

### III BAHAN, ALAT, DAN METODE PENELITIAN

Bab ini akan menguraikan mengenai : (1) Bahan-Bahan yang Digunakan, (2) Alat-Alat yang Digunakan, (3) Metode Penelitian, dan (4) Deskripsi Percobaan.

#### 3.1. Bahan-Bahan yang Digunakan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan *hard candy* ekstrak daun *mulberry* daun *mulberry* varietas khunpai yang diperoleh dari Lembaga Masyarakat Desa Hutan (LMDH) Gunung Wayang, kampung sukalaksana, kelurahan Sukamanah, Kecamatan Pangalengan yang merupakan bagian dari PTPN, sukrosa (gula pasir) merk “Gulaku”, glukosa, air, dan etanol 70%.

Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis kimia yakni toluene, aquadest, DPPH (*2,2-Dipenyl-1-picrylhydrazyl*) 160 ppm, methanol, etanol 70%, batu didih, seperangkat bahan analisis skrining fitokimia fenolik (Preaksi  $\text{FeCl}_3$  5%), flavonoid ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N), alkaloid (Preaksi Dragendorf), steroid dan triterpenoid (Preaksi Lieberman-Burchard), saponin (Preaksi  $\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}$ ), dan tanin (Preaksi  $\text{FeCl}_3$  5%)

#### 3.2. Alat-Alat yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam pembuatan *hard candy* ekstrak daun *mulberry* adalah *tunnel dryer*, *tray*, *blander*, wadah tertutup untuk ekstaksi, *rotary evaporator*, *vacuum desikator*, timbangan digital, eksikator, gelas ukur, wajan, pengaduk, kompor gas, dan cetakan permen.

Alat-alat yang digunakan untuk analisis kimia adalah seperangkat alat destilasi, alat penetrometer, tabung rekasi, rak tabung reaksi, cawan porselin, pipet

tetes, *stopwatch*, oven, tangkrus, kaca arloji, eksikator, timbangan digital, dan spektrofotometer UV-Vis.

### 3.3. Metode Penelitian

Metode penelitian dilakukan dua tahap yaitu meliputi penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

#### 3.3.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan analisis bahan baku daun *mulberry* yaitu skrining fitokimia dan menentukan metode pengeringan terbaik dengan :

1. Pengeringan alami dengan sinar matahari selama 3 hari
2. Pengeringan buatan dengan *tunnel dryer* dengan suhu 50°C selama 1 jam.

Daun *mulberry* yang telah dikeringan dengan kedua metode tersebut diuji kadar air dan aktivitas antioksidan. Kadar air yang sesuai dengan standar simplisia dan hasil aktivitas antioksidan yang terbaik dipilih untuk penelitian utama yakni pembuatan *hard candy* ekstrak daun *mulberry*.

Penelitian pendahuluan tahap kedua yakni dilakukan uji skrining fitokimia secara kualitatif yakni bertujuan untuk identifikasi awal yakni mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam daun *mulberry*. Uji skrining fitokimia terhadap ekstrak daun *mulberry* meliputi pemeriksaan fenolik, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan triterpenoid.

#### 3.3.2. Penelitian Utama

Penelitian utama yang dilakukan yakni optimalisasi formulasi *hard candy* ekstrak daun *mulberry*. Penentuan formulasi ini dilakukan dengan menggunakan

program pengolahan data statistik, yaitu *software Desigh Expert 7.0* dengan metode *Mixture D-optimal*.

Penentuan formula optimum terdiri dari empat tahap, yaitu tahap perencanaan formula, tahap formulasi, tahap analisis dan tahap optimasi. Langkah pertama yang harus dilakukan adalah menentukan variabel-variabel yang akan dikombinasi beserta konsentrasinya, lalu menentukan respon yang akan diukur yang merupakan fungsi dari komponen-komponen penyusun produk. Tiap-tiap variabel respon akan dianalisis oleh *Desigh Expert 7.0* untuk mendapat persamaan *D-optimal*. *Desigh Expert 7.0* menampilkan hasil ANAVA. Suatu variable respon dinyatakan berbeda signifikan pada taraf signifiijan 5% jika nilai “Prob>F” hasil analisis lebih kecil atau sama dengan 0,05 sedangkan jika “Prob>F” hasil analisis lebih besar dari 0,1 maka variable respon dinyatakan tidak berbeda signifikan. Selanjutnya variable-variable respon ini digunakan sebagai model prediksi untuk menentukan formula optimal. *Desigh Expert 7.0* metode *Mixture D-optimal* akan mengolah semua variable respon berdasarkan kriteria-kriteria yang diterapkan serta memberikan solusi beberapa formula optimal yang dipilih. Nilai target optimasi yang dicapai dinyatakan dengan *desirability* yang nilainya 0 hingga 1. Semakin mendekati 1, semakin mudah suatu formula dalam mencapai titik formula optimal berdasarkan variable responnya atao ketepatan formula optimal sangat tinggi. Hal ini dapat dicapai dengan memilih variable uji yang mampu memberikan pengaruh nyata (berbeda signifikan) terhadap respon, penentuan rentang proporsi relative masing-masing variable uji, dan nilai target optimasi variable respon. Nilai *desirability* yang mendekati 1 semakin sulit dicapai dicapai

apabila kompleksitas variable uj dan nilai target optimasi tinggi. Optimalisasi dilakukan untuk mencapai nilai *desirability* maksimum. Meskipun demikian, tujuan utama optimasi bukan untuk mencari nilai *desirability* sebesar 1 melainkan untuk mencari kombinasi yang tepat dari berbagai komposisi bahan (Rachmawati,2012).

Variabel pada rancangan ini adalah ekstrak daun *mulberry* ( $X_1$ ), sukrosa ( $X_2$ ), glukosa ( $X_3$ ), dan ( $X_4$ ) air.

Respon pada rancangan ini adalah analisis aktivitas antioksidan ( $Y_a$ ), kadar air ( $Y_b$ ), uji kekerasan (tekstur) ( $Y_c$ ), warna ( $Y_d$ ), kilap ( $Y_e$ ), rasa ( $Y_f$ ), dan tekstur (*mouhfeel*) ( $Y_g$ ).

*Low* menunjukkan batasan nilai terendah (minimum) dan *high* menunjukkan batasan nilai tertinggi (maksimum). Batas minimum (*low*) dan maksimum (*high*) didapat berdasarkan kerangka pemikiran dan penelitian yang dilah dilakukan sebelumnya guna mendapatkan formulasi yang paling baik. Penggunaan gula tidak boleh melebihi 65% karena akan terjadi kristalisasi di permukaan permen oleh karena itu penggunaan jumlah sukrosa dan glukosa tidak melebihi 65% (Winirno,2008). Batas *low* penggunaan gula sebesar 60% dan *high* 65%. Perbandingan antara sukrosa dan glukosa yang dipakai adalah 75:25 maka didapatlah nilai *low* sukrosa 45%, nilai *high* sukrosa 48,75%, nilai *low* glukosa 15% dan nilai *high* glukosa 16,25%. Penggunaan air pun serupa dimana penggunaan air sebesar 30% (Ramadhan 2012).

Model yang digunakan merupakan *Mixture D-optimal* dengan jumlah *total runs* atau jumlah formulasi sebanyak 8, *total runs* atau formulasi ini didapat

secara otomatis oleh program. Berdasarkan pengolahan input data dengan menggunakan program *Design Expert 7.0.0* maka didapatkan formulasi *hard candy* ekstrak daun *mulberry* dengan menggunakan *Mixture D-optimal Design* dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 4. Batasan Minimum (*Low*) dan batasan Maksimum (*High*) Tiap Variabel

Variabel	Batas Minimum ( <i>Low</i> )	Batas Maksimum ( <i>High</i> )
Ekstrak Daun <i>Mulberry</i>	0,5%	1%
Sukrosa	45%	48,75%
Glukosa	15%	16,25%
Air	34%	38%

Data hasil analisis *hard candy* ekstrak daun *mulberry* berdasarkan analisis aktivitas antioksidan, kadar air, kekerasan (tekstur), dan uji organoleptik (warna, rasa, kilap, tekstur) dilakukan pengolahan data dengan program *Design Expert 7.0* metode *Mixture D-optimal* sehingga akan didapat formulasi optimal dan respon optimal menurut program tersebut terhadap *hard candy* ekstrak daun *mulberry*.

Tabel 5. Formulasi *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry* (%)

No.	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>
1.	0,500	48,395	15,001	36,104
2.	0,985	45,000	16,042	37,973
3.	0,532	48,750	16,248	34,470
4.	0,998	48,748	16,250	34,004
5.	0,999	45,589	15,412	38,000
6.	0,500	46,829	15,000	37,671
7.	1,000	48,750	15,096	35,154
8.	0,509	45,243	16,250	37,999

### 3.4. Rancangan Respon

Rancangan respon dalam penelitian *hard candy* ekstrak daun *mulberry* meliputi respon kimia, respon fisik, dan respon organoleptik.

#### 3.4.1. Respon Kimia

Respon kimia yang akan dilakukan *hard candy* ekstrak daun *mulberry* meliputi analisis kadar air destilasi (AOAC, 2005), dan analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH spektrofotometer (AOAC, 2000).

#### 3.4.2. Respon Fisik

Respon fisik yang akan dilakukan *hard candy* ekstrak daun *mulberry* meliputi uji kekerasan dengan menggunakan alat dengan menggunakan alat penetrometer (Apriyanto dkk, 1989).

#### 3.4.3. Respon Organoleptik

Respon organoleptik yang dilakukan terhadap *hard candy* ekstrak daun *mulberry* yakni uji deskripsi untuk menilai dan menentukan mutu produk dengan mendeskripsikan sifat-sifat yang menentukan mutu atau atribut mutu dari produk yang dilakukan dengan uji deskripsi terhadap atribut warna, kilap, rasa, dan tekstur (*mouth feel*). Atribut dipilih berdasarkan atribut yang paling menentukan mutu. Selanjutnya panelis menilai secara sendiri-sendiri atas atribut mutu terhadap kedelapan formulasi yang tersedia sesuai dengan kesan yang diperoleh pada karakteristik mutu yang diamati. Pengujian ini dilakukan terhadap 15 panelis. Penilaian dilakukan dengan meletakkan tanda berupa lingkaran (O) di lembar pengamatan pada garis atribut mutu yang sesuai dengan kesan atau penilaian yang diperoleh. Skala penilaian yang dipergunakan adalah (1) sangat lemah, (2) agak lemah, (3) lemah, (4) agak kuat, (5) kuat, dan (6) sangat kuat.

Data panelis *dirating* kemudian dijumlahkan, dirata-ratakan dan ditransformasikan ke dalam bentuk grafik majemuk berbentuk radial. Grafik ini

berbeda dengan kebiasaan membuat grafik dua dimensi atau grafik tiga dimensi. Masing-masing garis menggambarkan himpunan nilai mutu. Titik pusat menyatakan nilai mutu nol dan ujung garis menyatakan nilai mutu tertinggi.

Grafik dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$1. \text{ Jumlah data} = \text{data}_1 + \text{data}_2 + \dots + \text{data}_n$$

$$2. \text{ Rata-rata} = \frac{\text{jumlah data}}{\text{jumlah panelis}}$$

$$3. \text{ Besar sudut} = \frac{360^\circ}{\text{jumlah atribut mutu}}$$

### **3.5. Deskripsi Penelitian**

#### **3.5.1. Penelitian Pendahuluan**

Penelitian pendahuluan yang pertama adalah analisis bahan baku daun *mulberry* dengan uji skrining fitokimia. Uji ini bertujuan untuk identifikasi awal yakni mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam daun *mulberry*, dimana sebelum dilakukan dilakukan uji skrining fitokimia, daun *mulberry* dijadikan ekstrak terlebih dahulu.

Penelitian pendahuluan yang kedua bertujuan untuk mengetahui metode pengeringan mana yang paling baik yakni dengan pengeringan alami dengan bantuan sinar matahari dan buatan dengan bantuan alat *tunnel dryer* dimana hasil daun *mulberry* yang telah dikeringkan dengan kedua metode tersebut diuji kadar air dan aktivitas antioksidan.

### 3.5.1.1. Deskripsi Penentuan Metode Pengeringan Terbaik

#### 1. Persiapan Alat dan Bahan

Langkah pertama yang dilakukan adalah mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan yaitu wadah plastik, *tunnel dryer*, *tray*, daun *mulberry*, dan penunjuk waktu. Pastikan semua alat dan bahan siap digunakan dan dalam keadaan baik.

#### 2. Pencucian

Setelah daun *mulberry* siap, daun *mulberry* dibersihkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia, misalnya tanah, kerikil, rumput, batang, daun yang tak terpakai, ranting serta pengotoran lainnya dengan air bersih yang mengalir. Tanah mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi, oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal. Selanjutnya setelah daun benar benar bersih daun dilakukan penirisan, penirisan ini berfungsi untuk mengurangi sisa air yang masih melekat pada daun agar proses pengeringan berjalan lebih cepat juga untuk mencegah daun menghitam dan membusuk.

#### 3. Penyusunan di Tray

Setelah daun *mulberry* bersih, daun *mulberry* disusun dan ditata rapi di atas tray yang selanjutnya akan dilakukan pengeringan.

#### 6. Pengeringan

Pengeringan dilakukan dengan menggunakan dengan dua metode yakni dengan cara pengeringan alami dengan bantuan sinar matahari sampai daun

*mulberry* selama 3 hari dengan cuaca normal atau matahari penuh pengeringan dengan matahari langsung dari jam 9 pagi sampai jam 4 sore dan buatan dengan bantuan alat *tunnel dryer* dengan suhu 50°C selama 1 jam. Hasil daun *mulberry* yang telah dikeringkan kemudian dilakukan uji kadar air dan aktivitas antioksidan. Metode pengeringan dengan hasil kadar air simplisia (Daun *mulberry* yang telah kering) yang sesuai standar dan hasil aktivitas antioksidan terbaik akan dipilih untuk penelitian utama yaitu pembuatan *hard candy* ekstrak daun *mulberry*.

### **3.5.1.2. Deskripsi Pengujian Skrining Fitokimia**

Bahan dalam pengujian skrining fitokimia yakni berasal dari daun *mulberry*. Berikut adalah deskripsi pengujian skrining fitokimia :

#### **1. Persiapan Alat dan Bahan**

Langkah pertama yang dilakukan adalah mempersiapkan bahan yang akan digunakan yakni daun *mulberry* segar.

#### **2. Pencucian**

Setelah daun *mulberry* siap, lalu daun *mulberry* dilakukan pencucian untuk menghilangkan kotoran atau benda asing dengan air mengalir yang bersih, setelah itu dilakukan penirisan.

#### **3. Pembuatan Ekstrak**

Pembuatan ekstrak daun *mulberry* dilakukan dengan metode maserasi yaitu merendam, Daun *mulberry* yang telah bersih kemudian di dihancurkan untuk mempermudah proses ekstraksi dan agar senyawa aktif senyawa kimi dalam daun lebih mudah keluar dan terekstak. Proses maserasi pada daun *mulberry* menggunakan pelarut etanol 70% selama 1 hari di wadah tertutup dan terhindar

dari sinar matahari. Proses maserasi hanya dilakukan selama 1 hari karena proses ini tidak memerlukan hasil ekstrak yang banyak (rendemen). Setelah didapat ekstrak daun *mulberry* kemudian dilakukann proses evaporasi yang bertujuan untuk menghilangkan etanol dengan cara diuapkan dan menghilangkan bau etanol. Proses ekstraksi dilakukan hingga diperoleh ekstrak kental yang masih dapat dituang, lalu ekstrak dikeringkan atau dipekatkan dengan menggunakan *vaccum desikator* untuk menghilangkan air dan diperolehlah ekstrak daun *mulberry* kental yang siap untuk dilakukan uji skrining fitokimia.

#### 4. Pengujian Skrining Fitokimia

Setelah daun *mulberry* yang telah dijadikan ekstrak, selanjutnya dilakukan uji skrining fitokimia secara kualitatif meliputi pemeriksaan senyawa fenolik, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin, steroid dan triterpenoid.

### 3.5.2. Penelitian Utama Pembuatan *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry*

#### 1. Pembuatan Ekstrak Daun *Mulberry*

Simplisia daun *mulberry* yang digunakan berasal dari metode pengeringan terpilih. Simplisia daun *mulberry* kemudian diekstraksi dengan metode maserasi atau perendaman. Simplisia direndam dalam suatu wadah tertutup menggunakan pelarut yaitu etanol 70%. Rendaman tersebut disimpan terlindung cahaya langsung disuhu ruang. Ekstraksi dilakukan 3x24 jam dimana setiap 24 sekali dilakukan penarikan atau pengambilan ekstrak dengan cara disaring, setelah itu sisa ampas ekstraksi pertama direndam kembali dengan etanol 70% dan dilakukan proses ekstraksi untuk kedua kalinya, tidak lupa dilakukan pengocokan. Proses ini pengulangan ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali dan dilakukan selama 3 hari,

sehingga didapatkan ekstrak daun *mulberry* dengan etanol. Tidak lupa sesekali dilakukan pengocokan. Ekstrak yang didapat selanjutnya digabungkan.

## 2. Evaporasi

Ekstrak dari daun *mulberry* hasil ekstraksi kemudian dilakukan evaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut yang terdapat dalam ekstrak dan menghilangkan bau etanol yang masih ada pada saat proses perendaman. Proses evaporasi ini juga bertujuan untuk memekatkan larutan yang terdiri dari zat terlarut yang tidak mudah menguap dan pelarut yang mudah menguap. Setelah proses evaporasi selesai maka didapatkan ekstrak kental yang masih dapat dituang. Ekstrak yang telah dilakukan evaporasi masih harus dihilangkan airnya hingga ekstrak benar-benar kental dengan menggunakan *vaccum desikator*.

## 3. Persiapan Alat dan Bahan

Setelah pembuatan ekstrak daun *mulberry* selesai kemudian alat dan bahan lain disiapkan. Bahan pembuatan *hard candy* ekstrak daun *mulberry* yang terdiri dari ekstrak daun *mulberry*, air, sukrosa, dan glukosa ditimbang dengan menggunakan timbangan digital sesuai dengan formulasi yang telah didapat dengan menggunakan program *Design Expert* metode *d-optimal*.

## 2. Pencampuran I

Setelah seluruh bahan siap, lalu dilakukan proses pencampuran, dimana pertama sukrosa dilakukan pencampuran dengan air hingga merata.

### 3. Pemasakan

Setelah sukrosa dan air tercampur dalam wajan *stainless*, kemudian campuran tersebut dilakukan pemanasan hingga sukrosa benar-benar larut yakni hingga suhu mencapai 110°C dengan bantuan termometer untuk mengukur suhu pemasakannya.

### 4. Pencampuran II

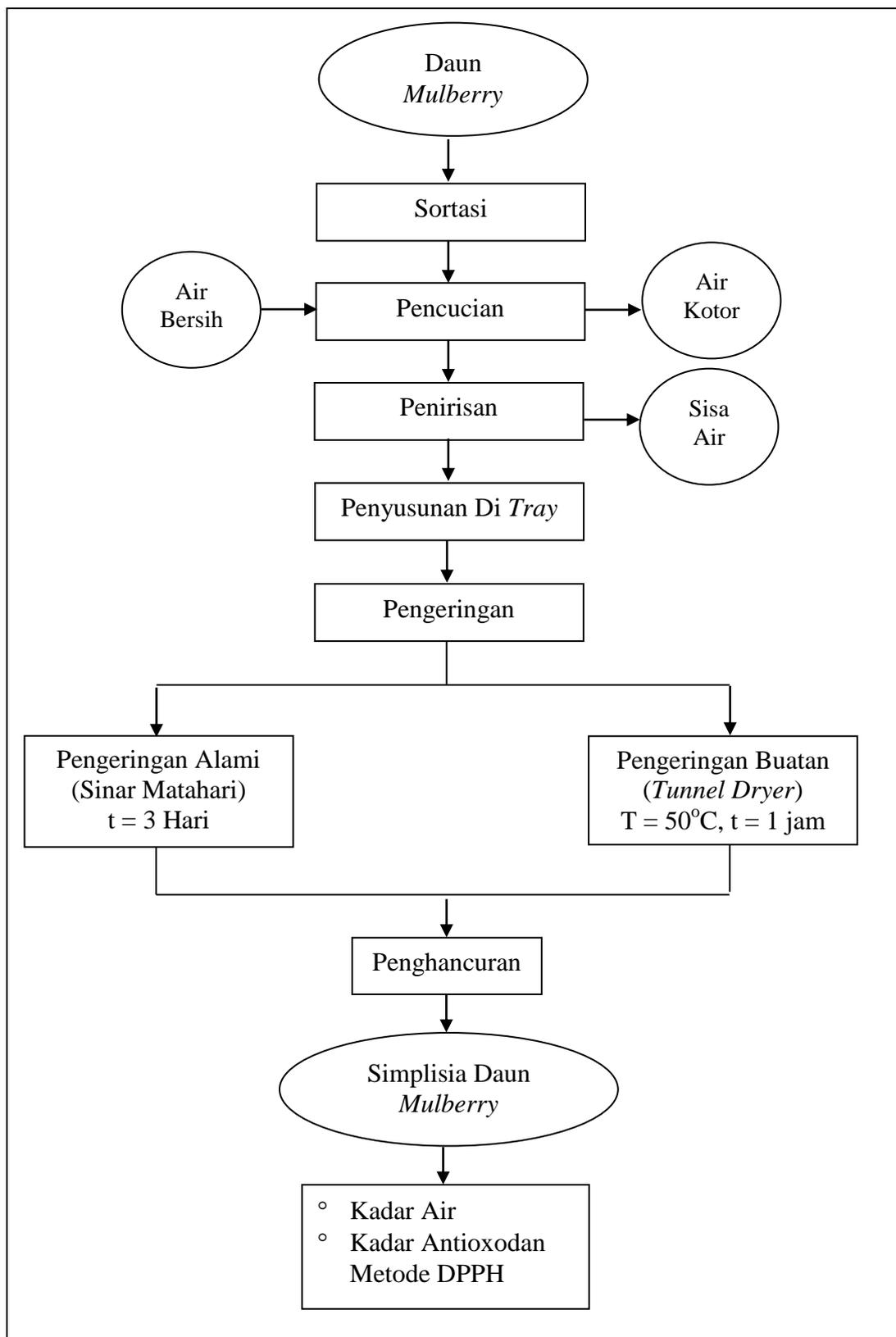
Setelah sukrosa larut dan suhu telah tercapai, kemudian glukosa dan ekstrak daun *mulberry* dimasukan kedalam wajan dan pemasakan dilanjutkan hingga suhu mencapai 130-150°C yang diukur dengan menggunakan termometer untuk mengukur suhu pemasakannya selama  $\pm 15$  menit sambil diaduk-aduk sampai mengental.

### 5. Pencetakan

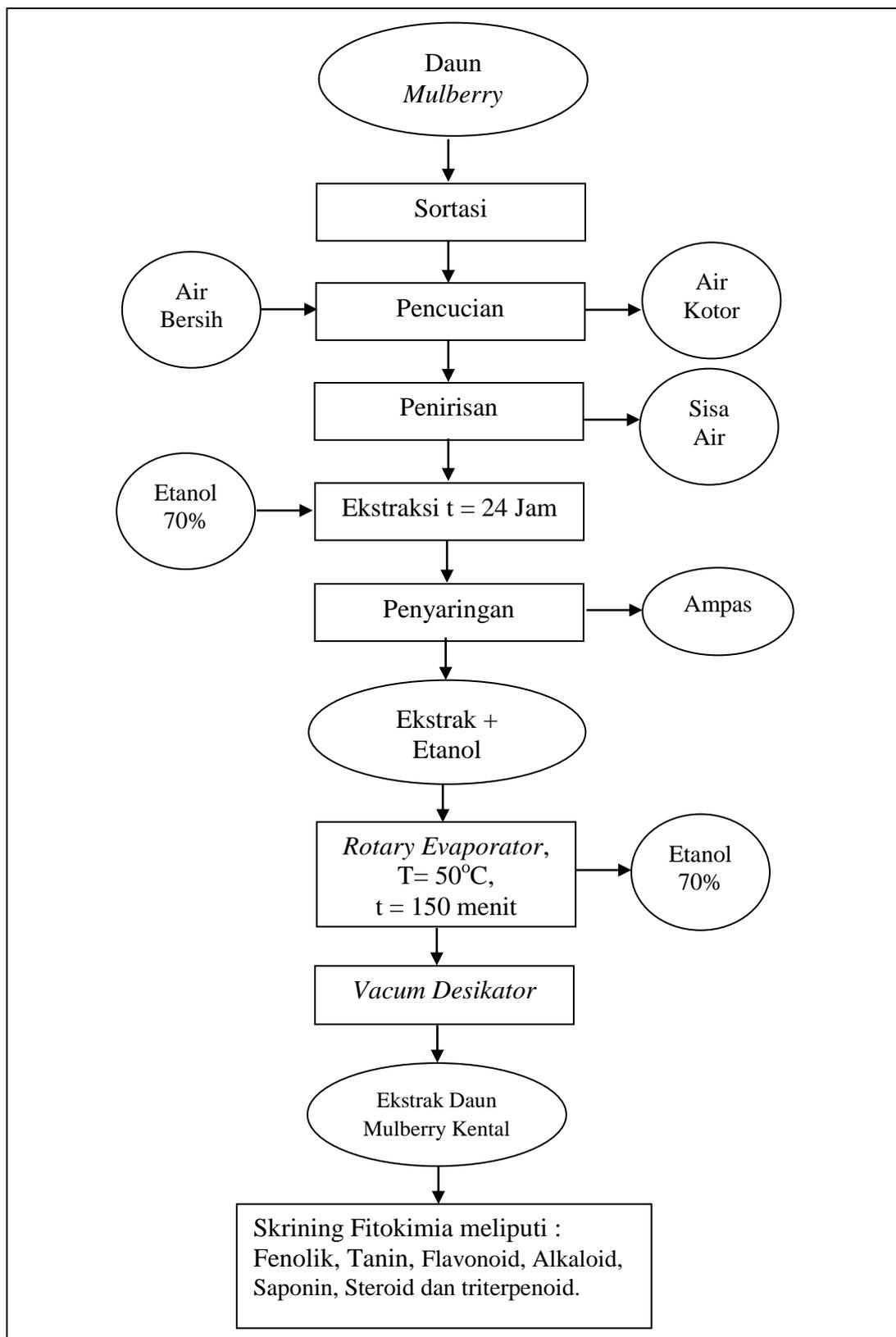
Setelah proses pemasakan selesai, adonan yang telah kental dilakukan proses pencetakan dalam wadah pencetak yang telah disiapkan. Pencetakan dilakukan secara hati-hati karena adonan permen masih panas.

### 6. *Tempering*

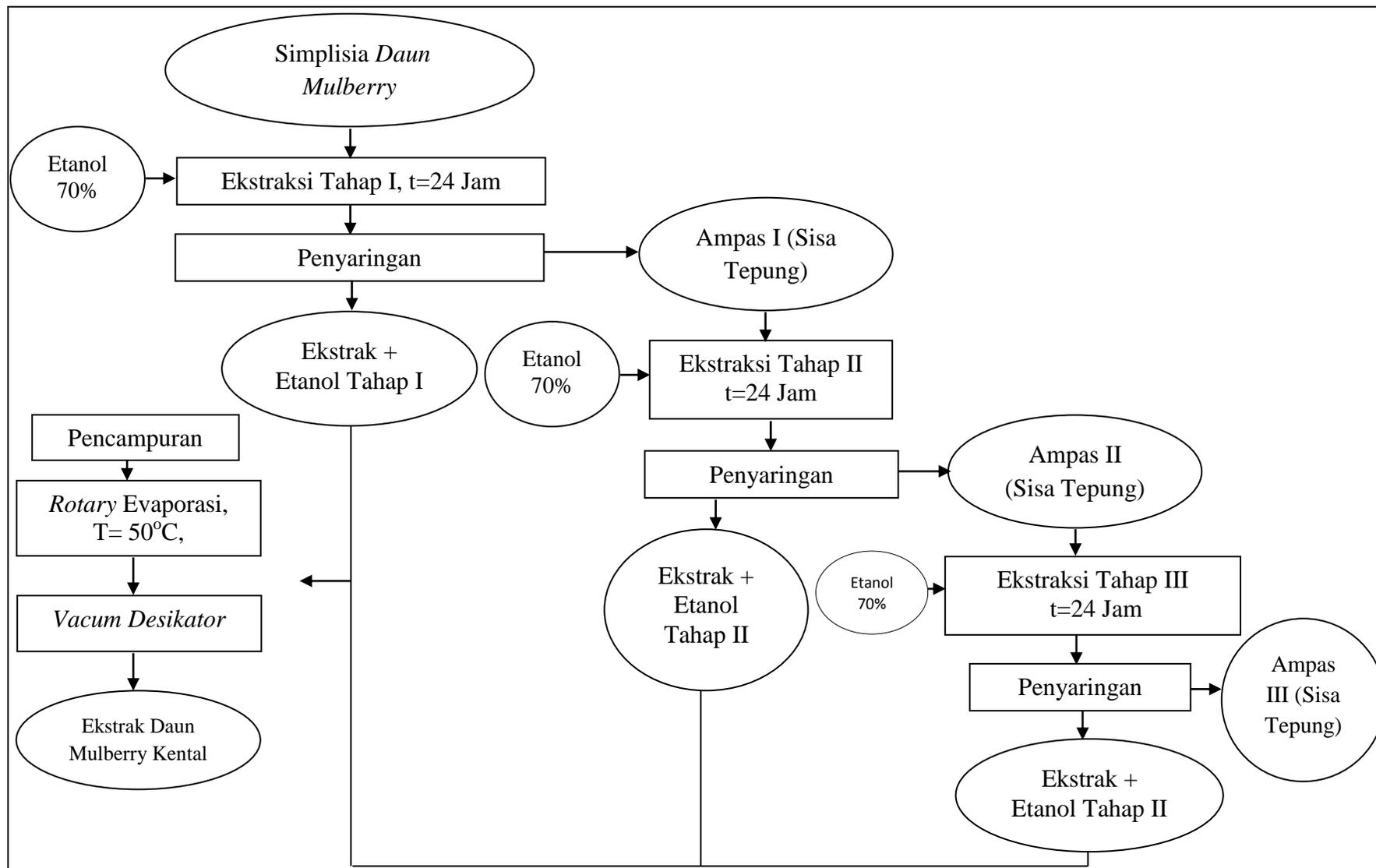
Setelah dicetak kemudian dilakukan proses *tempering* dengan menyimpan *hard candy* yang masih berada dalam cetakan pada suhu 25-27°C, selama 1 jam dengan tujuan mendinginkan unit permen yang sudah dicetak. Setelah dingin dan permen telah mengeras, permen dikeluarkan dari cetakan dan siap dibungkus.



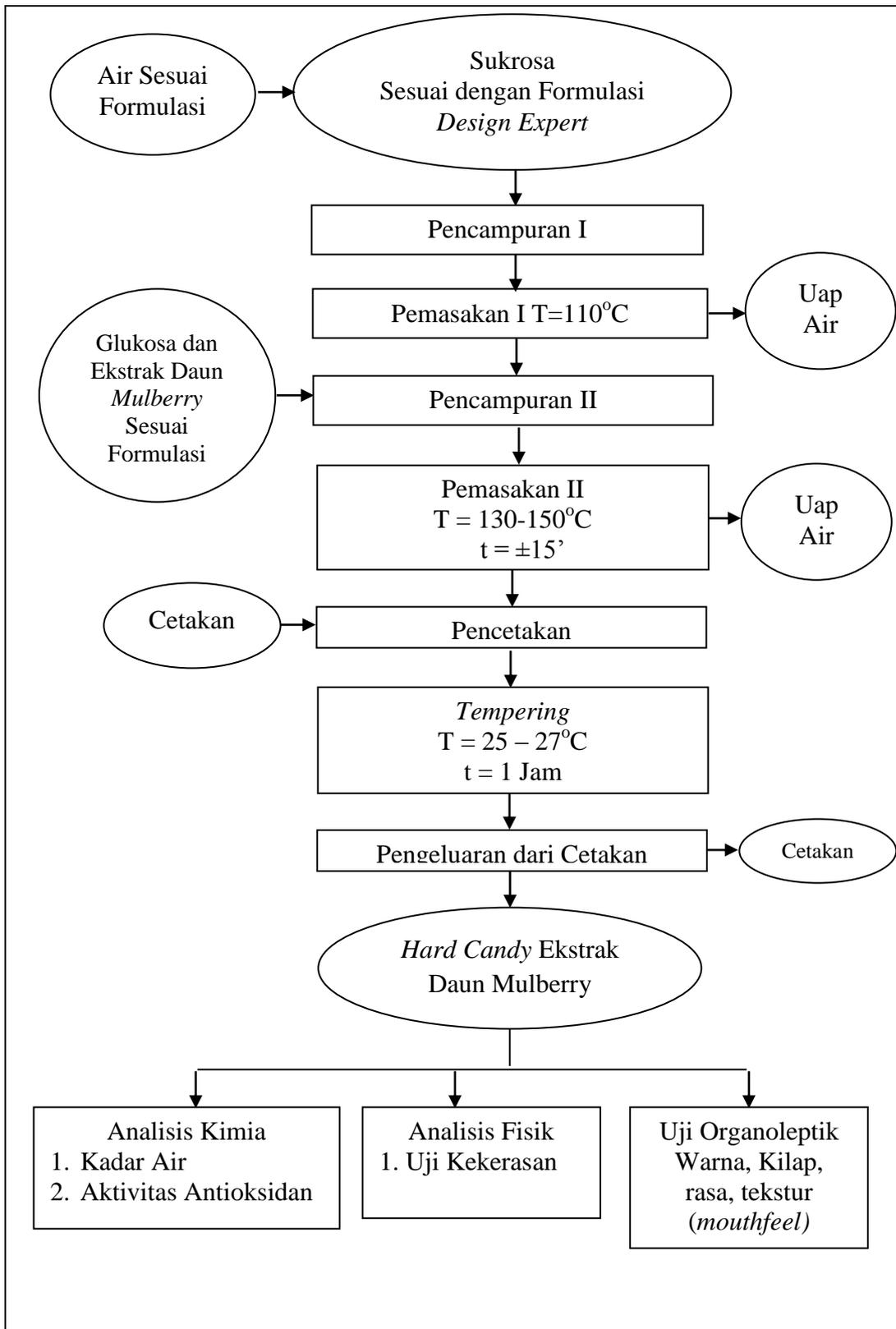
Gambar 3. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Penentuan Metode Pengeringan Terbaik dan Pembuatan Simplisia Daun *Mulberry*



Gambar 4. Diagram Alir Penelitian Pendahuluan Pengujian Skrining Fitokimia Daun *Mulberry*



Gambar 5. Diagram Alir Penelitian Utama untuk Pembuatan Ekstrak Daun *Mulberry*



Gambar 6. Diagram Alir Penelitian Utama Pembuatan *Hard Candy* Ekstrak Daun *Mulberry*

