

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit Buah Naga

Buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan tanaman yang berasal dari Meksiko, Amerika Tengah. Buah dari tanaman macam kaktus, memiliki akar berbentuk serabut yang berkembang didalam tanah, batang atas sebagai akar gantung dan berkembang di sepanjang batang bagian punggung sirip sudut batang pada bagian duri, serta bunga mirip bunga wijayakusuma. Buah naga berbentuk bulat, memiliki biji yang bewarna hitam dan memiliki daging buah yang umumnya warna putih dan merah (Yuhantaka, 2018). Gambar buah naga merah dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Buah Naga

Tanaman buah naga dalam sistematika (Taksonomi) tumbuhan di klasifikasikan sebagai berikut (Yuhantaka, 2018):

- Kingdom : *Plantae*
- Divisi : *Spermatophyta* (Tumbuhan berbiji)
- Subdivisi : *Angiospermae* (Berbiji tertutup)
- Kelas : *Dicotyldeonae* (Berkeping dua)
- Ordo : *Cactales*
- Family : *Cactaseae*
- Subfamily : *Hylocereanea*
- Genus : *Hylocereus*
- Spesies : *Hylocereus polyrhizus*

Kulit buah naga merupakan bagian yang melindungi buah daging buah naga agar tetap dalam kondisi yang baik. Kulit buah naga mempunyai ketebalan 2-3 cm dan permukaan kulit buah naga terdapat jumbai atau jambul berukuran 1-2 cm (Ekawati dkk., 2015). Gambar kulit buah naga dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Kulit Buah Naga

Berdasarkan data statistik Dinas Pertanian Kehutanan dan Perkebunan Kabupaten Banyuwangi tahun 2016 menyatakan produksi buah naga meningkat dari tahun 2013 sebesar 16,63 ton menjadi 28,82 ton pada tahun 2014 dengan presentasi buahnya 65-75% dan sisanya adalah kulit buah naga dari berat keseluruhan buah naga yaitu 30-35%. Kulit buah naga dengan berat keseluruhan tersebut dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami dalam berbagai bidang (Wahyuni dan Nurul, 2019). Pemanfaatan kulit buah naga didapatkan melalui proses ekstraksi dengan biaya yang lebih murah dan dapat mengurangi limbah yang jumlahnya semakin meningkat dikarenakan minat konsumsi masyarakat yang semakin bertambah (Santoso dan Kiki, 2017). Zat warna alami diperoleh bewarna merah terang, digunakan sebagai zat warna alami tanpa penambahan zat lain. Kulit buah naga mengandung antosianin yang berperan sebagai pewarna alami (Hidaya, 2017). Senyawa yang terdapat dalam ekstrak kulit buah naga merah yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan, yaitu betasianin, flavonoid, dan fenol (Saneto, 2012). Komposisi kulit buah naga merah dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Komposisi Kulit Buah Naga Merah/100g

Komposisi Kimia	Jumlah
Kelembaban	92,65%
Betasianin	150,46 mg
Antioksidan	10,2%
Fenol	19,8%
Flavonoid	9,00%
Kadar Air	4,90%
Protein	0,95%
Lemak	0,10%
Abu	0,10%
Karbohidrat	6,20%
Serat Larut	14,82%
Serat Tidak Larut	56,50%

(Saneto, 2012)

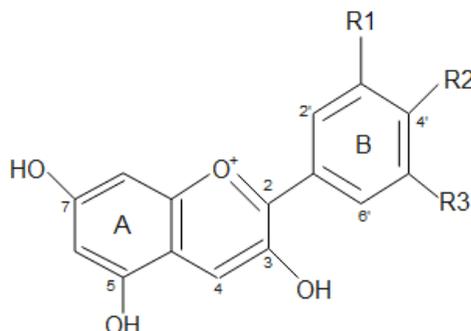
2.2 Antosianin

Antosianin merupakan pewarna yang paling penting dan paling tersebar luas dalam tumbuhan. Pigmen yang berwarna kuat dan larut dalam air ini adalah penyebab hampir semua warna yaitu merah jambu, merah marak, merah, merah senduduk, ungu, dan biru dalam daun, bunga, dan buah pada tingkat tinggi. Antosianin merupakan glikosida antosianidin, aglikon yang memiliki sifat dasar kerangka *2-phenylbenzopyrylium*, dikenal sebagai kation *flavylium*. Dari semua antosianin yang diisolasi di alam lebih dari 90% hanya didasarkan pada enam antosianidin berikut ini: *pelargonidin (plg)*, *cyanidin (cyd)*, *peonidin (pnd)*, *delphinidin (dpd)*, *petunidin (ptd)*, dan *malvidin (mvd)*, dimana dibedakan dengan pola substitusi pada cincin B. Antosianidin yang paling umum ialah sianidin yang berwarna merah lembayung. Pelargonidin yang berwarna jingga dimana gugus hidroksilnya kurang satu dibandingkan sianidin, sedangkan warna merah senduduk, lembayung dan biru umumnya disebabkan oleh delphinidin yang gugus hidroksilya lebih satu dibandingkan sianidin (Deska, 2019).

2.2.1 Sifat Fisika dan Kimia Antosianin

Sifat fisika dan kimia dari antosianin dilihat dari kelarutan antosianin larut dalam pelarut polar seperti methanol, aseton atau kloroform, terlebih sering dengan air dan diasamkan dengan asam klorida atau asam format (Deska, 2019). Antosianin merupakan turunan dari suatu struktur aromatik yaitu sianidin, namun

memiliki perbedaan pada ikatan antara gugus R3' dan R5', sementara itu R merupakan jenis glikon (gugus gula) (Melania dkk., 2018). Struktur dasar antosianin dapat dilihat pada Gambar 2.3 dan gugus substitusi dapat dilihat pada Tabel 2.2.



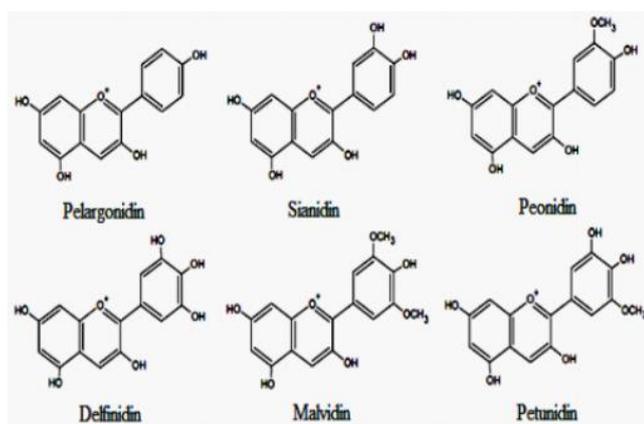
Gambar 2.3 Stuktur Dasar Antosianin (Melania dkk., 2018)

Tabel 2.2 Gugus Substitusi Antosianin

<i>Anthocyanidins</i>	Substitusi pattern		
	R1	R2	R3
<i>Pelargonidin (plg)</i>	H	OH	H
<i>Cyanidin (cyd)</i>	OH	OH	H
<i>Delphinidin (dpd)</i>	OH	OH	OH
<i>Peonidin (pnd)</i>	OCH ₃	OH	H
<i>Petunidin (ptd)</i>	OCH ₃	OH	OH
<i>Malvidin (mvd)</i>	OCH ₃	OH	OCH ₃

(Melania dkk., 2018)

Bentuk struktur antosianidin dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Bentuk Struktur Antosianidin (Melania dkk., 2018)

Ikatan rangkap pada gugus kromofor (gugus dengan senyawa radikal) pada struktur antosianin membuat antosianin dapat menyerap cahaya pada spektrum

cahaya sinar tampak, maka analisis pigmen antosianin memungkinkan menggunakan spektroskopi. Tingkat kepekatan warna pada tanaman berbanding lurus dengan banyak dan panjangnya susunan ikatan rangkap terkonjugasi pada suatu struktur kimia antosianin. Tingkat kepekatan warna juga berpengaruh pada penentuan panjang gelombang pada spektrofotometer UV-Vis, karena semakin pekat warna pada suatu tanaman maka penyerapan cahaya akan terjadi pada panjang gelombang yang lebih panjang. Penambahan asam lemah akan mempengaruhi warna antosianin, pada pH = 3 warna merah pada antosianin akan memudar, pada pH = 4 antosianin akan bewarna merah keunguan, pada pH = 5 sampai 6 antosianin akan bewarna ungu, dan pada pH = 7 akan bewarna ungu biru. Antosianin memiliki berat molekul 207,08 gram/mol. (Melania dkk., 2018).

2.2.2 Warna dan Stabilitas Antosianin

Warna dan stabilitas pigmen antosianin tergantung pada struktur molekul secara keseluruhan. Substitusi pada struktur antosianin A dan B akan berpengaruh pada warna antosianin. Banyaknya substitusi pada cincin B menentukan kondisi asam warna antosianin. Semakin banyak substitusi OH akan menyebabkan warna semakin biru, sedangkan metoksilasi menyebabkan warna semakin merah. Pergeseran ke arah warna biru (pelargonidin → sianidin → delphinidin) dihasilkan dari penambahan gugus hidroksil, sedangkan pergeseran ke arah warna merah (pelargonidin → pelargonidin-3-glukosida → sianidin → peonidin) dihasilkan dari pembentukan glikosida dan metilasi. Degradasi antosianin terjadi tidak hanya selama ekstraksi dari jaringan tumbuhan tetapi juga selama proses dan penyimpanan jaringan makanan (Nugraheni, 2014).

Kestabilan antosianin dipengaruhi oleh pH, suhu, sinar, dan oksigen, serta faktor lainnya seperti ion logam (Nugraheni, 2014).

a. Transformasi Struktur dan pH

Pada umumnya penambahan hidroksilasi menurunkan stabilitas dan penambahan metilasi meningkatkan stabilitas. Faktor pH tidak hanya mempengaruhi warna antosianin tetapi juga mempengaruhi stabilitasnya. Antosianin akan lebih stabil larutan asam jika dibandingkan dengan larutan alkali. Dalam medium cair kemungkinan antosianin dalam empat bentuk struktur yang tergantung pada pH. Diantaranya basa quonidal biru (A), kation

flavilium merah (AH⁺), basa karbinol yang tidak berwarna (B), dan khalkon tidak berwarna (B).

b. Suhu

Pemanasan bersifat "*irreversible*" dalam mempengaruhi stabilitas pigmen dimana kalkon yang tidak berwarna tidak dapat kembali menjadi kation flavilium yang berwarna merah. Antosianin stabil pada suhu 50°C. Degradasi antosianin dipengaruhi oleh temperatur diatas 70°C. Semakin tinggi kenaikan suhu, akan menyebabkan antosianin tergradasi.

c. Cahaya

Antosianin tidak stabil dalam larutan netral atau basa dan bahkan larutan asam warnanya dapat memudar perlahan-lahan akibat terkena cahaya, sehingga larutan sebaiknya disimpan di tempat gelap dan suhu dingin.

d. Oksigen

Oksidatif mengakibatkan oksigen molekuler pada antosianin. Oksigen dan suhu nampaknya mempercepat kerusakan antosianin. Stabilitas warna antosianin selama proses menjadi rusak akibat oksigen.

e. Kopigmentasi

Kopigmen (penggabungan antosianin dengan antosianin atau komponen organik lainnya) dapat mempercepat atau memperlambat proses degradasi, tergantung kondisi lingkungan. Bentuk kompleks turun dengan adanya protein tannin, flavonoid lainnya, dan polisakarida. Walaupun sebagian komponen tersebut tidak berwarna, mereka dapat meningkatkan warna antosianin dengan pergeseran batokromik, dan meningkatkan penyerapan warna pada panjang gelombang penyerapan warna maksimum. Kompleks ini cenderung menstabilkan selama proses dan penyimpanan.

2.3 Pewarna

Pewarna adalah zat warna atau bahan lain yang dibuat dengan cara sintetis atau cara kimiawi lain, atau bahan alami dari tanaman, hewan, mineral atau sumber lainnya yang diekstrak, diisolasi atau terbuat dari ekstrak atau isolat dengan atau tanpa perubahan identitas yang bila ditambahkan atau digunakan ke bahan makanan, obat, kosmetik, atau ke bagian tubuh (bisa sendiri atau karena reaksi

dengan bahan lain) menjadi bagian dari warna dari bahan tersebut. Zat pewarna terbagi menjadi 2 sebagai berikut (Dwiyuningtyas, 2018):

2.3.1 Pewarna Alami

Banyak warna terang yang bersumber dari tanaman dan hewan yang digunakan sebagai pewarna untuk makanan. Beberapa pewarna alami turut ikut menyumbangkan nilai nutrisi ke bahan olahannya. Banyak pewarna olahan yang sebelumnya menggunakan pewarna sintetis berpindah ke pewarna alami. Contoh pewarna alami yang digunakan untuk pewarna tersaji dalam Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Pewarna Alami

Nama Pewarna	Warna yang dihasilkan	Sumber Warna
Karoten	Jingga-Merah	Wortel, Pepaya, dan lain-lain
Biksin Karamel	Kuning seperti mentega Coklat gelap	Biji pohon Bixa Orellana Hidrolisis (pemecahan) karbohidrat, gula pasir, laktosa, dan sirup malt.
Klorofil	Hijau	Daun Suji, Daun Pandan dan dedaunan yang bewarna hijau.
Antosianin	Merah, Jingga, Ungu dan Biru	Bunga dan buah-buahan seperti Bunga Mawar, Pacar Air, Kembang Sepatu, Bunga Tasbih atau Kana, Krisan, Pelargonium, Aster Cina, dan Buah Apel, Ceri, Anggur, Stroberi, Buah Manggis, Bunga Telang, Bunga Belimbing, Sayur serta Ubi Jalar.
Kurkumin	Kuning	Kunyit

(Saparinto dkk., 2006)

Pewarna alami mudah mengalami degradasi atau pemudaran pada saat diolah dan disimpan, bersifat tidak cukup stabil terhadap panas, cahaya dan pH tertentu. Namun, pewarna alami merupakan alternatif pewarna yang tidak toksik, dapat diperbarui (*renewable*), mudah tergradasi dan ramah lingkungan. Jika dibandingkan dengan zat warna sintesis, zat warna alami dianggap lebih aman jika dikonsumsi karena tidak memberikan dampak negatif. Namun zat warna alami memiliki kelemahan-kelemahan jika dibandingkan dengan zat warna sintesis yaitu

adanya rasa yang tidak diinginkan yang berasal dari zat warna alami ketika dicampurkan kedalam makanan, konsentrasi pigmen warna rendah, stabilitas pigmen rendah, warna yang dihasilkan kurang seragam, dan spektrum warna pada zat warna sintesis lebih luas (Koswara, S., 2019). Perbedaan pewarna sintesis dan alami dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4 Perbedaan Pewarna Sintesis dan Alami

Perbedaan	Zat Pewarna Sintesis	Zat Pewarna Alami
Warna yang dihasilkan	Lebih cerah dan lebih homogen	Lebih pudar dan tidak homogen
Variasi warna	Banyak	Sedikit
Harga	Lebih murah	Lebih mahal
Ketersediaan	Tidak terbatas	Terbatas
Kestabilan	Stabil	Kurang stabil

(Koswara, S., 2019)

2.3.2 Pewarna buatan (sintesis)

Merupakan bahan kimia yang dengan sengaja ditambahkan pada makanan untuk memberikan tambahan warna yang diinginkan karena warna semula hilang selama proses pengolahan atau karena seorang menginginkan adanya warna tertentu. Warna dari suatu produk makanan maupun minuman merupakan salah satu ciri yang penting. Pengelompokkan pewarna sintesis yang dilarang diatur dalam Permenkes RI No. 239/Men.Kes/Per/85 tentang zat warna tertentu yang dinyatakan sebagai bahan berbahaya dan pewarna sintesis yang diizinkan diatur dalam Permenkes RI No. 033 Tahun 2012 (Dwiyuningtyas, 2018).

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain. Tujuan ekstraksi untuk melarutkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam jaringan tanaman ke dalam pelarut yang dipakai untuk proses ekstraksi tersebut. Ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada

lapisan antar muka, kemudisan berdifusi masuk ke dalam pelarut (Hasmita, 2019). Faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi, antara lain:

1. Perlakuan pendahuluan

Perlakuan pendahuluan dapat berpengaruh terhadap rendemen dan mutu ekstrak yang dihasilkan. Perlakuan pendahuluan meliputi pengecilan ukuran dan pengeringan bahan. Semakin kecil ukuran partikel, maka semakin besar luas kontak antara padatan dengan pelarut, tahanan menjadi semakin berkurang, dan lintasan kapiler dalam padatan menjadi semakin pendek (laju difusi berbanding lurus dengan luas permukaan padatan dan berbanding terbalik dengan ketebalan padatan), sehingga proses ekstraksi menjadi lebih cepat dan optimal. Teknik pengecilan ukuran dapat dilakukan dengan cara pemotongan, penggilingan, maupun penghancuran (Rahayu, 2017).

2. Temperatur

Semakin meningkat temperatur maka kelarutan bahan yang diekstraksi dan difusivitas akan meningkat. Tetapi temperatur yang terlalu tinggi dapat merusak bahan yang diekstrak, sehingga perlu menentukan temperatur optimum (Rahayu, 2017).

3. Waktu

Semakin lama waktu ekstraksi maka akan memberikan hasil yang diperoleh lebih besar, karena kontak antara pelarut dan bahan yang diekstraksi juga akan semakin lama sehingga akan menyebabkan pelarut semakin diperkaya oleh solute. Namun, apabila waktu yang dibutuhkan terlalu lama maka proses ekstraksi tersebut tidak ekonomis (Hasmita, 2019).

4. pH

Ekstraksi antosianin akan optimum pada pH asam ($\text{pH} = 4 - 5$) dikarenakan kondisi antosianin yang stabil pada rentang pH tersebut. Menurut Meiny dkk (2010), semakin asam pelarut (pH semakin kecil) maka yield antosianin yang didapat semakin meningkat. Namun, hal ini akan mempengaruhi kestabilan antosianin dalam larutan dimana antosianin stabil pada range pH 4-5 (Hasmita, 2019).

5. Faktor pengadukan

Pengadukan dapat mempercepat pelarutan dan meningkatkan laju difusi solute, pergerakan pelarut di sekitar bahan akibat pengadukan dapat mempercepat kontak bahan dengan pelarut dan memindahkan komponen dari permukaan bahan ke dalam larutan dengan jalan membentuk suspensi serta melarutkan komponen tersebut ke dalam media pelarut (Rahayu, 2017).

Metode ekstraksi menggunakan pelarut dibagi menjadi 2 bagian, yaitu metode ekstraksi cara dingin dan cara panas, sebagai berikut:

1. Ekstraksi dengan cara dingin

a) Maserasi

Maserasi merupakan pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terperkat didesak keluar. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terperkar didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Keuntungan dari metode maserasi yaitu prosedur dan peralatannya sederhana. Pelarut yang dapat menyaring sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia seperti ethanol 96% (Eloisa, 2016).

b) Perkolasi

Adalah suatu metode yang dilakukan dengan jalan melewati pelarut secara pelan-pelan sehingga pelarut tersebut bisa menembus sampel bahan yang biasanya ditampung dalam suatu bahan kertas yang agak tebal dan berpori serta beebentuk seperti kantong atau sampel ditampung dalam kantong yang terbuat dari kertas saring. Jumlah pelarut yang diperlukan berkisaran 5-10 kali jumlah sampel. Keuntungan ekstraksi perkolasi yaitu tidak terjadi kejenuhan dan pengaliran meningkatkan difusi (dengan dialiri zat penyari sehingga zat seperti terdorong untuk keluar dari sel). Kekurangan metode ini yaitu cairan penyari lebih banyak

dan resiko cemaran mikroba untuk penyari air karena dilakukan terbuka (Eloisa, 2016).

2. Ekstraksi dengan cara panas

a) Ekstraksi refluks

Adalah metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut tersebut, selama waktu dan sejumlah pelarut tertentu dengan adanya pendingin baik (kondensor). Pada umumnya dilakukan tiga sampai lima kali pengulangan proses pada rafinat pertama. Kelebihan metode refluks adalah padatan yang memiliki tekstur kasar dan tahan terhadap pemanasan langsung dapat diekstrak dengan metode ini. Kelemahan metode ini adalah membutuhkan jumlah pelarut yang banyak (Rahayu, 2017).

b) Ekstraksi dengan alat soxlet

Adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru, umumnya dilakukan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi konstan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Bahan yang akan disari berada dalam sebuah kantong penyaring di dalam sebuah tabung. Tabung yang berisi kantong simplisia diletakkan diantara labu suling dan suatu pendingin balik yang dihubungkan melalui pipa pipet. Pelarut dalam labu diuapkan, uap akan naik melalui pipa samping mencapai pendingin balik, uap terkondensasi lalu turun ke tabung merendam dan melarutkan zat aktif simplisia kemudian turun ke labu. Proses ini berlangsung berulang-ulang sampai hampir zat tersari seluruhnya. Kelebihan metode ini adalah proses ekstraksi berlangsung secara kontinyu, memerlukan waktu ekstraksi yang lebih sebentar dan jumlah pelarut yang lebih sedikit bila dibandingkan metode maserasti atau perlokasi. Kelemahan dari metode ini adalah dapat menyebabkan rusaknya solute atau komponen lainnya yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus-menerus (Rahayu, 2017).

2.5 Tinjauan Pelarut

Faktor yang mempengaruhi berhasilnya proses ekstraksi adalah mutu dan pelarut yang dipakai. Terdapat beberapa pertimbangan utama dalam memilih jenis pelarut yang akan digunakan, yaitu memiliki daya larut yang tinggi dan pelarut

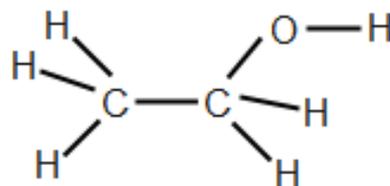
tidak berbahaya atau tidak beracun, polaritas pelarut yang sangat berpengaruh terhadap daya larut, pelarut bertitik didih tinggi menyebabkan adanya kemungkinan kerusakan komponen-komponen senyawa penyusun pada saat pemanasan. Pelarut yang digunakan harus bersifat *inert* terhadap bahan baku, mudah diperoleh dan harganya murah (Lutfia dkk., 2019).

1. Ethanol

Ethanol (alkohol) adalah nama suatu golongan senyawa organik yang mengandung unsur C, H dan O. Ethanol dalam ilmu kimia disebut sebagai etil alkohol dengan rumus kimia C_2H_5OH . Rumus umum dari alkohol adalah R-OH. Secara struktur alkohol sama dengan air, namun salah satu hidrogennya digantikan oleh gugus alkil. Gugus fungsional alkohol adalah gugus hidroksil, OH. Pemberian nama alkohol biasanya dengan menyebut nama alkil yang terikat pada gugus OH, kemudian menambahkan nama alkohol (Wiratmaja, 2011).

Ethanol yaitu pelarut yang serbaguna, dapat menyatu dengan air dengan sebagian besar bahan organik yang bersifat cair termasuk zat cair, termasuk zat cair, termasuk zat cair non-polar seperti hidrokarbon alifatik. Ethanol (etil alkohol) mempunyai rumus kimia C_2H_5OH , mudah terbakar, memiliki titik cair $-114,3^{\circ}C$, dan titik didih $78,4^{\circ}C$. Menurut Endah dkk (2007), karakteristik ethanol meliputi zat cair yang mudah menguap dan terbakar, tidak berwarna dan memiliki bau yang spesifik, serta dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan. Secara garis besar penggunaan ethanol adalah sebagai pelarut untuk zat organik maupun anorganik, bahan dasar industri asam cuka, ester, spiritus, dan asetaldehid.

Struktur molekul dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur Molekul Ethanol (Wiratmaja, 2011)

Sifat-sifat ethanol dapat dilihat pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5 Sifat-Sifat Ethanol

Karakteristik	Ethanol
Nama lain	Etil alkohol, grain alkohol
Rumus kimia	C_2H_5OH
Berat molekul	46
Densitas	$0,789 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$
Titik didih	$78,5^\circ\text{C}$
Titik leleh	$-114,1^\circ\text{C}$

(Wiratmaja, 2011)

2. Aquades

Aquades merupakan air hasil dari destilasi atau penyulingan, dapat disebut juga air murni (H_2O), karena H_2O hampir tidak mengandung mineral. Aquades merupakan pelarut yang paling mudah didapat dan murah. Pelarut ini bersifat netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, dan tidak beracun sehingga aman bila digunakan dalam bahan pangan. Lebih baik untuk digunakan karena aquades atau air yang telah disuling memiliki kadar mineral sangat minim. Kelemahannya pada proses evaporasi (penguapan) yang lebih lama karena titik didihnya lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya. Selain itu juga air merupakan tempat tumbuh bagi kuman, kapang dan khamir (Sibuea F., 2015).

2.9 Evaporasi (Penguapan)

Evaporasi adalah suatu proses yang bertujuan memekatkan suatu larutan yang terdiri atas pelarut (*solvent*) yang *volatile* dan zat terlarut (*solute*) yang nonvolatile. Evaporasi dilakukan dengan menguapkan sebagian dari pelarut sehingga didapatkan larutan zat cair pekat yang konsentrasinya lebih tinggi. Larutan pekat merupakan produk yang diinginkan. Sedangkan uapnya diembunkan dan dibuang. Prinsip kerja pemekatan larutan dengan evaporasi didasarkan pada perbedaan titik didih yang sangat besar antara zat-zat yang terlarut dengan pelarutnya (Sa'diyah, 2018).

Proses evaporasi yang paling sederhana adalah evaporasi pada tekanan atmosfer. Dimana pada evaporasi ini cairan di dalam suatu wadah terbuka

dipanaskan dan uap air dikeluarkan ke udara atmosfer. Evaporator jenis ini adalah evaporator yang paling sederhana, tetapi prosesnya lambat dan kurang efisien dalam pemanfaatan energi. Untuk produk makanan yang sensitif terhadap suhu tinggi, titik didih cairan atau pelarut harus diturunkan lebih rendah dari titik didih pada kondisi normal (tekanan atmosfer). Menurut Heldman dkk., (2007) memperlama bahan pangan yang sensitif terhadap panas pada temperatur tinggi selama proses evaporasi terbuka menyebabkan hilangnya rasa dan menurunnya kualitas produk (Sa'diyah, 2018).

2.7 Lip balm

Bibir memiliki lapisan korneum 3 sampai 4 lapisan dan sangat tipis dibanding kulit wajah biasa yang memiliki lapisan korneum 15 sampai 16 lapisan untuk tujuan perlindungan kulit. Kulit bibir tidak memiliki kelenjar keringat yang berfungsi untuk melindungi bibir dari lingkungan luar serta tidak ada folikel rambut (Sahputri, 2019).

Sel keratin merupakan sel yang melindungi lapisan luar bibir. Lapisan permukaan sel keratin pecah disebabkan oleh paparan sinar matahari, maka sel keratin akan rusak. Sel yang rusak akan terjadi secara terus-menerus sampai sel tersebut terkelupas dan tumbuh sel yang baru (Sahputri, 2019). Kerusakan tersebut dapat dicegah dengan menggunakan produk *lip balm* yang mengandung antioksidan (Hasanah, 2020).

2.7.1 Pengertian Lip Balm

Lip balm merupakan sediaan kosmetik dengan komponen utama seperti lilin, lemak, dan minyak dari ekstrak alami atau yang disintesis dengan tujuan untuk mencegah kekeringan pada bibir dengan meningkatkan kelembaban bibir dan melindungi pengaruh buruk lingkungan pada bibir (Syakdiah, 2018).

Lilin dan *petroleum jelly* mencegah kehilangan kelembaban dan mempertahankan kenyamanan pada bibir sementara bahan-bahan lainnya memberikan keuntungan spesifik dan keuntungan tambahan. *Lip balm* diaplikasikan pada bibir dengan menggunakan jari, atau dengan wadah (*roll up*) seperti lipstik dimana *lip balm* dapat diaplikasikan langsung (Amalia, 2019).

2.7.2 Manfaat *Lip Balm* (Sahputri, 2019)

- a. Memberikan nutrisi yang dibutuhkan agar bibir tetap lembut dan sehat.
- b. Membantu melindungi bibir dari keadaan luka, kering, pecah-pecah dan cuaca dingin.
- c. Dapat digunakan oleh laki-laki maupun perempuan.
- d. Kontak produk dengan kulit tidak akan menyebabkan gesekan atau kekeringan dan harus memungkinkan pembentukan lapisan homogen di atas bibir untuk melindungi lender labial yang rentan terhadap faktor lingkungan seperti radiasi UV, kekeringan dan polusi.
- e. Penggunaan kosmetik bibir alami untuk memperbaiki penampilan wajah dan kondisi kulit bibir.

2.7.3 Syarat Mutu Lipstik

Menurut Peraturan Menkes RI No.376/MENKES/VIII/1990 tentang bahan, zat warna, zat pengawet dan tabir surya pada kosmetika, zat warna adalah zat atau campuran zat yang dapat digunakan pada sediaan kosmetik untuk mewarnai lapisan tubuh luar manusia dengan atau tanpa bantuan zat lain. Syarat mutu lipstik dapat dilihat pada tabel 2.6.

Tabel 2.6 Syarat Mutu Lipstik dalam SNI 16-4769-1998

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1	Penampakan	-	Baik
2	Suhu	°C	50-70
3	Pewarna	-	Sesuai Permenkes No. 376/Menkes/Per/VIII/1990
4	Pengawet	-	Sesuai Permenkes No. 376/Menkes/Per/VIII/1990
5	Cemaran mikroba		
-	Angka lempeng	Koloni/g	Maks. 5×10^2
-	Jamur Koliform	MPN/g	Negatif
	<i>S. aureus</i>	Koloni/g	<3
	<i>P. aeruginosa</i>	Koloni/g	Negatif

(SNI, 1998)

2.7.4 Komponen *Lip balm*

Adapun komponen utama dalam *lip balm* terdiri dari:

a. *Wax* (lilin) (Rahmat, 2018)

Wax merupakan campuran hidrokarbon dan asam lemak yang kompleks dikombinasikan dengan ester. *Wax* memiliki ciri yaitu lebih keras, kurang berminyak dan rapuh dibandingkan lemak. *Wax* sangat tahan terhadap kelembaban, oksidasi dan bakteri. Ada empat kategori *wax*, sebagai berikut:

1. *Wax* hewan : *beeswax, lanolin, spermaceti*
2. *Wax* tanaman : *carnauba, candelilla, jojoba*
3. *Wax* mineral : *ozokerite, paraffin, mikrokristalin, ceresin*
4. *Wax* sintesis : *polyethylene, carbowax, acrawax, stearin*

Wax paling banyak digunakan adalah *beeswax* yang merupakan emollient dan pengental baik. Komponen penting dalam *lip balm* yaitu *white beeswax* yang memiliki titik leleh 62-64°C. *White beeswax* untuk mengikat minyak dan meningkatkan viskositas, digunakan dalam 3-10% dari total formulasi. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, *white beeswax* menghasilkan tampilan yang kusam dan menyebabkan *lip balm* hancur saat digunakan.

b. Minyak

Lemak dan minyak adalah ester gliserol kimia yang terdiri dari gliserol dan asam lemak dan juga disebut trigliserida. Minyak dengan kadar tinggi asam lemak jenuh (asam laurat, miristis, palmitat dan stearat) meliputi minyak kelapa, minyak biji kapas, dan minyak kelapa sawit. Minyak dengan kadar tinggi asam lemak tak jenuh (asam oleat, arakidonat, linoleat) adalah minyak canola, minyak zaitun, minyak jagung, minyak jarak dan sebagainya. Minyak jenuh lebih stabil dan tidak menjadi tengik dibandingkan dengan minyak tak jenuh. Namun, minyak tak jenuh lebih halus, kurang berminyak, dan lebih mudah diserap oleh kulit. Campuran minyak dengan lilin diperlukan untuk memberikan film yang sesuai pada kulit bibir yang diaplikasikan. Minyak zaitun akan memberikan hasil yang mengkilau pada bibir (Rahmat, 2018).

Minyak berfungsi untuk melarutkan atau mendispersikan zat warna, sebagai emollient (mempermudah penyebaran atau pengolesan), pelembab, penambah licin, pemberi kilau, agen pembuat tak berkilau. Minyak zaitun dapat digunakan sebagai

emolien karena sifatnya yang mampu mempertahankan kelembaban, kelenturan, serta kehalusan pada kulit. Hal ini dipengaruhi oleh kandungan asam oleat pada minyak zaitun hingga 80%. Asam oleat pada zaitun berfungsi peningkat permeabilitas pada kulit sehingga mampu menjaga kelembaban pada kulit (Amalia, 2019).

c. Lemak

Lemak yang digunakan pada pembuatan *lip balm* adalah campuran lemak padat yang berfungsi untuk membentuk lapisan film pada bibir, memberi tekstur yang lembut, mengurangi efek berkeriat dan pecah pada *lip balm*. Fungsi lain dalam proses pembuatan *lip balm* adalah sebagai pengikat dalam basis antara fase minyak dan fase lilin dan sebagai bahan pendispersi untuk pigmen. Lemak padat yang biasa digunakan dalam basis *lip balm* adalah lemak coklat, lanolin, lesitin, minyak nabati terhidrogenasi, dan lain-lain (Amalia, 2019).

Salah satu jenis lemak yang biasa digunakan dalam sediaan *lip balm* adalah lemak coklat. Lemak coklat yang disebut juga *oleum cacao* atau *cocoa butter*, mengandung asam lemak essensial yaitu asam linoleat (2%) dan vitamin E (tokoferol) sebesar 3-13 mg/100 gram bahan. Lemak coklat padat diperoleh dengan pemerasan panas biji *Theobroma cacao* L. yang telah dikupas dan dipanggang. Lemak coklat biasanya mulai mencair dan meleleh pada suhu 34-35°C, mengandung lebih banyak kristal (plimorfisme) daripada trigliserida padat. Bila dipanaskan pada suhu tinggi lemak coklat akan mencair sempurna seperti minyak tetapi kehilangan semua inti kristalnya yang berguna untuk memadat. Lemak coklat mengkristal bila didinginkan di bawah suhu 15°C (Amalia, 2019).

Oleum cacao memiliki kelebihan yakni lunak, lebih mudah diserap, dapat memberikan aroma bau yang menyenangkan, sehingga tidak perlu penambahan pengharum (Amalia, 2019).

d. Emulsifying Agent

Emulsifying agent merupakan suatu molekul yang mempunyai rantai hidrokarbon nonpolar dan polar pada tiap ujung rantai molekulnya. *Emulsifying agent* dapat menarik fase minyak dan fase cair sekaligus dan menempatkan diri berada di antara kedua fase tersebut, serta keberadaannya akan menurunkan

tegangan permukaan fase minyak dan fase cair. Salah satu bahan dari *emulsifying agent* yaitu setil alkohol, digunakan sebagai bahan pengemulsi dan bahan pengeras.

Setil alkohol dapat meningkatkan viskositas dan kestabilan sediaan, titik leleh 45-52°C, titik didih 344°C, larut dalam ethanol 95% dan eter, dan kelarutan meningkat dengan meningkatnya temperatur. Setil alkohol ditambahkan untuk memperoleh produk akhir yang halus dan lembut, juga memberikan kelembutan pada kulit tempat aplikasi dan menghasilkan produk yang mudah berpenetrasi (Amalia, 2019).

e. Pengawet

Pada sediaan *lip balm* sebenarnya sangat kecil untuk bakteri atau jamur untuk tumbuh karena *lip balm* tidak mengandung air. Tetapi ketika *lip balm* diaplikasikan pada bibir kemungkinan terjadi kontaminasi pada permukaan *lip balm* sehingga terjadi pertumbuhan mikroorganisme. Pengawet perlu ditambahkan di dalam formula *lip balm*, pengawet yang sering digunakan yaitu metil paraben dan propil paraben (Syakdiah, 2018).

2.8 Tinjauan Bahan

1. *Beeswax*

Beeswax merupakan campuran yang terdiri dari hidrokarbon, asam lemak bebas, monoesters, diesters, triesters, hydroxy monoesters, hydroxy polyesters, poliesters asam lemak dan beberapa senyawa yang tak dikenal. Sebagian besar *beeswax* terdiri dari ester dan hidrokarbon rantai panjang yang merupakan komposisi utama *wax*, maka komposisi ini yang menyebabkan *beeswax* cenderung ke bentuk *wax* daripada lemak (Kasparaviciene dkk., 2016). Komponen utama *beeswax* dari sarang lebah oriental (*Apis indica* Radoszkowki goloongan Apidae) adalah Ceryl 16-hydroxypalmitate ($C_{15}H_{30}(OH)COOC_{26}H_{53}$) dan ceryl palmitate ($C_{15}H_{31}COOC_{26}H_{53}$) sedangkan komponen utama *beeswax* dari sarang lebah Eropa (*Apis mellifera* L.) adalah miricyl palmitate ($C_{15}H_{31}COOC_{31}H_{63}$) (Wijayani, 2011). Komposisi kandungan *beeswax* dapat dilihat pada Tabel 2.7.

Tabel 2.7 Komposisi Kandungan *Beeswax*

Kandungan Kimia	Jumlah (%)
Monoester	35
Diester	14
Triester	3
Hidroksi ester dan poliester	12
Asam ester dan polyester	3
Hidrokarbon rantai panjang	14
Asam lemak rantai panjang	12

(Wijayani, 2011)

Lilin lebah (*beeswax*) kuning yang diputihkan disebut lilin lebah putih (*white beeswax*). *White beeswax* memiliki pemerian berupa zat padat; lapisan tipis; bening; warna putih kekuningan; bau khas lemah. Kelarutan: praktis tidak larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol (95%); larut dalam kloform, ester, dalam minyak lemak dan dalam minyak atsiri. Jarak lebur *white beeswax* adalah 62°C sampai 64°C. Potensi toksisitas dari *beeswax* antara lain dapat menyebabkan iritasi ringan bila kontak dengan mata, kulit, bila tertelan dan terhirup. Pemakaian *beeswax* dalam sediaan *lip balm* dapat menaikkan titik leleh dan pengikat yang baik dan dapat membantu membentuk massa yang homogen. Stabilitas dari *beeswax* membuatnya menjadi *wax* yang sangat baik dalam sediaan kosmetik dan perawatan kulit (Wijayani, 2011).

2. Minyak Zaitun

Minyak zaitun diperoleh dari hasil perasan buah zaitun yang telah matang terdiri dari 80% air, 15% minyak, 1% protein, 1% karbohidrat, dan 1% serat. Setiap 100 gr minyak zaitun mengandung zat gizi sebagai berikut (Astawan dkk., 2015). Setiap 100 gr minyak zaitun mengandung zat gizi dapat dilihat pada Tabel 2.8.

Tabel 2.8 Kandungan Zat Gizi Per 100 gr Minyak Zaitun

Zat Gizi	Kadar
Energi	884 kkal
Kalsium	0,18 mg
Besi	0,38 mg
Magnesium	0,01 mg
Natrium	0,04 mg
Vitamin E	12,4 mg

(Astawan dkk., 2015)

Minyak zaitun mengandung antioksidan utama berupa polifenol. Polifenol terdiri dari beberapa kandungan senyawa dan yang terbanyak berupa *oleuropein* dan *hydroxytyrosol*. Kadar polifenol yang tinggi terdapat pada minyak zaitun *extra virgin*, karena saat proses pengolahan, kandungan yang hilang hanya jika dibandingkan dengan minyak zaitun jenis lainnya (Astawan dkk., 2015).

Manfaat terhadap kulit yaitu:

- a. Digunakan sebagai pembersih wajah;
- b. Digunakan sebagai *carrier oil*;
- c. Menyehatkan rambut;
- d. Menyehatkan kulit;
- e. Minyak urut;
- f. Bibir pecah-pecah;
- g. Menyegarkan kulit.

Minyak zaitun kaya akan vitamin E yang sangat penting bagi kesehatan kulit. Vitamin E merupakan zat antioksidan yang dapat melindungi tubuh dari partikel-partikel yang dapat merugikan kesehatan. Vitamin E digunakan setelah perlakuan pengelupasan kulit mati untuk merangsang pembentuk kembali jaringan kulit. Menggunakan vitamin E secara eksternal membantu menyejukkan inflamasi dan menghilangkan bekas luka (Astawan dkk., 2015).

3. *Oleum cacao*

Oleum cacao merupakan lemak coklat padat yang diperoleh dengan pemerasan panas biji *Theobroma cacao L.* yang telah dikupas dan dipanggang. Berbentuk lemak padat agak rapuh, bewarna putih kekuningan baunya khas aromatik. Secara kimia adalah trigliserida (campuran gliserin dan satu atau lebih asam lemak yang berbeda) terutama oleopalmitostearin dan oleodistearin, karena *oleum cacao* meleleh pada 30-36°C merupakan basis suppositoria yang ideal. Penggunaan bahan pengeras seperti lilin setil ester ($\pm 20\%$) atau malam tawon ($\pm 4\%$) untuk mengimbangi pengaruh pelunakan dari bahan yang ditambahkan (Wulandari, 2018). Sifat fisika kimia lemak coklat dapat dilihat pada Tabel 2.9.

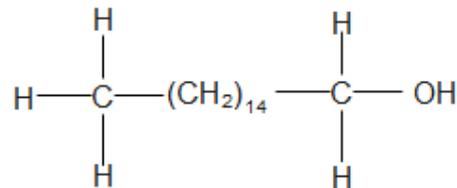
Tabel 2.9 Sifat Fisika Kimia Lemak Cokelat

Karakteristik	Nilai
Bilangan asam (ml/g)	1-4
Bilangan penyabunan (ml/g)	190-200
Bilangan iod (ml/g)	35-40
Indeks bias pada 40°C	1,453-1,458
Bahan tak tersabunkan	0,2-2,6
Titik leleh (°C)	28-36

(Wulandari, 2018)

4. Setil alkohol (Rowe, dkk., 2009)

Nama lain dari setil alkohol yaitu *alcohol cetylicus*; *1-hexadecanol*; *n-hexadecyl alcohol*, dengan nama kimia *hexadecane-1-ol*. $C_{16}H_{34}O$ merupakan rumus molekul setil alkohol. Struktur setil alkohol dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.6 Struktur Setil Alkohol (Rowe dkk., 2009)

Pemerian setil alkohol berupa substansi dari lilin, berbentuk serpihan putih, granul, kubus, memiliki karakter bau yang menyengat dan tidak berasa. Setil alkohol mudah larut dalam ethanol 95% dan eter, kelarutan akan meningkat dengan peningkatan suhu, praktis tidak larut dalam air dan pada saat melebur dapat dicampur dengan lemak. Stabil dengan adanya asam, basa, cahaya, atau udara, tidak berubah menjadi tengik, sebaiknya disimpan dalam wadah tertutup rapat dan tempat yang kering. Sifat fisika dan kimia setil alkohol dapat dilihat pada Tabel 2.10.

Tabel 2.10 Sifat Fisika Kimia Setil Alkohol

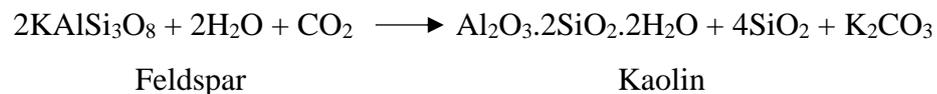
Nama Kimia	Hexadecan-1-ol
Berat Molekul	242,44
Titik Didih	316-344
Titik Lebur	45-42
Densitas	0,908 g/cm ³

(Rowe, dkk., 2019)

5. Kaolin

Kaolin merupakan salah satu mineral tanah liat. Kaolin harus memiliki distribusi ukuran partikel yang sangat halus (kurang dari 2 μm) dan berkualitas tinggi terutama untuk aplikasi seperti plastik, cat, industri kertas, farmasi, dan kosmetik. Kaolin murni ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) memiliki warna putih (Sa'adah, 2019).

Kaolin adalah batuan yang tersusun dari mineral lempung dengan kandungan besi yang rendah. kaolin juga terdiri dari material lainnya. Kaolinit adalah mineral utama dari kaolin. Kaolin terbentuk dari pelapukan pada batuan beku yang banyak mengandung feldspar dan berubah menjadi kaolin. Kaolin umumnya bewarna putih, dengan berat jenis 2,60-2,63 gr/ml (Sa'adah 2019). Proses pelapukan terbentuknya kaolin:



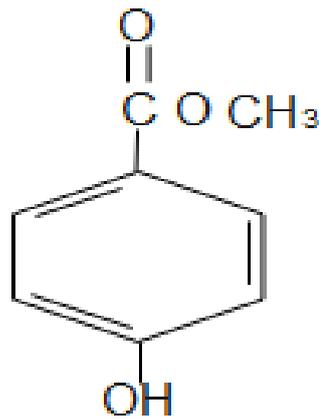
Feldspar

Kaolin

(Sukandarumidi, 1999)

6. Metil Paraben

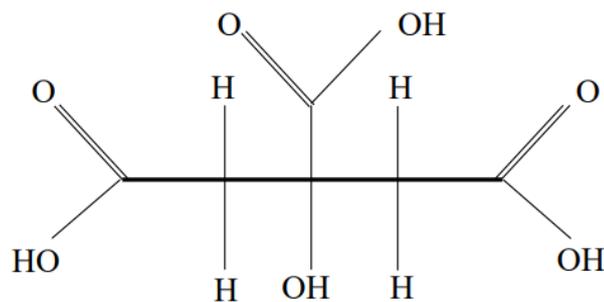
Metil paraben merupakan bahan pengawet organik berupa hablur putih, berbau khas lemah, mempunyai sedikit rasa terbakar, sukar larut dalam air namun larut mudah larut dalam ethanol dan eter. Pada suhu 25°C di dalam air larut sebesar 2,5 gr/L dengan bentuk yang aktif sebagai pengawet adalah 87,4% pada range 2,5gr/L (Prasetyo, 2016). Metil paraben termasuk dalam bahan tambahan pangan (BTP) khususnya anti jamur yang digunakan secara luas sebagai pengawet untuk makanan, obat-obatan, dan kosmetika. Metil paraben atau *Methyl parahydroxybenzoate* memiliki batas maksimum penggunaan 600 mg/kg (Prasetyo, 2016). Metil paraben mempunyai rumus empiris $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ dan berat molekul 152,15. Struktur kimia metil paraben dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.7 Struktur Kimia Metil Paraben (Prasetyo, 2016)

2.9 Asam Sitrat

Asam sitrat merupakan padatan kering atau putih dengan rumus kimia $C_6H_8O_7$ dan memiliki berat molekul 191,12 g/mol. Senyawa ini terdapat sebagai konstituen alami dalam buah-buahan, seperti jeruk, nanas, apel dan anggur (Prasetyo, 2016). Asam sitrat merupakan salah satu asam organik yang banyak digunakan dalam industri makanan dan minuman (60% dari total produksi), antara lain berfungsi sebagai pemberi rasa asam, antioksidan dan pengemulsi (Prasetyo, 2016).



Gambar 2.8 Struktur Molekul Asam Sitrat (Hasmita, 2019)

Tujuan penggunaan asam sitrat untuk menstabilkan antosianin yang terekstrak pada sampel, semakin banyak asam yang ditambahkan maka larutan akan semakin asam sehingga seharusnya semakin efektif mengekstrak antosianin.

Asam sitrat diketahui lebih efektif dalam mengekstrak antosianin dibanding asam asetat karena pH-nya lebih rendah. asam sitrat dikategorikan aman untuk makanan oleh semua badan pengawasan makanan nasional dan internasional. Senyawa ini secara alami terdapat pada semua jenis makhluk hidup dan kelebihan

asam sitrat dengan mudah dimetabolisnne dan dihilangkan dari tubuh (Hasmita, 2019). Sifat fisika dan kimia $C_6H_8O_7$ (Asam Sitrat) dapat dilihat pada Tabel 2.11.

Tabel 2.11 Sifat Fisika dan Kimia $C_6H_8O_7$ (Asam Sitrat)

Sifat Fisika	Sifat Kimia
1. Rumus molekul $C_6H_8O_7$	Bersifat stabil
2. Tidak bewarna	Bersifat korosi
3. Titik leleh $153^{\circ}C$	Larut dalam air, dietil eter
4. Densitas $1,655\text{ g/cm}^3$	Tidak terjadi polimerisasi
5. Massa Molekul $192,13\text{ g/mol}$	Memiliki bau seperti buah-buahan

(Hasmita, 2019)

2.10 Antioksidan

Antioksidan atau senyawa penangkap radikal bebas merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas. Antioksidan merupakan bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul akibat proses reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan (Aidina, 2020).

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Satu atom elektron atom hidrogen dari antioksidan diberikan kepada molekul radikal bebas secara oksidasi reduksi untuk menetralkan radikal bebas menjadi bentuk senyawa yang lebih stabil dari sebelumnya (Aidina, 2020). Proses kimia kompleks dalam tubuh dapat mengakibatkan senyawa radikal bebas, berupa hasil samping dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernafas, olahraga berlebihan, metabolisme sel, asap rokok, peradangan atau ketika tubuh terpapar polusi lingkungan seperti asap kendaraan bermotor, radiasi matahari atau kosmis, dan bahan pencemar, karena itu dibutuhkan antioksidan untuk menangkal radikal bebas (Aidina, 2020).

Aktivitas antioksidan dapat diuji menggunakan metode DPPH menggunakan radikal bebas *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*. Metode ini sering digunakan untuk menguji senyawa yang berperan sebagai donor hidrogen serta mengevaluasi aktivitas antioksidannya. Pengukuran aktivitas secara 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 menghambat radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas penghambatan radikal bebas semakin tinggi. Keberadaan radikal bebas stabil dalam hal ini yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan mendonorkan hidrogen, sehingga radikal bebas dapat dihambat (Aidina, 2020). Tingkat kekuatan antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH dapat digolongkan menurut IC_{50} dapat dilihat pada Tabel 2.5.

Tabel 2.12 Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH

<u>Intensitas</u>	<u>Nilai IC_{50} (ppm)</u>
Antioksidan sangat kuat	<50
Antioksidan kuat	50-100
Antioksidan sedang	101-150
Antioksidan lemah	250-500
Antioksidan tidak aktif	>500

(Aidina, 2020)