

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINUMAN
INFUSED WATER DARI BERBAGAI JENIS JERUK**

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
Untuk mencapai gelar Ahli Madya Farmasi (A.Md.Farm)



Oleh:
Tri Wulandari
17101101

**AKADEMI FARMASI AL-FATAH
YAYASAN AL-FATHAH
BENGKULU
2020**

PERNYATAAN KEASLIANTULISAN

Yang bertanda tangan dibawah ini adalah :

Nama : Tri Wulandari
NIM : 17101101
Program Studi : DIII Farmasi
Judul : Uji Aktivitas Antikarsidaan Misionan Injineel Watu' Duri Berbagai Jenis Jarak

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah ini merupakan hasil karya sendiri dan sepengetahuan penulis tidak berikan materi yang dipublikasikan atau ditulis orang lain atau dipergunakan untuk menyelesaikan studi di perguruan tinggi lain kecuali untuk bagian-bagian tertentu yang dipakai sebagai acuan.

Jika pernyataan diatas terbukti tidak benar, segenapnya menjadi tanggung jawab penulis.

Bengkulu, Juli 2020



Yang Membuat Pernyataan

LEMBAR PENGESAHAN

KARYA TULIS ILMIAH DENGAN JUDUL
UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINUMAN INFUSED WATER
DARI BERBAGAI JENIS JERUK

Oleh :

Tri Wahyudin
17101160

Karya Tulis Ilmiah ini telah dipersiapkan di hadapan Dewan Pengaji
Sebagai salah satu syarat untuk menempuh Ujian Diploma (DIII) Farmasi
di Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu.

Pada Tanggal : 07 Juli 2020

Dewan Pengaji :

Pembimbing I



(Herlina, M.Si)
NIDN : 0201058502

Pembimbing II



(Elly Marlani, M.Farm., Apt)
NIDN : 0217108902

Pengaji



Yuska Novi Yanti, M.Farm., Apt
NIDN : 0212118201

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto

Dimana ada persiapan disitu selalu ada kesempatan.Hati nuranimu telah memberikan kode atau isyarat untuk selalu mempersiapkan kesuksesanmu dengan memberimu semangat dalam berjuang, setelah kamu berusaha dan berjuang secara maksimal. Yakinlah karena disitu setiap peluang akan selalu ada untuk menuju impianmu.

Persembahan

Alhamdulillah, Alhamdulillah, Alhamdulillahirobbil'alamin. Sujud syukur kusembahkan kepada ALLAH SWT yang maha agung, yang maha tinggi dan maha penyayang, atas takdirMU telah kau jadikan saya manusia yang senantiasa beriman, berfikir, berilmu dan bersabar dalam menjalani kehidupan yang tidak mudah ini. Semoga keberhasilan ini menjadi satu langkah awal bagiku untuk meraih cita-citaku.

Halaman persembahan ini saya tujukan kepada orang-orang yang sangat penting dan berarti dalam kehidupanku dan menyukseskan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

Pertama dan paling utama karya ini akan saya persembahkan untuk ayahanda tercinta (sugiharto) dan ibundaku yang sangat saya sayangi (Misyam) yang tidak pernah henti-hentinya mendoakan, memberi semangat, mendukung di setiap kehidupan ini, saya sangat berterimakasih kepada ayahanda yang telah menjadi tulang punggung keluarga dan juga yang telah melindungi, menyayangi, mendidik dan merawat saya hingga seperti saat ini. Dan terimakasihku untuk ibunda yang telah melahirkan saya, merawat dan manyayangi saya sampai saat ini.Kalian adalah orang tua sekaligus inpirasi dalam hidupku ini. I love you and you are everything.

Untuk Ayundaku Eka Susanti dan Rahma Dini Dwi Anggraini yang telah mengingatkan, mendukung dan memberi semangat di saat saya mulai mengeluh dan menyerah. Kemudian saya ucapkan terimakasih

kepada bibi Mulyani dan paman kristanto yang telah menyayangi, merawat, dan menjaga saya selama 3 tahun ini.

Untuk Ibu Herlina, M.Si selaku pembimbing I, Ibu Elly Mulyani selaku pembimbing II dan Ibu Yuska Noviyanty, M.Farm.,Apt selaku penguji Karya Tulis Ilmiah. Saya ucapan banyak terimakasih atas bimbingan, bantuan, perhatian dan waktunya dalam membantu saya untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.

Untuk sahabat dan teman-temankuterimakasih telah mendukung, memberi semangat dan mengingatkan saya untuk segera menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini agar dapat membanggakan kedua orang tuaku.Agustya Ningsy sahabatku saya ucapan banyak terimakasih kepada engkau yang telah banyak membantu saya di saat saya sedang kesulitan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.Dini Kurata Ayuni uniku saya ucapan terimakasih telah memberi semangat dan membantu saya dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmia ini.Mutia Septiani sahabatku saya ucapan terimakasih telah membantu untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmia ini.Reka Safira sahabatku saya ucapan terimakasih telah membantuku dalamsegala sesuatu. Cici Febrianti dan Sakinah Ningrum dan teman - teman seperjuanganku yang tak bisa ku sebutkan satu persatu mahasiswa Akfar Al-Fathah Bengkulu angkatan 2017 terkhusus untuk lokal kelas C2 semoga kita semua menjadi orang yang sukses. Aaamin.

AlmamaterkuTerima kasih untuk 3 tahun ini.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa karena dengan rahmat dan hidayah-NYA sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah (KTI) dengan judul "**“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINUMAN INFUSED WATER DARI JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia s.*), JERUK LEMON (*Citrus Lemon*), JERUK KALAMANSI (*Citrofortunella microcarpa*)**" disusun sebagai salah satusyarat untuk menyelesaikan pendidikan Ahli Madya Farmasi di Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu.

Ucapan terimakasih yang terbesar penulis persembahkan kepada kedua orang tua, karena doa dan kasih sayangnya telah mengiringi perjalanan penulis dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah ini. Rasa terima kasih yang sedalamnya atas bantuan dan dukungannya kepada :

1. Herlina M.Si. Selaku dosen Pembimbing Akademik dan pembimbing I yang senantiasa meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dan kritikan dalam menyelesaikan karya tulis ilmiah (KTI) ini.
2. Elly Mulyani, M.Farm.,Apt. Selaku pembimbing II yang senantiasa meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dan kritikan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
3. Yuska Noviyanty M.Farm.,Apt. Selaku penguji yang telah meluangkan waktunya untuk menguji dan untuk memberikan bimbingan dan kritikan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini.
4. Bapak Drs. Djoko Triyono, Apt., MM selaku ketua Yayasan Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu.

5. Densi Selpia Sopianti M.Farm.,Ap selaku Direktur Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu.
6. Para dosen dan staf karyawan Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu yang telah memberikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu.
7. Rekan-rekan seangkatan di Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang sesuai atas segala bantuan yang telah di berikan kepada penulis.Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih banyak terdapat kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun.Akhirnya penulis berharap semoga, Karya Tulis Ilmiah yang penulis susun saat ini bermanfaat untuk pengembangan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Khususnya dibidang kefarmasian.

Bengkulu, Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Batasan Masalah	4
1.3 Rumusan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.5.1 Bagi Akademik.....	5
1.5.2 Bagi Peneliti Lanjutan	5
1.5.3 Bagi Instansi/ Bagi Masyarakat.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kajian Teori	6
2.1.1 Infused Water	6
2.1.2 Jeruk	7

2.1.3 Radikal Bebas	13
2.1.4 Antioksidan	14
2.1.5 Vitamin C	18
2.1.6 DPPH.....	19
2.1.7 Spektrofotometer UV-vis	20
2.2 Kerangka Konsep.....	24
BAB III METODE PENELITIAN.....	25
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	25
3.2 Alat dan BahanPenelitian.....	25
3.2.1 Alat	25
3.2.2 Bahan.....	25
3.3 Prosedur Kerja Penelitian	25
3.3.1 Penbuatan Minuman Infused Water.....	25
3.3.2 Uji Aktivitas Antioksidan Dalam Minuman <i>Infused Water</i> .	26
3.4 Analisis Data	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1 Pengukuran Panjang Gelombang.....	30
4.2 Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan	30
4.3 Penentuan IC50.....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran	36
5.2.1 BagiAkademik	36
5.2.2 Bagi Peneliti Lanjutan.....	36
5.2.3 Bagi Masyarakat	37

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel I. Struktur Vitamin C	23
Tabel II. Aktivitas Antioksidan Jeruk Lemon, Jeruk Nipis, Jeruk Kalamansi dan Vitamin C Dengan Metode DPPH	33
Tabel III. Sifat Antioksidan berdasarkan nilai IC50	34
Tabel IV. Nilai IC50 Jeruk Lemon, Jeruk Nipis, Jeruk Kalamansi dan Vitamin.C	34

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Buah Jeruk Nipis	8
Gambar 2. Buah Jeruk Lemon	10
Gambar 3. Buah Jeruk Kalamansi.....	12
Gambar 4. Reaksi DPPH dan Asam Askorbat yang terkonjugasi.....	16
Gambar 5. Struktur vitamin C.....	18
Gambar 6. Cara kerja Spektrofotometer	22
Gambar 7. Kerangka Konsep	24
Gambar 8. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan	28
Gambar 9. Kurva Hubungan Panjang Gelombang Terhadap Absorbansi Larutan DPPH 0,1 nM.....	30
Gambar 10. Kurva Hubungan Aktivitas Antioksidan Dengan Konsentrasi <i>Infused Water</i> Jeruk Lemon.	31
Gambar 11. Kurva Hubungan Aktivitas Antioksidan Dengan Konsentrasi <i>Infused Water</i> Jeruk Nipis.....	31
Gambar 12. Kurva Hubungan Aktivitas Antioksidan Dengan Konsentrasi <i>Infused Water</i> Jeruk Kalamansi	32
Gambar 13. Grafik Aktivitas Antioksidan Vitamin C	32

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Skema Kerja
- Lampiran 2. Gambar Alat Penelitian
- Lampiran 3. Gambar Bahan Penelitian
- Lampiran 4. Prosedur Penggerjaan
- Lampiran 5. Perhitungan

INTISARI

Jeruk (*Citrus Sp*) mengandung senyawa yang berkhasiat sebagai antioksidan yang sangat bagus untuk mencegah dan menangkal radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan antioksidan serta untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan dari minuman *infused water* berbagai jenis jeruk yaitu (jeruk lemon, jeruk nipis, jeruk kalamansi).

Penelitian ini dilakukan dengan cara membuat seri konsentrasi sampel dari minuman *infused water* berbagai jenis jeruk (jeruk lemon, jeruk nipis, jeruk kalamansi) yaitu sebesar 10ppm, 20ppm, 40ppm, 80ppm, dan sebagai pebanding digunakan vitamin C dengan cara membuat seri konsentrasi sebesar 2ppm, 4ppm, 6ppm, 8ppm. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Data yang diperoleh kemudian dihitung nilai aktivitas antioksidannya dengan menggunakan 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 50ppm, dimana nilai aktivitas antioksidan yang sangat kuat yaitu jeruk nipis dengan nilai aktivitas antioksidan 24,39ppm, kemudian diikuti oleh jeruk lemon dengan nilai aktivitas antioksidan 27,46ppm, kemudian diikuti jeruk kalamansi dengan nilai aktivitas antioksidan 28,92ppm.

Kata Kunci : Jeruk, Infused Water, Antioksidan

Daftar Acuan : 36 (1990-2016)

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara yang memiliki kekayaan alam yang melimpah. Hampir semua jenis tumbuhan dapat tumbuh di Indonesia. Sebagian besar tumbuhan tersebut sudah dimanfaatkan untuk mengobati berbagai penyakit oleh nenek moyang kita, dimana tumbuhan ini dikenal sebagai obat herbal. Perkembangan dan popularitas obat herbal semakin meningkat seiring dengan tingginya harga obat non herbal dan resistensi dari obat kimia. Tanaman obat herbal menjadi salah satu alternatif untuk menghindari munculnya resistensi tersebut. Salah satu tumbuhan herbal yang banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk pengobatan tradisional adalah jeruk (Aibinu, 2007). Indonesia memiliki ribuan jenis tumbuhan yang tersebar di berbagai daerah. Keanekaragaman hayati yang ada tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat modern dan tradisional (Akhyar, 2010).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel akan dihambat. Antioksidan terdapat dalam beberapa bentuk, diantaranya vitamin, mineral, dan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan yang memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan merupakan salah satu senyawa yang dimanfaatkan untuk mencegah proses penuaan dini (Anese, 1999). Antioksidan mampu mencegah stres oksidatif yang berperan utama dalam pengembangan penyakit kronis dan degeneratif

seperti kanker, arthritis, penuaan penyakit autoimmun, kardiovaskular dan penyakit neurodegeneratif (Lian *et al.*, 2008).

Vitamin C adalah salah satu zat gizi yang berperan sebagai antioksidan dan efektif mengatasi radikal bebas yang dapat merusak sel atau jaringan, termasuk melindungi lensa dari kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh radiasi. Status vitamin C seseorang sangat tergantung dari usia, jenis kelamin, asupan vitamin C harian, kemampuan absorpsi dan ekskresi, serta adanya penyakit tertentu. Rendahnya asupan serat dapat mempengaruhi asupan vitamin C karena bahan makanan sumber serat dan buah-buahan juga merupakan sumber vitamin C (Citratingtyas, 2013).

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 air. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan *infused water* seperti buah-buahan segar (jeruk, lemon, *blueberry*, *blackberry*, *rassberry*, mentimun, anggur, kiwi, nanas, delima dan stroberi). *Infused water* berbeda dengan jus, karena tidak menggunakan bahan tambahan gula atau zat aditif lain sehingga *infused water* lebih alami untuk dikonsumsi. *Infused water* menjadi referensi bagi mereka yang kurang suka mengkonsumsi air putih karena air menjadi berasa dan beraroma khas. 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 tubuh. Mengkonsumsi *infused water* bisa membantu pemeliharaan kesehatan(Ika,dkk.,2015).

Jeruk (*Citrus sp*) merupakan tanaman buah tahunan yang berasal dari Asia.Negara cina dipercaya sebagai tempat pertama kali jeruk tumbuh.Jeruk merupakan tanaman yang dapat tumbuh baik di daerah tropis dan daerah subtropis. Jeruk manis dapat beradaptasi dengan baik didaerah tropis pada ketinggian 900-1200 meter di atas permukaan laut dan udara senantiasa lembab, serta mempunyai persyaratan air tertentu (Rukmana, 2005). Tanamanjeruk-jerukan, suku Rutaceae, banyak dibudidayakan orang dan beranggotakan tidak kurang dari 1300 jenis tanaman.Suku Rutaceae dibagi dalam tujuh sub famili (anak suku) dan 130 genus (marga), dimana yang menjadi induk tanaman jeruk adalah sub famili Aurantioideae yang beranggotakan 33 genus. Beberapa contoh spesies Citrus antara lain jeruk keprok (*Citrus nobilis*), jeruk manis (*Citrus aurantium*), jeruk lemon (*Citrus medica*), jeruk besar (*Citrus maxima*), jeruk grafefruit (*Citrus paradise*), jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*), jeruk sambal (*Citrus amblycarpa*), jeruk purut (*Citrus hystrix*), jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan lain- lain (Sarwono, 1995).

Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan pada minuman *infused water* dari jeruk nipis, jeruk lemon dan jeruk kalamansi karena jeruk memiliki kandungan vitamin C dan antioksidan sebagai penangkal raeikal bebas berlebih pada tubuh dengan menggunakan metode DPPH (*1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl*)

1.2 Batasan Masalah

1. Sampel dalam penelitian ini adalah minuman *infused water* yang dibuat dengan penambahan buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*), jeruk lemon (*Citrus medica*), jeruk kalamansi (*citrus microcarpa*)
2. Metode untuk pengujian aktivitas antioksidan dalam minuman *infused water* dari jeruk menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*).

1.3 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat kandungan antioksidan dalam minuman *infused water* dari jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*), jeruk lemon (*Citrus medica*), jeruk kalamansi (*citrus microcarpa*) ?
2. Berapakah nilai aktivitas antioksidan dari minuman *infused water* jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*),jeruk lemon (*Citrus medica*), jeruk kalamansi (*citrus microcarpa*) jika dihitung dalam IC₅₀?

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah terdapat kandungan antioksidan dalam minuman *infused water* dari jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*), jeruk lemon (*Citrus medica*), jeruk kalamansi (*citrus microcarpa*)
2. Untuk mengetahui berapakah nilai aktivitas antioksidan dari minuman *infused water* jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s*), jeruk lemon (*Citrus medica*), jeruk kalamansi (*citrus microcarpa*) jika dihitung dalam IC₅₀

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Akademik

Karya Tulis Ilmia (KTI) ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai masukan yang membangun bagi perkembangan Akademik dan menjadi referensi untuk kelanjutan penelitian bagi mahasiswa/i selanjutnya.

1.5.2 Bagi Peneliti Lanjutan

Karya Tulis Ilmia (KTI) ini dapat dimanfaatkan untuk sebagai panduan atau referensi untuk melakukan penelitian yang lebih lanjut.

1.5.3 Bagi Instansi/ Bagi Masyarakat

Dapat Memberikan informasi kepada masyarakat tentang kandungan Antioksidan dalam minuman *infused water* dari jeruk

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kajian Teori

2.1.1 Infused Water

Infused water adalah air putih yang ke dalamnya ditambahkan buah-buahan segar dan teh hijau 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 air. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan *infused water* seperti buah-buahan segar (jeruk, lemon, *blueberry*, *blackberry*, *rassberry*, mentimun, anggur, kiwi, nanas, delima dan stroberi). *Infused water* berbeda dengan jus, karena tidak menggunakan bahan tambahan gula atau zat aditif lain sehingga *infused water* lebih alami untuk dikonsumsi. *Infused water* menjadi referensi bagi mereka yang kurang suka mengkonsumsi air putih karena air menjadi berasa dan beraroma khas. 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 tubuh. Mengkonsumsi *infused water* bisa membantu pemeliharaan kesehatan. *Infused* atau *spa water* sebenarnya sudah menjadi bagian dari gaya hidup sejak akhir 2013. Hingga kini, dengan kesadaran akan pola hidup sehat. Air *infused* hanyaterdiri dari air putih (air mineral) yang diberi irisan buah segar atauba-

buah, rasa cenderung asam, tanpa menambahkan gula atau pemanis buatan, atau es batu. Air *infused* bisa terdiri dari hanya satu jenis buah, atau beberapa jenis buah. Bisa juga dengan menambahkan beberapa lembar daun mint untuk rasa yang lebih segar tergantung selera. (Ika,dkk.,2015)

2.1.2 Jeruk

Tanaman jeruk-jerukan, suku Rutaceae, banyak dibudidayakan orang dan beranggotakan tidak kurang dari 1300 jenis tanaman. Suku Rutaceae dibagi dalam tujuh sub famili (anak suku) dan 130 genus (marga), dimana yang menjadi induk tanaman jeruk adalah sub famili Aurantioideae yang beranggotakan 33 genus. Beberapa contoh spesies Citrus antara lain jeruk keprok (*Citrus nobilis*), jeruk manis (*Citrus aurantium*), jeruk lemon (*Citrus medica*), jeruk besar (*Citrus maxima*), jeruk grafefruit (*Citrus paradise*), jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*), jeruk sambal (*Citrus amblycarpa*), jeruk purut (*Citrus hystrix*), jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan lain- lain (Sarwono, 1995).Jeruk (Citrus sp) merupakan tanaman buah tahunan yang berasal dari Asia.Negara cina dipercaya sebagai tempat pertama kali jeruk tumbuh.Jeruk merupakan tanaman yang dapat tumbuh baik di daerah tropis dan daerah subtropis. Jeruk manis dapat beradaptasi dengan baik didaerah tropis pada ketinggian 900-1200 meter di atas permukaan laut dan udara senantiasa lembab, serta mempunyai persyaratan air tertentu (Rukmana, 2005).

A. Jeruk Nipis (*citrus aurantifolia s.*)

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia s.*) adalah salah satu tanaman toga yang banyak digunakan oleh masyarakat sebagai bumbu masakan dan obat-obatan (Razak,2013).

a. Klasifikasi Jeruk Nipis (*citrus aurantifolia s.*)

Regnum : *Plantae*
 Devisi : *Spermatophyta*
 Sub Divisi : *Angiospermae*
 Class : *Dicotyledonae*
 Subclass : *Dialypetalae*
 Ordo : *Rutales*
 Family : *Rutaceae*
 Genus : *Citrus*
 Spesies : *Citrus aurantifolia Swingle* (Sarwono,2001)



Gambar 1. Buah Jeruk Nipis (Sarwono, 2001)

b. Morfologi jeruk nipis

Morfologi tanaman dan buah jeruk nipis yang direview dari (Rukmana 1996 dan Steenis *et al*,2006) adalah sebagai berikut:

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) termasuk salah jenis citrus geruk. Tanaman jeruk nipis mempunyai akar tunggang. Jeruk nipis termasuk jenis tumbuhan perdu yang memiliki dahan dan ranting. Batang pohnnya berkayu ulet dan keras, sedangkan permukaan kulit luarnya berwarna tua dan kusam.

Daunnya majemuk, berbentuk elips dengan pangkal membulat, ujung tumpul, dan tepi beringgit. Panjang daunnya mencapai 2,5-9 cm dan lebarnya 2-5

cm. Tulang daunnya menyirip dengan tangkai bersayap, hijau dan lebar 5-25 mm (Rukmana, 1996).

Buah jeruk nipis diameternya berukuran 1,5 – 2,5 cm, daun mahkotanya berwarna putih kuning. Kelopak berjumlah 4 – 5, bersatu atau lepas. Mahkota berjumlah 4-5, berdaun lepas lepas. Benang sari 4-5 atau 8-10, kepala ruang sari beruang 2. Tonjolan dasar bunga beringgit atau berlekuk. Bunga beraturan, berkelamin 2, bentuk aak payung, tandan atau malai (Steenis *et al.*, 2006).

Tanaman jeruk nipis pada umur 2,5 tahun sudah mulai berbuah. Buahnya berbentuk bulat sebesar bola pingpong dengan diameter 3,5-5 cm. Kulitnya berwarna hijau atau kekuning-kuningan dengan tebal 0,2-0,5 cm. Daging buahnya berwarna kuning kehijauan (Rukmana, 1996 dan Steenis *et al.*, 2006).

c. Kandungan Jeruk Nipis

Jeruk nipis juga mengandung unsur-unsur senyawa kimia yang bermanfaat, seperti asam sitrat, asam amino (triftopan, lisin), minyak atsiri (sitral, limonen, flandren, lemon kamfer, kadinen, gerani-asetat, linali-asetat, aktiladehid, nonildehid), damar, glikosida, asam situn, lemak, kalsium, fosfor, besi, belerang vitamin B1 dan C (Alicce, 2010).

B. Jeruk Lemon (*Citrus limon L*)

Jeruk lemon merupakan salah satu buah yang kaya akan vitamin C serta kandungan antioksidan yang bermanfaat bagi tubuh manusia. Jeruk lemon mengandung 3,7% asam sitrat dan vitamin C 40-50 mg / 100 g (Kristanto, 2013).

a. Klasifikasi Jeruk Lemon (*Citrus limon L*)

Kingdom : *Plantae*

Subkingdom : *Spermatophyta*
 Divisi : *Magnoliophyta*
 Kelas : *Magnoliopsida*
 Subkelas : *Rosidae*
 Ordo : *Sapindales*
 Famili : *Rutaceae*
 Marga : *Citrus*
 Jenis : *Citrus limon (L)* (Chaturvedi et al, 2016)



Gambar 2. Buah Jeruk Lemon (Chaturvedi et al, 2016)

b. Morfologi Jeruk Lemon

Jeruk lemon merupakan tanaman berduri, tinggi pohon tanaman yang kecil mencapai 10-20 kaki. Daun lemon berbentuk oval dan berwarna hijau gelap. Daun jeruk lemon tumbuh tersusun pada batangnya. Jeruk lemon memiliki arglikosida aroma harum pada bunganya yang berwarna putih dan tersusun atas 5 kelopak. Jeruk lemon memiliki warna kuning kehijauan hingga kuning cerah dengan bentuk membundar (panjang 8-9 cm). Jeruk lemon sangat mirip dengan jeruk nipis, namun jeruk lemon akan berwarna kuning saat matang, dimana jeruk nipis akan tetap berwarna hijau dan jeruk lemon memiliki ukuran yang lebih besar pula. (Chaturvedi et al, 2016).

c. Kandungan Jeruk Lemon

Jeruk lemon memiliki kandungan vitamin C yang tinggi dibandingkan jeruk nipis serta sebagai sumber vitamin A, B1, B2, fosfor, kalsium, pektin, minyak astiri 70% limone, felandren, kumarins bioflavonoid, geranil asetat, asam sitrat, linalil asetat, kalsium, dan serat. Lemon memiliki berbagai macam penggunaan. Buah lemon terkenal sebagai bahan untuk diperas dan diambil sari buahnya sebagai pembuatan minuman. Dalam pengobatan tradisional air perasan lemon dapat ditambahkan ke dalam teh untuk mengurangi demam, asam lambung, radang sendi, membasmi kuman pada luka, dan menyembuhkan sariawan (Noghata *et al*, 2006).

C. Jeruk Kalamansi (*Citrus Microcarpa*)

Jeruk kalamansi berbentuk bulat kecil, berwarna kuning kehijauan, memiliki ukuran diameter 4-5 cm, dan memiliki rasa asam dan tekstur berserat. Kalamansi diklasifikasikan sebagai buah sitrus, meliputi lemon dan limau. Ini karena dagingnya berwarna oranye, berair, asam dan dengan kemiripan rasa dengan jeruk nipis (Bhatet *et al*, 2011).

a. Klasifikasi Jeruk Kalamansi (*Citrus Microcarpa*)

Menurut Sarwono (1995), sistematika tumbuhan jeruk kasturi adalah sebagai berikut:

Divisi : *Spermatophyta*

Subdivisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Bangsa : *Rutales*
 Suku : *Rutaceae*
 Marga : *Citrus*
 Jenis : *Citrus microcarpa* (Bunge)



Gambar 3. Buah Jeruk Kalamansi (Sarwono, 1995)

b. Morfologi Jeruk Kalamansi

Jeruk kasturi merupakan jenis tanaman jeruk dengan tinggi pohon 2-4 meter dan tajuk yang agak bulat, daun tersebar, berdaun majemuk beranak satu, agak kecil, berwarna hijau tua bertangkai pendek, pada tepi daun terdapat bintil-bintil kelenjar berbau sedap. Bunga majemuk, terletak diketiak daun atau pada ujung cabang, berbau harum, waktu masih kuncup berbentuk bulat telur panjang, daun pelindung kecil, kelopak berbentuk cawan terdiri dari 5 helai. Bakal buah berbentuk bola, pada pangkal dan ujung datar, berwarna hijau kuning. Buah berbentuk kecil, bertangkai pendek, berwarna kuning saat matang, hampir berbentuk seperti bola, diameternya 3-5 cm dengan kulit buah yang tipis (Casimiro, dkk., 2010; Direktorat Bina Sosial Budaya, 1992).

c. Kandungan Jeruk Kalamansi

Jeruk kalamansi kaya akan fosfor, kalsium, zatbesi dan vitamin C (Abdullah, 2012) memiliki kandungan yaitu air, kalium, karbohidrat, asam sitrat, vitamin A dan minyak atsiri (Anonim, 2010). Kulit buah jeruk kalamansi

mengandung 1,2% minyak atsiri. Komponen utama minyak atsiri tersebut adalah β -sitronelol (18%), β -pinen (15,31%) dan *Dlimonen* (14%). Selain itu, komponen lain yang terkandung dalam minyak atsiri kulit buah jeruk kalamansi adalah 4-metil-1-(1-metiletil)-3-sikloheksen-1-ol, β linalool, α -terpineol, α -farnesena, β -sitral, *L-isopulegol* dan *cis-linalilosida* (Jamal, dkk., 2000).

2.1.3 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom, molekul atau senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan, radikal sangat reaktif dan tidak stabil, sebagai usaha untuk mencapai kestabilannya radikal bebas akan bereaksi dengan atom atau molekul disekitar untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini berlangsung terus-menerus dalam tubuh dan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini serta penyakit degeneratif lainnya (Winarti, 2010).

Radikal bebas dalam jumlah normal bermanfaat bagi kesehatan misalnya, memerangi pera dangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam. Dalam jumlah berlebih mengakibatkan stress oksidatif. Keadaan ini dapat menyebabkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan, hingga organ tubuh. Oksigen reaktif dapat merugikan molekul dalam sel. Sehingga dapat menghancurkan membran sel. Asam nukleat dan protein. Peristiwa ini dapat mempercepat terjadinya proses penuaan dan munculnya penyakit lain seperti penyakit jantung dan kanker (Jacino et al., 2011).

Reaktivitas radikalbebas dapat dihambat melalui 3 cara berikut, yaitu :

1. Mencegah dan menghambat pembentukan radikal bebas baru.

2. Menginaktivasi atau menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusanrantai)
3. Memperbaiki kerusakan oleh radikal.

Radikal dapat terbentuk secara endogen dan eksogen. Radikal endogen terbentuk dalam tubuh melalui proses metabolisme normal didalam tubuh, sedangkan radikal eksogen berasal dari bahan pencemar yang masuk ke dalam tubuh melalui pernafasan, pencernaan, dan penyerapan kulit (Alfira, 2014).

Radikal bebas berasal dari 2 sumber yaitu:

1. Secara endogen

Radikal endogen terbentuk sebagai sisa proses metabolisme (proses pembakaran) protein, karbohidrat, dan lemak pada mitokondria, proses inflamasi atau peradangan, reaksi antara besi logam transisi dalam tubuh, fagosit, xantinoksidase, peroksisom, maupun pada kondisiiskemia.

2. Secara eksogen

Radikal bebas yang berasal dari bermacam-macam sumber diantaranya adalah polutan, berbagai macam makanan dan minuman, radiasi, ozon dan pestisida.

2.1.4 Antioksidan

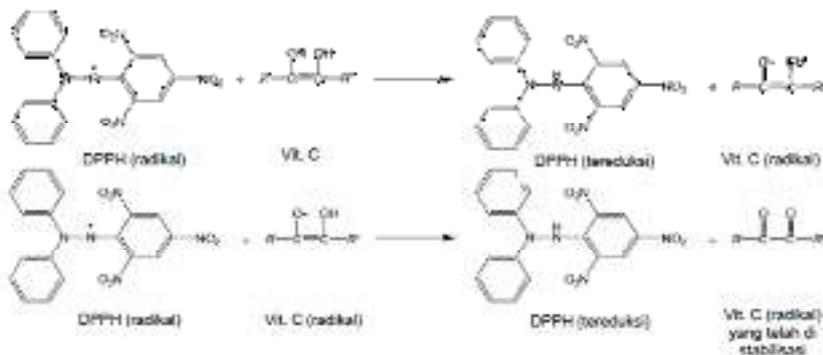
Secara kimia senyawa antioksidan adalah senyawa pemberielektron (elektron donor). Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut dapat di hambat. Antioksidan

dibutuhkan tubuh untuk melindungi tubuh dari serangan radikal bebas, pada individu yang hidup dengan stres tinggi, pekerjaan yang melelahkan, bekerja di bawah paparan sinar matahari makanan yang mengandung vitamin C, vitamin E, dan betacaroten, serta senyawa flavonoid akan sangat membantu proses peremajaan dan memperlambat proses penuaan (Sayuti *et al.*, 2015).

Antioksidan dapat menghentikan proses perusakan sel dengan cara memberikan elektron kepada radikal bebas.

Antioksidan akan menetralkan radikal bebas sehingga tidak mempunyaik kemampuan lagi mencuri elektron dari sel dan DNA (Nishizawa *et al.*, 2005)

Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu bahan yang mengandung antioksidan untuk bisa meredam senyawa radikal bebas yang ada disekitarnya. Aktivitas antioksidan diukur dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-pycrilhydrazil*). DPPH adalah senyawa radikal bebas yang stabil (Nishizawa *et al.* 2005). Bahwa DPPH telah diketahui manfaatnya sebagai penentuan aktivitas antioksidan untuk menguji aktivitas antioksidan radikal dari vitamin yang bersifat antioksidatif dan komponen enaromatik *polyhydroxy*. Gambar disajikan reaksi yang terjadi antara DPPH terhadap antioksidan vitamin C.



Gambar 4. Reaksi DPPH dan Asam Askorbat yang terkonjugasi (Nishizawa, et al, 2005)

A. Manfaat Antioksidan

Antioksidan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan serta kesehatan dan kecantikan. Pada bidang kesehatan dan kecantikan, antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker dan tumor, penyempitan pembuluh darah, penuaan dini, dan lain-lain (Tamat *et al.* 2007).

Antioksidan juga mampu menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga kerusakan sel dapat dicegah. Reaksi oksidasidengan radikal bebas sering terjadi pada molekul protein, asam nukleat, lipid dan polisakarida (Winarsi, 2007).

B. Mekanisme Antioksidan

Dalam melawan bahaya radikal bebas baik radikal bebas eksogen maupun endogen, tubuh manusia telah mempersiapkan penangkal berupa sistem antioksidan yang terdiridari 3 golongan yaitu : (Anonim, 2012)

1. Antioksidan Primer yaitu antioksidan yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi), antioksidan tersebut adalah transferin, feritin, albumin.
2. Antioksidan Sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Superoxide *Dismutase* (SOD), *Glutathion Peroxidase* (GPx) dan *katalase*.
3. Antioksidan Tersier atau repair enzyme yaitu antioksidan yang berfungsi Memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Metioninsulfosidareduktase, Metioninsulfosidareduktase, *DNA repair enzymes*, *protease*, *transferase* dan *lipase*.

Berdasarkan sumber antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia di kelompokkan menjadi tiga yaitu :

1. Antioksidan yang sudah diproduksi di dalam tubuh manusia yang dikenal dengan antioksidan endogen atau enzim antioksidan (enzim Superoxida *Dismutase* (SOD), *Glutation Peroksidase* (GPx), dan *Katalase* (CAT)).
2. Antioksidansintetis yang banyak digunakan pada produk pangan seperti *Butil Hidroksi Anisol* (BHA), *Butil Hidroksi Toluen* (BHT), *propilgalat* dan *Tert-Butil Hidroksi Quinon* (TBHQ).

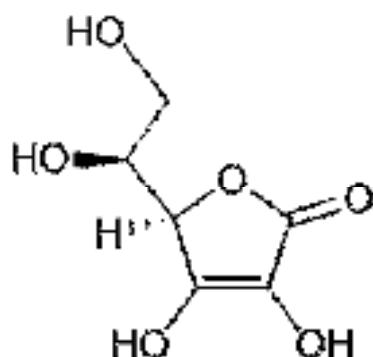
Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksida atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi, dapat disebabkan oleh 4 macam mekanisme reaksi yaitu :

- a) Pelepasan hidrogen dari antioksidan.
- b) Pelepasan elektron dari antioksidan.
- c) Addisi asam lemak kecincin aromatik pada antioksidan.
- d) Pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan.

2.1.5 Vitamin C

Vitamin C (asama skorbat) merupakan antioksidan alami yang mudah dan murah bila dikonsumsi dari alam. Vitamin C sebagai antioksidan berfungsi untuk mengikat O sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi (oxygen scavanger) (Kumalaningsih, dkk, 2006).

Vitamin C mempunyai berat molekul 178 dengan rumus molekul $C_2H_8O_6$, dalam bentuk kristal tidak berwarna, memiliki titik cair 190-192°C, bersifat larut dalam air, sedikit larut dalam aseton/alkohol yang mempunyai berat molekul rendah. Vitamin C sukar larut dalam kloroform, eter dan benzen (Sayuti, 2015). Vitamin C merupakan senyawa yang mudah larut dalam air, sangat sensitif terhadap kerusakan yang datang dari luar, seperti suhu, gula, garam, pH, oksigen dan kalisator logam (Rohanah, 2002).



Gambar 5. Struktur vitamin C (Sayuti, 2015)

Manfaat vitamin C dapat berfungsi mengatur tingkat kolesterol, pemicu imunitas.Serta berperan dalam penyembuhan luka, memelihara kesehatan kulit dan sebagai menangkal radikal bebas yang menimbulkan masalah kesehatan seperti tingginya kolesterol, sakit jantung, radang sendi, sariawan dan pilek (Sayuti, 2015).

Vitamin C adalah salah satu antioksidan sekunder yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Berbagai penelitian yang dilakukan vitamin C digunakan dalam beberapa tingkat konsentrasi untuk dapat mengetahui aktivitas antioksidan, yaitu kemampuan untuk dapat meredam radikal bebas dengan menggunakan metode DPPH (Sayuti, 2015).

2.1.6 DPPH

Metode DPPH (*1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl*) merupakan salah satu uji untuk menentukan aktivitas antioksidan penangkap radikal. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil.DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap.Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunardi, 2007).

Metode uji aktivitas antioksidan dengan DPPH (*1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl*) dipilih karena metode ini adalah metode sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk

menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor electron (Molyneux, P. 2004).

Tinggi rendahnya aktivitas antioksidan pada sampel dilihat dari nilai *efficient concentration* (EC_{50}) atau *Inhibition Concentration* (IC_{50}) yaitu nilai dimana 50% DPPH kehilangan sifat radikal bebasnya. Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan pada sampel.

2.1.7 Spektrofotometer UV-vis

Spektrofotometer adalah alat yang digunakan sebagai pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil (Gandjar, 2007).

Spektrofotometri ini hanya terjadi bila terjadi perpindahan elektron dari tingkat energi yang rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi. Perpindahan elektron tidak diikutin oleh perubahan arah spin, hal ini dikenal dengan sebutan eksitasi singlet (Khopar, 2003)

Syarat senyawa yang dapat diukur oleh spektrofotometri:

- a. Harus berbentuk larutan
- b. Senyawa harus memiliki gugus kromofon, gugus pembawa warna
- c. Memiliki ikatan rangkap terkonjugasi.

Keuntungan dari spektrofotometri untuk keperluan analisis kuantitatif adalah:

- a. Dapat digunakan secara luas
- b. Memiliki kepekaan yang tinggi
- c. Keseletifannya cukup baik

d. Tingkat ketelitian tinggi

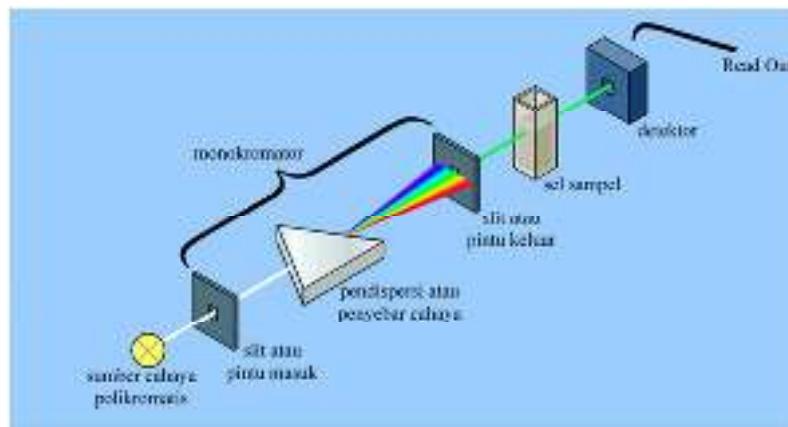
Pelarut sebagai pelarut untuk penetapan spektrofotometri pada daerah ultraviolet dapat digunakan air, etanol, kloroform, eter, amonia encer, larutan natrium hidroksida, asam sulfat, asam klorida (Anonim, 1979).

a. Prinsip Kerja Spektrofotometri

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorbsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorbsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Marzuki, 2012) .

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya, 2013).

Secara sederhana instrument spektrofotometer yang disebut spektrofotometer terdiri dari :Sumber cahaya – monokromatis – selsampel – detector- read out.



Gambar 6.Cara kerja Spektrofotometer (Yahya,2013)

Berikut ini adalah uraian bagian-bagian spektrofotometri :

1. Sumber-sumber lampu :lampu deterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsen digunakan untuk daerah visibel (pada panjang gelombang antara 350-900 nm)
2. Monokromotor :digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis, alatnya dapat beru paprisma ataupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang digunakan dari hasil penguraian. Fungsi :sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi monokromatis.
3. Kuvet : pada pengukuran di daerah tampak, kuvet kaca atau kuvet kaca corex dapat digunakan tetapi untuk pengukuran pada daerah UV kita harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Umumnya tebal kuvet 10 mm, tetapi lebih kecil ataupun lebih besar dapat digunakan. Sel yang biasa digunakan berbentuk persegi, tetapi bentuk

pelarut organik. Sel yang baik adalah kuarsa atau gelas hasil leburan yang homogen.

4. Detector :peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.

Fungsi :menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik (Khopar, 1990).

Adapun hal-hal yang harus diperhatikan dalam spektrofotometri adalah :

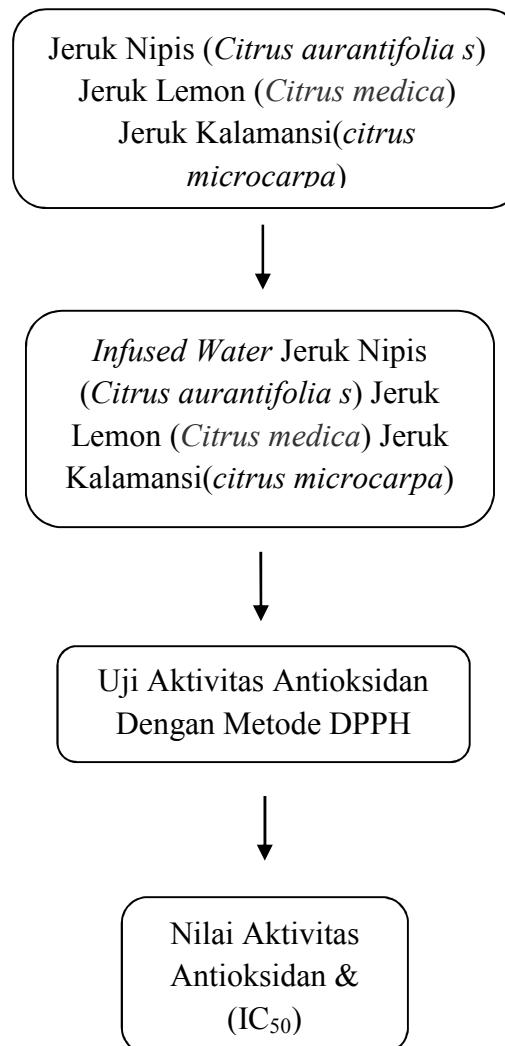
- a. Pada saat pengenceran alat-alat pengenceran harus betul-betul bersih tanpa adanya zat pengotor
- b. Dalam penggunaan alat-alat harus betul-betul steril
- c. Jumlah zat yang dipakai harus sesuai dengan yang telah ditentukan
- d. Dalam penggunaan spektrofotometriuv, sampel harus jernih dan tidak keruh
- e. Dalam penggunaan spektrofotometriuv-vis, sampel harus berwarna.

Tabel I. Struktur vitamin C (Sayuti, 2015)

Panjang gelombang	Warna yang diserap	Warna yang diamati/warnakomplementer
400-435 nm	Violet	Kuning – hijau
450-480 nm	Biru	Kuning
480-490 nm	Hijau - Biru	Oranye
490-500 nm	Biru - Hijau	Merah
500-560 nm	Hijau	Ungu
560-580 nm	Kuning - hijau	Violet
580-595 nm	Kuning	Biru
595-610 nm	Oranye	Hijau - Biru
610-750 nm	Merah	Biru – Hijau

(Day dan AL. Underwood,2002)

2.2 Kerangka Konsep



Gambar 7. Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu yakni mulai bulan Februari sampai bulan Mei 2020

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini yaitu: Aluminium foil, Batang pengaduk, Beker glass, Corong, Gelas ukur, Labu ukur, Pipet tetes, Pipet volume, spatel, Spektrofotometer UV-Vis, Stop watch, Tabung reaksi dan rak tabung reaksi, Timbang analitik, tisu, botolminum, dan APD (handscoon, masker, jas laboratorium)

3.2.2 Bahan

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

3.3 Prosedur Kerja Penelitian

3.3.1 Penbuatan Minuman Infused Water

Pembuatan *infused water* dilakukan dengan mencuci bahan seperti jeruk nipis, jeruk lemon, jeruk kalamansi. Kemudian buah di potong dan di timbang

jenis jeruk sebesar 100 gram. Masukkan potongan jenis jeruk sesuai perlakuan (jeruk nipis, jeruk lemon, dan jeruk kalamansi) ke dalam botol air putih dingin 350 cc kemudian tutup botol. Masukkan lemari pendingin dan diamkan selama 12 jam (semalam), setelah itu disaring dan siap dianalisis.

3.3.2 Uji Aktivitas Antioksidan Dalam Minuman *Infused Water*

A. Pembuatan Blanko DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 3,9 mg dan dilarutkan kedalam etanol p.a sampai tepat 100mL (0,1 mM) (Nungraheni,2007).

B. Pembuatan kadar sampel dan pembanding vitamin C

Infused water jeruk nipisn, lemon, kalamansi dipipet sebanyak 50 μ L, kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai 50 ml, sehingga diperoleh kadar 1000ppm. Dari kadar 1000ppm dibuat seri konsentrasi sebesar 10, 20, 40 dan 80ppm.

Vitamin C sebanyak 25 mg di tambahkan aquadest sampai 25 ml sehingga diperoleh kadar 1000ppm. Dari kadar 1000ppm dibuat seri konstrasi sebesar 2, 4, 6, 8ppm.

C. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Sebanyak 4 mL DPPH 0,1 mM dimasukan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 50 μ L *infused water* jeruk nipis, lemon, kalamansi dengan berbagai konsentrasi, kemudian aduk 1 menit sampai homogen dan diamkan selama 30 menit di tempat gelap, absorbansi di ukur pada gelombang 517 nm menggunakan *Spektrofotometri UV-Vis*. Untuk uji aktivitas baku pembanding vitamin C perlakuan yang sama.

3.4 Analisis Data

Dari hasil penelitian uji daya *infused water* jeruk nipis, lemon, kalamansi serta baku pembanding dapat dihitung dengan rumus :

% AktivitasAntioksidan

$$= \left(\frac{\text{Absorbansiblanko} - \text{Absorbansisampel}}{\text{Absorbansiblanko}} \right) \times 100 \%$$

Keterangan :

- a. Absorbansiblanko = (Absorbansi DPPH)
- b. Absorbansisampel = (Absorbansi *infused water* jeruk nipis, lemon, kalamansi dan vitamin C)

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

Rumus regresi linier : $y = bx + a$

Keterangan :

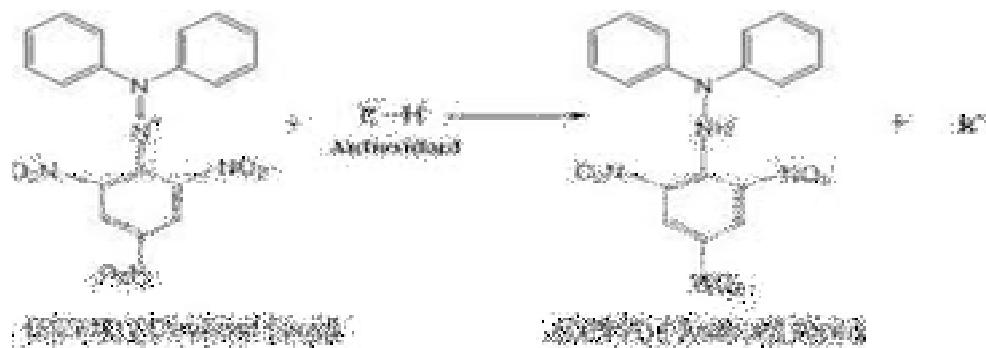
- y = Absorbansi sampel
- x = % Aktivitas antioksidan
- a = Intersep (konstante)
- b = Slope (kemiringan)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian tentang “Uji Aktivitas Antioksidan Minuman *Infused Water* Dari Berbagai Jenis Jeruk Dengan Metode DPPH” telah dilaksanakan pada bulan Mei 2020 di Laboratorium Kimia Farmasi Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu. Dengan sampel jeruk lemon, jeruk nipis, jeruk kalamansi dan vitamin C.

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui kandungan antioksidan didalam *infused water* Jeruk Lemon, Jeruk Nipis, Jeruk Kalamansi serta nilai aktivitas antioksidan yang terkandung didalamnya, dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Proses ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan (Nishizawa *et al*, 2005).



Gambar 8. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan(Molyneux, 2004).

Aktivitas antioksidan pada *infused water* jeruk lemon, jeruk nipis dan jeruk kalamansi ditentukan dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), yaitu berdasarkan kemampuan minuman *infused water* jeruk lemon, jeruk nipis dan jeruk kalamansi dalam mereduksi atau menangkap radikal DPPH.DPPH

merupakan radikal radikal bebas sintetik berwarna ungu yang banyak digunakan dalam uji aktivitas antioksidan.

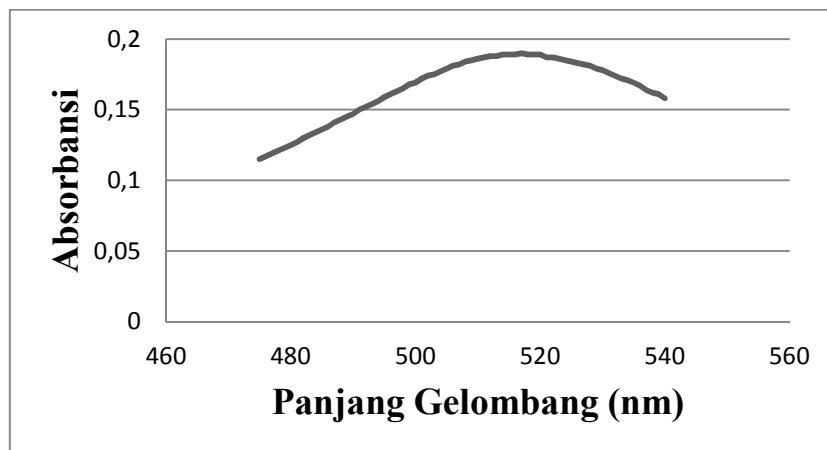
Prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi. Prinsip kerja dari pengukuran ini adalah adanya radikal bebas stabil yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan mendonorkan hidrogen, radikal bebas dapat diredam.

Metode uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu metode DPPH. Metode uji antioksidan menggunakan DPPH adalah salah satu metode uji kuantitatif untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan *infused water* jeruk lemon, jeruk nipis dan jeruk kalamansi sebagai antioksidan. Metode pengujian menggunakan DPPH merupakan metode yang konvensional dan telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas senyawa antioksidan (Utomo, dkk, 2008). Selain itu, pengembangannya juga mudah, cepat dan sensitif untuk menguji aktivitas antioksidan dari sampel tanaman menggunakan DPPH. Secara Spektrofotometeri Vis (Pourmorad,*et.al*, 2006).

4.1 Pengukuran Panjang Gelombang

Tujuan dari penentuan panjang gelombang maksimum adalah untuk mengetahui pada panjang gelombang berapa menghasilkan nilai serapan paling maksimum pada DPPH. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517nm dengan warna violet gelap. Penangkap rasikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Sunarni, dkk., 2007).

Untuk menentukan nilai panjang gelombang maksimum pada penelitian ini pengukuran panjang gelombang dari 470 nm sampai 550 nm dengan interval 1 nm. Dari data terlihat bahwa panjang gelombang maksimum terletak pada panjang gelombang 517 nm dengan nilai absorbansi yang dapat 0,190. Adapun dengan gambar sebagai berikut.

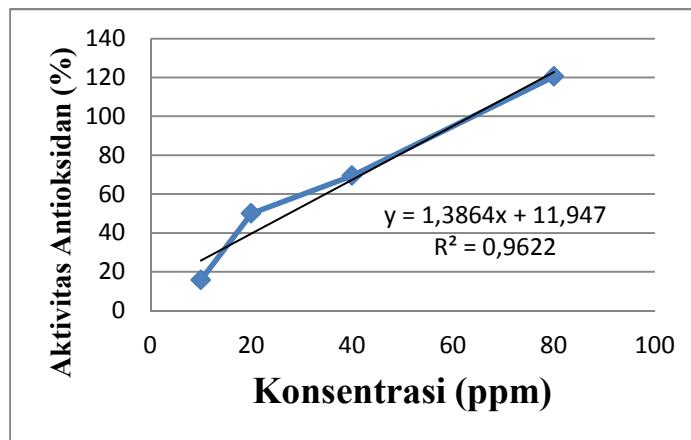


Gambar 9. Kurva Hubungan Panjang Gelombang Terhadap Absorbansi Larutan DPPH 0,1 nM

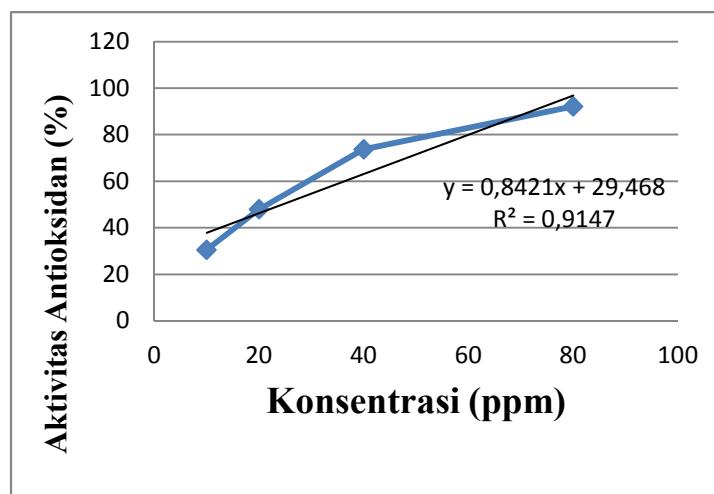
4.2 Hasil Penentuan Aktivitas Antioksidan

Untuk menentukan hasil penentuan aktivitas antioksidan pertama dibuat kurva kaliberasi dengan deret kondensasi larutan sampel *infused water* 10, 20, 40 dan 80ppm sedangkan sampel vitamin C 2, 4, 6 dan 8ppm kemudian di reaksikan

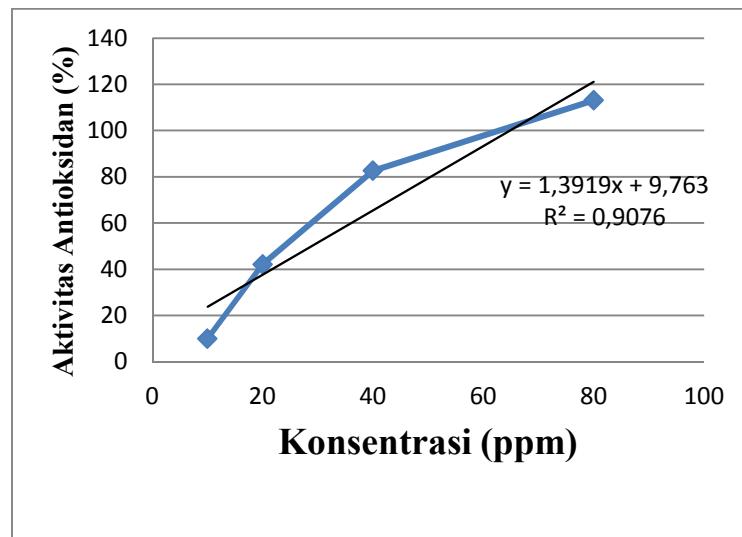
dengan DPPH dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan Spekrofotometer UV-Vis diperoleh nilai absorbansi sampel, dari nilai absorbansi tersebut dibuat kurva regresi linier dan dilihat persamaan regresi linier dengan gambar sebagai berikut:



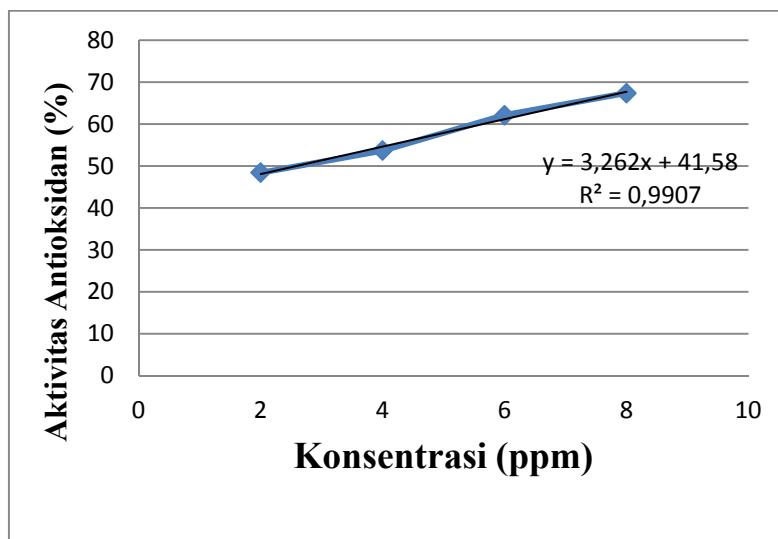
Gambar 10. Kurva Hubungan Aktivitas Antioksidan Dengan Konsentrasi Infused WaterJeruk Lemon



Gambar 11. Kurva Hubungan Aktivitas Antioksidan Dengan Konsentrasi Infused WaterJeruk Nipis



Gambar 12. Kurva Hubungan Aktivitas Antioksidan Dengan Konsentrasi Infused WaterJeruk Kalamansi



Gambar 13. Grafik Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Dari semua gambar terlihat semakin besar konsentrasi larutan maka nilai aktivitas antioksidannya semakin tinggi, dari data didapat nilai $R=0,962$ untuk *infused water* jeruklemon, nilai $R=0,914$ untuk *infused water* jeruk nipis, nilai $R=0,907$ untuk *infused water* jeruk kalamansi dan nilai $R=0,990$ untuk vitamin C.

Tabel II. Aktivitas Antioksidan Jeruk Lemon, Jeruk Nipis, Jeruk Kalamansi dan Vitamin C Dengan Metode DPPH

Sampel	Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi	Aktivitas Antioksidan (%)	Persamaan Regresi
Blanko	-	0,19	-	-
Jeruk Lemon	10	0,189	0,50%	$y = 1,532x + 2,657$ $R^2 = 0,913$
	20	0,095	50%	
	40	0,058	69,47%	
	80	-0,039	120,50%	
Jeruk Nipis	10	0,132	30,52%	$y = 0,842x + 29,46$ $R^2 = 0,914$
	20	0,099	47,89%	
	40	0,05	73,68%	
	80	0,015	92,10%	
Jeruk Kalamansi	10	0,171	10%	$y = 1,391x + 9,763$ $R^2 = 0,907$
	20	0,11	42,10%	
	40	0,033	82,63%	
	80	-0,025	113,10%	
Vitamin C	2	0,098	48,42%	$y = 3,262x - 41,58$ $R^2 = 0,990$
	4	0,088	53,68%	
	6	0,072	62,10%	
	8	0,062	67,36%	

Absorbansi blanko DPPH Sampel = 0,190

Dari semua data yang didapat menunjukkan linieritas karena semua nilai R yang mendekati 1 dan dapat digunakan untuk penentuan IC₅₀.

4.3 Penentuan IC₅₀

Nilai IC₅₀ adalah konsentrasi senyawa yang dapat menurunkan 50% intensitas serapan (Mulja dkk, 1995). Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah harga konsentrasi efisien atau *Efficient concentration* (EC₅₀) atau *Inhibition Concentration* (IC₅₀) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan % penghambatan 50%. Zat yang

mempunyai aktivitas antioksidan tinggi, akan mempunyai harga EC50 atau IC50 yang rendah (Brandet *all*, 1995).

Tabel III. Sifat Antioksidan berdasarkan nilai IC50 (Sumber : molyneux, 2004)

Nilai IC ₅₀	Sifat Antiosidan
< 50 ppm	Sangat Kuat
50 ppm-100 ppm	Kuat
100 ppm-150 ppm	Sedang
150 ppm-200 ppm	Lemah

Semakin kecil nilai dari IC₅₀ berarti semakin besar daya aktivitas antioksidannya. Menurut Molyneux (2004), bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bilai nilai IC₅₀ yang diperoleh berkisaran antara 50ppm, dimana sifat antioksidannya sangat kuat dan berpotensi sebagai antioksidan. Dari hasil penelitian didapatlah nilai IC₅₀ pada vitamin C yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat kemudian diikuti dengan *infused water* jeruk lemon, *infused water* jeruk nipis dan *infused water* jeruk kalamansi.

Tabel IV. Nilai IC50 Jeruk Lemon, Jeruk Nipis, Jeruk Kalamansi dan Vitamin C

Sampel Dan Baku Pembanding	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Vitamin C	2,581ppm
Jeruk Lemon	27,46ppm
Jeruk Nipis	24,39ppm
Jeruk Kalamansi	28,92ppm

Berdasarkan Nilai IC₅₀ yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan bahwa pada sampel *infused water* jeruk lemon didapat nilai IC₅₀ sebesar 27,46ppm, sedangkan pada sampel *infused water* jeruk nipis diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 24,39ppm, pada sampel *infused water* jeruk kalamansi diperoleh nilai IC₅₀ sebesar

28,92ppm, sedangkan pada vitamin C diperoleh nilai IC₅₀ yang sangat kuat yaitu sebesar 2,581ppm.

Pada semua sampel penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa pada sampel jeruk lemon, jeruk nipis, jeruk kalamansi dan vitamin C masuk kedalam range IC₅₀ yang sangat kuat yaitu dengan nilai IC₅₀< 50ppm.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *infused water* jeruk lemon, jeruk nipis dan jeruk kalamansi dengan pengujian menggunakan metode DPPH, yaitu:

1. Terdapat kandungan antioksidan pada *infused water* jeruk lemon, jeruk nipis dan jeruk kalamansi.
2. Nilai aktivitas antioksidan dari yang terbesar hingga yang terkecil dilihat dari IC_{50} pada sampel vitamin C dan *infused water*. Dengan hasil pada vitamin C sebesar 2,581ppm, pada *infused water* jeruk nipis sebesar 24,39ppm, pada *infused water* jeruk kalamansi sebesar 28,92ppm dan yang terakhir pada *infused water* jeruk lemon sebesar 30,90ppm

5.2 Saran

5.2.1 Bagi Akademik

Karya Tulis Ilmiah (KTI) ini dapat dijadikan dokumentasi tertulis dan diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai masukan yang membangun bagi perkembangan akademik dan menjadi referensi untuk kelanjutan penelitian bagi mahasiswa/i selanjutnya.

5.2.2 Bagi Peneliti Lanjutan

Karya Tulis ilmiah (KTI) ini dapat dimanfaatkan dan dijadikan acuan referensi untuk penulis selanjutnya dan juga untuk menambah wawasan

pengetahuan tentang aktivitas antioksidan pada *infused water* jeruk lemon, jeruknipis dan jeruk kalamansi menggunakan metode DPPH agar dapat dijadikan sebagai informasi untuk penelitian ilmiah selanjutnya.

5.2.3 Bagi Masyarakat

Penulis menyarankan kepada pembaca dan masyarakat untuk bisa mengkonsumsi *infused water* jeruk lemon, jeruk nipis dan jeruk kalamansi sebagai sumber antioksidan yang tinggi. Pada bidang kesehatan dan kecantikan antioksidan berfungsi untuk mencegah penyakit kanker, tumor, penyempitan pembuluh darah dan penuaan dini.

DAFTAR PUSTAKA

- Aibinu I, Adenipekun T, Adelowotan T, Ogunsanya T, Odugbemi T. *Evaluation of the antimicrobial properties of different parts of Citrus aurantifolia (lime fruit) as used locally.* Afr. J. Trad. Complem. Alter. Med. 2007; 4(2): 185-195.21.Barbut.
- Anese M, Parpinel M. 1999. *Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables.* Trends Food Sci Technol 10:94–100
- Anonim, 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients, sixth edication,* 155,441, 596, 651,Pharmaceutical Press and American Pharmacist Associations, London and Washington Dc.
- Anonim, RI. 1997. *Farmakope Indonesia, Ed. III.* DepartemenKesehatanRepublik Indonesia. Jakarta.
- Anonima , 2012. “Identifikasi Senyawa Bahan Alam Serta Uji Antioksidan Ekstrak Lempuyang Gajah
- Abdullah, M.H.R.O., P.E. Ch'ng, dan N.A. Yunus. 2012. *Some Physical Properties of Musk Lime (Citrus microcarpa),World Academy o Science, Engineering and Technology International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering* Vol:6, No:12
- Alicce. 2010. Jeruk Nipis.. Jakarta. Kanisius.
- Alfira, A. 2014.Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Aktif Kulit Batang Sintok.*Skripsi.* Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Akhyar, 2010, Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Akar dan Buah Bakau (*Rhizophora stylosa Griff.*) terhadap *Vibrio harveyi*.*Skripsi.* Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.
- Brand W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.*LebensmittelWissenschaft und Technologie 28: 25-30.
- Casimiro, M.F., Gutierrez, M., Leano, D.R., Solidum,J.N. 2010. *Evaluation of the Hepatoprotective Activity of Citrus microcarpa Bunge (Family Rutaceae) Fruit Peel Against Acetaminophen-induced Liver Damage in Male BFAD-Sprague Dawley Rats.*International Jouranal of Chemical and Environmental Engineering1(2): 127-128.
- Chaturvedi dan Shrivastava R. 2016.*Basketful Benefit of Cirus limon.* International Research of Journal Pharmacy Vol. 7 No.6.p.8, Mei 2016.

- Citratingtyas, G. 2013. Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong [*Anredera cordifolia(ten.)steenii*]. Jurnal Ilmiah Farmasi.2(1).
- Day, R. A. and A. L. Underwood. (2002). *Analisis Kimia Kuantitatif*. Edisi Keenam. Jakarta. Penerbit Erlangga. Hal 394, 396-404.
- Gandjar, I. G. & Rohman, A., 2007, Kimia Farmasi Analisis, 323-346, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Ika, Harifa., Mustofa, A., Suhartati, N. Tahun 2015. Jurnal Teknologi Dan industri Pangan ICI
- Ismiyyatun dkk.(2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Dengan Metode DPPH. (*Citrus Reticulata*) Menggunakan Metode Dpph. Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang
- Jamal, Y., Praptiwi, dan Agusta, A. 2000. *Komponen Kimia dan Efek Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Buah dan Daun Jeruk Kasturi (Citrus microcarpa Bunge)*. Majalah Farmasi Indonesia 11(2): 77-85.
- Khopkar, S.M. 1990. Konsep Dasar Kimia Analitik. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Kristanto, F. 2013. Kekerasan Permukaan Enamel Gigi Manusia Setelah Kontak dengan Air Perasan *Citrus Limon*. (*Skripsi*). Universitas Airlangga, Surabaya
- Marzuki, Asnah. 2012. Kimia Analisis Farmasi. Makassar : Dua Satu Press.
- Molyneux, P. 2004. *The use of the stable free radikal diphenyl picrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity*. Journal Science of Technology 26(2):211-219.
- Mulja, M. dan Suharman, 1995, “*Analisis Instrumental*”, ed.1, Airlangga University Press, Surabaya.
- Nogatha, Y., S.Sakamoto., H.Shiratsuch., T.Ishii., M. Yano., H. Ohta. 2006. *Flavonoid Composition of Fruit Tissue of Citrus Spesies*, Biosc, Bioteclol, Biochem, 70 (1)
- Nugraheni, 2009, *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol dan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (Sinchus arvensis L)*, serta dengan Metode DPPH, sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Semarang.

- Nishizawa M, M Kohno, M Nishimura, A Kitagawa, Y Niwano. 2005. *Non-reductive Scavenging of 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) by Peroxyradical: A Useful Method for Quantitative Analysis of Peroxyradical*. *Chem Pharm Bull* 53(6) 714-716
- Pourmorad, F., Hosseiniemehr, S. J., & Shahabimajd, N. (2006). *Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected iranian medicinal plants*. *African journal of Biotechnology*, 5(11), 1142-1145.
- Rukmana, R. dan Yuniarisih, Y. 1996. *Kedelai: Budidaya dan Pasca Panen*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta
- Rukmana, R. 1996. Jeruk Nipis. Kanisius : Yogyakarta
- Razak, Abdul, dkk. 2013. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia s.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus Secara In Vitro*. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2013; 2(1)
- Sunarni, T., Pramono, S. & Asmah, R., 2007, Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.), *Majalah Farmasi Indonesia*, 18(3), 111 - 116.
- Sethpakdee. 1992. *Citrus aurantifolia (Christm.) Swingle*. dalam Verheij EWM, Coronel RE (Eds.). *Plant Resources of South-East Asia No.2. Edible Fruits and Nuts*. Prosea Foundation, Bogor, Indonesia. 126-128 pp.
- Sarwono, B. 2001. Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis. Agro Media Pustak, Jakarta.
- Sayuti K dan Rina Yeurina. 2015. *Antioksidan, Alami, dan Sintesis*. Andalas University Press. Padang.
- Tamat, S. R., T. Wikanta dan L. S. Maulina. 2007. *Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau Ulva reticulata Forsskal*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5 (1) : 31-36.
- Utomo, A. B., Suprijono, A., & Risdianto, A. (2008). Uji aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak sarang semut (*Myrmecodia pendans*) dan ekstrak teh hitam (*Camellia sinensis O.K.var.assamica (mast.)*) dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*).
- Winarsi, H, 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Winarti, Sri. 2010. Makanan Fungsional. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Yahya, dan sripatundita, 2013, *Spektrofotometer Uv-Vis*. Jakarta : Erlangga.

L

A

M

P

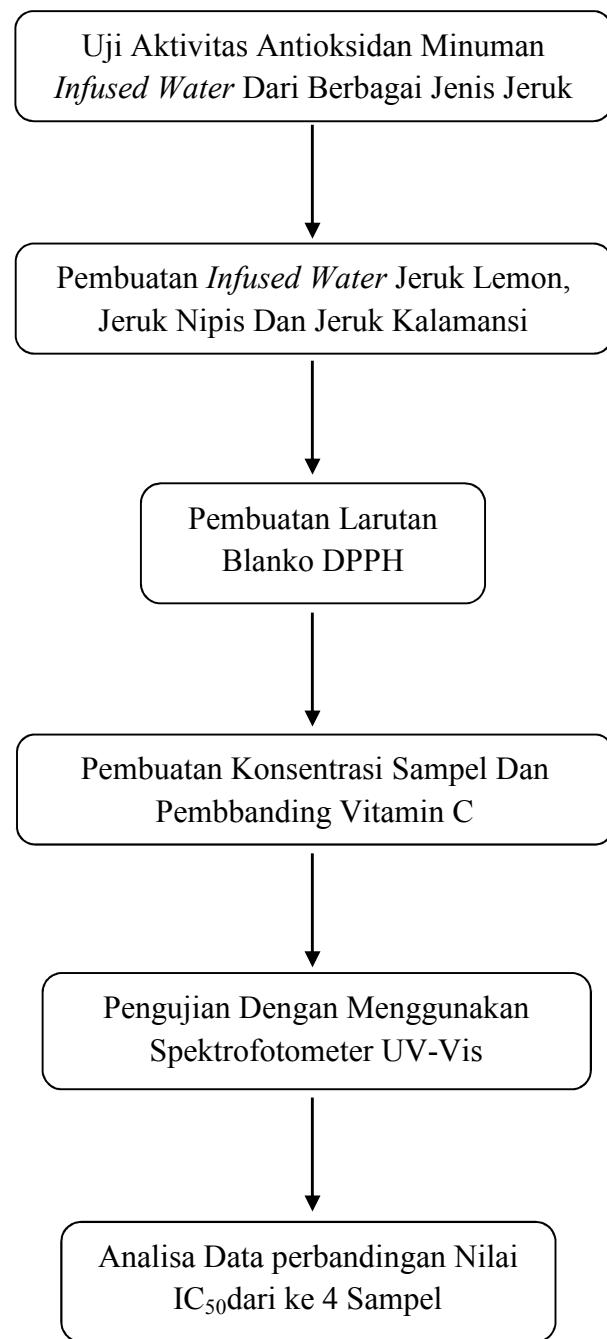
I

R

A

N

Lampiran 1. Skema Kerja



Gambar 8. Skema Kerja Penelitian

Lampiran 2. Gambar Alat Penelitian

					
Alumunium foil	Beaker glass	Batang pengaduk			
					
Corong	Gelas ukur	Spatel			
					
Spektrofotometer UV-Vis	Stop watch	Tabung reaksi			
					
Rak Tabung reaksi	Timbangan Analitik	Masker			
					
Tisue	Hanscoond	Botol minum			



Gambar 9. Alat-Alat Penelitian

Lampiran 3. Gambar Bahan Penelitian



Gambar 16. Bahan-Bahan Penelitian

Lampiran 4. Prosedur Pengerjaan

a. Pembuatan *Infused Water*

	Bahan dicuci dengan air bersih		Potong buah		Timbag buah menjadi 100 gram
	Masukkan potongan buah ke dalam botol yang telah di isi air dingin 350cc		Masukkan dan diamkan selama 12 jam		

b. pembuatan blanko DPPH

	Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 3,9mg		Dilarutkan kedalam etanol p.a ad 100ml kemudian Larutan DPPH dibungkus dengan aliuminium foil		Panjang gelombang larutan DPPH
---	--------------------------------------	---	---	---	--------------------------------

c. pembuatan pembanding vitamin C dan pembuatan kadar sampel

 <p>Vitamin C ditimbang sebanyak 25mg</p>	 <p>Dilarutkan dengan aquadest ad 25ml</p>	 <p>Diperoleh kadar 1000ppm. Kemudian dibuat seri konsentrasi 2,4,6,8ppm</p>
 <p>Dipipet sampel sebanyak $50\mu\text{L}$ dan dilarutkan dengan etanol p.a sampai 50ml</p>	 <p>Diperoleh kadar 1000ppm. Kemudian dibuat seri konsentrasi 10,20,40, 80ppm</p>	

d. uji aktivitas antioksidan

		
Dipipet DPPH 0,1mM sebanyak 4ml dimasukkan kedalam tabung reaksi tambahkan 50 μ L sampel	Aduk selama 1 menit kemudian diamkan 30 menit di tempat gelap	Di ukur absorbansinya pada gelombang 517nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis
		
Absorbansi sampel <i>infused water</i> jeruk kalamansi pada konsentrasi 10ppm dengan nilai A=0,171	Absorbansi sampel <i>infused water</i> jeruk lemon pada konsentrasi 40ppm dengan nilai A=0,058	

Gambar 17. Prosedur Kerja Penelitian

Lampiran 1. Perhitungan

A. Perhitungan Mencari Kadar 1000ppm Pada *Infused Water* dan Vitamin C

1. *Infused water*

$$1000 \text{ ppm} = \frac{x}{0,050 \text{ ml}}$$
$$x = 50 \text{ mg}$$

$$Bj = \frac{\text{gr}}{\text{ml}}$$

$$\text{ml} = \frac{\text{gr}}{\text{ml}} = \frac{0,050 \text{ gr}}{1 \text{ gr}/\text{ml}} = 0,050 \text{ ml} = 50 \mu\text{L}$$

Jadi untuk membuat membuat *infused water* dengan konsentrasi 1000ppm maka dipipet *infused water* sebanyak 50 μ L (0,050 ml) dalam labu ukur 50 ml ad etanol p.a sampai tanda batas

2. Vitamin C

$$1000 \text{ ppm} = \frac{x}{0,025 \text{ ml}} = 25 \text{ mg}$$

Jadi untuk membuat membuat larutan vitamin C dengan konsentrasi 1000ppm maka ditimbangsebanyak 25mg vitamin C kemudian dalam labu ukur 25 ml ad aquadest sampai tanda batas

B. Perhitungan Larutan Baku *Infused Water* dan Vitamin C

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

1. *Infused water*

- a. Seri konsentrasi 10ppm

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ ml}$$

- b. Seri konsentrasi 20ppm

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 20 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ ml}$$

- c. Seri konsentrasi 40ppm

$$V_1 \cdot 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \cdot 40 \text{ ppm}$$

$$V_1=0,4\text{ml}$$

- d. Seri konsentrasi 80ppm

$$V_1 \cdot 1000\text{ppm} = 10\text{ml} \cdot 80\text{ppm}$$

$$V_1 = 0,8\text{ml}$$

2. Vitamin C

- a. Seri konsentrasi 2ppm

$$V_1 \cdot 1000\text{ppm} = 25\text{ml} \cdot 2\text{ppm}$$

$$V_1 = 0,05\text{ml}$$

- b. Seri konsentrasi 4ppm

$$V_1 \cdot 1000\text{ppm} = 25\text{ml} \cdot 4\text{ppm}$$

$$V_1 = 0,1\text{ml}$$

- c. Seri konsentrasi 6ppm

$$V_1 \cdot 1000\text{ppm} = 25\text{ml} \cdot 6\text{ppm}$$

$$V_1 = 0,15\text{ml}$$

- d. Seri konsentrasi 8ppm

$$V_1 \cdot 1000\text{ppm} = 25\text{ml} \cdot 8\text{ppm}$$

$$V_1 = 0,2\text{ml}$$

C. Perhitungan % Aktivitas Antioksidan

$$\% \text{ Antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

1. Sampel *Infused Water* Jeruk Lemon

$$\text{a. } 10\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,160}{0,190} \times 100 \% = 15,78 \%$$

$$\text{b. } 20\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,095}{0,190} \times 100 \% = 50 \%$$

$$\text{c. } 40\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,058}{0,190} \times 100 \% = 69,47 \%$$

$$\text{d. } 80\text{ppm} = \frac{0,190 - (-0,039)}{0,190} \times 100 \% = 120,5 \%$$

2. Sampel *Infused Water* Jeruk Nipis

$$\text{a. } 10\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,132}{0,190} \times 100 \% = 30,25\%$$

$$\text{b. } 20\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,099}{0,190} \times 100 \% = 47,89 \%$$

$$\text{c. } 40\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,050}{0,190} \times 100 \% = 73,68 \%$$

$$\text{d. } 80\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,015}{0,190} \times 100 \% = 92,10 \%$$

3. Sampel *Infused Water* Jeruk Kalamansi

- a. $10\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,171}{0,190} \times 100 \% = 10\%$
- b. $20\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,110}{0,190} \times 100 \% = 42,10\%$
- c. $40\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,033}{0,190} \times 100 \% = 82,63\%$
- d. $80\text{ppm} = \frac{0,190 - (-0,025)}{0,190} \times 100 \% = 113,1\%$

4. Sampel Vitamin C

- a. $2\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,098}{0,190} \times 100 \% = 48,42\%$
- b. $4\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,088}{0,190} \times 100 \% = 53,68\%$
- c. $6\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,072}{0,190} \times 100 \% = 62,10\%$
- d. $8\text{ppm} = \frac{0,190 - 0,062}{0,190} \times 100 \% = 67,36\%$

D. Perhitungan Persamaan Regresi Linear dan Perhitungan IC₅₀

$$Y = bx + a$$

$$X = \frac{y-a}{b}$$

1. Sampel *Infused Water* Jeruk Lemon

$$y = 1,386x + 11,94$$

$$50 = 1,386x + 11,94$$

$$x = \frac{50 - 11,94}{1,386} = 27,46 \text{ ppm}$$

2. Sampel *Infused Water* Jeruk Nipis

$$y = 0,842x + 29,46$$

$$50 = 0,842x + 29,46$$

$$x = \frac{50 - 29,46}{0,842} = 24,39 \text{ ppm}$$

3. Sampel *Infused Water* Jeruk Kalamansi

$$y = 1,391x + 9,763$$

$$50 = 1,391x + 9,763$$

$$x = \frac{50 - 9,763}{1,391} = 28,92 \text{ ppm}$$

4. Sampel Vitamin C

$$y = 3,262x + 41,58$$

$$50 = 3,262x + 41,58$$

$$x = \frac{50 - 41,58}{3,262} = 2,581 \text{ ppm}$$