

PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA MINUMAN *INFUSED WATER* DARI JERUK NIPIS, JERUK LEMON DAN JERUK KALAMANSI DENGAN METODE DPPH

Herlina*, Elly Mulyani, Tri Wulandari
Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu

*: herlinazoni@gmail.com

ABSTRAK

Jeruk mengandung senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan yang sangat baik untuk mencegah dan menangkal radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan dari minuman *infused water* berbagai jenis jeruk (jeruk lemon, jeruk nipis dan jeruk kalamansi). Penelitian ini dilakukan dengan membuat minuman *infused water* dengan cara perendaman buah jeruk dalam air dingin dan didiamkan selama semalam dalam lemari es. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Data yang diperoleh kemudian dihitung nilai aktivitas antioksidannya dan dinyatakan dengan nilai IC_{50} . Hasil penelitian menunjukkan bahwa minuman *infused water* dari jeruk lemon, jeruk nipis dan jeruk kalamansi mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat dilihat dari nilai IC_{50} yang kurang dari 50 ppm, dimana jeruk kalamansi dengan nilai aktivitas antioksidan 28,92 ppm, kemudian diikuti oleh jeruk lemon dengan nilai aktivitas antioksidan 27,46 ppm, dan terakhir jeruk nipis dengan nilai aktivitas antioksidan 24,39 ppm.

Kata kunci: Antioksidan, DPPH, Jeruk, *Infused Water*

ABSTRACT

Oranges contain compounds that are efficacious as antioxidants which are great for preventing and counteracting free radicals. The purpose of this research is to determine the value of antioxidant activity of *infused water* drinks of variety oranges (lemon, lime and calamansi oranges). This research was conducted by making an *infused water* drink by soaking oranges fruits in cooled water and left overnight in the refrigerator. The antioxidant activity was carried out using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. The data obtained then calculated the value of antioxidant activity and calculated the IC_{50} value. The results showed that *infused water* drinks from lemon, lime and calamansi oranges had very strong antioxidant activity seen from the IC_{50} values which was less than 50 ppm, where calamansi with antioxidant activity value of 28,92 ppm, then followed by lemon with antioxidant activity value of 27.46 ppm and finally lime with antioxidant activity value of 24,39 ppm.

Keywords: Antioxidant, DPPH, Oranges, *Infused Water*

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa reaktif yang

memiliki elektron yang tidak berpasangan di kulit terluarnya¹. Radikal bebas bersifat tidak stabil

dan sangat reaktif sehingga cenderung bereaksi dengan molekul lainnya untuk mencapai kestabilan. Radikal dengan kereaktifan yang tinggi ini dapat memulai sebuah reaksi berantai dalam sekali pembentukannya sehingga membentuk senyawa yang tidak normal yang dapat merusak sel-sel penting dalam tubuh². Oleh sebab itu, tubuh kita memerlukan suatu substansi penting yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas yakni dengan pemberian antioksidan atau dengan mengkonsumsi antioksidan³.

Antioksidan termasuk senyawa pendonor elektron yang bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat radikal sehingga aktivitas radikal tersebut dapat terhambat. Ketidakstabilan radikal bebas dapat distabilkan oleh antioksidan dengan melengkapi kekurangan elektron pada senyawa radikal bebas¹. Manusia memiliki antioksidan dalam tubuh, namun jumlahnya tidak mencukupi untuk mengatasi radikal bebas yang berlebih sehingga dibutuhkan antioksidan eksogen.

Beberapa senyawa kimia dalam tumbuhan yang dapat berkhasiat sebagai antioksidan, diantaranya berasal dari golongan polifenol, flavonoid, vitamin C, vitamin E, dan β -karoten⁴. Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan tinggi adalah buah jeruk karena kandungan Vitamin C yang tinggi. Pada 100 g buah jeruk nipis mengandung vitamin C sebesar 27 mg⁵, pada buah jeruk lemon mengandung vitamin C 40-50 mg/100 g⁶, dan pada buah jeruk kalamansi mengandung vitamin C 3,863 mg/100 g⁷.

Infused water adalah air putih yang ke dalamnya ditambahkan buah-buahan segar dengan cara perendaman dan pendiaman secara bersama-sama dalam waktu tertentu. Unsur-unsur dalam bahan akan terekstrak atau keluar, sehingga memberi rasa dan aroma yang berbeda pada air⁸. *Infused water* memiliki rasa dan aroma khas, serta memiliki tampilan irisan buah yang berwarna-warni, sehingga bisa dijadikan referensi bagi mereka yang kurang suka mengkonsumsi air putih dan tidak sempat mengkonsumsi atau kurang suka buah⁹. Buah-buahan

yang digunakan dalam pembuatan *infused water* mengandung vitamin C yang baik untuk menjaga daya tahan tubuh dan mempunyai aktivitas antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas dalam tubuh¹⁰.

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti tertarik untuk menentukan aktivitas antioksidan pada minuman *infused water* dari jeruk nipis, jeruk lemon dan jeruk kalamansi yang diharapkan bermanfaat untuk menangkal radikal bebas berlebih dalam tubuh sehingga dapat dijadikan sebagai minuman untuk pertahanan dan kesegaran tubuh serta menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Adapun metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*).

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu bulan Januari 2021 – Maret 2021.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam

penelitian ini yaitu : timbangan analitik (Lucky), Spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S), mikropipet, pipet volume (pyrex), Beker glass (pyrex), Gelas ukur (pyrex), labu ukur (pyrex), pipet volume (pyrex), tabung reaksi, corong, batang pengaduk, pipet tetes, kertas saring, stop watch, botol minum, spatel, sarung tangan, tissue, aluminium foil

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia s*), Jeruk Lemon (*Citrus medica*) dan Jeruk Kalamansi (*citrus microcarpa*), DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrozil*), aquadest, dan etanol p.a.

Penbuatan Minuman Infused Water

Pembuatan *infused water* diawali dengan pencucian buah jeruk nipis, jeruk lemon dan jeruk kalamansi. Selanjutnya buah dipotong dan ditimbang sebanyak 100 gram. Potongan buah jeruk kemudian dimasukkan ke dalam botol minum yang berisi air putih dingin sebanyak 350 mL dan dimasukkan ke dalam lemari pendingin dan diamankan selama 12 jam (semalam), setelah itu disaring

dan siap dianalisis⁹.

Uji Aktivitas Antioksidan Dalam Minuman *Infused Water*

1. Pembuatan Larutan Induk DPPH 0,1 mM

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 3,9 mg dan dilarutkan ke dalam etanol p.a sampai tepat 100 mL (0,1 mM)¹¹.

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang (λ) dengan cara mengukur 4,0 mL larutan DPPH 0,1 mM pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 470-550 nm untuk mendapat absorpsi $\pm 0,2-0,8$ ¹².

3. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan pada minuman *infused water* jeruk nipis, jeruk lemon dan jeruk kalamasi dilakukan dengan cara sampel minuman infused water dipipet sebanyak 50 μ L, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 50 ml, sehingga diperoleh kadar 1000 ppm. Dari kadar 1000 ppm dibuat seri konsentrasi sebesar 10, 20, 40 dan 80ppm. Masing-masing larutan seri konsentrasi ditambahkan

sebanyak 4 ml larutan DPPH, campuran larutan dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang diperoleh pada percobaan sebelumnya.

Analisis Data

Aktivitas antioksidan dari minuman *infused water* ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan rumus sebagai berikut¹³ :

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(\frac{Ab - As}{Ab} \right) \times 100 \%$$

Keterangan:

Ab = Absorbansi blanko (Larutan DPPH 0,1mM)

As = Absorbansi sampel

Data diolah menggunakan analisa dengan persamaan regresi linier sederhana antara konsentrasi *infused water* jeruk nipis, lemon, kalamansi dengan (%) inhibisi. Kemudian dihitung nilai IC₅₀ (*inhibitory concentration of 50%*) menggunakan persamaan linier.

HASIL DAN PEMBAHASAN

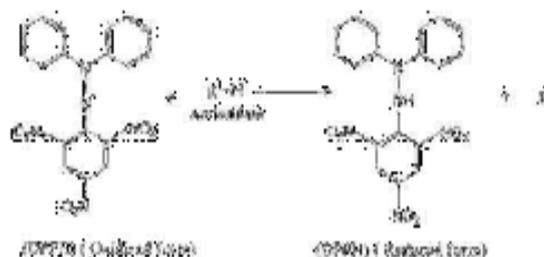
Penelitian ini dilakukan untuk

menentukan aktivitas antioksidan dari minuman *infused water* dari jeruk nipis, lemon dan kalamansi. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode penangkapan radikal DPPH. Digunakan metode ini karena merupakan metode yang sederhana, mudah dilakukan, waktu analisis yang cepat, dan sampel yang digunakan dalam jumlah yang sedikit⁴. Berdasarkan nilai LoD dan LoQ metode uji DPPH lebih efektif dan efisien dibandingkan dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) dan FIC(*Ferrous Ion Chelating*)¹⁶. Aktivitas antioksidan dari minuman *infused water* dinyatakan dalam % *inhibisi* terhadap radikal DPPH. % *inhibisi* diperoleh dari perbedaan antara absorbansi DPPH kontrol dan sampel yang diukur menggunakan instrumen Spektrofotometer UV-Vis. Sedangkan besarnya aktivitas antioksidan diperoleh dari nilai IC₅₀. Prinsip dari metode DPPH adalah senyawa antioksidan akan

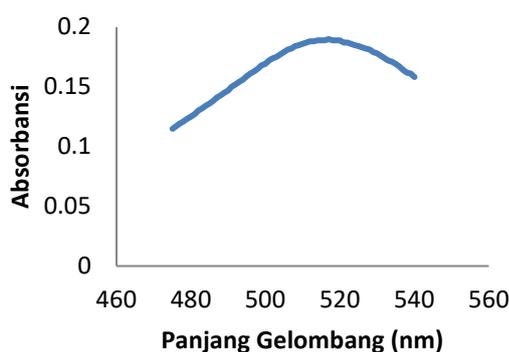
mendonorkan atom hidrogennya pada radikal DPPH, sehingga menyebabkan DPPH menjadi bentuk tereduksi yang bersifat nonradikal. DPPH dalam bentuk nonradikal akan kehilangan warna ungu. Pudarnya warna ini ditandai pula dengan penurunan absorbansi DPPH pada panjang gelombang maksimum yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS¹⁴. Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil Pengukuran λ_{maks}

Panjang gelombang (λ_{max}) adalah panjang gelombang dengan intensitas absorpsi tertinggi atau maksimum. Pemilihan panjang gelombang maksimum dimaksudkan untuk meminimalkan kesalahan sehingga didapatkan akurasi yang baik³. Pada penelitian ini *scanning* panjang gelombang DPPH dilakukan pada 470-550 nm dengan interval 1 nm. Hasil *scanning* yang diperoleh dalam penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Reaksi DPPH dengan Antioksidan



Gambar 2. Hasil scanning λ_{max} DPPH

Dari gambar terlihat panjang gelombang maksimum yang didapat dari larutan DPPH adalah pada 517 nm dengan nilai absorbansi sebesar 0,19. Panjang gelombang yang diperoleh sudah sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu 517,6 nm dengan nilai absorbansi 0,975³.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan cara membuat larutan seri konsentrasi dari dari masing-masing sampel minuman *infused water* sebesar 10, 20, 40 dan 80 ppm. Selanjutnya ke dalam

masing-masing larutan ditambahkan larutan DPPH 0,1mM dan diinkubasi selama 30 menit dengan tujuan untuk memberi kesempatan untuk zat yang bersifat sebagai antioksidan berikatan dengan radikal DPPH. Setelah 30 menit dilakukan pengukuran nilai absorbansi dari masing-masing sampel pada panjang gelombang 517 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai % *inhibisi*. Dari nilai *inhibisi* yang diperoleh selanjutnya dibuat kurva hubungan konsentrasi larutan terhadap % *inhibisi* untuk mencari persamaan

regresi linier yang dipergunakan dalam penentuan nilai IC_{50} . Nilai absorbansi dan % Inhibisi dari

minuman infused water jeruk kalamansi, jeruk nipis dan jeruk lemon dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persen Inhibisi dari *minuman Infused water* jeruk nipis, kalamansi dan lemon

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi
Jeruk Nipis	10	0,132	30,52
	20	0,099	47,89
	40	0,050	73,68
	80	0,015	92,10
Jeruk Kalamasi	10	0,171	10
	20	0,110	42,10
	40	0,033	82,63
	80	-0,025	113,10
Jeruk Lemon	10	0,189	0,50
	20	0,095	50
	40	0,058	69,47
	80	-0,039	120,50

Kurva hubungan antara konsentrasi terhadap % inhibisi dari minuman infuse water jeruk nipis, jeruk lemon dan jeruk kalamasi dapat dilihat pada Gambar 3.

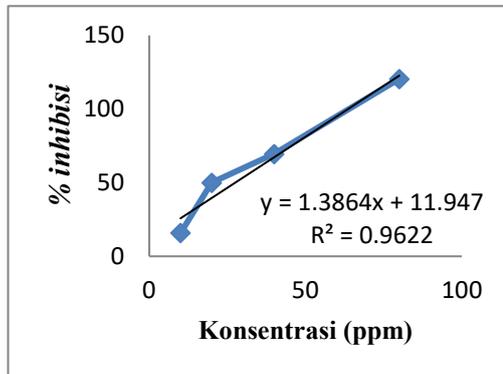
Dari gambar terlihat semakin besar konsentrasi minuman *infused water* semua jenis jeruk menunjukkan nilai % *inhibisi* semakin tinggi. Dari data didapat $R= 0,962$ untuk *infused water* jeruk lemon, nilai $R= 0,915$ untuk *infused water* jeruk nipis, nilai $R=0,907$ untuk *infused water* jeruk kalamasi. Dari semua data yang didapat nilai R dari masing-masing sampel minuman *infused water* mendekati 1 dan menunjukkan kurva

kalibrasi linier sehingga terdapat hubungan antara konsentrasi minuman *infused water* dengan absorbansi¹⁵, persamaan regresi linier ini selanjutnya dapat digunakan untuk penentuan nilai IC_{50} dari sampel minuman *infused water*.

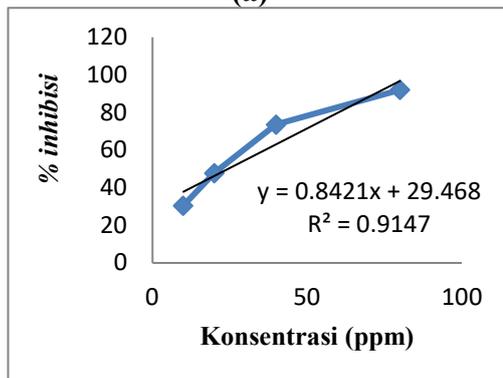
Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi efektif yang dibutuhkan untuk meredam 50% dari total DPPH, sehingga nilai 50 disubstitusikan untuk nilai y. Setelah mensubstitusikan nilai 50 pada nilai y, akan didapat nilai x sebagai nilai IC_{50} ². Adapun nilai IC_{50} yang diperoleh pada penelitian ini untuk

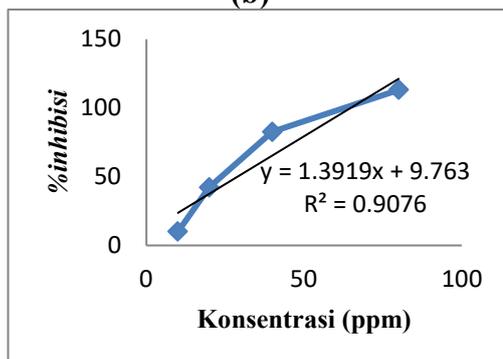
minuman *infused water* jeruk nipis, jeruk lemon dan jeruk kalamansi dapat dilihat pada Tabel 2.



(a)



(b)



(c)

Gambar 3. Kurva hubungan konsentrasi terhadap %inhibisi (a) jeruk lemon, (b) jeruk nipis dan (c) jeruk kalamansi

Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas

antioksidan³. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minuman *infused water* dari jeruk nipis, lemon dan kalamansi menunjukkan aktifitas antioksidan yang tergolong sangat kuat karena nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm. Secara spesifik suatu senyawa antioksidan dikatakan sangat kuat apabila nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm¹⁴. Nilai IC₅₀ dari ketiga minuman *infused water* dari jeruk nipis, lemon dan kalamansi tidak terlalu menunjukkan perbedaan yang terlalu jauh dimana nilai IC₅₀ paling tinggi adalah minuman *infused water* dari jeruk kalamansi adalah sebesar 28,92 ppm, selanjutnya *infused water* jeruk lemon sebesar 27,46 ppm dan yang terakhir *infused water* dari jeruk nipis sebesar 24,39 ppm. Besarnya nilai aktivitas antioksidan dari minuman *infused water* ini disebabkan karena kandungan vitamin C yang sangat besar dalam buah jeruk dimana vitamin C ini sangat berperan penting dalam menangkal radikal bebas. Dari penelitian sebelumnya minuman *infused water* dari jeruk kalamansi memiliki kadar vitamin C paling tinggi sebesar 0,03585%, *infused*

water jeruk lemon sebesar 0,0285% dan terakhir *minuman infused water* dari jeruk nipis sebesar 0,0147%¹⁷. Oleh sebab itu pada penelitian ini diperoleh nilai aktivitas antioksidan dari jeruk kalamansi lebih tinggi dibandingkan dengan jeruk lemon dan jeruk nipis dikarenakan kandungan Vitamin C yang lebih besar.

Tabel 2. Nilai IC₅₀ minuman *infused water*

Sampel <i>Infused Water</i>	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Jeruk Lemon	27,46ppm
Jeruk Nipis	24,39ppm
Jeruk Kalamansi	28,92ppm

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa minuman *infused water* dari jeruk lemon, jeruk nipis dan jeruk kalamansi berkhasiat sebagai antioksidan karena mempunyai aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika dilihat dari nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alam dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*, Kanisius, Yogyakarta.
2. Trisanti, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., Jonathan, J. S., 2016, Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengsi* L), *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan, Pengembangan Teknologi Kimia Untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia*, 17 Maret 2016, Yogyakarta, 1-7
3. Yuliani, N. Y., Dienina, D. P., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Kelor (*Moringa Oleifera*, Lamk) dengan Metode 1,1- diphenyl - 2 - picrylhydrazil (DPPH), *Jurnal Info Kesehatan*, Vol. 14 No. 2., 1061-1082
4. Hani, R. C., Milanda, T., 2016, Review : Manfaat Antioksidan Pada Tanaman Buah di Indonesia, *Farmaka*, Vol 14 No 1, 184-190
5. Lauma, S. W., Pangemana, D.H. C., Hutagalung, B. S.P., 2015. Uji Efektifitas Perasan Air Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia* S) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro, *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol.4 No. 4, 9-14
6. Fitriyana, R. A., 2017, Perbandingan Kadar Vitamin C Pada Jeruk Nipis (*Citrus X Aurantifolia*) dan Jeruk Lemon (*Citrus X Lemon*) yang Dijual Di Pasar Linggapura Kabupaten Brebes, *Publikasi Ilmiah Civitas Akademika Politeknik Mitra Karya Mandiri Brebes*, Vol 2 No. 2
7. Anggreani, N., Yeni, R. F., 2020, Analisis Kadar Vitamin

- C Pada Jeruk Lokal di Provinsi Bengkulu, *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, Vol. 7 No. 2, 270-276
8. Harifah, I., Mustofa, A., Suhartatik, N., 2017, Aktivitas Antioksidan Infused Water dengan Variasi Jenis Jeruk (nipis, lemon, dan baby) dan Buah Tambahan (stroberry, anggur hitam dan kiwi), *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, Vo. 1 No. 1, 54-58
 9. Triyani, H. S., Karyantina, M., Suhartatik, N., 2021, Aktivitas Antioksidan Infused Water Apel (*Malus domestica*)- Kayu Manis (*Cinnamon burmanii*) dengan Variasi Penambahan Kurma (*Phoenix dactilifera L*) dan Lama Perendaman, *Jurnal Ilmiah Teknologi dan Industri Pangan Unisri*, Vol. 6 No. 1, 65-77
 10. Ivakdalam, L.M., Rehena, Z., 2019, Pengaruh Rendaman Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Kandungan Vitamin C dan pH Minuman Infused Water, *Jurnal Agribisnis Perikanan*, Vol 12 No. 2, 344-349
 11. Wulan, Adithya, Y., Henki, R., 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Daun Mimosa Pudica Linn. Menggunakan Metode DPPH, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, Vol. 8 No. 1.
 12. Verawaty, F., Halim, A., 2016, Efektivitas Sistem Penghantaran Liposom pada Katekin Sebagai Antioksidan. *Jurnal Sains Farmasi Dan Klinis*, 2(2), 176-182.
 13. Munadia, Auliansah, P., 2021, Perbandingan Aktivitas Antioksidan Jus dan Infused Water Apel Hijau (*Malus sylvestris* Mill.), *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia*, 1(1), 8-11
 14. Molyneux, P., 2004, The use of the stable free radikal diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Journal Science of Technology*, Vol. 26. No. 2.
 15. Karinda, M., Fatimawali, Citraningtyas, G., 2013, Perbandingan Hasil Penetapan Kadar VitaminC Pada Mangga Dodol Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis dan Iodometri, *Jurnal Ilmiah Farmasi-Unstrat*, Vol. 2 No. 1, 86-89
 16. Masaroh, K., Kurnia, D., Anshori, J. A. 2018, Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuarsetin, *Chemica et natura acta*, Vol.6 No. 2, 93-100.
 17. Herlina., Noviyanty, Y., Guna, B. H, 2021, Penetapan Kadar Vitamin C Pada Minuman *Infused Water* dari Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia S.*), Jeruk Lemon (*Citrus lemon*) dan Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*), *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, Vol 8 No. 2, 45-54