

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan rancangan penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan tujuan menguji aktivitas antioksidan pada permen jelly yang mengandung ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.). Penelitian eksperimental bertujuan untuk menemukan hubungan sebab-akibat antara variabel satu dengan variabel lainnya. Penelitian ini dilakukan di laboratorium bahan alam dan teknologi, khususnya di jurusan farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Proses pembuatan permen jelly melibatkan penggunaan pewarna alami berupa ekstrak bunga telang.

#### **3.2 populasi & sampel**

Dalam penelitian ini, populasi yang menjadi fokus adalah bunga telang yang berlokasi di Cikarang Utara. Kemudian, sampel yang diambil dari populasi tersebut adalah permen jelly yang menggunakan bahan dasar dari bunga telang. Sampel ini akan digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan pada produk permen jelly.

#### **3.3 Bahan Dan Alat Yang Digunakan**

##### **3.3.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian yaitu blender (philips), pemanas (kompor), spatula, timbangan analitik, freeze drying, freezer, ayakan mesh 14 dan 60, spektrofotometri UV-Vis (termo Insight), timbangan analitik, pH meter, alat-alat gelas yang berada di laboratorium (pyrex), kuvet.

##### **3.3.2 Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.), aquadest, gliserin, gelatin, PVP (Polivinylpirolidon), asam sitrat, propil paraben, sorbitol, sukrosa, lemon, Fragrance oil, serbuk ABTS, kalium persulfate, etanol p.a, vitamin C.

#### **3.4 Variabel Penelitian**

Berikut variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

### 3.4.1 Klasifikasi variabel

#### a. Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu 3 variasi konsentrasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang dibuat dalam sediaan permen jelly.

#### b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pengujian antioksidan dengan menggunakan uji ABTS.

#### c. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah keseluruhan bahan yang digunakan, alat yang digunakan dan proses pembuatan.


### 3.4.2 Definisi Operasional Variabel

Berikut tabel definisi operasional variabel pada penelitian ini, yaitu

**Tabel 3.1.** Definisi Operasional Variabel

Variabel	definisi	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
Konsentrasi ekstrak etanol bunga telang	Parameter yang menunjukkan perbandingan tiga variasi konsentrasi ekstrak bunga telang		Ordinal	1. Sediaan dengan ekstrak 2. Sediaan dengan ekstrak 3. Sediaan dengan ekstrak
Aktivitas antioksidan	Kemampuan suatu senyawa yang menghambat reaksi oksidasi yang dapat	Spektrofotometer UV-vis	rasio	Nanometer (nm)

dinyatakan  
dengan %  
inhibisi (  
persentase  
kemampuan  
sampel dalam  
menangkap  
radikal  
ABTS)

Uji Hedonik	Pengujian sensorik guna untuk mengetahui besarnya perbedaan kualitis, penilaian atau skor untuk mengetahui tingkat kesukaan dari suatu produk meliputi warna, rasa, tekstur		Ordinal	1. Sangat suka 2. Suka 3. Tidak suka
-------------	--	---	---------	--

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dilakukan di laboratorium biologi FMIPA Universitas Padjajaran Jatinangor, Sumedang.

Detemnnasi ini dilakukan untuk diidentifikasi ketepatan tanaman yang digunakan sesuai dengan bahan yang dibutuhkan dalam penelitian.

### 3.5.2 Persiapan Sampel

Tanaman bunga telang yang digunakan berasal dari cikarang utara, kabupaten Bekasi, jawa barat. Proses pengolahan bunga telang untuk menghasilkan bahan yang digunakan dalam permen jelly:

1. Bunga telang yang sudah dicuci kemudian dijus. Setelah proses jus, larutan bunga telang disaring dan dicampur dengan dekstrin menggunakan.
2. Pengeringan: Larutan bunga telang yang telah dicampur dengan dekstrin dituangkan ke dalam wadah yang dilapisi dengan aluminium foil. Wadah tersebut kemudian dimasukkan ke dalam mesin freeze drying dan dikeringkan pada suhu 60 °C selama kurang lebih 3 hari.

### 3.5.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah metode yang digunakan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak tumbuhan. Dalam kasus ekstrak bunga telang, dilakukan uji untuk menentukan keberadaan senyawa-senyawa dari berbagai golongan, termasuk alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, triterpenoid, dan steroid (Debi putri, 2020).

#### 1. Uji Alkaloid

Ekstrak bunga telang ditimbang 40 mg, ditambahkan beberapa tetes HCl 2% kocok kuat, hingga terbentuk 2 lapis kemudian ditambahkan 1-3 tetes pereaksi mayer. Reaksi akan dianggap positif jika terdapat endapan atau larutan berubah menjadi keruh (Fikayuniar *et al*, 2024).

#### 2. Uji Flavonoid

Ekstrak bunga telang ditimbang sebanyak 40 mg lalu dilarutkan 4 ml methanol kemudian tambahkan □<sub>2</sub>□<sub>4</sub> sebanyak 2 tetes lalu kocok kuat. Hasil positif bila larutan berwarna menjadi merah, kuning, hijau dan coklat (Cahyaningsih *et al* ., 2019).

#### 3. Uji Saponin

Ekstrak bunga telang ditimbang sebanyak 40 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi 10 mL, kemudian ditambahkan aquadest panas dan lalu

didinginkan. Dikocok selama 10 detik kemudian ditambahkan HCl 2N sebanyak 1 tetes. Mendapatkan Hasil yang positif mengandung saponin apabila menunjukkan adanya buih saat penambahan HCl (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

#### **4. Uji Tannin**

Ekstrak bunga telang ditimbang sebanyak 40 mg tambahkan 10 mL aquadest dan disaring, kemudian larutan diencerkan dengan aquadest hingga tidak berwarna, selanjutnya tambahkan 2 tetes FeCl 1%. Hasil akan positif apabila terjadi warna biru atau hijau kehitaman (Ergina, 2014)

#### **5. Triterpenoid**

Sebanyak 100 mg ekstrak ditimbang kemudian dilarutkan dengan menggunakan air sebanyak 10 ml. selanjutnya ekstrak yang larut diambil 2ml, kemudian tambahkan 3 tetes HCl pekat dan 1 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna merah atau ungu (Ergina, 2014).

#### **6. Antarkuinon**

Ekstrak 50 mg ditambah 10 ml air, dipanaskan selama 5 menit selanjutnya disaring. Sebanyak 3 ml larut dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi 1 sebagai blanko 2. Tabung II ditambah beberapa tetes larutan NaOH 1 N bila positif maka terbentuk larutan berwarna merah (Ergina, 2014)

### **3.6 prosedur formulasi**

#### **3.6.1 Pembuatan larutan ekstraksi bunga telang**

Larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang masing-masing ekstrak sebanyak 25 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol 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 etanol p.a sampai tanda batas (Widyasanti, Rohdiana dan Ekatama, 2016).

**Tabel 3.2** Formulasi Permen Jelly Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

(Sumber yang dimodifikasi : Rashati, 2019)

Bahan (gram)	F1 (gram)	F2 (gram)	F3 (gram)
Ekstrak bunga telang	1	1,2	1,5
Sukrosa	4	4	4
Asam sitrat	0,03	0,03	0,03
PVP	3,2	3,2	3,2
Gelatin	2,5	2,5	2,5
Sorbitol	1	1	1
Gliserin	2,5	2,5	2,5
Propil paraben	0,04	0,04	0,04
Fragrance oil	q.s	q.s	q.s

### 3.6.2 Pembuatan permen jelly bunga telang

Proses pembuatan permen jelly ini diawali dengan melarutkan PVP dengan akuades hingga larut. Kemudian campur ekstrak bunga telang 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 bunga telang aduk hingga rata lalu panaskan dengan suhu 40°C selama 10 menit. Gelatin dikembangkan dengan cara menaburkan gelatin ke dalam gelas piala yang berisi air panas kemudian aduk hingga merata dan diamkan, Kemudian campurkan gelatin. Tambahkan pemanis seperti sorbitol dan sukrosa ke dalam campuran gelatin yang sudah mengembang dalam kondisi panas pada suhu 60°C dan diaduk hingga merata. Campuran ekstrak bunga telang yang sudah larut dimasukkan ke dalam campuran tersebut lalu diaduk di atas penangas air pada suhu 60°C hingga homogen. Kemudian tuangkan di atas cetakan dan simpan pada suhu 19°C selama 24 jam (Purwanto, Bahri dan Ridhay, 2017)

### 3.6.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode ABTS

#### 1. Pembuatan Larutan

##### a) Larutan ABTS

Sebanyak 7,1 mg ABTS ditimbang dan dilarutkan dengan aquadest 5 ml dan di inkubasi selama 12 jam (Sami, 2020)

##### b) Larutan radikal ABTS

Sebanyak 3,5 mg kalium persulfat di larutan dengan 5 ml aquadest dan di inkubasi selama 12 jam (Miracel, 2021)

#### 2. Pengukuran serapan blanko ABTS

Larutan ABTS 1 ml dicukupkan dengan etanol p.a sampai 5 ml labu ukur. Kemudian diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 734 nm.

#### 3. Pembuatan Larutan Sampel Uji

Pembuatan larutan stok ekstrak bunga telang dengan cara timbang sebanyak 25 mg dilarutkan etanol p.a dalam labu ukur 25 mg. Dengan konsentrasi 40, 60, 80, 100, 120 ppm. Dipipet masing-masing ditambahkan larutan ABTS 1ml dan add dengan etanol dilabu ukur 10ml. Lalu diinkubasi selama 30 menit dan di ukur abserobansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis berulang secara triplo (Miracel, 2021).

#### 4. Penentuan Panjang gelombang

Larutan stok ABTS diambil 1 ml dan dimasukan kedalam labu ukur add 5 ml menggunakan etanol kemudian ukur Panjang gelombang dengan sepktofotometri UV-Vis dengan range 400-800 nm.

#### 5. Pembuatan Larutan Vitamin C

Larutan vitamin c 100 ppm dibuat dengan menimbang 10 mg vitamin C dan dilarutkan dalam etanol dalam labu takar 10 mL. Dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 ppm. Masing-masing dipipet ditambahkan larutan stok ABTS 1 ml dan add etaol p.a dengan labu ukur 10 ml. Di inkubasi selama 30 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis berulang secara triplo (Sami *et al.*, 2015).

## 6. Pengukuran antioskidan sediaan permen jelly

Larutkan permen jelly ekstrak bunga telang dengan etanol p.a, kemudian larutan pipet menggunakan konsentrasi 40, 60, 80, 100, 120 ppm. Tambahkan 1 ml larutan ABTS, lalu inkubasi selama 30 menit dan di ukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

### 3.6.5 Penentuan Aktivitas antioksidan

Absorbansi telah didapatkan, masukan nilai absorbansi ke dalam rumus untuk mencari persen hambat masing-masing larutan (Luo, 2011)

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

Setelah ditemukan nilai persentase dari tiap konsentrasi, dicari nilai IC<sub>50</sub> dengan menggunakan persamaan regresi linear.

$$Y = Bx + A$$

Keterangan :

Y = % inhibisi ( yaitu 50)

X = konsentrasi ( IC<sub>50</sub>)

**Tabel 3.3** Klasifikasi Antioksidan (sinala, 2019)

Nilai IC <sub>50</sub> ( ppm)	Aktivitas antioksidan
< 50	Sangat kuat
50 – 100	Kuat
101 – 250	Sedang
251 – 500	Lemah
≥500	Tidak aktif

## 3.7 Evaluasi Sediaan

### 3.7.1 Uji Hedonik

Uji hedonik adalah metode dalam analisis sensori organoleptik yang digunakan untuk menilai perbedaan kualitas antara beberapa produk sejenis. Dalam uji ini, penilaian atau skor diberikan terhadap sifat-sifat tertentu dari suatu produk. Tujuan utamanya adalah untuk mengetahui tingkat kesukaan terhadap produk tersebut. Skala hedonik digunakan untuk menggambarkan tingkat kesukaan, misalnya dari “sangat suka” hingga “sangat tidak suka” (Putri, 2018).



### 1. Warna

- Pengamatan warna dilakukan dengan melibatkan 20 orang responden yang mengamati permen jelly yang mengandung ekstrak bunga telang.

### 2. Rasa:

- Rasa merupakan faktor kunci dalam menentukan daya tarik konsumen terhadap produk pangan.
- Penilaian rasa lebih banyak menggunakan indera pengecap (lidah).
- Penginderaan rasa dapat dibagi menjadi empat kategori: asam, asin, manis, dan pahit.

### 3. Tekstur:

- Sensasi tekanan pada mulut (misalnya saat menggigit atau mengunyah) atau perabaan dengan jari juga mempengaruhi persepsi terhadap tekstur produk

#### 3.7.2 Uji pH

Pengujian pH dilakukan dengan mengambil 3 permen jelly yang akan dilelehkan, kemudian hasil lelehan diukur menggunakan pHnya menggunakan pH meter (Bahri,2017).

#### 3.7.3 Uji keseragaman bobot

Untuk menguji keseragaman bobot, kita menimbang 20 tablet dan menghitung rata-rata bobotnya. Selanjutnya, kita memastikan bahwa tidak lebih dari dua tablet memiliki bobot yang signifikan lebih besar atau lebih kecil daripada bobot rata-rata yang telah ditetapkan (Bahri,2017)

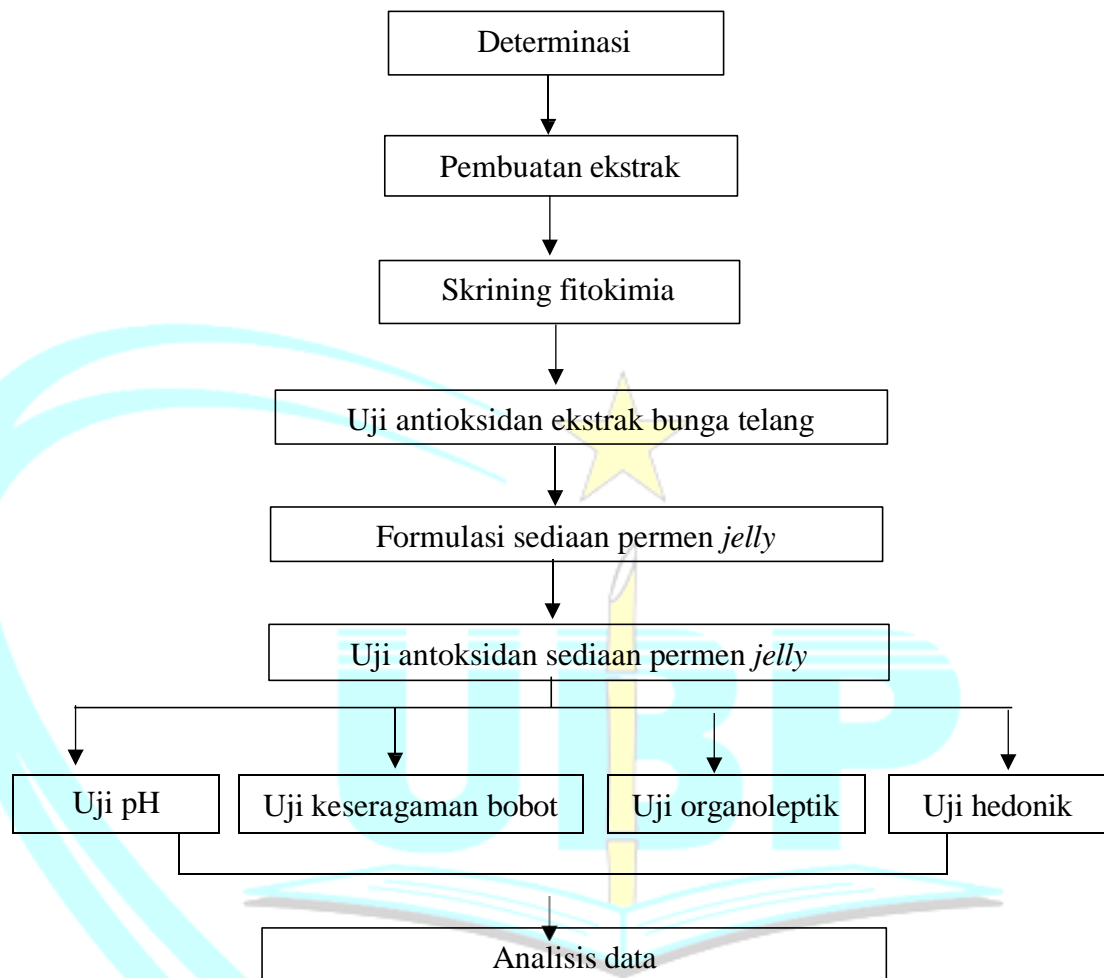
#### 3.7.4 Uji organoleptik

Pengujian pada organoleptik dilakukan dengan mengamati permen jelly secara visual setiap formula meliputi rasa, aroma, warna, dan kekenyalan.

### 3.8 Analisis data

Dalam penelitian ini, metode analisis yang digunakan adalah ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengevaluasi data pengamatan terkait sifat fisik permen jelly bunga telang. Data diperoleh dari hasil pengamatan uji fisik sediaan, termasuk uji organoleptik dan pengukuran pH. Evaluasi sifat fisik permen jelly bunga telang melibatkan pengujian organoleptik dan pengukuran pH.

### 3.9 Diagram Alur Penelitian



**Gambar 3.1** Diagram Alir Prosedur Penelitian