BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Jenis penelitian

Jenis metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode penelitian eksperimen. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang bertujuan mendeskripsikan pengaruh suatu perlakuan atau treatment sebagai variable bebas terhadap hasil perlakuan sebagai variable terikat (Munte dkk., 2023). Penelitian ini meliputi perlakuan perendaman telur asin menggunakan serbuk simplisia daun pandan dengan variasi konsentrasi 0% sebagai kontrol negatif dan variasi konsentrasi 5%, 10%, dan 15%.

Tabel 3.1 Desain Rancangan Penelitian

Kontrol Negatif	Variasi Masa Serbuk		
0%	5%	10%	15%
P0	PM1	PM2	PM3

Keterangan:

P0: (kontrol) Perendaman telur asin tanpa penambahan serbuk pandan

PM1 : Perendaman telur asin dengan penambahan serbuk pandan 5%

PM2 : Perendaman telur asin dengan penambahan serbuk pandan 10%

PM3 : Perendaman telur asin dengan penambahan serbuk pandan 10%

3.2 Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Februari di Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Telenan, pisau, oven, grinder, ayakan, neraca analitik, kaca arloji, amplas, panci, hotplate, toples, Spektrofotometri uv-vis, kuvet, mikropipet, bluetip, sonikasi, mortar dan alu, gelas ukur 100 ml, labu ukur 10 ml, labu ukur 50 ml, pipet ukur 10 ml, bulb, pipet tetes, batang pengaduk, botol semprot, tabung reaksi, rak tabung.

3.3.2 Bahan

Telur itik, daun pandan, air, garam, ethanol 70%, DPPH, standar vitamin C, alumunium foil, tisu.

3.4 Variabel penelitian

Adapun variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.4.1 Variabel terikat (Dependent Variable)

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel lain yang sifatnya tidak dapat berdiri sendiri. Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu aktivitas antioksidan dan uji organoleptik dari serbuk daun pandan dalam telur asin.

3.4.2 Variabel bebas (Independent Variable)

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi variabel lain yang sifatnya berdiri sendiri. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu variasi masa serbuk daun pandan yang digunakan.

3.5 Definisi operasional

Tabel 3.2 Definisi operasional

No	Variabel penelitian	Definisi operasional	Cara pengukuran	Skala pengukuran
1	Organoleptik	Pengujian menggunakan indera manusia sebagai alat utama untuk menilai warna, rasa, aroma dan tekstur produk (telur asin) setelah perlakuan	Pengujian tingkat kesukaan terhadap produk (telur asin) setelah perlakuan dengan menggunakan skala penilaian 1-5 1= Sangat tidak suka 2= Tidak suka	Nominal

			3= Cukup suka 4= Suka 5= Sangat suka	
2	Aktivitas antioksidan	Kemampuan produk (telur asin) setelah perlakuan, untuk melawan radikal bebas	Uji kuantitatif menggunakan metode DPPH	Rasio
3	Variasi masa 5%, 10%, dan 15% serbuk daun pandan	Jumlah volume daun pandan dan air pada larutan pengasinan telur dengan variasi masa 5%, 10%, 15%	Dihitung berdasarkan rumus % = $\frac{1}{100}$	Rasio

3.6 Prosedur penelitian

3.6.1 Pembuatan larutan pengasinan telur

Pembuatan larutan pengasin telur dilakukan dengan beberapa tahapan, pada tahap pertama yaitu daun pandan dicuci bersih dan dipotong-potong lalu dikeringkan dengan cara di oven pada suhu 40ºC hingga kering (Purwanti dkk., 2018). Tahap kedua daun pandan yang sudah kering dihaluskan menggunakan penggilingan menghasilkan serbuk simplisia yang dapat di ayak. Tahap ketiga dilakukan pembuatan serbuk daun pandan dengan variasi masa yaitu 5%, 10%, dan 15%. Untuk membuat variasi masa serbuk daun pandan adalah dengan menimbang 5 gram, 10 gram, 15 gram, yang dilarutkan dalam 100 ml air (Triono, Y., Hidayah, N., & Septian, M. H. 2022). Tahap keempat dibuat larutan garam jenuh dengan menimbang 240 gram garam dalam 1L sebanyak 2 kali, 200 ml larutan garam jenuh/butir telur(A. R. Putri dkk., 2024). Setelah itu dilakukan perebusan serbuk daun pandan dan larutan garam jenuh sesuai perlakuan dengan suhu 60˚C selama

±10 menit setelah mendidih lalu didinginkan. Dilakukan replikasi sebanyak 2 kali. (Triono, Y., Hidayah, N., & Septian, M. H. 2022).

3.6.2 Proses pengasinan telur

Dibutuhkan telur itik sebanyak 8 butir dengan 2 butir yang tidak ditambahkan serbuk simplisia daun pandan sebagai kontrol negatif dan 6 butir telur ditambahkan serbuk simplisia daun pandan sesuai perlakuan. Dilakukan pemilihan telur itik yang memiliki mutu baik, yaitu yang tenggelam dalam dasar air atau tidak menggapung. Telur diambil dari peternak langsung maksimal berumur 2-5 hari dengan berat rata-rata 65-75gram berbentuk normal (oval). Telur dicuci bersih dan diamplas perlahan-lahan seluruh bagian cangkang telur agar pori-porinya terbuka, pengamplasan telur dihentikan ketika saat telur dibasahi permukaan cangkangnya dirasa telah halus merata. Kemudian telur dimasukkan kedalam larutan pengasin dan direndam selama 10 hari di dalam toples tertutup rapat, setelah proses perendaman telur dicuci bersih dan direbus selama 20 menit. (Prasetyo, L. 2023).

3.6.3 Uji organoleptik

Pengujian organoleptik didasarkan pada panca indra. Jenis uji organoleptik yang digunakan adalah uji kesukaan/hedonik menyatakan suka/tidaknya terhadap suatu produk. Uji hedonik adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui tingkat daya terima konsumen dengan mempergunakan skala hedonik. Penilaian menggunakan panca indera ini meliputi spesifikasi mutu kenampakan, bau, rasa dan konsistensi dari tekstur (Wardhana dkk., 2022). Dalam penyajian sampel dilakukan dengan mewakili keseluruhan dari suatu produk, dalam telur asin terdapat 2 bagian yang dapat dilakukan uji organoleptik yaitu bagian putih dan kuning telur, untuk panelis non standar berjumlah 30 orang. Pengolahan data penilaian dengan cara memberikan skala kesukaan mulai dari skor 1- 5 dengan kriteria terlihat pada tabel 3.3

3.7.4 Preparasi sampel uji aktivitas antioksidan

Dilakukan preparasi sampel terlebih dahulu sebelum pengujian antioksidan dengan cara telur dihaluskan, lalu ditimbang sebanyak 10 mg

dilarutkan dalam 100 ml ethanol 70% ditunggu 15-30 menit bila terbentuk endapan disonikasi 10-20 menit hingga homogen, kemudian disaring dan didapatkan larutan sampel 100 ppm (Andriyanto dkk., 2013).

3.6.5 Pembuatan larutan DPPH

Dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 2 mg dalam vial gelap lalu dilarutkan dengan ethanol 70% dalam labu ukur 50 ml dikocok hingga homogen didapatkan konsentrasi larutan 40 ppm. Labu ukur ditutup dengan alumunium foil agar terhindar dari cahaya (Hashary dkk., 2023).

3.6.6 Pembuatan larutan blanko

Diambil larutan ethanol 70% dan DPPH 1ml untuk dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah dilapisi oleh alumunium foil. (Hashary dkk., 2023).

3.6.7 Pembuatan larutan standar vitamin C

Pembuatan larutan induk dan larutan seri konsentrasi, dengan cara ditimbang vitamin C sejumlah 5 mg dilarutakan dengan ethanol 70% dalam labu ukur 50 ml, setelah itu dilakukan pengenceran (konsentrasi 10, 15, 20, 25, 30 ppm). Setiap konsentrasi sampel dipipet sebanyak 0,5 ml, 0,75 ml, 1 ml, 1,25 ml, dan 1,5 ml, masing-masing ditambahkan dengan ethanol 70% hingga 5 ml, lalu dicampur dengan 1 ml larutan DPPH. Dimasukkan dalam tabung reaksi yang telah dilapisi alumunium foil dan di inkubasi selama 30 menit (Hashary dkk., 2023).

3.6.8 Pembuatan seri konsentrasi larutan sampel

Pembuatan seri konsentrasi larutan sampel dengan cara dilakukan pengenceran dari larutan induk sampel yaitu konsentrasi 100 ppm diencerkan menjadi (konsentrasi 10, 15, 20, 25, 30 ppm). Setiap konsentrasi sampel dipipet sebanyak 0,5 ml, 0,75 ml, 1 ml, 1,25 ml, dan 1,5 ml, masing-masing ditambahkan dengan ethanol 70% hingga 5 ml, lalu dicampur dengan 1 ml larutan DPPH. Dimasukkan dalam tabung reaksi yang dilapisi dengan alumunium lalu diinkubasi selama 30 menit (Hashary dkk., 2023).

3.6.9 Pengukuran absorbansi

Dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan alat spektrofotometri uv-vis menggunakan panjang gelombang 517 nm (Sulistyani dkk., 2024).

3.7 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

Pengolahan data uji organoleptik didapatkan dari panelis yang telah mengisi kuesioner yang disajikan pada tabel sebagai berikut:

Tabel 3.3 Skala Penilaian

Parameter	Skor	Keterangan
Warna putih telur	1	Putih kehitaman
	2	Putih kecoklatan
	3	Putih kebiruan
	4	Putih putih
	5	Putih kekuningan
Warna kuning telur	1	Kuning kehitaman
	2	Kuning dominan
	3	Kuning cerah
	4	Orange
	5	Kuning orange
Aroma	1	Sangat amis
	2	Amis
	3	Cukup amis
	4	Kurang amis
	5	Pandan
Rasa	1	Sangat tidak asin
	2	Tidak asin
	3	Cukup asin
	4	Asin
	5	Sangat asin
Tekstur putih telur	1	Sangat tidak kenyal
	2	Tidak kenyal
	3	Cukup kenyal

	4	Kenyal
	5	Sangat kenyal
Tekstur kuning telur	1	Sangat tidak masir
	2	Tidak masir
	3	Cukup masir
	4	Masir
	5	Sangat masir
Kesukaan	1	Sangat tidak suka
	2	Tidak suka
	3	Cukup suka
	4	Suka
	5	Sangat suka

Sumber: (Ariawan & Hafid, 2021)

Setelah didapatkan hasil data kuesioner data dapat dianalisis menggunakan uji statistic jenis uji Duncan dikarenakan uji Duncan mampu membandingkan rata-rata antar perlakuan, kemudian hasil rata-rata setiap perlakuan dapat diketahui mana yang paling besar untuk dapat memilih mana perlakuan yang dapat menghasilkan formulasi terbaik yang paling banyak disukai panelis pada produk telur asin. Dengan cara kelompok perlakuan dimasukkan dalam nilai X dan hasil skala penilaian kesukaan dalam kuesioner dimasukkan dalam nilai Y.

Pengolahan uji aktivitas antioksidan didapatkan dari hasil perhitungan Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihitung dengan rumus:

$$Inhibisi\ (\%) = \frac{A\ blanko - A\ sampel}{A\ blanko} \times 100\%$$

Keterangan:

A Blanko = Absorbansi DPPH + pelarut

A Sampel = Absorbansi DPPH + sampel

Setelah didapatkan % aktivitas antioksidan, kemudian dicari nilai IC50 sampel dengan cara membuat grafik linear hubungan antara

konsentrasi sampel (x) dengan % aktivitas antioksidan sampel (y), sehingga didapatkan persamaan regresi linearnya (y=ax+b). Nilai IC50 didapatkan dengan mengganti nilai y dengan angka 50 (S dkk., 2023).

Dari data % inhibisi yang didapatkan dapat dianalisis menggunakan uji statistik jenis uji One Away Anova, dikarenakan uji One Away Anova ini mampu digunakan untuk menguji pengaruh perlakuan dari suatu percobaan yang menggunakan satu faktor, dimana satu faktor tersebut memiliki tiga atau lebih kelompok. Dilakukan beberapa tahapan dimulai dari uji normalitas jika nilai Sig > 0,05 semua maka data terdistribusi normal, selanjutnya uji homogenitas jika nilai sig > 0,05 maka data homogen/normal dapat lanjut uji one away anova nilai sig < 0,05 maka rata-rata berbeda, dapat dilihat deskripsi perbedaan yang signifikan menggunakan uji lanjutan pos hoc tukey hsd.