

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah produk minuman instan jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) merek A, B, dan C. Sedangkan sampel adalah sejumlah produk minuman instan jahe merah dengan merek A, B, dan C. Pemilihan sampel dilakukan secara acak dengan memperhatikan variasi merek dan produsen untuk mendapatkan representasi yang komprehensif dari produk yang tersedia di pasar tersebut. Jumlah sampel yang diambil bisa disesuaikan dengan kebutuhan penelitian dan keterbatasan yang ada, yaitu 3 produk berbeda terdiri dari merek A, merek B, dan merek C.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah produk minuman instan jahe merah dengan merek yang berbeda yaitu merek A, B, dan C.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel bebas penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dalam minuman instan jahe merah, yang diukur menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, minuman instan jahe merah adalah minuman instan yang mengandung jahe merah dan beredar di pasaran.

Kedua, aktivitas antioksidan adalah aktivitas antioksidan yang diukur menggunakan metode DPPH dengan menghitung IC_{50} . Sampel minuman instan jahe merah akan diekstraksi, dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang tertentu yang spesifik untuk senyawa antioksidan. Hasil pengukuran absorbansi kemudian dikonversi menjadi konsentrasi antioksidan menggunakan kurva standar yang telah dibuat sebelumnya.

C. Bahan dan Alat

Alat penelitian yang digunakan antara lain spektrofotometer UV-Vis, kuvet, pipet volume, neraca analitik, *beaker glass*, labu tetukur, *ultrasonic bath*, kertas saring, pipet tetes. Sedangkan bahan penelitian

yang digunakan adalah sampel minuman instan jahe merah, pelarut (metanol p.a), reagen DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*), aquadest, asam askorbat (vitamin C), kertas aluminium foil.

D. Jalannya Penelitian

1. Penentuan Sampel

Penentuan sampel dilakukan dengan mengumpulkan minuman instan jahe merah dari berbagai merek atau produsen. Sampel yang digunakan terdiri dari sampel merek A, merek B, dan merek C.

2. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

2.1 Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Minuman Instan Jahe Merah. Langkah pertama membuat larutan induk konsentrasi 1000 ppm dengan cara melarutkan 25 mg serbuk minuman instan jahe merah dengan 25 mL metanol p.a dalam labu ukur. Untuk mendapatkan larutan yang terlarut sempurna dan homogen, larutan induk sampel tersebut dimasukkan ke dalam *ultrasonic bath* selama 2 menit lalu disaring dengan menggunakan kertas saring untuk mendapatkan larutan induk sampel yang lebih jernih. Selanjutnya larutan standar sampel diencerkan dari larutan induk 1000 ppm menjadi 4 seri konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, dan 800 ppm sebanyak 5 mL pada setiap konsentrasi dengan menggunakan labu ukur.

2.2 Pembuatan Larutan Baku Induk DPPH 0,4 mM. DPPH ditimbang sebanyak 15,8 mg lalu dilarutkan dengan penambahan metanol p.a sampai tanda batas di dalam labu 100 mL sehingga diperoleh larutan dengan molaritas 0,4 mM (Aritonang, 2019). Larutan ditutup menggunakan aluminium foil untuk menghindari kerusakan karena cahaya.

2.3 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum DPPH. Sebanyak 1 mL larutan DPPH 40 ppm dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, kemudian ditambahkan metanol p.a hingga mencapai tanda batas. Larutan tersebut dihomogenkan dan absorbansinya diukur pada rentang panjang gelombang 400-800 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis untuk menentukan panjang gelombang maksimum DPPH (Susiloningrum dan Erliani, 2021).

2.4 Penetapan *Operating Time*. Sebanyak 1 mL larutan DPPH dan 1 dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, kemudian ditambahkan metanol p.a hingga mencapai tanda batas. Setelah itu, larutan diukur pada panjang gelombang yang telah ditentukan sebelumnya selama 60 menit (Susiloningrum dan Erliani, 2021).

2.5 Pengukuran Absorbansi Larutan Kontrol DPPH.

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,4 mM ditambahkan dengan metanol p.a ke dalam labu ukur 5 mL lalu larutan tersebut dihomogenkan. Seluruh permukaan labu ukur ditutup dengan aluminium foil untuk mencegah cahaya masuk karena DPPH sensitif terhadap cahaya. Setelah itu, larutan diinkubasi selama 60 menit (Hamzah *et al.*, 2014). Selanjutnya, absorbansi larutan kontrol diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH yang telah ditentukan sebelumnya.

2.6 Pengukuran Absorbansi Sampel Minuman Instan Jahe Merah.

Masing-masing konsentrasi larutan sampel 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas. Setelah itu, larutan dihomogenkan, dan seluruh permukaan labu ukur ditutup dengan aluminium foil. Labu ukur kemudian diinkubasi dalam ruangan gelap pada suhu 37°C selama 30 menit untuk memungkinkan reaksi terjadi (Molynux, 2004). Absorbansi diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya. Pengukuran dilakukan dalam tiga kali replikasi.

E. Analisis Hasil

Parameter yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan adalah IC₅₀. IC₅₀ diartikan sebagai konsentrasi efektif (ppm) dari zat antioksidan yang mampu menghambat aktivitas radikal bebas sebesar 50%. Nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menentukan persen penghambatan dari pengujian yang dilakukan. Persentase penghambatan ini dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Tjandra *et al.*, 2011).

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Kemudian dibuat kurva dari nilai persen penghambatan yang diperoleh terhadap konsentrasi larutan uji, selanjutnya dari kurva dibuat regresi linear sehingga:

$$y = ax + b$$

Penentuan nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{a}$$

Menurut Putri dan Hidajati (2015), suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC₅₀-nya

kurang dari 50 ppm, kuat jika nilai IC_{50} -nya antara 50-100 ppm, sedang jika nilai IC_{50} -nya antara 101-250 ppm, lemah jika nilai IC_{50} -nya antara 250-500 ppm, dan sangat lemah jika nilai IC_{50} -nya lebih dari 500 ppm.

Interpretasi hasil dilakukan dengan menafsirkan data yang diperoleh untuk menentukan apakah terdapat perbedaan signifikan dalam aktivitas antioksidan antara berbagai merek atau produsen (Alam *et al.*, 2013). Setelah itu, laporan penelitian disusun, mencakup pendahuluan, metodologi, hasil, diskusi, dan kesimpulan (Ghasemzadeh *et al.*, 2010). Akhirnya, hasil penelitian dipublikasikan dalam bentuk artikel ilmiah atau laporan untuk disampaikan kepada pihak terkait, seperti komunitas ilmiah.