

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian pembuatan seduhan cascara arabika terfortifikasi tanaman obat sebagai minuman fungsional dilakukan di Laboratorium Riset Kimia Makanan Jurusan Kimia, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia selama kurang lebih 3 bulan, pada bulan Maret 2024 sampai dengan Mei 2024.

3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan dan pengujian produk seduhan cascara terfortifikasi batang serai dan kulit jeruk purut diantaranya ialah neraca analitik merk Mettler Toledo; oven B-One OV-45; *blender* merk Vienta; cawan porselen; desikator; pH meter merk Mettler Toledo; alat gelas dengan standar laboratorium (tabung reaksi; pipet ukur 1 mL, 5 mL, dan 10 mL; labu ukur 10 mL, 25 mL, 50 mL, 100 mL, dan 500 mL; gelas kimia 100 mL, 250 mL, dan 500 mL); alat sentrifugasi merk Kokusan H-103N; *waterbath*; *hotplate* merk Scilogex MS7; termometer 100 °C; *vortex* merk Scilogex MX-S; inkubator merk B-One Cin-70; corong pisah 100 mL; dan instrumen Spektrofotometer UV-Vis merk Shimadzu UVmini-1240.

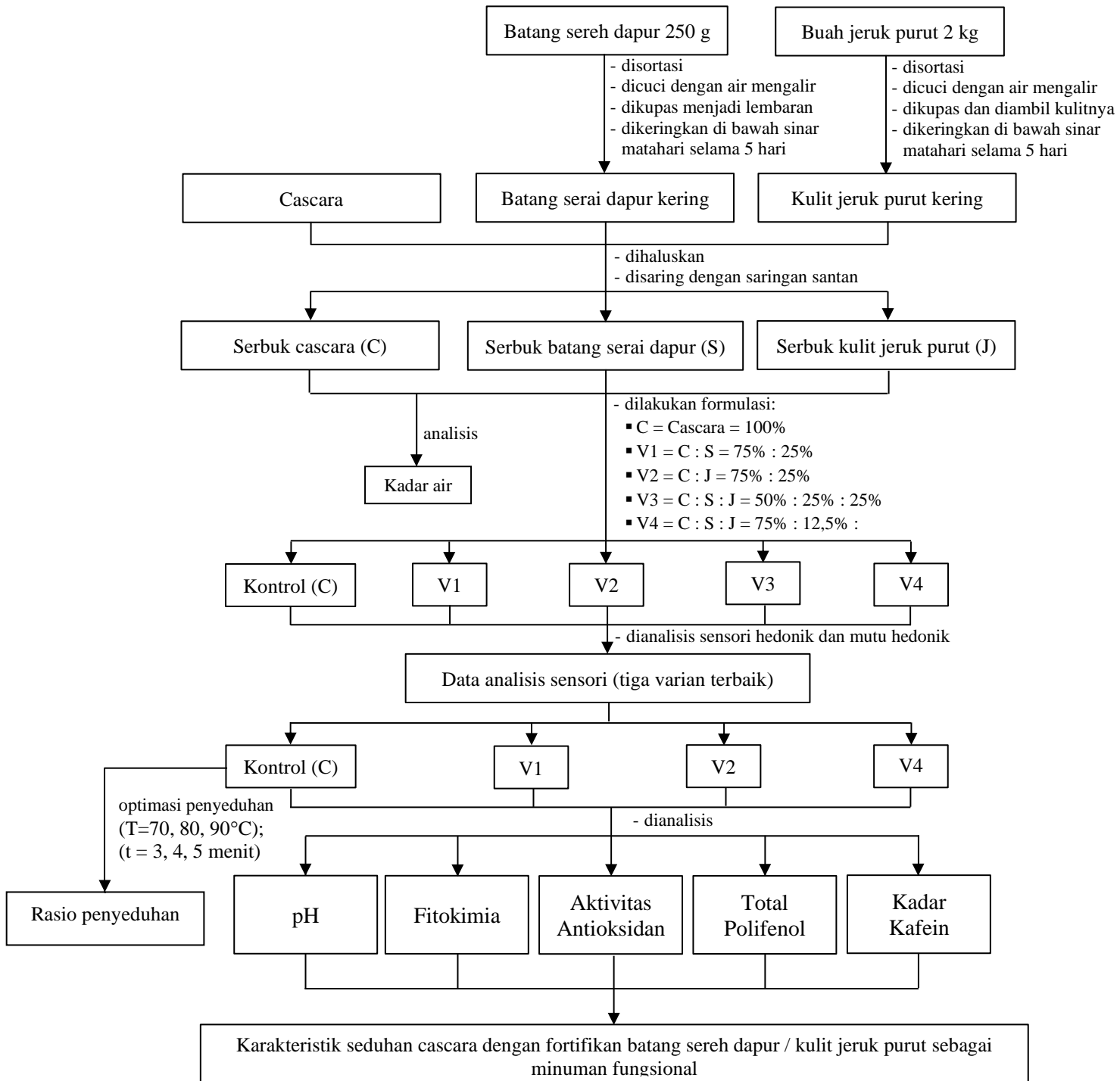
3.3 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam pembuatan seduhan cascara diantaranya adalah kulit kopi arabika (*Coffea arabica L.*) yang diperoleh dari Perkebunan Kopi Gunung Puntang, Desa Campaka Mulya, Kecamatan Cimaung, Kabupaten Bandung, Jawa Barat; batang serai dapur; kulit jeruk purut; dan aquades dengan pH 7 sebagai penyeduh cascara.

Bahan yang dibutuhkan untuk analisa kimia yaitu padatan magnesium; larutan asam klorida 37%; kloroform; pereaksi mayer; asam asetat glasial 100%; asam sulfat 98%; larutan besi(III) klorida 1% dan 5%; larutan asam klorida 2N; pereaksi *2,2-dihenyl-1-picrylhyrazil* (DPPH); larutan etanol 80%; larutan metanol 70%; pereaksi Folin-Ciocalteu 10%; larutan natrium karbonat 7,5%; padatan asam

galat; padatan natrium karbonat; dan padatan kafein. Bahan lainnya yang dibutuhkan adalah aluminium foil, kertas saring, dan kemasan kantong teh celup.

3.4 Bagan Alir Penelitian



Gambar 3.1. Diagram alir pembuatan produk seduhan cascara

3.5 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan ialah diantaranya persiapan bahan, pengeringan bahan fortifikan dan pengecilan ukuran, formulasi cascara dengan bahan fortifikan, optimasi suhu dan waktu penyeduhan, serta uji organoleptik.

3.5.1 Persiapan bahan

Bahan pertama yang disiapkan adalah cascara arabika dari perkebunan kopi Gunung Puntang, Jawa Barat. Cascara yang digunakan ialah cascara dengan proses pengolahan secara *honey* dan sudah dikeringkan dengan metode *slow drying* dengan matahari di dalam *green house* tertutup selama 3 hari. Selanjutnya dilakukan penyortiran, dipisahkan bagian kulit kopi yang masih mengandung biji dan kulit dengan kualitas yang rendah. Serai dapur dipilih seragam berdasarkan kesegaran, ukuran, dan sumber yang sama. Serai dapur dicuci lalu dikelupas kulitnya kemudian dipotong dengan ukuran $\pm 2 \times 4$ cm. Kulit jeruk purut yang digunakan adalah kulit jeruk yang matang. Sampel jeruk purut dipilih seragam berdasarkan tekstur kulit tebal dan bergelombang, warna hijau tegas, ukuran buah dan kesegaran yang sama. Buah jeruk purut dicuci, dikupas, dan dipotong kulitnya sekitar 1-2 cm.

3.5.2 Pengeringan bahan fortifikan dan pengecilan ukuran

Batang serai dapur dan kulit jeruk purut dikeringkan dibawah matahari secara langsung selama 5 hari (Anindita *et al.*, 2023). Kulit kopi, batang serai dapur, dan kulit jeruk purut yang sudah kering dihaluskan dan disaring dengan saringan santan.

3.5.3 Formulasi cascara dengan bahan fortifikan

Cascara dicampurkan dengan bahan fortifikan (batang serai dapur (S) dan kulit jeruk purut (J)) berdasarkan rasio:

Tabel 3.1. Formulasi komposisi cascara dengan penambahan fortifikan untuk uji pendahuluan

Cascara (C)	V1	V2	V3	V4
100%	C : S 75% : 25%	C : J 75% : 25%	C : S : J 50% : 25% : 25%	C : S : J 75% : 12,5% : 12,5 %

3.5.4 Optimasi Suhu dan Waktu Penyeduhan

Optimasi suhu pada penyeduhan cascara ditentukan dengan uji hedonik menggunakan 20 orang panelis tidak terlatih dengan rentang usia 21 – 23 tahun dengan menyeduh 1 gram cascara dengan 100 mL air (Indrayani *et al.*, 2022). Aspek yang diuji dalam optimasi seduhan cascara ini ialah suhu penyeduhan (70 °C (Abduh *et al.*, 2023); 80 °C (Apriani, 2019); dan 90 °C (Husna *et al.*, 2023)) dan waktu penyeduhan (3 menit; 4 menit (Abduh *et al.*, 2023); dan 5 menit (Prihantoro *et al.*, 2022)).

3.5.5 Uji organoleptik (uji hedonik dan mutu hedonik)

Pengujian organoleptik dilakukan dengan dua jenis pengujian yaitu uji hedonik dan uji mutu hedonik. Pengujian organoleptik dilakukan dengan 20 orang panelis tidak terlatih. Seduhan cascara terfortifikasi batang serai dapur dan kulit jeruk purut masing-masing disiapkan dengan penambahan berdasarkan formulasi dengan kontrol merupakan seduhan cascara 100% disajikan dalam kemasan berlabel. Pada uji hedonik, panelis menilai dengan memberikan skor pada skala 1-5 terhadap aroma, warna, rasa, dan kesan keseluruhan (Lubis, 2024) dari seduhan, dengan kriteria 1 = sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = netral, 4 = suka, dan 5 = sangat suka. Sedangkan pada uji mutu hedonik, panelis menilai dari atribut yang diuji antara lain warna coklat, kekeruhan, aroma fruity, rasa asam, rasa pahit, dan kekesatan. (Lubis, 2024). Data hasil analisis sensori selanjutnya diuji statistik dengan *Microsoft Office Excel*.

3.6 Prosedur Analisa

Prosedur analisa yang dilakukan ialah diantaranya pengujian kadar air, pH, kandungan fitokimia, aktivitas antioksidan metode DPPH, total polifenol, dan kadar kafein

3.6.1 Analisis Kadar Air (SNI 3836-2013)

Analisis kadar air metode gravimetri dilakukan dengan prinsip menguapkan molekul air (H₂O) bebas dalam sampel. Pengujian ini dilakukan dengan cara berawal dari cawan porselen yang dikeringkan dalam oven dengan suhu 105 °C selama 15 menit. Kemudian cawan yang sudah kering dimasukkan ke dalam desikator selama 10 menit hingga dingin. Setelah dingin, cawan porselen ditimbang

hingga beratnya konstan menggunakan neraca analitik. Sampel cascara dan fortifikan ditimbang sebanyak 3 gram kemudian dimasukkan ke dalam cawan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 105 °C selama 3 jam. Cawan beserta sampel didinginkan ke dalam desikator dan ditimbang beratnya. Dilakukan pengulangan hingga mencapai berat konstan, kadar air ditentukan dengan persamaan:

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{a - b}{a - c} \times 100\%$$

Keterangan:

a = (massa cawan + sampel) sebelum dipanaskan (gram)

b = (massa cawan + sampel) setelah dipanaskan (gram)

c = massa cawan kosong sebelum dipanaskan (gram)

3.6.2 Analisis pH (AOAC, 1995)

Pengukuran pH (derajat keasaman) dengan pH meter yang dikalibrasi dengan larutan buffer pH 4,00; pH 7,00; dan pH 9,00 sebelum digunakan. Sampel seduhan cascara sebanyak 100 mL dalam beaker glass 250 mL diukur derajat keasamannya dengan mencelupkan elektroda pada sampel dalam beberapa saat. Nilai pH yang dicatat adalah nilai pH yang telah stabil.

3.6.3 Analisis kandungan golongan metabolit sekunder (Ikalinus *et al.*, 2015)

Analisis kandungan golongan metabolit sekunder merupakan pengujian yang dilakukan secara kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari suatu sampel. Ekstraksi cascara dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 5 gram sampel yang telah dihaluskan diekstraksi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 50 mL dengan perbandingan 1 : 10 (simplisia : pelarut) kemudian disimpan pada suhu kamar selama 24 jam. (Rahmawati *et al.*, 2022)

a. Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak sampel ditambahkan 0,1 mg padatan magnesium dengan 2 tetes larutan asam klorida 37 %. Hasil positif pada pengujian flavonoid ditandai dengan perubahan warna menjadi warna merah atau ungu.

b. Alkaloid

Sebanyak 1 mL ekstrak sampel ditambahkan 5 tetes kloroform dan 2 tetes larutan pereaksi mayer. Hasil positif pada pengujian alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih atau kuning.

c. Terpenoid dan steroid

Sebanyak 1 mL ekstrak sampel ditambahkan 10 tetes CH_3COOH glasial dan 2 tetes H_2SO_4 . Setelah mengocok larutan dengan perlahan, biarkan selama beberapa menit. Hasil positif pada pengujian terpenoid ialah perubahan warna menjadi biru atau hijau sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu.

d. Fenolik

Sebanyak 1 mL ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 5%. Hasil positif pada pengujian fenolik ditandai dengan terbentuknya warna hijau atau biru yang kuat.

e. Tanin

Diambil 1 mL ekstrak sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes FeCl_3 1%. Hasil positif pada pengujian tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau.

f. Saponin

Sebanyak 1 mL ekstrak sampel ditambahkan 10 mL air yang telah dipanaskan. Kemudian dikocok selama 1 menit dan ditambahkan 2 tetes HCl 2N. Hasil positif pada pengujian saponin ditandai dengan terbentuknya busa stabil.

3.6.4 Analisis Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Abduh *et al.*, 2023)

Pengujian aktivitas antioksidan metode *2,2-dihenyl-1-picrylhyrazil* (DPPH) dilakukan berdasarkan penelitian (Abduh, *et al.*, 2023) dengan sedikit modifikasi. Analisis ini diamati dengan terjadinya perubahan warna pada sampel setelah inkubasi dengan DPPH. Apabila seluruh elektron pada DPPH berpasangan dengan elektron dalam sampel ekstrak, warna sampel akan berubah, mulai dari ungu tua hingga kuning cerah.

Sebanyak 3 mL sampel seduhan cascara ditambahkan 2 mL reagen DPPH 0,1mM dengan pelarut etanol 80% pada botol vial gelap. Larutan di homogenisasi

dan di inkubasi pada suhu 27°C pada keadaan gelap selama 30 menit. Sampel diukur nilai absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm dengan larutan blanko yaitu etanol 80%. Aktivitas antioksidan yang diuji dengan reagen DPPH dapat dihitung dengan persamaan:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100\%$$

Keterangan:

A_c = absorbansi pada larutan kontrol

A_s = absorbansi pada larutan sampel

3.6.5 Analisis Total Polifenol (SNI 3836:2013)

Analisis total polifenol dilakukan dengan metode SNI 3836:2013 menggunakan pereaksi Fenol Folin-Ciocalteu secara colorimetric. Di dalam reagen ini terdapat senyawa asam fosfo-tungstat sebagai oksidan, dimana dalam reaksi reduksi gugus hidroksi fenolik dioksidasi untuk menghasilkan senyawa kompleks biru molibdenum-tungsten yang terukur pada panjang gelombang 765 nm. Larutan kalibrasi standar yang digunakan adalah deret asam galat.

Pengujian uji total polifenol dilakukan dengan cara menghaluskan sampel dan ditimbang sebanyak 0,2 gram. Sebanyak 10 mL metanol 70% dan tabung berisi sampel dipanaskan pada suhu 70 °C pada penangas air selama 30 menit. Tuangkan metanol 70% ke dalam tabung reaksi dan diaduk dalam vortex. Panaskan campuran metanol 70% dengan sampel dalam penangas air dan biarkan ekstraksi selama 10 menit dan kocok menggunakan vortex mixer pada menit ke-5 dan ke-10. Campuran ekstrak didinginkan hingga 25°C dan di sentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit.

Sebanyak 1,0 mL ekstrak sampel (supernatan) dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian diencerkan dengan aquades hingga tanda batas. Diambil 1,0 mL ekstrak sampel yang sudah diencerkan ke dalam botol kaca vial gelap. Ditambahkan 5,0 mL reagen Fenol *Folin Ciocalteu* 10%, setelah 3-8 menit dimasukkan 4,0 mL larutan Na_2CO_3 7,5% ke dalam seluruh tabung, tutup, dan kocok. Dibiarkan pada suhu ruang selama 50 menit dan diukur absorbansinya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm.

Total polifenol dapat ditentukan berdasarkan kurva standar asam galat. Konsentrasi larutan deret asam galat yang digunakan yaitu 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Kadar polifenol ditentukan berdasarkan kurva kalibrasi deret standar asam galat dengan tambahan larutan Folin-Ciocalteu 10% dan larutan Na₂CO₃ 7,5%. Kadar polifenol dapat ditentukan dengan persamaan:

$$\text{Kadar polifenol (mg GAE/g)} = \frac{[\text{Absorban} - a]}{b} \times V \times fp$$

Keterangan :

a = intersep linearitas standar

b = kemiringan linearitas standar

V = volume pelarutan sampel dengan pelarut (L)

fp = faktor pengenceran

W = massa sampel (gram)

3.6.6 Analisis Kadar Kafein (Vuletić *et al.*, 2021)

Analisis kadar kafein pada kulit kopi dilakukan dengan metode ekstraksi yang dilanjutkan dengan pengujian menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dimulai dengan ekstraksi kafein menggunakan natrium karbonat dan kloroform. Sebanyak 2 gram sampel diekstrak dengan 20 mL aquades panas dan dipanaskan selama 10 menit pada suhu *hotplate* 160°C sambil diaduk kemudian didinginkan hingga suhu ruang. Setelah dingin, ditambahkan 2 gram natrium karbonat (Na₂CO₃) dan di sentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Diambil 5 mL ekstrak cascara dan dipindahkan ke dalam corong pisah, kemudian tambahkan 5 mL kloroform dan di ekstraksi sebanyak 5 kali. Lapisan bawahnya dipisahkan dan sebanyak 0,5 mL ekstrak kafein diencerkan pada labu ukur 10 mL dengan pelarut kloroform. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 272,5 nm. Kadar kafein ditentukan berdasarkan kurva standar kafein.

Kafein dengan konsentrasi 200 ppm masing-masing dipipet sebanyak 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, dan 25 mL. Lalu dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL diencerkan hingga tanda batas sehingga menghasilkan larutan kafein 10, 20, 30, 40,

dan 50 ppm. Hasil dari pengukuran dengan alat spektrofotometer UV-Vis, kadar kafein dapat ditentukan dengan persamaan :

$$\text{Kadar kafein (mg/g)} = \frac{\frac{[\text{Absorban} - a]}{b} \times V \times fp}{W}$$

Keterangan :

a = intersep linearitas standar

b = kemiringan linearitas standar

V = volume pelarutan sampel dengan pelarut (L)

fp = faktor pengenceran

W = massa sampel (gram)