

OPTIMASI FORMULA RUMPUT LAUT COKELAT (*Sargassum sp*), KAYU MANIS (*Cinnamomum burmanii*), dan JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* Var. *Amarum*) SEBAGAI MINUMAN FUNGSIONAL PENGHAMBAT α -Glukosidase

SKRIPSI

Oleh:
RATNA APRILIA SILVI RAHAYU
NIM. 155080307111007



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

OPTIMASI FORMULA RUMPUT LAUT COKELAT (*Sargassum sp*), KAYU MANIS (*Cinnamomum burmanii*), dan JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* Var. *Amarum*) SEBAGAI MINUMAN FUNGSIONAL PENGHAMBAT α -Glukosidase

SKRIPSI

**Sebagai Salah satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya**

Oleh:

RATNA APRILIA SILVI RAHAYU

NIM. 155080307111007



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

OPTIMASI FORMULA RUMPUT LAUT COKELAT (*Sargassum sp*), KAYU MANIS (*Cinnamomum burmanii*), dan JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* Var. Amaru) SEBAGAI MINUMAN FUNGSIONAL PENGHAMBAT α -Glukosidase

Oleh :

RATNA APRILIA SILVI RAHAYU
NIM. 155080307111007



Mengetahui,

Ketua Jurusan



Menyetujui,

Dosen Pembimbing

Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP.

NIP. 19680919 200501 1 001

Tanggal: 17 JUN 2019

Tanggal: 17 JUN 2019

IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul : OPTIMASI FORMULA MINUMAN FUNGSIONAL RUMPUT LAUT COKELAT (*Sargassum sp*), KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) DAN JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* Var Amarum) SEBAGAI MINUMAN FUNGSIONAL PENGHAMBAT α -GLUKOSIDASE

Nama Mahasiswa : RATNA APRILIA SILVI RAHAYU
NIM : 155080307111007
Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING:

Dosen Pembimbing : Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING:

Dosen Penguji 1 : Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes
Dosen Penguji 2 : Hefti Salis Yufidasari, S.Pi, MP

Tanggal Ujian : 29 Mei 2019

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah SWT atas karunia dan kesehatan yang diberikan selama ini sehingga Laporan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Ayahanda Witono dan Ibunda Surip Minarti yang tak pernah lelah memberi petuah bijak dan selalu memberikan semangat yang luar biasa.
3. Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP. selaku Ketua Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan.
4. Ibu Rahmi Nurdiani, S.Pi, MApp.Sc, PhD. selaku Ketua Program Studi Teknologi Hasil Perikanan.
5. Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP. selaku Dosen Pembimbing serta Dosen Pengaji.
6. Ibu Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes dan Ibu Hefti Salis Yufidasari, S.Pi, MP selaku Dosen Pengaji.
7. Teman-teman dekat Queen Tia Phytaloka, Nada Itorul Umam, Brefian Agusti Putra, Khrisna Bayu Koesfajdari dan Rizky Dwi Fernando.
8. Teman-teman Teknologi Hasil Perikanan yang selalu membantu dan memberikan motivasi.
9. Semua pihak yang telah mendukung hingga selesaiya laporan skripsi ini.

RINGKASAN

Ratna Aprilia Silvi Rahayu. Optimasi Formula Rumput Laut Cokelat (*Sargassum sp.*), Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dan Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum) Sebagai Minuman Fungsional Penghambat α -Glukosidase (dibawah bimbingan Bapak Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP).

Sargassum sp. diketahui mengandung florotanin, sejenis polifenol yang juga berkemampuan menurunkan glukosa darah melalui kemampuan menghambat aktivitas α -glukosidase. Kayu manis mempunyai manfaat kesehatan diantaranya sebagai anti hiperglikemik. Senyawa yang dapat berperan sebagai penghambat aktivitas α -glukosidase adalah senyawa kafeat dan sinamat, *Methylhydroxy Calcone Polymer* (MHCP) sinamatdehid dan polimer *procyanidin* type-A polymers. Jahe emprit (*Zingiber officinale* var. Amarum) merupakan salah satu jenis jahe yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku obat-obatan karena memiliki senyawa gingerol dan shogaol yang berpotensi dapat menurunkan kadar gula dalam darah.

α -glukosidase adalah enzim yang berperan dalam pemecahan karbohidrat menjadi glukosa pada saluran pencernaan. Minuman fungsional merupakan pangan yang memiliki fungsi untuk menjaga kesehatan yang sudah terbukti melalui studi ilmiah. Minuman fungsional berasal dari tanaman yang memiliki khasiat dalam mencegah penyakit. Pencampuran dari bahan yang digunakan diharapkan memiliki aktivitas yang sinergis dalam menghambat aktivitas α -glukosidase.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui optimasi formula dari pencampuran *Sargassum* sp., kayu manis (*Cinnamomum burmanii*), dan jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum) sebagai minuman fungsional penghambat α -glukosidase. Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari hingga Maret 2018 yang bertempat di Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan dan Laboratorium Hidrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Fakultas Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim untuk pengujian fitokimia dan untuk pengujian UPLC-MS/MS dilakukan di Pusat Laboratorium Forensik Jakarta Timur.

Metode penelitian yaitu metode eksperimen. Penelitian ini terbagi dalam dua tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan digunakan untuk menentukan titik tengah konsentrasi ekstrak *Sargassum* sp., ekstrak kayu manis dan ekstrak jahe emprit yang digunakan pada penelitian utama. Penelitian utama untuk menentukan optimasi formulasi minuman fungsional dengan menggunakan program *Design Expert 11*. Metode optimasi *Respone Surface Method* (RSM) *Box-Behnken* dengan kombinasi tiga faktor yaitu konsentrasi ekstrak *Sargassum* sp. (A1), konsentrasi ekstrak kayu manis (A2) dan konsentrasi ekstrak jahe emprit (A3). Variabel responnya terdiri dari rasa (B1), warna (B2), kenampakan (B3), aroma (B4), pH (B5), total polifenol (B6) dan penghambatan α -glukosidase (B7). Dilanjutkan dengan pengujian fitokimia untuk memudahkan dalam penggolongan senyawa, uji IC₅₀ (*inhibition concentration 50%*) serta uji UPLC MS/MS minuman fungsional. Data penelitian setiap respon dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh perlakuan terhadap variable respon yang dilakukan.

Hasil penelitian pendahuluan diperoleh hasil titik tengah untuk konsentrasi *Sargassum* sp. 17,5% dengan nilai pH 7,24, nilai rasa 2,26, nilai warna 3,74, nilai kenampakan 3,63 dan nilai aroma 2,17. Ekstrak kayu manis diperoleh titik tengah pada konsentrasi 15% dengan nilai pH 7,84, nilai rasa 3,03, nilai warna 4,00, nilai

kenampakan 3,94 dan nilai aroma 2,91. Ekstrak jahe emprit diperoleh titik tengah pada kosentrasi 32,5% dengan nilai pH 7,99, nilai rasa 2,31, nilai warna 2,63, nilai kenampakan 2,71 dan nilai aroma 2,74

Hasil penelitian utama yang diperoleh yaitu formula minuman fungsional yang disarankan program *Design Expert 11* yaitu ekstrak *Sargassum* sp. 18,168%, kayu manis 13,523%, dan jahe emprit 35,000%. Hasil uji IC₅₀ pada minuman fungsional yang disarankan program *Design Expert 11* yaitu sebesar 12,938,98 ppm minuman dapat menghambat 50% aktivitas α-glukosidase. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa pada minuman fungsional positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, fenol dan saponin. Dari beberapa analisis yang dilakukan pada penelitian utama tidak didapatkan hasil yang optimal pada minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit terhadap penghambatan α-glukosidase. Hal ini dikarenakan oleh *range* konsentrasi yang terlalu dekat pada bahan yang digunakan. Oleh karena itu perlu adanya perbaikan dan *range* konsentrasi lebih diperpanjang sehingga dapat menghasilkan produk yang optimal dengan nilai kepercayaan yang lebih tinggi.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat dan hidayah Nya-lah penulis dapat menyusun Usulan Skripsi yang berjudul Optimasi Formula Rumput Laut Cokelat (*Sargassum* sp.), Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*), dan Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var Amarum) Sebagai Minuman Fungsional Penghambat α -Glukosidase. Laporan skripsi ini berisi pendahuluan, tinjauan pustaka, metode penelitian, hasil pembahasan serta kesimpulan dan saran.

Semoga laporan penelitian ini dapat berguna bagi semua pihak dalam upaya meningkatkan fungsi dan proses belajar mengajar di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang sehingga mendapat ilmu yang bermanfaat.

Malang, April 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
IDENTITAS TIM PENGUJI.....	iv
UCAPAN TERIMA KASIH.....	v
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1.PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Kegunaan.....	4
1.5 Hipotesis	4
1.6 Waktu dan Tempat Penelitian.....	4
2.TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1.Rumput Laut Coklat (<i>Sargassum sp.</i>).....	5
2.2 Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>).....	6
2.3 Jahe Emprit (<i>Zingiber officinale</i> var <i>Amarum</i>).....	8
2.4 Senyawa Bioaktif Sebagai Penghambat α -glukosidase	11
2.4.1 <i>Sargassum sp.</i>	11
2.4.2 Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	12
2.4.3 Jahe Emprit (<i>Zingiber officinale</i> var <i>Amarum</i>)	14
2.5 Enzim	15
2.5.1 Definisi Enzim	15
2.5.2 Mekanisme Kerja Enzim	16
2.6 α -glukosidase	19
3. METODE PENDAHULUAN	23
3.1 Alat dan Bahan.....	23
3.1.1 Alat	23
3.1.2 Bahan	23
3.2 Metode Penelitian.....	24

3.3 Prosedur Penelitian	25
3.4 Penelitian Pendahuluan.....	25
3.4.1 Pembuatan Ekstrak.....	26
3.4.2 Penentuan Titik Tengah.....	28
3.5 Penelitian Utama.....	28
3.5.1 Pembuatan Rancangan Formulasi.....	29
3.5.2 Formulasi Minuman Fungsional	30
3.5.3 Parameter Uji.....	30
3.5.4 Analisis Respon	36
3.5.5 Tahap Optimasi	37
3.5.6 <i>Inhibition Concentration 50 (IC₅₀)</i>	38
3.5.7 Analisis UPLC-MS/MS	38
3.5.8 Analisis Fitokimia	40
4. PEMBAHASAN	42
4.1 Penelitian Pendahuluan.....	42
4.1.1 Penentuan Titik Tengah Rumput Laut Cokelat (<i>Sargassum sp.</i>)	42
4.1.2 Penentuan Titik Tengah Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>).....	43
4.1.3 Penentuan Titik Tengah Jahe Emprit (<i>Zingiber officinale</i>)	43
4.2 Penelitian Utama	44
4.2.1 Tahap Penentuan Batas <i>Box Behnken</i>	44
4.2.2 Formulasi Respon.....	45
4.2.3 Analisis Respon	48
4.2.4 Optimasi Kondisi Minuman Fungsional	63
4.3 <i>Inhibition Concentration 50 (IC₅₀)</i>	66
4.4 Analisis Fitokimia.....	69
4.5 Analisis Uji UPLC-MS/MS	71
4.5.1 Rumput Laut Cokelat (<i>Sargassum sp.</i>)	72
4.5.2 Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	74
4.5.3 Jahe Emprit (<i>Zingiber officinale</i> var <i>Amarum</i>)	75
4.5.4 Minuman Fungsional.....	78
5. KESIMPULAN DAN SARAN	81
5.1 Kesimpulan	81
5.2 Saran	81
DAFTAR PUSTAKA.....	82
LAMPIRAN.....	94

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan Formulasi.....	29
2. Rancangan Formulasi Minuman Fungsional	30
3. Prosedur Uji Penghambatan α -Glikosidase	36
4. Titik Tengah Rumput Laut Cokelat (<i>Sargassum sp.</i>).....	42
5. Titik Tengah Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>).....	43
6. Titik Tengah Jahe Emprit (<i>Zingiber officinale</i> Var <i>Amarum</i>)	44
7. Penetapan Level Batas <i>Box Behnken</i>	45
8. Hasil Formulasi Minuman Fungsional	45
9. Hasil Rancangan Formulasi Respon.....	46
10. Analisis Model untuk Seluruh Respon.....	47
11. <i>Analysis of Variance</i> (ANOVA) Respon pH	55
12. Hasil uji penghambatan aktivitas α -glukosidase	61
13. Komponen Kriteria Respon Optimasi	64
14. Solusi Optimasi Minuman Fungsional <i>Design Expert 11</i>	65
15. Nilai IC ₅₀ Standar Akarbosa dan Minuman Fungsional.....	68
16. Hasil Uji Fitokimia Minuman Fungsional.....	69
17. Senyawa yang terekstrak pada ekstrak <i>Sargassum sp.</i>	73
18. Dugaan Senyawa Hasil Ekstrak Kayu Manis.....	74
19. Dugaan Senyawa Ekstrak Jahe Emprit	76
20. Dugaan Senyawa Minuman Fungsional.....	78
21. Dugaan Senyawa Penghambat Aktivitas α -glukosidase.....	79

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Sargassum</i> sp.....	5
2. Kayu Manis	7
3. Jahe Emprit	10
4. Struktur Senyawa Florotanin.....	12
5. Sinamaldehid.....	14
6. Gingerol.....	15
7. (a) Kontur plot (2D) (b) Kurva permukaan respon (3D) Variabel AB.....	58
8. (a) Kontur plot 2D) (b) Kurva permukaan respon (3D) Variabel AC.....	58
9. (a) Kontur plot (2D) (b) Kurva permukaan respon (3D) Variabel BC.....	59
10. Kurva Regresi IC ₅₀ Standar Akarbosa.....	67
11. Kurva Regresi IC ₅₀ Minuman Fungsional	68
12. Kromatogram Ekstrak <i>Sargassum</i> sp.....	72
13. Kromatogram Ekstrak Kayu Manis	74
14. Kromatogram Ekstrak Jahe Emprit	75
15. Kromatogram Hasil Minuman Fungsional	78

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan Ekstrak <i>Sargassum</i> sp. dengan Metode Dekoksi	94
2. Pembuatan Ekstrak Kayu Manis dengan Metode Dekoksi	95
3. Pembuatan Ekstrak Jahe Emprit dengan Metode Dekoksi.....	96
4. Pembuatan Minuman Fungsional.....	97
5. Prosedur Uji pH	98
6. Prosedur Uji Total Polifenol.....	99
7. Prosedur Uji Penghambatan α -Glukosidase	100
8. Analysis of Variance (ANOVA) Respon.....	101
9. Data Hasil Uji pH	104
10. Data Hasil Uji Organoleptik	105
11. Hasil Uji Respon Total Polifenol.....	113
12. Hasil Uji Respon Penghambatan α -glukosidase.....	115
13. Hasil Uji IC ₅₀ Akarbosa dan Minuman Fungsional.....	116
14. Perhitungan Konsentrasi Minuman Fungsional	117
15. Instrumen Alat UPLC-MS/MS	120
16. Hasil Spektrum UPLC-MS/MS Ekstrak <i>Sargassum</i> sp	123
17. Hasil Spektrum UPLC-MS/MS Ekstrak Kayu Manis	124
18. Hasil Spektrum UPLC-MS/MS Ekstrak Jahe Emprit.....	126
19. Hasil Spektrum UPLC-MS/MS Minuman Fungsional.....	131
20. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak <i>Sargassum</i> sp.	133
21. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak Kayu Manis.....	134
22. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak Jahe Emprit	135
23. Dokumentasi Pengujian pH.....	136
24. Dokumentasi Pembuatan Larutan Asam Galat	137
25. Dokumentasi Pengujian Total Polifenol.....	138
26. Dokumentasi Pengujian α -Glukosidase	140
27. Hasil Uji Fitokimia	142
28. Dokumentasi Hasil Uji Fitokimia.....	143

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sargassum sp. merupakan salah satu jenis rumput laut cokelat yang banyak terdapat di perairan Indonesia yang memiliki nutrisi yang cukup tinggi (Hidayati *et al.*, 2017). *Sargassum* sp. juga mengandung karbohidrat, protein, abu, air, vitamin dan mineral dalam bentuk makro dan mikro elemen yaitu kalium (K), natrium (Na), magnesium (Mg), fosfat (P), iodin (I) dan besi (Fe) (Syad *et al.*, 2013). *Sargassum* sp. memproduksi senyawa bioaktif berupa metabolit sekunder yaitu berupa florotanin, alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, fenol, flavonoid dan kuinon (Putranti, 2013). Alga cokelat termasuk tinggi kadar senyawa fenolik. Salah satu senyawa fenolik yang dapat menurunkan kadar gula darah adalah florotanin (Sedjati *et al.*, 2018). Florotanin adalah anggota keluarga senyawa fenolik yang spesifik ditemukan pada alga cokelat dan diketahui sangat kuat bioaktivitasnya (Sanjeeva *et al.*, 2016). Sejalan dengan penelitian Park, *et al.* (2018), bahwa senyawa florotanin menunjukkan adanya potensi sebagai penghambat aktivitas α -glukosidase.

Tanaman kayu manis termasuk famili *Lauraceae* dengan jumlah spesies yang beragam dan tumbuh dengan baik pada iklim tropis (Apriani, 2012). Jenis kayu manis asal Indonesia adalah *Cinnamomum burmannii* yang sudah lama dikenal masyarakat sebagai rempah-rempah serta secara tradisional dapat digunakan untuk meringankan penyakit pada penderita hiperglikemia (BPOM, 2009). Kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki kandungan berbagai senyawa kimia yang dapat menurunkan glukosa darah melalui penghambatan aktivitas α -glukosidase (Gunawan dan Suhendra, 2015). Senyawa yang dapat berperan sebagai penghambat aktivitas α -glukosidase adalah senyawa kafeat, sinamat dan sinamaldehid dengan gugus sinamoil sebagai penghambat

(Ngadiwyana *et al.*, 2011). Penelitian tentang *Cinnamomum burmannii* sebagai antidiabetes telah dilakukan oleh Mauldina (2011) yang dapat menghambat aktivitas α -glukosidase dengan nilai IC₅₀ 2,11 µg/mL yang berarti sangat berpotensi sebagai senyawa penghambat aktivitas α -glukosidase.

Jahe emprit memiliki komponen aktif antidiabetes melalui aktivitas penghambatan α -glukosidase (Akhani *et al.*, 2001). Senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam jahe adalah substansi fenol (Tsai *et al.*, 2005). Komponen aktif hipoglisemik yang berasal dari tumbuh-tumbuhan adalah terpenoid, alkaloid, cumarin, dan flavonoid (Negri, 2005). Berdasarkan hal-hal tersebut maka diduga jahe emprit yang mengandung senyawa fenol yang mempunyai kemampuan mereduksi sehingga juga mempunyai sifat hipoglisemik. Menurut Yanto, *et al.* (2016), senyawa yang diduga sebagai antidiabetik pada rimpang jahe adalah gingerol, shogaol, paradol, fenol, dan zingeron yang merupakan derivat dari flavonoid.

α -glukosidase adalah enzim yang mengkatalisis pemotongan ikatan glikosidik pada oligosakarida. Aktivitas α -glukosidase dapat berupa degradasi polisakarida menjadi unit monosakarida, sehingga dapat diserap dan digunakan oleh organisme. Oleh karena itu pada kondisi hiperglikemia dimana konsentrasi gula pada darah yang tinggi melebihi normal seperti pada penderita diabetes, penghambatan kerja α -glukosidase dapat membantu mengatasi kondisi hiperglikemia karena jumlah monosakarida yang dapat diserap oleh usus menjadi berkurang (Febrinda *et al.*, 2013).

Bahan-bahan alami dari tanaman banyak mengandung senyawa bioaktif yang dapat digunakan secara luas salah satunya yaitu pangan fungsional. Menurut Zakaria (2015), bahwa pangan fungsional merupakan pangan dalam bentuk produk pangan normal yang dikonsumsi sebagai makanan dan minuman yang dapat memberikan efek manfaat bagi kesehatan selain manfaat zat gizi yang

dikandungnya. Simpson, *et al.* (2005) menyebutkan bahwa minuman fungsional adalah salah satu jenis pangan fungsional berupa produk minuman yang dibuat untuk mempengaruhi dan menguntungkan satu atau lebih banyak fungsi target di dalam tubuh di luar efek nutrisi yang memadai dengan cara yang relevan untuk meningkatkan kesehatan atau pengurangan resiko penyakit.

Ketiga tanaman yang digunakan sebagai bahan baku sudah pernah dibuktikan bahwa dapat menghambat aktivitas α -glukosidase. Penelitian ini dilakukan untuk membuat minuman fungsional dengan mengkombinasikan ketiga bahan utama menjadi satu formula minuman. Dalam penelitian ini produk yang dihasilkan disebut minuman fungsional karena ditinjau dari fungsinya yaitu sebagai produk untuk mencegah penyakit sehingga dapat menjadi konsumsi konsumen sehari-hari yang mana dapat diterima dari segi organoleptik dan yang terpenting diharapkan mampu memberikan efek yang optimal terhadap penghambatan α -glukosidase.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah formulasi *Sargassum* sp., kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* var *Amarum*) dapat memberikan hasil optimal terhadap aktivitas penghambatan α -glukosidase?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui formula pencampuran *Sargassum* sp., kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* Var *Amarum*) sebagai minuman fungsional yang memberikan hasil optimal terhadap aktivitas penghambatan α -glukosidase.

1.4 Kegunaan

Kegunaan penelitian ini untuk memberikan informasi mengenai minuman fungsional kombinasi antara *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit yang mampu secara optimal dapat menghambat aktivitas α -glukosidase.

1.5 Hipotesis

Minuman fungsional kombinasi antara *Sargassum* sp., kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum) dapat memberikan hasil yang optimal sebagai minuman fungsional penghambat aktivitas α -glukosidase.

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan Gedung C lantai 1, dan Laboratorium Hidrobiologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim dan Pusat Laboratorium Forensik Jakarta Timur pada bulan Januari hingga Maret 2019.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Rumput Laut Coklat (*Sargassum* sp.)

Menurut Suparmi dan Sahri (2009), rumput laut atau *seaweed* merupakan salah satu tumbuhan laut yang tergolong dalam makroalga benthik yang banyak hidup melekat di dasar perairan. Rumput laut merupakan ganggang yang hidup di laut dan tergolong dalam divisi *thallophyta*. Klasifikasi rumput laut berdasarkan kandungan pigmen terdiri dari 4 kelas, yaitu rumput laut hijau (*Chlorophyta*), rumput laut merah (*Rhodophyta*), rumput laut coklat (*Phaeophyta*) dan rumput laut pirang (*Chrysophyta*). Rumput laut ini merupakan salah satu kelompok tumbuhan laut yang mempunyai sifat tidak bisa dibedakan antara bagian akar, batang, dan daun. Seluruh bagian tumbuhan disebut *thallus*, sehingga rumput laut tergolong tumbuhan tingkat rendah (Susanto dan Mucktianty, 2002). Bentuk *thallus* rumput laut bermacam-macam, ada yang bulat seperti tabung, pipih, gepeng, bulat seperti kantong, rambut, dan lain sebagainya. *Sargassum* sp. dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. *Sargassum* sp. (Pakidi dan Suwoyo, 2016)

Klasifikasi rumput laut cokelat *Sargassum* sp. menurut Anggadiredja, et al. (2006), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Phaeophyta
Class	: Phaeophyceae
Ordo	: Fucales
Family	: Sargassaceae
Genus	: <i>Sargassum</i>
Species	: <i>Sargassum</i> sp.

Rumput laut *Sargassum* sp. merupakan tumbuhan *cosmopolitan* yang dijumpai tumbuh di perairan karang dan pantai. *Sargassum* sp. adalah rumput laut penghasil alginofit diperoleh dari *kelp* yang merupakan rumput laut dari daerah *subtropics*, sedangkan di perairan Indonesia hanya mempunyai alginofit dari jenis *Sargassum* dan *Turbinaria* (Sulistijo, 2002). Lingkungan tempat tumbuh *Sargassum* terutama di daerah perairan yang jernih dengan substrat dasar batu karang, karang mati, batuan vulkanik, dan benda-benda yang bersifat *massive* yang berada di dasar perairan (Muslimin dan Sari, 2017). *Sargassum* tumbuh di daerah intertidal, subtidal, sampai daerah tubir dengan ombak besar dan arus keras. Kedalaman untuk pertumbuhan dari 0,5-10 m. *Sargassum* dapat tumbuh sepanjang tahun, bersifat perenial atau setiap musim barat maupun timur dapat dijumpai di berbagai perairan (Kadi, 2005).

Sargassum sp. merupakan salah satu rumput laut yang memberikan potensi bagi kesehatan manusia apabila diperlakukan dengan tepat. Pemanfaatan *Sargassum* sp. sebagai produk olahan pangan bagi masyarakat. Ditinjau dari kandungan komponen bioaktif, rumput laut cokelat ini sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai produk pangan fungsional yang dapat meningkatkan kesehatan masyarakat. Menurut Pratiwi (2014) bahwa *Sargassum* sp. merupakan alga yang mengandung senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas penghambatan terhadap dan α -glukosidase. Jeeva, et al. (2012), bahwa alga cokelat mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat bagi kesehatan antara lain senyawa alkaloid, glikosida, tanin dan steroid yang banyak digunakan menjaga kesehatan dan untuk pencegahan.

2.2 Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Deskripsi tanaman kayu manis berupa pohon, tumbuh tegak, tahunan, dan tingginya bisa mencapai 15 m. Batang berkayu, bercabang, dan berwarna hijau

kecoklatan. Daun tunggal, berbentuk lanset, ujung dan pangkal meruncing, tepi rata, saat masih muda berwarna merah tua atau hijau ungu, dan daun tua berwarna hijau. Bunga majemuk malai, muncul dari ketiak daun, berambut halus, dan mahkota berwarna kuning. Buah berwarna hijau saat muda dan hitam setelah tua. Kulit batang mengandung damar, lendir, dan terutama minyak atsiri yang mudah larut dalam air (Syukur dan Hernani, 2002). Pada pengamatan secara makroskopis, potongan kulit kayu manis berbentuk gelondong, agak menggulung dan membujur, sedikit pipih atau seperti berkas yang terdiri dari tumpukan beberapa potong kulit yang membujur. Panjang bisa mencapai 1 m, tebal kulit 1 mm hingga 3 mm atau lebih (Departemen Kesehatan RI, 1977). Kayu manis dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kayu Manis (Rusli dan Abdullah, 2009)

Klasifikasi kayu manis menurut Sunanto (2009), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Laurales
Famili	: Lauraceae
Genus	: <i>Cinnamomum</i>
Spesies	: <i>Cinnamomum burmannii</i>

Tasia dan Widyaningsih (2014), menyatakan bahwa kayu manis merupakan tumbuhan asli Asia Selatan, Asia Tenggara dan daratan Cina, Indonesia termasuk di dalamnya. Tumbuhan ini termasuk famili *Lauraceae* yang memiliki nilai ekonomi dan merupakan tanaman tahunan yang memerlukan waktu lama untuk diambil hasilnya. Komoditas ini selain digunakan sebagai rempah, hasil olahannya seperti

minyak atsiri dan oleoresin banyak dimanfaatkan dalam industri-industri farmasi, kosmetik, makanan, minuman, rokok, dan lain-lain. Kayu manis mengandung minyak atsiri, eugenol, safrole, sinamaldehid, tanin, kalsium oksalat, damar dan zat penyamak, dimana sinamaldehid merupakan komponen yang terbesar yaitu sekitar 70 % (Tasia dan Widyaningsih, 2014).

Komponen kimia terbesar pada kayu manis adalah alkohol sinamat, kumarin, asam sinamat, sinamaldehid, antosinin dan minyak atsiri dengan kandungan gula, protein, lemak sederhana, pektin dan lainnya (Al-Dhubiab, 2012). Kayu manis mengandung sinamaldehid, eugenol, asam sinamat, katekin, epikatekin, dan senyawa polifenol (Qin, 2010). Selain sebagai penambah cita rasa masakan, kayu manis juga mempunyai manfaat kesehatan diantaranya sebagai anti hiperglikemik (Rui *et al.*, 2009). Di Indonesia spesies kayu manis yang ditemukan diantaranya *Cinnamomum burmannii* yang juga memiliki aktivitas hipoglikemia. Berdasarkan penelitian Anggriawan, *et al.* (2015) bahwa serbuk *Cinnamomum* sp. mampu menghambat enzim α -glukosidase dalam berbagai konsentrasi.

2.3 Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var *Amarum*)

Tanaman jahe termasuk dalam famili *Zingiberaceae*, merupakan tanaman berumur panjang dengan rimpang di dalam tanah yang bercabang-cabang dan ke atas mengeluarkan tunas serta batang-batang yang dibalut oleh pelepas daun, dengan tinggi tanaman yang dapat mencapai 0,4 – 0,6 m (Wijayakusuma, 2002). Tanaman jahe adalah tanaman rumput-rumputan berbatang semu. Batang semu jahe diselubungi oleh dasar pelepas daun. Bagian jahe yang banyak digunakan manusia adalah rhizomanya. Rhizo ataupun rimpang jahe merupakan batang yang tumbuh dalam tanah. Bentuk rimpang jahe bercabang-cabang dan tidak teratur. Tanaman jahe dapat diperbanyak dengan menanam rhizoma yang sudah cukup

tua, minimal berumur 9 bulan (Koswara, 1995). Menurut Sutarno, *et al.* (1999), dikenal 3 varietas jahe di Indonesia berdasarkan bentuk, ukuran, dan warna rimpangnya, yaitu jahe besar (sering disebut jahe gajah atau jahe badak), jahe kecil (jahe emprit), dan jahe merah (jahe sunti).

Klasifikasi jahe emprit menurut Kumar, *et al.* (2011), adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i> Rosce
Varietas	: <i>Zingiber officinale</i> var. Amarum

Jahe emprit dikenal dengan nama Latin "*Zingiber officinale* var Amarum" memiliki rimpang dengan bobot berkisar antara 0,5-0,7 kg/rumpun. Struktur rimpang kecil-kecil dan berlapis. Daging rimpang berwarna putih kekuningan. Tinggi rimpangnya dapat mencapai 11 cm dengan panjang antara 6-30 cm dan diameter antara 3,27-4,05 cm. Ruasnya kecil, agak rata sampai agak sedikit menggembung. Jahe ini selalu dipanen setelah berumur tua (Putri, 2014). Batang jahe kecil atau jahe emprit berbentuk bulat, berwarna hijau muda, dan diselubungi oleh pelepas daun sehingga agak keras. Susunan daun berseling-seling dan teratur dengan warna permukaan daun bagian atas hijau muda. Jumlah daun dalam satu pohon sebanyak 20-29 lembar. Ukuran rimpang relatif kecil dan berbentuk agak pipih, berwarna putih sampai kuning. Akar berserat agak kasar dengan ukuran panjang hingga 20 cm dan diameter 5,9 cm. Rimpang jahe kecil aromanya agak tajam dan terasa pedas (Lentera, 2002). Jahe emprit dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Jahe Emprit (Hapsoh *et al.*, 2010)

Menurut Ramadhan (2013) bahwa air rebusan jahe emprit dikenal sangat ampuh dan bermanfaat untuk menghangatkan badan dan mengoptimalkan kesehatan tubuh. Hal ini disebabkan karena kandungan gingerol, zhingeron dan shogaol memberikan rasa pedas dan memberikan efek hangat yang sangat dominan. Jahe mengandung zat aktif zingiberen 5,60%, zingeron 6,53%, asheksadekanoat 3,07%, cis-6-shogaol 5,70%, trans-6-shogaol 12,78%, gingerol 8,22%, cis-8-shogaol 5,29%, asfa roemehibrin 6,17%, decanon 3,30 dan asam benzena asetat 1,47% (Sembiring, 2014). Rimpang jahe emprit juga mengandung gizi cukup tinggi, antara lain 58% pati, 8% protein, 3-5% oleoresin dan 1-3% minyak atsiri (Sari *et al.*, 2006).

Penggunaan minuman jahe sebagai bahan pangan sebenarnya sudah lama dilakukan diberbagai negara berkembang. Indonesia merupakan salah satu negara yang memanfaatkan jahe sebagai bahan pangan bumbu dan minuman sudah menjadi kebiasaan turun temurun. Pemberian jahe dalam bentuk perasan dapat menurunkan kadar glukosa darah (Djama'an *et al.*, 2012). Kandungan senyawa dari jahe emprit yang utama adalah minyak atsiri dan non atsiri. Senyawa yang diduga dapat digunakan untuk menurunkan kadar gula darah pada rimpang jahe emprit adalah gingerol, shogaol, paradol, fenol, dan zingeron yang merupakan derivat dari flavonoid (Yanto *et al.*, 2016).

2.4 Senyawa Bioaktif Sebagai Penghambat α -glukosidase

2.4.1 *Sargassum* sp.

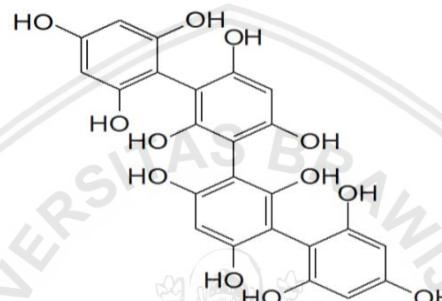
Alga cokelat mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat bagi kesehatan antara lain senyawa alkaloid, glikosida, tanin dan steroid yang banyak digunakan dalam pengobatan dan industri farmasi serta senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki aktivitas α -glukosidase dan berpotensi memberikan efek pencegahan penyakit (Nagappan *et al.*, 2017). *Sargassum* sp. sudah dikaji secara luas menunjukkan potensi adanya senyawa polifenol di dalamnya. Polifenol adalah bioaktif yang beraktivitas penurun glukosa darah karena mampu menghambat aktivitas α -glukosidase. Polifenol sebagai inhibitor α -glukosidase memiliki sifat inhibisi reversibel, dimana polifenol bekerja sebagai inhibitor kompetitif terhadap kerja enzim dengan membentuk senyawa kompleks yang membuat pati masuk ke dalam tubuh tidak dapat terhidrolisis oleh enzim karena sisi aktif enzim tidak dapat mengenai substratnya (Setiawan, 2018).

Senyawa fenolik merupakan salah satu antihiperglikemik yang paling efektif dalam alga cokelat. Kandungan fenolik pada alga cokelat sebesar 20-30% berat kering. Berdasarkan penelitian Pratama, *et al.* (2015), bahwa senyawa fenolik berupa saponin memiliki efek antihiperglikemik penghambat aktivitas α -glukosidase, dan Mun'im dan Andriani (2014), menyatakan bahwa alga cokelat memiliki kandungan senyawa tanin memiliki kemampuan sebagai penghambat α -glukosidase.

Di dalam rumput laut cokelat sangat didominasi oleh adanya senyawa polifenol. Senyawa polifenol dapat digunakan sebagai senyawa antihiperglikemik dengan cara menghambat α -glukosidase. Menurut Hikmah (2015), bahwa senyawa polifenol dapat berperan dalam interaksi dengan sisi aktif enzim α -glukosidase yaitu antara ikatan hidrogen antara gugus hidroksi dari ligan polifenol

dengan residu katalitik dari tempat pengikatan sehingga terjadi pembentukan sistem konjugasi π . Jika ini terjadi maka gula tidak bisa berikatan dengan enzim sehingga tidak terjadi pemecahan (Hikmah, 2015). Firdaus, *et al.* (2017) mengatakan bahwa alga cokelat *Sargassum* sp. diketahui mengandung senyawa polifenol salah satunya adalah senyawa florotanin yang memiliki aktivitas penghambatan dan mampu menurunkan glukosa darah.

Struktur senyawa florotanin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Senyawa Florotanin (Paudel, 2019)

2.4.2 Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

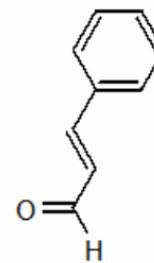
Senyawa yang dapat berperan sebagai penghambat aktivitas α -glukosidase adalah senyawa kafeat dan sinamat (Adisakwattana *et al.*, 2007). Tanaman dan minyak kayu manis dipakai sebagai pengobatan tradisional diabetes. Komponen utama minyak kayu manis adalah sinamaldehid (42-75%), sedangkan komponen lain adalah eugenol, α -pinen, linalool dan benzaldehid (Prasetya dan Ngadiwiyan, 2006). Sinamaldehid mempunyai gugus fungsi yang paling mirip dengan senyawa kafeat dan sinamat dibandingkan komponen minyak kayu manis yang lain sehingga mempunyai kemampuan penghambatan aktivitas α -glukosidase (Ngadiwiyan *et al.*, 2011).

Hasil penelitian Anggriawan, *et al.* (2015), bahwa ekstrak air dan etanol *C. burmannii* mampu menghambat aktivitas α -glukosidase. Aktivitas penghambatan tertinggi terhadap α -glukosidase adalah dari ekstrak etanol 30% *C. burmannii* konsentrasi 1,5% dan ekstrak air *C. burmannii* konsentrasi 1,5% dengan daya

inhibisi berturut-turut adalah 94,88% dan 94,51%. Ekstrak tersebut memiliki daya penghambatan tidak berbeda nyata dengan kontrol positif yaitu *Glucobay* (Akarbosa) 1% sebesar 100,03%.

Utami dan Puspaningtyas (2013), menyatakan bahwa kandungan dalam kayu manis yang dapat menurunkan kadar glukosa darah adalah sinamaldehida. Sinamaldehida ini bekerja dengan cara menghambat α -glukosidase. Enzim ini merupakan enzim yang terdapat pada *brush border* usus halus dan bertugas memecah polisakarida dan disakarida menjadi glukosa. Ada beberapa senyawa yang diduga kuat sebagai senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antidiabetes pada *C. burmannii* diantaranya *Methylhydroxy Calcone Polymer* (MHCP) (Douguia *et al.*, 2007), sinamaldehid (Ngadiwiyana *et al.*, 2011), polimer *procyanidin type-A polymers* (Medagama, 2015). Senyawa lain seperti asam sinamat, sinamid, alkohol sinamat, eugenol dan 2-metoksi sinamaldehid menunjukkan aktivitas yang kecil atau tidak ada (Medagama, 2015).

Berdasarkan Matsui, *et al.* (2004), bahwa gugus yang berperan dalam penghambatan α -glukosidase adalah gugus sinamoil. Komponen minyak kayu manis yang mengandung gugus sinamoil adalah sinamaldehid. Hal ini mendasari pemilihan sinamaldehid sebagai senyawa yang akan diuji penghambatan aktivitas α -glukosidase. Hanefeld (2007) mengatakan bahwa penghambatan α -glukosidase mampu menurunkan kadar glukosa darah dari hasil metabolisme polisakarida atau oligosakarida. Biasanya bahan-bahan antidiabetes mengandung senyawa-senyawa yang bisa menghambat kerja enzim α -glukosidase yang berperan dalam pemecahan karbohidrat menjadi gula darah. Gambar struktur senyawa sinamaldehid dapat dilihat pada Gambar 5.

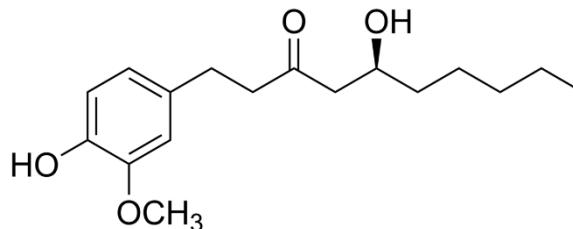


Gambar 5. Sinamaldehid (Ngadiwiyana *et al.*, 2011)

2.4.3 Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var *Amarum*)

Hasil survei mengungkapkan bahwa komponen polifenol pada jahe dapat menurunkan kadar glukosa (*antihyperglycemia*) melalui beberapa jalur salah satunya dengan penghambatan aktivitas α -glukosidase (Hasimun dan Adnyana, 2019). Kandungan senyawa dari jahe yang utama adalah minyak atsiri dan non atsiri. Senyawa yang diduga sebagai penghambat aktivitas α -glukosidase pada jahe adalah gingerol, shogaol, paradol, fenol, dan zingeron yang merupakan derivat dari flavonoid (Yanto *et al.*, 2016). Selain itu komponen aktif hipoglikemik yang berasal dari tumbuh-tumbuhan adalah terpenoid, alkaloid, cumarin, flavonoid, dan capsaicin (Suryani, 2012), gingerol, shogaol, dan alanin (Suhaj, 2006).

Kandungan dari jahe yang baik membuat jahe banyak dimanfaatkan sebagai minuman herbal alami. Komponen gingerol dan shogaol dalam jahe emprit adalah senyawa utama yang berperan dalam penghambatan enzim alfa-glukosidase (Rani *et al.*, 2011). Oboh *et al.* (2010) yang menguji estrak air jahe merah dan emprit, didapatkan bahwa jahe merah memiliki kandungan fenolik yang lebih tinggi serta kegiatan antioksidan lebih tinggi dari ekstrak air jahe emprit. Namun, bertentangan dengan isi fenolik dan sifat antioksidan, didapatkan bahwa jahe emprit memiliki efek penghambatan kuat pada α -glukosidase. Jahe emprit menunjukkan efek penghambatan α -glukosidase lebih kuat. Gambar struktur senyawa gingerol dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Gingerol (Fathona, 2011)

2.5 Enzim

2.5.1 Definisi Enzim

Enzim merupakan sekelompok protein yang mengatur dan menjalankan perubahan-perubahan kimia dalam sistem biologi. Enzim dihasilkan oleh organ-organ pada hewan dan tanaman yang secara katalitik menjalankan berbagai reaksi, seperti hidrolisis, oksidasi, reduksi, isomerasi, adisi, transfer radikal, pemutusan rantai karbon (Supriyatna *et al.*, 2015). Secara umum, enzim menghasilkan kecepatan, spesifikasi, dan kendali pengaturan terhadap reaksi dalam tubuh. Enzim berfungsi sebagai katalisator yaitu senyawa yang meningkatkan kecepatan reaksi kimia. Suatu enzim dapat mempercepat reaksi 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat dibandingkan ketika reaksi tersebut tidak menggunakan katalis. Seperti katalis lainnya, enzim juga menurunkan atau memperkecil energi aktivasi suatu reaksi kimia (Poedjiadi dan Supriyanti, 2009). Setiap enzim memiliki aktivitas maksimum pada suhu tertentu, aktivitas enzim akan semakin meningkat dengan bertambahnya suhu hingga suhu optimum tercapai. Setelah itu kenaikan suhu lebih lanjut akan menyebabkan aktivitas enzim menurun (Megaendari, 2009).

Secara umum, enzim menghasilkan kecepatan, spesifikasi, dan kendali pengaturan terhadap reaksi dalam tubuh. Enzim berfungsi sebagai katalisator, yaitu senyawa yang meningkatkan kecepatan reaksi kimia (Marks *et al.*, 2000). Selain sebagai katalisator dan bekerja secara spesifik, enzim memiliki sifat lain yang seperti dijelaskan oleh Harahap (2012), yaitu :

1. Enzim aktif dalam jumlah yang sangat sedikit. Dalam reaksi biokimia hanya sejumlah kecil enzim yang dibutuhkan untuk mengubah sejumlah besar substrat menjadi produk hasil.
2. Enzim tidak terpengaruh oleh reaksi yang dikatalisnya pada kondisi stabil. Karena sifat protein dan enzim, aktivitasnya dipengaruhi oleh antara lain pH dan suhu. Pada kondisi yang dianggap tidak optimum suatu enzim merupakan senyawa yang relatif tidak stabil dan dipengaruhi oleh reaksi yang dikatalisnya.
3. Walaupun enzim mempercepat penyelesaian suatu reaksi, enzim tidak mempengaruhi kesetimbangan reaksi tersebut. Tanpa enzim reaksi dapat balik yang biasa terdapat dalam sistem hidup berlangsung ke arah kesetimbangan pada laju yang sangat lambat. Suatu enzim akan menghasilkan kesetimbangan reaksi itu pada kecepatan yang lebih tinggi.
4. Kerja katalis enzim spesifik. Enzim menunjukkan kekhasan untuk reaksi yang dikatalisnya. Suatu enzim yang mengkatalis suatu reaksi, tidak akan mengkatalis reaksi yang lain.

2.5.2 Mekanisme Kerja Enzim

Irawati (2016), menyatakan bahwa enzim merupakan katalisator protein yang mengatur kecepatan berlangsungnya berbagai proses fisiologis. Ikatan enzim dengan substrat biasa terjadi di sekitar sisi aktif enzim, selain itu enzim memiliki sisi regulator yang berfungsi sebagai pengatur untuk meningkatkan atau menurunkan aktivitas kerja enzim. Susilo (2012), mengatakan bahwa enzim mengkatalis reaksi dengan cara meningkatkan laju reaksi. Enzim meningkatkan laju reaksi dengan cara menurunkan enzim aktivasi (energi yang diperlukan untuk reaksi). Penurunan energi aktivasi dilakukan dengan membentuk kompleks

dengan substrat. Setelah produk dihasilkan, kemudian enzim dilepaskan untuk membentuk kompleks baru dengan substrat yang lain.

Ada dua cara kerja enzim menurut Tobi dan Bahar (2005), yaitu model kunci gembok dan anak kunci serta teori *induced fit*. Berikut penjelasan singkatnya :

1. Teori gembok dan anak kunci (*Lock and key theory*)

Enzim dan substrat bergabung bersama membentuk kompleks seperti kunci yang masuk dalam gembok. Di dalam kompleks, substrat dapat bereaksi dengan energi aktivasi yang rendah. Setelah bereaksi kompleks terurai dan melepaskan produk serta membebaskan enzim. Menurut teori ini bersifat rigid dan tidak menerima substrat yang strukturnya berbeda dengan sisi katalitiknya.

2. Teori ketepatan yang terinduksi (*Induced fit theory*)

Menurut teori ketepatan yang terinduksi, sisi aktif enzim merupakan bentuk yang fleksibel. Ketika substrat memasuki sisi aktif enzim, bentuk sisi aktif termodifikasi melingkupi substrat membentuk kompleks. Ketika produk sudah terlepas dari kompleks, enzim tidak aktif akan kembali menjadi bentuk yang lepas sehingga substrat yang lain kembali bereaksi dengan enzim tersebut.

Indah (2004), mengatakan bahwa enzim bekerja sangat spesifik. Suatu enzim hanya dapat mengkatalis beberapa reaksi, malahan sering kali hanya satu reaksi saja. Ini merupakan salah satu sifat penting enzim. Namun dalam mekanisme kerjanya, enzim juga dapat mengalami suatu perubahan kecepatan reaksi. Kecepatan reaksi enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi enzim dan konsentrasi substrat. Pengaruh aktivator, inhibitor, koenzim dan konsentrasi elektrolit dalam beberapa keadaan juga merupakan faktor-faktor yang penting. Hasil reaksi enzim juga dapat menghambat kecepatan reaksi. Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi kerja enzim menurut Harahap (2012) adalah sebagai berikut :

1. Temperatur

Enzim tersusun dari protein, maka enzim sangat peka terhadap temperatur. Temperatur yang terlalu tinggi dapat menyebabkan denaturasi protein. Temperatur yang terlalu rendah dapat menghambat reaksi. Pada umumnya temperatur optimum enzim adalah 30-40°C.

2. Perubahan pH

Enzim juga sangat terpengaruh oleh pH. Perubahan pH dapat mempengaruhi perubahan asam amino kunci pada sisi aktif enzim sehingga menghalangi sisi aktif berkombinasi dengan substratnya. pH optimum yang diperlukan berbeda-beda tergantung jenis enzimnya.

3. Konsentrasi enzim dan substrat

Agar reaksi berjalan optimum, maka perbandingan jumlah antara enzim dan substrat harus sesuai. Jika enzim terlalu sedikit dan substrat terlalu banyak reaksi akan berjalan lambat bahkan ada substrat yang tidak terkatalisis.

4. Inhibitor enzim

Seringkali enzim dihambat oleh suatu zat yang disebut inhibitor, ada dua jenis inhibitor yaitu sebagai berikut :

a. Inhibitor kompetitif

Pada penghambatan ini zat-zat penghambat mempunyai struktur yang mirip dengan struktur substrat. Dengan demikian substrat maupun zat penghambat berkompetisi atau bersaing bersatu dengan sisi aktif enzim, jika zat penghambat lebih dulu berikatan dengan sisi aktif enzim, maka substratnya tidak dapat lagi berikatan dengan sisi aktif enzim.

b. Inhibitor nonkompetitif

Pada penghambatan ini substratnya sudah tidak dapat berikatan dengan kompleks enzim inhibitor karena sisi aktif enzim berubah.

2.6 α -glukosidase

α -glukosidase adalah enzim yang berperan dalam pemecahan karbohidrat menjadi glukosa pada saluran pencernaan (Subroto, 2016). Sependapat dengan pernyataan Bosenberg (2008), bahwa α -glukosidase merupakan enzim pencernaan yang berperan untuk mengkonversi karbohidrat menjadi glukosa. Glukosa yang dihasilkan dari pemecahan karbohidrat tersebut selanjutnya akan diabsorpsi pada lumen usus halus dan masuk ke dalam sirkulasi darah sehingga dapat meningkatkan kadar glukosa darah α -glukosidase dapat meningkatkan kadar gula darah sehingga untuk mencegah naiknya gula darah maka dibutuhkan suatu inhibitor α -glukosidase.

Menurut Gao, *et al.* (2007) bahwa α -glukosidase merupakan enzim yang berperan dalam sel usus halus. Enzim tersebut merupakan enzim kunci pada proses akhir pemecahan karbohidrat. α -glukosidase mengkatalisis hidrolisis terminal residu glukosa non pereduksi yang berikatan α -1.4 pada berbagai substrat dan dihasilkan α -D-glukosa. α -glukosidase menghidrolisis ikatan α -glikosidik pada oligosakarida dan α -D-glikosida. Murray, *et al.* (2009) mengatakan bahwa fungsi α -glukosidase dalam sistem pencernaan di usus sebagai katalis tahap terakhir dalam proses pemecahan karbohidrat.

Mekanisme penghambatan α -glukosidase di usus yaitu menghambat pemecahan reaksi enzimatik pati atau karbohidrat larut sehingga dapat memodulasi penurunan penyerapan glukosa dari makanan (Gopal dan Muralikrishna, 2009). Pati atau karbohidrat dipecah oleh enzim-enzim pencernaan seperti α -glukosidase yang berada di usus. Proses pemecahan ini bertujuan untuk memecah gula yang lebih sederhana yaitu monosakarida (Hikmah, 2015). Febrinda, *et al.* (2013) menyatakan bahwa polisakarida kompleks akan dihidrolisis oleh α -amilase menjadi dekstrin dan dihidrolisis lebih lanjut menjadi glukosa oleh α -glukosidase sebelum memasuki sirkulasi darah melalui penyerapan epitelium.

Pada kondisi hiperglikemik, kerja α -glukosidase dalam proses penyerapan makanan di usus harus dihambat. Pemecahan karbohidrat menjadi glukosa mengakibatkan kadar glukosa dalam semakin tinggi. Salah satu obat sintetik yang dapat digunakan sebagai inhibitor α -glukosidase adalah akarbosa yang merupakan inhibitor α -glukosidase pertama yang diperkenalkan di pasaran. Mataputun, *et al.* (2013), menjelaskan bahwa penggunaan obat sintetik memberikan efek samping yang ditimbulkan cukup besar maka diperlukan suatu alternatif pengobatan dengan tingkat efek samping yang rendah, yaitu dengan penggunaan bahan alami melalui pemanfaatan tumbuhan obat yang nantinya dapat diisolasi dan dipasarkan.

Inhibitor α -glukosidase (*Alpha Glucosidase Inhibitor*, AGI) merupakan salah satu agen antidiabetik yang bekerja dengan cara menghambat kerja α -glukosidase. α -glukosidase inhibitor sintetis contohnya adalah acarbose. (Feng *et al.*, 2013). Acarbose dapat menghambat pemecahan dan penyerapan karbohidrat kompleks dengan menghambat α -glukosidase yang terdapat pada dinding enterosit yang terletak pada bagian proksimal usus halus. Secara klinis akan terjadi hambatan pembentukan monosakarida intraluminal, menghambat dan memperpanjang peningkatan glukosa darah (Soegondo, 2009).

Salah satu penghambat enzim pencernaan (α -glukosidase) adalah senyawa polifenol. Polifenol sebagai inhibitor α -glukosidase memiliki sifat inhibisi reversibel, dimana polifenol bekerja sebagai inhibitor kompetitif terhadap kerja enzim dengan membentuk senyawa kompleks yang membuat pati yang masuk ke dalam tubuh tidak dapat terhidrolisis oleh enzim karena sisi aktif enzim tidak dapat mengenai substratnya (Lehninger, 1998). Susanti dan Fibriana (2017), menyebutkan bahwa *inhibitor reversible* dapat dipisahkan dari molekul enzim setelah berikatan dengan enzim.

2.7 Minuman Fungsional

Dasar pertimbangan konsumen di negara-negara maju dalam memilih bahan pangan, bukan hanya bertumpu pada kandungan gizi dan kelezatannya, tetapi juga pengaruhnya terhadap kesehatan tubuhnya yang mana tidak lagi sekedar memenuhi kebutuhan dasar tubuh (yaitu bergizi dan lezat), tetapi juga dapat bersifat fungsional (Suter, 2013). Pangan fungsional merupakan makanan atau minuman yang mengandung bahan-bahan yang dapat meningkatkan status kesehatan dan mencegah timbulnya penyakit tertentu (Septiana dan Dwiyanti, 2009).

Definisi pangan fungsional menurut Badan POM adalah pangan yang secara alamiah maupun telah melalui proses, mengandung satu atau lebih senyawa yang berdasarkan kajian-kajian ilmiah dianggap mempunyai fungsi-fungsi fisiologis tertentu yang bermanfaat bagi kesehatan. Pangan fungsional mempunyai karakteristik sensori berupa penampakan, warna, tekstur dan cita rasa yang dapat diterima oleh konsumen. Selain tidak memberikan kontraindikasi dan tidak memberi efek samping pada jumlah penggunaan yang dianjurkan terhadap metabolisme zat gizi lainnya.

Menurut Winarno, *et al.* (1995) bahwa filosofi makan telah mengalami pergeseran, di mana makan bukanlah sekadar untuk kenyang, tetapi yang lebih utama adalah untuk mencapai tingkat kesehatan dan kebugaran yang optimal. Fungsi pangan dikelompokkan menjadi tiga fungsi yaitu fungsi primer (*primary function*), fungsi sekunder (*secondary function*) dan fungsi tertier (*tertiary function*). Fungsi primer adalah fungsi pangan yang utama bagi manusia yaitu untuk memenuhi kebutuhan zat-zat gizi tubuh, sesuai dengan jenis kelamin, usia, aktivitas fisik, dan bobot tubuh. Fungsi sekunder yaitu memiliki penampakan dan cita rasa yang baik. Bahan pangan yang kini mulai banyak diminati konsumen bukan saja yang mempunyai komposisi gizi yang baik serta penampakan dan cita

rasa yang menarik, tetapi juga harus memiliki fungsi fisiologis tertentu bagi tubuh. Fungsi yang demikian dikenal sebagai fungsi tertier. Semakin tinggi tingkat kemakmuran dan kesadaran seseorang terhadap kesehatan, maka tuntutan terhadap ketiga fungsi pangan tersebut akan semakin tinggi pula. Goldberg (1994), menjelaskan bahwa minuman fungsional didefinisikan sebagai pangan, baik makanan ataupun minuman yang dikonsumsi sebagai komponen dalam diet sehari-hari dan mempunyai khasiat menyembuhkan atau mencegah penyakit di samping khasiat zat gizi yang dikandungnya.

Di Indonesia belum ada data tentang besarnya produksi dan perdagangan pangan fungsional. Di pasar banyak terlihat minuman fungsional telah banyak ditawarkan. Produk-produk tersebut umumnya mengandung taurin, kholin, madu, kafein ginseng dan sebagainya yang diharapkan memberi efek fisiologis pada tubuh. Minuman isotonik yang memiliki kandungan elektrolit lebih komplit dari pada air biasa juga menjadi *trend akhir-akhir ini* (Marsono, 2007). Pangan fungsional yang akan berkembang pesat dimasa mendatang adalah yang erat kaitannya dengan pangan yang mampu menghambat proses penuaan, meningkatkan daya immunitas tubuh, meningkatkan kebugaran, kecantikan wajah dan penampilan, mendukung relaxasi tidur dan istirahat, serta “*good for mood*” (Suter, 2011). Bagi industri pangan, permintaan yang tinggi akan pangan fungsional berarti sebuah peluang untuk meningkatkan keuntungan dengan melakukan inovasi pengembangan produk dengan permintaan pasar. Beragamnya masalah kesehatan yang dihadapi oleh masyarakat juga berarti semakin luas segmen pasar dengan kebutuhan pangan fungsional tertentu (Suter, 2013).

3. METODE PENDAHULUAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Pada penelitian ini alat-alat yang digunakan meliputi alat-alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak dari rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.), kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum) serta untuk pengujian organoleptik (rasa, aroma, warna dan kenampakan), uji pH, uji penghambatan α -glukosidase, uji polifenol dan analisis LC-MS/MS. Alat-alat yang digunakan meliputi pisau, talenan, panci dari tanah liat, kompor, saringan, kain saring, baskom, timbangan digital, timbangan analitik, gelas plastik, sendok, beaker glass 100 mL, gelas ukur 100 mL, beaker glass 500 mL, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, pipet volume 1 mL, labu takar 100 mL, bola hisap, pipet serologis 1 mL, *plate reader*, sputif, pH meter, mikro pipet, spektrofotometer UV-Visible (Merk Genesys 10S UV-Vis), *microplate reader*, inkubator, botol vial, cuvet kaca, dan alat analisis senyawa bioaktif Liquid Chromatography-tandem Mass Spectroscopy (Merk Xevo G2-S Qtof :Quadrupole-Tof).

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan-bahan untuk pembuatan ekstrak dan jus dari *Sargassum* sp. didapatkan dari Sumenep, Madura, kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) didapatkan dari pasar besar kota Malang dan jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum) didapatkan dari pasar besar kota Malang serta untuk pengujian organoleptik, pH, uji penghambatan α -glukosidase dan uji polifenol. Bahan-bahan yang digunakan meliputi rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.), kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum), asam galat, α -glukosidase (Sigma, Singapore),

substrat PNPG (Sigma, Singapore), akuades, akuademineralisata, larutan akarbosa, reagen DMSO (Dimetil Sulfoksida), Na_2CO_3 0.2 M, NaH_2PO_4 0.2 M, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.2 M, Bovin Serum Albumin (BSA), etanol 100%, reagen *Folin Ciocalteu* 10%, kertas label, dan tisu.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksperimen. Metode eksperimen menurut Jaedun (2011), adalah penelitian yang dilakukan terhadap variabel yang data-datanya belum ada sehingga perlu dilakukan proses manipulasi melalui pemberian *treatment*/perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diamati/diukur dampaknya (data yang akan datang). Metode eksperimen juga merupakan penelitian yang dilakukan secara sengaja oleh peneliti dengan cara memberikan *treatment*/perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian guna membangkitkan sesuatu kejadian/keadaan yang akan diteliti bagaimana akibatnya.

Dalam penelitian ini dilakukan eksperimen bahan rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.), kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum) untuk dijadikan minuman fungsional. Analisis yang digunakan adalah analisis faktor dan respon dengan bantuan aplikasi *Design Expert* 11. menggunakan *Respon Surface Method Box-Behnken*. Variabel Penelitian menurut Ridha (2017), adalah satu atribut, nilai/sifat dari objek, individu/kegiatan yang mempunyai banyak variasi tertentu antara satu dan lainnya yang telah ditentukan oleh peneliti untuk dipelajari dan dicari informasinya serta ditarik kesimpulannya. Menurut hubungan antara satu variabel dengan variabel yang lain, maka macam-macam variabel penelitian yaitu :

1. Variabel Independen

Variabel ini sering disebut variabel stimulus, prediktor, *antecedent*. Dalam bahasa indonesia disebut sebagai variabel bebas. Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel dependen (terikat).

2. Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga hubungan variabel independen terhadap dependen tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti. Variabel kontrol sering digunakan bila akan melakukan penilitian yang bersifat membandingkan melalui penelitian eksperimen.

3.3 Prosedur Penelitian

Penelitian meliputi dua tahap yaitu tahap 1 dan tahap 2. Penelitian tahap 1 yaitu penelitian pendahuluan yang diawali dengan penetapan konsentrasi ekstrak rumput cokelat (*Sargassum sp.*), ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), dan ekstrak jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum). Kemudian ditentukan titik tengah dari masing-masing ekstrak menggunakan uji organoleptik yaitu uji hedonik dengan parameter meliputi kenampakan, rasa, warna dan aroma, lalu diuji pH. Pada penelitian tahap 2 yaitu penelitian utama dilakukan pengujian pH, pengujian organoleptik, pengujian total polifenol dan penghambatan α -glukosidase yang selanjutnya dioptimasi dengan *Design Expert 11* metode RSM. Penelitian ini juga dilakukan analisis fitokimia, analisis IC₅₀ dan analisis senyawa dengan uji UPLC-MS/MS untuk mengetahui senyawa yang terdeteksi di dalam minuman fungsional berbasis *Sargassum sp.*, kayu manis dan jahe emprit.

3.4 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan sebanyak 2 tahap. Tahap 1 adalah pembuatan ekstrak rumput laut cokelat (*Sargassum sp.*), kayu manis

(*Cinnamomum burmanii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum). Tahap 2 yaitu penentuan konsentrasi terbaik yang dapat diterima oleh panelis. Penentuan formulasi menggunakan uji pH dan uji organoleptik metode hedonik dengan parameter rasa, warna, aroma dan kenampakan yang dapat diterima oleh panelis.

3.4.1 Pembuatan Ekstrak

a. *Sargassum* sp.

Pada penelitian ini *Sargassum* sp. didapatkan dari petani rumput laut di Sumenep, Madura. Prosedur pembuatan ekstrak dimulai dari mencuci rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.) hingga bersih dari kotoran yang menempel. *Sargassum* sp. yang digunakan meliputi semua bagian dari rumput laut. Selesai dicuci kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan hindarkan dari sinar matahari langsung.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan metode dekoksi. Metode dekoksi merupakan ekstraksi simplisia nabati yang dilakukan relatif sederhana dengan pelarut air untuk memperoleh ekstrak dalam waktu 30 menit terhitung dimulai suhu 90°C. Senyawa bioaktif yang didapat melalui metode dekoksi yaitu polifenol, alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid) (Sitanggang, 2018). Metode dekoksi dilakukan dengan perbandingan bahan dengan pelarut yaitu 1:3 (b/v). Dilakukan penimbangan menggunakan timbangan digital sebanyak 200 g dan kemudian dilakukan pengecilan ukuran untuk memperluas permukaan sehingga *Sargassum* sp. dapat terekstrak dengan maksimal. Panci tanah liat diisi dengan akuades sebanyak 600 mL dan dipanaskan menggunakan kompor dengan api kecil hingga mencapai suhu 90°C. Dilakukan dekoksi selama 30 menit sambil setiap 10 menit sekali diaduk menggunakan spatula kayu agar panasnya lebih merata. Apabila dekoksi selesai kemudian dilakukan penyaringan filtrat *Sargassum* sp. dengan menggunakan kain blancu. Dari proses ini didapatkan

ekstrak *Sargassum* sp. dengan konsentrasi 100%. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan menggunakan akuades hingga mencapai konsentrasi 17,5%, 20% dan 22,5%.

b. Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*)

Kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) yang digunakan didapat dari pasar Besar Kota Malang. Kayu manis dipotong-potong menjadi ukuran yang lebih kecil untuk memperluas permukaan sehingga ekstraksi berjalan maksimal. Kemudian dicuci dengan air bersih kemudian ditiriskan. Selanjutnya kayu manis ditimbang sebanyak 200 g menggunakan timbangan digital. Siapkan akuades sebanyak 600 mL dan panci tanah liat untuk dekoksi yang dilakukan selama 30 menit pada suhu 90°C sambil setiap 10 menit sekali diaduk dengan sudip kayu. Kemudian dilakukan penyaringan dengan kain blancu hingga didapatkan filtrat kayu manis. Sehingga didapatkan ekstrak kayu manis dengan konsentrasi 100%. Kemudian dilakukan pengenceran dengan akuades konsentrasi 12%, 15% dan 18%.

c. Jahe Emprit (*Zingiber officinale Var Amarum*)

Jenis rimpang yang digunakan dalam penelitian ini adalah jahe emprit yang didapatkan dari pasar Besar Kota Malang. Jahe emprit dibersihkan dari tanah yang masih menempel dengan cara dicuci dengan air mengalir. Kemudian diiris kecil-kecil tanpa dikupas kulitnya untuk memperluas permukaan sehingga proses ekstraksi berjalan maksimal dan dengan hasil yang optimal. Irisan rimpang jahe emprit kemudian ditimbang sebanyak 200 g dengan timbangan digital. Disiapkan panci tanah liat yang telah diisi dengan akuades 600 mL dan dipanaskan diatas kompor dengan api kecil hingga mencapai suhu 90°C dan atur api yang kecil agar tetap suhu stabil kemudian masukkan jahe emprit ke dalam panci tanah tersebut. Dekoksi berlangsung selama 30 menit sambil diaduk setiap 10 menit dengan menggunakan spatula kayu. Kemudian dilakukan penyaringan dengan kain blancu hingga didapatkan filtrat jahe emprit dan didapatkan ekstrak jahe emprit dengan

konsentrasi 100%. Kemudian dilakukan pengenceran dengan akuades hingga konsentrasi 27,5%, 30% dan 32,5%.

Pada pembuatan ekstrak *Sargassum* sp., kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* var *Amarum*) didapatkan ekstrak pekat yang akan diencerkan menggunakan akuades menjadi beberapa konsentrasi yang diasumsikan konsentrasi tersebut dapat diterima oleh konsumen.

3.4.2 Penentuan Titik Tengah

Pada penelitian pendahuluan setelah melakukan pembuatan ekstrak *Sargassum* sp., kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* var *Amarum*), kemudian dilakukan pengenceran menggunakan akuades, selanjutnya dilakukan uji pH dan organoleptik dengan metode hedonik dengan parameter kenampakan, warna, aroma dan rasa. Uji pH dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi yang terbaik dan menentukan titik tengahnya. Uji organoleptik untuk menilai tingkat kesukaan dari panelis sehingga didapatkan konsentrasi terbaik yang diterima panelis. Penetapan konsentrasi ekstrak *Sargassum* sp. berdasarkan pada penelitian Gunawan (2018), menyatakan bahwa pada konsentrasi 25%, *Sargassum* sp. menunjukkan hasil yang sangat pekat. Oleh karena itu konsentrasi *Sargassum* sp. diturunkan untuk mengurangi rasa anyir dan pahit. Untuk penetapan konsentrasi kayu manis didasarkan pada penelitian Yulia, *et al.* (2015), mengatakan bahwa perlakuan terbaik kayu manis pada konsentrasi 15%. Kemudian dilanjutkan dengan analisis *RSM-Box Behnken* dengan bantuan program *Design Expert 11* untuk menentukan formulasi optimum.

3.5 Penelitian Utama

Penelitian utama bertujuan untuk menganalisis nilai organoletik, pH, total polifenol serta penghambatan terhadap aktivitas α -glukosidase. Penelitian utama dilakukan setelah menetapkan titik tengah dari masing-masing bahan. Penetapan

titik tengah digunakan untuk menentukan batas atas dan batas bawah yang akan diinput ke software *Design Expert 11* dan untuk menentukan banyaknya perlakuan beserta kombinasi setiap perlakuan. Penelitian utama terdiri dari beberapa tahap diantaranya 1) Tahapan pembuatan rancangan formulasi dan respon, 2) Penetapan formulasi dan uji, 3) Analisis respon, 4) Optimasi.

3.5.1 Pembuatan Rancangan Formulasi

Rancangan formulasi dibuat dengan program *Design Expert 11* dengan metode *RSM Box-behnken Design* untuk menentukan variabel respon dan variabel bebas (faktor). Formulasi didasarkan pada hasil percobaan *trial and error* terhadap karakteristik mutu organoleptik dari minuman fungsional (Naiu, 2010). Pada penelitian ini yang menjadi variabel respon adalah uji pH, pengujian rasa, aroma, kenampakan, warna, uji polifenol dan uji penghambatan α -glukosidase, sedangkan variabel faktor adalah ekstrak *Sargassum sp.*, kayu manis dan jahe emprit. Penentuan variabel faktor diperoleh berdasarkan penelitian pendahuluan dengan dilakukan pengujian organoleptik (kenampakan, aroma, warna dan rasa) dan uji pH untuk menentukan titik tengah setiap faktor dan dilanjutkan dengan penentuan batas titik bawah dan batas atas yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rancangan Formulasi

Faktor	Unit	Batas Bawah	Batas Atas
Ekstrak <i>Sargassum sp.</i>	%	15	20
Ekstrak Kayu Manis	%	12,5	17,5
Ekstrak Jahe Emprit	%	30	35

Rancangan percobaan terdiri dari 3 faktor yaitu *Sargassum sp.*, kayu manis dan jahe emprit. Kombinasi variabel faktor dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum terhadap rasa, warna, kenampakan, aroma, kadar polifenol, penghambatan α -glukosidase. Rancangan percobaan yang ditawarkan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rancangan Formulasi Minuman Fungsional

Run	Kombinasi Bahan (%)		
	Sargassum sp.	Kayu Manis	Jahe Emprit
R.1	17,5	12	30
R.2	15	17	32,5
R.3	17,5	17	35
R.4	20	17	32,5
R.5	15	12	32,5
R.6	17,5	14,5	32,5
R.7	20	14,5	35
R.8	17,5	17	30
R.9	15	14,5	35
R.10	15	14,5	30
R.11	17,5	12	35
R.12	20	14,5	30
R.13	20	12	32,5

3.5.2 Formulasi Minuman Fungsional

Pada tahap formulasi minuman fungsional dari 3 faktor (*Sargassum* sp., kayu manis, dan jahe emprit) sesuai dengan rancangan formula yang diberikan pada Tabel 2. Setiap formula akan dibuat dengan basis 60 mL dengan dilakukan ulangan yang disesuaikan dengan formulasi yang ditawarkan. Seluruh formula minuman yang telah dibuat kemudian dilakukan pengujian terhadap variabel respon yang sudah ditentukan. Variabel respon yang diberikan yaitu respon pH, respon rasa, respon aroma, respon kenampakan, respon warna, respon kadar polifenol dan respon penghambatan α -glukosidase. Hasil pengujian dan perhitungan dari keseluruhan respon, kemudian dimasukkan ke dalam aplikasi *Design Expert 11* untuk selanjutnya dianalisis.

3.5.3 Parameter Uji

a. Uji pH (Adelia et al., 2015)

Pada penelitian ini dilakukan pengujian pH terhadap masing-masing formulasi yang didapat dari optimasi *Design Expert 11*. Penentuan nilai pH menggunakan pH meter. Sebelum digunakan, pH meter dikalibrasi selama 15–30 menit hingga stabil. Elektroda dibilas dengan akuades dan dikeringkan dengan

kertas tisu. Setelah itu elektroda dicelupkan ke dalam sampel ekstrak yang telah disiapkan. Elektroda dibiarkan tercelup beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil.

Langkah pertama adalah disiapkan sampel minuman fungsional yang terdiri dari kombinasi ekstrak *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit, kemudian elektroda pada pH meter dibilas terlebih dahulu dan dilakukan pencelupan elektroda ke dalam sampel yang akan diukur pH nya. Setelah itu dicatat dan dilakukan perulangan.

b. Uji Organoleptik

Analisis sensori atau pengujian organoleptik penting dilakukan untuk mendapatkan formulasi minuman yang paling disukai oleh konsumen atau tidak disukai (Muawanah *et al.*, 2012). Pengujian organoleptik adalah identifikasi, pengukuran ilmiah, analisis, interpretasi dari karakteristik (atribut) produk berdasarkan penerimaan melalui kelima indera manusia (Meilgaard, 1999).

Uji organoleptik yang dilakukan dengan metode hedonik meliputi aroma, rasa, warna dan kenampakan produk yang dihasilkan. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis terhadap produk dengan menggunakan 35 panelis yang memberikan penilaian berdasarkan tingkat kesukaan terhadap produk pada kuisioner yang disediakan. Langkah pertama yaitu dengan menyiapkan sampel kemudian dilakukan pengkodean setelah itu sampel disajikan kepada panelis dan kemudian panelis menilai dengan skala hedonik. Data yang diperoleh diolah secara deskriptif. Skala pengujian 1-5 yaitu 5 = sangat suka, 4 = suka, 3 = agak suka, 2 = tidak suka, 1 = sangat tidak suka. Uji Organoleptik dilakukan untuk mengetahui respon konsumen terhadap minuman fungsional kombinasi *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit.

c. Uji Kadar Polifenol

Senyawa fenol (polifenol) merupakan suatu senyawa yang mengandung gugus hidroksil (-OH) yang terikat langsung pada gugus cincin hidrokarbon aromatik. Klasifikasi senyawa fenol yang terkandung dalam tumbuhan yaitu fenol sederhana, benzoquinone, asam fenolat, asetofenon, naftokuinon, xanton, bioflavonoid kumarin, stilben, turunan tirosin, asam hidroksi sinamat, flavonoid, lignan, dan tanin (Dhianawaty dan Ruslin, 2015).

- **Pembuatan Kurva Standar Asam Galat**

Larutan standar yang digunakan untuk menentukan kadar polifenol yaitu asam galat. Disiapkan larutan asam galat konsentrasi 100 ppm dibuat dengan menimbang 0,01 g asam galat dilarutkan dengan 10 mL etanol PA pada labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan aquades hingga tanda batas. Kemudian dilakukan pembuatan larutan standar yaitu dengan mengambil sebanyak 0 mL; 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; 1 mL larutan stok dan dimasukkan dalam botol vial. Kemudian masing-masing ditambahkan aquades sampai 1 mL. Sehingga didapatkan konsentrasi 0; 20; 40; 60; 80; 100 ppm. Masing-masing kosentrasi dicuplik 200 μ L dan direaksikan dengan 1,5 mL *folin ciocalteu* 10% dihomogenkan dan dibiarkan selama 4-8 menit. Kemudian ditambahkan 1,5 mL larutan Na_2CO_3 5% dan dihomogenkan kembali kemudian diinkubasi pada ruang gelap suhu ruang selama 30 menit. Selanjutnya masing-masing larutan dimasukan dalam cuvet untuk diukur panjang gelombang pada 760 nm dengan spektrofotometer Uv-Vis, hasil dari pembacaan kurva absorbansi dibuat persamaan regresi antara konsentrasi asam galat dengan serapan.

- **Pengujian Total Polifenol Minuman Fungsional**

Uji polifenol dilakukan dengan metode *folin ciocalteu* mengacu pada penelitian Foon, *et al.* (2013). Masing-masing formulasi minuman fungsional 200

μL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 1,5 mL *folin ciocalteu* 10% dihomogenkan dan dibiarkan selama 4-8 menit. Kemudian ditambahkan 1,5 mL larutan Na_2CO_3 5% lalu dihomogenkan kembali dan diinkubasi pada ruang gelap suhu ruang selama 30 menit. Setelah itu dilakukan pembacaan serapan dengan panjang gelombang 760 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan dicatat hasilnya. Hasil dari pengujian total polifenol dihitung absorbansinya lalu dimasukan kedalam *Design Expert* 11 untuk dilakukan analisis.

d. Uji Penghambatan α -Glukosidase

Pengujian penghambatan α -glukosidase mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Widihasputri, *et al.* (2013).

- Penyiapan Larutan Pengujian
 - Larutan Dapar Fosfat pH 6,8

Kalium dihidrogenfosfat 0,2 M dibuat dengan melarutkan 6,805 g kalium dihidrogenfosfat dalam akuademineralisata bebas karbondioksida dan diencerkan hingga 250 mL. Natrium hidroksida 0,2 M dibuat dengan melarutkan 1,6 g NaOH dalam akuademineralisata bebas karbondioksida 200 mL. Dapar fosfat pH 6,8 dibuat dengan mencampurkan 125 mL kalium dihidrogenfosfat 0,2 M dengan 56 mL natrium hidroksida 0,2 M dan diencerkan dengan akuademineralisata bebas karbondioksida hingga 500 mL

- Larutan α -glukosidase

Spesifikasi : 65003-100 UN, tipe I dari *Saccharomyces cerevisiae*

Keterangan kemasan : 10,19 mg solid : 9,8 U/mg solid

Total unit dalam kemasan : 10,19 mg solid x 9,8 U/mg solid
: 99,662 Unit (dalam 10,19 mg solid)

Berikut adalah pembuatan serta perhitungan larutan stok α-glukosidase.

Pembuatan larutan :

Ditimbang 5 mg solid, maka dalam 5 mg solid terdapat 49 unit enzim.

Pengenceran 1 :

$$\begin{aligned} 5 \text{ mg}/10 \text{ mL larutan BSA} &= 49 \text{ Unit}/100 \text{ mL} \\ &= 4,9 \text{ Unit/mL} \end{aligned}$$

Pengenceran 2 :

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 4,9 \text{ U/mL} \times V_1 &= 0,15 \text{ U/mL} \times 20 \text{ mL} \\ V_1 &= (3/4,9) \text{ mL} \\ &= 0,612 \text{ mL} \\ &= 612 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Sehingga untuk membuat larutan α -glukosidase dengan aktivitas 0,15 unit/mL dibutuhkan sebanyak 612 μL dari hasil pengenceran 1 dan ditambahkan BSA hingga mencapai 20 mL dalam kondisi suhu 2-8°C.

- **Larutan substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosa (PNPG)**

Larutan substrat 20 mM dibuat dengan cara melarutkan 60,25 mg PNPG dalam 10 mL akuademineralisata. Larutan substrat dapat diencerkan dengan akuademineralisata hingga konsentrasi 5 mM.

- **Larutan Natrium Karbohidrat 200 mM**

Serbuk natrium karbonat sejauh 10,6 g ditimbang kemudian dengan 500 mL akuademineralisata sehingga mencapai konsentrasi 200 mM. pH natrium karbonat yang digunakan adalah 8,7.

- **Tahap Pengujian**

Pengujian blanko dilakukan dengan cara sebanyak 30 μL larutan dimetil sulfoksida 2% dalam diper fosfat pH 6,8 ditambah dengan 36 μL diper fosfat pH 6,8 dan 17 μL p-nitrofenil- α -D-glukopiranosa (PNPG) 5 mM, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37 °C. Kemudian ditambahkan 17 μL larutan enzim 0,15 U/mL, dan diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37 °C. Setelah masa inkubasi

selesai, ditambahkan 100 μL 267 mM natrium karbonat. Kemudian larutan diukur absorbansinya dengan *microplate reader* pada 405 nm.

Pengujian control blanko dilakukan dengan cara sebanyak 30 μL larutan dimetil sulfoksida 2% dalam dapar fosfat pH 6,8 ditambah dengan 36 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 17 μL p-nitrofenil- α -D-glukopiranosa (PNPG) 5 mM, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37 °C. Kemudian larutan diukur nilai absorbansinya dengan *microplate reader* pada 405 nm.

Pengujian standar dilakukan dengan cara sebanyak 30 μL larutan standar (akarbosa) ditambah dengan 36 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 17 μL p-nitrofenil- α -D-glukopiranosa (PNPG) 5 mM, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37 °C. Kemudian ditambahkan 17 μL larutan enzim 0,15 U/mL, dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C. Setelah masa inkubasi selesai, ditambahkan 100 μL 267 mM natrium karbonat. Setelah itu larutan diukur nilai absorbansinya dengan *microplate reader* pada 405 nm.

Pengujian sampel dilakukan dengan cara sebanyak 30 μL larutan sampel minuman fungsional ditambah dengan 36 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 17 μL p-nitrofenil- α -D-glukopiranosa (PNPG) 5 mM, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37 °C. Kemudian ditambahkan 17 μL larutan enzim 0,15 U/mL, dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C. Setelah masa inkubasi selesai, ditambahkan 100 μL 267 mM natrium karbonat. Setelah itu larutan diukur nilai absorbansinya dengan *microplate reader* pada 405 nm.

Pengujian kontrol sampel dilakukan dengan cara sebanyak 30 μL larutan sampel minuman fungsional ditambah dengan 36 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 17 μL p-nitrofenil- α -D-glukopiranosa (PNPG) 5 mM, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37 °C. Setelah itu larutan diukur nilai absorbansinya dengan *microplate reader* pada 405 nm.

Pengujian kontrol standar dilakukan dengan cara sebanyak 30 μL larutan standar (*acarbose*) ditambah dengan 36 μL dapar fosfat pH 6,8 dan 17 μL p-nitrofenil- α -D-glukopiranosa (PNPG) 5 mM, diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37 °C. Setelah itu larutan diukur nilai absorbansinya dengan *microplate reader* pada 405 nm.

Persebaya inhibisi α -glukosidase dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Serapan kontrol} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan kontrol}} \times 100\%$$

Prosedur uji penghambatan aktivitas α -glukosidase dengan volume total masing-masing 200 μL disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Prosedur Uji Penghambatan α -Glukosidase

Reagen	Volume			
	B ₁	B ₀	S ₁	S ₂
Sampel/Standar	-	-	30	30
DMSO 2% dalam dapar fosfat (pH 6,8)	30	30	-	-
Dapar fosfat pH (6,8)	36	36	36	36
PNPG 5 mM	17	17	17	17
Inkubasi pada 37°C selama 5 menit				
Enzim (0,15 U/mL)	17	-	17	-
Inkubasi pada 37°C selama 15 menit				
Natrium karbonat (267 mM)	100	-	100	-
Ukur absorbansi p-nitrofenol yang terbentuk pada 405 nm				

Keterangan :

B₁ = Blanko

B₂ = Kontrol Blanko

S₁ = Sampel dan Standar (akarbosa)

S₀ = Kontrol Sampel dan Kontrol Standar (akarbosa)

3.5.4 Analisis Respon

Variabel respon dalam penelitian ini yaitu pH, kenampakan, rasa, aroma, polifenol, dan α -glukosidase. Variabel respon kemudian dilakukan analisis satu persatu. Model *Analisis of Variance* (ANOVA) yang digunakan dapat dipilih sesuai yang disarankan oleh program dimana model yang diambil merupakan model dengan tingkat tertinggi dan menghasilkan nilai signifikan ANOVA. Variabel respon yang merupakan hasil analisis ragam yang berbeda nyata dapat digunakan

sebagai model prediksi karena memberikan pengaruh signifikan terhadap respon formula minuman tersebut. Selanjutnya, model yang dianggap sesuai akan ditampilkan dalam sebuah kontur plot dengan bentuk dua dimensi atau tiga dimensi.

Setiap variabel respon kemudian dianalisa ANOVA satu persatu. Model ANOVA yang digunakan dapat dipilih sesuai yang disarankan oleh program yaitu model yang memiliki tingkat tertinggi dan menghasilkan nilai signifikan ANOVA. Model ANOVA yang terdapat pada design ini adalah *Linear, Quadratic, Special Cubic, dan Cubic.* (Nurmiah et al., 2013). Pada penelitian ini model ANOVA yang digunakan adalah kuadratik.

3.5.5 Tahap Optimasi

Tahapan selanjutnya adalah tahap optimasi yang dilakukan setelah melakukan analisis masing-masing respon. Tahap optimasi adalah tahap mencari nilai dari variabel respon secara optimal, efektif dan efisien. Optimasi bertujuan untuk mencari dan memilih kondisi dari beberapa variabel input untuk mendapatkan kondisi yang optimum. Secara umum tahap optimasi sering dilakukan dengan melibatkan satu respon. Jika melibatkan lebih dari satu respon (multirespon), maka proses optimasi harus dilakukan secara bersamaan. Metode optimasi multisensoris yang dapat digunakan adalah *Response Surface Methodology (RSM)* dan *desirability function* (Montgomery, 2009).

Formulasi yang optimal dikenal dengan istilah *desirability* dengan nilai 0-1 untuk memverifikasi dari persamaan matematika pada respon tunggal. Pada optimasi ini jika semakin tinggi nilai *desirability* maka tingkat kesesuaian formula minuman sudah mencapai titik optimal dengan variabel respon yang diinginkan. Formula yang paling optimal adalah formula dengan nilai *desirability* maksimum. Nilai *desirability* merupakan nilai fungsi untuk tujuan optimasi yang menunjukkan

kemampuan program untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir. Nilai *desirability* yang semakin mendekati nilai 1,0 menunjukkan kemampuan program untuk menghasilkan produk yang dikehendaki semakin sempurna (Ramadhani *et al.*, 2017).

3.5.6 Inhibition Concentration 50 (IC₅₀)

Metode yang dilakukan pada uji penghambatan α -glukosidase adalah dengan uji IC₅₀ yang mengacu pada penelitian Sancheti, *et al.* (2009). *Inhibition concentration* 50 atau IC₅₀ merupakan nilai konsentrasi minimal minuman fungsional yang dapat menghambat enzim sampai 50%. Analisis ini dilakukan pada formula minuman fungsional yang paling optimum sesuai yang disarankan oleh program *Design Expert 11* dan akarbosa sebagai standar pembanding. Nilai konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi logaritmik. Persamaan regresi linear yang diperoleh dalam bentuk persamaan $y = a \ln(x) + bx$ digunakan untuk mencari nilai *Inhibitor Concentration* 50% (IC₅₀) dari masing-masing konsentrasi dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat aktivitas enzim α -glukosidase sebesar 50%.

3.5.7 Analisis UPLC-MS/MS

Ultra Performence Liquid Chromatograph - Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS) merupakan satu-satunya teknik kromatografi cair dengan detektor spektrometri massa. Sistem UPLC-MS/MS umumnya menggunakan beberapa jenis *ion source* dan *mass analyzer* yang dapat disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisa (Ginting, 2012). Analisis dengan uji UPLC-MS/MS bertujuan untuk mengetahui senyawa yang terkandung di dalam minuman fungsional yang berbasis *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe merah. Analisis

UPLC-MS/MS dilakukan di Badan Resense Kriminal Polri Pusat Laboratorium Forensik Jakarta Timur dengan spesifikasi UPLC-MS/MS Chromatographic Separation yaitu LC system: *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC), LC Column: ACQUITY UPLC HSS C18 (1,8 μ m 2.1x100 mm) (waters, USA) dengan temperatur: 50°C (*column*), 25°C (*room*), *flow rate*: 0,2 mL/min running 23 menit dan injection volume sebanyak 5 μ L dengan fase gerak (mobile phase) yaitu air dengan 5 mM amonium formic dan acetonitril dengan 0,05% formic acid. Untuk spesifikasi UPLC-MS/MS *Mass spektrometry* yaitu menggunakan sistem ES (*electrospray ionization*), satuan *mass analysis range* : 50-1300 m/z, *Source temperature* : 100°C, *Desolvation temperature* :350°C, *cone gas flow*: 0 L/hr, *Desolvation gas flow* : 793 L/hr, *Collision energi*: 4 Volt dan *Rampt Colision energi* : 25 – 50 Volt (energi tinggi)

Dalam pengujian UPLC-MS/MS dibutuhkan sampel yang dilarutkan dengan akuades, lalu diambil sebanyak 5 μ L larutan dan disuntikkan pada instrumen UPLC MS/MS dengan laju air 0,2 mL/menit. Kemudian dipompa selama 23 menit dan dimasukkan ke dalam katup kolom *selector*. Lalu dilakukan pemisahan lalu dilakukan pemisahan menuju UV detektor dan berat molekul dideteksi dengan spektrometer massa.

Setelah didapatkan hasil maka tahap selanjutnya adalah intrepretasi dari hasil pengujian UPLC-MS/MS. Dari hasil pengujian akan didapat grafik kromatogram yang akan dibaca menggunakan software *Masslynk v 4.1* yang kemudian akan memunculkan peak, dari peak tersebut akan memunculkan beberapa *monoisotopic mass*. Selanjutnya *monoisotopic mass* yang sudah muncul dari software dilakukan identifikasi dari web *massbank*, *chemspider* atau *pubchem* untuk mengetahui nama dan gugus kimia yang terdapat dalam sampel. Setelah itu digolongkan berdasarkan gugus fungsinya dan diidentifikasi senyawa yang memiliki kemampuan untuk penghambatan α -glukosidase.

3.5.8 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengetahui bahan aktif yang merupakan metabolit sekunder pada tumbuhan. Bahan aktif ini dapat berfungsi sebagai pertahanan diri tumbuhan terhadap lingkungan, penyakit dan serangan pemangsa. Beberapa metabolit sekunder diproduksi pada tahap dan jalur metabolisme yang berbeda (Purwati *et al.*, 2017). Metode uji fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Kristianti *et al.*, 2008). Pada penelitian ini dilakukan pengujian fitokimia dengan tujuan untuk memudahkan skrining dan identifikasi golongan senyawa yang terdapat di dalam minuman fungsional.

a. Flavonoid (Marliana, 2005)

1 mL ekstrak pekat dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1-2 mL metanol panas, lalu ditambahkan serbuk logam Mg. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL HCl pekat. Apabila menghasilkan warna merah atau jingga, maka ekstrak positif mengandung flavonoid.

b. Tanin (Marliana, 2005)

1,5 mL ekstrak pekat dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes akuades panas, lalu didinginkan dan disaring. Kemudian ditambahkan 3 tetes NaCl 10%, lalu disaring. Selanjutnya ditambahkan 2 tetes FeCl₃ 1%. Apabila menghasilkan warna hijau kehitaman/biru tua, maka sampel positif mengandung tanin.

c. Saponin dengan metode Forth (Marliana, 2005)

1 mL ekstrak pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 mL akuades dan dikocok selama 30 detik. Jika menimbulkan busa dan tidak hilang dalam 30 detik, maka ekstrak tersebut positif mengandung saponin. Untuk mempertahankan busa bisa ditambahkan HCl 1 M.

d. Fenolik (Harbone, 2004)

1 mL ekstrak pekat dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 tetes FeCl_3 1%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat.

e. Alkaloid (Nursal, 2005)

1 mL ekstrak pekat dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3-5 tetes pereaksi *Dragendorff*. Reaksi positif terjadi apabila terbentuk endapan cokelat atau jingga.

f. Terpenoid/Steroid (Mojab et al., 2005)

1 mL ekstrak pekat dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 mL kloroform, lalu ditambahkan dengan 0,5 mL asetat anhidrat. Selanjutnya campuran tersebut ditambahkan 3-5 tetes H_2SO_4 pekat melalui dinding tersebut. Apabila terbentuk warna hijau atau biru, maka ekstrak tersebut mengandung steroid. Sedangkan apabila terbentuk warna ungu merah, maka ekstrak tersebut positif mengandung triterpenoid.

4. PEMBAHASAN

4.1 Penelitian Pendahuluan

Pada penelitian ini dilakukan penelitian pendahuluan dengan tujuan untuk mengetahui titik tengah dari setiap faktor. Pada tahap formulasi peneliti juga harus mengetahui titik minimum dan titik maksimum pada setiap faktor yang digunakan yaitu rumput laut cokelat (*Sargassum sp.*), kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* var *Amarum*) dengan berdasarkan uji organoleptik dan uji pH.

4.1.1 Penentuan Titik Tengah Rumput Laut Cokelat (*Sargassum sp.*)

Penentuan konsentrasi ekstrak *Sargassum sp.* ini dilakukan pada tiga konsentrasi yaitu 17,5%, 20%, dan 22,5%. Masing-masing perlakuan diuji pH, kenampakan, warna, rasa dan aroma. Data hasil penentuan konsentrasi ekstrak *Sargassum sp.* tersebut disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Titik Tengah Rumput Laut Cokelat (*Sargassum sp.*)

Konsentrasi (%)	pH	Rasa	Warna	Aroma	Kenampakan	Rerata
17,5	7,24	2,26	3,74	2,17	3,63	2,95
20	7,16	2,29	3,60	2,17	3,51	2,87
22,5	7,50	2,23	3,54	2,20	3,43	2,85

Berdasarkan hasil Tabel 4 menunjukkan bahwa dari beberapa konsentrasi ekstrak *Sargassum sp.* yang paling disukai oleh panelis berdasarkan rata-rata uji organoleptik dengan parameter rasa, warna, aroma dan kenampakan sebesar 2,95 yaitu pada konsentrasi 17,5% dengan nilai pH 7,24. Nilai titik tengah dari faktor *Sargassum sp.* yaitu sebesar 17,5% karena memiliki yang paling disukai oleh panelis serta memiliki nilai pH sesuai dengan SNI 01-3553-2006 tentang AMDK (Air Minum Dalam Kemasan) yaitu sebesar 6,0 - 8,5.

4.1.2 Penentuan Titik Tengah Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Penentuan konsentrasi ekstrak kayu manis ini dilakukan pada tiga konsentrasi yaitu 12%, 15%, dan 18%. Masing-masing perlakuan diuji pH, kenampakan, warna, rasa dan aroma. Data hasil penentuan konsentrasi ekstrak kayu manis tersebut disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Titik Tengah Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Konsentrasi (%)	pH	Rasa	Warna	Aroma	Kenampakan	Rerata
12	7,76	2,69	3,94	3,03	3,89	3,39
15	7,84	3,03	4,00	2,91	3,94	3,47
18	7,93	2,89	3,86	2,97	3,91	3,41

Berdasarkan hasil Tabel 5 menunjukkan bahwa dari beberapa konsentrasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) yang paling disukai oleh panelis berdasarkan rata-rata uji organoleptik dengan parameter rasa, warna, aroma dan kenampakan sebesar 3,47 yaitu pada konsentrasi 15% dengan nilai pH 7,4. Nilai titik tengah dari faktor kayu manis yaitu sebesar 15% karena memiliki rasa disukai oleh panelis serta nilai pH sesuai dengan SNI 01-3553-2006 tentang AMDK (Air Minum Dalam Kemasan) yaitu sebesar 6,0-8,5. Menurut Yulia *et al.* (2011), Semakin tinggi konsentrasi kayu manis yang ditambahkan maka semakin terasa kayu manisnya dan pada konsentrasi 15-16% ekstrak kayu manis dapat diterima oleh panelis.

4.1.3 Penentuan Titik Tengah Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum)

Penentuan konsentrasi ekstrak jahe emprit dilakukan pada tiga konsentrasi yaitu 27,5%, 30%, dan 32,5%. Masing-masing perlakuan diuji pH, kenampakan, warna, rasa dan aroma. Data hasil penentuan konsentrasi ekstrak jahe emprit tersebut disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Titik Tengah Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum)

Konsentrasi (%)	pH	Rasa	Warna	Aroma	Kenampakan	Rerata
27,5	8,02	2,23	2,6	2,54	2,49	2,47
30	7,98	2,49	2,6	2,71	2,54	2,59
32,5	7,99	2,31	2,63	2,74	2,71	2,60

Berdasarkan hasil Tabel 6 menunjukkan bahwa dari beberapa konsentrasi ekstrak jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum) yang paling disukai oleh panelis berdasarkan rata-rata uji organoleptik dengan parameter rasa, warna, aroma dan kenampakan sebesar 2,60 yaitu pada konsentrasi 32,5% dengan nilai pH 7,99. Nilai titik tengah dari faktor jahe emprit yaitu sebesar 32,5% karena dari keempat parameter organoleptik yang ditawarkan, ada tiga parameter yang disukai panelis, meskipun rasa yang dimiliki ekstrak jahe emprit dalam kisaran tidak disukai panelis karena terasa pedas. Hal ini sesuai dengan penelitian Yulianto dan Widyaningsih (2013), bahwa pada konsentrasi jahe yang terlalu tinggi akan menimbulkan rasa pedas. Komponen pembentuk rasa pedas pada jahe yaitu gingerol sebagai komponen utama serta shogaol dan zingeron. Ekstrak jahe emprit memiliki nilai pH sesuai dengan SNI 01-3553-2006 tentang AMDK (Air Minum Dalam Kemasan) yaitu sebesar 6,0 - 8,5.

4.2 Penelitian Utama

4.2.1 Tahap Penentuan Batas *Box Behnken*

Penentuan batas *Box Behnken* dilakukan setelah mengetahui nilai titik optimal dari masing-masing faktor dengan 3 konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi tersebut meliputi batas bawah (minimum), titik tengah, dan batas atas (maksimum). Setiap faktor memiliki 3 konsentrasi yang berbeda yaitu *Sargassum* sp., kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum). Level batas *Box Behnken* disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Penetapan Level Batas Box Behnken

Faktor	Unit	Batas Bawah	Titik Tengah	Batas Atas
Sargassum sp	%	15	17,5	20
Kayu Manis	%	12,5	15	17,5
Jahe Emprit	%	30	32,5	35

Setelah penentuan batas bawah (minimum), titik tengah dan batas atas (maksimum) akan didapatkan rancangan formulasi minuman fungsional berbasis *Sargassum sp.*, kayu manis, dan jahe emprit sebanyak 13 formulasi yang disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Formulasi Minuman Fungsional

Run	Sargassum sp. (%)	Kayu Manis (%)	Jahe Emprit (%)
R1	17,5	15	32,5
R2	20	17,5	32,5
R3	15	12,5	32,5
R4	17,5	17,5	35
R5	15	15	35
R6	15	17,5	32,5
R7	20	15	35
R8	15	15	30
R9	20	12,5	32,5
R10	17,5	12,5	30
R11	17,5	17,5	30
R12	17,5	12,5	35
R13	20	15	30

Rancangan formulasi yang disarankan oleh *Design Expert 11* kemudian buat minuman fungsional dengan mencampurkan ketiga bahan tersebut dan selanjutnya akan diuji organoleptik (rasa, warna, aroma, kenampakan), pH, total polifenol dan penghambatan α -glukosidase.

4.2.2 Formulasi Respon

Rancangan formulasi minuman fungsional yang disarankan oleh *Design Expert 11* sebanyak 13 formulasi masing-masing dikombinasikan berdasarkan konsentrasi. Kemudian dari ke-13 formulasi tersebut selanjutnya dilakukan uji organoleptik (rasa, warna, kenampakan dan aroma), uji pH, total polifenol serta

penghambatan α -glukosidase. Dari hasil setiap pengujian dimasukkan ke dalam variabel respon. Pada pengujian yang dilakukan masing-masing respon memberikan pengaruh terhadap minuman fungsional berdasarkan *Design Expert* 11. Hasil rancangan formulasi respon dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil Rancangan Formulasi Respon

Run	Faktor							Respon		
	A1	A2	A3	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7
R1	17,5	15	32,5	2,34	3,14	3,20	3,29	7,50	177,92	48,09
R2	20	17,5	32,5	2,49	3,17	3,06	3,06	7,29	191,40	59,43
R3	15	12,5	32,5	2,40	3,26	3,00	3,26	7,45	150,97	64,38
R4	17,5	17,5	35	2,29	3,09	3,09	3,00	7,37	185,60	38,78
R5	15	15	35	2,43	2,97	2,97	3,14	7,42	192,35	28,10
R6	15	17,5	32,5	2,31	3,09	3,11	3,03	7,31	191,32	47,85
R7	20	15	35	2,69	3,34	3,20	3,06	7,39	183,20	42,42
R8	15	15	30	2,66	3,20	3,14	3,00	7,30	173,24	63,66
R9	20	12,5	32,5	2,54	3,00	2,91	3,11	7,41	174,61	35,14
R10	17,5	12,5	30	2,49	3,11	3,23	3,11	7,36	185,07	52,51
R11	17,5	17,5	30	2,31	2,97	3,00	3,20	7,27	193,55	63,01
R12	17,5	12,5	35	2,77	3,23	3,14	3,14	7,46	174,41	74,40
R13	20	15	30	2,66	3,14	3,11	3,29	7,29	201,20	88,19

Keterangan :

A1 = *Sargassum* sp.
A2 = Kayu manis
A3 = Jahe emprit

B1 = Rasa
B2 = Warna
B3 = Kenampakan
B4 = Aroma
B5 = pH
B6 = Total polifenol
B7 = Penghambatan α -glukosidase

Dari Tabel 9 dapat diketahui bahwa kisaran nilai respon rasa (B1) berkisar antara 2,29-2,77. Nilai respon warna (B2) berkisar antara 2,97- 3,34. Nilai respon kenampakan (B3) berkisar antara 2,91-3,23. Nilai respon aroma (B4) berkisar antara 3,00-3,29. Nilai respon pH (B5) berkisar antara 7,27-7,50. Nilai respon total polifenol (B6) berkisar antara 150,97mg/GAE 100 mL-201,20 mg/GAE 100 mL. Nilai respon penghambatan α -glukosidase berkisar antara 28,10%- 88,19%.

Setelah didapatkan hasil sesuai dengan masing-masing uji, selanjutkan dilakukan analisis untuk mendapatkan persamaan matematika dan ANOVA (*Analysis of Variance*) dari masing-masing respon. Analisis model dari respon

rasa, warna, kenampakan, aroma, pH, total polifenol serta penghambatan α -glukosidase disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Analisis Model untuk Respon Rasa, Warna, Kenampakan, Aroma, Kadar Polifenol dan Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase

Respon	Model	Persamaan Matematika	Signifikan (P<0,05)	R ²
Rasa	Kuadratik	$Y = 2,34 + 0,0725 A + -0,1000 B + 0,0075 C + 0,0100 AB + 0,0650 AC + -0,0750 BC + 0,1200 A^2 + -0,0250 B^2 + 0,1500 C^2$	0,4292	0,8089
Warna	Kuadratik	$Y = 3,14 + 0,0162 A + -0,0350 B + 0,0262 C + 0,0850 AB + 0,1075 AC + 0,0000 BC + 0,026B A^2 + -0,0362 B^2 + -0,0038 C^2$	0,7108	0,6725
Kenampakan	Kuadratik	$Y = 3,20 + 0,0075 A + 0,0025 B + -0,0100 C + 0,0100 AB + 0,0650 AC + 0,0450 BC + -0,0950 A^2 + 0,0850 B^2 + 0,0000 C^2$	0,8754	0,5445
Aroma	Kuadratik	$Y = 3,29 + -0,0075 A + -0,0663 B + 0,0113 C + 0,0450 AB + -0,0550 + -0,0375 BC + -0,0912 A^2 + -0,0837 B^2 + -0,1138 C^2$	0,0603	0,9584
pH	Kuadratik	$Y = 7,00 + -0,0119 A + -0,0544 B + 0,0513 C + 0,0038 AB + -0,0050 AC + -0,0000 BC + 0,1731 A^2 + 0,1881 B^2 + 0,1744 C^2$	0,0034	0,9941
Total Polifenol	Kuadratik	$Y = 278,00 + 8,31 A + 15,00 B + -3,42 C + -9,21 AB + -14,49 AC + 1,06 BC + 1,56 A^2 + -2,88 B^2 + 13,41 C^2$	0,2374	0,8848
Inhibisi α -glukosidase	Kuadratik	$48,09 + 2,65 A + 2,17 B + -10,46 C + 10,20 AB + -2,55 AC + -11,53 BC + 1,01 A^2 + 2,60 B^2 + 6,49 C^2$	0,8039	0,6091

Model yang disarankan oleh *Design Expert 11* untuk analisis respon adalah kuadratik. Hal ini dikarenakan dengan analisis respon menggunakan model kuadratik didapatkan nilai R² tertinggi dibandingkan dengan model lainnya. Pada Tabel 10 ditunjukkan nilai R² untuk setiap respon yang diuji. Untuk nilai R² respon rasa 0,8089, respon warna 0,5445, respon kenampakan 0,5445, respon aroma

0,9584, respon pH 0,9941, respon total polifenol 0,8848, dan respon penghambatan α -glukosidase 0,6091.

Hasil uji *Analysis of Variance* (ANOVA) dan model matematika dapat dikatakan signifikan jika nilai yang didapat dari minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp. kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum) *p value* < 0,05 dan non signifikan jika nilai *p value* > 0,05 pada masing-masing respon.

4.2.3 Analisis Respon

Response Surface Methodology (RSM) merupakan kumpulan teknik matematika dan statistika yang berguna untuk analisis dan permodelan dari suatu permasalahan (*response*) dengan satu atau lebih perlakuan dalam penelitian. Perancangan model dengan menggunakan RSM dapat memberikan hubungan atau korelasi dari suatu permasalahan dengan kombinasi perlakuan yang berbeda. Tujuan utama dari RSM adalah membantu peneliti untuk merancang percobaan agar mendapatkan hasil paling optimum dari percobaan tersebut (Montgomery, 2011).

Pada hasil kontur plot dua dimensi atau tiga dimensi dapat dilihat warna-warna dan kontur yang berbeda akan mempengaruhi respon. Perbedaan warna dari kontur plot dapat dilihat pada parameter warna minimum dan maksimum, apabila warna pada kontur plot menunjukkan warna merah artinya respon memberikan hasil maksimal atau didapatkan hasil yang maksimal dan warna biru menandakan hasil yang minimal. Berikut adalah analisis respon dari minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp. kayu manis, dan jahe emprit.

a. Respon Rasa

Menurut Palupi dan Widyaningsih (2015), bahwa rasa merupakan salah satu penentu dalam tingkat penerimaan panelis. Selain itu, menurut Fitri (2017), rasa

merupakan sensasi yang terbentuk dari hasil perpaduan bahan dan komposisinya pada suatu produk makanan oleh indera pengecap. Dari hasil penelitian respon rasa terhadap minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit didapatkan nilai tertinggi pada formula R12 sebesar 2,77 dengan konsentrasi *Sargassum* sp. sebesar 17,5%, kayu manis sebesar 12,5%, dan jahe emprit sebesar 35% dengan rata-rata (*mean*) respon rasa sebesar 2,49 dengan standar deviasi sebesar 0,14%.

Berdasarkan hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) pada Lampiran **8** dengan permodelan kuadratik menghasilkan $p\ value > 0,05$ yaitu sebesar 0,4292 (*not significant*) yang berarti perlakuan kombinasi ekstrak *Sargassum* sp., ekstrak kayu manis dan ekstrak jahe emprit tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap rasa minuman fungsional. Dari ANOVA dapat diketahui bahwa hasil dari uji organoleptik rasa setiap komponen dan kombinasinya pada penelitian utama dengan menggunakan 35 panelis memiliki hasil yang sama dengan hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya. Minuman fungsional memiliki rasa yang hampir sama sehingga tidak terjadi perbedaan yang mencolok dari ke-13 formulasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Widiyatami (2016), menunjukkan hasil analisis sidik ragam atau uji ANOVA dari formula yang dibuat tidak berpengaruh nyata atau tidak signifikan ($prob > 0,05$) terhadap rasa yang diuji. Artinya formula yang dibuat tidak berpengaruh nyata terhadap respon uji skor rasa, sehingga nilai respon tersebut tidak dapat digunakan untuk proses optimasi yaitu untuk mendapatkan produk dengan karakteristik yang optimum.

Model persamaan yang dihasilkan adalah model persamaan regresi kuadratik. Berdasarkan analisis ragam (ANOVA) pada respon rasa minuman fungsional menghasilkan persamaan model yang diberikan oleh *Design Expert* 11.0. Berikut ini merupakan persamaan kode dari model yang terpilih terhadap respon rasa yang dihasilkan :

$$Y = 2,34 + 0,0725 A + -0,1000 B + 0,0075 C + 0,0100 AB + 0,0650 AC + -0,0750 BC + 0,1200 A^2 + -0,0250 B^2 + 0,1500 C^2$$

Keterangan : A = *Sargassum* sp.
 B = Kayu Manis
 C = Jahe Emprit

Dari hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa faktor *Sargassum* sp. (A) tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap respon rasa minuman fungsional. Hal ini diduga karena rasa dari ekstrak *Sargassum* sp. yang dihasilkan yaitu pahit dan sedikit anyir. Pada penelitian Husni, *et al.* (2015), menunjukkan ekstrak *Sargassum* sp. dapat menurunkan nilai hedonik rasa minuman dikarenakan tidak adanya penambahan bahan lain dalam produk dan juga disebabkan semakin meningkatnya ekstrak *Sargassum* sp. yang mempunyai rasa pahit yang dominan.

Ekstrak kayu manis dan ekstrak jahe emprit ditambahkan guna memperbaiki rasa minuman fungsional, namun kedua ekstrak tersebut kurang memberikan efek yang nyata karena rasa dari ekstrak *Sargassum* sp. yang dominan. Rizal, *et al.* (2012) menyebutkan bahwa kayu manis merupakan tanaman rempah yang dapat digunakan untuk memperbaiki flavor atau rasa dari suatu minuman karena memiliki rasa yang khas dari senyawa-senyawa yang dihasilkan. Suprapti (2003) mengatakan bahwa minuman akan cenderung memiliki rasa pedas dari filtrat jahe yang ditambahkan hal ini dikarenakan jahe memiliki senyawa volatil yang kuat serta memberikan rasa pedas. Pembentukan rasa pedas tersebut berasal dari senyawa gingerol, shagaol dan zingeron.

b. Respon Warna

Warna merupakan atribut utama dari suatu produk makanan atau minuman yang dapat mempengaruhi penerimaan panelis selanjutnya. Warna makanan atau minuman yang menarik dapat memberikan dorongan lebih tinggi bagi panelis untuk mengonsumsi makanan atau minuman tersebut (Ridawati, 2016). Dari hasil

penelitian respon warna terhadap minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit didapatkan nilai tertinggi pada formula R7 sebesar 3,34 dengan konsentrasi *Sargassum* sp. sebesar 20%, kayu manis sebesar 15%, dan jahe emprit sebesar 35% dengan rata-rata (*mean*) respon warna sebesar 3,13 dengan standar deviasi sebesar 0,12%.

Berdasarkan hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) pada Lampiran 8 dengan permodelan *quadratik* menghasilkan *p value* > 0,05 yaitu sebesar 0,7108 (*not significant*) yang berarti perlakukan kombinasi ekstrak *Sargassum* sp., ekstrak kayu manis dan ekstrak jahe emprit tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap warna dari minuman fungsional. Dari ANOVA dapat diketahui bahwa hasil dari uji organoleptik warna setiap komponen dan kombinasinya pada penelitian utama dengan menggunakan 35 panelis memiliki hasil yang sama dengan hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya. Minuman fungsional memiliki warna yang hampir sama sehingga tidak terjadi perbedaan yang mencolok dari ke-13 formulasi.

Model persamaan yang dihasilkan adalah model persamaan regresi kuadratik. Berdasarkan analisis ragam (ANOVA) pada respon warna minuman fungsional menghasilkan persamaan model yang diberikan oleh *Design Expert* 11.0. Berikut ini merupakan persamaan kode dari model yang terpilih terhadap respon warna yang dihasilkan :

$$Y = 3,14 + 0,0162 A + -0,0350 B + 0,0262 C + 0,0850 AB + 0,1075 AC + 0,0000 BC + 0,026B A^2 + -0,0362 B^2 + -0,0038 C^2$$

Keterangan :
A = *Sargassum* sp.
B = Kayu Manis
C = Jahe Emprit

Berdasarkan model persamaan regresi di atas dapat dijelaskan bahwa Y adalah respon warna. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa dari semua komponen dan kombinasinya menunjukkan respon warna yang tidak signifikan.

Hal ini diduga karena bahan-bahan yang digunakan memiliki warna ekstrak yang kurang menarik apabila dijadikan sebagai minuman. Pada penelitian Husni *et al.* (2015), bahwa warna minuman dipengaruhi oleh variasi penambahan ekstrak *Sargassum polycystum*. Semakin besar konsentrasi menyebabkan menurunnya tingkat kesukaan warna minuman yang didominasi warna coklat kehitaman sehingga tidak disukai oleh panelis. Pada penelitian Winarno (2002), bahwa faktor warna cukup penting diperhatikan karena berpengaruh pada kesan dan penerimaan konsumen. Bahan makanan akan dikonsumsi apabila memiliki warna yang tidak indah atau memberi kesan menyimpang dari warna yang seharusnya.

c. Respon Kenampakan

Menurut Azizah, *et al.* (2017) bahwa kenampakan merupakan hal yang pertama dilihat ketika seseorang ingin membeli atau mengonsumsi bahan makanan. Dari hasil penelitian respon kenampakan terhadap minuman fungsional didapatkan nilai tertinggi pada formula R10 sebesar 3,23 dengan konsentrasi *Sargassum* sp. sebesar 17,5%, kayu manis sebesar 12,5%, dan jahe emprit sebesar 30% dengan rata-rata (*mean*) respon kenampakan sebesar 3,09 dengan standar deviasi sebesar 0,13%.

Berdasarkan hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) pada Lampiran **8** dengan permodelan kuadratik menghasilkan *p value* > 0,05 yaitu sebesar 0,8754 (*not significant*) yang berarti perlakukan kombinasi ekstrak *Sargassum* sp., ekstrak kayu manis dan ekstrak jahe emprit tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap kenampakan dari minuman fungsional. Dari ANOVA dapat diketahui bahwa hasil dari uji organoleptik kenampakan setiap komponen dan kombinasinya pada penelitian utama dengan menggunakan 35 panelis memiliki hasil yang sama dengan hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya. Minuman fungsional memiliki kenampakan yang hampir sama sehingga tidak terjadi perbedaan yang mencolok dari ke-13 formulasi.

Model persamaan yang dihasilkan adalah model persamaan regresi kuadratik. Berdasarkan analisis ragam (ANOVA) pada respon kenampakan minuman fungsional menghasilkan persamaan model yang diberikan oleh *Design Expert 11.0*. Berikut ini merupakan persamaan kode dari model yang terpilih terhadap respon kenampakan yang dihasilkan :

$$Y = 3,20 + 0,0075 A + 0,0025 B + -0,0100 C + 0,0100 AB + 0,0650 AC + 0,0450 BC + -0,0950 A^2 + 0,0850 B^2 + 0,0000 C^2$$

Keterangan : A = *Sargassum* sp.
 B = Kayu manis
 C = Jahe emprit

Dari hasil ini dapat dikatakan tingkat penerimaan panelis terhadap respon kenampakan memberikan hasil yang belum optimal karena panelis merespon agak suka terhadap minuman fungsional. Warna ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi dipengaruhi oleh senyawa bioaktif yang terdapat pada alga cokelat (Grace, 2010).

d. Respon Aroma

Aroma minuman dipengaruhi oleh jenis-jenis bahan yang digunakan dan proses yang dilakukan dalam pembuatan minuman (Ridawati, 2016). Dari hasil penelitian respon aroma terhadap minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit didapatkan nilai tertinggi pada formula R1 sebesar 3,29 dengan konsentrasi *Sargassum* sp. sebesar 17,5%, kayu manis sebesar 15%, dan jahe emprit sebesar 32,5% dengan rata-rata (*mean*) respon aroma sebesar 3,11 dengan standar deviasi sebesar 0,03%.

Berdasarkan hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) pada Lampiran 8 dengan permodelan kuadratik menghasilkan *p value* > 0,05 yaitu sebesar 0,0603 (*not significant*) yang berarti perlakukan kombinasi ekstrak *Sargassum* sp., ekstrak kayu manis dan ekstrak jahe emprit tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap aroma dari minuman fungsional. Dari ANOVA dapat diketahui bahwa

hasil dari uji organoleptik aroma setiap komponen dan kombinasinya pada penelitian utama dengan menggunakan 35 panelis memiliki hasil yang sama dengan hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya. Minuman fungsional memiliki aroma yang hampir sama sehingga tidak terjadi perbedaan yang mencolok dari ke-13 formulasi.

Model persamaan yang dihasilkan adalah model persamaan regresi kuadratik. Berdasarkan analisis ragam (ANOVA) pada respon aroma minuman fungsional menghasilkan persamaan model yang diberikan oleh *Design Expert* 11.0. Berikut ini merupakan persamaan kode dari model yang terpilih terhadap respon aroma yang dihasilkan :

$$Y = 3,29 + -0,0075 A + -0,0663 B + 0,0113 C + 0,0450 AB + -0,0550 AC + -0,0375 BC + -0,0912 A^2 + -0,0837 B^2 + -0,1138 C^2$$

Keterangan : A = *Sargassum* sp.

B = Kayu manis

C = Jahe emprit

Hasil penelitian menunjukkan nilai hedonik aroma minuman fungsional tidak disukai oleh panelis. Hal ini disebabkan oleh penambahan ekstrak *Sargassum* sp. yang semakin besar maka minuman fungsional akan didominasi oleh aroma khas rumput laut yang amis. Disamping itu dengan penambahan ekstrak jahe emprit dapat memperbaiki rasa meskipun tidak signifikan. Menurut Husni, *et al.* (2015) bahwa jahe yang ditambahkan dalam minuman bertujuan untuk menutupi aroma amis dan pahit yang ditimbulkan oleh *Sargassum* sp. yang tercium.

e. Respon pH

Menurut Kadir (2015), bahwa pH (*Potential of Hydrogen*) adalah derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu larutan yang didefinisikan sebagai kologaritma aktivitas ion hidrogen (H^+) yang terlarut. Koefisien aktivitas ion hidrogen tidak dapat diukur secara eksperimental, sehingga nilainya didasarkan pada perhitungan teoretis.

Skala pH bukanlah skala absolut melainkan bersifat relatif terhadap sekumpulan larutan standar yang pH-nya ditentukan berdasarkan persetujuan internasional.

Pada hasil respon pH menunjukkan nilai pH pada minuman fungsional yang tertinggi pada formula R1 dengan nilai pH sebesar 7,50 dengan konsentrasi *Sargassum* sp. 17,5%, kayu manis 15% dan jahe emprit 32,5% dengan rata-rata (*mean*) respon pH sebesar 7,33 dengan standar deviasi sebesar 0,018%. Menurut SNI 01-3553-2006 menetapkan pH AMDK yaitu antara 6,0-8,5, sehingga dapat dinyatakan pada minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp. kayu manis, dan jahe emprit yang dikombinasikan sudah sesuai dengan SNI dan telah mencapai tingkat keasaman yang baik yaitu berkisar antara 7,27-7,50. Berikut adalah hasil analisis ragam (ANOVA) respon pH.

Tabel 11. Analysis of Variance (ANOVA) Respon pH.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0,1642	9	0,0182	56,50	0,0034	<i>significant</i>
A-Sargassum sp	0,0011	1	0,0011	3,49	0,1584	
B-Kayu Manis	0,0237	1	0,0237	73,25	0,0034	
C-Jahe Emprit	0,0210	1	0,0210	65,07	0,0040	
AB	0,0001	1	0,0001	0,1742	0,7045	
AC	0,0001	1	0,0001	0,3097	0,6167	
BC	0,0000	1	0,0000	0,0000	1,0000	
A ²	0,0685	1	0,0685	212,15	0,0007	
B ²	0,0809	1	0,0809	250,51	0,0005	
C ²	0,0695	1	0,0695	215,23	0,0007	
Residual	0,0010	3	0,0003			
Cor Total	0,1652	12				

Berdasarkan hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan permodelan kuadratik menghasilkan *p value* sebesar 0,0034 (0,34%) lebih kecil dibandingkan tingkat signifikansi (0,05 atau 5%) yang berarti terdapat pengaruh keragaman terhadap respon pH minuman fungsional. Nurmiah (2013), menyatakan bahwa model akan signifikan dengan nilai *p* lebih kecil dari 0,05. Hasil ANOVA menunjukkan bahwa masing-masing komponen berpengaruh nyata (signifikan).

Faktor ekstrak *Sargassum* sp. tidak memberikan pengaruh nyata terhadap respon pH minuman fungsional dengan nilai $p>0,05$ (0,1584). Hal ini diduga bahwa dengan semakin banyak penambahan ekstrak *Sargassum* sp. maka dapat menurunkan nilai pH (basa). Pada penelitian Hidayati, *et al.* (2017), bahwa ekstrak *Sargassum* sp. (kontrol) dapat menurunkan pH minuman instan.

Ekstrak kayu manis memberikan pengaruh nyata terhadap respon pH pada minuman fungsional dengan nilai $p<0,05$ (0,0034). Hal ini diduga karena pada ekstrak kayu manis yang dihasilkan dari proses dekoksi dapat meningkatkan pH dari minuman fungsional. Pada penelitian Tiffani (2019) menyebutkan bahwa ekstrak kayu manis akan mempengaruhi pH pada minuman sari buah. Andriana (2014) mengatakan semakin banyak penambahan kayu manis, pH minuman fungsional yang dihasilkan mendekati netral (cenderung lebih tinggi). pH minuman berhubungan dengan warna yang dihasilkan. Semakin banyak kayu manis yang ditambahkan, minuman yang dihasilkan semakin gelap.

Ekstrak jahe emprit memberikan pengaruh nyata terhadap respon pH dengan ditunjukkan hasil nilai $p<0,05$ (0,0040). Hal ini diduga bahwa dengan semakin besar penambahan ekstrak jahe emprit dapat menurunkan pH minuman. Sesuai dengan hasil penelitian Sukardi (2000) yakni rimpang jahe emprit dapat meningkatkan nilai pH karena mengandung asam-asam organik, meliputi malat, oksalat, asam laurat, palmitat, oleat, linoleat dan stearat dan Syafitri, *et al.* (2018) menyatakan bahwa degradasi senyawa jahe emprit gingerol yang cepat terutama terjadi pada pH asam, menghasilkan dehidrasi untuk membentuk shogaol. Baik gingerol dan shogaol paling stabil pada pH 4.

Pada kombinasi antara ekstrak *Sargassum* sp. dan kayu manis, kombinasi antara *Sargassum* sp. dengan jahe emprit serta ekstrak kayu manis dengan ekstrak jahe emprit menunjukkan hasil tidak signifikan (p value $> 0,05$) yang artinya

kombinasi kedua ekstrak tidak memberikan pengaruh apapun terhadap pH minuman fungsional. Hal ini diduga karena adanya penambahan ekstrak *Sargassum* sp. dapat menurunkan respon pH terhadap minuman fungsional.

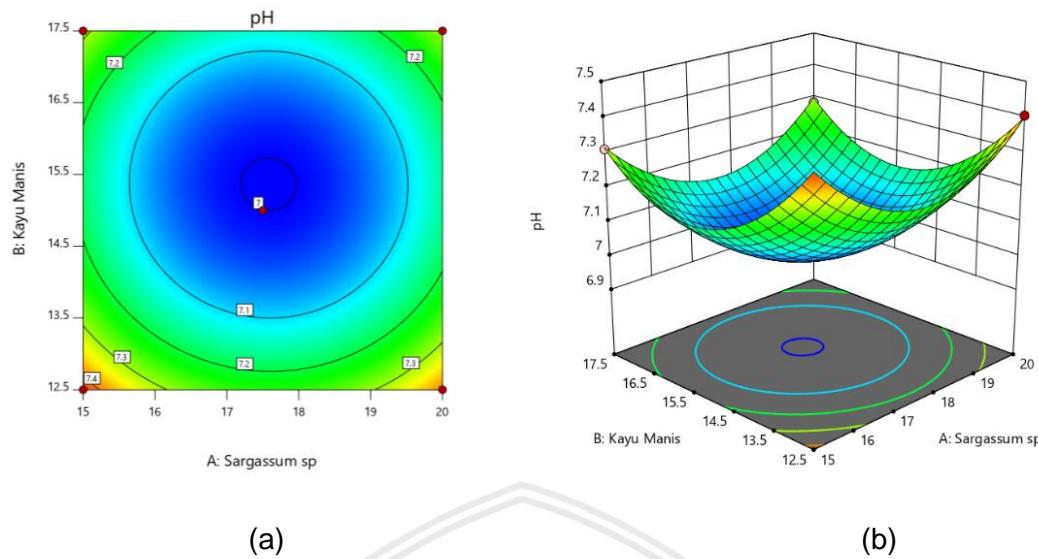
Pada faktor ekstrak *Sargassum* sp. (kuadrat), ekstrak kayu manis (kuadrat) dan ekstrak jahe emprit (kuadrat) menunjukkan pengaruh yang nyata dengan nilai berturut-turut 0,0007, 0,0005 dan 0,0007 yang berarti nilai $p<0,05$ atau signifikan. Hal ini dapat diketahui bahwa interaksi yang terjadi antar ekstrak *Sargassum* sp., interaksi antar ekstrak kayu manis dan interaksi antar jahe emprit dapat mengoptimalkan pH minuman fungsional sesuai dengan standar pH yang ditentukan.

Model persamaan yang dihasilkan adalah model persamaan regresi kuadratik. Berdasarkan analisis ragam (ANOVA) pada respon pH minuman fungsional menghasilkan persamaan model yang diberikan oleh *Design Expert* 11.0. Berikut ini merupakan persamaan kode dari model yang terpilih terhadap respon pH yang dihasilkan :

$$Y = 7,00 + -0,0119 A + -0,0544 B + 0,0513 C + 0,0038 AB + -0,0050 AC + -0,0000 BC + 0,1731 A^2 + 0,1881 B^2 + 0,1744 C^2$$

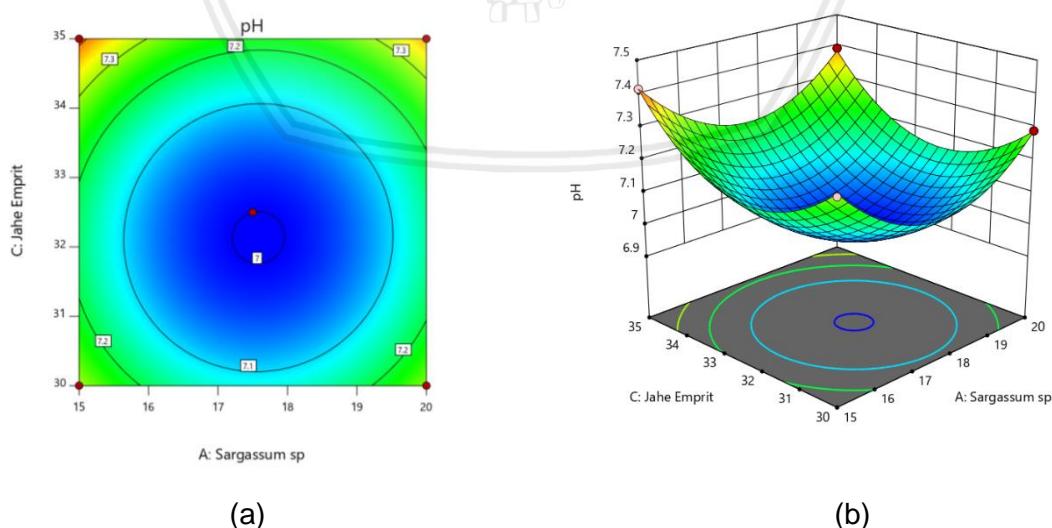
Keterangan :
A = *Sargassum* sp.
B = Kayu manis
C = Jahe emprit

Hasil uji pH pada minuman fungsional berada pada kisaran 7,27 – 7,45 yang mana nilai ini sudah sesuai dengan standar minuman berdasarkan SNI. Peningkatan pH minuman fungsional diduga dipengaruhi oleh penambahan *Sargassum* sp. dan jahe emprit. Ekstrak kayu manis mampu menutupi ekstrak *Sargassum* sp. dan juga ekstrak jahe emprit sehingga apabila ketiga bahan tersebut dikombinasikan tidak saling mempengaruhi karena dapat meningkatkan pH minuman. Kontur dua dimensi dan kurva tiga dimensi respon pH dari kombinasi *Sargassum* sp. (A) dengan kayu manis (B) dapat dilihat pada Gambar 7.



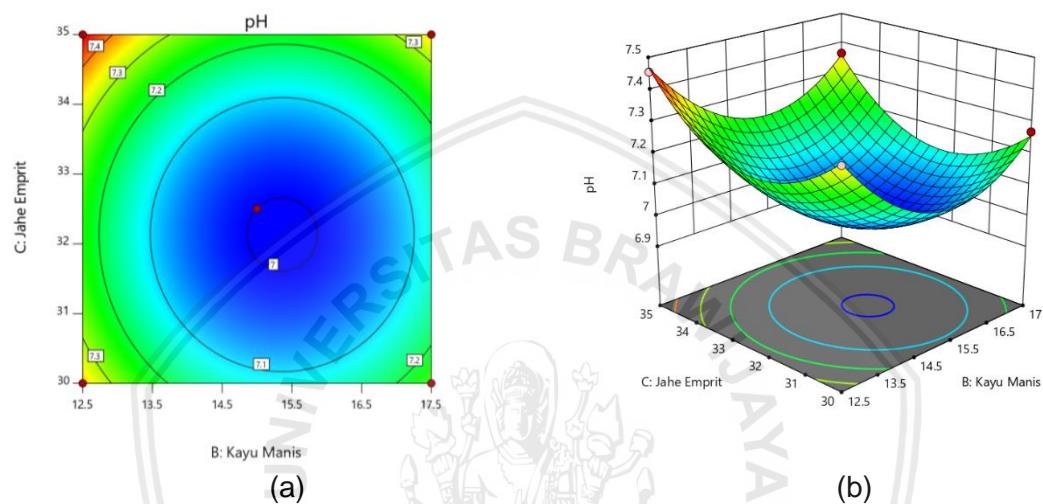
Gambar 7. (a) Kontur plot dua dimensi (2D) dan (b) Kurva permukaan respon (3D) variasi antara *Sargassum* sp. dan kayu manis terhadap respon pH

Pada Gambar 7 (a) kontur plot (2D) menunjukkan bahwa sumbu (X) menunjukkan variabel *Sargassum* sp. dan sumbu (Y) adalah variabel kayu manis yang berpengaruh terhadap respon penilaian pH minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit. Kontur dua dimensi dan kurva tiga dimensi respon pH dari kombinasi *Sargassum* sp. (A) dengan jahe emprit (C) dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. (a) Kontur plot dua dimensi (2D) dan (b) Kurva permukaan respon (3D) variasi antara *Sargassum* sp. dan jahe emprit terhadap respon pH

Pada Gambar 8 (a) kontur plot (2D) menunjukkan bahwa sumbu (X) menunjukkan variabel *Sargassum* sp. dan sumbu (Y) adalah variabel jahe emprit yang berpengaruh terhadap respon penilaian pH minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit. Kontur dua dimensi dan kurva tiga dimensi respon pH dari kombinasi kayu manis (B) dengan jahe emprit (C) dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. (a) Kontur plot dua dimensi (2D) dan (b) Kurva permukaan respon (3D) variabel kayu manis dan jahe emprit terhadap respon pH

Garis yang melingkar menunjukkan respon dan garis terluar pada gambar menunjukkan nilai respon pH minuman fungsional terbesar, sedangkan semakin ke dalam menunjukkan nilai respon terkecil. Sehingga dapat diketahui respon minimum berdasarkan Gambar 7, 8, dan 9 terletak pada kontur plot yang ditandai dengan warna biru. Area grafik kontur plot yang berwarna biru menunjukkan respon terendah (minimum) (Kumar, 2008). Gambar dengan notasi (b) merupakan kurva permukaan respon (3D) variabel kombinasi *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit terhadap respon pH minuman fungsional yang menghasilkan model kurva cekung. Hal ini menandakan bahwa respon pH yang diinginkan yaitu mendekati netral (minimum). Grafik yang menyerupai cekungan menunjukkan titik minimum dari hasil analisa respon permukaan (RSM). pH pada minuman

fungsional yang optimum ditunjukkan dengan nilai pH yang sesuai dengan standar minuman yang telah ditetapkan yaitu berkisar 6,0-8,5.

f. Respon Total Polifenol

Menurut Malangngi, *et al.* (2012), uji total fenol bertujuan untuk melihat seberapa besar kandungan bahan aktif yang terdapat pada suatu bahan makanan atau minuman. Polifenol merupakan salah satu senyawa bioaktif yang berasal dari tanaman dan bersifat hidrofilik. Polifenol merupakan komponen kimia yang mempunyai aktivitas antioksidan karena mendonorkan elektron kepada radikal bebas (Suzuki *et al.*, 2003). Senyawa ini dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan menghambat aktifitas α -glukosidase. Pada hasil respon total polifenol menunjukkan nilai pada minuman fungsional yang tertinggi pada formula R13 dengan nilai sebesar 201,20 mg GAE/100 mL dengan konsentrasi *Sargassum* sp. 20%, kayu manis 15% dan jahe emprit 30% dengan rata-rata (*mean*) respon total polifenol.

Berdasarkan hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) pada Lampiran 8 dengan permodelan kuadratik menghasilkan *p value* > 0,05 yaitu sebesar 0,2734 (*non significant*) yang berarti perlakukan kombinasi ekstrak *Sargassum* sp., ekstrak kayu manis dan ekstrak jahe emprit tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap total polifenol minuman fungsional.

Model persamaan yang dihasilkan adalah model persamaan regresi kuadratik. Berdasarkan analisis ragam (ANOVA) pada respon aroma minuman fungsional menghasilkan persamaan model yang diberikan oleh *Design Expert* 11.0. Berikut ini merupakan persamaan kode dari model yang terpilih terhadap respon aroma yang dihasilkan :

$$Y = 278,00 + 8,31 A + 15,00 B + -3,42 C + -9,21 AB + -14,49 AC + 1,06 BC + 1,56 A^2 + -2,88 B^2 + 13,41 C^2$$

Keterangan : A = *Sargassum* sp.
B = Kayu manis

C = Jahe emprit

Dari persamaan regresi diatas dapat dijelaskan bahwa Y adalah respon total polifenol. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa dari semua komponen dan kombinansinya memiliki hasil yang tidak signifikan. Hal ini diduga karena komponen bioaktif (polifenol) dari masing-masing bahan tidak bereaksi satu sama lain ketika dikombinasikan, sehingga tidak memberikan pengaruh apapun terhadap respon. Ervina (2016) menyatakan bahwa hasil ekstraksi kulit batang *Cinnamomum burmanii* mengandung senyawa utama berupa polifenol (tanin, flavonoid) dan minyak atsiri golongan fenol.

g. Respon Penghambatan Aktivitas α -glukosidase

Menurut Febrinda, et al. (2013), α -glukosidase adalah enzim yang mengkatalis pemotongan ikatan glikosidik pada oligosakarida. Beberapa glukosidase yang bekerja spesifik dalam memotong ikatan glikosidik bergantung pada jumlah, posisi, atau konfigurasi grup hidroksil di dalam molekul gula. Aktivitas α -glukosidase merupakan hal yang fundamental bagi beberapa proses biokimia seperti degradasi polisakarida menjadi unit monosakarida agar dapat diserap dan digunakan oleh organisme. Hasil uji penghambatan disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil uji penghambatan aktivitas α -glukosidase

Formula	Konsentrasi			S1	S0	B1	B0	%Inhibisi
	A	B	C					
R1	17,5	15	32,5	0,478	0,043	0,884	0,046	48,09
R2	20	17,5	32,5	0,379	0,039	0,884	0,046	59,43
R3	15	12,5	32,5	0,337	0,038	0,884	0,046	64,38
R4	17,5	17,5	35	0,554	0,041	0,884	0,046	38,78
R5	15	15	35	0,645	0,042	0,884	0,046	28,10
R6	15	17,5	32,5	0,477	0,040	0,884	0,046	47,85
R7	20	15	35	0,520	0,038	0,884	0,046	42,42
R8	15	15	30	0,349	0,045	0,884	0,046	63,66
R9	20	12,5	32,5	0,584	0,041	0,884	0,046	35,14
R10	17,5	12,5	30	0,438	0,040	0,884	0,046	52,51
R11	17,5	17,5	30	0,348	0,038	0,884	0,046	63,01
R12	17,5	12,5	35	0,253	0,038	0,884	0,046	74,40
R13	20	15	30	0,141	0,042	0,884	0,046	88,19

Keterangan : A = *Sargassum* sp.; B = Kayu manis; C = Jahe emprit

Pada hasil respon penghambatan α -glukosidase menunjukkan nilai pada minuman fungsional yang tertinggi pada formula R13 dengan nilai sebesar 88,19% dengan konsentrasi *Sargassum* sp. 20%, kayu manis 15% dan jahe emprit 30% dengan rata-rata (*mean*) respon penghambatan enzim α -glukosidase sebesar 54,31 dengan standar deviasi sebesar 20,93%.

Berdasarkan hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) pada Lampiran 8 dengan permodelan kuadratik menghasilkan *p value* > 0,05 yaitu sebesar 0,8039 sehingga model yang dihasilkan *not significant*. Hal tersebut menunjukkan ketidaksesuaian model tidak memberikan pengaruh yang signifikan. Dari hasil ANOVA dapat diketahui bahwa ekstrak *Sargassum* sp. (A), ekstrak kayu manis (B), ekstrak jahe emprit (C), interaksi ekstrak *Sargassum* sp. dan kayu manis (AB), interaksi *Sargassum* sp. dan jahe emprit (AC), interaksi ekstrak kayu manis dan jahe emprit (BC), interaksi antar ekstrak *Sargassum* sp. (A^2), interaksi antar ekstrak kayu manis (B^2) dan interaksi antar ekstrak jahe emprit (C^2) memiliki nilai *p value* > 0,05 yang artinya dari semua komponen tidak memberikan pengaruh nyata terhadap respon. Dari hasil tersebut juga dapat diketahui bahwa masing-masing komponen jika dikombinasikan tidak memberikan pengaruh terhadap penghambatan aktivitas α -glukosidase. Hal ini diduga bahwa pencampuran ketiga bahan tidak memberikan efek yang optimal terhadap penghambatan aktivitas α -glukosidase.

Model persamaan yang dihasilkan adalah model persamaan regresi kuadratik. Berdasarkan analisis ragam (ANOVA) pada respon penghambatan α -glukosidase minuman fungsional menghasilkan persamaan model yang diberikan oleh *Design Expert 11.0*. Berikut ini merupakan persamaan kode dari model yang terpilih terhadap respon penghambatan α -glukosidase yang dihasilkan :

$$Y = 48,09 + 2,65 A + 2,17 B + -10,46 C + 10,20 AB + -2,55 AC + -11,53 BC + 1,01 A^2 + 2,60 B^2 + 6,49 C^2$$

Keterangan : A = *Sargassum* sp.
B = Kayu manis
C = Jahe emprit

Hasil respon penghambatan α -glukosidase diketahui tidak memberikan pengaruh nyata terhadap respon, hal ini dibuktikan dengan nilai $p > 0,05$. Hal ini diduga dipengaruhi oleh interaksi bahan setelah dikombinasikan. Ekstrak *Sargassum* sp. dengan kayu manis (AB), interaksi *Sargassum* sp. dengan jahe emprit (AC) serta interaksi kayu manis dengan jahe emprit (BC) tidak memberikan pengaruh yang optimal yang artinya semua kombinasi bahan tidak dapat secara optimal menghambat aktivitas α -glukosidase. Berdasarkan penjelasan dari Syahrir *et al.* (2016), mengatakan bahwa interaksi kombinasi bahan aktif pada obat multikomponen sangat mungkin terjadi. Kombinasi antar bahan aktif dapat menunjukkan efek antagonis atau tidak saling mendukung. Kombinasi yang menguntungkan memiliki efek sinergis yang optimal pada bahan aktif begitupun sebaliknya.

4.2.4 Optimasi Kondisi Minuman Fungsional

Pada tahap optimasi masing-masing respon ditentukan tujuan optimasinya dalam program *Design Expert 11*. Program ini akan melakukan optimasi sesuai data variabel dan data pengukuran respon yang dimasukkan. Keluaran dari tahap optimasi adalah rekomendasi beberapa formula baru yang optimal menurut program *Design Expert 11*.

Tahap optimasi faktor dan respon diberikan kriteria untuk mencapai tujuan yang diinginkan terhadap formula minuman. Kriteria dari suatu respon akan menentukan formula optimasi yang dihasilkan oleh aplikasi *Design Expert 11* dengan pilihan kriteria meliputi *in range*, *maximize* dan *minimize*. Semakin tinggi nilai kriteria maka akan semakin tinggi pula kepentingan respon yang ingin dicapai. Komponen kriteria respon minuman fungsional dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Komponen Kriteria Respon Optimasi

Komponen	Kriteria	Batas Minimum	Batas Maksimum
Ekstrak <i>Sargassum</i> sp.	<i>In range</i>	15	20
Ekstrak Kayu Manis	<i>In range</i>	12,5	17,5
Ekstrak Jahe Emprit	<i>In range</i>	30	35
Rasa	<i>Maximize</i>	2,29	2,77
Warna	<i>Maximize</i>	2,97	3,34
Kenampakan	<i>Maximize</i>	2,91	3,23
Aroma	<i>Maximize</i>	3,00	3,29
pH	<i>In range</i>	7,00	7,455
Total Polifenol	<i>Maximize</i>	150,97	210,20
Penghambatan α -glukosidase	<i>Maximize</i>	28,10	88,19

Berdasarkan Tabel 13 konsentrasi dari ekstrak *Sargassum* sp., kayu manis, jahe emprit dan pH merupakan komponen yang dioptimalkan dengan kisaran batas minimum dan batas maksimum (*in range*). Konsentrasi dari komponen *Sargassum* sp., kayu manis, dan jahe emprit akan mempengaruhi kualitas minuman fungsional yang dihasilkan. Pada respon rasa, aroma, kenampakan dioptimalkan dengan target maksimal untuk mendapatkan hasil yang maksimal berdasarkan uji organoleptik dengan tingkat kesukaan panelis, sedangkan pada respon total polifenol dan penghambatan aktivitas α -glukosidase dioptimalkan pada *range* maksimal untuk mencapai tujuan penelitian ini adalah pembuatan minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit.

Formula paling optimal adalah formula dengan nilai *desirability* maksimum. Menurut Nurmiah, *et al.* (2013), bahwa *desirability value* merupakan nilai fungsi tujuan optimasi yang menunjukkan kemampuan program untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir. Kisaran nilainya dari 0 sampai 1,0. Nilai *desirability* yang semakin mendekati nilai 1,0 menunjukkan kemampuan program untuk menghasilkan produk yang dikehendaki semakin sempurna. Pendapat dari Raissi dan Farzani (2009), mengatakan bahwa tujuan optimasi bukan untuk memperoleh nilai *desirability* 1,0, namun untuk mencari kondisi terbaik yang mempertemukan semua fungsi tujuan.

Dari kriteria tersebut software *Design Expert* 11 memberikan solusi formula terbaik untuk mencapai target yang diinginkan yang dapat dilihat pada Tabel 14.

Tabel 14. Solusi Optimasi Minuman Fungsional *Design Expert* 11

A1	A2	A3	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	Desirability
18,168	13,523	35,000	2,636	3,198	3,146	3,189	7,331	277,408	51,611	0,595

Keterangan : A = *Sargassum* sp. B1 = Rasa
 B = Kayu manis B2 = Warna
 C = Jahe emprit B3 = Kenampakan
 B4 = Aroma
 B5 = pH
 B6 = Total polifenol
 B7 = Penghambatan α -glukosidase

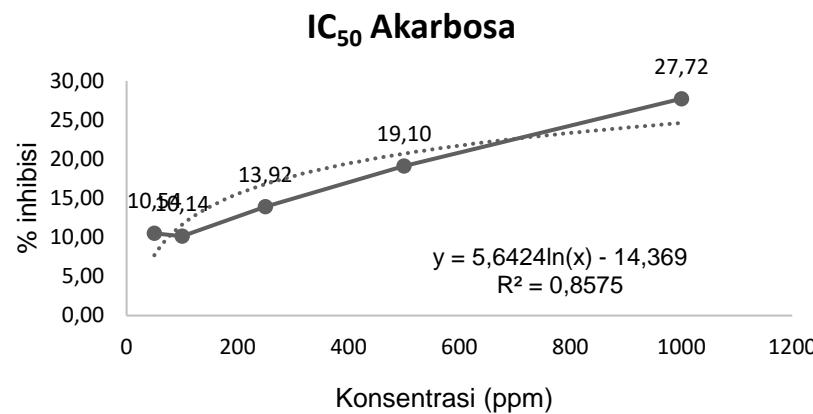
Dari hasil optimasi didapatkan nilai *desirability* minuman fungsional yang disarankan program *Design Expert* 11 tergolong nilai yang rendah yaitu pada *range* 0,5 yang mana nilai ini akan memberikan hasil yang kurang maksimal terhadap produk akhir minuman fungsional. Hal ini diduga disebabkan oleh sifat dari ekstrak *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit yang apabila dikombinasikan (dicampur) tidak menghasilkan formula produk akhir yang optimal. Selain itu nilai *desirability* yang rendah disebabkan karena *range* penentuan batas level *Box Behnken* pada masing-masing ekstrak bahan memiliki jangkauan yang pendek sehingga formula yang dihasilkan tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Berdasarkan Tabel 14, tahap optimasi dari software *Design Expert* 11 memberikan satu formula untuk minuman fungsional yang akan dibuat dengan konsentrasi ekstrak *Sargassum* sp. sebesar 18,168%, ekstrak kayu manis sebesar 13,523% dan ekstrak jahe emprit sebesar 35,000% dengan nilai *desirability* 0,595 yang akan menghasilkan minuman fungsional dengan hasil respon total polifenol 277,408 mg/GAE 100 mL, penghambatan α -glukosidase 51,611%, rasa 2,636, warna 3,198, kenampakan 3,146, aroma 3,189 serta nilai pH 7,331.

4.3 Inhibition Concentration 50 (IC_{50})

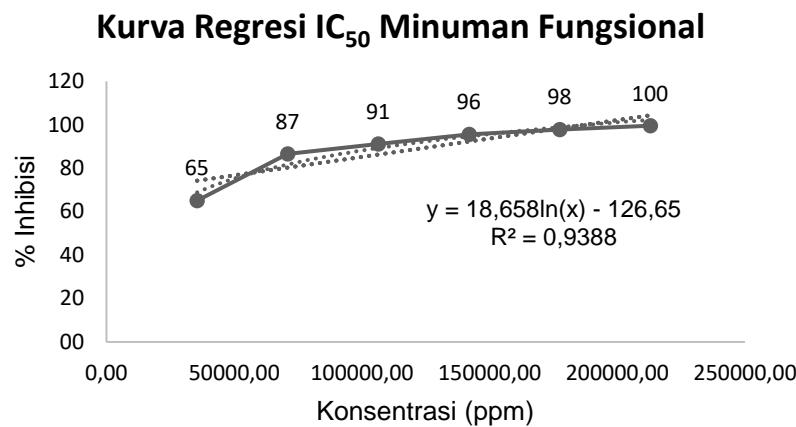
Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas penghambatan dalam kelompok sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kelompok kuat IC_{50} antara 50-100 ppm, kelompok sedang jika nilai IC_{50} 101-150 ppm, dan kelompok lemah jika nilai IC_{50} antara 150-200 ppm (Widyasanti *et al.*, 2016). Nilai IC_{50} ditentukan dengan cara membuat kurva antara penghambatan versus konsentrasi hingga didapatkan persamaan regresinya. Dari persamaan regresi tersebut dapat ditentukan besaran konsentrasi ekstrak yang memiliki kemampuan penghambatan terhadap aktivitas α -glukosidase (Febrinda, 2013).

Perhitungan IC_{50} dilakukan pada minuman fungsional dengan formulasi paling optimum yang telah disarankan oleh *Design Expert 11* yaitu konsentrasi ekstrak *Sargassum* sp. sebesar 20%, ekstrak kayu manis sebesar 15% dan ekstrak jahe emprit sebesar 30%. Nilai IC_{50} minuman fungsional akan dibandingkan dengan larutan akarbosa sebagai obat diabetes komersil. Hasil pengujian IC_{50} α -glukosidase pada akarbosa dilakukan pada berbagai konsentrasi yaitu 50, 100, 250, 500, dan 100 ppm. Dari variasi tersebut dibuat kurva persamaan regresi antara konsentrasi (ppm) dengan penghambatan α -glukosidase (%). IC_{50} adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % aktivitas enzim. Untuk mendapatkan nilai IC_{50} perlu dilakukan variasi konsentrasi terhadap larutan ekstrak dan fraksi yang akan diuji. Sebagai pembanding digunakan akarbosa (Nasti *et al.*, 2013). Hasil perhitungan didapatkan IC_{50} akarbosa yaitu 171,058 ppm. Hal tersebut menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 171,058 ppm dapat menghambat aktivitas α -glukosidase sebanyak 50% dari 100%. Kurva regresi IC_{50} standar akarbosa ditunjukkan pada Gambar 10.



Gambar 10. Kurva Regresi IC₅₀ Akarbosa

Hasil uji IC₅₀ minuman fungsional berbasis *Sargassum sp.*, kayu manis dan jahe emprit dapat dilihat pada Lampiran 13. Dari hasil pengujian IC₅₀ pada minuman fungsional dilakukan dengan berbagai konsentrasi yaitu 35.485,77 µg/mL (5 mL), 70.971,54 µg/mL (10 mL), 106.457,31 µg/mL (15 mL), 141.943,08 µg/mL (20 mL), 177.428,86 µg/mL (25 mL) dan 212.914,63 µg/mL (30 mL). Kemudian dibuat kurva regresi antara konsentrasi minuman fungsional (µg/mL) dan penghambatan α-glukosidase (%). Hasil perhitungan didapatkan IC₅₀ minuman fungsional sebesar 12.938,98 µg/mL yang artinya dengan konsentrasi minuman fungsional 12.938,98 µg/mL dapat menghambat kerja α-glukosidase 50% dari 100%. Kurva regresi IC₅₀ minuman fungsional ditunjukkan pada Gambar 11 dan hasil perhitungan IC₅₀ standar akarbosa dan IC₅₀ minuman fungsional disajikan pada Tabel 15.



Gambar 11. Kurva Regresi IC₅₀ Minuman Fungsional

Tabel 15. Nilai IC₅₀ Akarbosa dan Minuman Fungsional

Komponen	Sampel	
	Akarbosa	Minuman Fungsional
Persamaan	y = 5,6424ln(x) – 14,369	y = 18,658ln(x) – 126,65
IC ₅₀ (µg/mL)	171,058	12.938,98

Dari Tabel 15 dapat diketahui bahwa nilai IC₅₀ dari minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit jauh lebih tinggi dari akarbosa yang artinya minuman fungsional belum secara optimal dalam menghambat α-glukosidase dibanding dengan akarbosa yang merupakan obat bagi penyandang diabetes. Hal ini disebabkan oleh bahan bioaktif yang terdapat di dalam akarbosa dan minuman fungsional yang berbeda dan memiliki kemampuan penghambatan α-glukosidase yang berbeda juga. Acarbose adalah suatu senyawa murni yang merupakan penghambatan α-glukosidase yang dihasilkan oleh *Actinoplanes* sp. suatu mikroba yang diisolasi dari daerah di Kenya. (McGown, 2006). Sedangkan di dalam minuman fungsional memiliki lebih dari satu senyawa bioaktif yang memiliki efek penghambatan α-glukosidase. Elekofehinti (2015), menyatakan bahwa saponin merupakan golongan kimia tamanan yang mempunyai aktivitas antidiabetik yang sangat baik melalui mekanisme menghambatan α-glukosidase. Penelitian ini juga sejalan dengan Denga, et al. (2012) yang menyatakan bahwa flavonoid efektif dalam menghambat

α -glukosidase. Kasali, *et al.* (2016) menyatakan bahwa tanin juga merupakan golongan kimia yang mempunyai aktivitas menghambat α -glukosidase.

4.4 Analisis Fitokimia

Pada penelitian optimasi minuman fungsional berbasis *Sargassum sp.*, kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum), analisis fitokimia bertujuan untuk memudahkan skrining dan identifikasi senyawa yang terdapat di dalam minuman fungsional. Hasil pengujian fitokimia pada minuman fungsional didapatkan hasil senyawa metabolit sekunder yang disajikan pada Tabel 16.

Tabel 16. Hasil Uji Fitokimia Minuman Fungsional

Nama Senyawa	Hasil Positif	Hasil
Flavonoid	Terbentuk warna merah jingga	+
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman / biru tua	+
Saponin	Timbul busa dan bertahan selama 30 detik	+
Fenol	Terbentuk warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat	+
Alkaloid	Terbentuk endapan cokelat atau jingga	+
Terpenoid	Terbentuk warna ungu-merah	-
Steroid	Terbentuk warna hijau atau biru	-

Sumber : Laboratorium Kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim

Hasil analisis fitokimia pada minuman fungsional positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, fenol dan alkaloid, sedangkan untuk senyawa terpenoid dan steroid tidak terdeteksi keberadaannya.

Putri (2014) melaporkan bahwa ekstrak alga cokelat *Sargassum* sp. mengandung senyawa flavonoid. Illing, *et al.* (2017) juga mengatakan bahwa *Sargassum* sp. memiliki senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa yang sebagian besar terdapat pada tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosidanya dan dalam bentuk campuran atau jarang sekali ada sebagai senyawa tunggal. Senyawa flavonoid yang muncul pada minuman fungsional juga dipengaruhi oleh penambahan ekstrak kayu manis. Ervina, *et al.* (2016) menyatakan bahwa hasil ekstraksi kulit batang *Cinnamomum burmanii* mengandung senyawa metabolit

sekunder utama polifenol (flavonoid) yaitu berupa cinnamaldehida. Beberapa senyawa flavonoid pada komponen bahan positif terdeteksi keberadaannya, hal ini disebabkan oleh senyawa flavonoid merupakan senyawa polar yang mudah larut dalam pelarut yang bersifat polar. Hal ini dijelaskan pada penelitian Sjahid (2008), bahwa senyawa flavonoid tumbuhan merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersulih atau suatu gula, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti akuades dan air.

Sargassum sp. mengandung senyawa fenolik yang umum ditemukan yaitu florotanin (Sedjati *et al.*, 2017). Florotanin adalah kelompok senyawa fenolik yang dibentuk oleh polimerasi unit monomer floroglusinol (1,3,5 trihydroxybenzena) dan disintensi dalam jalur asetat malonat dalam makroalga (Ragan dan Glombitza 1986). Kandungan tertinggi florotanin ditemukan pada alga cokelat *Sargassum* sp. berkisar 5-15% berat kering (Burtin,2003). Senyawa fenolik alga cokelat secara alamiah bersifat bipolar, jadi bisa terdapat sebagai senyawa non polar sampai polar (Wei *et al.*, 2003). Oleh karena itulah senyawa fenol dapat terdeteksi pada minuman fungsional karena dalam pembuatannya menggunakan pelarut polar. Jahe emprit juga mengandung senyawa fenolik diantaranya gingerol dan shogaol. Aprilia (2010) menyatakan bahwa ekstrak rimpang jahe emprit (*Z. officinale* var. *Amarum*) mengandung senyawa gingerol, gingerdiol dan zingerone (senyawa turunan fenolik dengan rantai C11) yang merupakan bagian dari senyawa fenol.

Senyawa saponin juga positif terdeteksi pada minuman fungsional. Hal ini diduga adanya pengaruh dari komponen bahan yang digunakan. Tanaman yang berpotensi sebagai pangan fungsional adalah tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmanni*). Bagian dari kayu manis yang telah dimanfaatkan yaitu kulit batang, daun dan minyak atsiri. Kulit kayu manis memiliki kandungan senyawa kimia salah satunya yaitu saponin (Azima *et al.* 2004). *Sargassum* sp. juga menyumbang senyawa saponin pada minuman fungsional. Pada penelitian Barodah, *et al.*

(2017) berdasarkan hasil uji kualitatif ekstrak *Sargassum* sp. positif mengandung saponin. Menurut Septiana dan Asnani (2012), bahwa senyawa yang diperiksa keberadaanya di *Sargassum* sp. ditemukan adanya saponin. Berdasarkan strukturnya, saponin mempunyai bagian yang bersifat polar maupun non polar dengan bagian yang hampir sama. Oleh karena itu senyawa saponin dapat terdeteksi pada minuman dengan pelarut polar (akuades).

Minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Menurut Manteu, *et al.* (2018) bahwa *Sargassum* sp. mengandung senyawa alkaloid. Alkaloid merupakan golongan senyawa kimia yang larut dalam pelarut organik dan banyak ditemui pada ekstrak yang menggunakan pelarut polar. Menurut Rahmadani, *et al.* (2015), alkaloid yang terkandung di dalam rimpang-rimpangan jahe mengandung nitrogen sebagai bagian dari sistem sikliknya serta mengandung substituen yang bervariasi seperti gugus amina, amida, fenol, dan metoksi sehingga alkaloid bersifat semipolar.

Hasil analisis fitokimia minuman fungsional menunjukkan hasil negatif pada senyawa steroid dan terpenoid. Kedua senyawa ini tidak terdeteksi keberadaannya pada minuman fungsional, hal ini diduga karena pada waktu ekstraksi *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit menggunakan pelarut polar yaitu akuades. Siti, *et al.* (2014) yang menyebutkan bahwa senyawa steroid mempunyai struktur lipofilik sehingga akan terekstrak apabila menggunakan pelarut non polar seperti etil asetat.

4.5 Analisis Uji UPLC-MS/MS

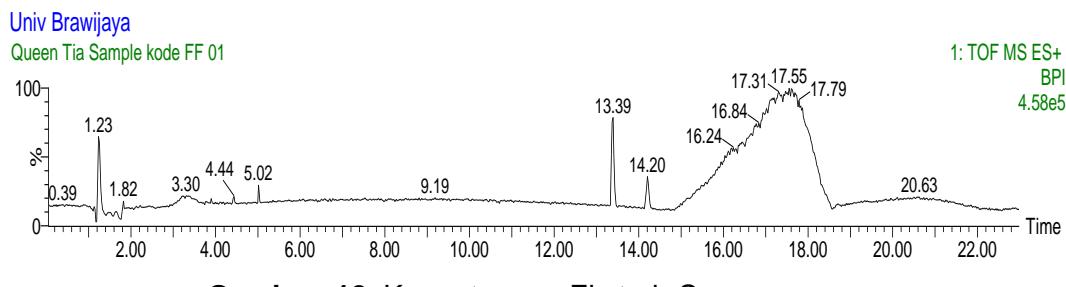
Identifikasi adanya senyawa bioaktif pada minuman fungsional berbasis *Sargassum* sp., kayu manis dan jahe emprit dilakukan dalam 2 tahap. Tahap 1 mengidentifikasi adanya kandungan senyawa bioaktif pada masing-masing bahan. Tahap ke 2 mengidentifikasi formulasi yang disarankan oleh aplikasi *Design Expert*

11. Looi, et al. (2013) menginformasikan bahwa UPLC-MS/MS adalah teknik yang banyak digunakan untuk berbagai aplikasi yang memiliki sensitivitas dan spesifitas sangat tinggi. UPLC-MS/MS menggabungkan kemampuan pemisahan kimia dari LC dengan kemampuan dan spektroskopi massa untuk menyeleksi temuan dan mengkonfirmasi indentitas molekuler. MS merupakan salah satu metode yang lebih sensitif dan selektif untuk menganalisis molekuler serta menyediakan informasi pada berat molekul sebaik pada fragmentasi dan molekul analit.

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa dari ekstrak *Sargassum* sp., dan kayu manis menunjukkan senyawa muncul pada peak bagian belakang, fase gerak pelarut yang digunakan bersifat polar dan pelarut yang digunakan pada minuman fungsional juga bersifat polar selain itu fase gerak pada pelarut di *column* pertama bersifat semi polar yang ditunjukkan oleh pelarut asetonitril. Dapat disimpulkan bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak *Sargassum* sp. dan kayu manis bahan menunjukkan senyawa polar. Pada ekstrak jahe emprit peak yang muncul merata dan dominan hal ini menunjukkan senyawa yang muncul bersifat polar dan semi polar.

4.5.1 Rumphut Laut Cokelat (*Sargassum* sp.)

Pengujian UPLC-MS/MS dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang berasal dari ekstrak *Sargassum* sp. dengan konsentrasi 17,5%. Kromatogram UPLC-MS/MS ekstrak *Sargassum* sp. dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Kromatogram Ekstrak *Sargassum* sp.

Analisis dilakukan dengan bantuan software *Masslynk* untuk mengetahui pola kromatogram LC menunjukkan hubungan waktu retensi (R_t) dengan %

kelimpahan. Setiap puncak retensi tersebut kemudian diamati pola pemisahan spektrum MS/MS nya. Spektrum MS/MS menunjukkan hubungan antara nilai massa per muatan (*m/z*) dan % kelimpahan. Kemudian dicari kemiripan pola fragmentasi dan *m/z* berdasarkan pustaka yang ada. Setiap Hasil senyawa yang terkandung dalam *Sargassum* sp. dapat dilihat pada Tabel 17.

Tabel 17. Senyawa yang terekstrak pada ekstrak *Sargassum* sp.

Waktu retensi	Massa Senyawa	Dugaan Senyawa	Rumus Kimia	Golongan
1.23	220.243	<i>Methanesulfonic acid,2-methoxyphenol</i>	C ₈ H ₁₂ O ₅ S	Fenol
1.23	188.223	<i>Methyl (methyl sulfonyl) methane sulfonate</i>	C ₃ H ₈ O ₅	Alkil
1.23	220.243	<i>Ethyl 1,1,4-trioxo-hexahydro-1L6-thiopyran-3-carboxylate</i>	C ₈ H ₁₂ O	-
1.82	126.110	<i>5-Methyl-2-furoic acid</i>	C ₆ H ₆ O ₃	Saponin
1.82	126.077	<i>4-(1H-Triaziren-1-yl)-1,2,5-oxadiazol-3-amine</i>	C ₂ H ₂ N ₆ O	-
1.82	126.175	<i>Methanesulfonic acid</i>	C ₃ H ₁₀ O ₃ S	Alkil
1.82	126.111	<i>Pyrogallol</i>	C ₆ H ₆ O ₃	Fenol
4.44	568.653	<i>3-[(6-deoxyhexopyranosyl) oxy]-5,11,14,19-tetrahydroxycard-20(22)-enolide</i>	C ₂₉ H ₄₄ O ₁₁	-
5.02	394.472	<i>Benzimidazole</i>	C ₂₄ H ₂₂ N ₆	Florotanin
5.02	394.464	<i>Brucine</i>	C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O	Alkaloid
13.39	191.268	<i>1,1',1"-Nitrilotri(2-propanol)⁴</i>	C ₉ H ₂₁ NO ₃	-
14.20	239.280	<i>(1,1,2-trimethyl-2-phenylpropyl)benzene</i>	C ₁₈ H ₂₂	Fenol

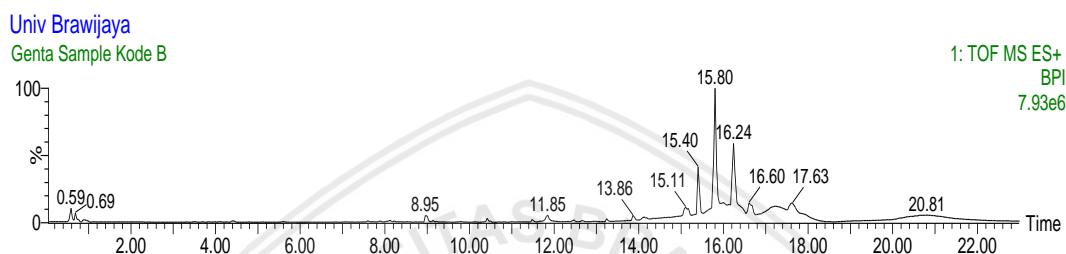
Dari Tabel 17 muncul senyawa pada *retention time* (Rt) 5.02 yaitu benzimidazol. Dalam alga cokelat *Sargassum* sp. banyak sekali mengandung potensi untuk menghasilkan berbagai bioaktif turunannya (Li *et al.*, 2009). Salah satunya senyawa benzimidazol yang muncul pada hasil uji UPLC-MS/MS. Benzimidazol adalah bagian dari florotanin. Benzimidazol dapat larut pada ekstraksi menggunakan pelarut yang bersifat polar (Tsao, 2010).

Senyawa yang muncul pada *retention time* (Rt) 1.82 yaitu senyawa *phyrgalol*. Pirogalol adalah senyawa fenolik berupa benzena tersubtitusi dengan 3 gugus -OH yang berurutan. Senyawa pirogalol (*pyrogallop*) memiliki struktur

dasar berupa fenol. Fenol sendiri merupakan struktur yang terbentuk dari benzena tersubtitusi dengan gugus -OH dan bersifat sangat polar (Fessenden, 1982).

4.5.2 Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*)

Pengujian UPLC-MS/MS dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang berasal dari ekstrak kayu manis dengan konsentrasi 15%. Kromatogram UPLC-MS/MS ekstrak kayu manis dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Kromatogram Ekstrak Kayu Manis

Analisis dilakukan dengan bantuan software Masslynk untuk mengetahui pola kromatogram LC menunjukkan hubungan waktu retensi (Rt) dengan % kelimpahan. Setiap puncak retensi tersebut kemudian diamati pola pemisahan spektrum MS/MS nya. Spektrum MS/MS menunjukkan hubungan antara nilai massa per muatan (m/z) dan % kelimpahan. Kemudian dicari kemiripan pola fragmentasi dan m/z berdasarkan pustaka yang ada. Setiap Hasil senyawa yang terkandung dalam kayu manis dapat dilihat pada Tabel 18.

Tabel 18. Dugaan Senyawa Hasil Ekstrak Kayu Manis

Waktu retensi	Massa Senyawa	Nama Senyawa	Rumus Kimia	Golongan
0.59	125.986	Oxazirene	CHNO	Fenol
0.69	229.155	3-[2-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)-ethylamino]-propionic acid ethyl ester	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₃	-
0.69	229.159	4-(Adamantan-1-yl)phenol	C ₁₆ H ₂₀ O	Fenol
8.95	242.284	Heptadecanamide	C ₁₆ H ₃₅ N	-
8.95	119.127	Benzotriazol	C ₆ H ₅ N ₃	Florotanin
11.85	205.090	Hexylsulfinyl propanoate	C ₉ H ₁₇ O ₃ S	Fenol
11.85	279.161	1-(diethylamino)-3-methyl-4-pyrido[1,2-a]benzimidazole carbonitrile	C ₁₇ H ₁₈ N ₄	Fenol
13.86	144.982	Cinnamate	C ₉ H ₇ O ₂	Polifenol
13.86	279.279	Capsiamide	C ₁₇ H ₃₅ NO	-
15.11	628.193	4-Chlorophenyl	C ₃₇ H ₃₀ CIN ₅ OS	-

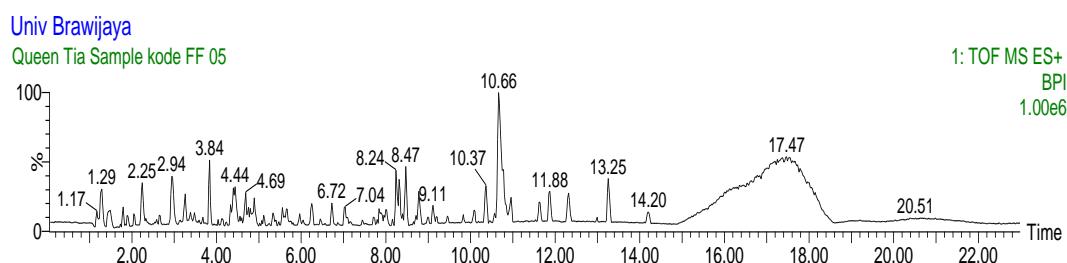
15.11	139.998	<i>Pyrazolate</i>	C ₄ H ₃ N ₂	Flavonoid
15.40	494.566	<i>1-Octadecanamine</i>	C ₃₄ H ₇₁ N	
15.40	494.942	<i>Dihexadecyldimethylamm</i> <i>onium</i>	C ₃₄ H ₇₂ N	-
15.80	522.597	<i>16-Tetratriacontanamine</i>	C ₃₆ H ₇₅ N	-

Dari Tabel 18 diketahui pada *retention time* 13.86 muncul senyawa yaitu *cinnamate*. Di dalam kayu manis terdapat senyawa yang bernama *cinnamate*. Menurut Nunes, et al. (2017), *cinnamate* umumnya dikenal sebagai bahan yang aman (GRAS) dan dapat digunakan sebagai aditif makanan atau minuman. Shofiqati (2013), menyebutkan bahwa senyawa *cinnamate* memiliki turunan *Cinnamaldehyde*, *cinnamic acid*, *cinnamate* dan *essential oil* merupakan komponen bioaktif turunan dari quercetin, kaempferol, dan catechin yang merupakan golongan senyawa polifenol.

Senyawa *pyrazolate* muncul pada *retention time* 15.11. *Pyrazolate* merupakan senyawa yang tergolong dalam golongan senyawa fenol yaitu golongan flavonoid. Sjahid (2008), bahwa senyawa flavonoid tumbuhan merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil.

4.5.3 Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var *Amarum*)

Pengujian UPLC-MS/MS dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang berasal dari ekstrak jahe emprit dengan konsentrasi 32,5%. Kromatogram UPLC-MS/MS ekstrak kayu manis dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Kromatogram Ekstrak Jahe Emprit

Analisis dilakukan dengan bantuan software *Masslynk* untuk mengetahui pola kromatogram LC menunjukkan hubungan waktu retensi (Rt) dengan %

kelimpahan. Setiap puncak retensi tersebut kemudian diamati pola pemisahan spektrum MS/MS nya. Spektrum MS/MS menunjukkan hubungan antara nilai massa per muatan (m/z) dan % kelimpahan. Kemudian dicari kemiripan pola fragmentasi dan m/z berdasarkan pustaka yang ada. Setiap Hasil senyawa yang terkandung dalam jahe emprit dapat dilihat pada Tabel 19.

Tabel 19. Dugaan Senyawa Ekstrak Jahe Emprit

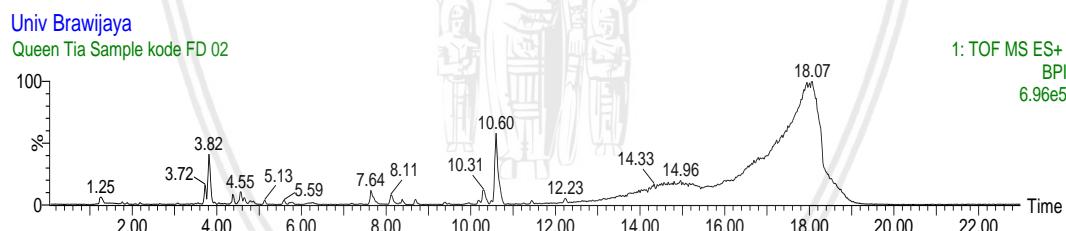
Waktu retensi	Massa Senyawa	Nama Senyawa	Rumus Kimia	Golongan
1.17	175.119	2-Ammonio-5- {[ammonio(imino)methyl] amino}pentanoate	C ₆ H ₁₅ N ₄ O ₂	-
1.29	380.437	(3-Methyl-4- nitrophenyl)imino di-2,1- ethanediyl dimethanesulfonate	C ₁₃ H ₂₀ N ₂ O ₇ S ₂	-
1.79	182.087	1-Carboxy-2- (4- hydroxyphenyl) ethanaminium	C ₉ H ₁₂ NO ₃	-
1.79	181.155	2-Amino-8-hydrazino-1,7- dihydro-6H-purin-6-one	C ₅ H ₇ N ₇	-
2.25	332.135	Methyl 7-(2,5- dimethoxyphenyl)-5-methyl- 1,7-dihydrotetrazolo[1,5- a]pyrimidine-6-carboxylate	C ₁₅ H ₁₇ N ₅ O ₄	-
2.65	272.113	3-[{(2-Furylmethyl)amino}-4-(2- methoxyethoxy)-4- oxobutanoic acid	C ₁₂ H ₁₇ NO ₆	-
2.65	272.114	1,4-Dihydro-5-(2- propoxyphenyl)-1,2,3- triazol[4,5-d]pyrimidin-7-one	C ₁₃ H ₁₃ N ₅ O ₂	-
2.94	166.086	3-Amino-3-phenylpropanoic acid	C ₉ H ₁₁ NO ₂	-
2.94	166.082	2-Hydrazinoethanamine ethanedioate	C ₄ H ₁₁ N ₃ O ₄	-
3.26	224.276	4-Hydroxybenzoylcholine	C ₁₂ H ₁₈ NO ₃	-
3.26	224.126	2-[(5-Amino-3-ethyl-3H- [1,2,3]triazolo[4,5-d] pyrimidin-7-yl)amino]ethanol	C ₈ H ₁₃ N ₇ O	-
3.38	251.280	Lysine - serine	C ₉ H ₂₁ N ₃ O ₅	-
4.33	188.071	Benzylmaleimide	C ₁₁ H ₉ NO ₂	-
4.44	368.223	1-[2-(1-piperazinyl)ethyl]-1H- 1,2,3-triazol-4-yl methanone	C ₁₆ H ₂₉ N ₇ OS	-
4.69	744.425	Diaminomethylene	C ₃₂ H ₅₇ N ₉ O ₁₁	-
4.89	482.260	β -D-glucopyranoside	C ₂₁ H ₃₉ NO ₁₁	-
5.33	436.219	Trimazosin	C ₂₀ H ₂₉ N ₅ O ₆	-
5.55	494.260	2-Acetamido-2-deoxy- β -D- glucopyranosyl	C ₂₂ H ₃₉ NO ₁₁	-

6.25	314.175	<i>Benzamide</i>	C ₁₉ H ₂₃ NO ₃	-
6.72	230.118	4,4'- <i>dimethoxydiphenylamine</i>	C ₁₄ H ₁₅ NO ₂	-
6.72	230.114	1-(2,2-Diethoxyethyl)-4-nitro- 1 <i>H</i> -pyrazole	C ₉ H ₁₅ N ₃ O ₄	-
7.04	382.207	<i>Hexanamide</i>	C ₁₆ H ₃₁ NO ₉	Polifenol
7.70	449.250	<i>Ethanaminium hydrogen</i> <i>oxalate</i>	C ₂₀ H ₃₃ N ₅ O ₆	-
7.84	466.266	<i>1-Piperazinepentanoic acid</i>	C ₂₂ H ₃₅ N ₅ O ₆	-
8.24	420.224	<i>1-(4-Morpholinyl)-2-[4-[3-(4-</i> <i>morpholinyl)-4-nitrophenyl]-</i> <i>1-piperazinyl]ethanone</i>	C ₂₀ H ₂₉ N ₅ O ₅	-
8.47	357.170	<i>Propanoic acid</i>	C ₂₁ H ₂₄ O ₅	-
8.78	249.149	<i>Methyl</i> <i>cyclohexylphenylglycolate</i>	C ₁₅ H ₂₀ O ₃	-
9.11	524.250	<i>Ethyl 4-(4-acetyl-1-</i> <i>piperazinyl)-3-[3-nitro-4-(1-</i> <i>piperidinyl)benzoyl]amino}</i> <i>benzoate</i>	C ₂₇ H ₃₃ N ₅ O ₆	-
9.11	524.549	<i>Fedotozine Tartrate</i>	C ₂₆ H ₃₇ NO ₁₀	-
9.83	414.250	1,2:4,5-Dianhydro-3-deoxy-1-[8-(4-morpholinyl)-8-oxooctyl]-5-pentyl-1,4-dithiopentitol	C ₂₂ H ₃₉ NO ₂ S ₂	-
10.08	275.164	3-Hexyl-7-hydroxy-4,8-dimethyl-2 <i>H</i> -chromen-2-one	C ₁₇ H ₂₂ O ₃	-
10.08	274.419	4-methylcyclohexanol	C ₁₄ H ₂₆ O ₃ S	-
10.37	261.185	3,7-Dimethyl-7-octen-1-yl benzoate	C ₁₇ H ₂₄ O ₂	-
10.66	177.088	4-(1 <i>H</i> -Tetrazol-5-yl)-1,2-benzenediamine	C ₇ H ₈ N ₆	Flavonoid
10.96	478.425	[1,2,4]Triazolo[1,5-a]pyrimidine-6-carboxamide	C ₂₆ H ₃₁ N ₅ O ₄	-
11.88	370.231	1-(3'-metoksi-4'-hidroksifenil)-5-hidroksialkan-3-ones	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	Polifenol
11.88	370.223	(2-methoxyethyl)benzamide	C ₁₉ H ₃₁ NO ₆	-
12.32	359.182	1,3-Bis[2-(isobutylsulfanyl)ethyl]-6-methyl-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-pyrimidinedione	C ₁₇ H ₃₀ N ₂ O ₂ S ₂	-
12.99	609.344	(2,6-Diisopropylphenyl)-4-[(1-(3-methoxyphenyl)-5-(4-methoxyphenyl)-2-methyl-1 <i>H</i> -pyrrol-3-yl]carbonyl]-1-piperazinecarboxamide	C ₃₇ H ₄₄ N ₄ O ₄	-
13.25	398.255	3-methyl-7-octyl-8-(2-phenylethylamino) purine-2,6-dione	C ₂₂ H ₃₁ N ₅ O ₂	-
14.20	279.159	[4-(4-Methoxyphenyl)-2,2-dimethyltetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-4-yl]acetic acid	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	-

Komponen fenolik pada jahe dapat berkontribusi terhadap flavor jahe. Kelompok senyawa ini salah satunya dikenal dengan gingerol. Komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak jahe salah satunya adalah gingerol. Nama lain dari senyawa gingerol adalah 1-(3'-metoksi-4'-hidroksifenil)-5-hidroksialkan-3-ones yang muncul pada ekstrak jahe emprit (Fathona, 2011). Senyawa ini bersifat *pungent* dan memiliki aktivitas farmakologi dan fisiologis yang sangat luas (Surh, 1993). Pada analisis dugaan senyawa pada ekstrak jahe emprit muncul senyawa hexanamide. *Hexanamide* merupakan salah satu senyawa yang tergolong dalam kelompok polifenol (Kapadia dan Azuine, 2003).

4.5.4 Minuman Fungsional

Pengujian UPLC-MS/MS dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang terdeteksi di dalam minuman fungsional. Kromatogram UPLC-MS/MS minuman fungsional berbasis *Sargassum sp.*, kayu manis dan jahe emprit dapat dilihat pada Gambar 15 dan dugaan senyawa yang muncul dapat dilihat pada Tabel 20.



Gambar 15. Kromatogram Hasil Minuman Fungsional

Tabel 20. Dugaan Senyawa Minuman Fungsional

Waktu retensi	Massa Senyawa	Nama Senyawa	Rumus Kimia	Golongan
1.25	118.098	2-(Dimethylamino)-N-hydroxyethanimidamide	C ₄ H ₁₁ N ₃ O	-
3.72	346.113	Trimethyl 4-(2-oxopropyl)tetrahydro-2H-[1,2]oxazolo[2,3- <i>b</i>][1,2]oxazole-2,3,5-tricarboxylate	C ₁₄ H ₁₉ NO ₉	-
3.82	478.171	2-Acetamido-3,4,6-tri-O-acetyl-2-deoxy-1-O-[(2E)-3-propenoyl]hexopyranose	C ₂₃ H ₂₇ NO ₁₀	-
4.55	865.245	Hexopyranoside	C ₄₅ H ₄₀ N ₂ O ₁₆	-

5.13	434.175	2-(2-Methoxyphenoxy)-N-{4-[(4-methyl-1-piperazinyl)sulfonyl]phenoxy}propanamide	C ₂₁ H ₂₇ N ₃ O ₅ S	Fenol
5.59	446.178	8-[(2E)-2-(3,4-Dimethoxybenzylidene)hydrazino]adenosine	C ₁₉ H ₂₃ N ₇ O ₆	-
7.64	147.040	Dimethyl (E)-1,2-diazenedicarboxylate	C ₄ H ₆ N ₂ O ₄	-
8.11	308.128	Ethyl 2-(4-methoxyphenyl)-4-quinolinecarboxylate	C ₁₉ H ₁₇ NO ₃	-
8.38	392.172	[(2-methylphenyl) amino]methylene} benzamide	C ₂₁ H ₂₁ N ₅ O ₃	Fenol
8.69	249.114	2,2'-Methylenebis(1H-benzimidazole)	C ₁₅ H ₁₂ N ₄	Fenol
10.31	312.099	6-Ethyl-6H-pyrazino[2',3':4,5]pyrrolo[1,2-a]benzimidazole-2,3,5-tricarbonitrile	C ₁₇ H ₉ N ₇	Fenol
10.60	277.144	3-Hexyl-7,8-dihydroxy-4-methyl-2H-chromen-2-one	C ₁₆ H ₂₀ O ₄	Polifenol
12.23	354.193	1-(3'-metoksi-4'-hidroksifenil)-5-hidroksialkan-3-ones	C ₁₉ H ₂₃ N ₅ O ₂	Polifenol

Setelah diketahui dugaan senyawa yang terdapat pada masing-masing bahan dan minuman fungsional, dilakukan analisis senyawa penghambat α -glukosidase. Hal ini bertujuan untuk mengetahui senyawa yang terdapat di dalam masing-masing bahan yang berpotensi sebagai penghambat α -glukosidase yang masih ada di dalam minuman fungsional. Senyawa bioaktif utama yang teridentifikasi pada masing-masing bahan dan yang terdapat di dalam minuman fungsional dapat dilihat pada Tabel 21.

Tabel 21. Dugaan Senyawa Penghambat Aktivitas α -glukosidase

<i>Sargassum sp.</i>	Kayu Manis	Jahe Emprit	Minuman Fungsional
Benzimidazol	Benzotriazole	Gingerol	Gingerol
Phragallol	Cinnamate	Hezanamide	Benzimidazole
Florotanin	Phyrazolate	Benzendiamine	Cinnamate

Dari Tabel 21 dapat diketahui bahwa senyawa yang memiliki potensi sebagai penghambat α -glukosidase yang masih bertahan didalam minuman fungsional adalah gingerol, benzimidazol dan cinnamate. Ketiga senyawa yang muncul pada

minuman fungsional karena ketiganya merupakan senyawa polifenol yang ada pada masing-masing ekstrak bahan. Gingerol dominan pada jahe emprit, benzimidazol merupakan senyawa polifenol yang ada pada *Sargassum* sp., dan cinnamate adalah senyawa yang paling banyak terdapat di dalam kayu manis.

Benzimidazol mempunyai kemampuan sebagai senyawa inhibitor α -glukosidase. Menurut Ozil, *et al.* (2016) bahwa turunan dari benzimidazol disintesis, dievaluasi untuk mengetahui penghambatannya dan mengidentifikasi tiga senyawa sebagai inhibitor α -glukosidase yang kuat. Benzimidazol merupakan senyawa turunan dari florotanin. Nwosu (2010) melaporkan florotanin dapat menurunkan glukosa darah karena mampu menghambat aktivitas α -glukosidase. Sisi aktif enzim tersebut diikat oleh florotanin hingga aktivitas pemecahan pati menjadi glukosa oleh enzim tersebut di saluran pencernaan menjadi terhambat.

Kayu manis mengandung banyak senyawa fenol dan polifenol, namun yang berperan sebagai antihiperglikemik adalah cinnamate. Cinnamate merupakan turunan dari *Cinnamaldehyde*. Berdasarkan penelitian Arini (2016) bahwa salah satu komponen polifenol kayu manis yaitu *Cinnamaldehida* dengan mekanisme kerja sebagai potensial hipoglikemik yang dapat membantu menurunkan kadar glukosa darah melalui jalur penghambatan α -glukosidase. Oboh *et al.* (2010) bahwa jahe putih (emprit) memiliki efek penghambatan kuat pada α -glukosidase.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi antara ekstrak *Sargassum sp.*, ekstrak kayu manis dan ekstrak jahe emprit tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap respon organoleptik yang meliputi rasa, warna, kenampakan dan aroma, selain itu juga tidak memberikan pengaruh terhadap respon total polifenol dan penghambatan α -glukosidase, namun kombinasi dari ketiga ekstrak bahan tersebut dapat memberikan pengaruh yang nyata terhadap respon pH. Hasil penelitian ini juga didapatkan solusi terbaik (optimum) untuk minuman fungsional dengan nilai *desirability* sebesar 0,595 dengan konsentrasi *Sargassum sp.*, 18%, kayu manis 13% dan jahe emprit 35%. Minuman fungsional memiliki nilai IC_{50} yang jauh lebih tinggi dari akarbosa yang artinya minuman fungsional tidak optimal untuk menghambat 50% aktivitas α -glukosidase. Produk minuman positif mengandung senyawa dari golongan flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan fenol. Hasil dari kombinasi ekstrak *Sargassum sp.*, kayu manis dan jahe emprit sebagai minuman fungsional tidak dapat memberikan efek yang optimal terhadap penghambatan α -glukosidase.

5.2 Saran

Stabilitas minuman formula optimal yang dibuat dalam penelitian ini masih rendah sehingga perlu penelitian lebih lanjut bagaimana mendapatkan formula minuman optimal yang lebih mutu organoleptik dan terutama dalam menghambat α -glukosidase. Selain itu juga perlu adanya perbaikan untuk mengembangkan formula minuman fungsional salah satunya yaitu dengan meningkatkan jangkauan (*range*) konsentrasi titik tengah pada masing-masing bahan sehingga produk yang dihasilkan akan memiliki tingkat perbedaan yang signifikan dan menjadi produk dengan formulasi yang mendekati sempurna.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, R. 2017. Uji identifikasi farmakognostik tumbuhan kemiri Sunan (*Aleurites trisperma*) di kebun percobaan Universitas Muhammadiyah Palangkaraya. *Anterior Jurnal*. **17** (1) : 60-68
- Adelia S., L. M. Eunike., dan E. Bertle. 2015. Analisa kadar air, pH, organoleptik, dan kapang pada produk ikan tuna (*Thunnus sp*) asap, di kelurahan Girian Bawah, Kota Bitung, Sulawesi Utara. *Media Teknologi Hasil Perikanan*. **3** (2): 55-65
- Adisakwattana S., K. Soookkongwaree., S. Roengsumran., A. Petsom., N. Ngamrojnavanich., W. Chavasiri., S. Deesamer., and S. Yibchok-anun. 2007. Structure-activity relationships of trans-cinnamic acid derivates on alpha glukosidase inhibition. *Bioorganisme. Medical. Chemistry*. **14** (2) : 2893-2896
- Akhani, S.P., S. L. Vishwakarma, dan R. K. Goyal. 2001. Anti-diabetic activity of *Zingiber officinale* in streptozotoc in-induced type i diabetic rats. *Journal Pharmacy Pharmacol.* **56** (1) : 101-105
- Al-Dhubiab, B. E. (2012). Pharmaceutical applications and phytochemical profile of *Cinnamomum burmannii*. *Pharmacognosy Reviews*. **6** (12) : 125-131
- Anggriawan, M. B. 2015. Potensi ekstrak air dan etanol kulit batang kayu manis padang (*Cinnamomum Burmanii*) terhadap aktivitas a-glukosidase. *Jurnal Kedokteran Yarsi*. **23** (2) : 091-102
- Apriani, R. 2012. Uji penghambatan aktivitas α -glukosidase dan identifikasi golongan senyawa dari fraksi yang aktif pada ekstrak kulit batang *Cinnamomum burmannii* (nees & t.nees) Blume. *Skripsi*. FMIPA Universitas Indonesia : Depok
- Aprilia, F. 2010. Efektifitas ekstrak jahe (*Zingiber officinale* rosc.) 3,13% dibandingkan ketokonazol 2% terhadap pertumbuhan *Malassezia* sp. pada ketombe. *Artikel Ilmiah*. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang
- Azima. F., D. Muchtadi., F. R. Zakaria., Priosoeryanto. 2004. Potensi antihipercolesterolemia ekstrak cassia vera *Cinnamomum burmanni* Nees et Blumo. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*. **15** (1) : 145-153
- Azizah, S. K. N., E. N. Dewi dan A. S. Fahmi. 2017. Potensi ekstrak kasar alga cokelat (*Sargassum* sp.) dan daun teh (*Camellia sinensis*) dalam menghambat oksidasi pada udang vannamei (*Litopanaeus vannamei*) segar selama penyimpanan dingin. *Journal of Fisheries Science and Technology*. **13** (1) : 45-51
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2009. Diabetes mellitus. *Informasi Produk Terapetik*. **19** (1) : 1-12

- Barodah, L. L., Sumardianto dan E. Susanto. 2017. Efektivitas serbuk *Sargassum* sp. sebagai antibakteri pada ikan lele (*Clarias* sp.) selama penyimpanan dingin. *Jurnal Pengetahuan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. **6** (1) : 10-20
- Bernardo, M. A. 2015. Research article: effect of cinnamon tea on postprandial glucose concentration. *Journal of Diabetes Research*. **14** (1) : 86-90
- Bosenberg, L. H. 2008. The mechanism of action of oral antidiabetic drugs. a review of recent literature. *The Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa*. **13** (3) : 80-88
- Burton, P. 2003. Nutritional value of algae. *Electronical Journal Environment Agriculture Food Chemistry*. France. **2** (4) : 489-500
- Denga, Y., H. Kai., Y. Xiaoli., C. Xin., H. Jing., L. Xuegang., Y. Lujiang., J. Yalan., J. Qing., and L. Panpan. 2012. Saponin rich fractions from *Polygonatumodoratum* (Mill.) druce with more potential hypoglycemic effects. *Journal Ethnopharmacol*. **141** (4) : 228-233
- Departemen Kesehatan RI. 1977. Materia Medika Indonesia. Jilid I. 40-41 ; 4345. Departemen Kesehatan Republik Indonesia : Jakarta.
- Dhianawaty, D dan Ruslin. 2015. Kandungan total polifenol dan aktivitas antioksidan dan ekstrak metanol akar *Imperata cylindrica* (L) beauv (alang-alang). **47** (1) : 60-64
- Djama'an, Q., E. Goenarwo., dan I. Mashoedi. 2012. Pengaruh air perasan jahe terhadap kadar glukosa darah dan gambaran histopatologi sel beta pankreas studi eksperimental pada tikus jantan. *Jurnal Sains Medika*. **4** (2) : 165-173
- Duguo, J. J. 2007. From type 2 diabetes to antioxidant activity: a systematic review of the safety and efficacy of common and casia cinnamon bark. *Canadian Journal Physiologi Pharmacology*. **85** (6) : 837-847
- Elekofehinti, O. O. 2015. Saponins: antidiabetic principles from medicinal plants – a review. *Pathophysiology*. **22** (5) : 95–103.
- Ergina., S. Nuryanti dan I. D. Pursitasari. 2014. Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademi Kimia*. **3** (3) : 165-172
- Ervina, M. 2016. Comparison of in vitro antioxidant activity of infusion, extract and fractions of indonesian cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) bark. *International Food Research Journal*. **23** (3) : 1346-1350
- Fathona, D. 2011. Kandungan gingerol dan shogaol, intensitas kepedasan dan penerimaan panelis terhadap oleoresin jahe gajah (*Zingiber officinale* Var Rosce), jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Amarum) dan jahe merah (*Zingiber officinale* Var Rubrum). *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor : Bogor
- Febrinda, A. E., M. Astawan., T. Wresdiyati., dan N. D. Yuliana. 2013. Kapasitas antioksidan dan inhibitor alfa glukosidase ekstrak umbi bawang dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. **14** (2) : 161-167

- Feng, J., X. W. Yang dan R. F. Wang. 2011. Bio-assay guided isolation and identification of a-glukosidase inhibitors from the leaves of *Aquilaria sinensis*. *Phytochemistry*. **72** : 242-247
- Fessenden, R. J. 1982. *Kimia Organik Jilid 2*. Jakarta : Erlangga
- Firdaus, M., A. Chamidah., A. R. Nurcholis., S. Yulaikah., P. Y. Anggraeni., W. A. Suryanata., D. Alghafihqi dan R. Hardiansyah. 2017. Pengaruh ekstrak *Sargassum polycystum* terhadap hati dan ginjal tikus diabetes mellitus. *Pharmaciana*. **7** (2) : 195 – 204
- Fitri, I. 2017. Pengaruh penambahan ekstrak rumput laut cokelat terhadap kualitas es krim. *Skripsi*. Fakultas Pariwisata dan Perhotelan. Universitas Negeri Padang : Padang
- Foon, T. S., L. A. Ai., P. Kuppusamy., M. M. Yusoff, and N. Govindan. 2013. Studies on in vitro antioxidant activity of marine edible seaweeds from the east coastal region of Peninsular Malaysia using different extraction methods. *Journal Coastal Life Medicine*. **1** (3) : 193-198
- Gao,H., Y. Huang., P. Y. Xu dan J. Kawabata. 2007. Inhibitory effect on α -glucosidase by the fruits of *Terminalia chebula* retz. *Food Chemistry*. **105** (2) : 628-634
- Ginting, M. K. 2012. Validasi metode LC-MS/MS untuk penentuan asam trans, tras-mukonat, asam hippurat, asam -2-metil hippurat, asam 3-metil hippurat, asam 4-metil hippurat dalam urin sebagai biomarker paparan benzena, toluena dan xilena. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia : Depok
- Goldberg, I. 1994. Introduction. In : Goldberg I.(Ed.). Functional Foods. *Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals*. Chapman & Hall : New York.
- Grace, S. 2010. Kandungan fosfor minuman sari rumput laut (*Eucheuma cottonii*). *Pacific Journal*. **1** (5) : 792-795
- Gunawan, C. O dan A. Suhendra. 2013. Efek Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Postprandial. (Online. http://repository.maranatha.edu/12183/10/1_010066_Journal.pdf. diakses tanggal 21 Maret 2018).
- Hanefeld, M., 2007, Cardiovascular benefit and Safety Profile of Acarbose Therapy in Prediabetes and Established Type 2 Diabetes. *Cardiovascular Diabetol*. **6** (1) : 20
- Hapsoh., Y. Hasanah dan E. Julianti. 2010. Budidaya dan Teknologi Pascapanen Jahe. USU Press : Medan
- Harahap, F. 2012. Suatu pengantar fisiologi tmbuhan. UNIMED Press : Medan
- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia. Penerbit ITB. Bandung
- Hasimun, P dan I. K. Adnyana. 2019. Zingiberaceae famili effect on alpha glucosidase activity : implication for diabetes. *Chapter 26 : Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes*. **2** (4) : 387 – 393

- Hidayah, N., A. K. Hisan., A. Solikin., Irawati dan D. Mustikaningtyas. 2016. Uji efektivitas ekstrak *Sargassum muticum* sebagai alternatif obat bisul akibat aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Creativity Students.* **1** (1) : 1-9.
- Hidayati, F., Y. S. Darmanto dan Romadhon. 2017. Pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak *Sargassum* sp. dan lama penyimpanan terhadap oksidasi lemak pada fillet ikan Patin (*Pangasius* sp.). *Jurnal Ilmu Lingkungan.* **15** (1) : 64-73
- Hikmah, Z. 2015. Uji aktivitas inhibitor alfa-glukosidase fraksi etanol daun kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) berbagai varian dari daerah Jember. *Skripsi.* Fakultas Farmasi. Universitas Jember : Jember
- Husni, A., D. Ariani dan S. A. Budhiyanti. 2015. Aktivitas antioksidan dan tingkat penerimaan konsumen pada minuman instan yang diperkaya dengan ekstrak *Sargassum polycystum*. *AGRITECH.* **35** (4) : 109-122
- Illing I, Safitri W, Erfina. 2017. Uji fitokimia ekstrak buah dengen. *Jurnal Dinamika.* **8** (1): 66-84.
- Indah, M. 2004. Enzim. Publikasi Ilmiah. Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatra Utara : Sumatra Utara
- Irawati, R. 2016. Karakterisasi pH, suhu dan konsentrasi substrat pada enzim selulase kasar yang diproduksi oleh *Bacillus circulans*. *Jurnal Skripsi.* Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim : Malang
- Jaedun, A. 2011. Metode penelitian eksperimen. Ka. Puslit Dikdasmen. Fakultas Teknik. Universitas Negeri Yogyakarta : Yogyakarta
- Jeeva, S., J. Marimuthu., C. Domella., Anantham., M. Mahesh. 2012. Preliminary phytochemical studies on some selected seaweeds from Gulf of Mannar, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* **11** (6) : S30-S33
- Kadi, A. 2005. Beberapa catatan kehadiran marga *Sargassum* di perairan Indonesia. *Oseana.* **30** (4) : 19-29.
- Kadir, A. 2015. Buku Pintar Pemrograman Arduino. Mediacom : Yogyakarta
- Kapadia, G. J., dan M. A. Azuine. 2003. Chemoprevention of DMBA-induced UV-B promoted, NOR-1-induced TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN-induced phenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot. *Pharmacological Research.* **47** (2): 141-148.
- Kasali, F. M., F. M. Wendo., S. K. Muyisa., and J. N. Kadima. 2016. Comparative hypoglycemic activity of flavonoids and tannins fractions of *Stachytarpheta indica* (L.) vahl leaves extracts in guinea-pigs and rabbits. *Interantional Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Research.* **5** (2) : 48-57
- Khotimah, K. 2016. Skrining fitokimia dan identifikasi metabolit sekunder senyawa karpaian pada ekstrak metanol daun *Carica pubescens* Lenne dan Kock dengan LC/MS (Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometry). *Skripsi.* Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim : Malang

- Koswara S. 1995. Jahe dan hasil olahannya. Pustaka Sinar Harapan : Jakarta.
- Kristanti, A. N., N. S. Aminah, M. Tanjung, B dan Kurniadi. 2008. Buku Ajar Fitokimia, Airlangga University Press: Surabaya
- Kumar G., L. K. V. Karthik., dan B. Rao. 2011. A review on pharmacological and phytochemical properties of *Zingiber officinale Roscoe* (*Zingiberaceae*). *Journal of Pharmacy Research.* **4** (9) : 2963-2969
- Lehninger, A. 1988. Dasar-dasar biokimia. Terjemahan Maggy Thenawidjaya. Erlangga : Jakarta.
- Lentera, Tim. 2002. Khasiat dan manfaat jahe merah : si rimpang ajaib. Agro Media Pustaka : Jakarta
- Logamarta, S., 2008. Pengaruh infusa kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap kadar glukosa darah mencit galur swiss webster yang diinduksi aloksan. *Biochemical Journal.* **282** (20) : 765-772.
- Looi, C. Y., B. Moharrom., M. Payda., Y. L. Wong., K. H. Leong., K. Mohamad., A. Arya., W. F. Wong., M. R. Mustafa. 2013. Introduction of apoptosis in melanoma A375 cells by chloroform fraction of *Centratherum anthelminticum* (L) seeds involves NF Kappa B, p53 and Bcl-2-controlled mitochondrial signaling pathways. *Article of BMC Complementary and Alternative Medicine.* **13** (4) : 1-17
- Luo, L., R. Wang., X. Wang., Z. Ma., dan N. Li. 2012. Compounds from angelica keiskei with nqo1 induction, dpph scavenging and alpha-glucosidase inhibitory activities. *Food Chemistry.* **131** (2) : 992-998.
- Malangngi, L .P., M. S. Sangi., dan J. J. E. Paendong. 2012. Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana Mill*). *MIPA Unsrat Online.* **1** (1) : 5-10
- Manteu, S. H., Nurjanah dan T. Nurhayati. 2018. Karakteristik rumput laut cokelat (*Sargassum polycistum* dan *Padina minor*) dari perairan Pahuwoto Provinsi Gorontalo. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* **21** (3) : 396-405
- Marks. D. B. A. D., C. M. Marks dan Smith. 2000. Biokimia kedokteran dasar: sebuah pendekatan klinis. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Marliana, S.D., V. Suryanti., & Suyono. 2005. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi.* **3** (1) : 26-31.
- Marsono, Y. 2007. Prospek pengembangan makanan fungsional. Makalah disampaikan pada Seminar Nasional dalam rangka “*National Food Technology Competition (NFTC)*”.
- Mataputun, A. P., J. A. Rongrong dan J. Pontoh. 2013. Aktivitas inhibitor α -glukosidase ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*. Spp) sebagai age antihiperglikemik. *Jurnal MIPA UNSRAT Online.* **2** (2) : 119-23
- Matsui, T., S. Ebuchi., K. Matsugano., N. Terahara., and K. Matsumoto. 2004. Caffeoylsophore, a new natural α -glucocidase inhibitor, from red vinegar by

fermented purplefleshed sweet potato. *Bioscience. Biotechnology. Biochemistry.* **6** (1) : 2239-2246

- Mauldina, M. G. 2011. Penapisan aktivitas penghambatan alfa glukosidase dan identifikasi senyawa pada beberapa tanaman yang secara tradisional digunakan sebagai antidiabetes. *Skripsi. Program Sarjana. Universitas Indonesia* : Depok
- McGown, J. 2006. Diabetes drug produced by a microbe in out of africa: mysteries of access and benefit sharing. beth burrows (ed). *The Edmonds Institute*. Washington. USA
- Medagama, A. B. 2015. The glycaemic outcomes of Cinnamon, a review of the experimental evidence and clinical trials. *Jurnal Online. Nutrition Journal.* **14** (1) : 108
- Megiandari, A. 2009. Isolasi dan pencirian enzim protease keratinolitik dari usus biawak air. *Tesis. Jurusan Kimia FMIPA. IPB* : Bogor
- Meilgaard, E. T., G. V. Civille dan B. T. Carr. 1999. Sensory evaluation techniques. 3rd Ed. CRC. Press : USA
- Melati, N. S. 2012. Aplikasi response surface methodology (RSM) dalam optimasi parameter pada mie instan indomie di pt indofood cbp sukses makmur, TBK. Divisi noodle cabang Jakarta. *Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Petanian Bogor* : Bogor
- Montgomery, D. C. 2011. Design and analysis of experiments 5th ed. new york: John Wiley & Sons Inc
- Montgomery, C. D. 2009. Introduction to statistical quality control. *Seventh Edition*. Wiley
- Muawannah, A., A. Sad'duddin., D. Sukandar., N. Radiastuti dan I. Djajanegara. 2012. Penggunaan bunga kecombrang (*Erlingera elatior*) dalam proses formulasi permen jelly. *Jurnal valensi.* **2** (4) : 526-533
- Murray, R. K., K. G. Daryl., W. R. Victor. 2009. Biokimia Harper Edisi 27. EGC. Terjemahan dari *Harper's Illustrated of Biochemistry*. 27th ed
- Murthy, K. N dan S. Manchali. 2012. Chapter 8 : antidiabetic potentials of red beet pigments and other constituens. *Triesta Science. Health Care Global Oncology Hospital* : India
- Muslimin dan W. K. P. Sari. 2017. Budidaya rumput laut *Sargassum* sp. dengan metode kantong pada beberapa tingkat kedalaman di dua wilayah perairan berbeda. *Jurnal Riset Akuakultur.* **12** (3) : 221-230
- Nagappan, H., P. P. Pee., S. H. Y. Kee., J. T. Ow., S. W. Yan., L. Y. Chew., K. W. Kong. 2017. Malaysian brown seaweeds *Sargassum siliquosum* and *Sargassum polycystum*: low densitylipoprotein (LDL) oxidation, angiotensin converting enzyme (ACE), α -amylase and α -glucosidase inhibition activities. *Food Research International.* 1-9 antioxidant activity. *Journal Science Technology.* **26** (2) : 211-219

- Naiu, A. S. 2010. Formulasi dan uji stabilitas minuman fungsional berbahan dasar lintah laut (*Discodoris* sp.). Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor : Bogor
- Nasti, T. S. W., Katrin dan A. Mun'im. 2013. Uji penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dan identifikasi golongan senyawa dari fraksi teraktif ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa* linn). *Artikel Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Indonesia : Depok
- Negri,G. 2005. Diabetes mellitus ; hypoglycemic plants and natural active principles. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. **41** (2).
- Ngadiwyana. 2011. Potensi sinamatdehid hasil isolasi minyak kayu manis sebagai senyawa antidiabetes. *Majalah Farmasi Indonesia*. **22** (1) : 9-14
- Nunes, N. M., A. F. C. Pacheco., Á. J. P. Agudelo., L. H. M. Silva., M. S. Pinto., M. C. Hespanhol dan A. C. S.Pires. 2017. Interaction of cinnamic acid and methyl cinnamate with bovine serum albumin: a thermodynamic approach. *Food Chemistry*. **17** (2) : 1-23
- Nurmiah, S., R. Syarief., Sukarno., R. Peranginangin dan B. Nurmata. 2013. Aplikasi response surface methodology pada optimalisasi proses pengolahan alkali treated *conttonii* (ATC). *Jurnal Pascapanen dan Biotekonologi Kelautan dan Perikanan*. **8** (1) : 9-22
- Nursal, S. 2005. Kandungan senyawa kimia ekstrak daun lengkuas (*Lactuca indica* Linn), toksisitas dan pengaruh subletalnya terhadap mortalitas larva nyamuk *Aedes aegypti* L. *Laporan penelitian*. Universitas sumatera Utara : Medan
- Nwosu F. 2010. Anti-proliferative and potential anti-diabetic effects of phenolic-rich extracts from edible marine algae. *Food Chemistry*. **126** : 1006-1012.
- Ondagau, D. C., A. Ridhay dan Nurakhirawati. 2018. Karakterisasi pigmen hasil ekstraksi etanol dari buah senggani (*Melastoma malabathricum*). *Kovalen Jurnal Riset Kimia*. **4** (3) : 228-236
- Ozil, M., Mustafa, E., Semiha Y.E., Serdar, U., Bahittin K. 2016. A simple and efficient synthesis of novel inhibitors of alpha-glucosidase based on benzimidazole skeleton and molecular docking studies. *Bioorganic Chemistry*. **68** (3) : 226-235
- Pakidi, C. S. Dan H. S. Suwoyo. 2016. Potensi dan pemanfaatan bahan aktif alga cokelat *Sargassum* sp. *Jurnal Ilmu Perikanan*. **5** (2) : 488-498
- Palupi, M. R. Dan T. D. Widyaningsih. 2015. Pembuatan minuman fungsional liang teh daun salam (*Eugenia polyantha*) dengan penambahan filtrat jahe dan filtrat kayu secang. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **3** (4) : 1458 – 1464
- Park, S.R., J. H. Kim., H. D. Jang., S. Y. Yang dan Y. H. Kim. 2018. Inhibitory activity of minor phlorotannins from *Ecklonia cavaon* α -glucosidase. *ELSIVIER*. **5** (6) : 192-200.

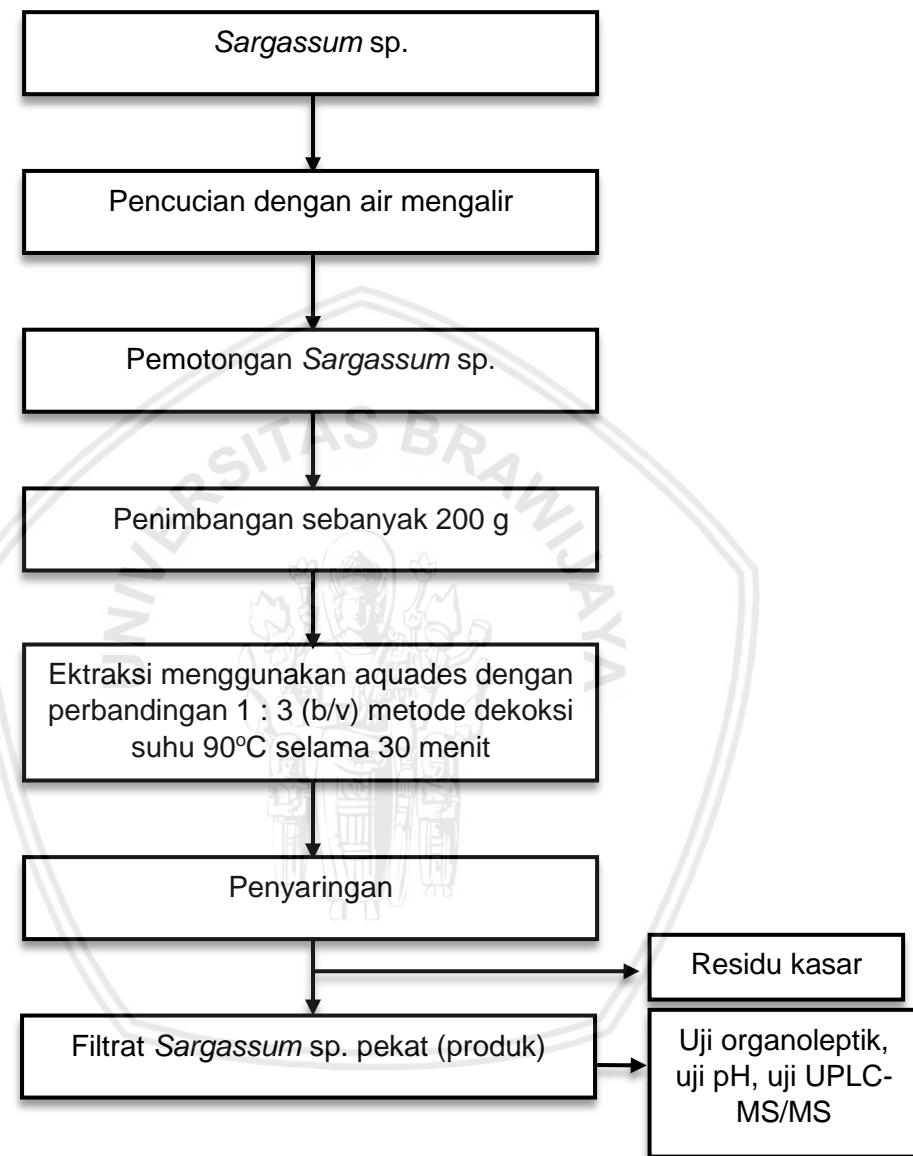
- Paudel, P., S. H. Seong., S. Wu., S. Park., H. A. Jung dan J. S. Choi. 2019. Eckol as a potential therapeutic against neurodegenerative diseases targeting dopamine D3/D4 receptors. *Journal of Marine Drugs.* **17** (108) : 1-17
- Poedjiadi, A. dan F. M. T. Supriyanti. 2009. Dasar-Dasar Biokimia. Penerbit Universitas Indonesia : Jakarta
- Prasetya, N. B. A dan Ngadiwiyana. 2006. Identifikasi senyawa penyusun minyak kayu manis (*Cinnamomum cassia*) Menggunakan GC-MS. *Jurnal Sains dan Matematika.* **9** (3) : 81-83
- Pratama, Y., P. R. Sarjono dan N. S. Mulyani. 2015. Skrining metabolit sekunder bakteri endofit yang berfungsi sebagai antidiabetes daun mimba (*Azadirachta indica*). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi.* **18** (2) :73-78
- Pratiwi, T. 2014. Uji aktivitas ekstrak metanolik *Sargassum hystric* dan *Eucheuma denticulatum* dalam menghambat α -amilase dan α -glukosidase. *Skripsi.* Teknologi Hasil Perikanan. Universitas Gadjah Mada : Yogyakarta
- Purwati, S., S. V. T. Lumowa dan Samsurianto. 2017. Skrining fitokimia daun saliara (*Lantana camara L*) sebagai pestisida nabati penekan hama dan insidensi penyakit pada tanaman hortikultura di Kalimantan Timur. *Prosiding Seminar Nasional Kimia.* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Mulawarman : Kalimantan Timur
- Putranti, R. I. 2013. skrinning fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Sargassum duplicatum* dan *Turbinaria ornata* dari Jepara. *Tesis Manajemen Sumberdaya Pantai* Universitas Diponegoro : Semarang.
- Putri, A. M. 2014. Ekstraksi Rumput laut coklat *Sargassum* sp. (CP 01) dan pengujian ekstrak sebagai inhibitor tirosinase. *Skripsi.* Bogor (ID): Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Putri, L. R., N. Hidayat., dan N. L. Rahmah. 2014. Pemurnian eugenol dari minyak daun cengkeh dengan reaktan basa kuat KOH dan Ba(OH)2 (Kajian konsentrasi Reaktan). *Jurnal Industria.* **3** (1) : 1-12
- Qin, Bolin., K. S. Panickar., dan R. A. Anderson. 2010. *Cinnamon* : potential role in the prevention of insulin resistance, metabolic syndrome, and type 2 diabetes. *Journal of Diabetes Science and Technology.* **4** (3) : 685-693
- Ragan, M. A dan K. W. Glombitza. 1986. Phlorotannins, Brown algal polyphenols. In: *Progress in Phycological Research Biopress.* **3** (8) : 129-241.
- Rahmadani. S., S. Sa'diah dan S. Wardatun. 2015. Optimasi ekstraksi jahe merah (*Zingiber officinale* roscoe) dengan metode maserasi. *Jurnal Kesehatan.* **2** (3) : 1-10
- Raissi, S dan R. E. Farzani. 2009. Statistical process optimization through multi-response surface methodology. World Academy of Science. *Engineering and Technology.* **9** (2) : 267-271
- Ramadhan, A. J. 2013. Aneka manfaat ampuh rimpang jahe untuk pengobatan. Diandra Pustaka Indonesia : Yogyakarta

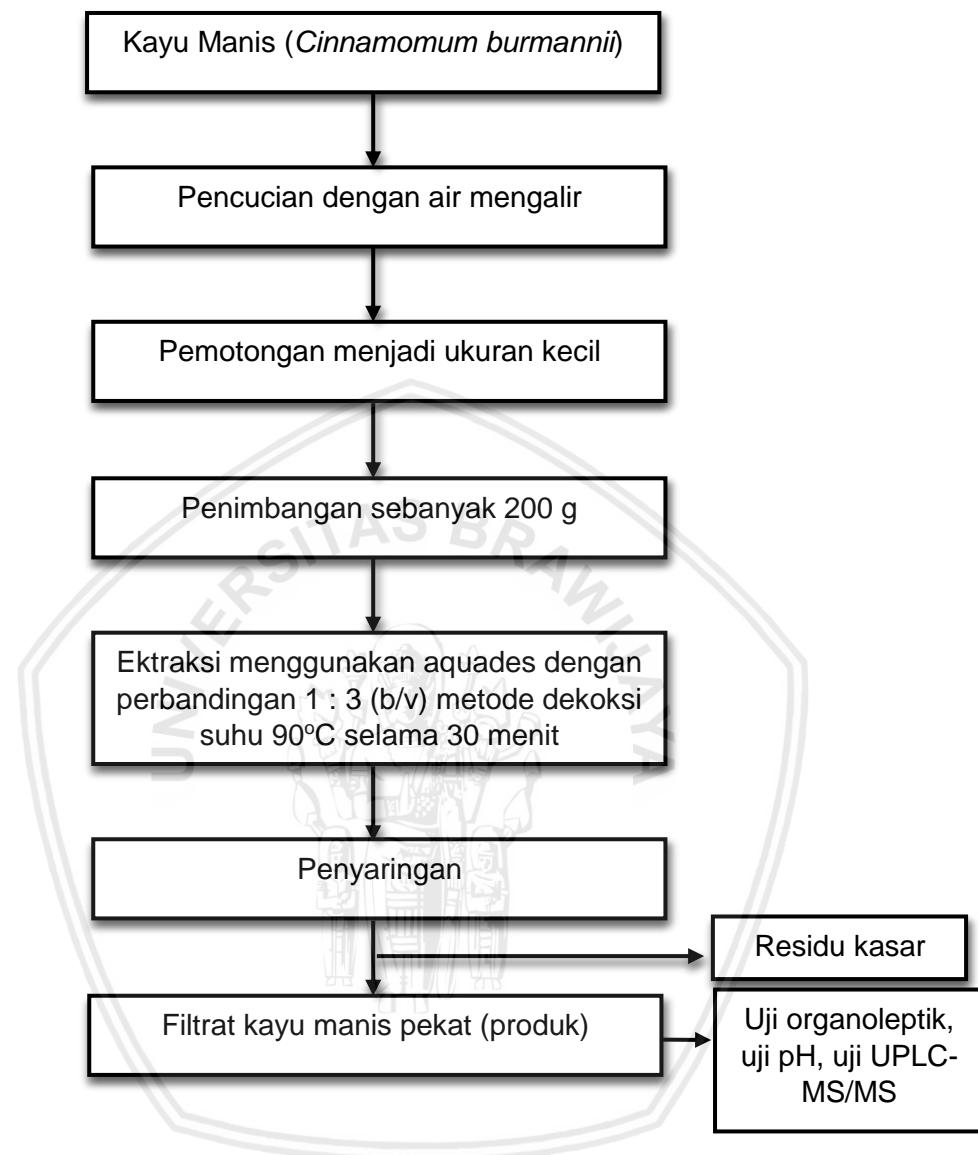
- Ramadhani, R. A., D. H. S. Riyadi., B. Triwibowo dan R. D. Kusumaningtyas. 2017. Review pemanfaatan design expert untuk optimasi komposisi campuran minyak nabati sebagai bahan baku sintesis biodiesel. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan.* **1** (1) : 11-16
- Rani, M. P.,K. P. Padmakumari., B. Sankarikutty., O. Lijocherian.,V. M. Nisha & K. G. Raghu. 2011. Inhibitory potential of ginger extracts against enzymes linked to type 2 diabetes, inflammation and induced oxidative stress. *International Journal of Food Sciences and Nutrition.* **62** (2) : 106-110
- Ridawati. 2016. Daya terima minuman fungsional berbasis klorofil dari rumput pahit (*Anoxopus compressus* [SCWARTZ] dan antosianin dari ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.). *Jurnal Matematika, Sains dan Teknologi.* **17** (2) : 109-118
- Ridha, N. 2017. Proses penelitian, masalah, variabel dan paradigma penelitian. *Jurnal Hikmah.* **14** (1) : 62-70
- Rizal, S., F. Nurainy., Suharyono dan M. A. Galia. 2012. Efek penambahan glukosa dan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap karakteristik organoleptik minuman probiotik kulit nanas madu (*Ananas comosus*). *Jurnal Pertanian.* **12** (3) : 1-13
- Rui, Wang., W. Ruijiang dan Y. Bao. 2009. Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Inovative Food Series and Emerging Technologies.* **1** (2) : 289-292
- Rusli, S. dan A. Abdullah. 2009. Prospek pengembangan kayu manis di Indonesia. *Jurnal Litbang Pertanian.* **8** (3) : 75-79.
- Sancheti, S., S. Sandesh dan S. Seo. 2009. *Chaenomeles sinensis*: A potent α- and β-glucosidase inhibitor. *American Journal of Pharmacology and Toxicology.* **4** (1): 8-11.
- Sanjeeva, K.K .A., E. A. Kim., K. T. Son., dan Y. J. Jeon. 2016. Bioactive properties and potentials cosmeceutical applications of phlorotannins isolated from brown seaweeds: A Review. *Journal Photochemistry. Photobiology.* **162** (1) : 100-105.
- Sari, H. C., S. Darmanti dan E. D. Hastuti. 2006. Pertumbuhan tanaman jahe emprit (*Zingiber officinale* Var Rubrum) pada media tanam pasir dengan salinitas yang berbeda. *Buletin Anatomi dan Fisiologi.* **14** (2) : 19-29
- Sedjati, S., E. Supriyantini., A. Ridlo., N. Soenardjo dan V. Y. Santi. 2018. kandungan pigmen, total fenolik dan aktivitas antioksidan *Sargassum* sp. *Jurnal Kelautan Tropis.* **21** (2) : 137-144
- Sedjati, S., Suryono., A. Santosa., E. Supriyantini dan A. Ridlo. 2017. aktivitas antioksidan dan kandungan senyawa fenolik makroalga coklat *Sargassum* sp. *Jurnal Kelautan Tropis.* **20** (2) : 117-123
- Sembiring, B. B. 2014. Minuman fungsional antioksidan berbasis tanaman obat. Prosiding Seminar Nasional Pertanian Organik. *Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat* : Bogor

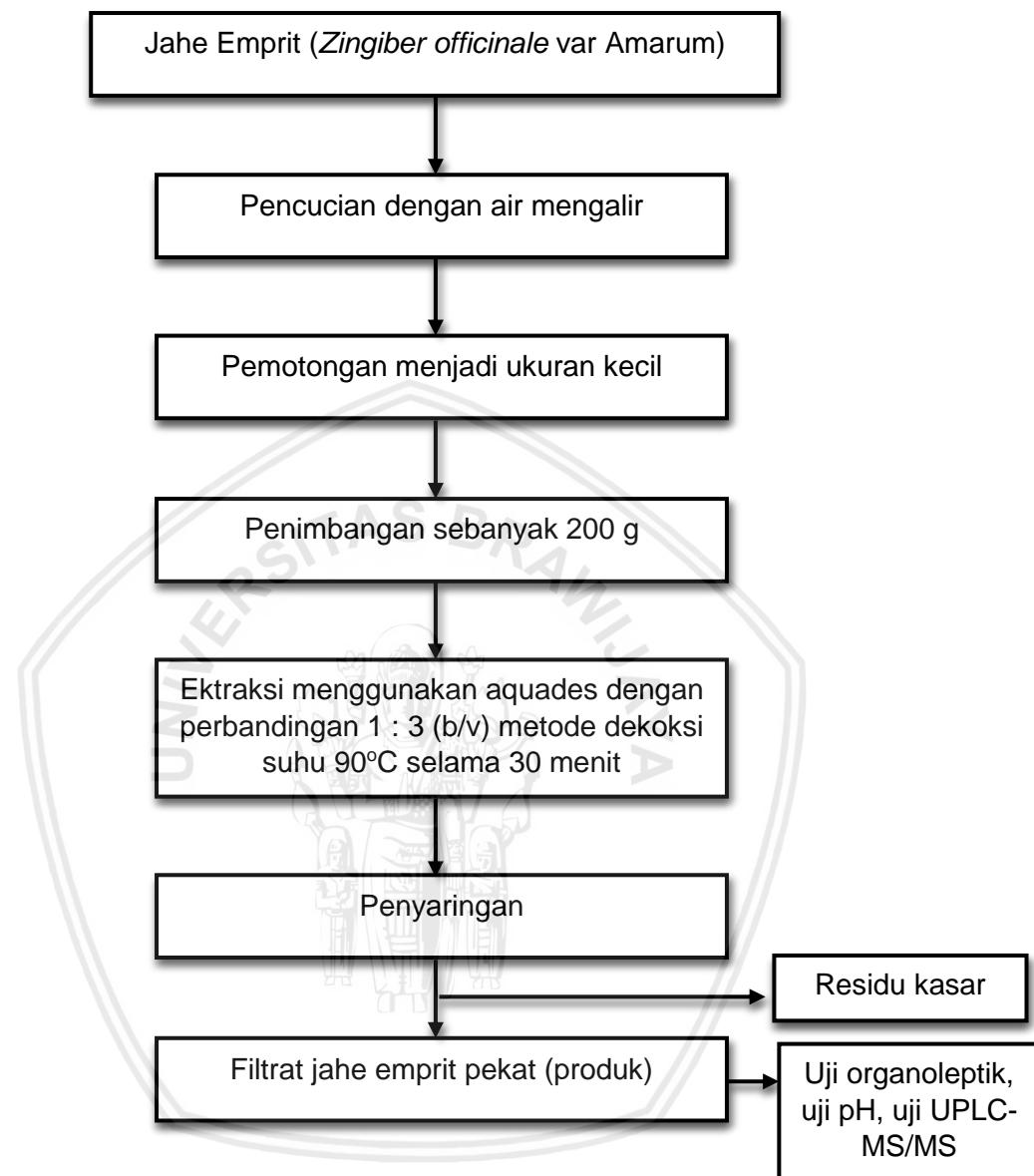
- Septiana, A.T dan A. Asnani. 2012. Kajian sifat fisikokimia ekstrak rumput laut cokelat *Sargassum duplicatum* menggunakan berbagai pelarut dan metode ekstraksi. *Agrointek*. **6** (1): 22-28
- Septiana, A.T dan H. Dwiyanti. 2009. Aktivitas antioksidan minuman fungsional sari irisan buah kering mahkota dewa. *AGRITECH*. **29** (1) : 16-21
- Setiawan, J dan T. Nugroho. 2018. Pengaruh ekstrak kulit manggis terhadap enzim katalase hepar tikus terpapar minyak jelantah. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. **7** (1) : 263-272.
- Simpson, C., D. Abrahams., Steptoe, and Johnson. 2005. Functional drink an uncertain future. *Life Science*. **3** (1) : 47-51
- Sitanggang, S. S. 2018. Pengaruh frekuensi dekok *Sargassum* sp. yang berbeda terhadap penurunan glukosa darah dan ekspresi tnf-a pada ginjal dan aorta tikus diabetes melitus tipe 2. *Sarjana Thesis*, Universitas Brawijaya.
- Sjahid, L. R. 2008. Isolasi dan identifikasi flavonoid dari daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L.). *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta : Surakarta
- SNI (Standart Nasional Indonesia). 2006. Cara Uji Air Minum dalam Kemasan. <http://pustan.bpkimi.kementerian.go.id/files/SNI%2001-3553-2006.pdf>. (diakses pada 4 Januari 2019 pukul 06.32).
- Soegondo, S. 2009. Farmakolerapi pada pengendalian glikemia diabetes melitus tipe 2. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. *Interna Publishing* .Jakarta. Indonesia. 188-890
- Subroto, A. 2016. Ramuan herbal untuk diabetes melitus. Penebar Swadaya : Depok
- Suhaj, M. 2006. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity : A Review. *Journal of Food Composition and Analysis*. **19** (2) : 531-537.
- Sukardi, 2000. Teknologi tepat guna pengolahan produk instan berbahan baku sayuran dan buah-buahan. *Prosiding seminar Peran Teknologi Tepat Guna terhadap Pengembangan Iptek dan Sumber Daya Manusia Dalam Rangka Menyongsong Otonomi Daerah*. Pusat Pengembangan dan Penerapan Teknologi Tepat Guna. Lembaga Pengabdian Masyarakat. Universitas Brawijaya : Malang
- Sulistijo. 2002. Penelitian budidaya rumput laut (alga makro/seaweed) di Indonesia. Pidato Pengukuhan Ahli Penelitian Utama Bidang Akuakultur. Pusat Penelitian Oseanografi LIPI.
- Sunanto, H. 2009. 100 Resep sembuhkan hipertensi, obesitas dan asam urat. PT. Elex Media Komputindo : Jakarta
- Suparmi dan A. Sahri. 2009. Mengenal potensi rumput laut : kajian pemanfaatan sumber daya rumput laut dari aspek industri dan kesehatan. *Sultan Agung*. **46** (118) : 95-116
- Supriyatna, A., D. Amalia., A. A. Juhari., dan D. Holydaziah. 2015. Aktivitas enzim amilasi, lipase, dan protease dari larva. *9* (2) : 18-32.

- Surh, Y. J. 2002. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxodative and anti-inflammatory activities: a short review. *Journal Food and Chemical Toxicology*. **40** (7) : 1091-1097
- Susanti, R dan Febriana, F. 2017. Teknologi Enzim. Yogyakarta : CV Andi Offset.
- Susanto, A. B dan A. Mucktiany. 2002. Strategi Pengembangan Rumput Laut Pada SMK dan Community College. Prosiding. *Seminar Riptek Kelautan Nasional*.
- Sutarno, H., E. A. Hadad, dan M. Brink. 1999. *Zingiber officinale Roscoe*. Spices. Plant Resources of South-East Asia (PROSEA) Foundation. **13** (1) : 238-244 : Bogor.
- Suter, I. K. 2011. Pangan Fungsional dalam Kesehatan Ayurveda. Makalah disajikan pada Seminar Sehari dalam rangka Hari Ibu di Universitas Hindu Indonesia.
- Suter, I. K. 2013. Pangan fungsional dan prospek pengembangannya. *Seminar Sehari*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Udayana : Bali
- Suzuki, M., S. Mitsuaki., Y. Risa., D. Masakuni., M. Toshio dan Y. Maeda. 2003. Epimerization of tea catechin and o-methylated derivates of (-)-epigallocatechin-3-O-gallate: relationship between epimeriation and chemical structure. *Journal Agriculture Food Chemistry*. **51** : 510-514.
- Syad, A. N., K. P. Shunmugiah dan P. D. Kasi. 2013. Seaweed as nutritional supplements: analysis of nutritional profile, physicochemical properties andproximate composition of *G. acerosa* and *S. wightii*. *Biomedicine and Preventive Nutrition*. **3** (2) : 139-144.
- Syafitri, D. M., J. Levita., M. Mutakin., dan A. Diantini. 2018. A review: is ginger (*Zingiber officinale* var. *roscoe*) potential for future phytomedicine. *Indonesian Journal of Applied Sciences*. **8** (1) : 1-6
- Syahrir, N., M. Farit., dan Budi S. 2016. Efek sinergis bahan aktif tanaman obat berbasiskan jejaring dengan protein target. *Jamu Indonesia*. **1** (1): 3546.
- Syukur, C dan R. M. Hernani. 2002. Budi daya tanaman obat komersial. Jakarta: Penebar Swadaya
- Tasia, W. R. N dan T. D. Widyaningsih. 2014. Jurnal Review : potensi cincau hitam (*Mesona palustris* Bl.), daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*) dan kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) sebagai bahan baku minuman herbal fungsional. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **2** (4) : 128-136
- Tiffany, I. A. 2019. Pengaruh konsentrasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan konsentrasi gula semut terhadap karakteristik minuman sari buah jambu mete (*Anacardium occidentale*). Skripsi. Fakultas Teknik. Universitas Pasundan : Bandung
- Tsao, R. 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Journal Nutrients*. **2** (2) : 1231-1246.

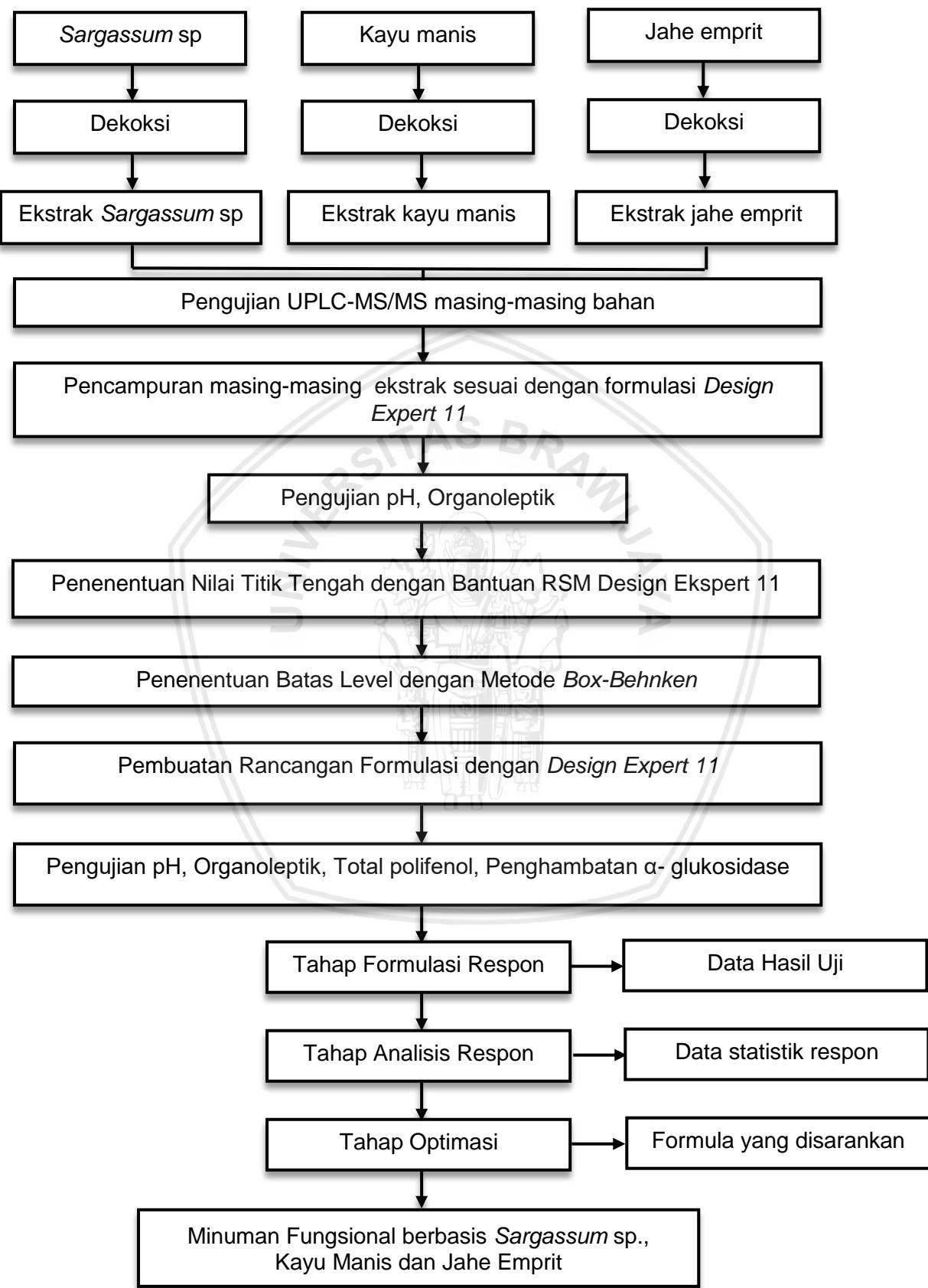
- Wei Y., Z. Li., Y. Hu., dan Z. Xu. 2003. Inhibition of mouse liver lipid peroxidation by hight molecular weight phlorotannins from *Sargassum kjellmanianum*. *Journal Application Phycol.* **15** (3) : 507-511.
- Widihasputri, R., B. Elya dan Azizahwati. 2013. Uji penghambatan aktivitas α-glukosidase ekstrak dan fraksi daun Antidesma neurocarpum Miq. Serta identifikasi golongan senyawa kimia dan fraksi teraktif. *Skripsi*. Program Sarjana Farmasi. Fakultas Farmasi. Universitas Indonesia : Depok
- Widyasanti, A., D. Rohdiana dan N. Ekalama. 2016. Aktivitas antiosidan ekstrak kayu putih (*Camellia sinensis*) dengan metode DPPH (2,2 Definil-1-Pikrihidrazil). *FORTECH*. **1** (1) : 1-9
- Wijayakusuma, H. 2002. Tumbuhan berkhasiat obat indonesia: Seri Rempah, Rimpang, dan Umbi. *Milenia Populer* : Jakarta
- Winarno, F. 2002. Kimia pangan dan gizi. Gramedia Pustaka Utama : Jakarta
- Winarno, F. G., N. L. Puspitasari., dan F. Kusnandar. 1995. Prosiding widyakarya nasional khasiat makanan tradisional. kantor menteri negara urusan pangan : Jakarta.
- Yanto, A. R., N. Mahmudati., dan Rr. E. Susetyorini. 2016. Seduhan jahe (*Zingiber officinale* Rosce) dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus model diabetes tipe-2 (NIDDM) sebagai sumber belajar biologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. **2** (3) : 258-264
- Yulia, A., Rahmi, A.L dan Latief, M. 2015. Minuman fungsional ekstrak kulit kayu mnais dan kelopak bunga rosela. *Jurnal Penelitian Universitas Jember Seri Sains*. **15** (1) : 79-84.
- Yulia, A., Suparmo, dan Harmayani, E. 2011. Studi pembuatan minuman ringan berkarbonasi dari ekstrak kulit kayu manis-madu. *Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Sains*. **13** (2) : 1-4
- Yulianto, R.R dan T. D. Widyaningsih. 2013. Formulasi produk minuman herbal berbasis cincau hitam (*Mesona palustris*), jahe (*Zingiber officinale*), dan kayu manis (*Cinnamomum burmannii*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **1** (1) : 65-77
- Zakaria, F. R. 2015. Pangan nabati, utuh dan fungsional sebagai penyusun diet sehat. *Orasi Ilmiah Guru Besar Institut Pertanian Bogor* : Bogor.
- Zumiati, 2005. Cincau cara pembuatan dan variasi olahannya. Agromedia Pustaka : Jakarta

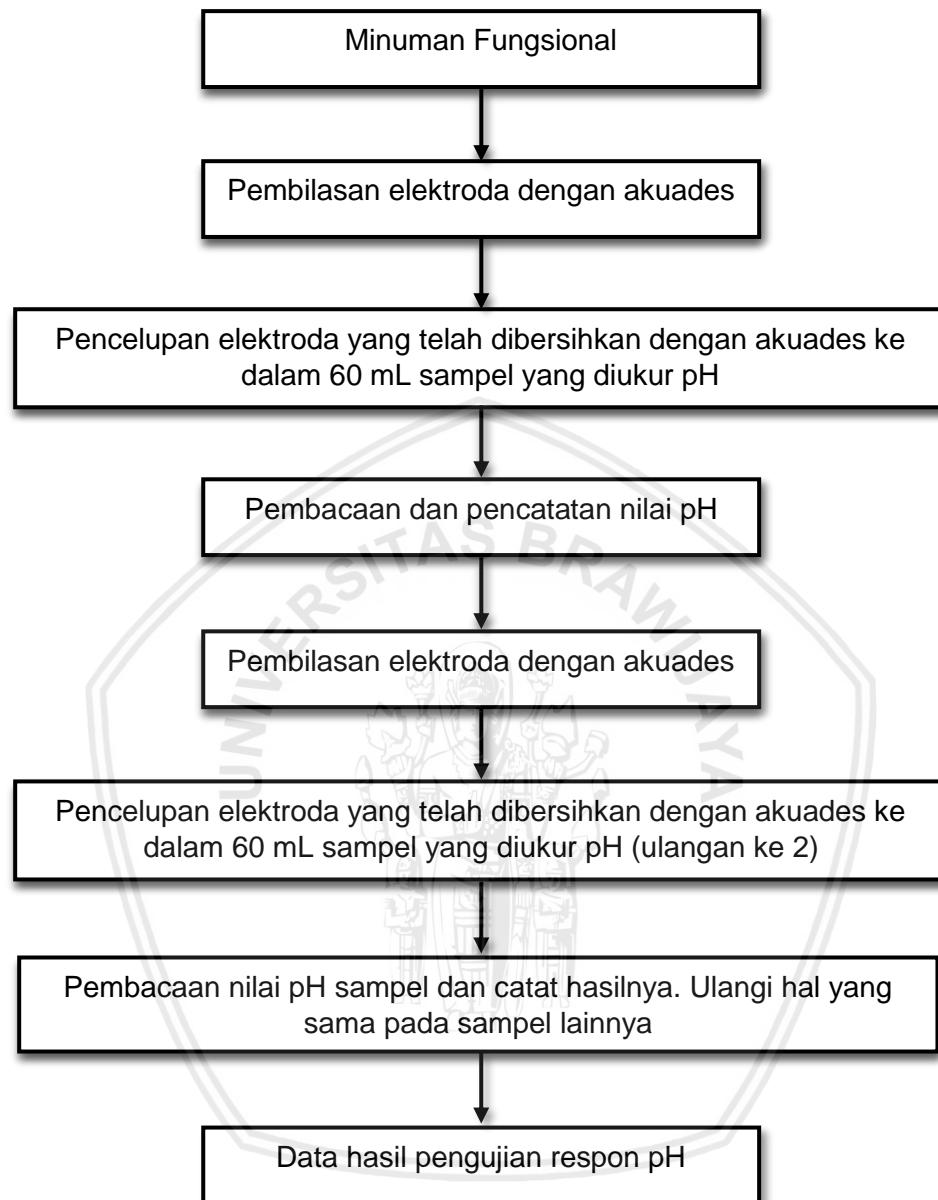
LAMPIRAN**Lampiran 1.** Pembuatan Ekstrak *Sargassum sp.* dengan Metode Dekoksi

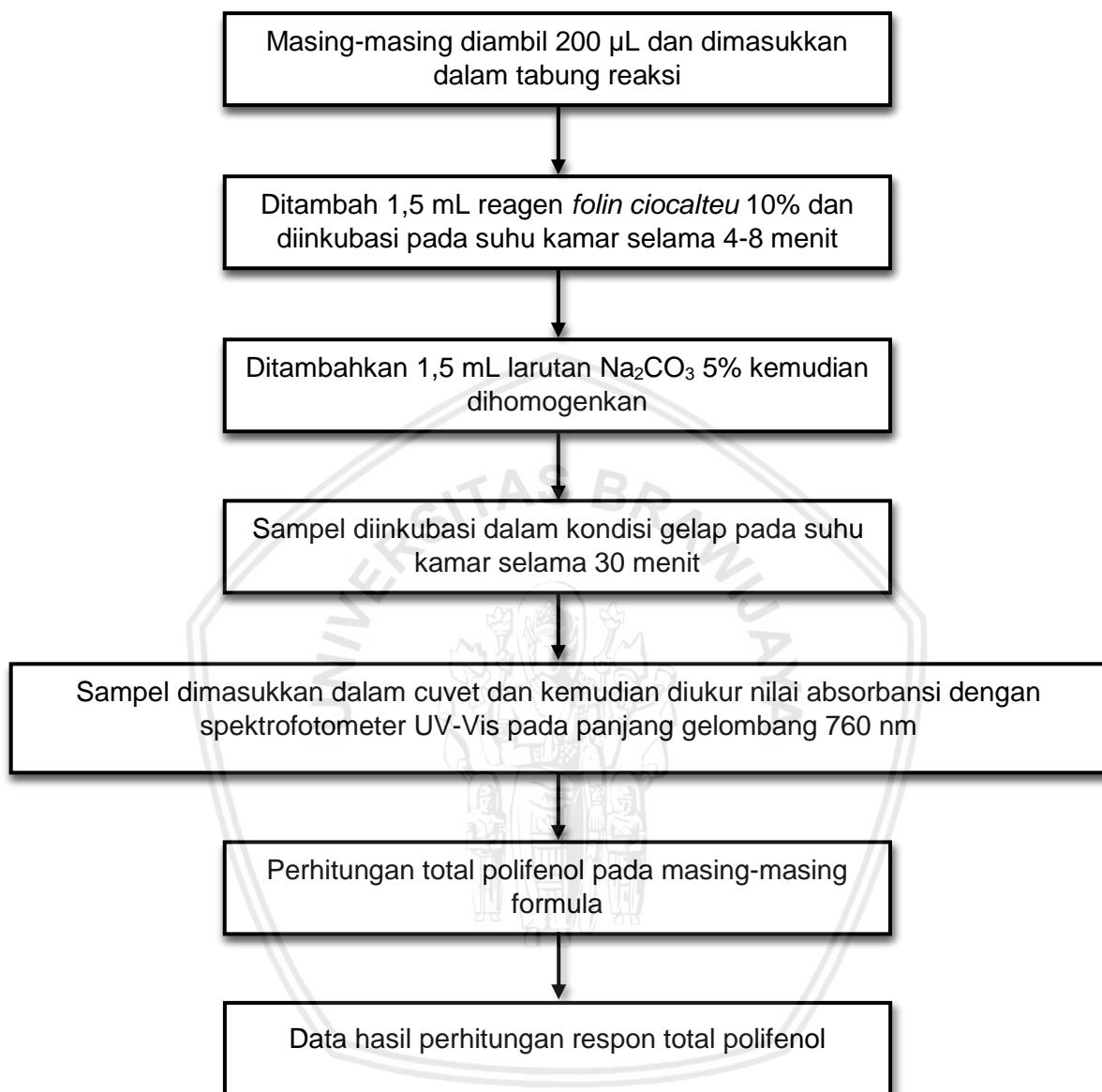
Lampiran 2. Pembuatan Ekstrak Kayu Manis dengan Metode Dekoksi

Lampiran 3. Pembuatan Ekstrak Jahe Emprit dengan Metode Dekoksi

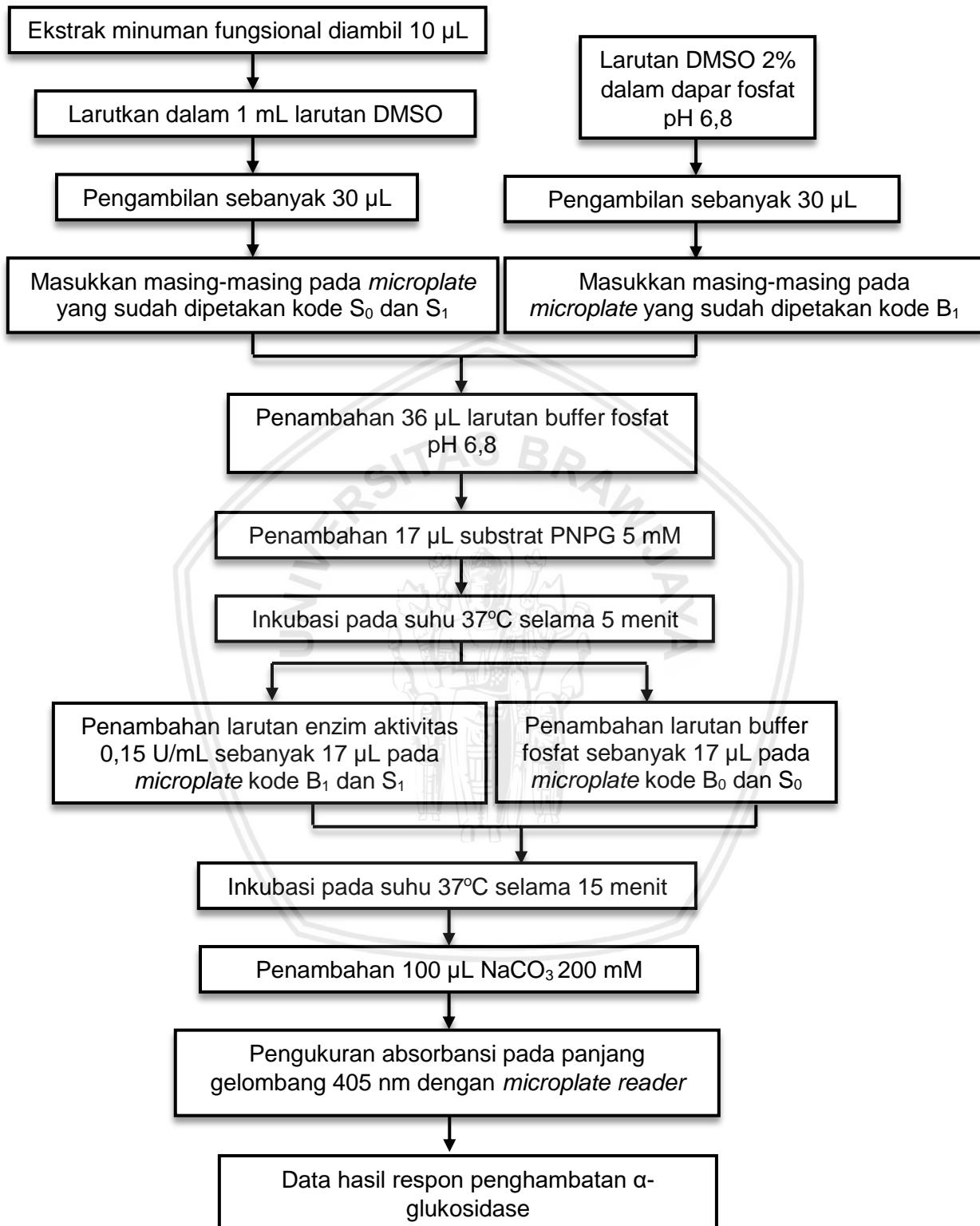
Lampiran 4. Pembuatan Minuman Fungsional



Lampiran 5. Prosedur Uji pH

Lampiran 6. Prosedur Uji Total Polifenol

Lampiran 7. Prosedur Uji Penghambatan α -Glukosidase



Lampiran 8. Analysis of Variance (ANOVA) Respon

a. Respon Rasa

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0,2570	9	0,0286	1,41	0,4292	<i>not significant</i>
A-Sargassum sp	0,0420	1	0,0420	2,08	0,2451	
B-Kayu Manis	0,0800	1	0,0800	3,95	0,1409	
C-Jahe Emprit	0,0005	1	0,0005	0,0222	0,8909	
AB	0,0004	1	0,0004	0,0198	0,8971	
AC	0,0169	1	0,0169	0,8353	0,4281	
BC	0,0225	1	0,0225	1,11	0,3691	
A ²	0,0329	1	0,0329	1,63	0,2920	
B ²	0,0014	1	0,0014	0,0706	0,8077	
C ²	0,0514	1	0,0514	2,54	0,2091	
Residual	0,0607	3	0,0202			
Cor Total	0,3177	12				

b. Respon Warna

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0,1004	9	0,0112	0,6843	0,7108	<i>not significant</i>
A-Sargassum sp	0,0021	1	0,0021	0,1295	0,7428	
B-Kayu Manis	0,0098	1	0,0098	0,6009	0,4947	
C-Jahe Emprit	0,0055	1	0,0055	0,3380	0,6018	
AB	0,0289	1	0,0289	1,77	0,2752	
AC	0,0462	1	0,0462	2,83	0,1909	
BC	1,388E-17	1	1,388E-17	8,510E-16	1,0000	
A ²	0,0016	1	0,0016	0,0966	0,7763	
B ²	0,0030	1	0,0030	0,1842	0,6968	
C ²	0,0000	1	0,0000	0,0020	0,9674	
Residual	0,0489	3	0,0163			
Cor Total	0,1494	12				

c. Respon Kenampakan

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0,0618	9	0,0069	0,3984	0,8754	<i>not significant</i>
A-Sargassum sp	0,0004	1	0,0004	0,0261	0,8819	
B-Kayu Manis	0,0001	1	0,0001	0,0029	0,9604	
C-Jahe Emprit	0,0008	1	0,0008	0,0464	0,8432	
AB	0,0004	1	0,0004	0,0232	0,8886	
AC	0,0169	1	0,0169	0,9807	0,3950	
BC	0,0081	1	0,0081	0,4700	0,5422	
A ²	0,0206	1	0,0206	1,20	0,3539	
B ²	0,0165	1	0,0165	0,9583	0,3998	
C ²	6,939E-18	1	6,939E-18	4026E-16	1,0000	
Residual	0,0517	3	0,0172			
Cor Total	0,1135	12				

d. Respon Aroma

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0,0986	9	0,0110	7,68	0,0603	<i>not significant</i>
A-Sargassum sp	0,0005	1	0,0005	0,3158	0,6134	
B-Kayu Manis	0,0351	1	0,0351	24,64	0,0157	
C-Jahe Emprit	0,0010	1	0,0010	0,7105	0,4612	
AB	0,0081	1	0,0081	5,68	0,0973	
AC	0,0121	1	0,0121	8,49	0,0618	
BC	0,0056	1	0,0056	3,95	0,1411	
A ²	0,0190	1	0,0190	13,36	0,0354	
B ²	0,0160	1	0,0160	11,25	0,0439	
C ²	0,0296	1	0,0296	20.,75	0,0198	
Residual	0,0043	3	0,0014			
Cor Total	0,1028	12				

e. Respon Total Polifenol

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	4257,13	9	473,01	2,56	0,2374	<i>not significant</i>
A-Sargassum sp	552,07	1	552,07	2,99	0,1824	
B-Kayu Manis	1800,86	1	1800,86	9,74	0,0524	
C-Jahe Emprit	93,45	1	93,45	0,5056	0,5284	
AB	339,09	1	339,09	1,83	0,2686	
AC	840,17	1	840,17	4,55	0,1228	
BC	4,47	1	4,47	0,0242	0,8863	
A ²	5,54	1	5,54	0,0300	0,8736	
B ²	18,94	1	18,94	0,1025	0,7699	
C ²	410,86	1	410,86	2,22	0,2328	
Residual	554,54	3	184,85			
Cor Total	4811,67	12				

f. Respon Penghambatan α -Glukosidase

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	2048,02	9	227,56	0,5194	0,8039	<i>not significant</i>
A-Sargassum sp	56,08	1	56,08	0,1280	0,7442	
B-Kayu Manis	37,68	1	37,68	0,0860	0,7884	
C-Jahe Emprit	874,70	1	874,70	2,00	0,2525	
AB	416,39	1	416,39	0,9505	0,4015	
AC	26,02	1	26,02	0,0594	0,8232	
BC	531,80	1	531,80	1,21	0,3510	
A ²	2,35	1	2,35	0,0054	0,9462	
B ²	15,40	1	15,40	0,0351	0,8633	
C ²	96,23	1	96,23	0,2197	0,6712	
Residual	1314,26	3	438,09			
Cor Total	3362,28	12				

Lampiran 9. Data Hasil Uji pH

Formulasi	Ulangan		Rata-rata
	1	2	
R1	7,45	7,54	7,50
R2	7,27	7,30	7,29
R3	7,49	7,40	7,45
R4	7,36	7,37	7,37
R5	7,37	7,46	7,42
R6	7,27	7,35	7,31
R7	7,34	7,44	7,39
R8	7,24	7,35	7,30
R9	7,36	7,45	7,41
R10	7,27	7,45	7,36
R11	7,22	7,32	7,27
R12	7,27	7,64	7,46
R13	7,24	7,34	7,29

Lampiran 10. Data Hasil Uji Organoleptik

a. Parameter Rasa

No	Nama	Formulasi												
		R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13
1	Diena Mufidah	3	2	2	4	2	3	3	2	3	2	3	4	5
2	M. Qosim	4	5	4	4	4	3	5	4	3	3	3	4	2
3	M. Ramadhan	3	3	3	2	2	3	2	2	3	3	2	3	2
4	Dinda Ersyah	5	4	4	3	4	3	4	3	5	3	3	4	5
5	Aishah Agustina A	2	1	2	3	2	1	3	2	2	3	3	3	4
6	Fanny Syaifuddin	1	1	3	2	2	1	2	3	3	3	3	4	4
7	Yuniarti Mansyur	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
8	Nur Aini R	1	1	1	1	2	2	1	1	2	1	1	1	1
9	Human Hariri	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
10	Fadli Adi A	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
11	Maridatul K	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
12	Anugerah Mukti R	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2
13	Fatchur Rohman	3	3	2	2	2	3	3	2	2	2	2	3	2
14	Pandu Kurniawan	3	1	2	2	2	1	2	3	2	2	2	2	3
15	Radik Ega P	3	4	2	2	4	3	4	3	2	4	3	4	4
16	M. Ramadhan	3	3	4	3	3	4	3	4	3	3	4	4	3
17	Deo Fauzan A	2	3	2	2	3	2	2	3	2	2	2	2	2
18	Octaverina Rezki Tamara	2	2	2	2	2	3	3	3	2	2	2	3	2
19	Dicki T	2	2	2	2	2	2	4	3	3	2	3	4	3
20	Dimareta Puspitasari	2	2	2	2	3	2	2	3	2	3	2	3	2
21	Ivo Okta Rizkia P	2	3	3	4	3	3	4	4	3	4	4	3	3

22	Lutfiani Nur Sifasari	4	5	5	5	4	4	3	5	4	4	3	3	4
23	Siti Yulianti	2	3	2	2	3	2	4	3	4	4	3	3	3
24	Nur Rahmatulloh Akbar	2	3	2	2	2	3	2	2	3	3	2	3	3
25	Alfin Bagaswara Pratama	3	4	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4
26	Citra Cahya M	2	2	2	2	4	2	3	3	3	1	1	3	3
27	Kholifi S	3	3	4	2	2	3	4	3	3	3	4	4	4
28	Yoshua Ajikusuma S	1	2	1	1	1	1	2	1	3	1	1	1	1
29	M. Fatkhi	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	3	2
30	Aninditia Mega K	2	2	2	2	2	2	4	3	2	4	2	2	4
31	Devina Bahar	3	3	3	1	3	3	3	3	3	3	2	3	2
32	Alant Hutagalung	1	3	3	3	2	1	2	2	2	2	1	2	2
33	Irna Adlhiyyah	3	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	2	2
34	A A Danial P	2	1	2	1	2	3	1	3	1	2	1	2	1
35	Dewi Rizki Pertiwi	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Jumlah		82	87	84	80	85	81	94	93	89	87	81	97	93
Rata-Rata		2,34	2,49	2,40	2,29	2,43	2,31	2,69	2,66	2,54	2,49	2,31	2,77	2,66

b. Parameter Warna

No	Nama	Formulasi												
		R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13
1	Dienan Mufidah	3	3	3	4	3	3	4	4	3	3	3	4	3
2	M. Qosim	3	5	4	2	4	4	4	5	4	4	3	3	3
3	M. Ramadhan	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
4	Dinda Ersyah	3	4	4	5	5	5	5	3	4	5	4	5	5
5	Aishah Agustina A	3	2	5	3	3	3	4	3	3	4	3	4	3
6	Fanny Syaifuddin	3	3	3	2	2	2	2	3	3	3	4	3	3
7	Yuniarti Mansyur	2	3	2	3	3	3	3	3	3	4	3	4	4
8	Nur Aini R	4	4	3	3	3	3	3	2	2	3	2	2	4
9	Human Hariri	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
10	Fadli Adi A	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2
11	Maridatul K	3	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3
12	Anugerah Mukti R	3	3	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3
13	Fatchur Rohman	3	2	4	3	4	3	2	3	3	4	2	3	2
14	Pandu Kurniawan	3	1	2	3	2	1	2	3	3	2	2	2	2
15	Radik Ega P	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
16	M. Ramadhan	4	4	4	3	3	4	4	4	3	3	4	4	4
17	Deo Fauzan A	4	4	4	3	3	4	3	4	3	4	3	3	4
18	Octaverina Rezki Tamara	3	3	4	3	3	4	3	4	3	2	3	3	3
19	Dicki T	3	3	3	3	3	3	4	4	4	3	3	3	3
20	Dimareta Puspitasari	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	3
21	Ivo Okta Rizkia P	4	4	4	3	4	3	4	3	4	4	4	4	3
22	Lutfiani Nur Sifasari	3	3	4	3	4	5	3	4	3	3	3	4	4

23	Siti Yulianti	4	4	3	3	3	3	4	3	3	3	2	3	3
24	Nur Rahmatulloh Akbar	3	4	4	4	4	3	4	4	3	3	3	4	4
25	Alfin Bagaswara Pratama	3	3	3	4	3	3	3	3	3	4	4	4	4
26	Citra Cahya M	3	3	3	3	2	3	3	3	3	2	2	3	3
27	Kholifi S	4	4	3	4	3	4	5	3	2	2	2	5	5
28	Yoshua Ajikusuma S	3	2	3	2	2	3	4	3	3	2	3	2	2
29	M. Fatkhi	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
30	Aninditia Mega K	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	3	4
31	Devina Bahar	2	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
32	Alant Hutagalung	3	3	2	3	2	3	3	3	2	2	3	2	2
33	Irna Adlhiyyah	3	3	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3
34	A A Danial P	3	3	3	3	2	2	3	2	2	3	3	2	3
35	Dewi Rizki Pertiwi	4	4	4	3	3	3	5	3	3	3	3	5	5
Jumlah		110	111	114	108	104	108	117	112	105	109	104	113	110
Rata-rata		3,14	3,17	3,26	3,09	2,97	3,09	3,34	3,20	3,00	3,11	2,97	3,23	3,14

c. Parameter Aroma

No	Nama	Formulasi												
		R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13
1	Dienan Mufidah	3	2	3	3	2	3	2	2	3	3	3	4	4
2	M. Qosim	3	4	5	3	3	4	4	4	3	3	4	4	2
3	M. Ramadhan	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
4	Dinda Ersyah	4	3	5	4	5	5	5	4	4	4	3	4	3
5	Aishah Agustina A	4	2	5	3	3	5	2	3	2	4	3	4	4
6	Fanny Syaifuddin	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	4	3
7	Yuniarti Mansyur	4	3	3	3	3	2	3	2	2	2	3	2	3
8	Nur Aini R	3	2	3	2	4	2	3	2	2	2	2	2	2
9	Human Hariri	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
10	Fadli Adi A	3	3	3	2	3	2	2	2	2	4	3	3	3
11	Maridatul K	3	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
12	Anugerah Mukti R	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
13	Fatchur Rohman	2	3	3	4	3	2	2	3	4	2	3	2	3
14	Pandu Kurniawan	2	1	2	2	2	1	2	3	2	2	2	2	2
15	Radik Ega P	3	3	4	4	4	3	4	4	4	4	4	3	4
16	M. Ramadhan	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
17	Deo Fauzan A	2	3	2	2	3	2	2	2	3	2	2	2	2
18	Octaverina Rezki Tamara	4	3	4	2	3	2	3	3	2	3	2	3	2
19	Dicki T	3	2	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3
20	Dimareta Puspitasari	4	4	4	4	3	3	3	4	4	3	4	4	4
21	Ivo Okta Rizkia P	3	4	3	4	5	3	4	4	3	5	4	4	4
22	Lutfiani Nur Sifasari	4	4	5	5	5	4	3	4	5	4	3	5	5

23	Siti Yulianti	3	2	1	1	1	2	3	2	3	4	3	2	3
24	Nur Rahmatulloh Akbar	4	3	4	4	5	4	3	3	4	3	4	5	4
25	Alfin Bagaswara Pratama	3	4	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4
26	Citra Cahya M	4	4	3	4	4	4	4	3	3	2	3	3	4
27	Kholifi S	5	4	2	2	2	3	4	2	5	4	3	3	3
28	Yoshua Ajikusuma S	1	2	3	3	2	1	4	4	3	1	2	1	3
29	M. Fatkhi	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
30	Aninditia Mega K	4	3	3	2	3	4	3	2	2	4	3	4	4
31	Devina Bahar	4	3	3	1	3	3	2	3	3	2	3	3	1
32	Alant Hutagalung	3	2	3	3	2	4	4	3	3	3	4	3	2
33	Irna Adlhiyyah	2	3	2	3	2	2	2	2	2	3	3	3	2
34	A A Danial P	4	4	3	3	1	3	1	1	2	2	1	2	3
35	Dewi Rizki Pertiwi	4	3	4	4	5	4	3	4	4	4	3	4	4
Jumlah		115	107	114	105	110	106	107	105	109	109	107	112	110
Rata-rata		3,29	3,06	3,26	3,00	3,14	3,03	3,06	3,00	3,11	3,11	3,06	3,20	3,14

d. Parameter Kenampakan

No	Nama	Formulasi												
		R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	R8	R9	R10	R11	R12	R13
1	Diena Mufidah	3	3	3	4	3	3	4	4	3	3	3	4	3
2	M. Qosim	4	3	4	3	4	4	4	4	3	4	3	3	3
3	M. Ramadhan	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
4	Dinda Ersyah	4	5	4	5	5	5	5	5	4	4	5	5	4
5	Aishah Agustina A	3	2	4	4	2	3	3	3	3	4	3	4	3
6	Fanny Syaifuddin	3	3	3	2	2	2	2	3	2	4	4	3	3
7	Yuniarti Mansyur	3	3	3	3	4	3	3	3	3	4	3	4	4
8	Nur Aini R	4	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3	2	3
9	Human Hariri	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
10	Fadli Adi A	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2
11	Maridatul K	3	4	3	3	3	3	4	3	3	3	3	3	3
12	Anugerah Mukti R	4	3	4	4	3	3	3	3	3	4	3	3	3
13	Fatchur Rohman	4	4	3	2	2	3	2	4	2	3	2	2	3
14	Pandu Kurniawan	3	1	2	2	2	1	2	3	3	2	2	2	3
15	Radik Ega P	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
16	M. Ramadhan	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
17	Deo Fauzan A	3	4	3	3	4	3	4	3	3	4	3	3	4
18	Octaverina Rezki Tamara	3	4	3	4	3	4	3	4	4	3	3	3	3
19	Dicki T	3	3	2	3	2	3	3	4	3	3	3	3	3
20	Dimareta Puspitasari	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
21	Ivo Okta Rizkia P	3	4	4	3	4	3	4	4	4	4	4	4	3
22	Lutfiani Nur Sifasari	3	4	4	4	4	5	3	4	3	3	3	3	4
23	Siti Yulianti	3	3	2	3	3	3	4	3	3	3	2	3	3
24	Nur Rahmatulloh Akbar	4	3	4	4	3	4	3	3	3	4	4	4	3
25	Alfin Bagaswara Pratama	3	3	3	4	3	3	3	3	3	4	4	4	4
26	Citra Cahya M	4	3	3	3	2	3	3	2	2	2	2	3	3
27	Kholifi S	5	4	2	3	4	4	4	3	3	4	2	4	4
28	Yoshua Ajikusuma S	3	2	3	2	3	3	4	3	3	2	3	3	2

29	M. Fatkhi	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
30	Aninditia Mega K	3	3	3	3	3	4	3	4	3	4	4	4	4
31	Devina Bahar	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
32	Alant Hutagalung	3	3	2	3	2	3	3	2	2	3	3	2	2
33	Irna Adlhiyyah	2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3
34	A A Danial P	3	3	3	3	3	3	3	3	2	3	3	2	3
35	Dewi Rizki Pertiwi	3	3	3	3	3	3	4	2	3	2	2	4	4
Jumlah		112	107	105	108	104	109	112	110	102	113	105	110	109
Rata-rata		3,20	3,06	3,00	3,09	2,97	3,11	3,20	3,14	2,91	3,23	3,00	3,14	3,11



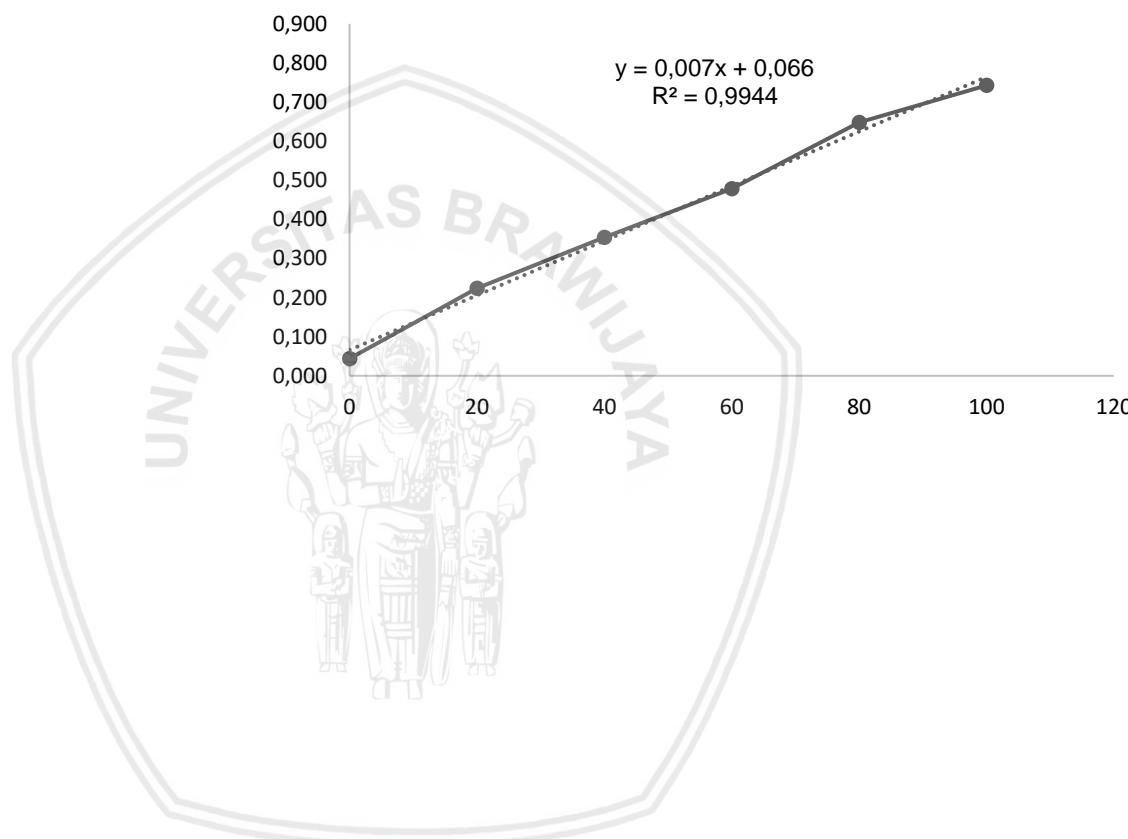
Lampiran 11. Hasil Uji Respon Total Polifenol

No	Formulasi	Nilai Absorbansi	Konsentrasi Kadar Fenol $y= 0,007x + 0,066$	Kadar Ekuivalen (μ g GAE)	Kadar Ekuivalen (mg GAE)	Jumlah Sampel (mL)	Total Fenol (mg GAE/100 mL)
1	R1	0,553	69,500	222,400	0,222	3,2	177,92
2	R2	0,589	74,764	239,246	0,239	3,2	191,40
3	R3	0,479	58,971	188,709	0,189	3,2	150,97
4	R4	0,574	72,500	232,000	0,232	3,2	185,60
5	R5	0,592	75,136	240,434	0,240	3,2	192,35
6	R6	0,589	74,736	239,154	0,239	3,2	191,32
7	R7	0,567	71,564	229,006	0,229	3,2	183,20
8	R8	0,540	67,671	216,549	0,217	3,2	173,24
9	R9	0,543	68,207	218,263	0,218	3,2	174,61
10	R10	0,572	72,293	231,337	0,231	3,2	185,07
11	R11	0,595	75,607	241,943	0,242	3,2	193,55
12	R12	0,543	68,129	218,011	0,218	3,2	174,41
13	R13	0,616	78,593	251,497	0,251	3,2	201,20

- Hasil pengukuran nilai absorbansi asam galat

Konsentrasi (ppm)	Ulangan 1	Ulangan 2	Rata-rata
0	0,050	0,038	0,044
20	0,232	0,216	0,224
40	0,347	0,361	0,354
60	0,516	0,441	0,479
80	0,698	0,597	0,648
100	0,773	0,712	0,743

Kurva Standar Asam Galat



Lampiran 12. Hasil Uji Respon Penghambatan α -glukosidase

Run	Konsentrasi			S1		Rata-Rata	S0		Rata-rata	B1		Rata-Rata	B0		Rata-Rata	% Inhibisi
	RL	KM	JE	A	B		A	B		A	B		A	B		Inhibisi
R1	17,5	15	32,5	0,489	0,467	0,478	0,047	0,039	0,043	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	48,09
R2	20	17,5	32,5	0,386	0,372	0,379	0,042	0,036	0,039	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	59,43
R3	15	12,5	32,5	0,352	0,321	0,337	0,038	0,038	0,038	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	64,38
R4	17,5	17,5	35	0,543	0,565	0,554	0,044	0,038	0,041	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	38,78
R5	15	15	35	0,669	0,620	0,645	0,047	0,037	0,042	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	28,10
R6	15	17,5	32,5	0,476	0,478	0,477	0,042	0,038	0,040	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	47,85
R7	20	15	35	0,531	0,509	0,520	0,037	0,038	0,038	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	42,42
R8	15	15	30	0,379	0,319	0,349	0,048	0,041	0,045	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	63,66
R9	20	12,5	32,5	0,594	0,574	0,584	0,038	0,043	0,041	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	35,14
R10	17,5	12,5	30	0,464	0,411	0,438	0,04	0,039	0,040	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	52,51
R11	17,5	17,5	30	0,373	0,323	0,348	0,037	0,039	0,038	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	63,01
R12	17,5	12,5	35	0,236	0,269	0,253	0,038	0,038	0,038	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	74,40
R13	20	15	30	0,157	0,125	0,141	0,042	0,042	0,042	0,891	0,876	0,884	0,045	0,046	0,046	88,19



Lampiran 13. Hasil Uji IC₅₀ Akarbosa dan Minuman Fungsional

- Hasil Uji IC₅₀ Akarbosa

Konsentrasi (ppm)	S1		Rata- rata	S0		Rata- rata	B1		Rata- rata	B0		Rata- rata	% Inhibisi	IC ₅₀ $y = 5.6424\ln(x) - 14.369$
	A	B		A	B		A	B		A	B			
50	0,781	0,933	0,857	0,046	0,080	0,063	0,935	0,934	0,935	0,046	0,048	0,047	10,54	
100	0,820	0,866	0,843	0,047	0,044	0,046	0,935	0,934	0,935	0,046	0,048	0,047	10,14	
250	0,827	0,795	0,811	0,045	0,049	0,047	0,935	0,934	0,935	0,046	0,048	0,047	13,92	171,058
500	0,830	0,698	0,764	0,046	0,046	0,046	0,935	0,934	0,935	0,046	0,048	0,047	19,10	
1000	0,652	0,731	0,691	0,048	0,052	0,050	0,935	0,934	0,935	0,046	0,048	0,047	27,72	

- Hasil Uji IC₅₀ Minuman Fungsional

V. Lar	ppm	S1		Rata- rata	S0		Rata- rata	B0		Rata- rata	B1		% Inhibisi	IC50 $y = 18.658\ln(x) - 126.65$
		A	B		A	B		A	B		A	B		
5	35485.77	0,488	0,393	0,441	0,119	0,142	0,131	0,046	0,048	0,047	0,935	0,934	0,935	65,1
10	70971.54	0,347	0,297	0,322	0,212	0,194	0,203	0,046	0,048	0,047	0,935	0,934	0,935	86,6
15	106457.31	0,349	0,321	0,335	0,244	0,268	0,256	0,046	0,048	0,047	0,935	0,934	0,935	91,1
20	141943.08	0,368	0,342	0,355	0,319	0,312	0,316	0,046	0,048	0,047	0,935	0,934	0,935	95,5
25	177428.86	0,402	0,379	0,391	0,375	0,367	0,371	0,046	0,048	0,047	0,935	0,934	0,935	97,8
30	212914.63	0,482	0,462	0,472	0,491	0,445	0,468	0,046	0,048	0,047	0,935	0,934	0,935	99,5

Lampiran 14. Perhitungan Konsentrasi Minuman Fungsional

1. Konsentrasi Minuman Fungsional

Bahan	Berat Bahan (g)	Volume Awal (mL)	Volume Akhir (mL)
Sargassum sp.	200	600	212
Kayu Manis	200	600	168
Jahe emprit	200	600	221

a. Sargassum sp.

- Konsentrasi Awal = $200 / 212 \times x / 1.000.000$
 $x = 2.000.000 / 212$
 $x = 943.396,20 \text{ ppm}$

- Diencerkan menjadi 20 mL

$$\begin{aligned} M1.V1 &= M2.V2 \\ 943.396,20 \times 4 &= M2 \times 20 \\ M2 &= 943.396,20 \times 4 / 20 \\ &= 188.679,244 \text{ ppm} \end{aligned}$$

- Dicampur dengan bahan lainnya sehingga menjadi 60 mL minuman fungsional Run 13.

$$\begin{aligned} M1.V1 &= M2.V2 \\ 188.679,244 \times 20 &= M2 \times 60 \\ M2 &= 188.679,244 \times 20 / 60 \\ &= 62.893,081 \text{ ppm} \end{aligned}$$

b. Kayu Manis

- Konsentrasi Awal = $200 / 168 \times x / 1.000.000$
 $x = 2.000.000 / 168$
 $x = 1.190.476,190 \text{ ppm}$

- Diencerkan menjadi 20 mL

$$\begin{aligned} M1.V1 &= M2.V2 \\ 1.190.476,190 \times 3 &= M2 \times 20 \\ M2 &= 1.190.476,190 \times 4 / 20 \\ &= 178.571,428 \text{ ppm} \end{aligned}$$

- Dicampur dengan bahan lainnya sehingga menjadi 60 mL minuman fungsional Run 13.

$$\begin{aligned} M1.V1 &= M2.V2 \\ 178.571,428 \times 20 &= M2 \times 60 \\ M2 &= 178.571,428 \times 20 / 60 \\ &= 59.523,809 \text{ ppm} \end{aligned}$$

c. Jahe Emprit

- Konsentrasi Awal = $200 / 221 \times x / 1.000.000$
 $x = 2.000.000 / 221$
 $x = 904.977,375 \text{ ppm}$

- Diencerkan menjadi 20 mL

$$\begin{aligned} M1.V1 &= M2.V2 \\ 904.977,375 \times 6 &= M2 \times 20 \\ M2 &= 904.977,375 \times 4 / 20 \\ &= 271.493,213 \text{ ppm} \end{aligned}$$

- Dicampur dengan bahan lainnya sehingga menjadi 60 mL minuman fungsional Run 13.

$$\begin{aligned} M1.V1 &= M2.V2 \\ 271.493,213 \times 20 &= M2 \times 60 \\ M2 &= 271.493,213 \times 20 / 60 \\ M2 &= 90.497,737 \text{ ppm} \end{aligned}$$

d. Konsentrasi (ppm) Minuman Fungsional Run 1

Konsentrasi = Konsentrasi *Sargassum sp* + konsentrasi kayu manis + konsentrasi jahe emprit
 $= 62.893,081 + 59.523,809 + 90.497,737$
 $= 212.914,627 \text{ ppm}$

2. Pembuatan Variasi Konsentrasi Minuman Fungsional

a. Pada 5 μL

$$\begin{aligned} M1V1 &= M2V2 \\ 212.914,627 \times 5 &= M2 \times 30 \\ M2 &= 212.914,627 \times 5 / 30 \\ M2 &= 35.485,771 \text{ ppm} \end{aligned}$$

b. Pada 10 μL

$$\begin{aligned} M1V1 &= M2V2 \\ 212.914,627 \times 10 &= M2 \times 30 \\ M2 &= 212.914,627 \times 10 / 30 \\ M2 &= 70.971,542 \text{ ppm} \end{aligned}$$

c. Pada 15 μL

$$\begin{aligned} M1V1 &= M2V2 \\ 212.914,627 \times 15 &= M2 \times 30 \\ M2 &= 212.914,627 \times 15 / 30 \\ M2 &= 106.457,31 \text{ ppm} \end{aligned}$$

d. Pada 20 μL

$$\begin{aligned} \text{M1V1} &= \text{M2V2} \\ 212.914,627 \times 20 &= \text{M2} \times 30 \\ \text{M2} &= 212.914,627 \times 20 / 30 \\ \text{M2} &= 141.943,084 \text{ ppm} \end{aligned}$$

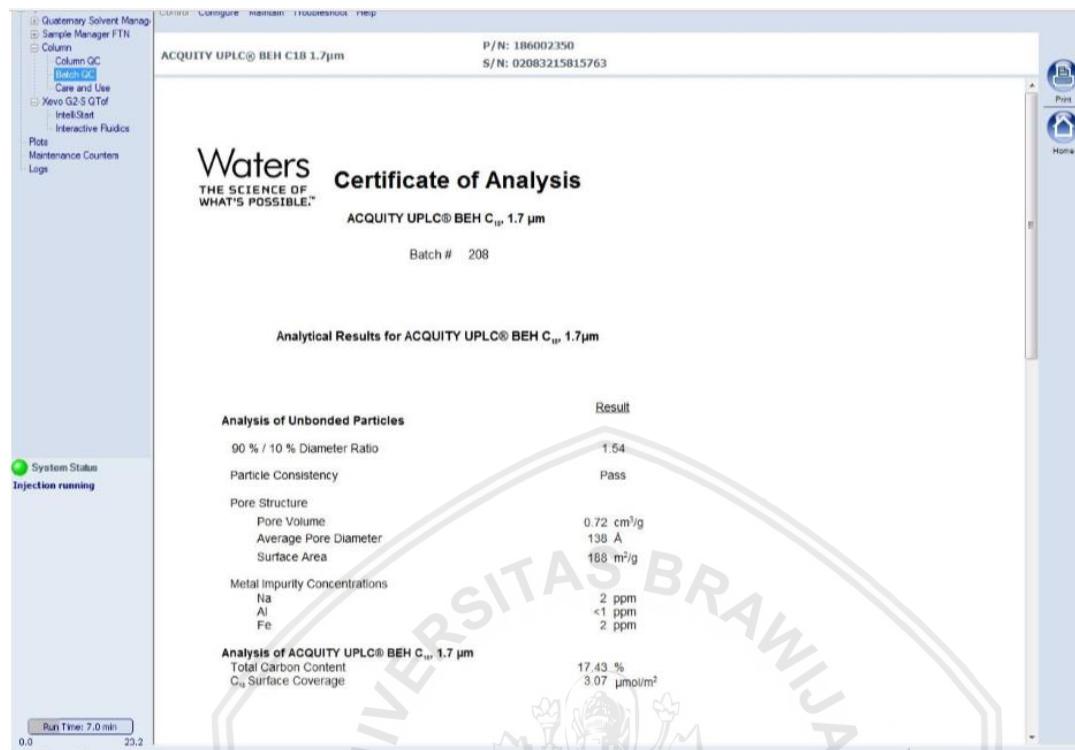
e. Pada 25 μL

$$\begin{aligned} \text{M1V1} &= \text{M2V2} \\ 212.914,627 \times 25 &= \text{M2} \times 30 \\ \text{M2} &= 212.914,627 \times 25 / 30 \\ \text{M2} &= 177.428,855 \text{ ppm} \end{aligned}$$

f. Pada 30 μL

$$\begin{aligned} \text{M1V1} &= \text{M2V2} \\ 212.914,627 \times 30 &= \text{M2} \times 30 \\ \text{M2} &= 212.914,627 \times 30 / 30 \\ \text{M2} &= 212.914,627 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Lampiran 15. Instrumen Alat UPLC-MS/MS

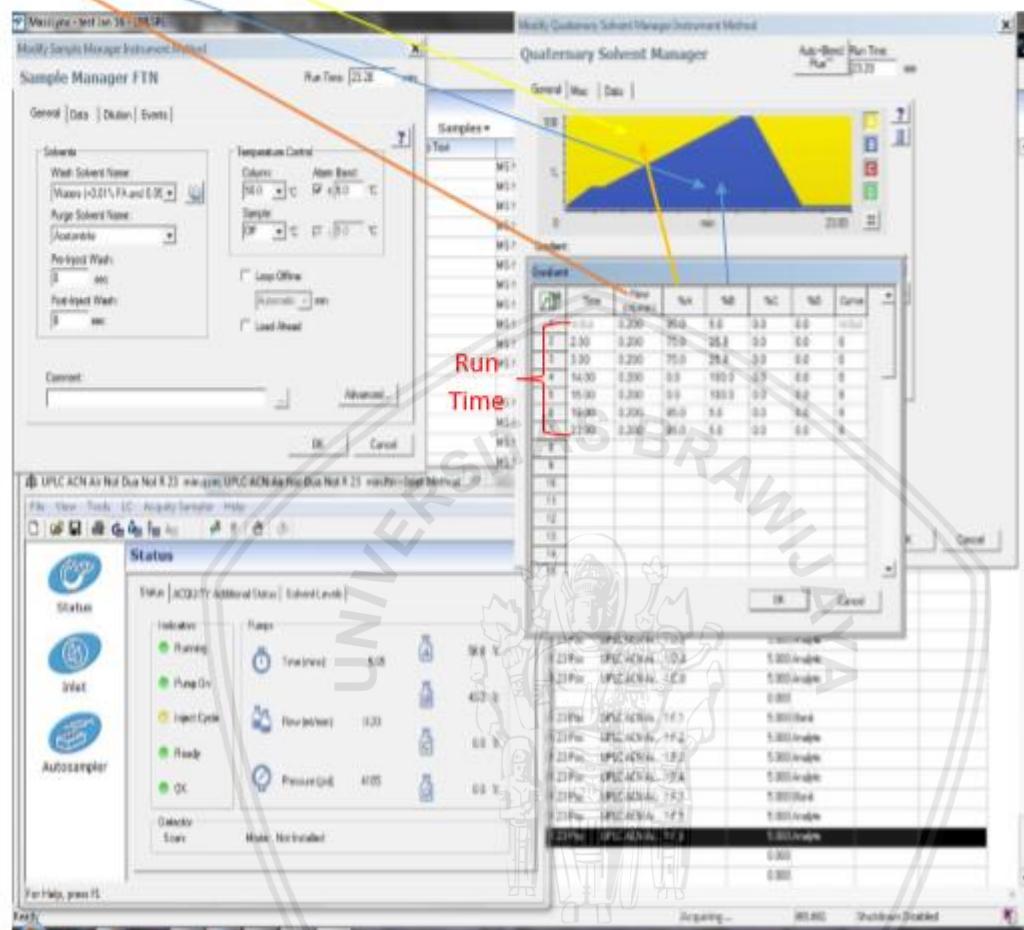


Instrumen Alat UPLC-MS/MS

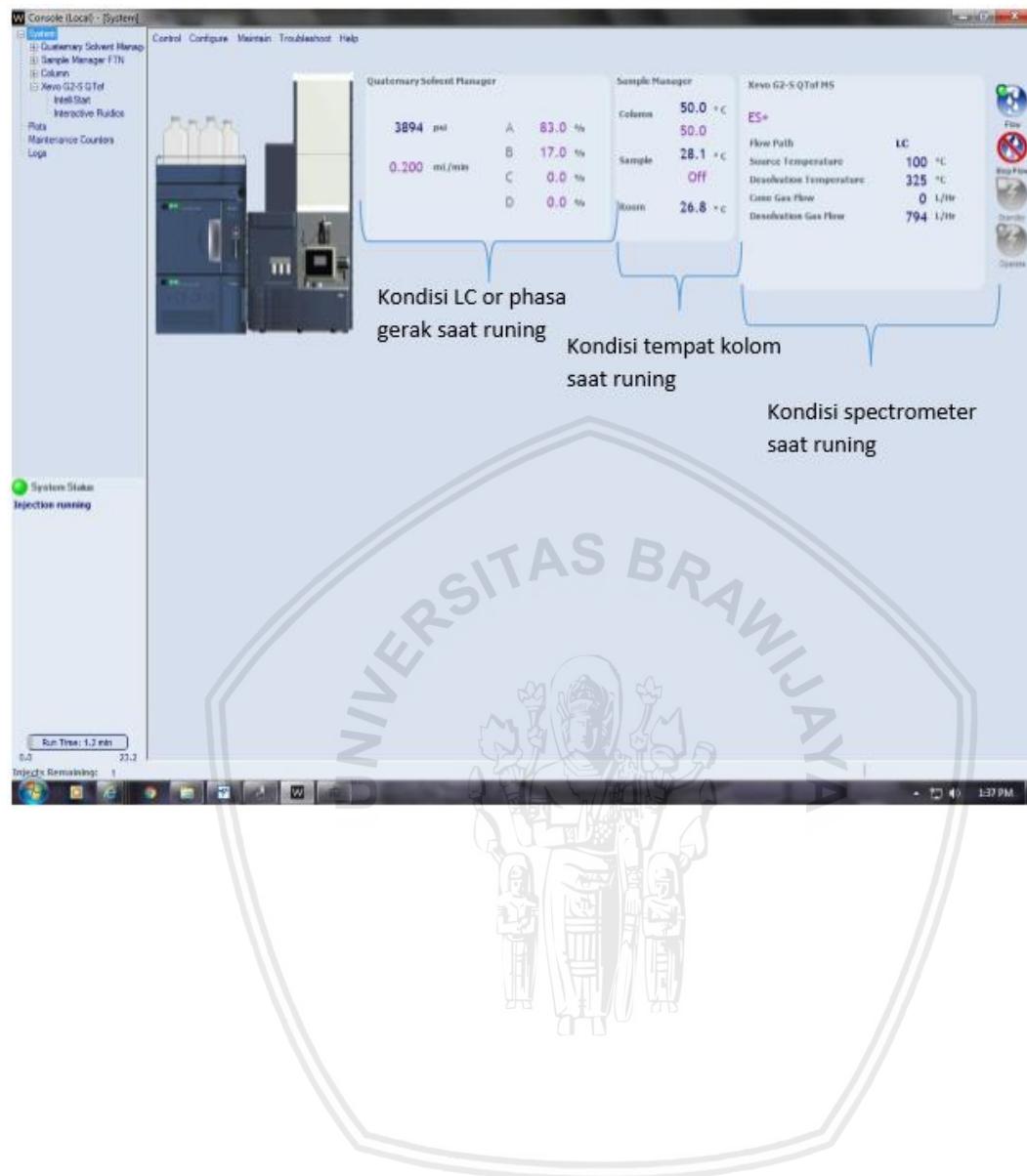
A (**lurigen**): Air (aditif Formic acid 0,05%)

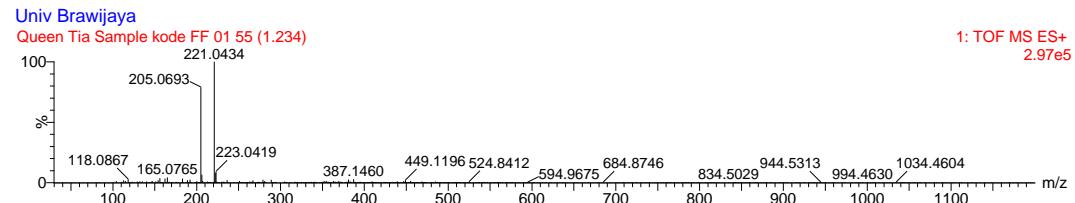
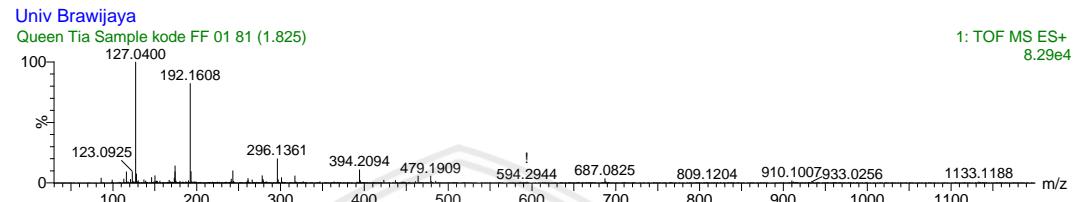
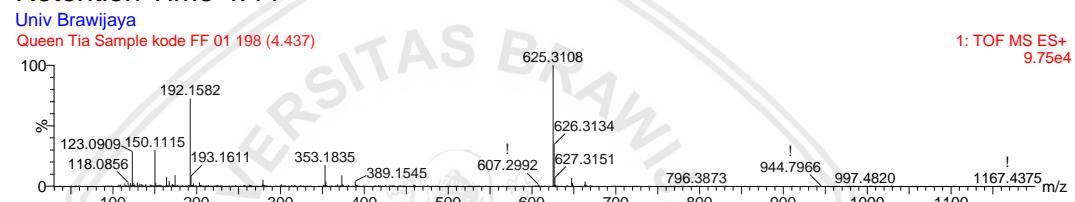
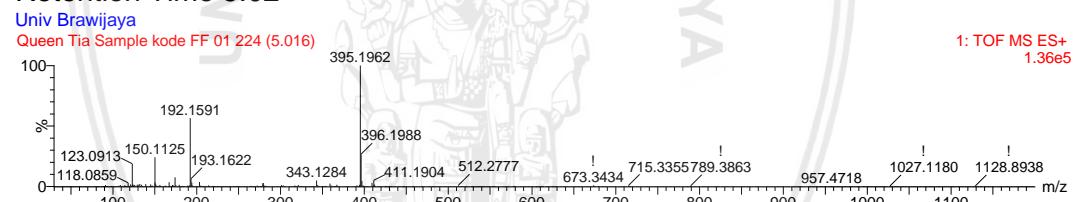
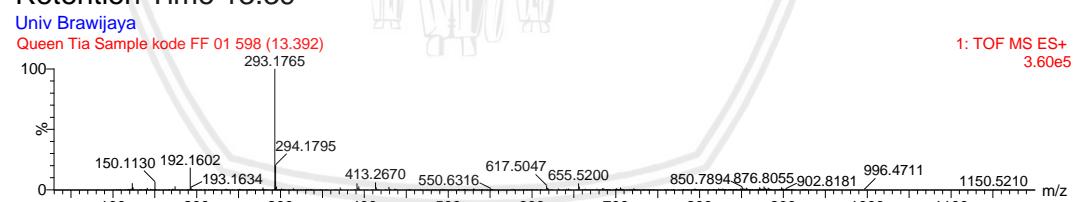
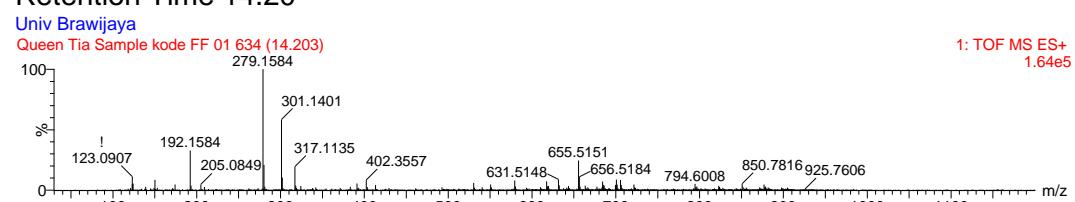
B (Biru) : Acetonitril (aditif Formic acid 0,05%)

Flow : 0.2 ml/min



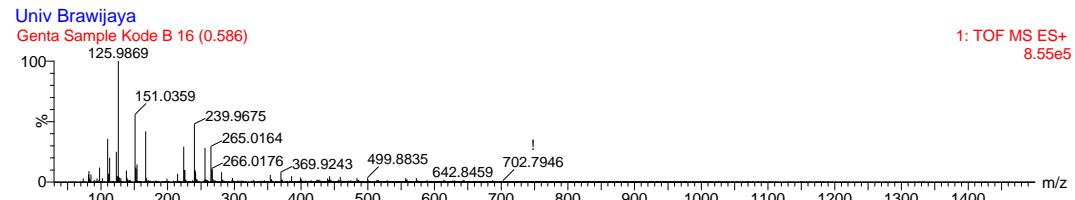
Instrumen Alat UPLC-MS/MS



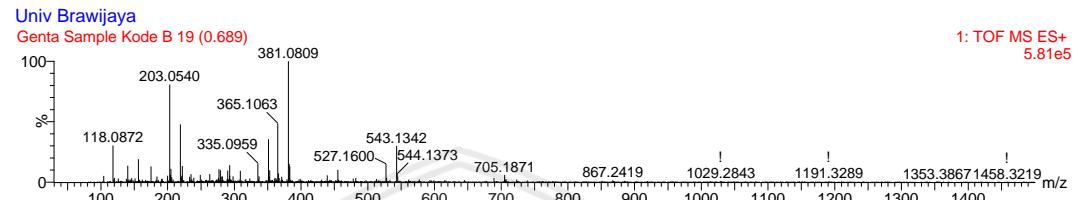
Lampiran 16. Hasil Spektrum UPLC-MS/MS Ekstrak *Sargassum* sp.**1. Retention Time 1.23****2. Retention Time 1.82****3. Retention Time 4.44****4. Retention Time 5.02****5. Retention Time 13.39****6. Retention Time 14.20**

Lampiran 17. Hasil Spektrum UPLC-MS/MS Ekstrak Kayu Manis

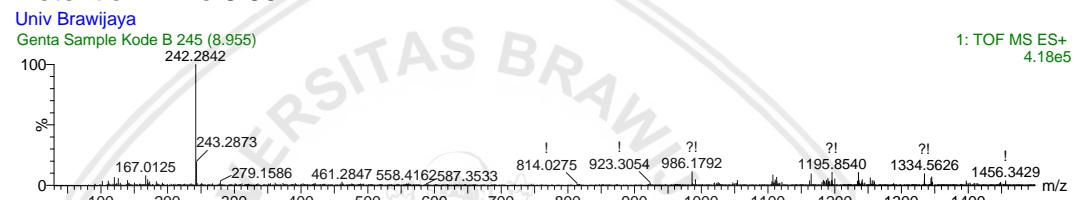
1. Retention Time 0.59



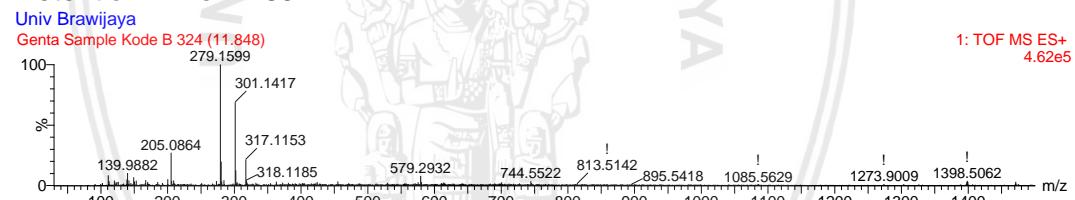
2. Retention Time 0.69



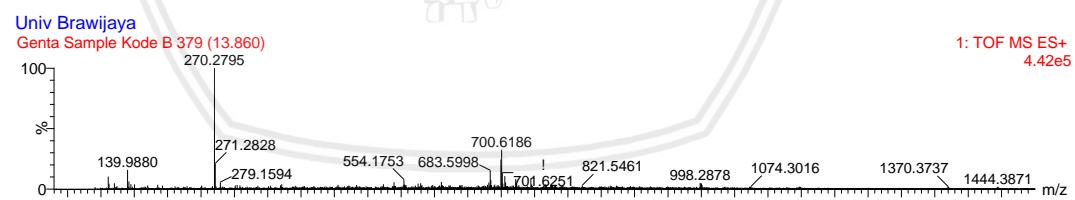
3. Retention Time 8.95



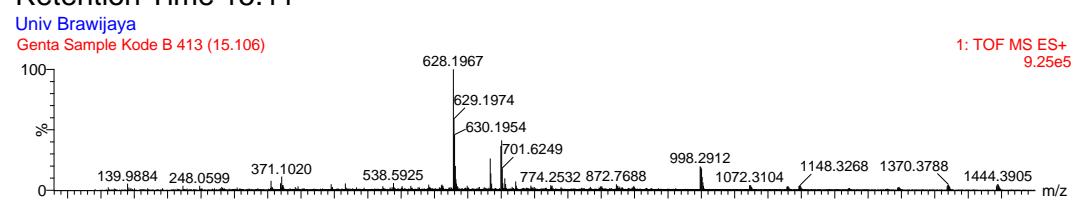
4. Retention Time 11.85



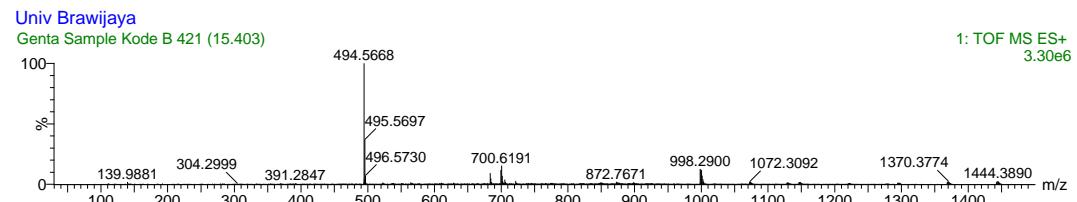
5. Retention Time 13.86



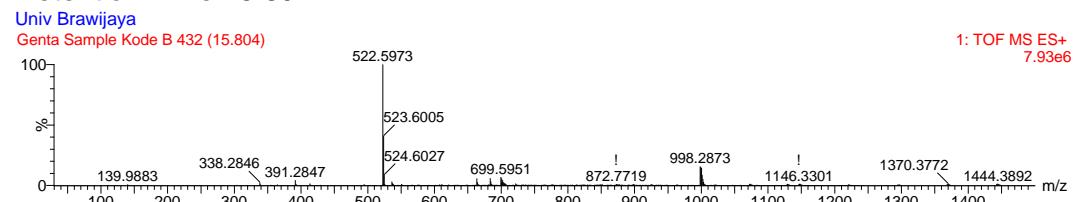
6. Retention Time 15.11



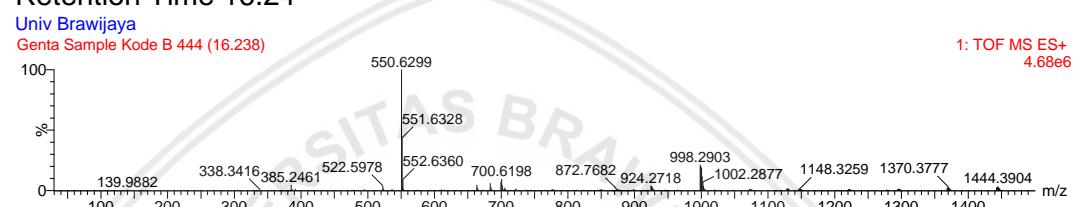
7. Retention Time 15.40



8. Retention Time 15.80

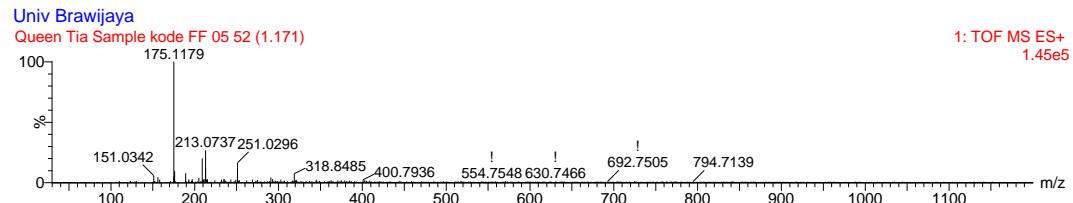


9. Retention Time 16.24

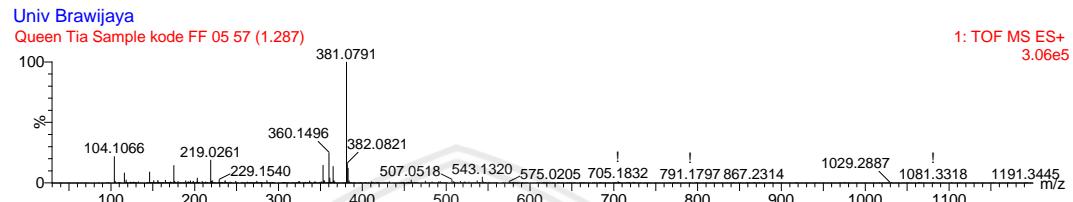


Lampiran 18. Hasil Spektrum UPLC-MS/MS Ekstrak Jahe Emprit

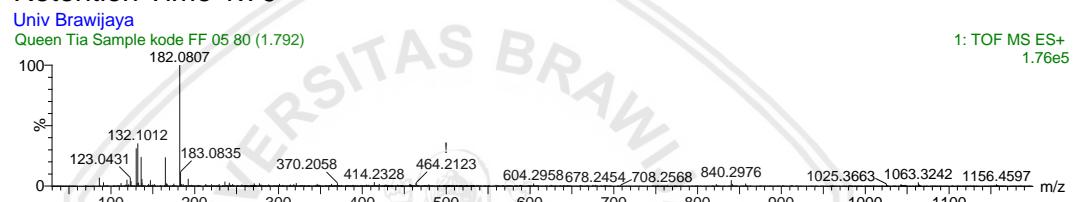
1. Retention Time 1.17



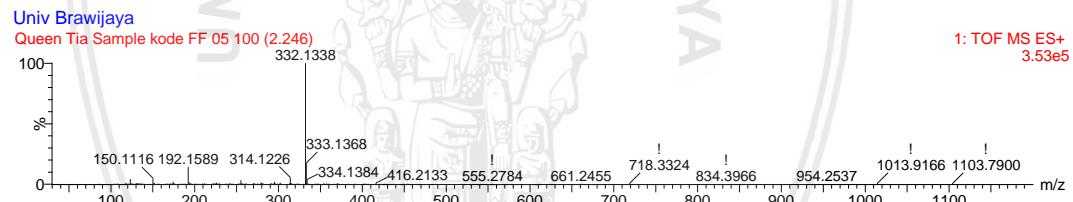
2. Retention Time 1.29



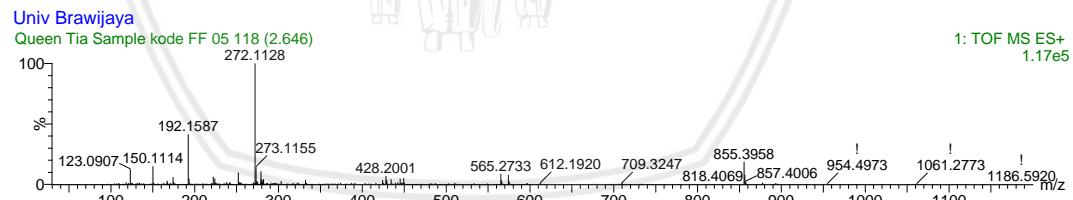
3. Retention Time 1.79



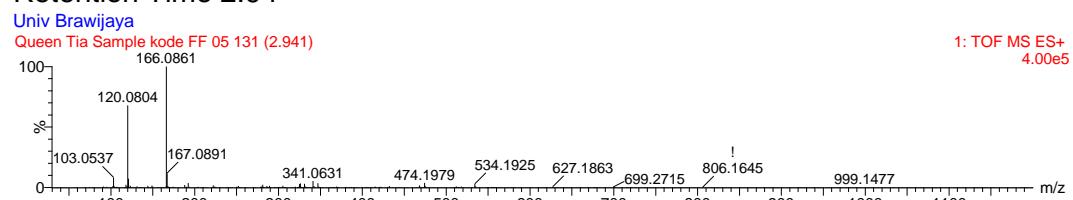
4. Retention Time 2.25



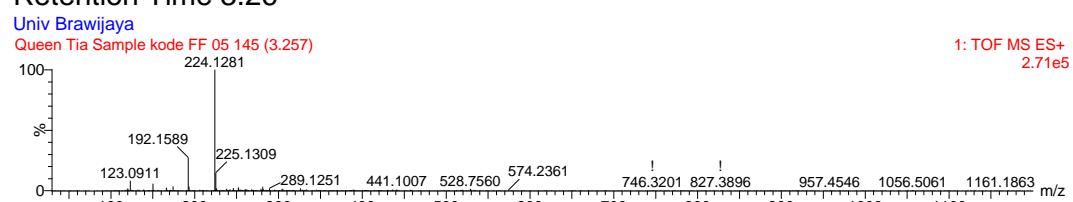
5. Retention Time 2.65



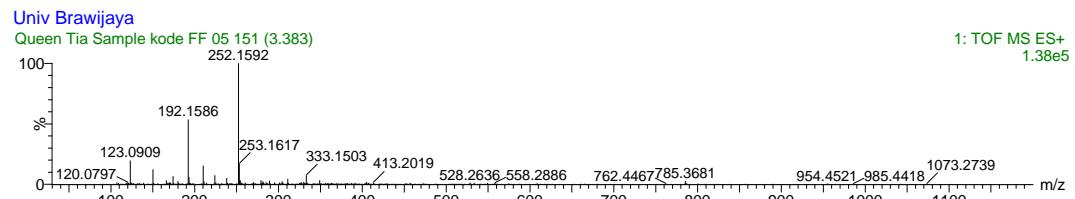
6. Retention Time 2.94



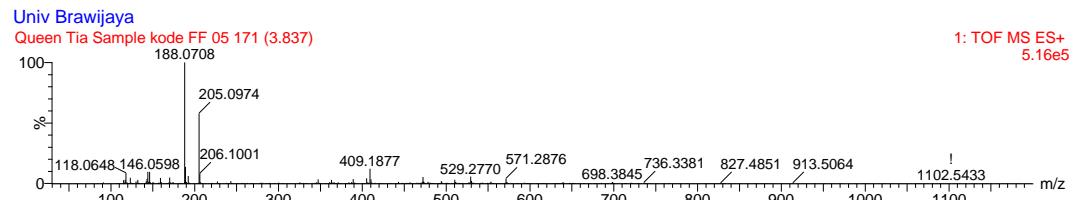
7. Retention Time 3.26



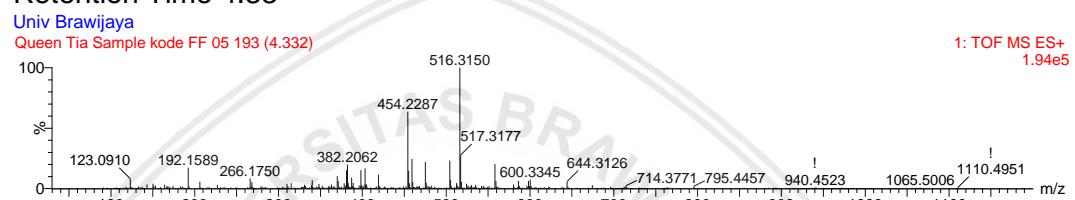
8. Retention Time 3.38



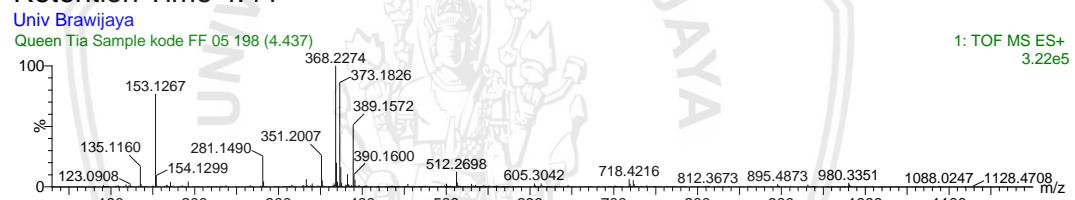
9. Retention Time 3.84



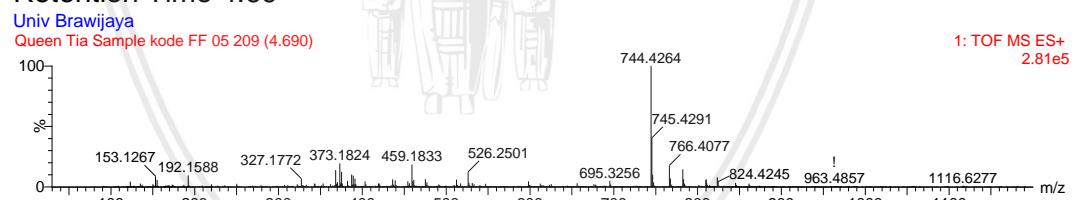
10. Retention Time 4.33



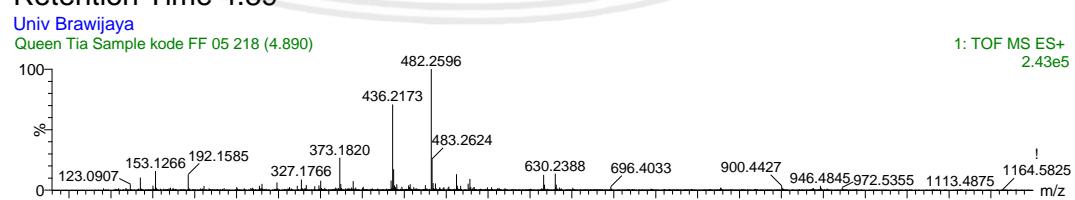
11. Retention Time 4.44



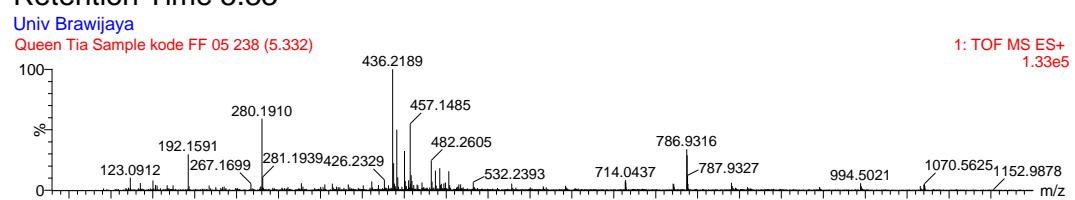
12. Retention Time 4.69



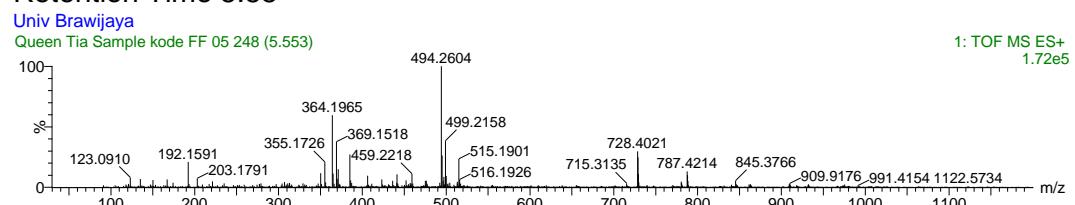
13. Retention Time 4.89



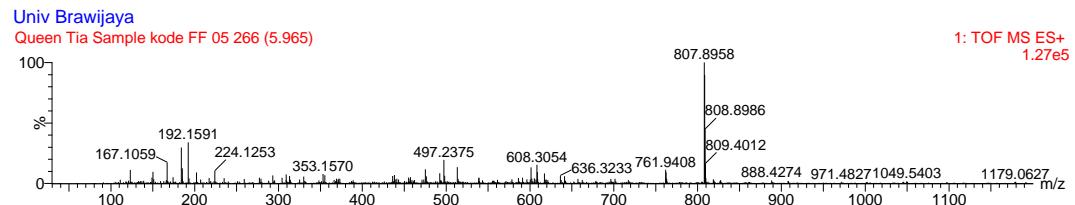
14. Retention Time 5.33



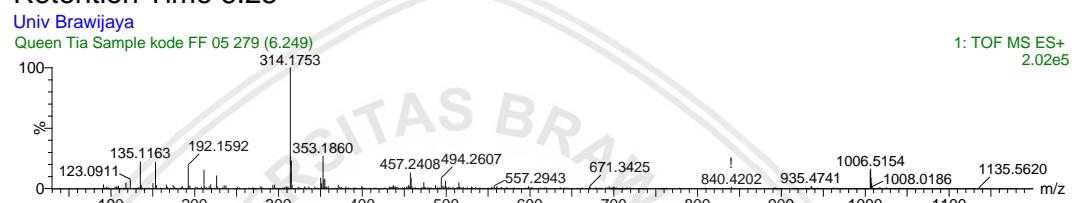
15. Retention Time 5.55



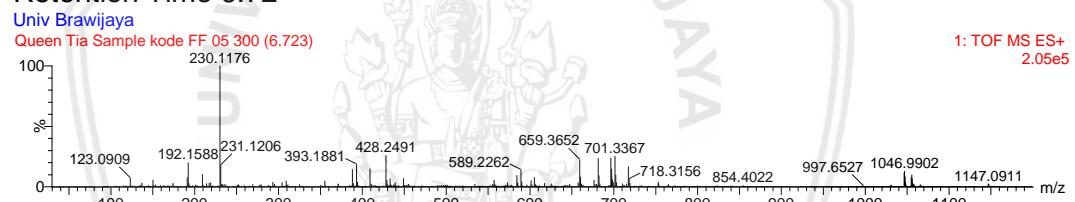
16. Retention Time 5.96



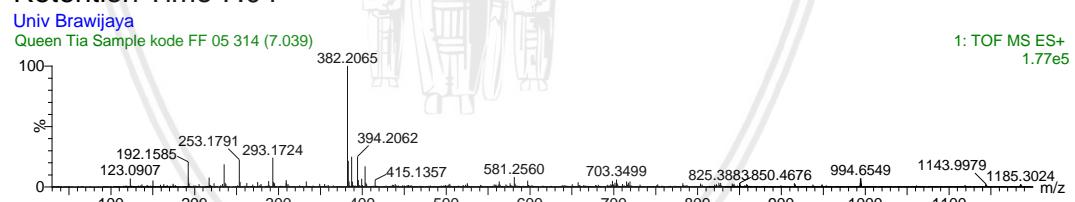
17. Retention Time 6.25



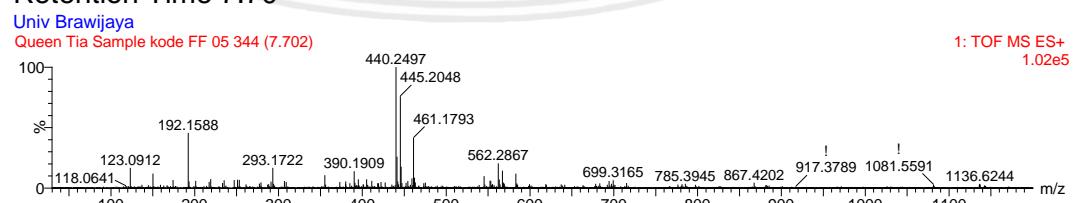
18. Retention Time 6.72



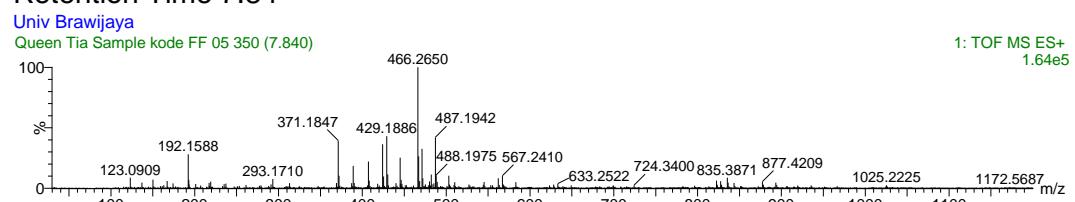
19. Retention Time 7.04



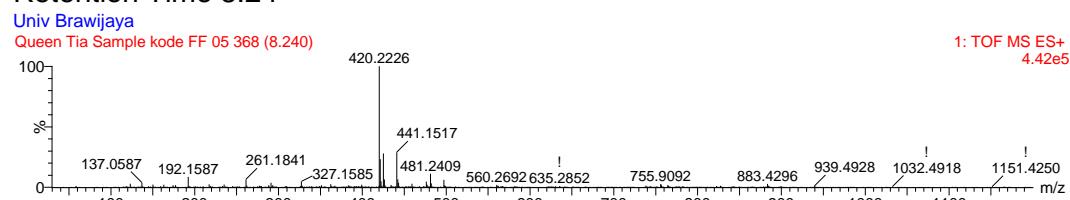
20. Retention Time 7.70



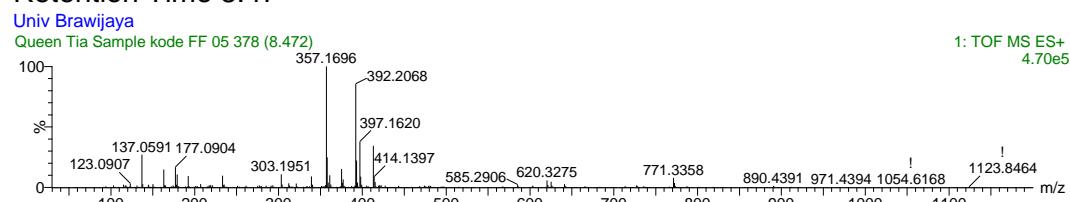
21. Retention Time 7.84



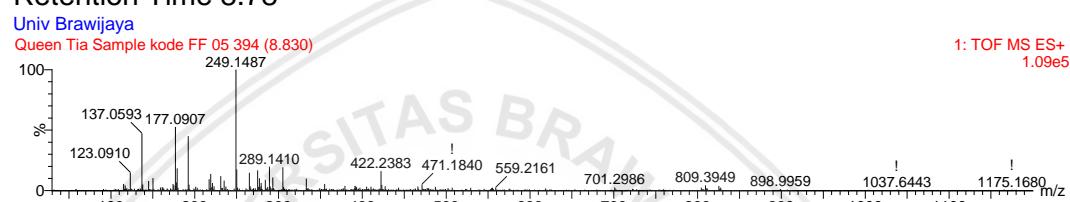
22. Retention Time 8.24



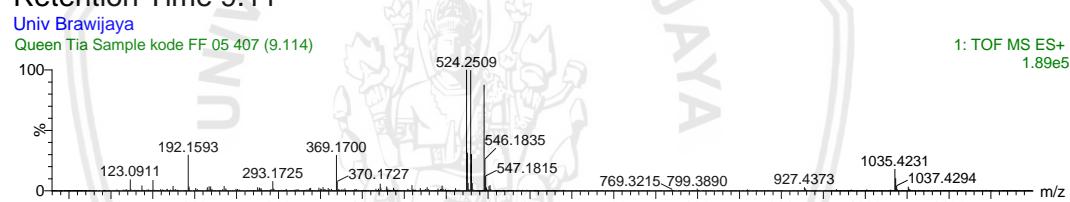
23. Retention Time 8.47



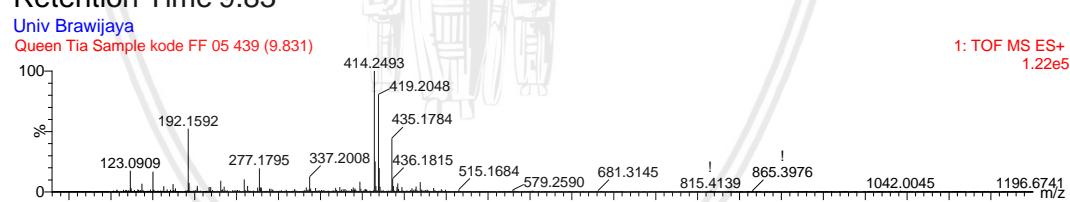
24. Retention Time 8.78



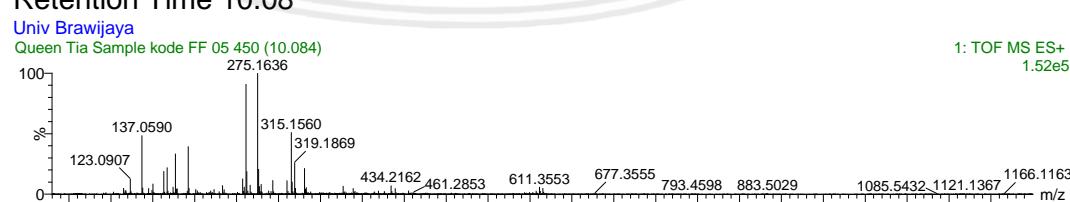
25. Retention Time 9.11



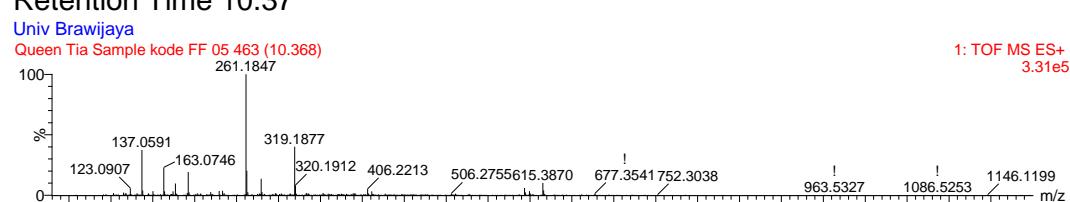
26. Retention Time 9.83



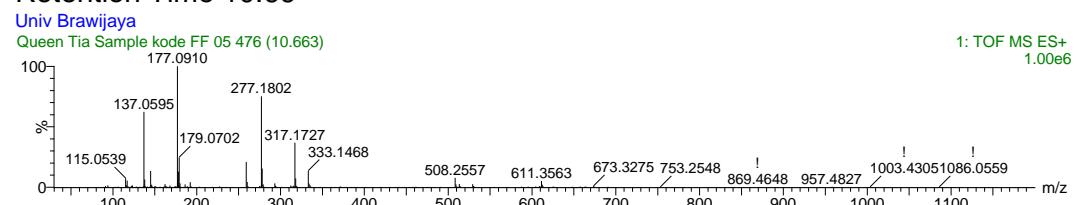
27. Retention Time 10.08



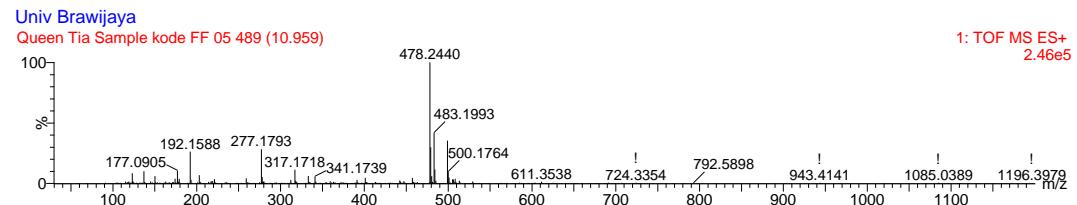
28. Retention Time 10.37



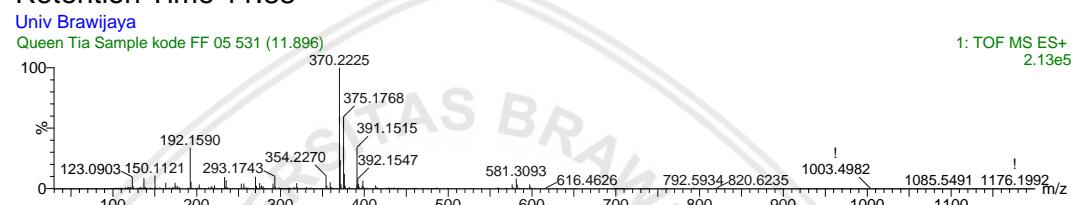
29. Retention Time 10.66



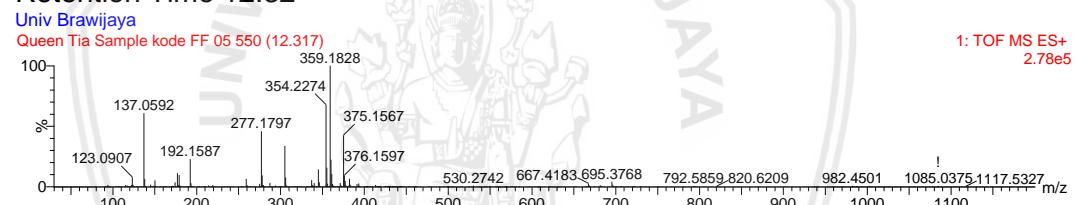
30. Retention Time 10.96



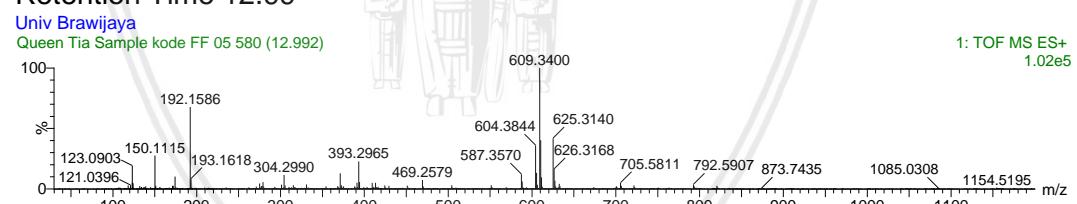
31. Retention Time 11.88



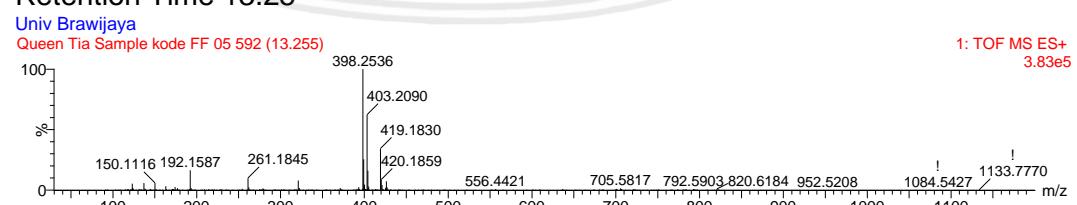
32. Retention Time 12.32



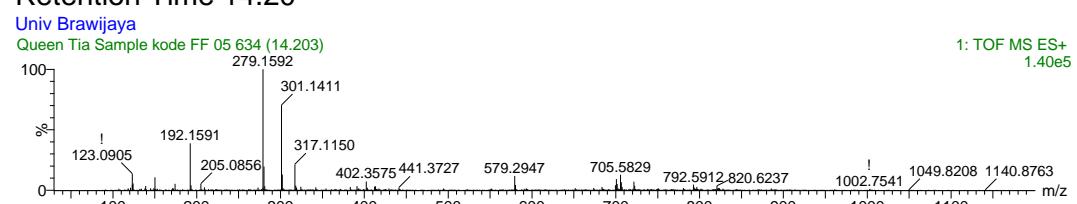
33. Retention Time 12.99



34. Retention Time 13.25

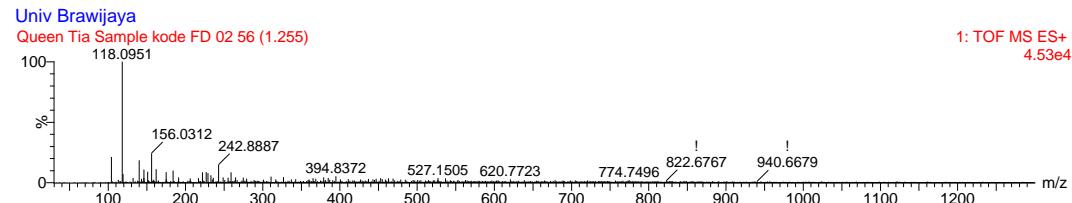


35. Retention Time 14.20

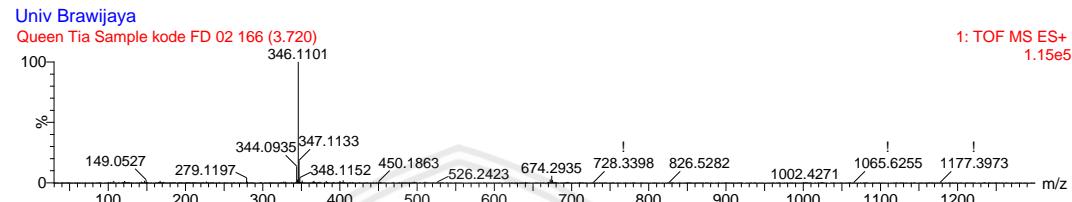


Lampiran 19. Hasil Spektrum UPLC-MS/MS Minuman Fungsional

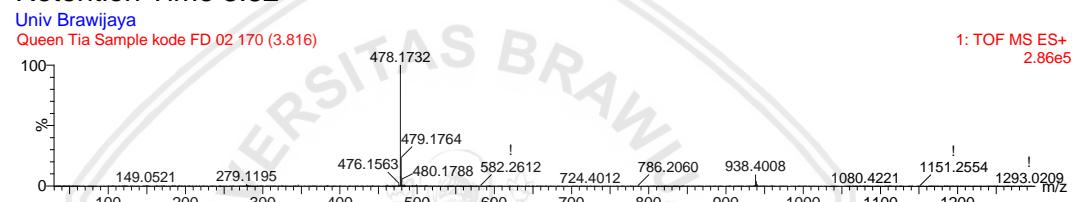
1. Retention Time 1.25



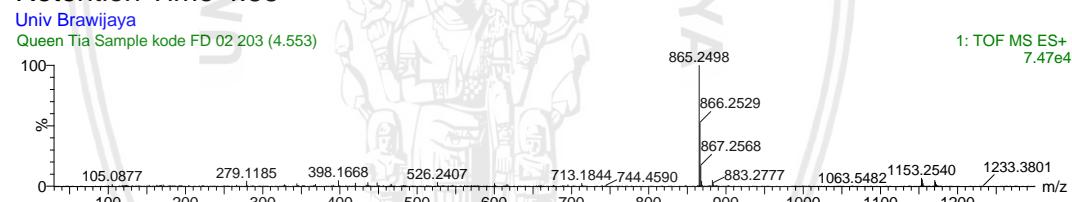
2. Retention Time 3.72



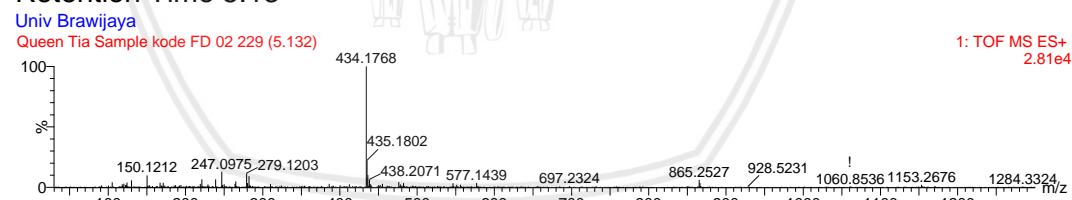
3. Retention Time 3.82



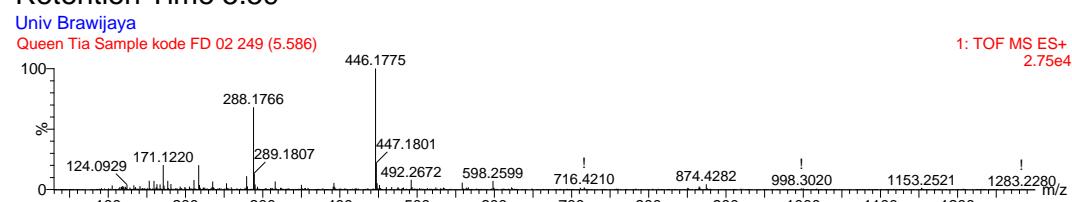
4. Retention Time 4.55



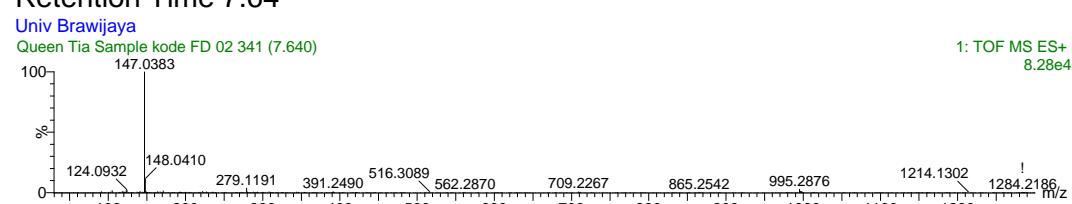
5. Retention Time 5.13



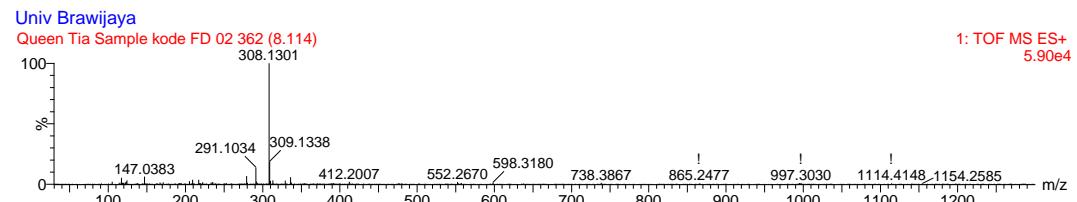
6. Retention Time 5.59



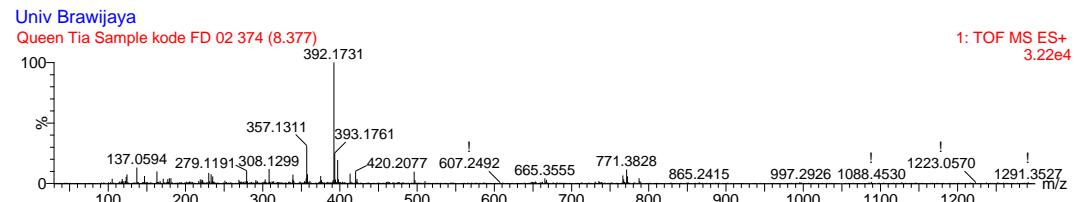
7. Retention Time 7.64



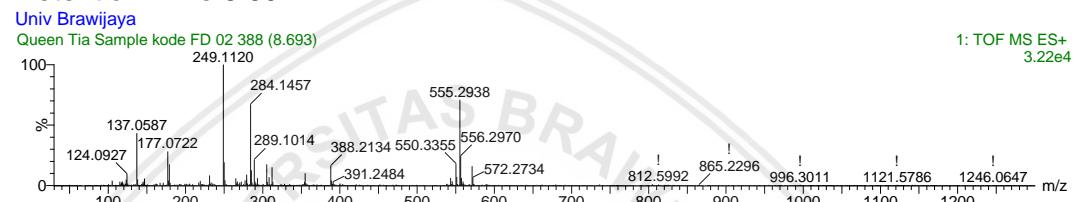
8. Retention Time 8.11



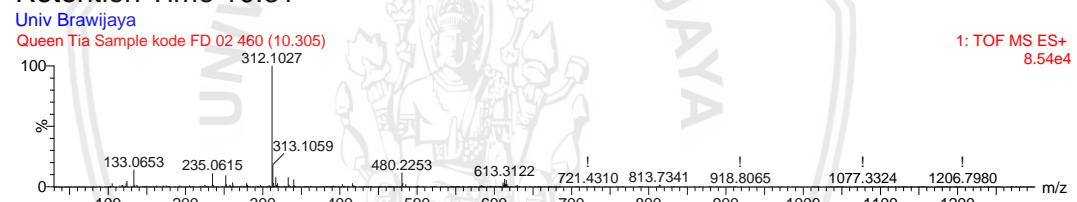
9. Retention Time 8.38



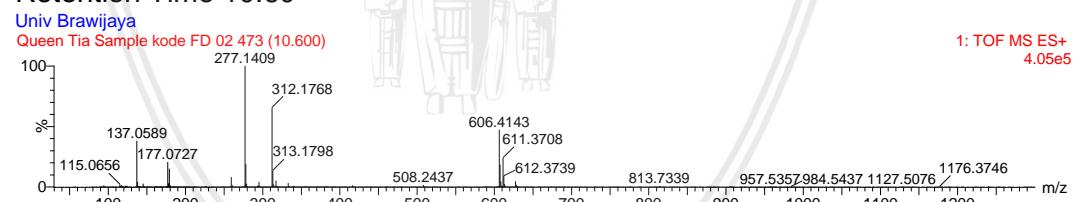
10. Retention Time 8.69



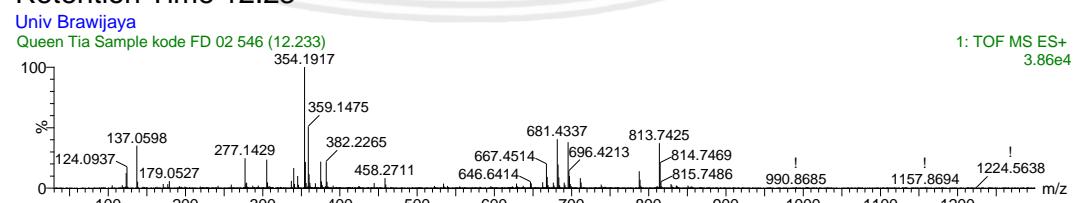
11. Retention Time 10.31

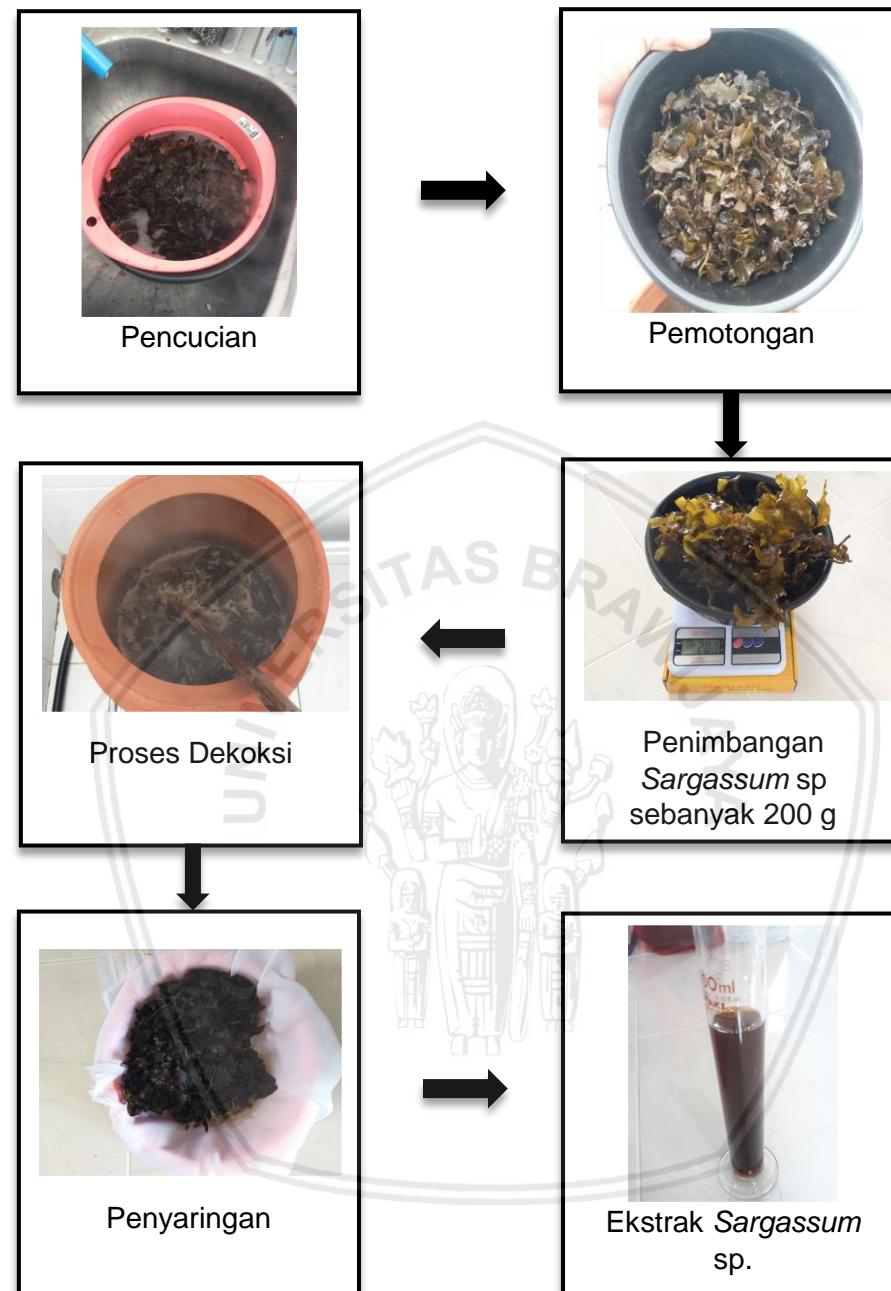


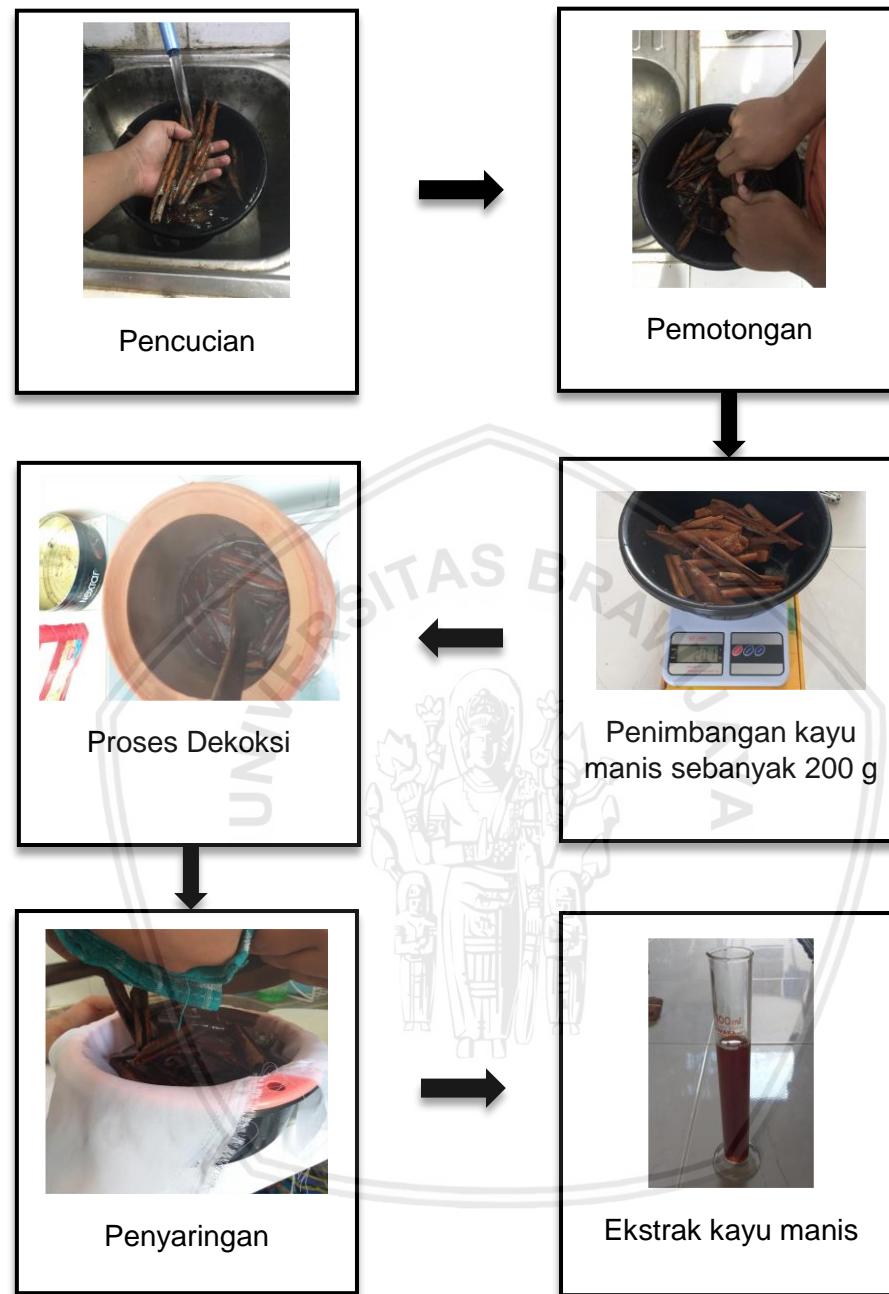
12. Retention Time 10.60



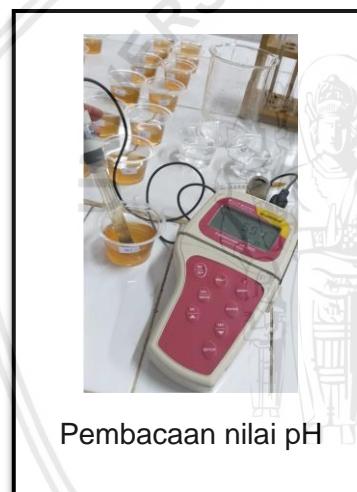
13. Retention Time 12.23

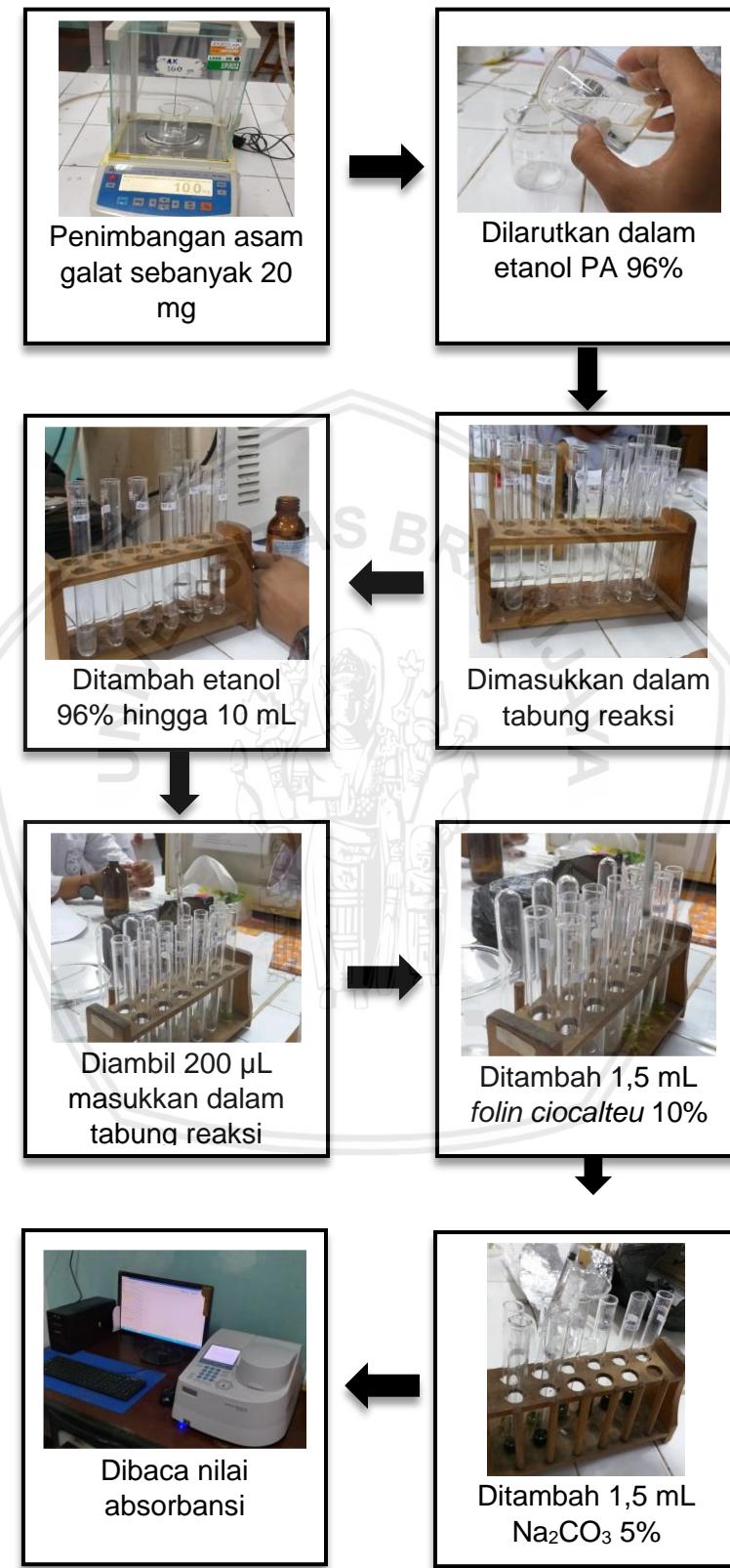


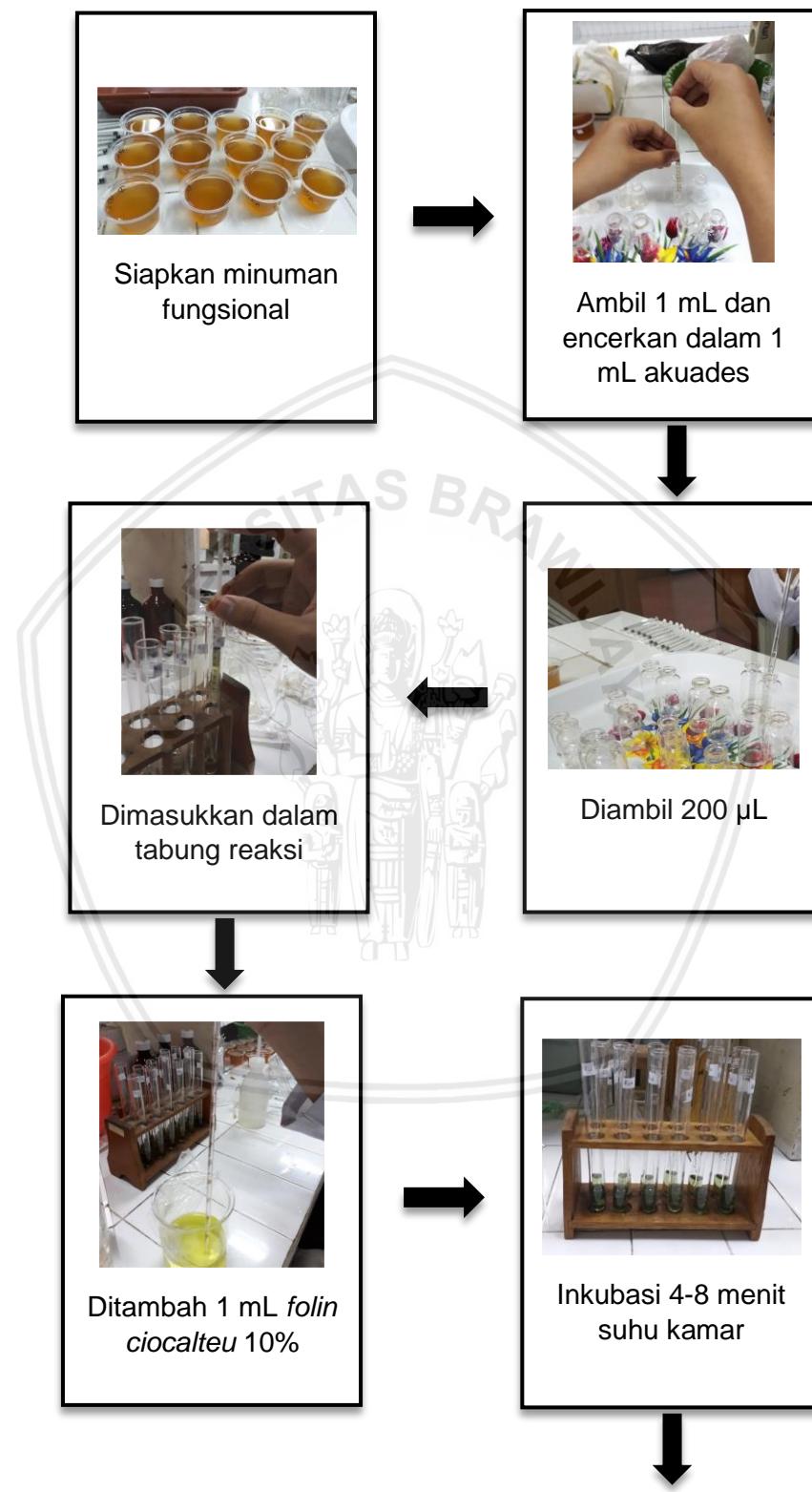
Lampiran 20. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak *Sargassum* sp.

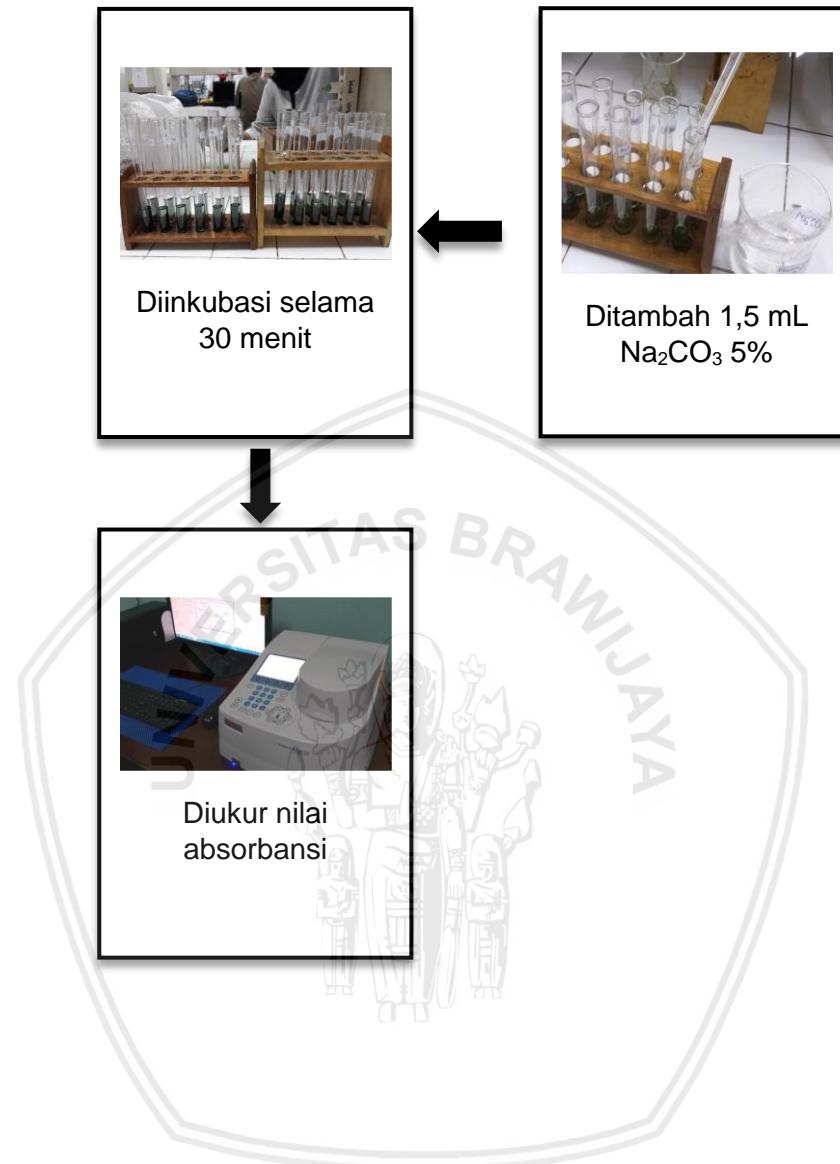
Lampiran 21. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak Kayu Manis

Lampiran 22. Dokumentasi Pembuatan Ekstrak Jahe Emprit

Lampiran 23. Dokumentasi Pengujian pH

Lampiran 24. Dokumentasi Pembuatan Larutan Asam Galat

Lampiran 25. Dokumentasi Pengujian Total Polifenol



Lampiran 26. Dokumentasi Pengujian α -Glukosidase



Lampiran 27. Hasil Uji Fitokimia

KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN KIMIA
LABORATORIUM KIMIA
 Gedung Sains dan Teknologi UIN Malang Lt.2 Jl. Gajayana 50 Malang Telp./Fax +62341558933
www.uin-malang.ac.id Email: info.uin@uin-malang.ac.id, kimia@uin-malang.ac.id

LAPORAN HASIL PENGUJIAN

Nama konsumen	:	Ratna Aprilia Silvi Rahayu
Instansi Asal/Jurusan	:	Universitas Brawijaya
Nama sampel	:	Minuman Fungsional
Jumlah sampel	:	5 (Lima)
Jenis Uji	:	Fitokimia
Tgl Penyerahan sampel	:	18 Maret 2019
Tanggal pengujian	:	22 Maret 2019

Sampel tersebut di atas telah dilakukan pengujian kandungan Fitokimia dilaboratorium Jurusan Kimia UIN Maulana Maliki Malang dengan hasil sebagai berikut:

No.	Nama Sampel	Nama Senyawa						
		Flavonoid	Tanin	Saponin	Fenol	Alkaloid	Terpenoid	Steroid
1.	FF 1	+	+	+	+	+	-	-
2.	FF 2	+	+	+	+	+	-	-
3.	FF 3	-	+	+	+	+	-	-
4.	FF 4	+	+	+	+	-	-	-
5.	FF 5	+	+	+	+	-	-	-

Demikian laporan hasil pengujian ini dikeluarkan untuk diketahui dan digunakan seperlunya,
atas perhatian dan kepercayaanya diucapkan terima kasih.

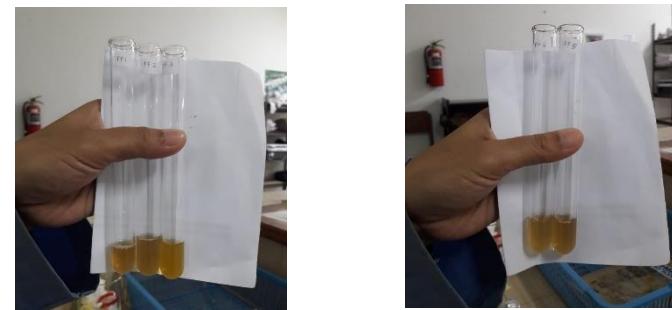
Malang, 25 Maret 2019
Jasa Layanan

Sugihowati

Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlak, Keluasan ilmu dan Kematangan Profesional

Lampiran 28. Dokumentasi Hasil Uji Fitokimia

a. Warna Sampel



b. Warna Hasil Uji Flavonoid



c. Warna Hasil Uji Tanin



d. Warna Hasil Uji Saponin



e. Hasil Uji Fenol



f. Warna Hasil Uji Alkaloid



g. Warna Hasil Uji Terpenoid/Steroid

