

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan penelitian ini adalah pengaruh perbedaan persiapan pada *infused water* jeruk lemon dan anggur hitam yaitu buah segar yang langsung dipotong dan buah yang dibekukan terlebih dahulu lalu dipotong dengan tiga kali replikasi, lalu didapatkan enam unit eksperimen untuk mengetahui pengaruhnya terhadap mutu kimia (aktivitas antioksidan dan vitamin C). Desain penelitian Rancangan Acak Lengkap disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Desain Rancangan Acak Lengkap

Taraf Perlakuan	Replikasi		
	1	2	3
P ₁ (buah dipotong langsung)	P ₁₁	P ₁₂	P ₁₃
P ₂ (buah dibekukan lalu dipotong)	P ₂₁	P ₂₂	P ₂₃

Keterangan:

- P₁₁ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₁ replikasi 1
- P₁₂ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₁ replikasi 2
- P₁₃ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₁ replikasi 3
- P₂₁ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₂ replikasi 1
- P₂₂ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₂ replikasi 2
- P₂₃ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₂ replikasi 3

Setiap unit penelitian mempunyai peluang yang sama untuk mendapatkan taraf perlakuan, maka dalam penempatan unit penelitian digunakan randomisasi atau pengacakan.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2019, bertempat di:

1. Laboratorium Ilmu Bahan Makanan (IBM) Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk proses pengolahan *infused water* dan uji organoleptik.
2. Laboratorium Kimia Potekkes Kemenkes Malang untuk uji aktivitas antioksidan dan vitamin C.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

a. *Infused water*

Bahan-bahan yang digunakan dalam pengolahan *infused water*, yaitu lemon *import*, anggur hitam lokal, daun mint, air mineral.

Tabel 3. Spesifikasi Bahan Penyusun *Infused Water*

Bahan	Spesifikasi
Lemon <i>import</i> 	Lemon dibeli di supermarket dengan bentuk buah bulat lonjong, segar berwarna kuning, kulit mulus tidak berlubang/mengelupas.
Anggur hitam lokal 	Anggur hitam dibeli dipasar dengan bentuk bulat, segar, kulit tidak keriput berwarna hitam keunguan, tidak berlubang, utuh, kulit tidak mengelupas, buah masih menempel pada tangkai.
Daun mint 	Daun mint dibeli di supermarket dengan kriteria daun segar berwarna hijau, tidak berlubang, tidak ada yang berwarna hitam (busuk), tidak kering.
Air mineral 	Air yang digunakan air matang atau air mineral yang dibeli di toko dengan kriteria tidak berwarna, tidak terdapat kotoran atau benda asing, tidak berbau, tidak beracun, tidak berasa.

b. Analisis Aktivitas Antioksidan

Bahan-bahan yang digunakan dalam analisis aktivitas antioksidan, yaitu sampel *infused water*, larutan DPPH, methanol (pa), aquades.

c. Analisis Vitamin C

Bahan-bahan yang digunakan dalam analisis vitamin C, yaitu sampel *infused water*, aquades.

d. Uji Organoleptik

Bahan-bahan yang digunakan dalam uji organoleptik, yaitu produk (*infused water*), air mineral 200 cc.

2. Alat

a. *Infused water*

Alat-alat yang digunakan dalam pengolahan *infused water*, yaitu pisau, talenan, *glass jar*, sendok, piring stainless, gelas ukur, *refrigerator*, *aluminium foil*.

b. Analisis Aktivitas Antioksidan

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

c. Analisis Vitamin C

Alat-alat yang digunakan untuk analisis vitamin C, yaitu timbangan analitik, gelas beker 250 ml, corong kaca, labu ukur, pipet tetes, spektrofotometer.

d. Uji Organoleptik

Alat-alat yang digunakan untuk uji organoleptik yaitu form uji organoleptik, alat tulis, gelas bening, sendok teh, nampan kayu kecil.

e. Uji Taraf Perlakuan Terbaik

Alat-alat yang digunakan untuk uji taraf perlakuan terbaik yaitu form uji taraf perlakuan terbaik, alat tulis.

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 variable*)

Variabel bebas dalam penelitian adalah metode persiapan buah pada *infused water* (dipotong langsung dan dibekukan lalu dipotong).

2. Variabel Terikat (*dependent variable*)

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

E. Definisi Operasional Variabel

Tabel 4. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Metode dan Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Persiapan buah	Metode yang digunakan dalam penelitian meliputi persiapan buah yang dipotong langsung dan buah yang dibekukan dahulu lalu dipotong ketika masih beku	-	-	-
Aktivitas antioksidan	Besarnya aktivitas antioksidan pada produk <i>infused water</i>	Metode DPPH menggunakan spektrofotometri	Dinyatakan dalam % inhibisi	Rasio
Vitamin C	Besarnya kadar vitamin C pada produk <i>infused water</i>	Spektrofotometri	Dinyatakan dalam mg/100 ml	Rasio
Mutu Organoleptik	Penilaian panelis terhadap warna, aroma, dan rasa terhadap produk <i>infused water</i>	Uji Hedonik menggunakan kuesioner	Menggunakan 4 skala: 4 = sangat suka 3 = suka 2 = tidak suka 1 = sangat tidak suka	Ordinal

F. Metode Penelitian

1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan ini bertujuan untuk merancang formulasi bahan dan penentuan formulasi terpilih serta mempelajari cara pengolahan *infused water* agar didapatkan minuman yang layak dan aman dikonsumsi.

2. Penelitian Utama

Penelitian utama meliputi tahap pengolahan *infused water* dengan metode persiapan yang berbeda yaitu buah yang dipotong langsung dan buah yang dibekukan lalu dipotong. Selanjutnya *infused water* dengan metode persiapan tersebut dianalisis aktivitas antioksidan, vitamin C dan mutu organoleptik.

a. Pengolahan *Infused water* dengan Persiapan Buah Langsung Dipotong

Pembuatan *infused water* dengan persiapan buah langsung dipotong dilakukan dengan mencuci bahan seperti lemon *import*, anggur hitam lokal, daun mint. Kemudian buah lemon dipotong melintang 1 slice dengan ketebalan 0,5 cm, 2 buah anggur hitam dibelah dua. Setelah itu memasukkan potongan buah kedalam *glass jar* berisi air mineral 350 ml, menambahkan daun mint kemudian menutup wadahnya, melapisi *glass jar* dengan *aluminium foil*, menyimpan dalam *refrigerator* selama 12 jam. Setelah itu menyaring *infused water* dan siap dianalisis.

b. Pengolahan *Infused water* dengan Persiapan Buah Dibekukan lalu Dipotong

Pembuatan *infused water* dengan persiapan buah langsung dibekukan dahulu lalu dipotong dilakukan dengan mencuci bahan seperti lemon *import*, anggur hitam lokal, daun mint. Kemudian membekukan buah dalam *freezer* selama 24 jam. Setelah beku, lemon dipotong melintang 1 slice dengan ketebalan 0,5 cm, 2 buah anggur hitam dibelah dua. Setelah itu memasukkan potongan buah kedalam *glass jar* berisi air mineral 350 ml, menambahkan daun

mint kemudian menutup wadahnya, melapisi *glass jar* dengan *aluminium foil*, menyimpan dalam *refrigerator* selama 12 jam. Setelah itu menyaring *infused water* dan siap dianalisis.

G. Metode Analisis

1. Analisis Aktivitas Antioksidan (Molyneux, 2003 dalam Nasrudin dkk, 2015).

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Menyiapkan 6 sampel *infused water*, kemudian membuat larutan induk dengan melarutkan 100 mg sampel pada 20 ml metanol (pa). Selanjutnya melakukan pengenceran menggunakan pelarut methanol p.a di labu ukur 50 ml hingga tanda batas pada tiap masing-masing sampel. Selanjutnya masing-masing larutan sampel dipipet 5 ml kedalam tabung reaksi. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan dengan 5 ml DPPH 8 ppm. Kemudian homogenisasikan dan didiamkan selama 30 menit di ruangan yang gelap.

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.

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

Keterangan:

Absorbansi blanko = absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel

Absorbansi sampel = absorbansi DPPH setelah direaksikan dengan sampel

2. Analisis Vitamin C (Techinamuti dan Pratiwi, 2018)

Uji Vitamin C menggunakan metode spektrofotometri yaitu dengan menyiapkan 6 sampel *infused water*, kemudian membuat larutan induk dengan melarutkan 100 mg sampel pada 20 ml aquades. Selanjutnya melakukan pengenceran menggunakan pelarut aquades di labu ukur 50 ml hingga tanda batas pada tiap masing-masing sampel. Setelah itu

mengukur absorbansi dan pada panjang gelombang 265,5 nm menggunakan spektrofotometer.

3. Analisis Mutu Organoleptik (Warna, Aroma, dan Rasa)

Uji mutu organoleptik dilakukan dengan menggunakan metode *Hedonic Scale Test*. Atribut organoleptik yang digunakan adalah warna, aroma, dan rasa. Dengan skala sebagai berikut:

4 = Sangat Suka

3 = Suka

2 = Tidak Suka

1 = Sangat Tidak Suka

Panelis yang digunakan untuk uji organoleptik adalah panelis agak terlatih yang berfungsi sebagai konsumen yaitu 20 orang dari mahasiswa Jurusan Gizi tingkat III 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 haus dan kenyang

Dalam pelaksanaan uji organoleptik *infused water* langkah-langkah yang digunakan dalam pengujian ini yaitu:

1. Panelis ditempatkan pada suatu ruang khusus (ruang penilaian mutu organoleptik)
2. Masing-masing produk diletakkan pada gelas bening
3. Setiap panelis selesai menilai satu unit perlakuan, panelis diberikan air putih untuk menghilangkan rasa dari unit sebelumnya.

Jenis parameter yang diuji yaitu warna, aroma, dan rasa. Panelis diharapkan untuk menilai sampel dan diminta mengisi form penilaian mutu organoleptik yang terlampir pada Lampiran 1.

4. Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

Penentuan taraf perlakuan terbaik menggunakan metode indeks efektifitas. Metode tersebut dilakukan dengan cara mengukur beberapa variabel yang mempengaruhi mutu minuman yang dihasilkan seperti

mutu kimia (aktivitas antioksidan dan vitamin C) dan mutu organoleptik (warna, aroma, rasa). Responden yang digunakan adalah panelis terlatih yaitu sepuluh 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 pentingnya terhadap mutu terbaik, sebagaimana disajikan pada lampiran 2.

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Aktivitas Antioksidan

Pengolahan data aktivitas antioksidan bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh metode persiapan buah terhadap aktivitas antioksidan *infused water* dari masing-masing perlakuan.

Pengolahan data hasil uji aktivitas antioksidan *infused water* digunakan analisis statistik *Independent Sample T-test* pada tingkat kepercayaan 95%. Pengolahan data statistik ini diolah dengan menggunakan *SPSS 20.0 for Windows*.

Hipotesis Statistik:

H₀ : tidak ada pengaruh metode persiapan buah terhadap aktivitas antioksidan *infused water*.

H₁ : ada pengaruh metode persiapan buah terhadap aktivitas antioksidan *infused water*.

Penarikan Kesimpulan:

- H₀ ditolak apabila $\text{sig} < 0,05$ berarti ada pengaruh metode persiapan buah terhadap aktivitas antioksidan *infused water*.
- H₀ diterima apabila $\text{sig} > 0,05$ berarti tidak ada pengaruh metode persiapan buah terhadap aktivitas antioksidan *infused water*.

2. Vitamin C

Pengolahan data vitamin C bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh metode persiapan buah terhadap vitamin C *infused water* dari masing-masing perlakuan.

Pengolahan data hasil uji vitamin C *infused water* digunakan analisis statistik *Independent Sample T-test* pada tingkat kepercayaan 95%. Pengolahan data statistik ini diolah dengan menggunakan *SPSS 20.0 for Windows*.

Hipotesis Statistik:

H₀ : tidak ada pengaruh metode persiapan buah terhadap vitamin C *infused water*.

H₁ : ada pengaruh metode persiapan buah terhadap vitamin C *infused water*.

Penarikan Kesimpulan:

- a. H₀ ditolak apabila sig < 0,05 berarti ada pengaruh metode persiapan buah terhadap vitamin C *infused water*.
- b. H₀ diterima apabila sig > 0,05 berarti tidak ada pengaruh metode persiapan buah terhadap vitamin C *infused water*.

3. Mutu Organoleptik (Warna, Aroma, dan Rasa)

Pengolahan data uji organoleptik bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh metode persiapan buah terhadap mutu organoleptik *infused water* dari masing-masing perlakuan.

Pengolahan data hasil uji organoleptik *infused water* digunakan analisis statistik perbandingan ganda *Mann Whitney* pada tingkat kepercayaan 95%. Pengolahan data statistik ini diolah dengan menggunakan *SPSS 20.0 for Windows*.

Hipotesis Statistik:

H₀ : tidak ada pengaruh metode persiapan buah terhadap mutu organoleptik *infused water*.

H₁ : ada pengaruh metode persiapan buah terhadap mutu organoleptik *infused water*.

Penarikan Kesimpulan:

- a. H₀ ditolak apabila sig < 0,05 berarti ada pengaruh metode persiapan buah terhadap mutu organoleptik *infused water*.
- b. H₀ diterima apabila sig > 0,05 berarti tidak ada pengaruh metode persiapan buah terhadap mutu organoleptik *infused water*.

4. Penentuan Taraf Perlakuan Terbaik

Penentuan taraf perlakuan terbaik dilakukan untuk mengetahui perlakuan mana dalam penelitian ini yang terbaik menurut panelis. Penentuan taraf terbaik dengan menggunakan Indeks Efektifitas.

Prosedur untuk menentukan taraf perlakuan terbaik adalah sebagai berikut:

- a. Hasil penentuan 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-5.
- 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 masing-masing variabel didapat dari variabel dibagi bobot total variabel.

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

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

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

- 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 dimiliki nilai hasil tertinggi.

I. Instrumen Analisis Data

Instrumen untuk analisis data antara lain kalkulator *scientific*, laptop dengan program *Microsoft word*, *Microsoft excel* dan *SPSS 20.0 for Windows* serta alat tulis.