

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah tanaman alpukat (*Persea americana* Mill.) digunakan pada bagian daunnya, yang didapat di Dusun Getasari, Desa Kemadohbatur, Kecamatan Tawangharjo, Kabupaten Grobogan, Jawa Tengah. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi dan Mikrobiologi Universitas An Nuur. Determinasi dilakukan di Unit Pelaksana Fungsional (UPF) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini berupa infusa daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan ciri warna hijau segar, tidak terlalu tua maupun terlalu muda. Teknik pengambilan sampel yang diterapkan adalah *purposive sampling*, yaitu suatu teknik penentuan anggota sampel dari suatu populasi berdasarkan kriteria-kriteria tertentu yang telah ditetapkan.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah uji mutu fisik *Gummy candies* serta skrining fitokimia pada infusa daun alpukat (*Persea americana* Mill.).

2. Klasifikasi Variabel Penelitian

a. Variabel bebas

Variabel dalam penelitian ini adalah *Gummy candies* dengan variasi konsentrasi sukrosa 15%, 20%, dan 25%.

b. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil pengujian mutu fisik sediaan *gummy candies*, yang meliputi uji organoleptik, uji keseragaman bobot, uji pH, uji kadar air, dan uji waktu hancur.

c. Variabel kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dikendalikan agar tidak memengaruhi hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat. Adapun variabel kontrol dalam penelitian ini merupakan alat dan bahan yang digunakan dalam pembuatan *gummy candies*, serta kondisi laboratorium tempat penelitian dilaksanakan.

3. Definisi Operasional Variabel

- a. Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dikumpulkan berdasarkan kriteria morfologi tertentu, yaitu daun berwarna hijau segar dengan tingkat kematangan sedang (tidak terlalu tua maupun tidak terlalu muda).
- b. Proses pembuatan simplisia diawali dengan pengumpulan bahan baku, dilanjutkan dengan sortasi basah, pencucian, serta pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C.
- c. Standarisasi simplisia dilakukan dengan 2 uji yaitu, uji organoleptik dan uji kadar air.
- d. Simplisia daun alpukat (*Persea americana* Mill.) selanjutnya diolah menjadi sediaan infusa.
- e. Dilakukan uji skrining fitokimia pada simplisia yang mencakup uji flavonoid, uji saponin, dan uji tanin.
- f. Pembuatan *gummy candies* infusa daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan konsentrasi sukrosa FI 15%, FII 20%, dan FIII 25%.
- g. Uji mutu fisik pada sediaan *gummy candies* meliputi :
 - 1) Uji organoleptik, bertujuan untuk mengamati warna, aroma, tekstur dan rasa sediaan.
 - 2) Uji Keseragaman bobot, bertujuan untuk memastikan berat *gummy candies* mengikuti standar yang telah ditentukan.

- 3) Uji pH, dilakukan dengan menggunakan pH meter
- 4) Uji kadar air, merupakan uji untuk mengetahui kadar air pada *gummy candies*.
- 5) Uji waktu hancur, bertujuan untuk menentukan lama waktu yang diperlukan sediaan *gummy candies* untuk hancur pada aquadest.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan Yang Akan Digunakan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi infusa daun alpukat (*Persea americana* Mill.), gelatin, asam sitrat, natrium benzoat, sukrosa, perisa (rasa melon), aquadest, HCl pekat, serbuk Mg, HCl 2N, FeCl₃ 5% dan gelatin 1%.

2. Alat-Alat Yang Akan Digunakan

Adapun peralatan yang akan digunakan pada proses pembuatan serta pengujian fisik *gummy candies* infusa daun alpukat antara lain *beaker glass* (pyrex), cetakan permen berbahan silikon, *hot plate*, spatula, batang pengaduk, cawan porselin, cawan petridis, timbangan analitik, pH meter, tabung reaksi (pyrex), *thermometer*, panci infusa, *moisture balance*, oven, *disintegration tester*, *water bath*, lemari pendingin, botol timbang dan kain flanel.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman daun alpukat (*Persea americana* Mill.) dilakukan di Unit Pelaksana Fungsional (UPF) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Determinasi ini bertujuan untuk memastikan kebenaran jenis atau spesies tanaman yang digunakan dalam penelitian.

2. Pengambilan Bahan

Daun alpukat (*Persea americana* Mill.) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Dusun Getasari, Desa Kemadohbatur, Kecamatan Tawangharjo, Kabupaten Grobogan, Jawa Tengah.

3. Pembuatan Simplisia

- a) Pengambilan daun alpukat berwarna hijau segar, lalu lakukan sortasi basah untuk memisahkan dari ranting-rantingnya.
- b) Daun kemudian dicuci menggunakan air mengalir guna menghilangkan kotoran dan debu yang menempel.
- c) Selanjutnya, daun yang telah dicuci ditiriskan untuk menghilangkan sisa air, kemudian dilakukan proses perajangan.
- d) Setelah itu, daun dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 1 jam.
- e) Daun yang telah kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender diayak menggunakan ayakan nomor 60 (Subadra and Deru, 2024).

4. Standarisasi Simplisia

- a) Organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan dengan cara mengamati bentuk, bau, warna dan rasa melalui panca indra (Departemen Kesehatan RI, 2000).

- b) Kadar air

Sebanyak 2 gram simplisia daun alpukat dimasukkan ke dalam plat khusus pada alat *Moisture Balance* yang telah disiapkan, kemudian suhu diatur pada 105°C dengan waktu pengerjaan selama 5 menit, ditunggu sampai alat berbunyi yang menandakan analisis telah selesai. Lakukan pengulangan sebanyak 3 kali, kemudian catat kadar yang tertera pada alat *Moisture Balance* (Rukmawati, Hartini and Cahyanti, 2017).

5. Pembuatan Infusa Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.)

- a. Simplisia daun alpukat sebanyak 25 gram ditimbang, kemudian dimasukan ke dalam panci dan ditambahkan aquadest sebanyak 100 ml.
- b. Campuran tersebut selanjutnya dipanaskan di atas tangas air selama 15 menit, terhitung sejak suhu mencapai 90°C, sambil sesekali diaduk. Setelah itu, campuran disaring selagi masih panas menggunakan kain flanel.

- c. Aquadest kemudian ditambahkan hingga volume infusa yang diperoleh mencapai 100 ml (Nofianti, 2014).

6. Skrining Fitokimia

Tahapan pengujian skrining fitokimia dilakukan pada sediaan infusa daun alpukat (*Persea american* Mill.) :

a. Flavonoid

Sebanyak 2 ml infusa ditambahkan 10 tetes HCl pekat dan serbuk Mg sebanyak 1 cm ke dalam campuran. Hasil pengujian dinyatakan positif apabila terjadi perubahan warna larutan menjadi merah, biru, kuning atau jingga, yang mengindikasikan adanya kandungan flavonoid (Latief and Muhaimin, 2019).

b. Saponin

Sebanyak 2 ml infusa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas, Setelah campuran mendingin, dilakukan pengocokan dengan kuat selama 10 menit. Hasil pengujian dinyatakan positif mengandung saponin apabila buih yang terbentuk tetap stabil selama 10 menit setelah penambahan HCl 2 N (Bintoro, Ibrahim and Situmeang, 2017).

c. Tanin

Sebanyak 2 ml infusa dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 5% dan gelatin 1%. Hasil pengujian dinyatakan positif mengandung tanin apabila terbentuk endapan putih setelah penambahan gelatin 1% (Hammuel *et al.*, 2014).

7. Formulasi dan Pembuatan *Gummy candies*

a. Formulasi

Tabel 3. 1 Formulasi sediaan *Gummy candies*

Bahan	Formulasi			Kegunaan
	FI(%)	FII(%)	FIII(%)	
Infusa daun alpukat	25	25	25	Bahan aktif
Gelatin	23	23	23	Pengikat
Asam sitrat	1	1	1	Pengatur keasaman
Natrium benzoat	0,2	0,2	0,2	Pengawet
Sukrosa	15	20	25	Pemanis
Essens Melon	1,5	1,5	1,5	Perisa
Aquadest	34,3	29,2	24,2	Pelarut

Keterangan :

FI = Formulasi nutrasetikal *gummy candies* yang mengandung konsentrasi sukrosa 15%

FII = Formulasi nutrasetikal *gummy candies* yang mengandung konsentrasi sukrosa 20%

FIII = Formulasi nutrasetikal *gummy candies* yang mengandung konsentrasi sukrosa 25%

b. Prosedur pembuatan *gummy candies* infusa daun alpukat (*Persea americana* Mill.)

Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan terlebih dahulu, kemudian seluruh bahan yang diperlukan ditimbang. Proses pembuatan *gummy candies* diawali dengan mengembangkan gelatin dalam aquadest hangan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$, kemudian gelatin dikembangkan sampai membentuk gel (campuran 1). Selanjutnya infusa daun alpukat, sukrosa, asam sitrat, natrium benzoat, dan perisa alpukat dipanaskan pada suhu $70-100^{\circ}\text{C}$ sampai mencapai titik didih, Campuran tersebut diaduk sampai homogen (campuran 2). Selanjutnya, campuran 1 ditambahkan ke dalam campuran 2, kemudian diaduk kembali hingga homogen. Setelah semua campuran homogen, masukkan campuran kedalam cetakan. Setelah itu campuran di dalam cetakan dibiarkan pada suhu ruang selama kurang lebih 1 jam. Sesudah campuran cukup dingin masukkan kedalam kulkas dalam kurung waktu 24 jam untuk proses pemadatan. Setelah *gummy candies* membeku, keluarkan dari lemari pendingin kemudian didiamkan pada suhu ruang hingga suhunya kembali normal. Selanjutnya, *gummy candies* dikeluarkan dari cetakan dan dimasukkan ke dalam toples. Dalam 1 formulasi dapat membuat 20 *gummy candies* (Saputro, Purwatiningrum and Astuti, 2024).

8. Uji Mutu Fisik *Gummy candies* Infusa Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.)

a) Uji organoleptik

Uji organoleptik adalah salah satu aspek penting yang perlu diperhatikan pada proses pembuatan suatu sediaan, sebab bertujuan

untuk mengetahui karakteristik fisik dari sediaan yang dihasilkan. Pengujian ini dilakukan melalui pengamatan terhadap warna, aroma, rasa, serta tekstur dari sediaan *gummy candies* (Eryani *et al.*, 2024).

b) Uji keseragaman bobot

Pengujian keseragaman bobot pada sediaan *gummy candies* dilaksanakan melalui penimbangan terhadap 20 sampel *gummy candies*, kemudian dihitung nilai bobot rata-ratanya. Menurut Farmakope Indonesia Edisi V (2014) persyaratan keseragaman bobot dinyatakan memenuhi kriteria apabila nilai koefisien variasi (CV) yang dihasilkan tidak melebihi 5% ($CV \leq 5\%$). Selain itu, jumlah sediaan yang menunjukkan penyimpangan bobot lebih dari 5% terhadap bobot rata-rata tidak boleh melebihi dua sediaan, dan tidak diperkenankan terdapat satu pun sediaan yang penyimpangan bobotnya melampaui 10% dari bobot rata-rata. Adapun nilai koefisiensi (CV) ditentukan melalui perhitungan dengan rumus berikut (Sunaryo, Zaky and Rasydy, 2020):

$$CV = \frac{SD}{X} \times 100\%$$

Keterangan :

CV = Koefisien Variasi

SD = Simpangan Baku

X = Rata-rata

c) Uji pH

Pengujian pH bertujuan untuk mengetahui sifat keasaman, kenetralan, atau kebasaan dari sediaan *gummy candies* yang dihasilkan, serta untuk memastikan kesesuaiannya dengan persyaratan yang ditetapkan. Menurut SNI (2008) nilai pH yang baik sesuai persyaratan adalah 4,5-6. Prosedur pengukuran dilakukan dengan mengambil satu sampel *gummy candies* secara acak, kemudian dilelehkan dan dilarutkan dalam aquadest hangat. Selanjutnya, larutan tersebut diukur menggunakan pH meter yang sebelumnya telah dikalibrasi. Pengujian

ini dilakukan dengan tiga kali replikasi guna memperoleh data akurat dan representatif (Eryani *et al.*, 2024).

d) Uji kadar air

Menurut ketentuan SNI 3547-2-2008, kadar air produk permen jelly ditetapkan maksimal sebesar 20%. pada penelitian ini, prosedur penetapan kadar air dilakukan dengan pemanasan cawan kosong didalam oven pada suhu 100°C selama ± 1 jam, dilanjutkan dengan proses pendinginan dalam desikator selama 30 menit, sebelum dilakukan penimbangan menggunakan neraca analitik untuk memperoleh berat awal (W_0). Selanjutnya, sampel *gummy candies* sebanyak 5 gram dimasukkan kedalam cawan tersebut dan ditimbang kemudian untuk memperoleh berat cawan beserta sampel (W_1). Cawan yang berisi sampel kemudian dipanaskan didalam oven pada suhu 100°C selama ± 3 jam. Setelah proses pemanasan selesai, cawan dipindahkan ke dalam desikator dan didinginkan selama 30 menit, kemudian ditimbang untuk memperoleh berat akhir (W_2). Kadar air pada *gummy candies* selanjutnya dihitung menggunakan rumus (Amalia, Lestari and Safitri, 2021) :

$$\text{Uji kadar air} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100\%$$

Keterangan :

W_1 = berat sampel dan cawan sebelum dioven (gr)

W_2 = berat sampel dan cawan sesudah dioven (gr)

W_0 = berat cawan kosong (gr)

e) Uji waktu hancur

Kecepatan *gummy* untuk terdisintegrasi dalam media cair dapat diprediksi dengan menggunakan evaluasi waktu hancur. *Disintegration tester* digunakan untuk mengevaluasi. Untuk melakukannya, sebanyak 6 buah *gummy candies* dimasukkan kedalam alat, dengan ketentuan setiap tabung digunakan untuk menampung satu buah *gummy candies*. Kemudian putar alat sampai *gummy candies* pecah melalui ayakan di

bagian bawahnya. Setelah itu, catat waktu yang dibutuhkan. Waktu dispersi adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan berapa lama waktu yang diperlukan untuk seluruh *gummy candies* tersebar secara merata di media cair. Waktu hancur yang memenuhi kriteria baik adalah kurang dari 15 menit (Rani *et al.*, 2020).

E. Analisi Hasil

Analisis terhadap hasil penelitian ini dilaksanakan dengan menggunakan pendekatan deskriptif, dengan tujuan menggambarkan kondisi secara objektif melalui bentuk tabel atau penjelasan naratif. Data deskriptif tersebut bersumber dari observasi skrining fitokimia, kadar air serta evaluasi organoleptik (warna, bau, rasa dan bentuk). Sementara itu, data pH, keseragaman bobot, uji waktu hancur, serta kadar air, yang bersifat kuantitatif dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak pengolahan data statistik SPSS melalui metode *One-Way ANOVA*.

F. Kerangka Penelitian



