

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen dengan desain penelitian Rancangan Acak Lengkap (RAL). Menggunakan 4 taraf perlakuan dengan 3 kali replikasi sehingga didapatkan 12 unit eksperimen untuk mengetahui pengaruh terhadap mutu kimia (aktivitas antioksidan). Berikut adalah tabel Desain penelitian Rancangan Acak Lengkap.

Kebutuhan penderita hipertensi mengacu pada diet Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH). Kebutuhan sehari kalium dalam sehari yaitu 4700 mg. Mengonsumsi kalium yang banyak akan meningkatkan konsentrasinya di dalam cairan intraseluler sehingga cenderung menarik cairan dari bagian ekstraseluler dan menurunkan tekanan darah (Almatsier, 2014). Antioksidan juga dibutuhkan untuk menangkal radikal bebas. Salah satu antioksidan alami adalah vitamin C yang dapat larut dalam air. Kebutuhan vitamin C yang dianjurkan adalah sebesar 75-90 mg per hari (Permenkes No 28 Tahun 2019 Angka Kecukupan Gizi, 2019).

Tabel 6. Desain Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Taraf Perlakuan infused water bit dan lemon + buah nanas	Replikasi		
	1	2	3
P ₀ 100% + 0% : 0%	P ₁	P ₂	P ₃
P ₁ 100% + 20% : 15%	P ₁₁	P ₁₂	P ₁₃
P ₂ 100% + 15% : 20%	P ₂₁	P ₂₂	P ₂₃
P ₃ 100% + 10% : 25%	P ₃₁	P ₃₂	P ₃₃

Keterangan:

P₁ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₀ replikasi 1

P₂ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₀ replikasi 2

P₃ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₀ replikasi 3

.....

P₃₃ : unit penelitian pada taraf perlakuan P₃ replikasi 3

Tabel 7. Kandungan Gizi Bit, Lemon Dan Nanas Pada Setiap Perlakuan

Taraf Perlakuan (Bit + Lemon + Nanas)	Kandungan Gizi	
	Kalium (mg)	Vitamin C (mg)
P0 100% + 0% : 0%	404,9	10
P1 100% + 20% : 15%	450	22,3
P2 100% + 15% : 20%	448,6	20,5
P3 100% + 10% : 25%	447,3	18,8

Terdapat pengurangan kadar kalium dan vitamin C pada P0-P3 hal ini dikarenakan rasio antara lemon dan nanas berbeda, pada buah lemon per 100 gram memiliki vitamin C sebanyak 53 gram dan kalium 138 mg sementara itu buah nanas memiliki vitamin C 22 mg dan kalium 111 mg. Jika diminum sebanyak 2-3 x/hari akan memenuhi 10% dari total kebutuhan sehari.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juli - Agustus 2025, bertempat di:

1. Laboratorium Ilmu Teknologi Pangan Gizi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang untuk proses pengolahan *infused water* dan uji organoleptik
2. Laboratorium Gizi Universitas Airlangga untuk uji aktivitas antioksidan.
3. Laboratorium Ilmu Teknologi Pangan Universitas Brawijaya Malang untuk uji kalium.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

a. *Infused Water*

Bahan yang diperlukan untuk *infused water* adalah bit, lemon, nanas dan air mineral.

Tabel 8. Spesifikasi Bahan

Bahan	Spesifikasi
Lemon lokal 	Lemon lokal dibeli di pasar belimbing kota Malang, warna kuning dengan gradien hijau, bentuk bulat lonjong, tidak ada kerusakan pada bentuk, kulit tidak ada bercak coklat, tidak ada lubang, bau tidak busuk, tidak penyok dan berat sekitar 100-150 per kg buah.
Umbi bit 	Bit dibeli di pasar Gadang dengan berat 100-150 gram per buah, dengan umur panen 50-70 hari, dengan ukuran diameter 6-7 cm, bentuk yang bulat, warna ungu, tidak ada bau busuk, tidak berlubang atau rusak, tidak berlendir, akar tunggang masih menempel.
Nanas	Buah nanas cayenne dibeli di pasar belimbing kota Malang, dengan berat 400-500 gram per buah, warna kulit kuning, tidak busuk, memiliki bonggol hijau, tidak berlubang atau rusak.

	
Air Mineral 	Air mineral yang digunakan adalah air mineral merk Aqua yang tersedia dalam kemasan, tidak berbau, tidak mempunyai rasa, tidak beracun, tidak berwarna.

Tabel 9. Jumlah Bahan Infused Water pada Setiap Taraf Perlakuan

Bahan	Tarf perlakuan				Total Kebutuhan
	P0	P1	P2	P3	
Bit (gr)	300	300	300	300	1,200
Buah Lemon (gr)	0	60	45	30	135
Buah nanas (gr)	0	45	60	75	180
Air (ml)	1.050	1.050	1.050	1.050	4.200

b. Analisis Aktivitas antioksidan

Bahan yang diperlukan untuk analisis aktivitas antioksidan adalah *infused water* buah bit dan buah lemon, DPPH, methanol (pa), aquades.

c. Analisis Mutu Organoleptik

pengujian mutu organoleptik akan menggunakan produk infused water bit dengan penambahan lemon dan nanas pada masing-masing taraf perlakuan dan air mineral untuk setiap panelis.

d. Analisis Taraf Perlakuan Terbaik

Bahan yang diperlukan untuk analisis taraf perlakuan terbaik adalah data ranking variabel setiap panelis.

2. Alat

a. Alat Pengolahan Infused Water Buah bit, Lemon dan Nanas

Alat-alat yang digunakan antara lain: Botol kaca, corong, pisau, talenan, saringan, timbangan digital, gelas ukur, wrapper, refrigerator.

b. Alat Analisis Aktivitas Antioksidan

Alat-alat yang digunakan antara lain: gelas beker 250 ml, labu takar, timbangan analitik, corong kaca, tabung reaksi, kuvet, pipet volume, erlenmeyer, spektrofotometer UV-Vis.

c. Analisis Kadar Kalium

instrument AAS (Atomic Absorption Spectrophotometer) menggunakan nyala udara asetilen lengkap dengan lampu katoda, Neraca analitik (BOECO Germany), destruktur , labu ukur 100 ml, mikropipet 50-2000 μ L alat-alat gelas.

d. Analisis Mutu Organoleptik

Alat yang digunakan adalah form kuisioner uji kesukaan (Hedonic Scale Test), alat tulis, nampan kayu kecil, cup plastik kecil, kertas label, sedotan plastik dan air mineral.

e. Analisis taraf perlakuan terbaik

Alat yang digunakan untuk uji taraf perlakuan terbaik yaitu formulir uji taraf perlakuan terbaik dan alat tulis.

D. Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan suatu sifat, nilai, atau atribut dari suatu orang, objek, atau kegiatan yang memiliki beberapa variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti yang tujuannya adalah untuk dipelajari dan kemudian diperoleh suatu penarikan kesimpulan (Sugiyono, 2015).

Berikut adalah variabel untuk penelitian:

1. Variabel Bebas (*independent*)

Variabel bebas penelitian ini infused water buah bit, lemon dan nanas.

2. Variabel Terikat (*dependent*)

Variabel terikat penelitian ini adalah kadar aktivitas antioksidan, kalium dan mutu organoleptik (warna, rasa dan aroma).

E. Definisi Operasional Variabel

Menurut (Setiawan, A. 2011) Definisi Operasional Variabel adalah untuk memungkinkan peneliti melakukan observasi atau mengukur sebuah objek atau fenomena secara mendetail atau cermat. Disisi lain Definisi Operasional Variabel merupakan gambaran variabel penelitian. Sehingga pada saat menyusun variabel tidak mengandung makna ganda dan terukur.

Berikut adalah Tabel definisi operasional variabel.

Tabel 10. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Alat ukur	Hasil ukur	Skala Ukur
<i>Infused water</i> buah bit dengan penambahan lemon dan nanas	Formulasi infused water bit, lemon dan nanas P0 100% + 0% : 0% P1 100% + 20% : 15% P2 100% + 15% : 20% P3 100% + 10% : 25%	-	-	-
Aktivitas antioksidan	Menggunakan metode uji aktivitas antioksidan DPPH untuk mengetahui nilai hambat ekstrak yang berpotensi sebagai antioksidan yang dinyatakan dengan nilai IC50. Semakin rendah nilai IC50 maka semakin kuat aktivitas antioksidan. Dinyatan dalam satuan ppm.	Menggunakan uji DPPH	< 50 ppm = sangat kuat 50-100 ppm = kuat 100-150ppm = sedang 150-200ppm = lemah	Rasio
Kandungan Kalium	Kandungan kalium yang terdapat dalam infused water bit	Menggunakan metode AAS	Dinyatakan dalam satuan ppm	Rasio

	dengan penambahan lemon dan nanas.			
Mutu organoleptik	Penilaian panelis terhadap warna, aroma, dan rasa terhadap produk <i>infused water</i>	Uji Hedonik menggunakan kuesioner	1 = sangat tidak suka 2 = tidak suka 3 = suka 4 = sangat suka	Ordinal

F. Metode Penelitian

1. Penelitian Pendahuluan

Merancang formulasi bahan buah bit, lemon dan nanas yang sesuai untuk dijadikan minuman yang layak dikonsumsi, mempelajari cara pengolahan *infused water*, mencoba perlakuan yang telah ditentukan, dan menghitung kadar kalium dan vitamin C pada setiap perlakuan. *Infused water* menggunakan 350 ml air dengan 100% bahan yang digunakan menggunakan total berat dari buah bit.

2. Penelitian Utama

Sampel buah bit, lemon dan nanas yang sudah diformulasikan akan dibuat produk *infused water* lalu dianalisis aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

a) *Pengolahan infused water* buah bit, lemon dan nanas

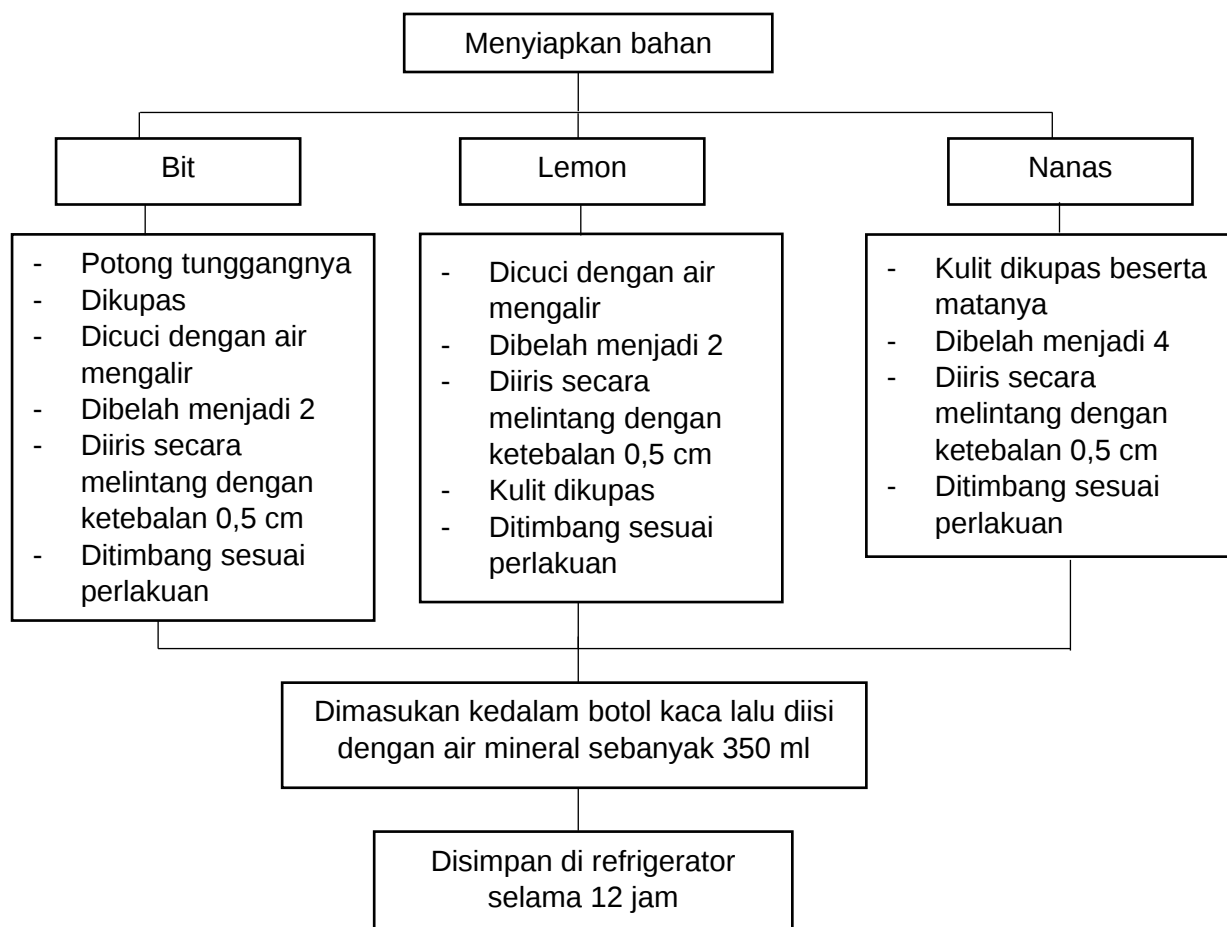
Buah bit yang telah dibeli di pasar dikupas dari kulitnya dan tunggangnya dipotong kemudian dicuci dengan air mengalir lalu ditimbang sesuai perlakuan setelah ditimbang, bit dipotong secara melintang menjadi 2 bagian dan diiris dengan ketebalan 0,5 cm. Pemotongan bahan akan mempengaruhi kecepatan proses difusi, dimana faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi adalah ketebalan membran. Semakin tipis atau kecil pemotongan mentimun

maka difusi dapat berjalan dengan cepat (Harrijanto, R.T., 2018) dan dimasukkan ke dalam botol kaca.

Selanjutnya buah lemon dicuci dengan air mengalir dan dipotong dengan secara melintang menjadi 2 bagian kemudian diiris dengan ketebalan 0,5 cm setelah itu ditimbang sesuai perlakuan lalu dimasukkan kedalam botol kaca.

Lalu nanas dikupas kulitnya beserta matanya setelah itu dipotong menjadi 4 bagian dan diiris secara melintang dengan ketebalan 0,5 cm setelah itu ditimbang sesuai perlakuan dan dimasukkan kedalam botol kaca.

Ketiga botol kaca yang sudah diisi dengan buah akan dituangkan air mineral sebanyak 350 ml dan dipindah ke dalam refrigerator dan didiamkan selama 12 jam. Berikut adalah diagram alir dengan modifikasi pada *infused water* buah bit, lemon dan nanas.



Gambar 5. Diagram Alir Pembuatan *Infused Water* Buah Bit an Buah Lemon dengan modifikasi Ismaningrum (2019)

G. Metode Analisis

1. Analisis Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Menyiapkan 12 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 setiap sampel. Selanjutnya masing-masing larutan sampel dipipet 5 ml kedalam tabung reaksi. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan dengan 5 ml DPPH 12 ppm. Kemudian homogenisasikan dan didiamkan selama 30 menit di ruangan yang gelap. Setelah itu Masukkan dalam kurvet dan ukur absorbansi pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer dan bandingkan dengan absorbansi blanko.

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

~~Sampel infused water di simpan pada botol kaca dan di lapisi dengan plastik hitam setelah itu disimpan dalam mini refrigerator dalam suhu dingin sebelum diberikan ke lab untuk dianalisis aktivitas antioksidan.~~

Keterangan:

Absorbansi blanko = absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan sampel

Absorbansi sampel = absorbansi DPPH setelah direaksikan dengan sampel.

2. Analisis Kandungan Kalium

Uji kandungan kalium dilakukan menggunakan metode AAS (Atomic Absorption Spectroscopy), sampel didestruksi menggunakan asam nitrat (HNO₃) kemudian dipanaskan pada suhu 550°C selama ± 8 jam hingga gas NO₂ menguap habis. Selanjutnya dilakukan uji analisis kualitatif dan kuantitatif dengan metode AAS. Pengukuran kadar kalium,

dilakukan dengan mengukur serapan panjang gelombang yaitu 766,5 nm.

3. Mutu Organoleptik

Hasil penelitian dilakukan dengan pengkajian fisik secara organoleptik dengan atribut warna, aroma, dan rasa. Uji organoleptik menggunakan metode Hedonic Scale Test. Tingkat kesukaan pada metode hedonik yang digunakan, yaitu:

1 = sangat tidak suka

2 = tidak suka

3 = suka

4 = sangat suka

Panelis yang dibutuhkan untuk uji organoleptik adalah panelis tidak terlatih yang berjumlah 20 orang dengan kriteria:

1. Bersedia menjadi panelis
2. Dalam keadaan sehat
3. Tidak mempunyai pantangan terhadap produk yang akan dinilai
4. Tidak dalam keadaan haus dan kenyang

Langkah-langkah yang dilakukan panelis untuk uji organoleptik infused water yaitu:

1. Panelis ditempatkan pada ruangan khusus (ruang penilaian mutu organoleptik)
2. Masing-masing produk diletakkan pada air mineral
3. Setiap menilai satu unit perlakuan, panelis disediakan air putih untuk diminum sebagai penetralisir rasa dari produk sebelumnya
4. Panelis diharapkan mengisi formulir 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 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

Tujuan pengolahan data aktivitas antioksidan adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh dari formulasi dari masing-masing perlakuan.

Pengolahan data hasil uji aktivitas antioksidan infused water digunakan analisis statistik *Kruskal-Wallis* pada tingkat kepercayaan 95%. Pengolahan data statistik ini diolah dengan menggunakan software SPSS.

Hipotesis Statistik:

H₀ : tidak ada pengaruh formulasi buah bit lemon dan nanas terhadap aktivitas antioksidan

H₁ : ada pengaruh formulasi buah bit lemon dan nanas terhadap aktivitas antioksidan

Penarikan Kesimpulan:

H₀ ditolak apabila $\text{sig} < 0,05$ berarti ada pengaruh formulasi buah bit lemon dan nanas terhadap aktivitas antioksidan

H₁ diterima apabila $\text{sig} > 0,05$ berarti tidak ada pengaruh formulasi buah bit lemon dan nanas terhadap aktivitas antioksidan.

Jika H₀ ditolak, maka dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk menentukan pasangan perlakuan mana yang berbeda signifikan

2. Kadar Kalium

Tujuan pengolahan data kalium adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh dari formulasi dari masing-masing perlakuan.

Pengolahan data hasil uji kadar kalium infused water digunakan analisis statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) pada tingkat kepercayaan

95%. Pengolahan data statistik ini diolah dengan menggunakan software SPSS

Hipotesis Statistik:

H₀ : tidak ada pengaruh formulasi buah bit lemon dan nanas terhadap kadar kalium.

H₁ : ada pengaruh formulasi buah bit lemon dan nanas terhadap kadar kalium.

Penarikan Kesimpulan:

H₀ ditolak apabila $\text{sig} < 0,05$ berarti ada pengaruh formulasi buah bit lemon dan nanas terhadap kadar kalium.

H₁ diterima apabila $\text{sig} > 0,05$ berarti tidak ada pengaruh formulasi buah bit lemon dan nanas terhadap kadar kalium.

Jika H₀ ditolak, maka dilanjutkan dengan uji *Least Significance Difference* (LSD) untuk menentukan pasangan perlakuan mana yang berbeda signifikan

3. Mutu Organoleptik

Pengolahan data uji organoleptik *infused water* bit bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh penambahan lemon dan nanas terhadap mutu aktivitas antioksidan *infused water*. Data masing - masing variabel diolah dengan software SPSS 20.0 Windows menggunakan analisis statistik *Kruskal Wallis* pada tingkat kepercayaan 95%.

Hipotesis statistik

H₀ Tidak ada pengaruh dari penambahan lemon dan nanas terhadap aktivitas antioksidan *infused water* bit

H₁ Ada pengaruh dari penambahan lemon dan nanas terhadap aktivitas antioksidan *infused water* bit

Penarikan Kesimpulan:

- a. **H₀** ditolak apabila $\text{sig} < 0,05$ berarti ada pengaruh penambahan lemon dan nanas terhadap aktivitas antioksidan *infused water*.

- b. H_0 diterima apabila $\text{sig} > 0,05$ berarti tidak ada pengaruh penambahan lemon dan nanas terhadap aktivitas antioksidan *infused water*.

Jika H_0 ditolak, maka dilanjutkan dengan uji Mann Whitney untuk menentukan pasangan perlakuan mana yang berbeda signifikan.

4. Taraf Perlakuan terbaik

Penentuan taraf perlakuan terbaik dilakukan dengan metode indeks efektivitas. Berikut langkah-langkah yang dilakukan, yaitu:

- 1) Hasil penelitian dari masing-masing panelis dilakukan tabulasi sehingga diperoleh jumlah nilai masing-masing variabel dan rata-rata.
- 2) Merangking variabel ditentukan berdasarkan nilai rata-rata setiap variabel dimana variabel yang memiliki rata-rata terbesar diberi ranking satu.
- 3) Bobot variabel ditentukan dengan membagi nilai rata-rata setiap 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

$$\text{Bobot variabel} = \frac{\text{rata} - \text{rata variabel}}{\text{rata} - \text{rata tertinggi}}$$

- 4) Bobot normal masing-masing variabel didapat dari variabel dibagi bobot total variabel

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

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

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

- 6) 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

$$N_h = \text{bobot normal} \times N_e$$

- 7) Taraf perlakuan terbaik adalah taraf perlakuan yang dimiliki nilai hasil tertinggi.

