

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juli – Oktober 2023. Lokasi penelitian bertempat di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian-Peternakan, Universitas Muhammadiyah Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah baskom plastik, pisau, loyang, *cabinet dryer*, kipas angin, *roaster*, *blender*, *grinder*, ayakan 60 mesh, cawan porselen (*Hardenwanger*), penjepit, oven, timbangan digital, neraca analitik (*Ohaus*), labu erlenmeyer, pH meter, colour reader (*Konica Minolta*), *Hotplate* (Maspion), botol pereaksi gelap, tanur *thermo scientific* (*Barn Stead Thermolyne*), plastik klip, kertas saring *Whatman* No. 41, corong pisah, desikator, kuvet, spektrofotometri.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan bubuk biji kurma adalah biji kurma jenis ajwa didapatkan dari Pasar Besar Kota Malang, Kecamatan Klojen, Kota Malang. Pada analisis penelitian menggunakan bahan-bahan seperti bubuk biji kurma, Aquades, diklorometana, Etanol 95%, Larutan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil DPPH, Larutan Na_2CO_3 , metanol, NaNO_2 , AlCl_3 , NaOH , *reagen folin*

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial yang terdiri dari dua faktor dengan pola 2 pengulangan. Rancangan penelitian yang digunakan ini sangat penting untuk meminimalisir kesalahan pengambilan sampel dan memberikan representasi yang akurat dari populasi yang diteliti. Perlakuan faktorial yang terdiri dari dua faktor sebagai berikut :

Faktor (A) Suhu penyangraian biji kurma

A1 : suhu penyangraian biji kurma 210°C

A2 : suhu penyangraian biji kurma 220°C

A3 : suhu penyangraian biji kurma 230°C

Faktor (B) Lama penyangraian biji kurma

B1 : Lama penyangraian 40 menit

B2 : Lama penyangraian 45 menit

B3 : Lama penyangraian 50 menit

Tabel 2. Keterangan Kombinasi Perlakuan

Perlakuan	Keterangan kombinasi perlakuan :
A1B1	A1B1 : Penyangraian biji kurma dengan suhu 210°C selama 40 menit
A1B2	A1B2 : Penyangraian biji kurma dengan suhu 210°C selama 45 menit
A1B3	A1B3 : Penyangraian biji kurma dengan suhu 210°C selama 50 menit
A2B1	A2B1 : Penyangraian biji kurma dengan suhu 220°C selama 40 menit
A2B2	A2B2 : Penyangraian biji kurma dengan suhu 220°C selama 45 menit
A2B3	A2B3 : Penyangraian biji kurma dengan suhu 220°C selama 50 menit
A3B1	A3B1 : Penyangraian biji kurma dengan suhu 230°C selama 40 menit
A3B2	A3B2 : Penyangraian biji kurma dengan suhu 230°C selama 45 menit
A3B3	A3B3 : Penyangraian biji kurma dengan suhu 230°C selama 50 menit

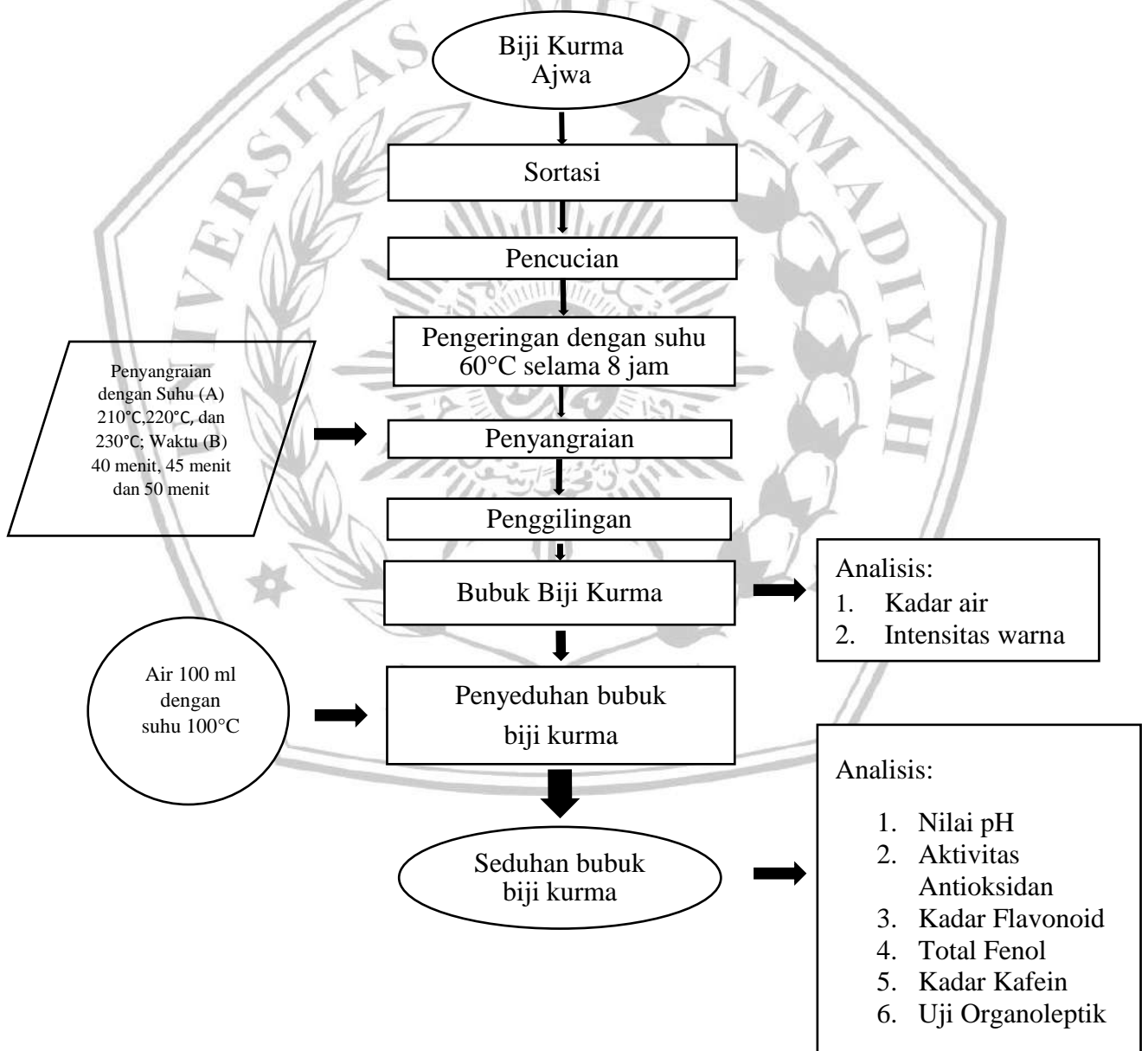
Penelitian ini menggunakan metode *Analysis of Variance* (ANOVA) dalam analisis statistik. Metode ANOVA digunakan untuk membandingkan rata-rata dari beberapa kelompok yang berbeda dan menentukan apakah perbedaan antara kelompok-kelompok tersebut signifikan atau tidak.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Prosedur Pembuatan Bubuk Biji Kurma (Nawirah dkk, 2021)

Pembuatan bubuk biji kurma diawali dengan sortasi yang bertujuan untuk memilah biji kurma yang layak untuk di olah. Kemudian biji kurma yang sudah disortasi akan dilakukan pencucian agar biji kurma bersih dari sisa daging yang masih menempel ataupun kotoran. Biji kurma dilakukan pengeringan menggunakan *cabinet dryer* selama 8 jam dengan suhu 60°C. Setelah dilakukan

pengeringan, biji kurma akan disangrai pada masing masing suhu 210°C, 220°C, dan 230°C. Penyangraian juga diperlakukan waktu masing masing 40, 45, dan 50 menit. Penyangraian merupakan proses mengeluarkan air dalam biji kurma, mengeringkan dan mengembangkan biji kurma, mengurangi berat memberikan aroma pada biji kurma tersebut. Setelah proses penyangraian, biji kurma akan didinginkan. Biji kurma yang sudah dingin akan dilakukan penggilingan memecah biji kurma sangrai utuh menjadi bubuk halus supaya mudah dilarutkan dalam air. Pengolahan pada proses tersebut, dapat dihasilkan bubuk biji kurma yang siap untuk diuji.



Gambar 1. Diagram Alir Bubuk Biji Kurma

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Prosedur Analisis Kadar Kafein (Gebeyehu & Bikila, 2015)

Menghitung kadar kafein dengan sejumlah 0,050 g sampel dilarutkan dengan 100 mL aquades dan dipanaskan pada suhu 80-90°C, sambil diaduk selama 115 menit. Larutan sampel panas kemudian disaring dengan kertas saring *Whatman* No. 41 melalui corong ke dalam botol kaca gelap. Sebanyak 25 mL larutan sampel diambil, dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL, ditambahkan dengan 25 mL diklorometana (1:1) dan dihomogenkan selama 10 menit. Campuran dipindahkan ke dalam corong pisah dan diamkan beberapa menit hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan bawah diambil dan ditampung dalam erlenmeyer 100 mL, kemudian ekstrak dipindahkan ke tabung reaksi. Pengukuran nilai absorbansi dengan menggunakan instrumen spektrofotometri UV-VIS ($\lambda=275$ nm). Konsentrasi kafein (x) dihitung dari persamaan garis pada kurva standar yaitu $y = bx + a$, dengan y adalah nilai absorbansi, x adalah konsentrasi kafein, dan R adalah koefisien regresi linier. Jumlah kuantitatif kafein dalam sampel (x) ditentukan dengan menggunakan kurva standar (Tautua, 2014). Penetapan kadar kafein menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar kafein (\%)} = \frac{\text{konsentrasi kafein } (\mu\text{g/mL}) \times \text{volume ekstrak (mL)}}{\text{Berat sampel (mg)}} \times 100\%$$

3.5.2 Prosedur Analisis Kadar Air (AOAC, 2005)

Pengukuran kadar air dilakukan dengan menggunakan metode oven. Cawan yang akan digunakan dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105 °C selama 30 menit atau sampai didapat berat tetap. Setelah itu didinginkan dalam desikator selama 30 menit lalu ditimbang. Sampel ditimbang sebanyak 5 gram (B1) dalam cawan tersebut lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105 °C sampai tercapai berat tetap (8-12 jam). Sampel didinginkan dalam desikator selama (30 menit) lalu ditimbang (B2). Perhitungan kadar air dilakukan sebagai berikut :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(\text{Berat cawan+Sampel}) - \text{Berat akhir}}{\text{Berat sampel awal}} \times 100\%$$

3.5.3 Prosedur Analisis Intensitas Warna (Hutching, 1999)

Alat *colour reader* dihidupkan dengan menekan tombol on dan pengukuran dimulai. Kemudian, alat dikalibrasi dengan menggunakan keramik standar yang memiliki nilai L, a, dan b. Kecerahan direpresentasikan oleh nilai L, dengan nilai positif menunjukkan cerah dan nilai negatif menunjukkan suram. Kemerahan direpresentasikan oleh nilai a, dengan nilai positif menunjukkan merah dan nilai negatif menunjukkan hijau. Kekuningan direpresentasikan oleh nilai b, dengan nilai positif menunjukkan kuning dan nilai negatif menunjukkan biru. Ujung lensa alat ditempelkan pada permukaan sampel yang akan diukur dan warnanya diukur dengan menekan tombol target. Hasil pengukuran intensitas warna dicatat.

3.5.4 Prosedur Analisa pH (Badan Standar Nasional, 2004)

Prosedur Analisis Nilai pH (Badan Standarisasi Nasional, 2004) Alat pH meter dihidupkan. Elektroda dan temperature probe dibilas dengan akuades kemudian dikeringkan. Kalibrasi dilakukan dengan mencelupkan elektroda pada larutan penyangga (pH 7) dan asam (pH 4) serta dibersihkan. Elektroda dibilas kembali menggunakan akuades dan dikeringkan. Sampel yang ingin diukur dicelupkan pada elektroda dengan menekan tombol *Ar (hold)* dan *Enter*, hingga pembacaan stabil dan indikator *autolock* muncul pada layar. Nilai yang tertera pada layar dicatat.

3.5.5 Prosedur Analisis Aktivitas Antioksidan

a) Pembuatan Larutan DPPH

1. Serbuk DPPH ditimbang 0,04 gram (4 mg)
2. Serbuk dimasukkan ke dalam botol kaca gelap dan dilarutkan dengan 100 mL etanol dan dihomogenkan (pastikan botol sudah di balut rapat alumunium foil)
3. Larutan dimasukkan showcase dan diinkubasi selama 20 menit

b) Pembuatan Larutan Blanko

1. Larutan DPPH diambil sebanyak 4 mL dan dicampur dengan 1 mL etanol ke dalam tabung reaksi yang sudah dibungkus alumunium foil dan divortex

2. Larutan dimasukkan showcase dan didiamkan selama 20 menit
3. Larutan di spektrofotometri dengan panjang gelombang 517 nm (absorban larutan blanko harus diantara 0,8 – 1,00)

c) Persiapan Larutan Sampel

1. Sebanyak 0,5 gram sampel ditimbang
2. Sampel dihomogenkan dengan 10 ml etanol
3. Sampel didiamkan di showcase selama 20 menit

d) Uji Antioksidan

1. Larutan sampel 1 mL ditambahkan larutan DPPH 4 mL ke dalam tabung reaksi yang sudah dibalut alumunium foil dan di vortex
2. Larutan didiamkan pada showcase selama 20 menit
3. Larutan di spektrofotometri UV-VIS dengan panjang gelombang 517 nm
4. Setelah itu di hitung dengan rumus :

$$(\%) \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

3.5.6 Prosedur Uji Penetapan Total Fenol (Agustini, 2020)

Sebanyak 0,2 gram sampel ditimbang dan ditambahkan akuades pada labu takar. Larutan ekstrak ditambahkan 0,2 mL *reagen folin-ciocalteu*, diamkan selama 6 menit kemudian tambahkan 1,26 gram Na_2CO_3 dan akuades sampai batas takar kedalam campuran, diamkan selama 90 menit pada suhu kamar. Pengukuran absorbansi sampel pada panjang gelombang 760 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS yang memberikan kompleks biru. Kandungan total fenol dinyatakan sebagai mg asam galat/g sampel (Sedjati, 2017).

3.5.7 Prosedur Uji Penetapan Flavonoid (Wigati, 2018)

Ekstrak dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL yang telah berisikan 4 mL akuades, NaNO_2 dilarutkan dengan akuades sebanyak 10 mL

dan dipipet sebanyak 0,3 mL ditambahkan pada labu takar, campuran didiamkan selama 5 menit pada suhu ruang, sebanyak 10% AlCl₃ ditambahkan ke dalam campuran dan didiamkan kembali selama 6 menit pada suhu ruang, NaOH (1 N) sebanyak 2 mL dan akuades ditambahkan ke dalam campuran hingga batas tera (10 mL), absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 510 nm dengan spektrofotometer UV-VIS. Hasil absorbansi dihitung dengan rumus :

$$\text{Flavonoid} = \frac{X \cdot V \text{ Kuvet} \cdot \text{Faktor Pengenceran}}{\text{gram Ekstrak}}$$

3.5.8 Uji Organoleptik (Adawiyah, 2014)

Penilaian sensori pada uji hedonik dilakukan dengan menggunakan panelis tidak terlatih, dengan rentang usia 21-24 tahun baik pria maupun wanita yang berstatus mahasiswa untuk mengetahui tingkat kesukaan konsumen terhadap minuman biji kurma. Analisis organoleptik ini dilakukan terhadap 15 panelis semi terlatih. Taraf yang di gunakan pada uji hedonik Organoleptik dengan tingkat kesukaan pada minuman biji kurma dengan lama penyangraian (40 menit, 45 menit, dan 50 menit) yaitu dari hedonik dengan tingkat rasa, aroma, tekstur dan warna dengan total 1 hingga 5.

Tabel 3. Keterangan Parameter Organoleptik

No.	Warna	Aroma	Rasa	Kenampakan
1.	Agak Kekuningan	Sangat Tidak Harum	Sangat Asam	Sangat Cerah
2.	Kuning	Tidak Harum	Asam	Cerah
3.	Coklat Muda	Agak Harum	Agak Pahit	Agak Cerah
4.	Coklat	Harum	Pahit	Gelap
5.	Sangat gelap	Sangat Harum	Sangat pahit	Sangat Gelap

Keterangan : Rasa Asam : Rasa khas kopi, Pahit : Rasa kopi hitam; Warna Coklat : Warna gelap akibat proses roasting; Aroma Harum : Harum seperti aroma kopi; Kenampakan Cerah : Memiliki kenampakan kuning bening.

3.6 Analisa Data

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan ANOVA (Analysis of Variance) untuk mengetahui pengaruh dari perlakuan. Apabila hasil uji ANOVA (Analysis of Variance) menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji DMRT (Duncan's Multiple Range Test) untuk perlakuan berbeda nyata $\alpha = 5\%$ (aisyah dkk, 2021)

