

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Inovasi Hasil Pertanian dan Kewirausahaan serta Laboratorium Pengendalian Mutu dan Hasil Pertanian (divisi mikrobiologi), Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Waktu penelitian dilaksanakan pada November 2025 – Mei 2026.

3.2 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu perbedaan konsentrasi minyak atsiri pala (A) yang terdiri dari 6 taraf yaitu 0% (A1), 0,5% (A2), 1% (A3), 1,5% (A4), 2% (A5) dan 2,5% (A6). Percobaan diulang sebanyak 3 kali. Formulasi *hard candy* minyak atsiri pala selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Formulasi *hard candy* minyak atsiri pala

Bahan Komposisi	Jumlah Konsentrasi					
	A1	A2	A3	A4	A5	A6
Sukrosa (g)	120	120	120	120	120	120
Minyak Atsiri Pala (%v/b)	0	0,5	1	1,5	2	2,5
Sirup glukosa (g)	60	60	60	60	60	60
Air (ml)	20	20	20	20	20	20

Keterangan:

- A1: penambahan minyak atsiri 0 ml
- A2: penambahan minyak atsiri 1 ml
- A3: penambahan minyak atsiri 2 ml
- A4: penambahan minyak atsiri 3 ml
- A5: penambahan minyak atsiri 4 ml
- A6 : penambahan minyak atsiri 5 ml

3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan terdiri dari dua tahapan, yaitu pembuatan *hard candy* dan pengukuran parameter analisis *hard candy*.

3.3.1 Pembuatan *hard candy* minyak atsiri pala (Maryati., *et al* 2023).

Hard candy minyak atsiri pala dibuat dengan cara melarutkan 120 gram sukrosa ke dalam 20 mL air, dan panaskan hingga suhu 100 °C. Sukrosa yang telah larut sempurna dipanaskan hingga suhu 110 °C dan ditambahkan sirup glukosa sebanyak 60 gram. Proses pemanasan dilanjutkan hingga suhu 140 °C. Setelah suhu tercapai kompor dimatikan dan tunggu suhu turun di suhu ruang hingga suhu 135 °C, dan ditambahkan minyak atsiri sesuai perlakuan dengan variasi perlakuan 0%, 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, dan 2,5% sambil diaduk hingga merata secara cepat namun tidak berbuih, setelah itu adonan permen segera dimasukkan ke dalam cetakan dan dibiarkan sampai mengeras (Lampiran 3.1).

3.3.2 Parameter Analisis

Penelitian ini menggunakan enam parameter, yaitu uji aktivitas antibakteri metode difusi cakram (Balouiri, *et al.*, 2016; Putri 2018; Berlian, *et al.*, 2016) (Lampiran 3.2), *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) (Juwitaningsih, *et al.*, 2025) (Lampiran 3.3), uji komponen volatil bioaktif menggunakan GC-MS (Patkin, *et al.*, 2017) (Lampiran 3.4), uji sensori deskriptif metode RATA (*Rate-All-That-Applly*) (Oppermann, *et al.*, 2017; Fibrianto, *et al.*, 2017; Masrusoh, 2019) oleh panelis tidak terlatih (Lampiran 3.5), uji daya kesukaan (hedonik) (Selvakumara *et al.*, 2017) oleh panelis tidak terlatih dari segi aroma, rasa, *mouthfeel*, *aftertaste*, dan keseluruhan (Lampiran 3.6), serta uji efektivitas (De Garmo. 1984) untuk menentukan *hard candy* minyak atsiri pala yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan mikroba dan disukai oleh panelis (Lampiran 3.7).

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cetakan permen, *thermometer* permen (*merk krischef*), teflon, spatula, timbangan analitik, autoklaf (JLabTech), cawan petri, rak tabung reaksi, inkubator (Heraeus), *laminar air flow* (Crumair), *hotplate* (JlabTech), jarum ose, mortar dan alu, *erlenmeyer*, bunsen, spatula pengaduk, tabung reaksi, *vortex* (Ika Vortex Genus 3), pinset, mikropipet, *beaker glass* (pyrex),

gelas ukur (pyrex), oven, GC-MS (*gas chromatography-mass spectrometry*) (Agilent 7890 a-5975), kuesioner dan jangka sorong

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak atsiri pala yang diperoleh dari PT. Kiat Mataram, sukrosa (rose brand), sirup glukosa (Ambuja), dan air mineral (Aqua). Bahan – bahan lain yang digunakan adalah alkohol (75%), aluminium foil, kapas, kertas cakram, H₂SO₄, BaCl₂, NaCl, spirtus, DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*), biakan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Enterococcus faecalis* yang diperoleh dari Laboratorirum Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jember, Media *Tryptone Soya Agar* (TSA) dan Media *Tryptone Soya Broth* (TSB) yang diperoleh dari Laboratorirum, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

3.5 Analisis Data

Data hasil pengamatan dianalisis secara statistik menggunakan metode *Analysis of Varians* (ANOVA) dengan tujuan untuk mengetahui adanya perbedaan aktivitas mikroba dan karakteristik sensori *hard candy* dengan penambahan minyak atsiri pala, dan jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DNMRT) dengan signifikansi $p \leq 0,05$. Data hasil penelitian dan ANOVA dan DNMRT diolah menggunakan Excel dan SPSS. Hasil uji organoleptik dianalisis menggunakan *chi-square*. Data hasil dari GC-MS dianalisis dengan menampilkan persentase relatif masing-masing senyawa volatil utama dalam bentuk tabel. Penyusunan data disajikan dengan bentuk tabel, grafik dan kurva.