

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 JENIS PENELITIAN**

Jenis Penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental yaitu penelitian dengan pengambilan data menggunakan perlakuan terhadap subyek 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 bulan Januari hingga Februari 2023 di laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang yang berlokasi di Kampus Pusat, Jl. Besar Ijen 77 C, Kota Malang.

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

##### **3.3.1 Alat**

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah instrument spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu*), labu ukur 25 mL *Pyrex*, labu ukur 10 mL *Pyrex*, labu ukur 5 mL *Pyrex*, pipet ukur 10 mL *Pyrex*, mikropipet 200 – 1000  $\mu$ L, pipet tetes, wadah kaca, gelas ukur 50 mL *Pyrex*, *beaker glass* 100 mL *Iwaki*, pH meter *Eutech*, kaca arloji, tabung reaksi, panci, kompor, saringan, sendok, kain, *thermometer*, neraca analitik *Radwag*, spatula, batang pengaduk, bola hisap.

##### **3.3.2 Bahan**

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah teh hijau, gula, SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*), aquades, DPPH *Sigma Aldrich*, tisu, kertas perkamen, kertas label, gula, aluminium foil, kain, natrium benzoat, metanol p.a.

#### **3.4 VARIABEL PENELITIAN**

##### **3.4.1 Variabel Independen (Variabel Bebas)**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah penambahan natrium benzoat.

### 3.4.2 Variabel Dependen (Variabel Terikat)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah cita rasa, aktivitas antioksidan dan umur simpan pada teh kombucha

### 3.5 DEFINISI OPERASIONAL

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Metode Ukur	Alat Ukur	Skala Ukur
Cita Rasa	Suatu cara pemilihan suatu produk yang dapat dibedakan dari rasa, aroma dan warna	Panca indra (Uji Hedonik)	Form Kuesioner	Interval
Aktivitas antioksidan	Kemampuan suatu senyawa yang menghambat reaksi oksidasi dan dapat dinyatakan dengan % inhibisi hingga IC <sub>50</sub> untuk mengetahui kekuatan antioksidan diukur menggunakan instrument sprektrofotometer Uv-vis.	Uji DPPH	Sprektrofotometer Uv-Vis	Rasio
Umur Simpan	Interval hari suatu produk berdasarkan masa penyimpanan	-	-	-

## **3.6 PROSEDUR KERJA**

### **3.6.1 Pembuatan Teh Kombucha**

Melarutkan gula 350 gram dalam aquades sebanyak 5000 mL yang dipanaskan dengan kompor. Setelah mendidih teh sebanyak 90 gram (9 kantong teh celup) dimasukkan ke dalam panci kemudian diaduk hingga menghasilkan teh berwarna pekat. Ketika sudah mendingin larutan teh dimasukkan kedalam wadah kaca dan kultur kombucha SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) serta starter kombucha 10% (500 mL) dimasukkan kedalam wadah berisi teh yang kemudian ditutup menggunakan kain dan diikat dengan karet (Khaerah & Akbar, 2019). Fermentasi teh kombucha dengan SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) dilakukan dengan cara menyimpan teh disuhu ruang selama 7 hari, kemudian setelah fermentasi hari ke-7 SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) diambil.

### **3.6.2 Pemanasan Teh Kombucha**

Teh kombucha yang sudah difermentasi selama 7 hari kemudian SCOBY (*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*) diambil dan larutan teh dipindahkan ke dalam panci untuk dipanaskan pada suhu 50°C selama 5 menit di atas kompor.

### **3.6.3 Penambahan Natrium Benzoat**

Teh kombucha yang telah dipanaskan didinginkan terlebih dahulu kemudian dibagi menjadi 4 bagian masing-masing wadah berisi 600 mL teh kombucha. Pada masing-masing wadah ditambahkan natrium benzoat dengan dengan empat taraf yaitu 0 mg, 120 mg; 240 mg; 360 mg.

### **3.6.4 Pengukuran Antioksidan**

#### **1. Preparasi Larutan DPPH (0,4 mM)**

Menimbang padatan DPPH sebanyak 3,9 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a 25 mL di dalam labu ukur 25 mL, kemudian labu ukur dilapisi dengan aluminium foil (Khaerah & Akbar, 2019).

#### **2. Pemekatan Teh kombucha**

Teh kombucha sebanyak 50 mL dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan kecepatan perputaran labu (rpm) sebesar 50 rpm dan suhu 50°C selama 20 menit.

### **3. Preparasi Larutan Uji**

Ekstrak teh kombucha yang dihasilkan dilarutkan dengan metanol p.a ke dalam labu ukur 10 mL kemudian dipipet masing-masing sebanyak 0,2; 0,4; 0,8; 1,6; 3,2 mL dan dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 5 mL sehingga dihasilkan larutan sampel dengan konsentrasi 20; 40; 80; 160; 320 ppm. Berikutnya masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 2 mL dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dalam tabung reaksi dan dilapisi aluminium foil serta diinkubasi selama 30 menit. Kemudian larutan uji diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Khaerah & Akbar, 2019).

### **4. Preparasi larutan kontrol DPPH**

Larutan DPPH 0,4 mM diambil 1 mL dan ditambahkan 2 mL metanol p.a kemudian diinkubasi selama 30 menit.

### **5. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH**

Larutan kontrol DPPH yang sudah diinkubasi selama 30 menit di suhu ruang kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 400-800 nm.

#### **3.6.5 Pengujian Hedonik**

Uji hedonik dilaksanakan pada hari ke-0; 7; 14 dan 21 dengan 30 panelis tak terlatih. Panelis diberikan sampel dengan kode tertentu kemudian mengisi tingkat kesukaan (warna, aroma, rasa) pada google form yang disediakan dengan skala (5= sangat suka; 4=suka; 3=cukup suka; 2=tidak suka; 1=sangat tidak suka) (SNI, 2006).

#### **3.6.6 Pengukuran pH Teh Kombucha**

Elektroda dibilas dengan akuades lalu dikeringkan dengan tisu. Selanjutnya elektroda dicelupkan pada larutan penyangga pH 4 kemudian ditekan tombol “cal” pada pH meter dan ditunggu sampai pembacaan pada layar stabil dan tertera nilainya. Elektroda dibilas kembali dengan akuades dan dikeringkan dengan tisu kemudian elektroda dicelupkan pada teh kombucha yang telah dipindahkan ke dalam *beaker glass* 100 mL sebanyak 20 mL. Berikutnya tombol “meas” ditekan pada pH meter dan ditunggu sampai pembacaan pada layar stabil dan tertera nilainya (Febriella et al., 2021).

### 3.7 PENGOLAHAN DAN PENYAJIAN DATA

#### 3.7.1 Pengukuran Derajat Keasaman (pH) Teh Kombucha

Tabel 3.2 Pengukuran Derajat Keasaman (pH) Teh Kombucha

Sampel	Replikasi		Rata-Rata
	I	II	
D <sub>0</sub> B <sub>0</sub>			
D <sub>0</sub> B <sub>1</sub>			
dst			

#### 3.7.2 Nilai Rendemen Ekstrak Teh Kombucha

Tabel 3.3 Nilai Rendemen Ekstrak Teh Kombucha

Sampel	Berat Cawan Kosong (gr)	Berat Cawan + Ekstrak (gr)	Ekstrak (gr)	Rendemen (%)	Rata-Rata Rendemen (%)
D <sub>0</sub> B <sub>0</sub>					
D <sub>0</sub> B <sub>1</sub>					
dst					

#### 3.7.3 % Inhibisi Aktivitas Antioksidan

Tabel 3.4 % Inhibisi Aktivitas Antioksidan

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		% inhibisi	
		I	II	I	II
D <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	Kontrol				
	20				
	40				
	80				
	160				
	320				
dst					

### 3.7.4 Nilai IC<sub>50</sub> Aktivitas Antioksidan

Tabel 3.5 Nilai IC<sub>50</sub> Aktivitas Antioksidan

Sampel	Replikasi	Persamaan	Nilai IC <sub>50</sub>	Kategori
D <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	-			
D <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	1			
	2			
dst				

Keterangan :

- D<sub>0</sub>B<sub>0</sub> = Hari ke-0, penambahan natrium benzoat 0 mg
- D<sub>0</sub>B<sub>1;2;3</sub> = Hari ke-0, penambahan natrium benzoat 120 mg; 240 mg; 360 mg
- D<sub>1</sub>B<sub>0</sub> = Hari ke-7, penambahan natrium benzoat 0 mg
- D<sub>1</sub>B<sub>1;2;3</sub> = Hari ke-7, penambahan natrium benzoat 120 mg; 240 mg; 360 mg
- D<sub>2</sub>B<sub>0</sub> = Hari ke-14, penambahan natrium benzoat 0 mg
- D<sub>2</sub>B<sub>1;2;3</sub> = Hari ke-14, penambahan natrium benzoat 120 mg; 240 mg; 360 mg
- D<sub>3</sub>B<sub>0</sub> = Hari ke-21, penambahan natrium benzoat 0 mg
- D<sub>3</sub>B<sub>1;2;3</sub> = Hari ke-21, penambahan natrium benzoat 120 mg; 240 mg; 360 mg

### 3.7.5 Uji Organoleptik Teh Kombucha

Tabel 3.6 Uji Organoleptik Teh Kombucha

Panelis	Warna				Aroma				Rasa			
	D <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	D <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	D <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	D <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	D <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	D <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	D <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	D <sub>0</sub> B <sub>3</sub>	D <sub>0</sub> B <sub>0</sub>	D <sub>0</sub> B <sub>1</sub>	D <sub>0</sub> B <sub>2</sub>	D <sub>0</sub> B <sub>3</sub>
1												
2												
3												
dst												

Keterangan :

- (5) Sangat Suka
- (4) Suka
- (3) Cukup Suka
- (2) Tidak Suka
- (1) Sangat Tidak Suka

### 3.8 Analisis Data

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.