh jumlah nilai masing-masing variabel dari rata-ratanya.
3. Rangking variabel ditentukan berdsarkan nilai rata-rata masing-masing variabel dmana variabel yang memiliki rata-rata terbesar diberi rangking ke-1 dan variabel dengan rata-rata terendah diberi rangking ke-5.
4. Bobot variabel ditentukan dengan membagi nilai rata-rata tiap variabel dengan rata-rata tertinggi. Variabel dengan nilai rata-rata tertinggi semakin besar. Maka rata-rata terendah sebagai nilai terjelek dan rata-rata tertinggi sebagai rangking terbaik.

Bobot variabel **=**

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

Bobot Normal **=**

1. Setiap variabel kemudian dihitung nilai keefektifannya (Ne) dengan rumus sebagai berikut :

Ne **=**

1. Nilai yang digunakan untuk menentukan taraf perlakuan terbaik adalah jumlah nilai hasil (Nh) dimana nilai ini dapat dihitung dengan cara mengalikan bobot normal maisng-masing variabel dengan Ne dan selanjutnya dijumlahkan.
2. Taraf perlakuan terbaik adalah taraf perlakuan yang memiliki nilai hasil tertinggi.

Nh = Bobot Normal x Ne