

KARAKTERISTIK KIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINUMAN INSTAN LEMON KALAMANSI (*Citrus microcarpa*) DENGAN PENAMBAHAN SARI DAUN CENGKEH (*Eugenia carryophyllus*) DAN DAGING PALA (*Myristica fragrans*)

[*Chemical Characteristics and Antioxidant Activity of Instant Drink Lemon Kalamansi (Citrus microcarpa) with Addition of Clove Leaf (Eugenia carryophyllus) and Nutmeg Meat (Myristica fragrans) Extracts*]

Mariati Edam¹⁾, Edi Suryanto¹⁾, Gregoria S. S. Djarkasi¹⁾

¹⁾Program Studi Ilmu Pangan, Pascasarjana, Universitas Sam Ratulangi, Manado

ABSTRAK

Lemon kalamansi, daun cengkeh dan daging pala memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan sehingga dapat digunakan sebagai bahan untuk pembuatan minuman instan. Penelitian ini bertujuan menganalisis karakteristik kimia serta aktivitas antioksidan minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan sari daun cengkeh dan daging pala. Metode yang digunakan yaitu penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sebanyak 3 level perlakuan dengan 3 kali ulangan yang disusun dalam bentuk formulasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minuman instan lemon kalamansi mengandung komponen antioksidan berupa senyawa fenolik yang berkisar 24,50-130,51 µg/mL (tertinggi terdapat pada formulasi B yaitu penambahan sari daun cengkeh 20%), kandungan vitamin C berkisar 278,70 - 390,55 mg/100 g bahan (tertinggi terdapat pada formulasi B), serta aktivitas antioksidan berupa penangkal radikal bebas yaitu berkisar 18,11-46,77% (formulasi B yaitu penambahan sari daun cengkeh 20%) menunjukkan aktivitas paling tinggi dalam menangkal radikal bebas). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan sari daun cengkeh dan daging pala mengandung senyawa antioksidan yang memiliki potensi sebagai minuman fungsional.

Kata kunci: antioksidan, cengkeh, kalamansi, minuman instan, pala

ABSTRACT

Lemon kalamansi, clove leaf and meat nutmeg have bioactive compounds that have potential as antioxidants so it can serve as raw material for made of instant drink. This study aims to analyze the chemical characteristics and antioxidant activity of instant drink lemon kalamansi with the addition of clove leaf and meat nutmeg extract. The research method is experimental research with a completely randomized design as many as three levels of treatment with three replications arranged in the form of formulations. The results showed that the instant drink lemon kalamansi characteristics containing antioxidant such as phenolic compounds which range from 24,50-130,51 µg/mL (highest in formulation B is the addition of clove leaf extract 20%), vitamin C ranged 278,70-390,55 mg/100 g bahan (highest in formulation B is 390,55 mg/100 g bahan), as well as the activity of antioxidant free-radical scavengers ranged 18,11-46,73% (formulation B, namely the addition 20% of clove leaf extract showed the highest activity in counteract free radicals). Based on the results of this study it can be concluded that the instant drink lemon kalamansi with the addition of meat nutmeg and clove leaf extract contains antioxidant compounds that have potential as functional drinks.

Keywords: antioxidant, clove leaf, instant drink, kalamansi, nutmeg meat

PENDAHULUAN

Kebutuhan dan tuntutan konsumen terhadap makanan dewasa ini telah berubah dimana konsumen tidak hanya mempertimbangkan segi gizi dan rasa namun cenderung mengiginkan makanan yang dapat memberi manfaat kesehatan. Saat ini semakin banyak beredar produk pangan yang kaya antioksidan yang beredar di pasaran dalam bentuk makanan dan minuman yang sebagian besar mengandung antioksidan sintetik. Kekhawatiran akan adanya kemungkinan efek samping dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi pengganti. Antioksidan alami perlu dikembangkan untuk memperoleh produk antioksidan yang lebih aman.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid dalam konsentrasi yang lebih rendah dari substrat yang dapat dioksidasi. Antioksidan bereaksi dengan radikal bebas sehingga mengurangi kapasitas radikal bebas untuk menimbulkan kerusakan (DeMan, 1997).

Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas dalam tubuh. Dengan mengkonsumsi makanan dan minuman yang banyak mengandung antioksidan dengan jumlah yang memadai maka dapat meningkatkan kekebalan tubuh sehingga dapat menurunkan angka pengidap penyakit degenerative serta menghambat timbulnya penyakit degenerative akibat penuaan sel. Bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami seperti rempah, buah dan sayuran. Bahan pangan yang berpotensi sebagai antioksidan antara lain lemon kalamansi, buah pala dan cengkeh.

Lemon kalamansi (*Citrus microcarpa*) memiliki nilai ekonomis yang penting karena bergizi tinggi terutama kandungan vitamin C yang dikenal sebagai antioksidan yang sangat kuat dan mineral-mineralnya sehingga digunakan sebagai bahan dalam pembuatan minuman. Vitamin C adalah zat pereduksi kuat yang dapat bertindak sebagai antioksidan, efektif dalam mengatasi radikal bebas yang dapat

merusak sel atau jaringan termasuk melindungi lensa dari kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh radiasi (Patimah, 2015). Pemanfaatan tanaman cengkeh sebagian besar hanya mencakup bagian bunganya saja sedangkan bagian daun hanya dianggap sebagai limbah, padahal di dalam daun cengkeh terkandung suatu komponen minyak atsiri dan komponen fenolik yang selama ini kurang dimanfaatkan secara maksimal. Komponen utama minyak daun cengkeh adalah eugenol sekitar 80-90% dan sisanya 10-20% kariofilin serta sekiterpena lain. Eugenol termasuk senyawa fenolik sederhana, yaitu mempunyai gugus fungsi hidroksi pada cincin aromatik sebagai antioksidan (Suryanto, 2012).

Bahan rempah lainnya yang mempunyai potensi sebagai antioksidan adalah buah pala. Pala dikenal sebagai tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomis dan multi guna karena setiap bagian tanaman dapat dimanfaatkan dalam berbagai industri. Komponen utama pala yaitu myristicin, elimicin, isoelemicin dalam aromaterapi. Myristicin digolongkan dalam flavonol dari senyawa flavonoid yang merupakan senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan (Indriaty dkk., 2012). Berdasarkan potensi yang dimiliki jeruk kalamansi, daging pala dan daun cengkeh maka dapat diolah menjadi minuman instan yang mengandung antioksidan. Penelitian ini bertujuan menganalisis karakteristik kimia dan uji aktivitas antioksidan pada produk minuman instan berbasis lemon kalamansi dengan penambahan sari daun cengkeh dan daging pala.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu lemon kalamansi (diperoleh di pasar tradisional Manado), daging pala (diperoleh dari Jailolo-Ternate), daun cengkeh (diperoleh dari Manado), sukrosa, natrium bikarbonat, asam sitrat, kain saring, kemasan botol plastik.

Alat-alat yang akan digunakan terdiri dari timbangan, oven, thermometer, blender, pengaduk, *hot plate*, panci *stainless steel* dan peralatan gelas (*Pyrex*) untuk analisa laboratorium.

Metode

Penelitian ini akan menggunakan metode ekperimental dengan rancangan percobaan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan jenis penambahan sari daun cengkeh dan daging pala dan sebagai antioksidan sebanyak 3 level perlakuan sebanyak 3 ulangan yang dibuat dalam formulasi sebagai berikut:

- A. Sari lemon kalamansi 30% : Air 20%
- B. Sari lemon kalamansi 30% : Sari daun cengkeh 20%.
- C. Sari lemon kalamansi 30% : Sari daging pala 20%

Pelaksanaan penelitian

Pembuatan sari daging pala dan daun cengkeh

Daging buah pala/daun cengkeh dicuci bersih, ditiriskan dan dipotong-potong kecil. Selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 55 °C selama 24 jam. Bahan yang sudah kering digiling menjadi tepung menggunakan blender, ayak tepung dengan ayakan ukuran 80 mesh. Kemudian dibuat sari daging pala dengan konsentrasi 10% dan sari daun cengkeh 20% dengan menambahkan air, dipanaskan pada suhu 40-45 °C selama 3 jam selanjutnya dilakukan penyaringan

sebanyak 2 kali menggunakan kain saring untuk memperoleh filtrat. Filtrat selanjutnya diendapkan \pm 60 menit. Sari daging pala/daun cengkeh dan endapan kemudian dipisahkan dan digunakan untuk pembuatan minuman instan.

Pembuatan sari lemon kalamansi

Lemon kalamansi dicuci bersih dan ditiriskan. Lemon kalamansi kemudian dibelah menjadi dua bagian dan diperas. Setelah didapatkan sari lemon kalamansi, disaring dengan kain saring sebanyak 2 kali dan diendapkan \pm 60 menit. Sari buah jernih dan endapan (serat dan padatan tidak larut dipisahkan) dan siap digunakan untuk pembuatan minuman instan.

Pembuatan minuman instan lemon kalamansi

Sari daun cengkeh dan daging pala ditambahkan pada sari lemon kalamansi yang telah disiapkan terlebih dahulu (sesuai formula). Selanjutnya dinetralkan dengan natrium bikarbonat sambil diaduk-aduk hingga pH netral (6,5-7). Setelah itu ditambahkan sukrosa dan diaduk. Kemudian dimasak dengan menggunakan suhu 75-80 °C selama \pm 60 menit dan pada saat pemasakan larutan tersebut diaduk-aduk terus sampai menjadi pekat kemudian diangkat. Sari buah pekat ini didinginkan sambil diaduk terus hingga terbentuk kristal-kristal sari buah. Kristal-kristal yang terbentuk dikeringkan lagi selama 3 jam pada suhu 50 °C kemudian diayak dengan menggunakan ayakan 60 mesh untuk memperoleh ukuran yang seragam. Jika ada serbuk minuman instan yang tidak lolos ayakan maka serbuk instan ini dihaluskan kemudian disaring lagi dengan menggunakan ayakan 60 mesh kemudian dikemas.

Variabel pengujian

Pengujian terhadap minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan sari daging pala dan daun cengkeh meliputi yaitu kandungan total fenolik (metode spektrofotometrik menurut Tarigan dkk. (2015) dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat/kg bahan), kadar vitamin C (metode titrasi menurut Sudarmadji dkk., 1984 dinyatakan dalam mg/100g bahan) dan uji penangkal radikal bebas (uji DPPH yaitu *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* menurut Mitayani, 2010).

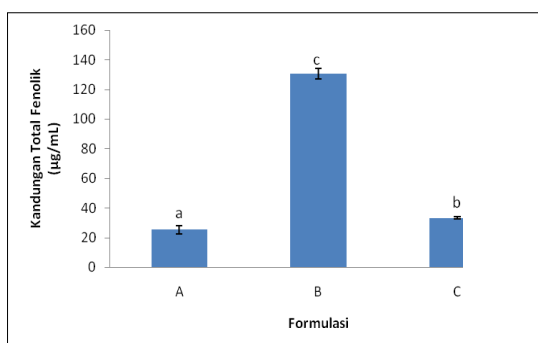
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan fitokimia antioksidan minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan sari daun cengkeh dan daging pala yang dianalisis yaitu total fenolik dan vitamin C sedangkan aktivitas antioksidan yang diukur yaitu aktivitas penangkal radikal bebas.

Total fenolik

Penentuan kandungan total fenolik dilakukan untuk mengetahui potensi penangkal radikal bebas pada minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan sari daging pala dan daun cengkeh. Kandungan fenolik dalam minuman instan ditentukan berdasarkan kemampuan senyawa fenolik dalam bahan bereaksi dengan asam *fosfomolibdat-fosfotungstat* dalam reagen *Folin-Ciocalteu*. Kandungan total fenolik dari minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan sari daging pala dan daun cengkeh menunjukkan bahwa kandungan total fenolik meningkat seiring penambahan sari daun cengkeh dan daging pala (Gambar 1). Terlihat bahwa kandungan total fenolik terendah dijumpai pada formula A yaitu 24,50 $\mu\text{g/mL}$ dan meningkat menjadi 33,23 $\mu\text{g/mL}$ (formula C) hingga mencapai nilai

tertinggi pada formula B yaitu yaitu 130.51 $\mu\text{g/mL}$.



Gambar 1. Histogram Pengaruh Penambahan Sari Daun Cengkeh dan Daging Pala Terhadap Kandungan Total Fenolik Minuman Instan Lemon Kalamansi.

Ket. (A) Sari lemon kalamansi 30% : Air 20%, (B) Sari lemon kalamansi 30% : Sari daun cengkeh 20%, (C) Sari lemon kalamansi 30% : Sari daging pala 20%. (a,b,c) notasi yang berbeda pada histogram menunjukkan perbedaan ($\alpha=0,01$)

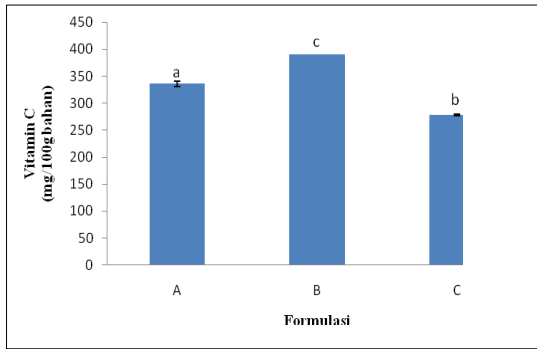
Berdasarkan analisis varians penambahan sari daun cengkeh dan daging pala memberi pengaruh yang sangat nyata terhadap total fenolik minuman instan lemon kalamansi ($p<0,01$).

Hal ini menunjukkan bahwa sari daun cengkeh dan daging pala mengandung senyawa fenolik. Menurut Rorong (2008), daun cengkeh mengandung saponin, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri. Selanjutnya dijelaskan bahwa dalam minyak daun cengkeh terdapat komponen fenolik seperti eugenol dan eugenol asetat. Selain itu terdapat juga karyofilin, dan seskiterpen. Rismunandar (1990), menyatakan bahwa minyak atsiri dalam daging buah pala mengandung komponen myristicin dan monoterpen yang merupakan senyawa fenolik. Hasil uji BNT ($\alpha=0,01$) pengaruh penambahan sari daun cengkeh dan daging pala memberi perbedaan yang nyata terhadap semua

formulasi minuman lemon kalamansi. Terlihat bahwa minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan sari daun cengkeh mengandung total senyawa fenolik tertinggi dibandingkan perlakuan penambahan sari daging pala maupun air. Hal ini dipengaruhi oleh tingginya senyawa fenolik yang terkandung pada sari daun cengkeh dibandingkan sari daging pala. Menurut Suryanto (2012) eugenol merupakan komponen utama daun cengkeh yang termasuk senyawa fenolik sederhana, yaitu mempunyai gugus fungsi hidroksi pada cincin aromatik sebagai antioksidan. Pada formula C total kandungan fenolik terlihat adanya peningkatan dibandingkan dengan formula A. Hal ini menandakan adanya senyawa fenolik dari sari daging pala yang ditambahkan. Menurut Rismunandar (1990), komponen myristicin dalam daging buah pala digolongkan dalam flavonol dari senyawa flavonoid yang merupakan senyawa fenolik. Minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan sari daun cengkeh dan daging pala mengandung senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan.

Vitamin C

Kandungan vitamin C minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan sari daun cengkeh dan daging pala menunjukkan bahwa kandungan vitamin C minuman instan lemon kalamansi berkisar 278,70-390,55 mg/100 g bahan (Gambar 2). Kandungan vitamin C tertinggi terdapat pada formula B (penambahan sari daun cengkeh 20%) dan terendah formula C (penambahan sari daging pala 20%).



Gambar 2. Histogram Pengaruh Penambahan Sari Daun Cengkeh dan Daging Pala Terhadap Kandungan Vitamin C Minuman Instan Lemon Kalamansi.

Ket. (A) Sari lemon kalamansi 30% : Air 20%, (B) Sari lemon kalamansi 30% : Sari daun cengkeh 20%, (C) Sari lemon kalamansi 30% : Sari daging pala 20% (a,b,c) notasi yang berbeda pada histogram menunjukkan perbedaan ($\alpha=0,01$)

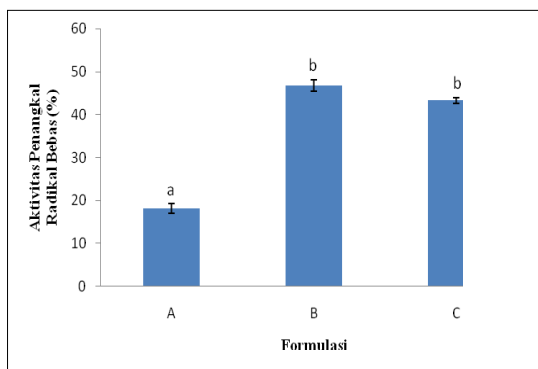
Hasil analisis varians, penambahan sari daun cengkeh dan daging pala memberi pengaruh yang sangat nyata terhadap kandungan vitamin C minuman instan lemon kalamansi ($p<0,01$). Hal ini berhubungan erat dengan derajat keasaman dan penggunaan natrium bikarbonat pada larutan minuman instan lemon kalamansi setelah penambahan sari daging pala dan daun cengkeh.

Menurunnya kandungan vitamin C diduga pada pembuatan minuman instan yaitu tahap penambahan sari daging pala 20% mengakibatkan pH larutan menjadi lebih rendah, sehingga memerlukan natrium bikarbonat yang bersifat alkali lebih banyak dibandingkan larutan dengan sari daun cengkeh 20%. Tujuan pemakaian natrium bikarbonat untuk menetralkan larutan dalam keadaan asam. Pemakaian natrium bikarbonat mempengaruhi kestabilan vitamin C sehingga kadar vitamin C menurun. Menurut Susanti dan Rukmi (2014), proses kerusakan vitamin C dapat dipercepat oleh panas, sinar, alkali,

enzim, dan oksidator. Selain itu kerusakan komponen dalam bahan pangan, diantaranya vitamin C dapat disebabkan oleh suhu tinggi. Hasil uji BNT ($\alpha=0,01$) pengaruh penambahan sari daun cengkeh dan daging pala memberi perbedaan yang nyata terhadap kandungan vitamin C dari setiap formula. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan natrium bikarbonat yang berbeda dari setiap formulasi berhubungan dengan derajat keasaman dari larutan minuman instan lemon kalamansi. Penggunaan natrium bikarbonat dapat mempengaruhi kestabilan vitamin C. Tingginya kandungan vitamin C pada formula B menandakan bahwa sari daun cengkeh dapat menaikkan derajat keasaman larutan sehingga penggunaan natrium bikarbonat lebih sedikit penggunaannya dibandingkan sari daging pala yang menurunkan derajat keasaman dari larutan minuman instan. Vitamin C pada minuman instan lemon kalamansi menandakan adanya kandungan antioksidan. Menurut Patimah (2015), vitamin C adalah zat pereduksi kuat yang dapat bertindak sebagai antioksidan, efektif dalam mengatasi radikal bebas yang dapat merusak sel atau jaringan termasuk melindungi lensa dari kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh radiasi. Selanjutnya ditegaskan oleh Arrigoni dan Tullio (2000) bahwa vitamin C dapat berfungsi meningkatkan kekebalan tubuh dan sebagai antioksidan alami yang baik untuk metabolisme tubuh.

Aktivitas penangkal radikal bebas

Aktivitas penangkal radikal bebas minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan sari daging pala dan daun cengkeh menunjukkan bahwa semua formula minuman instan lemon kalamansi memiliki kemampuan sebagai penangkal radikal (Gambar 3).



Gambar 3. Histogram Pengaruh Penambahan Sari Daun Cengkeh dan Daging Pala Terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Minuman Instan Lemon Kalamansi.

Ket. (A) Sari lemon kalamansi 30% : Air 20%, (B) Sari lemon kalamansi 30% : Sari daun cengkeh 20%, (C) Sari lemon kalamansi 30% : Sari daging pala 20% (a,b,c) notasi yang berbeda pada histogram menunjukkan perbedaan ($\alpha=0,01$)

Aktivitas penangkal radikal bebas pada minuman instan lemon kalamansi berkisar antara 18,11-46,73%. Minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan sari daun cengkeh (formula B) menunjukkan aktivitas paling tinggi (46,73%) dalam menangkal radikal bebas sedangkan minuman instan lemon kalamansi dengan penambahan air (formula A) menunjukkan aktivitas paling rendah (18,11%).

Hal ini menunjukkan bahwa penambahan sari daun cengkeh memiliki aktivitas lebih tinggi dalam menangkal radikal bebas dibanding sari daging pala. Aktivitas penangkal radikal bebas pada produk minuman instan berhubungan erat

dengan kandungan fitokimia antioksidan yaitu total fenolik. Lumingkewas dkk. (2014) melaporkan bahwa ekstrak daun cengkeh mempunyai kandungan fenolik seperti eugenol diikuti kaempferol, rutin, kuersetin dan asam galat. Asam galat dan derivatnya (tannin) dan beberapa flavonoid (kaempferol, kuersetin dan rutin) memiliki banyak gugus hidroksi terutama gugus orto dihidroksi (struktur katekol) dengan potensi aktivitas penangkalan radikal bebas. Selanjutnya dilaporkan bahwa ekstrak daun cengkeh memiliki kemampuan tinggi untuk melepaskan satu elektron atau atom hidrogen kepada radikal *difenilpikrilhidrazil* (violet) sehingga terbentuk senyawa non radikal *difenilpikrilhidrazin* yang berwarna kuning.

Berdasarkan analisis varians, penambahan sari daun cengkeh dan daging pala memberi pengaruh yang sangat nyata terhadap aktivitas penangkal radikal bebas serbuk minuman instan lemon kalamansi ($p<0,01$). Hasil uji BNT ($\alpha=0,01$) pengaruh penambahan sari daun cengkeh dan daging pala memberi perbedaan nyata bagi formula A dan perbedaan yang tidak nyata terhadap formula B dan C. Hal ini menunjukkan bahwa baik sari daun cengkeh maupun sari daging pala keduanya dapat meningkatkan aktivitas dalam menangkal radikal bebas.

KESIMPULAN

Kandungan antioksidan pada minuman instan lemon kalamansi yaitu total fenolik dan vitamin C serta aktivitas antioksidan paling tinggi dalam menangkal radikal bebas yaitu tertinggi terdapat formula B (penambahan sari daun cengkeh 20%).

DAFTAR PUSTAKA

- Arrigoni O, De Tullio. 2000. The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed function and unpredictable chemical reactions. *J of Plant Physiology* 157:48 - 488.
- De Man. 1997. Kimia Makanan. Edisi Kedua. Institut Teknologi Bandung.
- Indriaty F, Assah Y, Mamahani SN. 2015. Serbuk Minuman Berbasis Daging Buah Pala. Baristand. Manado.
- Lumingkewas M, Manarisi J., Indriaty F, Walangitan A, Mandei J, Suryanto E. 2014. Aktivitas antifotooksidan dan komposisi fenolik dari daun cengkeh (*Eugenia aromatic L.*). *J Chem. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Unsrat* (7):2.
- Mitayani. 2010. Uji aktivitas antioksidan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pala (*Myristica fragan Houtt*) DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Patimah. 2015. Aktivitas antioksidan Produk Serbuk Minuman Instan Rumput Gandum (*Triticumaestivum*) Sebagai Minuman Kesehatan. Skripsi. Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kesehatan. Universitas Hasanudin. Makassar.
- Rismunandar. 1990. Budidaya dan Tataniaga Pala. Jakarta.
- Rorong JA. 2008. Uji aktivitas antioksidan dari daun cengkeh (*Eugenia carryophyllus*) dengan metode DPPH. *J Chem. Vol 1 No 2. Nov 2008.*
- Sudarmadji S, Haryono B, Suharti. 1984. Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Edisi ketiga. Penerbit Liberty. Yogyakarta.
- Suryanto. 2012. Fitokimia Antioksidan. CV Putra Media Nusantara (PMN). Surabaya.
- Susanti Y, Rukmi. 2014. Pembuatan minuman serbuk markisa merah (kajian konsentrasi tween 80 dan suhu pengeringan). *J Pangan dan Agroindustri* 3:170 - 179
- Tarigan EP, Momuat L, Suryanto E. 2015. Karakterisasi dan aktivitas antioksidan tepung sagu baruk (*Arenga microcarpa*). *J MIPA Unsrat*:4 (2) 125 - 130.