

BAB II. METODE PENELITIAN

A. Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian dimulai pada bulan Agustus 2023 sampai bulan Desember 2023 di Laboratorium Riset Bahan Alam Universitas Nasional Jakarta. Uji preferensi organoleptik dilakukan di Jakarta Selatan, Jakarta Timur, dan Bekasi. Analisis flavonoid total, fenol total, dan analisis antioksidan dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka IPB.

B. Instrumen Penelitian

1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jahe merah segar (*Zingiber officinale* var *rubrum*) yang dipanen dari tanaman yang berumur kurang lebih 1 tahun yang diperoleh dari Desa Cimande, Bogor, Provinsi Jawa Barat (Gambar 1). Sebagai pemanis digunakan gula aren. Untuk penambah aroma digunakan kayu manis (*Cinamomun burmanni*), cengkeh (*Syzygium aromaticum*), adas (*Foeniculum vulgare* Mill), dan serai (*Cymbopogon ciratus*) (Gambar 2)



Gambar 1. Jahe merah



Gambar 2. Bahan penambah aroma yang digunakan (a) Kayu manis; (b) Cengkeh; (c) Adas; (d) Serai

2. Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *food dehydrator*, mesin perajang jahe, grinder, blender, timbangan analog, timbangan digital, ayakan, saringan, kompor listrik, dan alat-alat gelas.

3. Reagensia

Reagensia dan pelarut yang digunakan dalam penelitian ini antara lain larutan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), kuersetin, pereaksi Folin-Ciocalteu, AlCl_3 , Kalium asetat 1 M, NAOH 1%, etanol, dan aquabidestilata.

Definisi operasional variabel disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Definisi Operasional Variabel (DOV)

No	Variabel	DOV	Sumber	Satuan
1	Formula minuman	Formula minuman berbahan baku jahe merah dengan penambahan bahan pemberi aroma yang berbeda (kayu manis, cengkeh, adas dan serai)	-	-
2	Preferensi Organoleptik	Skor kesukaan panelis (rasa dan aroma)	Hasil wawancara (Uji Organoleptik)	-
3	Kadar flavonoid total	Kadar flavonoid total yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan standar quersetin	Hasil pemeriksaan laboratorium	mg QE/g
4	Kadar fenol total	Kadar fenol total yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis metode Folin-Ciocalteu dengan standar asam galat	Hasil pemeriksaan laboratorium	(mg GAE/g) ppm
5	Daya antioksidan	Kapasitas antioksidan formula minuman yang diukur dengan metode DPPH	Hasil pemeriksaan laboratorium	% Inhibisi

C. Cara Kerja

1. Persiapan bahan minuman kesehatan

a. Serbuk jahe merah

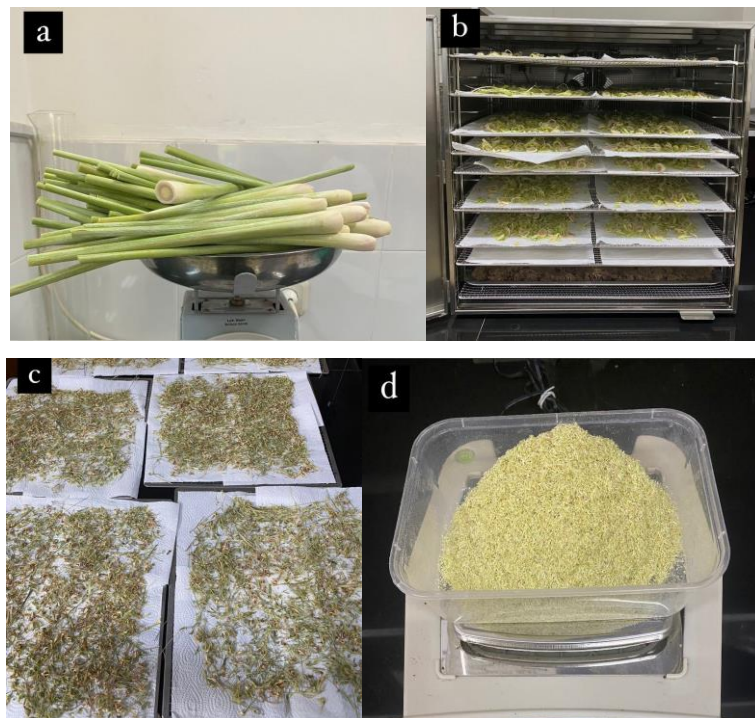
Rimpang jahe merah dibersihkan terlebih dahulu dari akar dan tanah yang menempel pada jahe dengan cara disikat, kemudian dicuci dengan air yang mengalir sampai bersih lalu ditiriskan. Jahe merah yang sudah ditiriskan dipotong tipis-tipis dengan menggunakan alat perajang jahe, kemudian dikeringkan dengan menggunakan *food dehydrator* pada suhu 40⁰C selama 12 jam hingga kering. Jahe yang sudah kering dihaluskan dengan grinder secara berulang hingga halus, lalu diayak hingga didapatkan serbuk kering. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam wadah tertutup dilapisi aluminium foil kemudian disimpan dalam kulkas pada suhu 2-8⁰C.



Gambar 3. Jahe merah (*Zingiber officinale var. rubrum*): (a) rimpang jahe merah; (b) pengeringan jahe merah; (c) irisan jahe merah kering; (d) serbuk jahe merah

b. Serbuk serai

Serai dibersihkan terlebih dahulu dengan air mengalir lalu ditiriskan. Serai dipotong tipis-tipis dengan menggunakan alat perajang dan dikeringkan dengan *food dehydrator* dengan suhu 40°C selama 12 jam. Serai yang sudah kering dihaluskan dengan grinder secara berulang hingga halus, lalu diayak hingga didapatkan serbuk kering. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam wadah tertutup dilapisi alumunium foil kemudian disimpan dalam kulkas pada suhu 2-8°C.



Gambar 4. Serai (*Cymbopogon ciratus*): (a) serai segar; (b) pengeringan serai; (c) serai kering; (d) serbuk serai

c. Serbuk cengkeh

Cengkeh kering dihaluskan dengan grinder secara berulang hingga halus kemudian diayak hingga didapatkan serbuk kering. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam wadah tertutup dilapisi alumunium foil kemudian disimpan dalam kulkas pada suhu 2-8 °C.



Gambar 5. Cengkeh (*Syzygium aromaticum*): (a) cengkeh; (b) serbuk cengkeh

d. Serbuk kayu manis

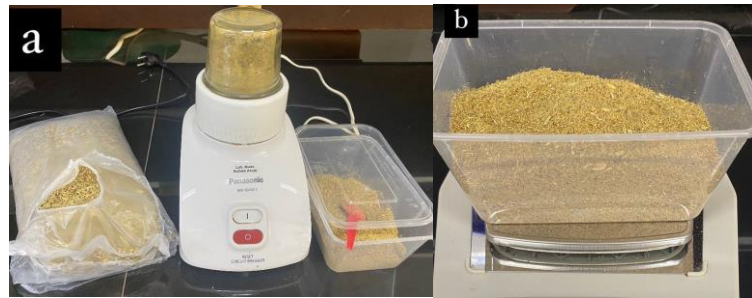
Kayu manis kering dihaluskan dengan grinder secara berulang hingga halus kemudian diayak dan didapatkan serbuk kering. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam wadah tertutup dilapisi alumunium foil kemudian disimpan dalam kulkas pada suhu 2-8 °C.



Gambar 6. Kayu manis (*Cinamomun burmanni*): (a) kayu manis; (b) serbuk kayu manis

e. Serbuk adas

Adas kering dihaluskan dengan grinder secara berulang hingga halus kemudian diayak dan didapatkan serbuk kering. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam wadah tertutup dilapisi alumunium foil kemudian disimpan dalam kulkas pada suhu 2-8 °C.



Gambar 7. Adas (*Foeniculum vulgare* Mill): (a) adas; (b) serbuk adas

2. Pembuatan formula minuman kesehatan

Pembuatan formula minuman kesehatan berbahan baku jahe merah dilakukan dengan cara mencampurkan semua bahan serbuk dan pemanis sesuai komposisi yang terdapat pada Tabel 2, lalu dilarutkan dengan air mendidih suhu 100⁰C dan diaduk hingga tercampur rata kemudian dibiarkan selama 5 menit. Terdapat 4 formula minuman berbahan baku jahe merah, yaitu formula minuman dengan penambah aroma kayu manis, formula minuman dengan penambah aroma cengkeh, formula minuman dengan penambah aroma serai, dan formula minuman dengan penambah aroma adas (Tabel 2).

Tabel 2. Formula minuman berbahan baku jahe merah

No	Formula	Serbuk jahe merah	Gula aren	Serbuk penambah aroma	Air panas
1	FA	5 g	25 g	Kayu manis (0,4 g)	Ad 500 mL
2	FB	5 g	25 g	Cengkeh (0,3 g)	Ad 500 mL
3	FC	5 g	25 g	Serai (0,5 g)	Ad 500 mL
4	FD	5 g	25 g	Adas (0,4 g)	Ad 500 mL

FA = formula dengan bahan tambahan kayu manis
FB = formula dengan bahan tambahan cengkeh
FC = formula dengan bahan tambahan serai
FD = formula dengan bahan tambahan adas

3. Uji preferensi organoleptik

Uji preferensi organoleptik dilakukan di Jakarta Selatan, Jakarta Timur, dan Bekasi menggunakan 100 panelis berumur 18-63 tahun. Pengujian dilakukan untuk mendapatkan tingkat kesukaan panelis terhadap formula minuman berbahan baku jahe merah, yang dinilai berdasarkan parameter aroma dan rasa. Pengujian dilakukan dengan cara meminta panelis mencoba keempat formula minuman berbahan baku jahe merah, kemudian diminta untuk memberi skor sebagaimana Tabel 3.

Tabel 3. Skor Uji preferensi Organoleptik untuk aroma dan rasa

Skor	Keterangan
5	Sangat suka
4	Suka
3	Sedikit suka
2	Tidak suka
1	Sangat tidak suka

4. Uji daya antioksidan

Pengujian daya antioksidan dilakukan pada keempat formula minuman dan larutan bahan dasar berupa larutan jahe merah, gula aren dan penambah aroma yaitu kayu manis, cengkeh, adas, dan serai, dengan konsentrasi yang sama dengan formula minuman kesehatan yang diuji. Pengujian daya antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menggunakan alat *microplate reader* (*Biotek Epoch*) sebagaimana yang dilakukan oleh Palupi dan Widyanto (2020). Pengujian dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka IPB.

- a. Persiapan larutan stok DPPH 125 μ M dilakukan dengan cara menimbang 2,5 mg DPPH ke dalam labu ukur dan ditambahkan larutan etanol hingga 50 mL, kemudian dikocok hingga homogen.
- b. Larutan standar vitamin C dan quersetin ditimbang masing-masing sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan akuabides sebanyak 1 mL, disonikasi hingga larut, kemudian divortex. Sampel dan vitamin C siap dipakai dan diencerkan menjadi berbagai konsentrasi yang diinginkan.
- c. Sampel dan vitamin C yang sudah disiapkan, dimasukkan ke dalam *microplate* (*microplate 96 well Falcon, USA*) sebanyak 100 μ L dan ditambahkan 100 μ L DPPH. Untuk kontrol negatif hanya ditambahkan 100 μ L akuabides ke dalam sampel. Setelah itu inkubasi dilakukan pada suhu ruang bebas cahaya (gelap) selama 30 menit. Pembacaan absorbansi intensitas warna yang terbentuk dilakukan menggunakan spektrofotometer (*Epoch Biotech Instrument, USA*) pada panjang gelombang 517 nm.

5. Penetapan kadar flavonoid total

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan pada keempat formula minuman dan larutan bahan dasar berupa larutan jahe merah, gula aren dan penambah aroma yaitu kayu manis, cengkeh, adas, dan serai dengan konsentrasi yang sama dengan formula minuman kesehatan yang diuji. Pengujian dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka IPB. Penentuan kadar flavonoid total dilakukan dengan metode Kolorimetri- AlCl_3 yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan standar quersetin sebagaimana yang dilakukan oleh Waruwu *et al* (2023). Pembuatan kurva baku quersetin menggunakan seri konsentrasi larutan 20, 30, 40, 50, 60 dan 70 ppm. Sebanyak 0,5 mL larutan sampel, 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL Na_2SO_4 1 M, dan 2,8 mL akuades dimasukkan ke dalam tabung reaksi tersebut lalu dihomogenkan menggunakan vorteks selama 15 detik, lalu diinkubasi pada suhu ruangan selama 30 menit, dan diukur serapan sampel dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 440 nm. Kadar flavonoid total ditentukan menggunakan kurva baku quersetin sebagai standar.

6. Penetapan kadar fenol total

Penetapan kadar fenol total dilakukan pada keempat formula minuman dan larutan bahan dasar berupa jahe merah, gula aren dan penambah aroma yaitu kayu manis, cengkeh, adas, dan serai dengan konsentrasi yang sama dengan formula minuman kesehatan yang diuji. Pengujian dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka IPB. Penentuan kadar fenol total menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan standar asam galat sebagaimana yang dilakukan Adzkiyah dan Hidayat (2022).

a. Pembuatan pereaksi Folin-Ciocalteu 7,5%

Pembuatan pereaksi Folin-Ciocalteu 7,5% yaitu dengan cara memipet Folin-Ciocalteu sebanyak 7,5 ml dan dilarutkan dengan aquades ke dalam labu takar, ditera hingga volume 100 mL dan kemudian dihomogenkan

b. Pembuatan pereaksi NaOH 1%

Pembuatan pereaksi NaOH 1% yaitu dengan cara menimbang NaOH sebanyak 1g kemudian dilarutkan dengan aquades dan disonikasi hingga larut, ditera hingga volume 100 mL dan kemudian dihomogenkan.

c. Pembuatan deret standar asam galat

Pembuatan dengan cara membuat larutan induk asam galat dengan konsentrasi 500 ppm, ditimbang sebanyak 12,5 mg dan dilarutkan dengan metanol dalam labu takar 25 mL. Larutan induk tersebut kemudian dibuat larutan dengan konsentrasi 0;10;30;50;70; dan 100 ppm dalam labu 25 mL.

d. Pengujian larutan standar asam galat dan sampel

Larutan asam galat dipipet sebanyak 1 ml ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi Folin-Ciocalteu 7,5% sebanyak 5 mL, divorteks dan diinkubasi di ruang gelap selama 8 menit. Larutan kemudian ditambahkan NaOH 1% sebanyak 4 mL, divorteks dan diinkubasi di ruang gelap selama 1 jam. Pengukuran serapan dilakukan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 730 nm. Pengujian sampel dilakukan dengan cara memipet larutan hasil ekstraksi dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali ulangan.

D. Analisis Data

Analisis data hasil uji preferensi organoleptik dilakukan dengan uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov atau uji Shapiro-Wilk. Didapatkan hasil data berdistribusi normal, selanjutnya analisis dilanjutkan dengan uji ANOVA untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Hasil dari uji ANOVA menunjukkan nilai p yang signifikan, maka dilakukan uji lanjut (*post-hoc*) menggunakan uji Tukey HSD, sedangkan untuk hasil uji kapasitas antioksidan, kadar fenol total, dan flavonoid total dibuat dalam bentuk tabel kemudian hasilnya dijelaskan secara deskriptif.