

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan analisis secara deskriptif untuk mengetahui formulasi, karakteristik, uji aktivitas antioksidan dan stabilitas pada serbuk instan jahe.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi

- a. Uji aktivitas antioksidan dan pembuatan serbuk instan jahe di Laboratorium Teknologi Farmasi, Fitokimia dan Instrument Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
- b. Determinasi tanaman jahe dilakukan di Universitas Diponegoro Semarang tepatnya di Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Jurusan Biologi Fakultas MIPA.

2. Waktu : Bulan November 2021 – Februari 2022

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas adalah variabel yang menyebabkan adanya variabel terikat dan memberikan perubahan. Variabel bebas pada penelitian ini adalah jahe merah (*zingiber officinale variates rubrum*) dan jahe emprit (*zingiber officinale*

variates amarum) dengan variasi formulasi.

2. Variabel terikat

Variabel tergantung adalah variabel yang dipengaruhi akibat dari adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini meliputi:

1. Hasil uji mutu fisik dan stabilitas serbuk instan jahe.
2. Nilai IC₅₀ serbuk instan

D. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah kompor gas, tabung gas, alat penggorengan, spatula, ayakan, blender, baskom, *beaker glass*, gelas ukur, labu takar, *Erlenmeyer*, corong, batang pengaduk, sendok spatel, sendok tanduk, pipet volume, neraca digital, kertas saring, *bold pipet*, kurs, loyang.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah jahe, gula, aquadest, ABTS, Kalium Persulfat (K₂S₂O₈), methanol p.a.

E. Prosedur Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi Jahe Merah (*Zingiber Officinale Variates Rubrum*) dan Jahe Emprit (*Zingiber Officinale Variates Amarum*) dilakukan di Universitas Diponegoro Semarang tepatnya di Laboratorium Ekologi dan Biosistematika Jurusan Biologi Fakultas MIPA.

2. Formulasi Sediaan Serbuk Instan Jahe

Formula yang digunakan pada penelitian ini ada 3 formula. Perbandingan bahan, air dan gula yang digunakan pada formula dibawah ini yaitu 1: 2 : 1,5. Formula serbuk instan jahe dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Formulasi Serbuk Instan Jahe

Bahan	Jumlah bahan (gram)			Fungsi
	F1	F2	F3	
Gula	300	300	300	Pemanis
Jahe Merah	200	-	100	Bahan aktif
Jahe Emprit	-	200	100	Bahan aktif
Air	400	400	400	Pelarut

3. Penyiapan Bahan

Langkah awal dalam penyiapan bahan yaitu pemilihan jenis jahe pada usia panen. Jenis jahe yang dipilih yang memiliki kulit halus sebagai tanda jahe masih segar dan dapat dikonsumsi. Kulit jahe yang keriput dapat menandakan jahe sudah lama dipetik sehingga lebih kering dan dapat menyebabkan berkurangnya kandungan air, manfaat jahe, rasa maupun aroma pada jahe.

Dan selanjutnya pemilihan jahe menurut usia panen pemilihan jahe yang baik untuk pembuatan serbuk instan jahe yaitu jahe dengan

usia panen 10 bulan. Karena jika jahe dipanen kurang dari 10 bulan akan memberikan rasa pahit pada minuman jahe.

4. Pembuatan sampel serbuk instan jahe

Pada proses pembuatan serbuk instan jahe ini menggunakan prinsip kerja metode filtrasi dan metode kristalisasi. Adapun cara pembuatan sebagai berikut:

a. Metode filtrasi

Pertama jahe dicuci bersih, kemudian jahe di kupas kulitnya. Selanjutnya disiapkan dan ditimbang bahan dan alat yang akan digunakan. Jahe yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam blender dan diberi sedikit air agar mempermudah dalam proses penghalusan. Selanjutnya jahe yang halus disaring dan diperas, proses ini dilakukan beberapa kali dengan menambahkan air hingga 400 mL dan kandungan jahe tersari semua yang ditandai dengan hasil sari yang jernih.

Air perasan jahe hasil penyaringan didiamkan selama 30 menit hingga kandungan pati mengendap seluruhnya. Air perasan jahe dengan pati yang sudah mengendap dipisahkan dengan cara dekantasi (proses memisahkan campuran larutan dan padatan dengan menuangkan cairan secara perlahan dan ditunggu beberapa menit sehingga endapan tertinggal dibagian dasar wadah (Wati sukrawati dkk, 20190).

b. Metode kristalisasi

Air perasan jahe dimasukkan ke dalam alat penggorengan, lalu ditambahkan sisa air dan gula yang sudah ditimbang sesuai formula. Campuran semua bahan dipanaskan dengan api sedang, diaduk perlahan dan terus menerus. Setelah gula, air dan jahe sudah tercampur dan mendidih, api dikecilkan dan diaduk terus menerus hingga mengental dan berbentuk serbuk jahe. Hasil serbuk jahe diayak menggunakan ayakan untuk memisahkan serbuk yang halus dengan butiran yang besar, kemudian serbuk dapat diuji.

5. Pembuatan sampel larutan jahe

Pada proses pembuatan sampel larutan pada jahe dilakukan untuk mengambil sari pada jahe dengan cara pamarutan jahe. Pertama yaitu jahe dicuci bersih, kemudian jahe di kupas kulitnya. Selanjutnya disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Parut jahe hingga halus kemudian disaring menggunakan kain bersih untuk didapatkan sari pada jahe, kemudian larutan jahe dapat diuji.

6. Penetapan kadar air

Cawan aluminium dimasukkan kedalam *moisture balance*, kemudian serbuk instan jahe ditimbang hingga tanda pada monitor menunjukkan warna hijau. Selanjutnya dilakukan pemanasan serbuk instan jahe dengan suhu 105°C selama 15 menit. Setelah dicatat % kadar air pada serbuk instan jahe yang muncul pada layar monitor.

7. Penetapan kadar abu

Ditimbang serbuk instan jahe sebanyak 2 g secara seksama,

dimasukkan ke dalam krus porselin yang telah dipijar dan ditara, kemudian diratakan. Krus porselin tersebut dimasukkan dan dipanaskan ke dalam suhu 600°C selama 3 jam hingga arang habis, lalu dinginkan, dan ditimbang hingga diperoleh berat konstan. Kadar abu ditimbang dan dihitung dalam keadaan kering dan suhu normal di udara (Winarto, 2002). Rumus perhitungan kadar abu total adalah :

$$\text{kadar abu total} = \frac{W1 - W2}{W} \times 100 \%$$

Keterangan :

W1 = Bobot sampel + cawan sesudah diabukan (g)

W2 = Bobot cawan kosong dalam (g)

W = Bobot sampel (g)

8. Uji stabilitas serbuk instan

Stabilitas adalah kapasitas senyawa obat atau produk obat untuk tetap dalam spesifikasi yang ditetapkan untuk menjaga kualitas, identitas, kekuatan dan kemurniannya selama pengujian kembali atau periode kadaluwarsa. Uji stabilitas adalah salah satu langkah terpenting dalam proses pengembangan obat atau produk karena dibutuhkan untuk memastikan identitas, potensi dan kemurnian bahan dalam produk yang diformulasikan (Singh, G. dkk., 2008). Uji stabilitas fisik dilakukan dengan cara memasukkan 100 g serbuk instan jahe ke dalam *beaker glass* kemudian ditutup menggunakan *aluminium foil*.

Pada uji stabilitas fisik serbuk instan jahe digunakan perbandingan suhu penyimpanan. Pertama, serbuk instan jahe dimasukkan ke dalam *climatic chamber* dengan suhu 40°C selama 24

jam dan 4°C selama 24 jam dan dilakukan selama 6 siklus (12 hari). Kedua, serbuk instan jahe disimpan pada suhu ruang yaitu 20°C-28°C selama 12 hari. Evaluasi pada pengujian stabilitas fisik meliputi organoleptis, waktu alir, sudut diam dan waktu larut.

a. Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan pengamatan serbuk instan jahe sebelum dan setelah dilakukan penyimpanan. Uji organoleptis meliputi warna, aroma, bau dan rasa (Susiwi, 2009).

b. Waktu alir

Teknik untuk pengukuran kecepatan alir adalah dengan menggunakan metode corong. Caranya dengan memasukkan 100 g serbuk instan jahe kedalam corong alat uji kecepatan alir yang bagian bawahnya tertutup. Laju alir dihitung dengan menggunakan *stopwatch* saat granul keluar dari alat, dimulai dengan dibukanya tutup bagian bawah hingga seluruh massa granul mengalir keluar dari alat uji (Rowe R.C dkk, 2009).

c. Sudut istirahat

Sudut diam didapatkan setelah uji waktu alir dengan serbuk yang berbentuk kerucut dan diukur diameter dan tinggi pada kerucut serbuk.

d. Waktu larut

Uji waktu larut dilakukan dengan cara menimbang 20 g serbuk instan jahe. Selanjutnya serbuk instan jahe yang telah di timbang dilarutkan ke dalam 200 mL air. Kemudian di hitung kecepatan melarutnya dengan menggunakan *stopwatch*. Syarat waktu yang diperlukan serbuk instan jahe untuk melarut kurang dari 5 menit (Siregar, 1992).

9. Uji aktivitas antioksidan

a. Uji Aktivitas Antioksidan Serbuk Instan Jahe

1) Perhitungan ABTS

a) ABTS (0,007M)

Molaritas ABTS yang dibutuhkan 0,007M

BM ABTS = 514,7 g/mol

Volume larutan = 10 mL = 0,01 L

Penimbangan ABTS = BM ABTS × Vol.Larutan × Mol

= 514,7 g/mol × 0,01 L × 0,007M

= 0,0360 g = 36 mg

b) Perhitungan $K_2S_2O_8$ (0,002M)

Molaritas $K_2S_2O_8$ yang dibutuhkan 0,002M

BM $K_2S_2O_8$ = 270,322 g/mol

Volume larutan = 10 mL = 0,01 L

Penimbangan $K_2S_2O_8$ = BM $K_2S_2O_8$ \times Vol.Larutan \times Mol
= 270,322 g/mol \times 0,01 L \times 0,002M
= 0,0054 g = 5,4 mg

2) Pembuatan Larutan ABTS

1. Larutan stok ABTS : Ditimbang 36 mg ABTS (7mM) dilarutkan dengan aquadest ke dalam labu takar 10 mL, dan diinkubasi selama 12-16 jam.
2. Larutan stok $K_2S_2O_8$: Ditimbang 5,4 mg kalium persulfat dilarutkan dengan aquadest ke dalam botol sampai 10 mL dan diinkubasi selama 12-16 jam.
3. Larutan stok ABTS dicampur $K_2S_2O_8$ didalam ruangan gelap dan dicukupkan volumenya dengan methanol p.a sampai 50 mL (Mistriyani dkk, 2018).

3) *Operating time* Larutan ABTS

Larutan ABTS diambil secukupnya dan diletakkan ke dalam kuvet. Larutan didiamkan 1 menit dan dibaca absorbansinya pada menit ke-1 sampai menit ke-30 menit pada panjang gelombang maksimal.

4) Pengukuran panjang gelombang serapan maksimum Larutan ABTS

Larutan stok di ambil secukupnya dan diletakkan ke dalam kuvet. Larutan ini kemudian diukur pada panjang gelombang 734 nm dengan absorbansi $0,7 \pm 0,02$.

5) Pengukuran Absorbansi Larutan ABTS

Larutan ABTS di ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan λ maks yang telah ditentukan.

6) Vitamin C

Ditimbang vitamin C sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 mL methanol p.a ke dalam labu takar 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi sebesar 1000 ppm. Selanjutnya, dilakukan pengenceran dengan konsentrasi 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm dan 7 ppm. Konsentrasi tersebut ditambahkan dengan masing-masing larutan methanol p.a hingga tanda batas 10 mL. Larutan dengan masing-masing konsentrasi diambil 3 mL ABTS kemudian ditambahkan dengan vitamin C yang sudah diencerkan hingga tanda batas. Selanjutnya dibaca kurva baku menggunakan spektrofotometer dan dilakukan pengecekan absorbansi dengan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 739 nm.

b. Pembuatan Larutan Baku sampel

1. Larutan Baku Serbuk Instan Jahe

Ditimbang 10 mg serbuk instan jahe dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan dilarutkan dengan methanol p.a hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi sebesar 1000 ppm. Kemudian, dibuat beberapa seri konsentrasi 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm, 100 ppm dan 110 ppm. Setiap konsentrasi dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan dengan methanol p.a hingga tanda batas.

Setiap konsentrasi diambil 2 mL dan ditambahkan 3 mL larutan ABTS dalam labu takar 5 mL. Larutan tersebut didiamkan selama waktu *operating time* yaitu 4 sampai 8 menit. Kemudian dilakukan pengecekan absorbansi menggunakan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang 739 nm. Kemudian, dilakukan pengujian sebanyak 3 kali sesuai dengan formula jahe yang ada.

2. Larutan Baku Larutan Jahe

Timbang 10 mg larutan jahe dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan dilarutkan dengan methanol p.a hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi sebesar 1000 ppm. Kemudian, dibuat beberapa seri konsentrasi 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm dan 70 ppm. Setiap konsentrasi dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan dengan methanol p.a hingga tanda batas.

Setiap konsentrasi diambil 2 mL dan ditambahkan 3 mL larutan ABTS dalam labu takar 5 mL. Larutan tersebut didiamkan selama waktu *operating time* yaitu 4 sampai 8 menit. Kemudian dilakukan pengecekan absorbansi menggunakan spektrofotometer uv-vis dengan panjang gelombang 739 nm. Kemudian, dilakukan pengujian sebanyak 3 kali sesuai dengan formula jahe yang ada.

F. Analisis Nilai IC₅₀

Perhitungan yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan adalah nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*), nilai tersebut dapat menentukan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menghambat radikal bebas sebesar 50%. Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi sampel (ppm) sebagai absis (sumbu x) dan nilai % inhibisi sebagai ordinatnya (sumbu y) (Mardawati dkk., 2008). Nilai IC₅₀ dihitung pada saat nilai % inhibisi sebesar 50% dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$y = ax + b$$

Keterangan :

y = 50

x = Nilai menunjukkan IC₅₀

a dan b = Nilai regresi linier