

BAB II. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Agustus 2022 sampai dengan November 2022 di Laboratorium Riset Bahan Alam Universitas Nasional Jakarta. Analisis flavonoid total dan fenol total dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian Bogor. Analisis antioksidan dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka IPB.

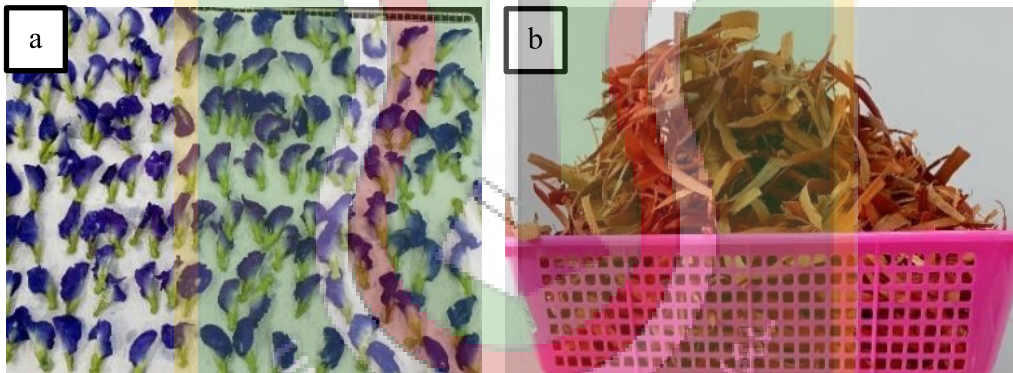
B. Instrumen penelitian

1. Bahan penelitian

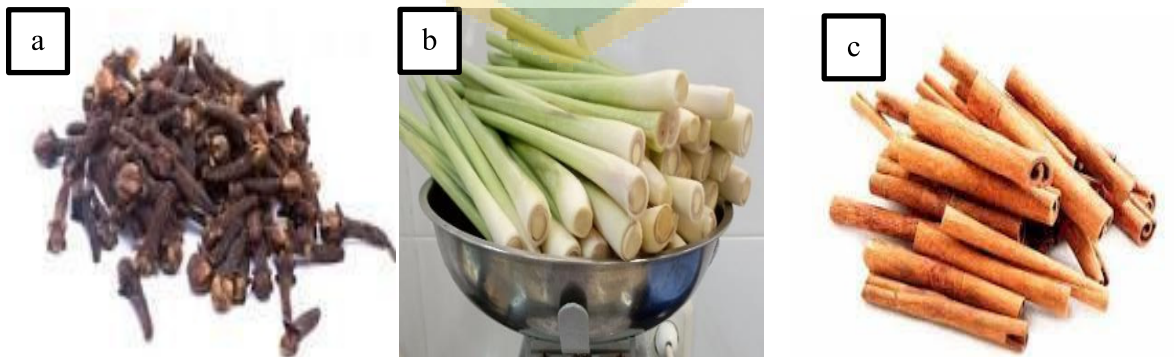
Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah jahe merah segar (*Zingiber officinale* var *rubrum*), yang dipanen dari tanaman yang berumur kurang lebih 1 tahun yang diperoleh dari Desa Cimande, Bogor, Provinsi Jawa Barat (Gambar 1). Sebagai pemanis digunakan gula pasir. Untuk penambahan warna alami digunakan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dan kayu secang (*Caesalpinia sappan*) (Gambar 2). Untuk penambah aroma digunakan serai (*Cymbopogon citratus*), kayu manis (*Cinamomun burmanni*) dan cengkeh (*Syzygium aromaticum*) (Gambar 3). Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) diperoleh dari kebun petani Cibodas Farm Purwakarta Jawa Barat, sedangkan kayu secang (*Caesalpinia sappan*), serai (*Cymbopogon citratus*), kayu manis (*Cinamomun burmanni*) dan cengkeh (*Syzygium aromaticum*) diperoleh dari pasar induk Jakarta.



Gambar 1. Jahe merah



Gambar 2. Pewarna yang digunakan (a) bunga telang; (b) kayu secang



Gambar 3. Aroma yang digunakan (a) cengkeh; (b) serai; (c) kayu manis

2. Alat penelitian

Alat yang digunakan adalah *food dehydrator* (Getra), mesin perajang jahe (Maxindo), blender panasonic, timbangan analog (*Five Goats*), timbangan digital (ACIS), ayakan 60 mesh, saringan, plastik, palu, kain, kompor listrik dan alat-alat gelas.

3. Reagensia dan pelarut

Reagensia dan pelarut yang digunakan dalam penelitian ini antara lain larutan etanol p.a (pro analisis), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), DMSO (Dimetil Sulfoksida), Quersetin, Pereaksi Folin-Ciocalteu, $AlCl_3$, kalium asetat 1 M, aquabidest, NAOH 1%.

Definisi operasional variabel disajikan pada Tabel 1.

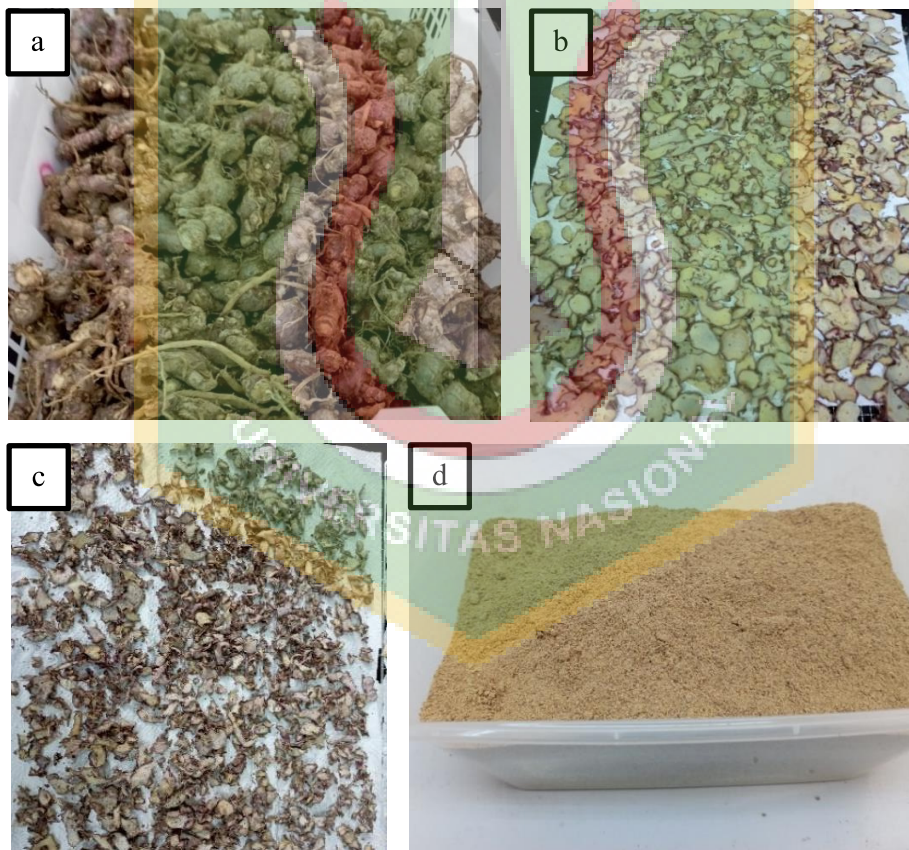
Tabel 1. Definisi Operasional Variabel (DOV)

No	Variabel	DOV	Sumber	Satuan
1	Formula minuman kesehatan	Formula minuman berbahan baku jahe merah dengan pewarna dan pemberi aroma yang berbeda	-	-
2	Preferensi konsumen	Skor kesukaan konsumen (rasa, warna, aroma)	Hasil Wawancara	-
3	Kapasitas Antioksidan	Kapasitas antioksidan formula minuman yang diukur dengan metode DPPH	Hasil pemeriksaan laboratorium	ppm atau $\mu\text{g/mL}$
4	Kadar fenol total	Kadar fenol total yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis metode Folin Cioclteu dengan standar asam galat	Hasil pemeriksaan laboratorium	mg/g
5	Kadar flavonoid total	Kadar flavonoid total yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan standar quersetin	Hasil pemeriksaan laboratorium	mg GAE/g

C. Cara kerja

1. Persiapan serbuk jahe merah

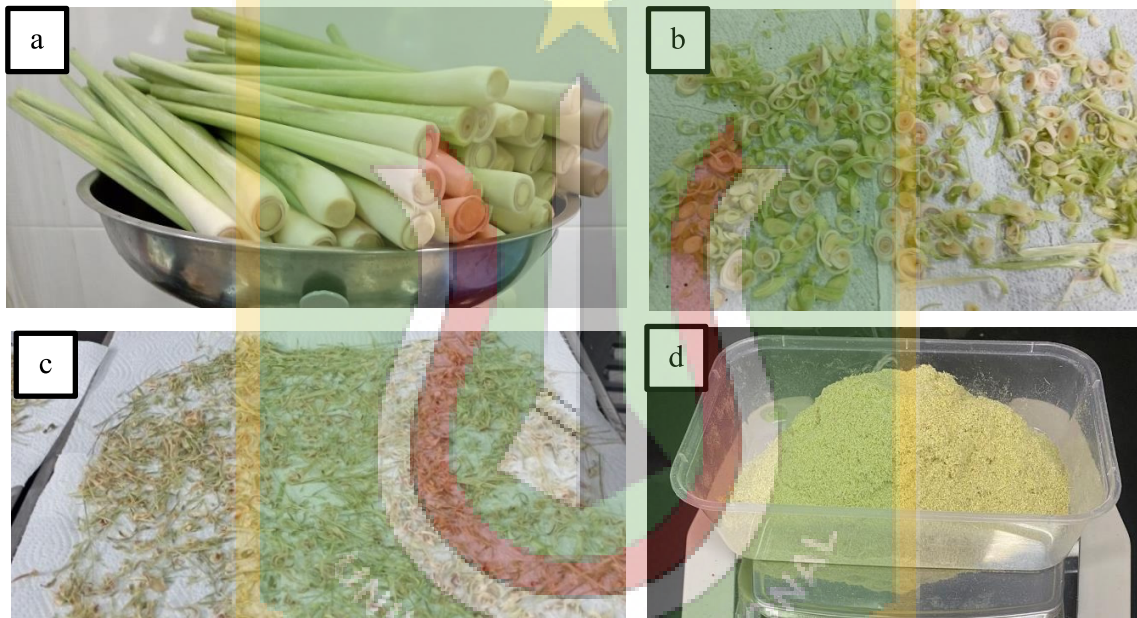
Rimpang jahe merah segar sebanyak 4 kg dibersihkan dari akar dan tanah yang menempel, kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih dan ditiriskan. Jahe merah dipotong tipis-tipis dengan menggunakan alat perajang jahe, kemudian dikeringkan dengan menggunakan *food dehydrator* suhu 40°C selama 12 jam hingga kering. Jahe yang sudah kering diblender berulang hingga halus, diayak dengan ayakan 60 mesh lalu ditimbang keseluruhan dan didapat serbuk kering. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam wadah tertutup kemudian disimpan dalam kulkas pada suhu 2-8 °C (Gambar 4).



Gambar 4. Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*): (a) rimpang jahe; (b) irisan jahe basah; (c) irisan jahe kering; (d) serbuk jahe

2. Persiapan serbuk serai

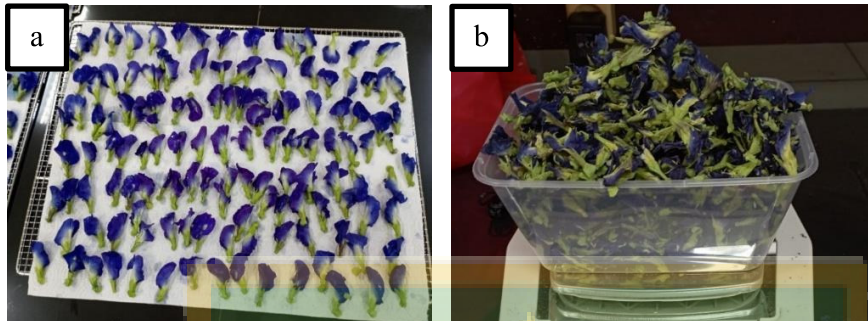
Serai sebanyak 1,5 kg dicuci bersih dengan air mengalir dan ditiriskan. Serai dipotong tipis-tipis dengan menggunakan alat perajang dan dikeringkan dengan *food dehydrator* suhu 40°C selama 12 jam. Serai diblender secara berulang hingga halus, diayak dengan ayakan 60 mesh lalu ditimbang keseluruhan dan didapat serbuk halus. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan disimpan dalam kulkas pada suhu 2-8 °C (Gambar 5).



Gambar 5. Serai (*Cymbopogon citratus*): (a) serai segar; (b) irisan serai basah; (c) irisan serai kering; (d) serbuk serai

3. Persiapan serbuk bunga telang

Bunga telang sebanyak 800 g dicuci dengan air mengalir, bunga telang dikeringkan dengan *food dehydrator* suhu 50°C selama 24 jam. Bunga telang yang telah kering diblender berulang hingga halus, kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh lalu ditimbang keseluruhan dan didapatkan serbuk halus. Serbuk tersebut dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan disimpan dalam kulkas dengan suhu 2-8 °C (Gambar 6).



Gambar 6. Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L): (a) bunga telang segar; (b) bunga telang kering; (c) serbuk bunga telang

4. Persiapan serbuk kayu secang.

Kayu secang kering ditimbang sebanyak 1,2 kg dan diblender berulang hingga halus, kemudian diayak dengan saringan teh. Lalu ditimbang keseluruhan dan didapatkan serbuk serbuk halus. Serbuk tersebut kemudian dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan disimpan dalam kulkas pada suhu 2-8 °C (Gambar 7).



Gambar 7. Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*): (a) kayu secang kering; (b) serbuk kayu secang

5. Persiapan serbuk kayu manis.

Kayu manis kering sebanyak 1,02 kg dimasukkan ke dalam plastik dan ditutup kain kemudian dipukul dengan palu sampai terbentuk kayu manis dalam potong kecil. Kemudian kayu manis diblender hingga halus dan diayak dengan saringan teh. Lalu ditimbang keseluruhan dan didapatkan serbuk halus. Serbuk dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan disimpan dalam kulkas pada suhu 2-8 °C (Gambar 8).



Gambar 8. Kayu Manis (*Cinamomun burmanni*): (a) kayu manis; (b) serbuk kayu manis

6. Persiapan serbuk cengkeh.

Cengkeh kering ditimbang sebanyak 1,1 kg dan diblender berulang hingga halus kemudian disaring dengan ayakan 60 mesh. Serbuk cengkeh yang didapat ditimbang keseluruhan sehingga didapatkan serbuk halus. Serbuk tersebut dimasukkan kedalam wadah tertutup dan disimpan dalam kulkas pada suhu 2-8 °C (Gambar 9).



Gambar 9. Cengkeh (*Syzygium aromaticum*): (a) cengkeh; (b) serbuk cengkeh

7. Pembuatan formula minuman

Pembuatan formula minuman berbahan baku jahe merah dilakukan dengan mencampur semua bahan serbuk dan pemanis sesuai dengan komposisi yang terdapat pada Tabel 2, lalu dilarutkan dalam air panas dengan suhu 100°C dan diaduk hingga tercampur rata dan didiamkan selama 5 menit kemudian disaring.

Tabel 2. Formula minuman jahe merah

No	Formula	Serbuk Jahe merah	Pemanis (Gula pasir)	Serbuk Pewarna	Serbuk Penambah aroma	Air panas 100°C
1	FA	5g	25g	Bunga Telang (0,3 g)	Serai (0,35g)	250 mL
2	FB	5g	25g	Bunga Telang (0,3 g)	Cengkeh (0,15g)	250 mL
3	FC	5g	25g	Bunga Telang (0,3 g)	Kayu Manis (0,35g)	250 mL
4	FD	5g	25g	Kayu Secang (0,3 g)	Serai (0,35g)	250 mL
5	FE	5g	25g	Kayu Secang (0,3 g)	Cengkeh (0,15g)	250 mL
6	FF	5g	25g	Kayu Secang (0,3 g)	Kayu Manis (0,35g)	250 mL

FA = formula dengan bahan tambahan bunga telang dan serai
FB = formula dengan bahan tambahan bunga telang dan cengkeh
FC = formula dengan bahan tambahan bunga telang dan kayu manis
FD = formula dengan bahan tambahan kayu secang dan serai
FE = formula dengan bahan tambahan kayu secang dan cengkeh
FF = formula dengan bahan tambahan kayu secang dan kayu manis

8. Uji preferensi konsumen

Uji Preferensi konsumen dilakukan di kota Jakarta Selatan dan kota Tangerang dengan menggunakan 60 panelis berumur 20-40 tahun, yang memiliki latar belakang sebagai pekerja, dosen dan mahasiswa. Pengujian dilakukan dengan menentukan skor aroma, warna dan rasa, dengan kategori sebagaimana terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Skor uji preferensi konsumen untuk aroma, rasa dan warna

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

11. Analisis kapasitas antioksidan

Analisis daya antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) menggunakan alat microplate reader (*Biotek Epoch*) sebagaimana dilakukan oleh Palupi and Widyanto (2020) dengan sedikit modifikasi. Pengujian dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Biofarmaka IPB.

a. Preparasi larutan stok DPPH 125 μ m

Pembuatan larutan stok DPPH 125 μ m dengan cara menimbang 2,5 mg DPPH kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan larutan etanol p.a. (pro analisis) hingga 50 mL. Labu ukur ditutup dengan aluminium foil, dikocok hingga homogen, larutan DPPH siap dipakai.

b. Preparasi sampel dan vitamin C

Sampel dan vitamin C ditimbang masing-masing sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan DMSO sebanyak 1 ml disonikasi hingga larut dan divorteks. Sampel dan vitamin C siap dipakai dan diencerkan menjadi berbagai konsentrasi yang diinginkan.

c. Pengujian kapasitas antioksidan

Sampel dan vitamin C yang sudah disiapkan, dimasukkan ke dalam microplate masing-masing sebanyak 40 μ L. Untuk sampel dan vitamin C ditambahkan larutan DPPH sebanyak 250 μ L, untuk kontrol negatif hanya ditambahkan etanol p.a (pro analisis) sebanyak 250 μ L. Kemudian diinkubasi pada suhu ruangan dengan kondisi gelap selama 30 menit, dan dilakukan pengukuran absorbansi dengan alat Elisa Reader menggunakan panjang gelombang 517nm.

12. Penetapan kadar flavonoid total

Penetapan kadar flavonoid total dilakukan di Laboratorium Pasca Panen Institut Pertanian Bogor. Penetapan kadar dilakukan sebagaimana yang dilakukan oleh peneliti lain (Azizah *et al.*, 2014) dengan sedikit modifikasi sebagai berikut :

a. Pembuatan kurva standar quersetin

Quersetin ditimbang sebanyak 25 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan etanol 80% sampai volume 25 mL (larutan induk 1000 ppm). Larutan induk di pipet 1 mL dan ditambahkan etanol 80% sampai volume 10 mL sehingga didapatkan larutan standar quersetin 100 ppm. Dari larutan standar 100 ppm buat larutan standar 0,3; 0,5; 1; 5; 25 dan 50 ppm. Masing-masing larutan standar dipipet 0,5 mL kemudian ditambah etanol 95% 1,5 mL, aluminium klorida ($AlCl_3$) 10% 0,1 mL, kalium asetat 1M 0,1 mL dan aquabidest sebanyak 2,8 mL. Larutan tersebut dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit. Serapan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis Agilent Cary 60 pada λ 434 nm. Dibuat kurva kalibrasi dengan menghubungkan nilai serapan (koordinat Y) dan konsentrasi larutan standar (absis X).

b. Penetapan larutan dan serapan blanko

Larutan ini dibuat dengan mengganti larutan standar yang dipakai dengan larutan etanol 0,5 mL, ditambah etanol 95% 1,5 mL, aluminium klorida (AlCl_3) 10% 0,1 mL, kalium asetat 1M 0,1 mL dan aquabidest sebanyak 2,8 mL. Larutan tersebut dikocok sampai homogen dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit. Pengukuran serapan dilakukan dengan dibandingkan blanko.

c. Penentuan kadar flavonoid total sampel minuman

Pengujian kadar flavonoid total sampel minuman dilakukan dengan prosedur yang sama seperti larutan standar. Larutan uji dipipet sebanyak 1,0 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur dan etanol ditambahkan sampai dengan 10 mL dalam labu ukur. Diambil 0,5 mL larutan uji (sampel minuman), kemudian ditambahkan etanol 95% 1,5 mL, aluminium klorida (AlCl_3) 10% 0,1 mL, kalium asetat 1M 0,1 mL dan aquabidest sebanyak 2,8 mL. Diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit. Serapan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis Agilent Cary 60 pada λ 434 nm. Pengukuran serapan dibandingkan dengan blanko dan dilakukan pengulangan triplo.

13. Penetapan kadar fenol total

Penetapan kadar total fenol dilakukan di Laboratorium Pasca Panen Institut Pertanian Bogor, mengikuti prosedur yang dilakukan oleh Adzkiya and Hidayat (2022) dengan sedikit modifikasi.

- a. Pembuatan larutan pereaksi Folin Ciocalteu 7,5% sebagai berikut: Larutan Folin Ciocalteu dipipet sebanyak 7,5 mL ke dalam labu takar. Ditambahkan aquabidest kemudian ditera hingga 100 mL dan dihomogenkan.
- b. Pereaksi NAOH 1 % dibuat dengan cara: NAOH ditimbang sebanyak 1 g, ditambahkan aquabidest dan ditera hingga 100 mL. Kemudian dilarutkan hingga homogen.

- c. Pembuatan larutan standar asam galat. Asam galat sebanyak 12,5 mg dilarutkan dengan metanol dalam labu takar 25 mL. Larutan induk ini diencerkan dan dibuat dengan konsentrasi 0, 20, 30, 50, 70 dan 100 ppm dalam labu takar 25 ml.
- d. Penyiapan larutan uji : Ditimbang 10 mg sampel, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian dilarutkan dengan akuadestilata dan diencerkan hingga tanda batas dengan metanol 95%.
- e. Pengujian larutan standar asam galat dan sampel dilakukan dengan cara: Larutan standar asam galat dipipet sebanyak 1 mL, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 5 ml pereaksi Folin Ciocalteu 7,5%. Dikocok dengan Vorteks dan diinkubasi di ruangan gelap selama 8 jam. Kemudian ditambah 1 mL NAOH 4% vorteks dan inkubasi lagi ke dalam ruangan gelap selama 1 jam. Serapan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 740 nm. Pengukuran serapan sampel dilakukan dengan cara yang sama dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

D. Analisis data

Hasil uji preferensi konsumen dianalisis menggunakan uji Anova satu arah namun tidak memenuhi syarat sehingga dilakukan uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan dengan *Uji Dunn-Bonferroni* pada SPSS. Hasil uji kapasitas antioksidan, fenol total dan flavonoid total dibuat dalam bentuk tabel kemudian hasilnya dijelaskan secara deskriptif.