

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang dilakukan di laboratorium Universitas Buana Perjuangan Karawang.

3.2 Sampel

Sampel pada penelitian ini merupakan buah naga yang diambil dari perkebunan SSA (Surya Srisumber Aslam) Buah Naga, berlokasi di Kampung Ciranji, Desa Cirende, Kecamatan Campaka, Purwakarta.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan terdapat dua kategori yaitu alat untuk uji antioksidan dan formulasi *gummy candy*, berikut adalah alat yang digunakan untuk uji antioksidan antara lain: Timbangan analitik, *Freeze dryer*, Pengayakan mesh 14 dan 60, Mixer, Juicer, batang pengaduk, Gelas ukur 100 ml, Aluminium foil, Alat kecepatan alir, eksikator, mistar, dan Erlenmeyer. Alat yang digunakan untuk formulasi *gummy candy*: Beaker gelas, Pemanas (kompor), Spatula, Gelas ukur, Batang pengaduk, Cetakan permen, Tempat sediaan.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan terdapat dua kategori yaitu bahan untuk uji antioksidan dan bahan formulasi *gummy candy*. Berikut adalah bahan yang digunakan untuk uji antioksidan antara lain: Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), Aquadest, Gliserin, Gelatin, Karagenan, PVP (Polivinipirolidon), Asam sitrat, Propil paraben, Sorbitol, dan Sukrosa.

Berikut adalah bahan yang digunakan untuk formulasi *gummy candy* antara lain:

Tabel 3.1 Daftar Bahan Formula *Gummy Candy*

No	Bahan	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
1	Ekstrak Buah Naga	2,5	2,6	2,7
2	Aquades	8,16	8,16	8,16
3	Gliserin	1,2	1,2	1,2
4	Gelatin	2,5	2,5	2,5
5	Karagenan	7,5	7,5	7,5
6	PVP	3,2	3,2	3,2
7	Asam Sitrat	0,03	0,03	0,03
8	Propil Paraben	0,04	0,04	0,04
9	Sorbitol	1	1	1
10	Sukrosa	4	4	4
	Tutty Fruitty	0,1	0,1	0,1
	Ad	30,59	30,69	30,79

(Sumber: Rashati, 2019)

3.4 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium bahan alam dan teknologi Universitas Buana Perjuangan Karawang.

3.5 Variabel Penelitian

Berikut beberapa variabel yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

1. Variabel Bebas

Variabel bebas yang terlibat pada penelitian ini yaitu 3 variasi konsentrasi ekstrak buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang dibuat dalam sediaan *gummy candy*.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pengujian antioksidan dengan metode DPPH.

3.6 Prosedur Penelitian

Adapun prosedur penelitian yang dilakukan dalam pengujian antioksidan ekstrak buah naga dan kualitas *gummy candy* adalah sebagai berikut:

3.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman buah naga (*Hylocereus Polyrhizus*) dilakukan di Laboratorium Herba Materia Medica Batu, Malang, Jawa Timur. Determinasi dilakukan untuk mengidentifikasi ketepatan spesies tanaman yang digunakan sesuai dengan bahan yang dibutuhkan dalam penelitian.

3.6.2 Persiapan Sampel

Buah Naga yang didapatkan di Kampung Ciranji, Desa Cirende Kecamatan Campaka, Kabupaten Purwakarta, Jawa Barat. Buah naga yang diambil sebelum digunakan dicuci dengan air mengalir. Kupas kulit buah naga dan diambil dagingnya lalu di juicer. Setelah di juicer kemudian di saring lalu di campurkan dekstrin, kemudian di aduk secara menggunakan mixer. Kemudian ditungkan ke dalam wadah yang telah di beri alas aluminium foil, kemudian masukan kedalam *freeze dryer*, keringkan dengan suhu 60°C hingga kering, kurang lebih 3 hari. Lembaran-lembaran tipis sari kring yang telah dihasilkan kemudian dihancurkan dengan grinder, kemudian di ayak dengan pengayak no 60 hasil ayakan tadi ditimbang dan dimasukkan kedalam wadah dan tutup dan terhindar dari kelembaban.

3.6.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada sampel, yaitu mengenai struktur kimia, biosintesis, penyebaran secara biologisnya, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari macam-macam jenis tanaman. Letak geografis suhu, iklim dan kesuburan tanah suatu wilayah sangat menentukan kandungan senyawa kimia dalam suatu tanaman (Rahmawanty *et al*, 2015)

1. Uji Alkaloid

Buah naga diambil 1 ml ditambahkan dengan 2ml HCL 2N kocok perlahan lalu pisahkan pada dua tabung berbeda (1 ml)

- a. Tabung pertama, ditambahkan 1 tetes reagen *dragondroff*, keberadaan alkaloid ditandai menghasilkan endapan merah atau jingga dan lapisan bawah cairan HCL.
- b. Tabung kedua, ditambahkan 1 tetes mayer jika menghasilkan 2 lapisan terbentuk, lapisan atas berwarna hijau dan lapisan bawah berwarna putih.

2. Uji Flavonoid
Ambil 1 ML, masukan kedalam tabung reaksi, tambahkan serbuk Mg q.s masukan 10 tetes HCL pekat maka apabila hasil positif akan terbentuk endapan putih.
3. Uji Fenolik
Buah naga merah diambil 1 ML, masukan kedalam tabung reaksi, tambahkan 10 tetes FeCl₃ 1% kemudian amati, keberadaan fenolik ditandai dengan adanya perubahan warna pada sampel. Ambil 1 ml ekstrak buah naga masukan kedalam tabung, tambahkan 10 tetes FeCl₃ 1% kemudian amati, fenolik dapat dilihat dengan munculnya perubahan warna hitam pada sampel.
4. Uji Kuinon
Ambil 1 ml ekstrak buah naga masukan kedalam tabung, tambahkan 5 tetes NaOH kemudian amati, Kuinon dapat dilihat dengan munculnya perubahan warna jingga pada sampel.
5. Uji Saponin
Ambil 1 ml ekstrak buah naga kemudian larutkan dengan aquades yang sudah dipanaskan sebanyak 10 ml, diamkan sampai tidak terlalu panas lalu kocok selama 10 – 15 detik kemudian amati, Saponin dapat dilihat dengan adanya busa/buih pada sampel.
6. Uji Tanin
Ambil ekstrak buah naga sebanyak 3 ml kemudian masukan kedalam tabung kemudian tambahkan 5 tetes gelatin kemudian amati perubahan yang terjadi, Tanin dapat dilihat dengan adanya endapan putih pada sampel.
7. Uji Steroid dan Uji Terpenoid
Ambil larutan ekstrak buah naga sebanyak 2 ml, lalu diuapkan. Kemudian tambahkan 5 tetes liberman bouchard lalu amati perubahan yang terjadi, steroid dan terpenoid dapat dilihat dengan adanya cincin biru kehijauan pada sampel.

3.6.4 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Naga

Tahapan uji aktivitas antioksidan ekstrak buah naga adalah sebagai berikut:

1. Pembuatan Larutan DPPH 50 ppm

Pembuatan larutan DPPH dibuat menggunakan konsentrasi 50 ppm dengan menimbang sebanyak 2,5 mg. kemudian larutkan dengan metanol p.a sampai 50mL dan cukupkan pelarut sampai tanda batas. Selanjutnya kocok hingga homogen dan dilapisi dengan alumunium foil disetiap pengujian larutan DPPH. (Widyasanti, Rohdiana dan Ekatama, 2016)

2. Pembuatan Larutan Blanko

Dalam pembuatan larutan blanko larutan DPPH 50 ppm dimasukkan ke dalam botol coklat sebanyak 2 mL dan ditambahkan metanol p.a sebanyak 2mL. kemudian diinkubasi selama 30 menit. (Widyasanti, Rohdiana dan Ekatama, 2016)

3. Penentuan Panjang Gelombang

Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan mengambil larutan DPPH 50 ppm menggunakan pipet sebanyak 4 mL dan diletakkan ke dalam kuvet. Kemudian tentukan spektrum serapannya menggunakan spektrofometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm serta ditemukan panjang gelombang optimumnya. (Widyasanti, Rohdiana dan Ekatama, 2016)

4. Penentuan Serapan Absorbansi

Penentuan serapan absorbansi dilakukan dengan mengambil larutan DPPH sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam botol coklat lalu ditambahkan dengan metanol p.a sebanyak 2 mL, kemudian diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 37°C lalu diukur serapannya dengan spektrofometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Pengerjaan dilakukan secara triplo dan diperlakukan di ruangan tertutup dan terhindar dari cahaya. (Widyasanti, Rohdiana dan Ekatama, 2016)

5. Pembuatan Larutan Asam Askorbat (Vitamin C)

Pembuatan larutan asam askorbat dilakukan dengan mengambil asam askorbat 100 ppm sebanyak 2,5 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a 25 mL lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL sampai tanda batas, dicukupkan pelarutnya sampai tanda batas. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 12 ppm, 10 ppm, 8 ppm, 6 ppm, 4 ppm dengan masing-masing variasi konsentrasi dilarutkan

dalam 10 mL metanol p.a pada labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Masing-masing larutan uji di pipet 2 mL dan dimasukkan ke dalam botol coklat lalu ditambahkan larutan DPPH sebanyak 2 mL kemudian dikocok hingga homogen dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya larutan uji diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 mm.(Widyasanti, Rohdiana dan Ekatama, 2016)

6. Pembuatan Larutan Ekstraksi Buah Naga Merah

Ektrak etanol dibuat larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang masing-masing ekstrak sebanyak 25 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan dicukupkan pelarutnya hingga tanda batas. Selanjutnya ekstrak dibuat dengan konsentrasi 120 ppm, 100 ppm, 80 ppm, 60 ppm, dan 40 ppm. Masing-masing konsentrasi dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas. (Widyasanti, Rohdiana dan Ekatama, 2016)

7. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstraksi Buah Naga Merah

Pengujian antioksidan dilakukan dengan memipet larutan induk ekstraksi buah naga merah sebanyak 2 mL. Masing-masing konsentrasi kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH, kemudian diinkubasi selama 30 menit lalu diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 514 nm dan dilakukan berulang secara triplo. (Widyasanti, Rohdiana dan Ekatama, 2016)

8. Penentuan Nilai IC₅₀

Presentase inhibisi merupakan presentase yang menunjukkan aktivitas radikal tersebut. Presentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel yang dapat dihitung dengan rumus:

$$\%inhibisi = \frac{Absorbansi\ Blanko - Absorbansi\ Sampel}{Absorbansi\ Blanko} \times 100\%$$

Setelah didapatkan presentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, persen inhibisi dan konsentrasi sampel yang didapat diplotkan masing-masing pada sumbu x dan y dalam persamaan regresi linear $y = ax \pm b$. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel. Nilai IC₅₀ adalah konsentrasi sampel yang dapat meredam nilai radikal bebas DPPH sebanyak 50%.

IC₅₀ merupakan besaran konsentrasi inhibisi suatu larutan uji dalam menurunkan aktivitas radikal sebesar 50% dimana ketika nilai IC₅₀ semakin kecil maka semakin besar pula aktivitas antioksidannya. (Widyasanti, Rohdiana dan Ekatama, 2016)

3.6.5 Prosedur Formulasi Nutrasetikal Gummy Candy

Proses pembuatan *gummy candy* ini diawali dengan melarutkan PVP dengan akuades hingga larut. Kemudian campur ekstrak buah naga aduk hingga rata. Tahap selanjutnya larutkan propil paraben dan asam sitrat dengan gliserin hingga larut pada beaker yang berbeda. Kemudian tambahkan larutan tersebut kedalam gelas biasa yang berisi larutan ekstrak buah naga aduk hingga rata lalu panaskan dengan suhu 40°C selama 10 menit. Gelatin dan karagenan dikembangkan dengan cara menaburkan gelatin dan karagenan ke dalam gelas piala yang berisi air panas kemudian aduk hingga merata dan diamkan, Kemudian campurkan gelatin dan karagenan. Tambahkan pemanis seperti sorbitol dan sukrosa ke dalam campuran gelatin dan karagenan yang sudah mengembang dalam kondisi panas pada suhu 70°C dan diaduk hingga merata. Campuran ekstrak buah naga yang sudah larut dimasukkan ke dalam campuran tersebut lalu diaduk di atas penangas air pada suhu 70°C hingga homogen. Kemudian tuangkan di atas cetakan dan simpan pada suhu 19°C selama 24 jam (Purwanto, Bahri dan Ridhay, 2017)

3.7 Pengujian Organoleptik

Pengujian organoleptic dilakukan dengan mengamati *gummy candy* secara visual dari setiap formula meliputi rasa, warna, aroma, dan kekenyalan.

3.8 Pengujian Keseragaman Bobot

Keseragaman bobot diuji dengan cara menimbang 20 tablet kemudian dihitung bobot rata-rata tiap tablet. Penimbangan satu per satu tidak boleh lebih dari dua tablet yang memiliki bobot menyimpang lebih besar dari bobot rata-rata yang ditetapkan (Purwanto, Bahri dan Ridhay, 2017)

3.9 Pengujian pH

Pengujian pH dilakukan dengan mengambil 3 *gummy candy* yang dilelehkan. Kemudian hasil lelehan diukur pHnya menggunakan kertas indikator pH (Purwanto, Bahri dan Ridhay, 2017)

3.10 Evaluasi Hedonik

Evaluasi hedonik merupakan pengujian yang panelisnya mengemukakan respon berupa senang tidaknya terhadap *gummy candy*. Evaluasi sediaan dilakukan menggunakan responden untuk mendapatkan respon terhadap sediaan meliputi: 1. Bau atau aroma, 2. Kekenyalan, 3. Rasa. Uji ini dilakukan terhadap 30 responden laki-laki dan perempuan berusia 19-25 tahun. Kriteria inklusi meliputi perempuan, usia 19-23 tahun dan mahasiswa Universitas Buana Perjuangan Karawang program studi Farmasi. Skala numerik dalam uji hedonik Amat suka (5), suka (4), Agak suka (3), Netral (2) dan Tidak suka (1)

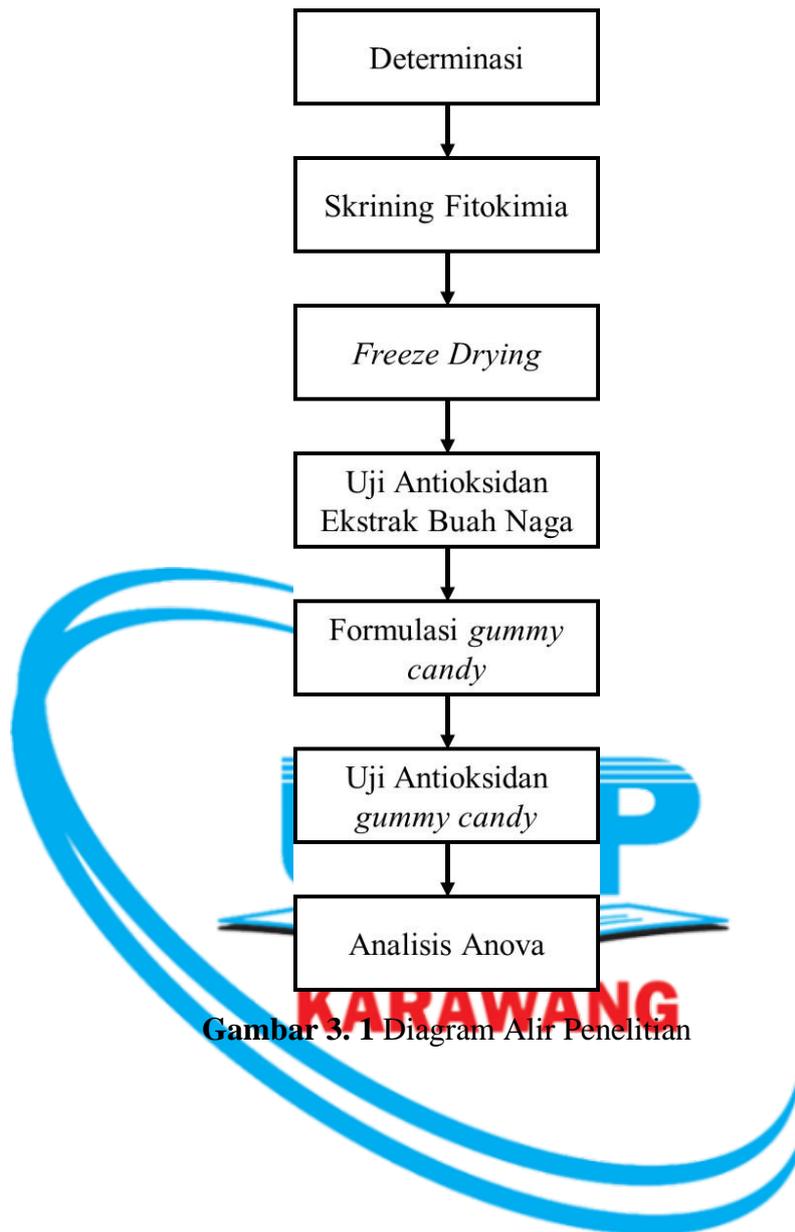
Petunjuk: 1) Dihadapan anda terdapat 3 *gummy candy* dengan konsentrasi yang berbeda dan variasi konsentrasi yang berbeda, anda diminta untuk menyoba satu persatu produk kemudian lakukan pengamatan pada warna, aroma, rasa, kekenyalan pada *gummy candy* 2) Berikan penilaian anda pada form yang telah disediakan setiap melakukan penilaian terhadap satu sampel produk *gummy candy*.

3.11 Analisis Data

Metode analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah *one-way* ANOVA untuk menganalisis hasil pengamatan data yang terkumpul mengenai sifat fisik *gummy candy* buah naga yang diperoleh dari hasil pengamatan uji fisik sediaan (organoleptis, pH), uji hedonik, dan stabilitas fisik sediaan dianalisis secara deskriptif non analit. Sediaan *gummy candy* buah naga yang telah dibuat kemudian dievaluasi sifat sediaan meliputi uji organoleptis dan pH.

3.12 Diagram Alir Penelitian

berikut merupakan alur penelitian dalam bentuk diagram alir:



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian