

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah permen jelly ekstrak buah kersen (*Muntingia calabura* L)

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sejumlah permen jelly ekstrak etanol buah kersen (*Muntingia calabura* L) dengan variasi konsentrasi kadar manitol-gelatin.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah permen jelly yang dibuat dengan bahan aktif ekstrak buah kersen (*Muntingia calabura* L) dengan kombinasi basis manitol dan gelatin.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama diklasifikasikan menjadi 3 bagian yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel kendali.

Variabel bebas adalah variasi yang sengaja dibuat untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbedaan konsentrasi manitol dan gelatin dalam sediaan permen jelly yang dibuat.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas permen jelly sari buah kersen sebagai antioksidan dan mutu fisik permen jelly.

Variabel terkendali adalah variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas, sehingga perlu ditentukan kualifikasinya agar dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah proses pembuatan permen jelly, komponen bahan permen jelly dan alat instrument yang digunakan.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama adalah sediaan permen jelly dari ekstrak buah kersen (*Muntingia calabura* L) dengan basis yang telah ditentukan. Kedua adalah konsentrasi basis manitol dan gelatin yang diberikan. Ketiga adalah pengujian pada ekstrak dengan uji penapisan kimia, pengujian mutu fisik ketiga formula sediaan yang dibuat dan uji aktivitas antioksidan ekstrak dan sediaan permen jelly yang dihasilkan.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol buah kersen, reagen fitokimia, manitol, gelatin, sirup jagung, gom arab, laktosa, sukrosa, pengaroma makanan, minyak jagung, natrium benzoat, asam sitrat, etanol 96%, dan DPPH, etanol *p.a.*

2. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah baskom, blender, baeker, penangas air, wadah pencetak, pengaduk, lemari pendingin, timbangan analitik, oven, eksikator, paper test *pH*, waterbath, spatula, spektrofotometri UV-VIS, kuvet.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman sebagai penelitian perlu dilakukan untuk memastikan bahwa tanaman yang diperiksa dalam penelitian ini sesuai dengan tanaman yang dimaksud sehingga menghindari kesalahan pemilihan bahan tanaman. Determinasi dilakukan juga untuk mengetahui jenis kedudukan tanaman tersebut dalam sistem klasifikasi tanaman.

2. Persiapan

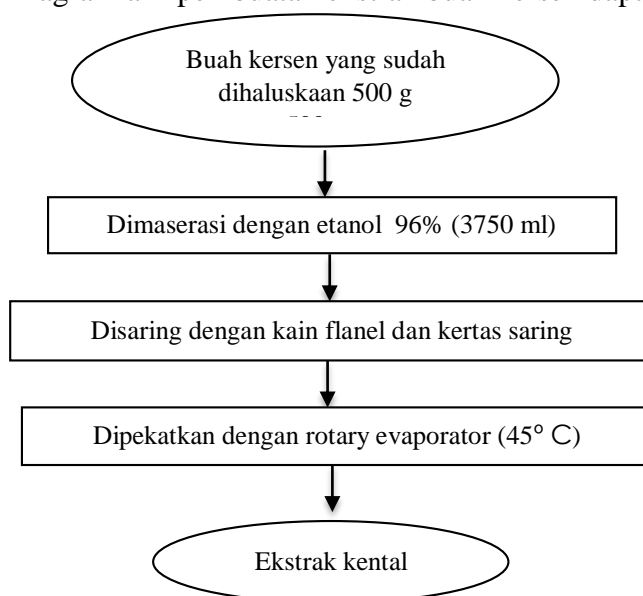
Buah kersen matang disortasi dan dicuci bersih menggunakan air untuk menghilangkan pengotor dan kontaminan. Buah kersen matang dihaluskan.

3. Pembuatan Ekstrak Buah Kersen

Pembuatan ekstrak etanol menggunakan metode maserasi dengan etanol 96%. Sebanyak 500 gram buah kersen yang telah dihaluskan direndam dengan 3750 ml etanol 96% (1:7,5) dalam wadah maserasi yang tertutup rapat dan terlindung

dari cahaya matahari, kemudian disimpan dalam suhu kamar. Wadah yang berisi rendaman buah kersen kemudian disimpan selama 5 hari dan sesering mungkin digojok sehingga pelarut dapat melarutkan zat aktif dengan optimal. Setelah 5 hari perendaman, ekstrak disaring dengan kain flanel dan kertas saring. Filtrat atau maserat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 45°C sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang untuk menghitung rendemen ekstrak.

Diagram alir pembuatan ekstrak buah kersen dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 1. Diagram alir pembuatan ekstrak buah kersen

4. Pemeriksaan sifat fisik ekstrak

Pemeriksaan fisik ekstrak meliputi pemeriksaan organoleptis ekstrak buah kersen dan pemeriksaan kadar lembab. Pemeriksaan fisik ekstrak meliputi bentuk, warna, bau dan rasa dari ekstrak.

Pemeriksaan kadar lembab ekstrak menggunakan alat *moisture balance*. Pemeriksaan dilakukan dengan menimbang 2 gram ekstrak buah kersen, kemudian dimasukkan kedalam alat moisture balance pada suhu 105°C di Laboratorium Teknologi Farmasi, Universitas Setia Budi. Nilai kadar lembab muncul dengan satuan persen.

5. Pengujian fitokimia

Ekstrak kental kemudian diidentifikasi fitokimia meliputi identifikasi tannin, alkaloid, triterpenoid, saponin, dan flavonoid. Beberapa uji sesuai jurnal Nair *et al* (2013) adalah seperti di bawah ini:

5.1. Tanin.

5.1.1. Uji Ferri Klorida. Ditambahkan beberapa tetes larutan FeCL, pada 2 ml larutan sampel. Larutan berwarna biru menunjukkan adanya tannin terhidrolisis (Nair *et al.*2013).

5.2. Alkaloid. Ditimbang 50 mg ekstrak dilarutkan dalam 5 ml akuadest. HCL 2 M ditambahkan sampai terjadi reaksi asam kemudian disaring. Hasil saringan (filtrat) kemudian diujikan (Nair *et al.* 2013).

5.2.1. Uji Dragendrof. Diambil 2 ml filtrat ditambahkan 1 ml pereaksi dragendrof melewati dinding tabung. Hasil positif apabila berwarna jingga atau adanya endapan jingga kemerahan (Nair *et al.* 2013).

5.2.2. Uji Mayer. Diambil 1 ml filtrat ditambahkan 1-2 tetes pereaksi mayer melewati dinding tabung. Hasil positif apabila terbentuk endapan putih (Nair *et al.* 2013).

5.3. Triterpenoid.

5.3.1. Uji Salkowski. Diambil 2 mg ekstrak dikocok dengan 1 ml kloroform dan beberapa tetes asam sulfat pekat yang ditambahkan lewat dinding tabung. Hasil positif apabila terjadi lapisan warna merah coklat pada permukaan larutan (Nair *et al.* 2013).

5.4. Flavonoid.

5.4.1. Uji pereaksi alkalin. Ditambahkan 5 tetes larutan 5% pada 1 ml larutan sampel. Hasil positif apabila terdaapat peningkatan intensitas warna kuning yang kemudian menghilang dengan penambahan beberapa tetes HCL 2 M (Nair *et al.* 2013).

5.4.2. Uji asetat. Diambil Beberapa tetes asetat 10% ditambahkan pada 1 ml larutan sampel. Hasil positif apabila terbentuk endapan kuning (Nair *et al.* 2013).

5.5. Saponin.

5.5.1. Uji penyabunan. Diambil 5 ml larutan sampel dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian digojok selama 5 menit. Hasil positif apabila terbentuk busa yang stabil (Nair *et al.* 2013).

6. Rancangan formula permen jelly sari ekstrak buah kersen (*Muntingia calabura* L)

Dosis yang digunakan pada formula sediaan permen jelly adalah sebesar 130 mg. Variasi basis manitol dan gelatin dibuat berdasarkan 3 formula:

Rancangan formula dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Rancangan formula permen jelly ekstrak buah kersen Jumlah bahan (mg) dalam bobot 2700 mg/buah

Bahan	Satuan	F1	F2	F3
Ekstrak buah kersen	Mg	130	130	130
Manitol	Mg	469	375	234
Gelatin	Mg	469	563	704
Corn syrup	Mg	575	575	575
Aquadest	Mg	225	225	225
Gom arab	Mg	30	30	30
Laktosa	Mg	218	218	218
Essens	Mg	40	40	40
Minyak jagung	Mg	100	100	100
Sukrosa	Mg	350	350	350
Asam sitrat	Mg	30	30	30
Aspartame	Mg	40	40	40
Natrium benzoat	%	0,1	0,1	0,1

Keterangan:

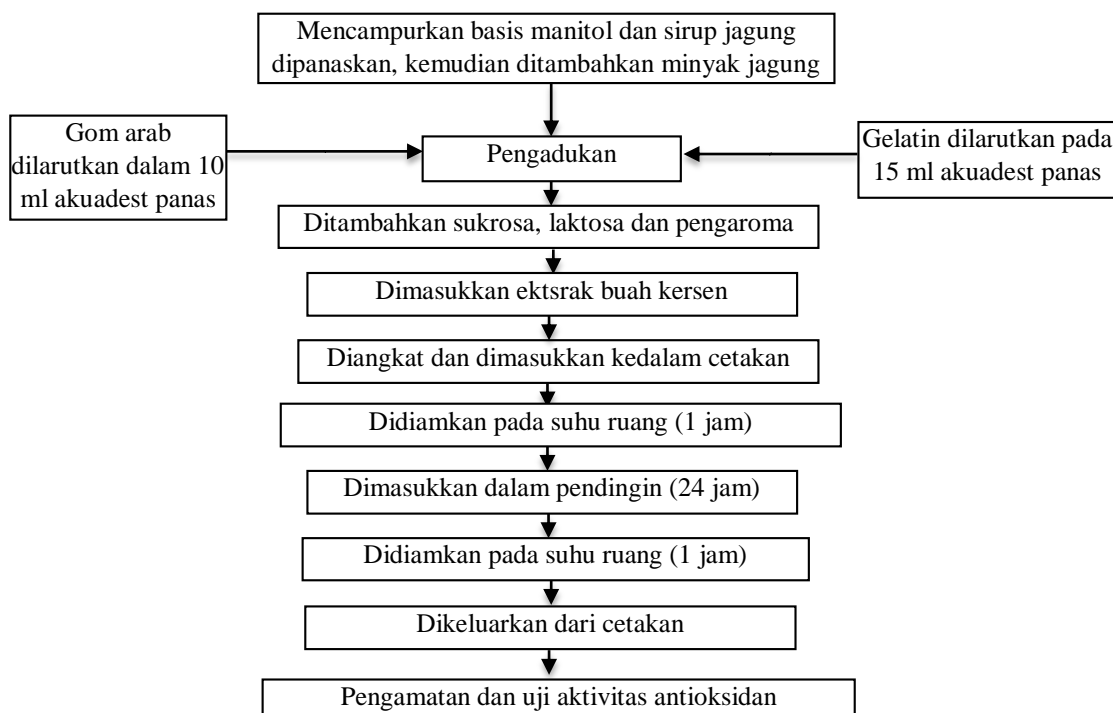
Formula 1 : perbandingan manitol : gelatin (50 : 50 %)
 Formula 2 : perbandingan manitol : gelatin (40 : 60 %)
 Formula 3 : perbandingan manitol : gelatin (25 : 75 %)

7. Proses pembuatan permen jelly

Proses pembuatan permen jelly diawali dengan mencampurkan basis sediaan yaitu manitol dan sirup jagung, kemudian dipanaskan dalam penangas air yang bersuhu 80° C. Ditambahkan minyak jagung dalam keadaan panas. Gom arab kemudian dilarutkan di dalam 10 ml akuades panas (50-60° C) pada gelas beaker yang terpisah dan melarutkan gelatin pada 15 ml akuades panas (50-60° C). gelatin yang sudah larut kemudian dimasukkan ke dalam larutan gom arab dan diaduk hingga homogen. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam basis permen dengan suhu yang dikendalikan sebesar 70° C. Campuran tersebut kemudian ditambahkan

sukrosa, laktosa, pengaroma sambil terus diaduk hingga homogen. Ekstrak buah kersen kemudian dimasukkan dan diaduk hingga larut dan homogen. Campuran kemudian segera diangkat dan dimasukkan kedalam cetakan permen, ditutup dengan *aluminium foil* dan dibiarkan selama 1 jam dalam suhu ruang. cetakan yang berisi campuran dilihat suhunya kemudian ketika cukup dingin dimasukkan dalam ruang pendingin selama 24 jam dan setelahnya dikeluarkan dari cetakan untuk kemudian ditaburi tepung sukrosa atau tepung tapioca dan dikemas dalam wadah yang rapat.

Prosedur pembuatan permen jelly ekstrak buah kersen tersebut dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 2. Diagram pembuatan permen jelly ekstrak buah kersen

8. Pengamatan

8.1 Uji organoleptis. Uji organoleptis yang dilakukan terhadap permen jelly meliputi bentuk, warna, bau, rada dan tekstur. Uji ini penting untuk mendukung penerimaan konsumen terhadap sediaan permen jelly ekstrak buah kersen. Hasil yang baik ditunjukkan dengan dihasilkan sediaan yang berwarna

menarik, bau yang khas, rasa yang manis atau sedikit asam, serta tekstur yang kenyal namun tidak keras.

8.2 Uji *pH*. Dimbil permen jelly ekstrak buah kersen secara acak, dimasukkan dalam cawan dan dilelehkan. Permen jelly dapat diketahui *pH*-nya dengan mengamati perubahan warna pada kertas *pH* yang dicelupkan di massa cair sediaan, *pH* yang baik untuk sediaan permen jelly adalah pada range 5-7 (Chabib *et al* 2014).

8.3 Uji hedonik (tingkat kesukaan). Uji hedonik melibatkan beberapa responden yang masing-masing formula permen jelly ekstrak buah kersen yang telah dibuat diujikan pada setiap responden. Parameter yang diuji meliputi bentuk, warna, bau, rasa dan tekstur sediaan permen jelly serta tingkat kesukaan responden terhadap masing-masing formula yang dihasilkan. Skala yang digunakan adalah skala numerik antara 1-3 yang menyatakan nilai 1 = tidak suka, nilai 2 = menyatakan suka, dan nilai 3 = menyatakan sangat suka.

8.4 Uji Aktivitas Antioksidan.

8.7.1 Pembuatan Larutan Stok DPPH. Ditimbang dengan seksama serbuk DPPH 15,8 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol *p.a* sampai tanda batas labu takar 100 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 0,4 mM. labu takar ditutup *aluminium foil*.

8.7.2 Pembuatan larutan stok ekstrak buah kersen. Ditimbang 20 mg ekstrak buah kersen, kemudian dilarutkan dengan etanol *p.a* sampai tanda batas labu takar 100 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 200 ppm. Larutan stok ekstrak buah kersen dibuat beberapa seri konsentrasi yaitu 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm dan 50 ppm.

8.7.3 pembuatan larutan stok permen jelly ekstrak buah kersen. disiapkannya 1 buah permen sampel yang dimasukan ke dalam tabung sentrifus dan etanol *p.a*, kemudian divorteks selama 60 detik. Sampel disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit. Larutan hasil ekstraksi sampel dimasukan ke dalam tabung reaksi yang telah ditutup dengan *aluminium foil* sebanyak 10 mL kemudian ditambahkan larutan etanol sampai tanda batas 25 ml. sehingga diperoleh

konsentrasi 400 ppm, dibuat seri konsentrasi yaitu 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm, 160 ppm, 180 ppm.

8.7.4 Pembuatan larutan stok kontrol positif. Ditimbang serbuk vitamin E sebanyak 10 mg dilarutkan dengan etanol *p.a* sampai tanda batas labu takar 100 ml sehingga konsentrasinya sebesar ppm. Larutan vitamin E konsentrasi 100 ppm dibuat beberapa seri pengenceran yaitu 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm dan 4 ppm, 5 ppm.

8.7.5 penentuan panjang gelombang maksimum. Dipipet larutan stok DPPH 0,4 mM diambil sebanyak 1 mL, dan dimasukkan dalam vial 5 mL, kemudian ditambahkan 4,0 mL etanol dan dikocok hingga homogen. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450-550 nm.

8.7.6 penentuan *operating time* (OT). Dipipet larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1,0 mL, dimasukkan dalam vial 5,0 mL, kemudian ditambah etanol *p.a* sebanyak 4,0 mL, kemudian divorteks selama 30 detik. Penentuan *operating time* dilakukan pada panjang gelombang maksimum dan absorbansi dibaca mulai dari menit 0 sampai menit didapatkan nilai absorbansi yang stabil pada menit tertentu. *Operating time* ditentukan dari grafik antara waktu pembacaan dan absorbansi sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

8.7.7 uji aktivitas antioksidan. Vitamin E, ekstrak kental buah kersen dan pemin jelly ekstrak buah kersen diuji aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum setelah waktu yang didapatkan dari *operating time*.

E. Analisis Hasil

Formula permen Jelly di uji mutu fisiknya, meliputi organoleptis, susut pengeringan, kemudian dilakukan uji statistik menggunakan metode ANOVA satu arah dengan taraf kepercayaan 95%. Penentuan aktivitas penangkap radikal dilakukan dengan menghitung IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} dapat dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{Presentase peredaman} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs.Sampel}} \times 100\%$$