

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam jenis penelitian eksperimental dengan pendekatan kuantitatif deskriptif, dimana data diperoleh melalui analisis HPLC menggunakan desain *experimental descriptive*. Penelitian *experimental descriptive* dilakukan untuk mengukur dan mendeskripsikan kadar kuersetin pada masing-masing minuman seduhan berbahan dasar daun kelor (*Moringa oleifera*) dan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) berdasarkan variasi formulasi. *Variable Independen* yang diteliti adalah variasi formulasi dan *Variable Dependent* yang diteliti adalah kadar kuersetin serta organoleptik. Kedua variabel tersebut diamati pada waktu yang sama.

Tabel 3.1 Formulasi minuman seduhan

No	Formulasi dan Kode	Keterangan
1.)	Formulasi Kontrol	
a.	F163	100% daun kelor + 0% buah belimbing wuluh
b.	F927	0 % daun kelor + 100% buah belimbing wuluh
2.)	Formulasi Gabungan	
a.	F385	75% daun kelor + 25% buah belimbing wuluh
b.	F749	25% daun kelor + 75% buah belimbing wuluh
c.	F501	50% daun kelor + 50% buah belimbing wuluh

3.2 Waktu Kegiatan

Penelitian ini terlaksana pada bulan Agustus 2024 – Desember 2024.

3.3 Lokasi Kegiatan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Gizi Universitas Muhammadiyah Gresik dan di Laboratorium Kimia Universitas Brawijaya Malang.

3.4 Alat dan Bahan

a. Alat :

Food dehydrator (kitidea), timbangan analitik (ohaus), seperangkat alat HPLC (hitachi), kolom C18 (sunfire), sonikator (ultrasonic), kuvet (hellma), labu ukur (pyrex), membrane filter (milipore), mikropipet (dragon med), kain kasa steril

(nasaco), pipet volume (iwaki), dan thermometer skala (oem) adalah alat yang digunakan dalam penelitian ini.

b. Bahan :

Daun kelor (*Moringa oleifera*), buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*), baku pembanding kuersetin (pro analisis sigma), asam fosfat 85% (supelco), metanol pro HPLC (supelco), dan metanol pro analisis (supelco) adalah bahan yang digunakan dalam penelitian ini.

3.5 Tahapan Penelitian

Dalam tahap penelitian ini, proses analisis kadar kuersetin pada infusa gabungan daun kelor (*moringa oleifera*) dan buah belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi*) sebagai minuman seduhan berdasarkan variasi formulasi menggunakan metode kromatografi sensitif yaitu instrumen HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), yang meliputi :

1. Preparasi Sampel

Sampel daun kelor (*Moringa oleifera*) diambil dari daun muda, yaitu pada dua tangkai di bawah pucuk hingga tangkai ke-9 atau ke-10 (Indriastuti *et al.*, 2023), sedangkan pengambilan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) diambil saat sudah matang, dengan ciri-ciri berwarna kuning dan dalam kondisi tidak busuk (Anam, 2018). Semua sampel dikumpulkan dalam dua wadah berdasarkan jenisnya dan dicuci hingga bersih dan ditiriskan selama 5 menit. Setelah ditiriskan dilakukan pengecilan ukuran sampel, dimana pada daun kelor diambil daunnya saja dan pada buah belimbing wuluh di slice tipis-tipis dengan ketebalan 0,1 mm. Kemudian sampel dikeringkan menggunakan *food dehydrator* dengan suhu pengeringan 40°C pada daun kelor (Wahyudi *et al.*, 2019) dan 60°C pada buah belimbing wuluh (Sagala *et al.*, 2017) selama 2 jam (H. Wahyudi *et al.*, 2019). Sampel daun kelor (*Moringa oleifera*) dan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) yang telah kering kemudian diolah untuk menjadi ekstrak infusa (Azizah *et al.*, 2022) dan ekstrak etanol (Sukmawati *et al.*, 2019).

2. Pembuatan ekstrak Infusa

Dalam penelitian ini terdapat 5 formulasi gabungan daun kelor (*Moringa oleifera*) dan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*). Sampel yang sudah kering kemudian ditimbang dengan berat 2 gram berdasarkan variasi formulasi, lalu

dimasukkan kedalam kantong teh celup dan dilakukan proses infusa pada 80 ml air dengan waktu penyeduhan selama 5 menit (Rahim *et al.*, 2022) menggunakan suhu penyeduhan 90°C (Suriawati & Siti Rahayu Rachmawati, 2023) seperti pada tabel berikut :

Tabel 3. 2 Teknik Pembuatan Infusa

Formulasi (Kelor : Wuluh)	Berat Sampel	Volume Air	Lama Penyeduhan	Suhu Penyeduhan
100% : 0%	2 g daun kelor	80 ml	5 menit	90°C
0% : 100%	2 g belimbing wuluh	80 ml	5 menit	90°C
75% : 25%	1,5 g daun kelor + 0,5 g belimbing wuluh	80 ml	5 menit	90°C
25% : 75%	0,5 g daun kelor + 1,5 g belimbing wuluh	80 ml	5 menit	90°C
50% : 50%	1 g daun kelor + 1 g belimbing wuluh	80 ml	5 menit	90°C

3. Pembuatan Larutan Baku (Monica, 2019):

a. Pembuatan Larutan Baku Induk Kuersetin 1000 ppm

Sebanyak 25,0 mg standar kuersetin ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu volumetrik berkapasitas 25,0 mL. Selanjutnya, larutan dilarutkan dengan metanol hingga mencapai tanda batas untuk menghasilkan konsentrasi 1000 ppm.

b. Pembuatan Larutan Baku Intermediet 100 ppm

Sebanyak 5,0 mL larutan baku induk kuersetin dipipet, dimasukkan ke dalam labu ukur berkapasitas 50,0 mL, lalu ditambahkan metanol hingga mencapai tanda batas untuk mendapatkan konsentrasi 100 ppm.

4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Larutan baku intermediet 100 ppm dipipet masing-masing sebanyak 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1,0 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL. Selanjutnya, metanol ditambahkan hingga mencapai tanda batas, menghasilkan larutan dengan konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Absorbansi larutan tersebut diukur pada panjang gelombang maksimum (λ maksimal) 371 nm untuk membuat kurva yang menggambarkan hubungan antara panjang gelombang dan absorbansi (Monica, 2019).

5. Pembuatan Larutan Sampel Kerja

Sebanyak 5,0 mL larutan infusa kombinasi daun kelor (*Moringa oleifera*) dan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) dari setiap formulasi dipindahkan ke dalam labu ukur berkapasitas 10,0 mL, kemudian ditambahkan metanol hingga mencapai tanda batas (Monica, 2019).

6. Pengaturan Sistem HPLC

Analisis sampel dilakukan menggunakan sistem HPLC dengan metode fase terbalik, menggunakan kolom C18 (Oktadesilsilika) sebagai fase diam. Fase gerak yang digunakan terdiri dari campuran metanol dan larutan 0,1% asam ortofosfat dengan perbandingan 65:35, dialirkan pada laju 1 mL/menit. Detektor diatur pada panjang gelombang maksimum kuersetin, yaitu 371 nm, sesuai yang telah ditentukan sebelumnya. Sebelum analisis, larutan sampel kerja disaring dan disonikasi selama 10 menit untuk menghilangkan gelembung udara (Monica, 2019). Selanjutnya, sebanyak 60 µL larutan sampel kerja diinjeksi ke dalam sistem HPLC (Sukmawati *et al.*, 2019).

7. Uji Organoleptik

Dalam penelitian ini, uji organoleptik yang dilakukan adalah uji kesukaan (hedonik) yang mencakup penilaian terhadap warna, aroma, dan rasa dari produk untuk mengukur tingkat keberhasilan produk agar dapat melihat apakah konsumen menyukainya atau tidak. Uji organoleptik dalam penelitian ini diuji oleh 30 panelis, dengan memilih panelis tidak terlatih sebagai panel. Setiap panelis bertugas dalam memberikan penilaian berdasarkan tingkat kesukaan menggunakan skala hedonik dengan empat kriteria acuan diantaranya 4 (Sangat suka), 3 (Suka), 2 (Kurang suka), dan 1 (Tidak suka) (Sebayang *et al.*, 2018).

3.6 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

a. Variabel Penelitian

Jenis variabel dari penelitian ini adalah :

1. *Variabel independent* : variasi formulasi yang meliputi 100% daun kelor + 0% buah belimbing wuluh, 0% daun kelor + 100% buah belimbing wuluh, 75% daun

kelor + 25% buah belimbing wuluh, 25% daun kelor + 75% buah belimbing wuluh, 50% daun kelor + 50% buah belimbing wuluh.

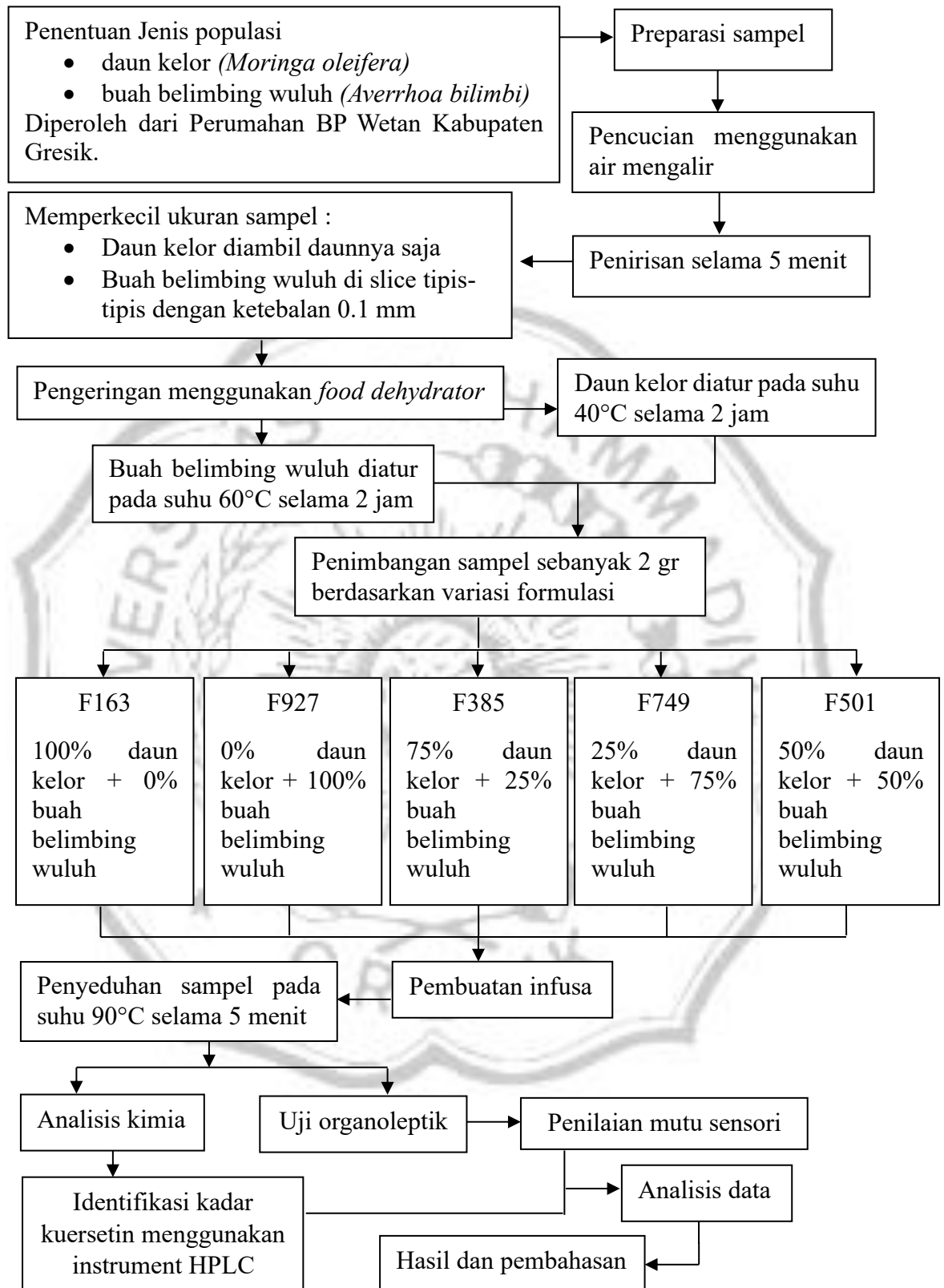
2. *Variabel dependent* : kadar kuersetin dan mutu sensori.

b. Definisi Operasional

Tabel 3. 3 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil	Skala
Variabel Independen				
Variasi formulasi	Proses penggabungan bahan untuk menemukan kombinasi terbaik supaya dapat menciptakan suatu produk yang memiliki karakteristik terhadap kadar kuersetin dan mutu sensori dalam masing-masing infusa (Sebayang <i>et al.</i> , 2018).	Timbangan analitik	2g daun kelor. 2g buah belimbing wuluh. 1,5 g daun kelor + 0,5 g buah belimbing wuluh. 0,5 g daun kelor + 1,5 g buah belimbing wuluh. 1 g daun kelor + 1 g buah belimbing wuluh	Nominal
Variabel Dependen				
Kadar kuersetin	Jumlah kuersetin yang terkandung dalam suatu sampel, biasanya diukur dalam satuan tertentu seperti miligram per liter (mg/L) atau miligram per gram (mg/g) (Yunita & Khodijah, 2020).	Menggunakan metode kromatografi sensitive dengan instrumen HPLC.	Dinyatakan dalam satuan mg/L	Rasio
Mutu sensori	Pengujian ini menggunakan indera manusia untuk menilai penerimaan produk berdasarkan kesukaan terhadap warna, aroma, tekstur, dan rasa (Nugraha <i>et al.</i> , 2020).	Form uji organoleptik	Sangat suka (4) Suka (3) Kurang suka (2) Tidak suka (1)	Ordinal

3.7 Kerangka Operasional



Gambar 3. 1 Kerangka Operasional

3.8 Analisis Data

3.8.1 Uji Kadar Kuersetin Menggunakan HPLC

Data yang diperoleh dari penelitian ini akan dianalisis menggunakan pendekatan kuantitatif deskriptif. Sehingga dalam penelitian ini yang dibaca ialah kadar kuersetin (ppm) dari analisis HPLC. Hasil akhirnya berupa data kuantitatif yang akan dijelaskan secara deskriptif.

3.8.2 Uji Organoleptik

Hasil analisis organoleptik dianalisa menggunakan analisis *Kruskal Wallis* yang digunakan untuk membandingkan dua kelompok atau lebih. Bila terdapat perbedaan maka dilanjut dengan uji *Mann Whitney* pada taraf signifikan 5% ($p \leq 0,05$).

