

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan maret hingga mei di laboratorium kimia farmasi dan laboratorium bahan alam Program Studi Farmasi S-1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada.

3.2 Alat Dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu Spektrofotometer Uv-Vis, vortex, termometer digital, waterbath. panci stainless steel, corong, centong, saringan, toples kaca volume 1 liter, botol kaca volume 1 liter, kain serbet, tali goni, pH meter, Pipet tetes, Pipet volume, Gelas ukur, Neraca analitik, Batang pengaduk, Botol vial, Cawan porselin, Corong pisah, Tabung reaksi.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan adalah teh hitam (sosro), gula pasir (gulaku), air mineral, sari salak, dan kultur kombucha, starter kombucha. DPPH (1,1-*difenil-2-pikrilhidrazil*), kuersetin, etanol, metanol.

3.2.3 Perancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk kedalam jenis penelitian eksperimental berikut adalah populasi sampel dan variabel yang digunakan dalam penelitian ini:

a. Populasi Penelitian

Dalam penelitian ini yang menjadi populasi merupakan seluruh teh kombucha dari setiap penambahan konsentrasi sari buah salak pondoh dengan volume setiap toples 1 L.

b. Sampel penelitian

penambahan konsentrasi (5, 10 dan 15%) sari buah salak pondoh dalam teh kombucha yang di hasilkan

c. Variabel penelitian

Terdapat tiga variabel dalam penelitian ini, yaitu:

- 1) Variabel bebas : penambahan sari salak pondoh (5%, 10% dan 15%),
- 2) Variabel terikat : aktivitas antioksidan
- 3) Variabel terkontrol : lama fermentasi, suhu medium, konsentrasi gula, konsentrasi teh dan scoby.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Determinasi

Determinasi dilakukan di laboratorium Bahan Alam Farmasi Program Studi Sarjana Farmasi Universitas Bhamada Slawi

3.3.2 Pembuatan Teh Kombucha

Proses pembuatan teh kombucha dibuat dengan menggunakan teh hitam merek sosro. Pemanis yang digunakan adalah gula Gulaku kuning, dan starter kombucha diperoleh dari penjual lokal dari tegal. Pembuatan teh kombucha diawali dengan merebus air mineral sebanyak 4 liter, kemudian ditambahkan 13 gram teh merek sosro, dan 280 gram gula. Kemudian di masukan kedalam toples fermentasi. Setelah dingin ditambahkan starter kombucha 10% dan 1 keping SCOBY.

3.3.3 Pembuatan Sari Buah Salak

Pembuatan sari buah salak diawali dengan membeli buah salak pondoh, pembelian di lakukan di Desa Kalisapu, Kecamatan Slawi, Kabupaten Tegal. Buah salak dikupas dari kulitnya dan dipisahkan bijinya kemudian dipotong kecil kecil. Buah salak ditimbang sebanyak 400 gram dicampur (1:1, w/w) dengan air, lalu diblender dan di saring, sari salak yang dihasilkan kemudian diberi gula dalam perbandingan 1:10 (w/v) untuk menambahkan kadar gula dan mendukung proses fermentasi. Setelah itu, sari salak dipanaskan menggunakan *waterbath* pada suhu 65 °C selama 30 menit, lalu didinginkan hingga mencapai suhu ruang sebelum disimpan dalam toples steril dan didinginkan hingga siap digunakan. Sari salak

kemudian diinokulasi dengan teh kombucha dalam perbandingan yang telah ditentukan dan difermentasi selama 14 hari pada suhu ruang 20-25°C (Zubaidah et al., 2018).

3.3.4 Formulasi Uji

Tabel 3.0.1 Formulasi Teh Kombucha

Bahan	R1
Air	4000 mL
Gula	280 g
Teh	13 g
Starter kombucha	10%
SCOBY	1 keping

R1: Resep pembuatan teh kombucha

Tabel 3.0.2 Formulasi Uji

B	K
a	o
h	n
a	t
n	r
	o
	l
	P
	o
	s
	i
	t
	i
	f
S	-
a	
r	
i	
s	
a	
l	
a	
k	
K	1
o	0
m	0
b	0
u	m
c	L
h	
a	
t	
e	
h	
h	
i	
t	
a	
m	

F1: penambahan sari salak 5% dari kombucha teh hitam.

F2: Formulasi penambahan sari salak 10% dari kombucha teh hitam.

F3: Formulasi penambahan sari salak 15% dari kombucha teh hitam.

3.3.5 Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan cara mengamati warna, aroma, rasa dan bentuk.

3.3.6 Pembuatan Larutan Induk DPPH

Ditimbang serbuk DPPH sebanyak 15,8 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian dilarutkan dengan etanol 96% sampai tanda batas sehingga didapatkan konsentrasi 158 ppm (Nintiasari & Ramadhani, 2022).

3.3.7 Penentuan Panjang Gelombang DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara mengambil 1 mL larutan induk DPPH dan ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas labu ukur 5 mL, sehingga konsentrasinya menjadi 31,6 ppm. Diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan rentang panjang gelombang 400-800 nm (Susiloningrum & Sari, 2021).

3.3.8 Pembuatan Larutan Pembanding Kuersetin

Larutan seri kadar dibuat dengan menggunakan kuersetin 10 mg kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 ml, lalu ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas dan gojok sampai homogen. Sehingga konsentrasi kuersetin menjadi 1000 ppm. Diambil 1 mL dari larutan pemanding kuersetin 1000 ppm, kemudian diencerkan dalam labu ukur 10 mL dengan etanol 96% sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi 100 ppm. kemudian diencerkan kembali dengan mengambil sebanyak 2,5 mL larutan konsentrasi 100 ppm menggunakan etanol 96% sampai tanda batas labu ukur 25 mL sehingga konsentrasinya menjadi 10 ppm, dari konsentrasi 10 ppm tersebut diencerkan kembali sehingga konsentrasinya menjadi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm (Aiyuba et al., 2023).

3.3.9 Operating Time DPPH

Penentuan operating time dengan cara mengambil 2 mL larutan induk DPPH dan ditambahkan larutan kuersetin 3 ppm sampai tanda batas labu ukur 5 mL. Kemudian larutan tersebut diukur absorbansinya pada gelombang maksimum yang telah diperoleh dari penentuan panjang gelombang DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan interval waktu 1 menit sampai 30 menit (Bakti et al., 2017).

3.3.10 Pembuatan Larutan Induk Sampel 1000 ppm

Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 1 mL, kemudian dilarutkan dalam 10 mL etanol 96% sehingga diperoleh sampel dengan konsentrasi 100 ppm (Khaerah & Akbar, 2019).

Diambil sebanyak 2,5 mL larutan konsentrasi 100 ppm lalu diencerkan menggunakan etanol 96% sampai tanda batas labu ukur 25 mL sehingga konsentrasinya menjadi 10 ppm, dari konsentrasi 10 ppm tersebut diencerkan kembali sehingga konsentrasinya menjadi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm.

3.3.11 Pengujian Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Kuersetin

Pengujian larutan kontrol kuersetin pada masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 4 ml kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH dan divortex selama 15 detik dalam ruang gelap. Selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang dan ruang gelap selama masa *operating* time. Langkah terakhir dilakukan uji larutan kontrol kuersetin menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan sebelumnya (Aiyuba et al., 2023).

3.3.12 Pengujian Antioksidan IC₅₀

Larutan pembanding diambil 1 mL larutan pada masing-masing konsentrasi, lalu ditambahkan 1 mL larutan induk DPPH kemudian ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas labu ukur 5 mL. Lalu diinkubasi selama masa *operating time* maka dilanjutkan dengan serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Panjang gelombang maksimal. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali (Khaerah & Akbar, 2019).

3.3.13 Pengukuran pH

Pengukuran pH sampel teh kombucha dilakukan dengan cara mengambil sekitar 10 *mL* larutan teh kombucha kemudian dimasukkan ke dalam beker gelas kemudian diukur pH larutan teh kombucha menggunakan pH meter (Hassmy et al., 2017).

3.3.14 Analisis Data

Semua data kuantitatif untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sari terhadap *aktivitas* antioksidan kombucha teh hitam dilakukan analisis data secara statistic menggunakan metode *one way* ANOVA pada taraf kepercayaan 95% (Hassmy et al., 2017), analisis *statistic* dilakukan dengan menggunakan program aplikasi SPSS Statistic 26 Version.