

## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini merupakan penelitian secara eksperimental. Penelitian ini menerapkan rancangan dasar berupa rancangan acak lengkap (RAL) menggunakan tiga sampel formula dengan menggunakan metode DPPH yang dilakukan tiga kali pengulangan. Pada setiap sampel dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan mengukur IC<sub>50</sub>. Parameter uji pada penelitian ini terdiri dari uji skrining fitokimia, uji organoleptik, uji pH, uji antioksidan formula minuman cair bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dan serai (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.), uji efek kombinasi minuman cair bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dan serai (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.), dan uji hedonik. Uji antioksidan formulasi minuman bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dan serai (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) dilakukan dengan menggunakan metode DPPH.

### 3.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bunga telang yang diperoleh dari Sukabumi dan serai yang diperoleh dari desa Majalaya kabupaten Karawang.

### 3.3 Alat dan Bahan

#### 3.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya yaitu *beaker glass* (PYREX), gelas ukur (PYREX), batang pengaduk (PYREX), kaca arloji, pipet tetes, mortar dan stamper, labu ukur (PYREX), tabung reaksi (PYREX), panci, *hot plate*, *freeze dryer*, *freezer*, cawan petri, mikropipet, *pH meter* (PH/ISE Meter pH-240L), *corong glass* (PYREX), *erlenmeyer* (IWAXI), *kuvet*, *termometer*, *botol kaca coklat*, *kurs porselen* dan *spektrofotometer UV-Vis*.

#### 3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dan serai (*Cymbopogon citratus*), larutan DPPH, dan Vitamin C, HCl

2N, Reagen Mayer, Reagen dragendorft, Magnesium, gelatin 1%, HCl 2N, amil alkohol, NaOH, KOH 5%, Natrium benzoat, Stevia, aquadest.

### 3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.4.1 Tempat Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam, Laboratorium Teknologi Sediaan, Laboratorium Riset Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang

#### 3.4.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dimulai dari Januari 2023 sampai Juni 2023

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat menjadi sebab terjadinya variabel terikat. Pada penelitian ini variabel bebas bunga telang dan serai yang dijadikan sebagai sediaan formulasi minuman.

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu pengujian evaluasi sifat fisik produk yang meliputi uji skrining fitokimia, uji organoleptik (Warna, Bau, dan rasa), pengukuran pH, pengujian aktivitas antioksidan, uji hedonik.

#### 3.5.3 Definisi Operasional Variabel

Berikut merupakan hasil tabel definisi operasional variabel yang terdapat pada penelitian :

**Tabel 3.1** Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat ukur	Skala	Hasil Ukur
Variabel Bebas					
1	Formula minuman bunga telang dan serai	Formula minuman bunga telang dan serai dengan	Pengujian meliputi : Uji skrining fitokimia, uji organoleptik	Nominal	1. Control negatif 2. Control positif 3. F1 1:1

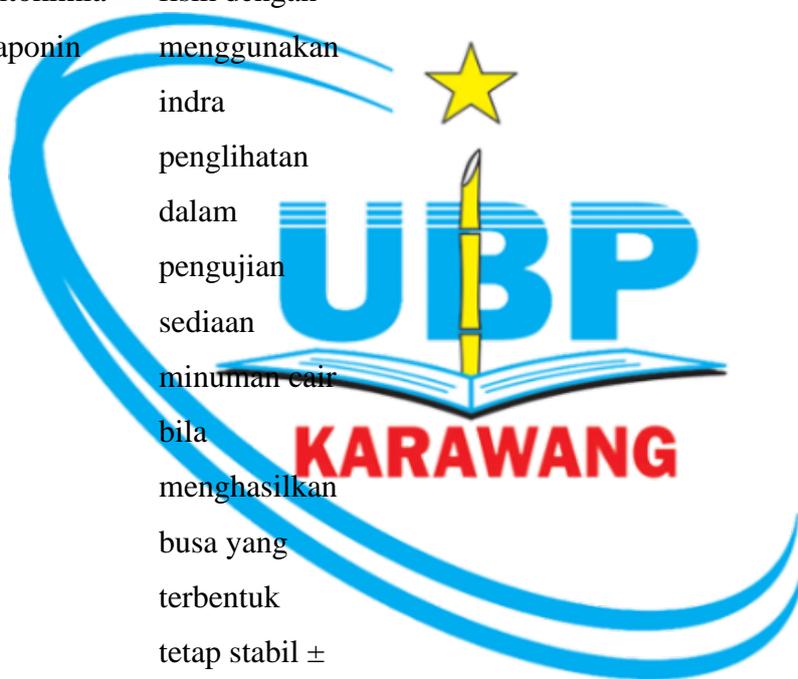
variasi (Warna, Bau, konsentrasi Rasa).  
 4. F2 1 :2  
 5. F3 1:3  
 Pengukuran pH,  
 Uji aktivitas antioksidan dan uji hedonik.

Variabel terikat					
2	Warna sediaan minuman bunga telang dan serai.	Parameter fisik uji menggunakan organoleptik indera mata dalam pengujian sediaan minuman.	Uji Organoleptik	Nominal	1. Ungu 2. Biru
3	Bau sediaan minuman bunga telang dan serai.	Parameter uji fisik dengan menggunakan indera penciuman dalam sediaan kombinasi minuman.	Uji organoleptik	Nominal	1. Bau khas 2. Tidak berbau
4	Rasa sediaan minuman bunga telang dan	Parameter uji fisik dengan menggunakan indera perasa dalam	Uji organoleptik	Nominal	1. Rasa khas 2. Tidak berasa

	serai.	sediaan kombinasi minuman			
5	pH Sediaan kombinasi minuman bunga telang dan serai.	Nilai pH sediaan kombinasi minuman disesuaikan dengan pH air minum.	pH meter	Rasio	Angka dalam pH meter
6	Skrining Fitokimia Flavonoid	Parameter fisik dengan menggunakan indra penglihatan dalam pengujian sediaan minuman cair jika terjadi perubahan warna merah, kuning atau jingga maka hasil positif.	Pereaksi	Nominal	1. Positif 2. Negatif
7	Skrining Fitokimia alkaloid	Parameter fisik dengan menggunakan indra penglihatan dalam	Pereaksi	Nominal	1. Positif 2. Negatif

pengujian  
sediaan  
minuman cair  
jika terjadi  
endapan  
maka hasil  
positif.

8	Skrining Fitokimia saponin	Parameter fisik dengan menggunakan indra penglihatan dalam pengujian sediaan minuman cair bila menghasilkan busa yang terbentuk tetap stabil $\pm$ 7 menit maka hasil positif.	Pereaksi	Nominal	1. Positif 2. Negatif
9.	Skrining fitokimia tanin	Parameter fisik dengan menggunakan indra penglihatan dalam pengujian sediaan	Pereaksi	Nominal	1. Positif 2. Negatif



minuman cair  
dengan  
terbentuknya  
warna biru  
tua atau  
hitam  
kehijauan  
maka positif.

10	Aktivitas antioksidan kombinasi minuman bunga telang dan serai	Aktivitas antioksidan dari kombinasi minuman bunga telang dan serai dengan menggunakan metode DPPH dengan mengukur nilai absorbansi	Spektrofotometri Uv-Vis	Rasio	Ppm ( <i>per part million</i> )
11	Uji Hedonik minuman cair bunga telang dan serai	Pengujian ini dilakukan untuk mengukur tingkat kesukaan panelis	-	Ordinal	1. Sangat Tidak suka 2. Tidak Suka 3. Netral 4. Suka 5. Sangat

---

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bahan uji dilakukan untuk membuktikan kebenaran bahan tanaman yang digunakan pada penelitian. Identifikasi tanaman dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah.

#### 3.6.2 Preparasi Sampel

Preparasi sampel yang dibuat pada penelitian ini yaitu tanaman serai dengan cara serai segar dicuci dengan air mengalir hingga bersih kemudian serai yang sudah disortasi basah dan yang sudah dipilah dipotong menjadi bagian kecil dengan panjang 5 sampai 10 cm bagian batangnya kemudian ditempatkan dalam wadah, untuk simplisia bunga telang di dapatkan dari penyedia tanaman herbal rempah bu Risma.

#### 3.6.3 Pembuatan Ekstrak Bunga Telang dan Serai

Metode ekstraksi bunga telang dan ekstraksi serai yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode ekstraksi infusa, pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ini adalah *aquadest*. Ekstraksi bunga telang yaitu dengan cara simplisia bunga telang ditimbang sebanyak 100gram kemudian masukan kedalam *beaker glass* 1000 mL, lalu larutkan air panas hingga 1000 mL kemudian ekstrak disaring (Rahayu, *et al.*,2017). Pada tahap pembuatan ekstraksi serai dengan cara memotong batang serai yang masih segar sepanjang 10-15 cm dari pangkalnya, kemudian batang serai tersebut dipotong menjadi bagian-bagian yang kecil. Timbang serai yang sudah dipotong kecil-kecil sebanyak 500 gram dengan perlakuan 5 kali masing-masing perlakuan 100 gram kemudian masukkan masing-masing 100 gram kedalam blender, lalu tambahkan *aquadest* hingga 1000 mL kemudian hasil sari serai dan hasil infusa bunga telang yang sudah didapatkan kemudian dibekukan menggunakan alat *deep freezer* dan dikeringkan menggunakan alat *freeze dryer* untuk mendapatkan ekstrak kering.

### 3.6.4 Skrining Fitokimia Bunga Telang dan Serai

Skrining fitokimia dilakukan dengan menguji kandungan yang terdapat dalam bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dan serai (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.) untuk melihat ada atau tidaknya senyawa fitokimia. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan kuinon dengan mengacu pada (Fikayuniar, *et al.*, 2022).

#### A. Uji Alkaloid

Masing-masing 1 gram ekstrak ditambah 1 mL HCL 2N dan dipanaskan selama 2 menit sambil terus diaduk. Saring campuran ekstrak dan HCL setelah dingin. Filtrat hasil penyaringan digunakan untuk uji senyawa alkaloid, masukan masing-masing 0,5 mL kedalam 3 tabung reaksi. Pada tabung ke-1, tambahkan pereaksi mayer sebanyak 2 mL akan terbentuk endapan berwarna putih atau kuning. Pada tabung ke-2 tambahkan pereaksi dragendorf sebanyak 2 mL, terbentuknya endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan positif mengandung alkaloid. Pada tabung ke-3 sebagai blanko.

#### B. Uji Flavonoid

Masing-masing 50 mg ekstrak panaskan dalam 50 mL air panas, panaskan selama 5 menit kemudian saring. Ambil 5 mL filtrat kemudian ditambahkan dengan 0,1 gram magnesium dan 5 mL HCL 2N. Lalu tambahkan 2 mL amil alkohol, kocok kuat dan biarkan memisah. Terbentuk warna kuning hingga merah (atau suatu warna ekstrak tertentu) yang ditarik dengan amil alkohol menandakan hasil positif flavonoid.

#### C. Uji Tanin

Masing-masing 50 mg ekstrak ditambahkan 20 mL air kemudian panaskan selama 15 menit, kemudian dinginkan dan disaring. Kemudian masukan kedalam tabung reaksi tambahkan  $\text{FeCl}_3$  1%. Terbentuknya warna biru tuav positif tanin dan terbentuk warna hitam kehijauan positif polifenol.

#### D. Uji Saponin

Masing-masing 50 mg ekstrak panaskan dalam 50 mL air selama 15 menit, kemudian dinginkan dan disaring kemudian masukan kedalam tabung reaksi

dan dikocok secara vertikal selama 30 detik, amati buih selama 10 detik ditambah 1 tetes HCL 2N. Terbentuknya busa yang persisten kurang lebih selama 10 menit menandakan hasil positif saponin.

#### E. Uji Kuinon

Masing-masing 1 gram ekstrak ditambahkan 20 mL air panas lalu disaring, dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes NaOH 1 N, jika terbentuk warna merah maka positif mengandung kuinon.

### 3.6.5 Preformulasi

#### 1. Formulasi kombinasi minuman bunga telang dan serai

Berikut ini merupakan formulasi minuman bunga telang dan serai yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3.2

**Tabel 3.2** Formulasi kombinasi minuman bunga telang dan serai

Nama Bahan	Konsentrasi (B/V)			Fungsi
	F1	F2	F3	
Serai	25 mg	75 mg	100 mg	Zat aktif
Bunga Telang	25 mg	150 mg	300 mg	Zat aktif
Stevia	1 tetes	1 tetes	1 tetes	Corigen saporis
Air	Ad 250 mL	Ad 250 mL	Ad 250 mL	Pelarut

#### 2. Prosedur Pembuatan Minuman Bunga Telang dan Serai

Formulasi minuman bunga telang dan serai melibatkan beberapa tahap, dimulai dengan persiapan bahan baku, ekstraksi bunga telang dan serai, serta langkah pembuatan minuman cair bunga telang dan serai. Setelah tahap persiapan bahan baku dan ekstraksi selesai, langkah berikutnya adalah pembuatan formulasi minuman cair bunga telang dan serai dengan mengacu pada penelitian sebelumnya dengan metode *trial and error*. Dalam tahap ini, konsentrasi bunga telang mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh (Fernando, 2022), sedangkan konsentrasi serai mengacu pada penelitian yang telah dilakukan oleh (Ramadhan, *et al.*, 2022). Tahapan selanjutnya yaitu menimbang ekstrak bunga telang dan ekstrak serai sesuai dengan formula masing-masing, kemudian dimasukkan ke

dalam *beaker glass*. Setelah itu, ekstrak bunga telang dan ekstrak serai yang telah tercampur diaduk hingga homogen dan selanjutnya ditambahkan stevia sebanyak 1 tetes. Setelah semua bahan tercampur dengan baik, air ditambahkan hingga mencapai volume 250 mL, kemudian campuran tersebut dimasukkan ke dalam botol untuk mendapatkan minuman cair bunga telang dan serai yang siap disajikan (Widiastuti, *et al.*, 2018).

### 3.6.6 Uji Evaluasi Mutu Fisik Sediaan

#### 1. Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik minuman dilakukan melalui metode visual hal ini menunjukkan hasil objektif dengan memperhatikan parameter warna, rasa, bau. Variabel-variabel tersebut digunakan sebagai parameter untuk menetapkan nilai target optimal dalam formulasi dan metode pembuatan minuman (Wardani & Wardani, 2014).

#### 2. Uji pH

Uji pH dilakukan untuk mengetahui keamanan sediaan minuman saat digunakan, kadar pH minuman umumnya adalah 6-7. Tetapi terdapat minuman dengan pH 8-9 air minum ini biasanya disebut air alkali (Krisno, *et al.*, 2021). Kualitas produk pangan sering dihubungkan dengan nilai pH baik secara organoleptik maupun mikrobiologis. Hal ini disebabkan karena nilai pH akan mempengaruhi rasa serta tingkat keawetan produk. Produk pangan yang memiliki keasaman rendah umumnya memiliki masa simpan yang lebih lama karena mikroorganisme akan kesulitan berkembang biak pada lingkungan dengan tingkat keasaman tinggi (Triswandari, 2006; Sukandar, *et al.*, 2014). Uji pH dilakukan dengan cara sampel minuman cair bunga telang dan serai dimasukan pada *beaker glass*. Setelah dibersihkan dengan aquades dan dikalibrasi dengan buffer pH 7 dan 4 sebelum digunakan, pH meter dihidupkan dengan menekan tombol on pada pH meter kemudian dicelupkan pada produk minuman cair bunga telang dan serai, setelah angka tertera pada pH meter tahan sampai angka berhenti, pH yang ditampilkan pada *display digital* pH meter kemudian dicatat. Sebelum melakukan

pengukuran pH pada setiap sampel, pH meter harus dibersihkan terlebih dahulu dengan menggunakan *aquadest* (Suhendy, *et al.*, 2021).

### 3.6.7 Uji Antioksidan

Untuk melakukan uji antioksidan, ambil 1 mL sampel dengan menggunakan pipet mikro dan masukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, tambahkan larutan DPPH sebanyak 0,7 mL dengan konsentrasi 0,4 mM ke dalam tabung reaksi tersebut. Campuran larutan dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan disimpan selama 30 menit dalam ruangan gelap. Jika warna berubah dari ungu menjadi kuning, ini menunjukkan efisiensi penangkalan radikal bebas (Andriani & Murtisiwi, 2020). Kemudian, absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm (Malangngi, *et al.*, 2012). Hasil pengukuran absorbansi ini akan diperoleh pada setiap sampel. Nilai absorbansi tersebut akan digunakan untuk menghitung persentase antioksidan yang terkandung dalam sampel. Rumus yang digunakan untuk menghitung persentase antioksidan yaitu :

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

### 3.6.8 Uji Hedonik

Uji hedonik merupakan salah satu uji penerimaan. Pada uji hedonik sebanyak 20 panelis mengungkapkan suka atau tidak suka. Derajat preferensi disebut skala hedonik. Dalam analisis, skala hedonik diubah menjadi skala numerik. Uji hedonik yang diberikan kepada panelis meliputi parameter rasa, warna dan aroma (Novita, *et al.*, 2017).

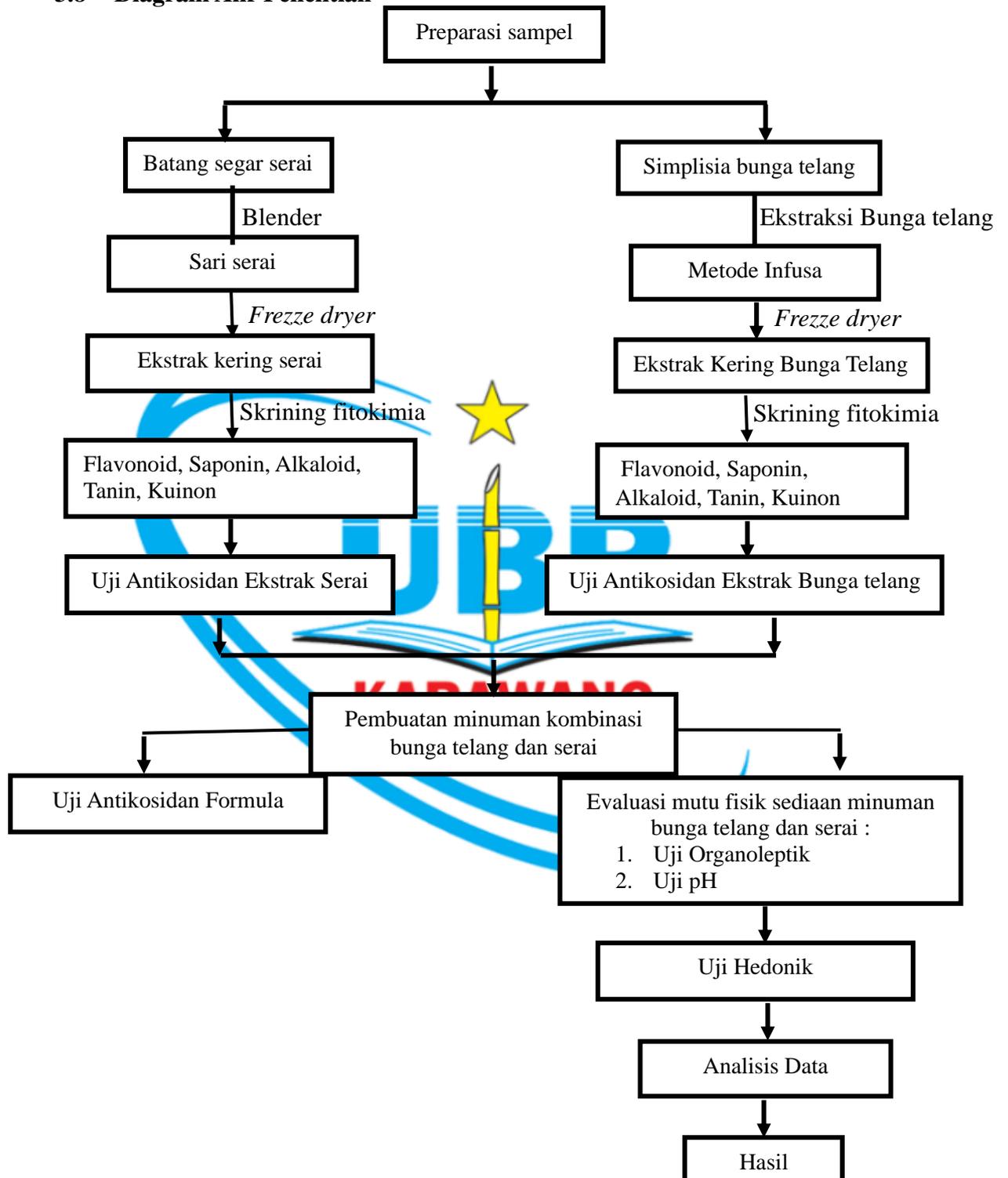
## 3.7 Analisis Data

Analisis data dilakukan dari hasil uji aktivitas antioksidan terhadap sediaan minuman cair dianalisis dengan menggunakan statistik GraphPad prism versi 9 dengan metode uji *one way* ANOVA, pengujian statistic dilakukan untuk menentukan perbedaan dalam nilai rata-rata antara sediaan dan mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) di setiap kelompok (Alkhandahri, *et al.*, 2021). Sementara itu untuk menguji analisis efektivitas kombinasi ekstrak

menggunakan pemrograman *CompuSyn* untuk menentukan nilai *Combination Index* (CI). Nilai CI ini berfungsi sebagai parameter untuk menganalisis interaksi antara kedua ekstrak dalam dalam jangkauan sinergis hingga antagonis, kemudian untuk uji organoleptik dan uji hedonik diamati sebagai data deskriptif.



### 3.8 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian