JURNAL ANALIS FARMASI
Vol. 9, No. 2, Hal 81 - 91

Accepted 6/7/2024
Publish 28/10/2024

TESTING THE EFFECT OF ECO ENZYME FERMENTATION OF TANGERINE PEEL (Citrus reticulate) ON ANTIOXIDANT ACTIVITY USING THE DPPH METHODS

UJI PENGARUH FERMENTASI *ECO ENZYME* KULIT JERUK KEPROK (*Citrus reticulate*) TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MENGGUNAKAN METODE DPPH

Akrom Abdurrofi[1], Iswandi[1], Jena Hayu Widyasti[1]

Prodi S1 Farmasi Universitas Setia Budi
Email: iswandi2504@gmail.com

ABSTRACT

Fermentation is the process of chemical changes in an organic substrate through the action of enzymes which will then be produced by microorganisms. Eco enzyme is a complex organic liquid derived from the fermentation process of organic waste such as vegetables, fruits, sugar, and water. Tangerine peel (*Citrus reticulate*) has vitamin C content that can act as a natural antioxidant. The purpose of this study was to determine the vitamin C content, IC_{50} value, antioxidant activity and the effect of eco enzyme fermentation on the antioxidant activity of tangerine peel (*Citrus reticulate*). Determination of vitamin C content and antioxidant activity test of tangerine peel eco enzyme was conducted on the fermentation results of day 1, 3, and 5. Determination of vitamin C content using UV-Vis spectrophotometer and antioxidant activity testing using 2,2'-diphenyl-1 picrylhydrazyl (DPPH) radical capture method with vitamin C as a comparison. Data were processed using linear regression equation to obtain IC_{50} value. Data were then analysed using SPSS application with one way ANOVA method. The results of this study showed that the tangerine peel eco enzyme samples had vitamin C content, ranging from 64.95±0.62 mg/g in the positive control sample, 73.47±0.33 mg/g in sample 1, 113.61±1.55 mg/g in sample 2, and 95.94±0.3 mg/g in sample 3. The tangerine peel eco enzyme sample had IC50 values ranging from 318.73±6.38 for the positive control sample, 157.05±1.95 for sample 1, 133.26±5.12 for sample 2 and 329.03±3.87 for sample 3. The fermentation process on the tangerine peel eco enzyme sample affected the antioxidant activity of the sample through changes in vitamin C content in the sample.

Keywords: Orange peel, *eco enzyme*, antioxidant, vitamin C

ABSTRAK

Fermentasi merupakan proses perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aksi enzim yang kemudian akan dihasilkan oleh mikroorganisme. *Eco enzyme* adalah cairan organik komplek yang berasal dari proses fermentasi sisa organik seperti sayur, buah, gula, dan air. Kulit jeruk keprok (*Citrus reticulate*) memiliki kandungan vitamin C yang dapat berperan sebagai antioksidan alami. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kadar vitamin C, nilai IC_{50}, aktivitas antiokisdan dan pengaruh fermentasi *eco enzyme* terhadap aktivitas antioksidan kulit jeruk keprok (*Citrus reticulate*). Penetapan kadar vitamin C dan uji aktivitas antioksidan *eco enzyme* kulit jeruk keprok dilakukan pada hasil fermentasi hari ke 1, 3, dan 5. Penetapan kadar vitamin C menggunakan spektrofotometeri UV-Vis dan Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode penangkapan radikal *2,2'-difenil-1 pikrilhidrazil* (DPPH) dengan vitamin C sebagai pembanding. Data diolah menggunakan persamaan regresi linier untuk memperoleh nilai IC_{50}. Data kemudian dianalisa dengan menggunakan aplikasi SPSS dengan mentode *one way* ANOVA.Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa sampel *eco enzime* kulit jeruk keprok memiliki kandungan vitamin C, mulai dari 64,95±0,62 mg/g dalam sampel kontrol positif, 73,47±0,33 mg/g dalam sampel 1, 113,61±1,55 mg/g dalam sampel 2, dan 95,94±0,3 mg/g dalam sampel 3. sampel *eco enzime* kulit jeruk keprok memiliki nilai IC_{50} mulai dari 318,73±6,38 untuk sampel kontrol positif, 157,05±1,95 untuk sampel 1, 133,26±5,12 untuk sampel 2 dan 329,03±3,87 untuk sampel 3. Proses fermentasi pada sampel *eco enzyme* kulit jeruk keprok mempengaruhi aktivitas antioksidan dari sampel melalui perubahan kadar vitamin C pada sampel.

Kata Kunci: Kulit jeruk, *eco enzyme***,** antioksidan, vitamin C

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan di orbital terluarnya. Radikal bebas bersifat reaktif dan tidak stabil sehingga akan menyerang molekul lain untuk mencapai kestabilan. Molekul yang diserang akan menjadi radikal bebas kembali dan terjadilah reaksi berantai yang dapat menyebabkan kerusakan sel[1]. Radikal bebas memiliki banyak dampak buruk yang dapat dicegah menggunakan antioksidan dan tabir surya. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah oksidasi radikal bebas. Radikal bebas dalam jumlah berlebih membuat tubuh membutuhkan antioksidan dari luar tubuh atau antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen dapat berupa antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Penggunaan antioksidan alami saat ini semakin berkembang sebagai sarana pemanfaatan bahan alam dan dinilai lebih

terjangkau. Antioksidan dari bahan alami memiliki kandungan seperti vitamin C, vitamin E, pro vitamin A, α-tocopherol, flavonoid, dan fenolik[2].

Tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan alami salah satunya berasal dari famili Rutaceae, diantaranya adalah genus *Citrus*. Jenis jeruk (*Citrus)* yang sering dijumpai disekitar kita dan tinggi pemanfaatannya untuk dikonsumsi langsung dan diolah menjadi produk minuman adalah jeruk keprok. Bagian yang sering digunakan adalah daging buah dan air perasannya, sedangkan bagian kulit jeruk keprok tidak digunakan dan menjadi sampah. Industri pengolahan jeruk menghasilkan sejumlah besar limbah setiap tahun, yang mencapai lebih dari 40 juta ton di seluruh dunia[3].

Metode yang dapat digunakan untuk mengelola limbah organik salah satunya adalah dengan melakukan pembuatan *eco enzyme*. *Eco enzyme* adalah produk fermentasi dari bahan organik seperti kulit buah-buahan, sayur-sayuran dengan gula dan air. Pembuatan *eco enzyme*e dari bahan organik umumnya berasal dari kulit buah jeruk atau limbah dapur. Kulit buah jeruk digunakan karena memiliki sifat yang khas seperti aroma dan rasanya tajam yang merupakan indikator adanya asam asetat serta kaya nilai keasaman yang tinggi[4].

Ekstrak kulit jeruk keprok memiliki beberapa kandungan senyawa seperti flavonid, tanin, fenol, dan vitamin C[5]. Vitamin C merupakan zat organik yang dibutuhkan oleh tubuh manusia dalam jumlah kecil, untuk memelihara fungsi metabolisme, juga berperan sebagai antioksidan bagi tubuh manusia dan untuk menangkal radikal bebas[6]. Vitamin C secara signifikan dapat menurunkan efek samping spesies reaktif, seperti reaktif oksigen yang dapat menyebabkan kerusakan dengan reaksi oksidatif pada makromolekul, seperti: lipid, DNA, dan protein, yang mana terlibat dalam penyakit kronis termasuk neurodegenerative penyakit[7].

Pengujian antioksidan dapat dilakukan dengan teknik penangkapan radikal DPPH (2,2-diphenyl1-picrylhydrazyl). Metode DPPH mampu memberikan informasi tentang kereaktifan senyawa uji dengan radikal bebas. DPPH memiliki absorbansi yang kuat pada 517 nm dengan warna ungu gelap. Tingkat kekuatan aktivitas antioksidan senyawa uji dengan metode DPPH dapat digolongksan berdasarkan nilai IC_{50}. Dimana semakin rendah nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidannya semakin besar[8]. Metode fermentasi dapat meningkatkan kadar senyawa vitamin C, fenolik, dan flavonoid yang akan mempengaruhi aktivitas antioksidan suatu bahan. Ekstrak kulit jeruk keprok memiliki aktivitas antioksidan kategori kuat diuji menggunakan DPPH. Sehubungan dengan gambaran ini, tinjauan akan dilakukan untuk menentukan aktivitas antioksidan *eco enzyme* kulit jeruk keprok (*Citrus*

reticulate) terhadap radikal DPPH dan bagaimana potensial aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam nilai IC_{50}.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Toples, spektrofotometri UV-Vis, timbangan analitik, Silica gel G_{60} F_{254}, kuvet, labu ukur, pipet volume, aluminium foil, *chamber* dan alat gelas lainnya. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit jeruk keprok, gula, vitamin C, aquadest, HCI pekat, kloroform, amoniak, H_2SO_4, asam asetat glacial, butanol, bubuk Mg, metanol, $FeCl_3$ 1%, $FeCl_3$ 5%, n-heksana, etil asetat, eter, etanol 96% asam asetat, iodium dan DPPH dari Sigma.

Persiapan bahan

Kulit jeruk keprok yang digunakan adalah kulit jeruk usia muda dan dipetik secara acak. Kulit jeruk dipisahkan dari buah jeruk kemudian ditimbang sebanyak kurang lebih 2,0 kg lalu dicuci dengan air.

Pembuatan *eco enzyme*

Disiapkan 3 toples, tuangkan aquadest pada masing-masing toples sebanyak 1 L, lalu tambahkan kulit jeruk keprok sebanyak 300 g dan gula sebanyak 100 g pada tiap toples, perhatikan bahan agar tidak memenuhi volume toples keseluruhan, aduk campuran bahan sampai homogen lalu tutup toples agar udara tidak masuk lalu simpan toples di tempat yang jauh dari sinar matahari, fermentasi dilakukan selama 1 hari pada toples pertama, 3 hari pada toples kedua dan 5 hari pada toples ketiga dimana pada minggu pertama tutup toples dapat di buka maksimal 2 kali untuk membuang gas yang terbentuk. Setelah penyimpanan, lakukan penyaringan dari ampas dan ambil cairannya. Keberhasilan pembuatan *eco enzyme* ditandai dengan terbentuknya cairan berwarna coklat gelap dan beraroma khas fermentasi asam manis yang kuat.

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia terhadap *eco enzyme* kulit jeruk keprok meliputi pemeriksaan flavonoid, fenol, tanin, saponin dan vitamin C menggunakan metode reaksi tabung dan kromatografi lapis tipis (KLT).

Uji aktivitas antioksidan

Penelitian ini dilakukan dengan cara menguji aktivitas antioksidan terhadap fermentasi *eco enzyme*e kulit jeruk keprok (*Citrus reticulate*) diukur secara kuantitatif dengan menggunakan larutan DPPH 0,2 mM, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450-545 nm terhadap blangko 5,0 mL etanol p.a. Dalam penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai larutan pembanding.

Penentuan aktivitas antiradikal dilakukan dengan perhitungan inhibitory concentration (IC_{50}). Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi ekstrak dan vitamin C yang memberikan % aktivitas antiradikal sebesar 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis

regresi linier antara kadar terhadap % penangkapan radikal[9].

Rumus % Inhibisi DPPH adalah

$$= \frac{Absorbansi\ Blanko\ DPPH - Absorbansi\ Sampel}{Absorbansi\ Blanko\ DPPH} \times 100\%$$

Penetapan kadar vitamin C *eco enzyme* kulit jeruk keprok.

Fermentasi *eco enzyme* kulit jeruk keprok diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum. Larutan sampel dibuat dalam 3 kali percobaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan Bahan

Buah jeruk keprok segar didapatkan dari perkebunan jeruk Janti, Polan harjo, Kabupaten Klaten, Jawa Tengah. Buah jeruk dicuci dan dibersihkan dari pengotor menggunakan air kemudian dipisahkan antara kulit buah jeruk dengan daging buah jeruk. Kulit jeruk ditimbang sebanyak 300 gram kemudian dimasukkan kedalam botol plastik lalu ditambahkan dengan 100 gram gula jawa dan air sebanyak 1 liter kemudian didiamkan pada suhu kamar sesuai dengan variasi perlakuan. Hasil dari pembuatan *eco enzyme* ini adalah terbentuknya cairan berwarna coklat gelap dan beraroma khas fermentasi.

Identifikasi kandungan *Eco enzyme*

Identifikasi senyawa kimia pada *eco enzyme* kulit jeruk keprok be*Rf*ungsi untuk mengetahui zat metabolit sekunder yang terkandung didalam *eco enzyme* kulit jeruk keprok. Zat metabolit yang diuji pada penelitian ini antara lain flavonoid, tanin, fenol, saponin dan vitamin C. Hasil pengujian dibandingkan dengan pustaka yang ada. Hasil identifikasi kandungan senyawa terdapat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil identifikasi kandungan senyawa pada sampel

No	Identifikasi	Pereaksi	Hasil pada masing-masing perlakuan				
			Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3
1	Flavonoid	Serbuk Mg, HCl pekat	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
2	Tanin	$FeCl_3$	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
3	Fenol	$FeCl_3$	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
4	Saponin	HCL 2N	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
5	Vitamin C	Iodium	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)

Keterangan
Kontrol negatif : Larutan air + gula jawa
Kontrol positif : Larutan air + kulit jeruk
Sampel 1 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 1 hari
Sampel 2 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 3 hari
Sampel 3 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 5 hari

Identifikasi kandungan senyawa *eco enzyme* secara KLT

Selain dilakukan uji tabung, dilakukan juga uji identifikasi kandungan senyawa dengan metode kromatografi lapis tipis untuk mendukung hasil dari uji tabung. Hasil identifikasi kandungan senyawa terdapat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil identifikasi kandungan senyawa pada sampel

Sampel	Kode Bercak	*Rf*	Warna Bercak	
			UV 254	UV 366
Flavonoid (kuersetin)	Baku kuersetin	0,90	Terbentuk noda berwarna biru	Terbentuk noda berwarna biru
	Kontrol positif	0,90		
	1	0,90		
	2	0,90		
	3	0,90		
Fenol (Asam Galat)	Baku asam galat	0,90	Terbentuk noda berwarna biru kehitaman	Terbentuk noda berwarna biru kehitaman
	Kontrol positif	0,92		
	1	0,87		
	2	0,89		
	3	0,87		
Tanin (Asam Galat)	Baku asam galat	0,92	Terbentuknya noda berwarna hitam	Terbentuknya noda berwarna hitam
	Kontrol positif	0,93		
	1	0,93		
	2	0,93		
	3	0,93		
Saponin (Sapogenin)	Baku sapogenin	0,96	Tidak terbentuk noda	Tidak terbentuk noda
	Kontrol positif	-		
	1	-		
	2	-		
	3	-		
Vitamin C	Baku vitamin C	0,86	-	-
	Kontrol positif	0,86		
	1	0,87		
	2	0,87		
	3	0,86		

Keterangan
Kontrol positif : Larutan air + kulit jeruk
Sampel 1 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 1 hari
Sampel 2 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 3 hari
Sampel 3 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 5 hari

Berdasarkan hasil pengujian KLT yang dilakukan didapatkan bahwa kontrol positif, sampel 1, 2, dan 3 memiliki kandungan senyawa flavonoid, fenol, tanin, dan vitamin C .

Uji penetapan kadar vitamin

Penetapan kadar vitamin C pada sampel *eco enzyme* kulit jeruk keprok dilakukan pembacaan absorbansi sampel pada panjang gelombang 270 nm dan dibuat kurva baku 3 -15 ppm.

Tabel 3. Kurva baku vitamin C

PPM	Replikasi			Abs rata-rata
	Abs 1	Abs 2	Abs 3	
3	0,18	0,18	0,18	0,180
5	0,295	0,295	0,296	0,295
7	0,413	0,413	0,413	0,413
9	0,53	0,529	0,529	0,529
11	0,631	0,631	0,631	0,631
13	0,765	0,764	0,765	0,765
15	0,86	0,872	0,872	0,865

Berdasarkan hasil diatas didapatkan nilai asorbansi yang berada pada rentang 3 ppm sampai dengan 15 ppm memiliki persamaan regresi y=0,0571x+0,0109 dengan (R^2=0,9992) pada replikasi 1, y=0,0577x+0,0069 dengan (R^2=0,9995) pada replikasi 2, dan y=0,0577x+0,0071 dengan (R^2=0,9995) pada replikasi 3. Sehingga untuk persamaan regresi yang akan digunakan dalam penetapan kadar adalah y=0,0574 x+0,0091 dengan (R^2=0,9997)

Penetapan kadar vitamin C pada sampel *eco enzyme* kulit jeruk keprok dilakukan pembacaan absorbansi sampel pada panjang gelombang 270 nm. Hasil pembacaan absorbansi dan kadar vitamin C pada sampel dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Kadar vitamin C *eco enzyme* kulit jeruk keprok

Sampel	Replikasi			Kadar rata-rata (mg/g)
	1	2	3	
Kontrol positif	64,3813	65,6086	64,8690	64,95±0,62
Sampel 1	73,8312	73,4035	73,1831	73,47±0,33
Sampel 2	115,4047	112,6562	112,7785	113,61±1,55
Sampel 3	96,2836	95,7898	95,7410	95,94±0,3

Keterangan
Kontrol positif : Larutan air + kulit jeruk
Sampel 1 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 1 hari
Sampel 2 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 3 hari
Sampel 3 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 5 hari

Vitamin C merupakan peredam radikal bebas yang efektif terhadap oksigen tunggal dan radikal lainnya, vitamin C bereaksi dengan superoksida dan proton untuk menghasilkan hidrogen peroksida atau dengan radikal hidroksil untuk menghasilkan air. Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan kadar vitamin C dalam *eco enzyme* kulit jeruk keprok menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis berturut-turut adalah : 64,95±0,62 mg/g dalam sampel

kontrol positif, 73,47±0,33 mg/g dalam sampel 1, 113,61±1,55 mg/g dalam sampel 2, dan 95,94±0,3 mg/g dalam sampel 3. Hal ini menunjukkan bahwa fermentasi *eco enzyme* menyebabkan perbedaan (Sig < 0,05) kandungan kadar vitamin C pada sampel, peningkatan kadar vitamin C terjadi hingga fermentasi hari ke 3.

Pada sampel yang difermentasi selama 5 hari terjadi penurunan kandungan vitamin C, hal ini kemungkin disebabkan oleh peningkatan aktivitas enzim askorbat oksidase yang mungkin dihasilkan oleh mikroorganisme fermentasi yang sangat bergantung pada pH lingkungan fermentasi. Enzim ini mengubah asam askorbat menjadi asam dehidroaskorbat[10].

Uji Aktivitas Antioksidan *Eco enzyme*

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan terhadap larutan DPPH 0,1 mM yang diambil sebanyak 4 mL. Panjang gelombang yang dihasilkan digunakan untuk menentukan pembacaan dalam serapan larutan sampel agar didapatkan nilai IC_{50}. Panjang gelombang DPPH yang didapatkan adalah 517 nm dengan nilai absorbansi 0,7523. Hasil *operating time* yang didapatkan adalah 54-57 menit. Sampel *eco enzyme* diharapkan memiliki aktivitas antioksidan. Sampel dianggap memiliki aktivitas antioksidan apabila memiliki nilai IC_{50} yang kecil, semakin kecil nilai IC_{50} suatu sampel maka semakin baik pula aktivitas antioksidannya. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil uji aktivitas antioksidan

Sampel	Replikasi	IC_{50} (µ/mL)	R	Rata-rata IC_{50} (µ/mL)	Kategori
Baku Vitamin C	1	2,8657	0,9992	2,93±0,06	Sangat Kuat
	2	2,9472	0,9991		
	3	2,9893	0,9991		
Kontrol Positif	1	312,6223	0,9996	318,73±6,38	Lemah
	2	325,3572	0,9994		
	3	318,2028	0,9997		
Sampel 1	1	159,2597	0,9990	157,05±1,95	Lemah
	2	155,5854	0,9997		
	3	156,3061	0,9994		
Sampel 2	1	130,9645	0,9995	133,26±5,12	Sedang
	2	139,1237	0,9996		
	3	129,6881	0,9996		
Sampel 3	1	333,4240	0,9996	329,03±3,87	Lemah
	2	327,5299	0,9993		
	3	326,1425	0,9990		

Keterangan
Kontrol positif : Larutan air + kulit jeruk
Sampel 1 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 1 hari
Sampel 2 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 3 hari
Sampel 3 : Fermentasi air + kulit jeruk + gula jawa selama 5 hari

Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi senyawa uji yang dibutuhkan untuk mengurangi intensitas warna radikal bebas DPPH sebesar 50% dan merupakan parameter aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidannya akan semakin besar.

Berdasarkan hasil penelitian ini didapatkan nilai IC_{50} dari sampel *eco enzyme* kulit jeruk keprok berturut-turut adalah 318,73±6,38 untuk sampel kontrol positif, 157,05±1,95 untuk sampel 1, 133,26±5,12 untuk sampel 2 dan 329,03±3,87 untuk sampel 3 dengan vitamin C sebagai pembanding yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 2,93±0,06. Hal ini menunjukkan bahwa fermentasi *eco enzyme* menyebabkan perubahan yang signifikan (Sig < 0,05) terhadap kemampuan antioksidan dari sampel.

Hasil penelitian ini menunjukkan baku vitamin C memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, dan sampel kontrol memiliki aktivitas antioksidan yang lemah. Sedangkan pada sampel 1,2 dan 3 terjadi peningkatan aktivitas antioksidan pada sampel 1 ke sampel 2 dengan aktivitas antioksidan kategori sedang, pada sampel 3 terjadi penurunan aktivitas antioksidan menjadi kategori lemah.

Sampel *eco enzyme* yang di fermentasi selama 3 hari menunjukkan kemampuan penangkap radikal DPPH tertinggi, berbeda dengan sampel kontrol positif, sampel 1 dan sampel 3. Perbedaan kemampuan penangkap radikal DPPH dipengaruhi oleh kandungan vitamin C, fenolik, dan flavonoid dari kulit jeruk. Hal ini telah diamati oleh para peneliti sebelumnya dimana terdapat korelasi antara kandungan fenolik dengan aktivitas antioksidan[11].

Pada penelitian ini terjadi peningkatan aktivitas antioksidan pada sampel fermentasi *eco enzyme* kulit jeruk keprok hingga hari ke 3. Peningkatan ini terjadi karena saat fermentasi berlangsung mikroorganisme mulai memecah ikatan senyawa fenolik dan flavonoid, yang membebaskan senyawa-senyawa tersebut untuk secara aktif berperan sebagai antioksidan[12]. Pada sampel fermentasi *eco enzyme* kulit jeruk selama 5 hari terjadi penurunan aktivitas antioksidan pada sampel. Hal ini karena peningkatkan waktu fermentasi dapat memungkinkan mikroorganisme untuk menggunakan senyawa yang tersedia sebagai substrat untuk pertumbuhan, sehingga mengurangi konsentrasi sampel. Oleh karena itu, periode fermentasi sangat penting untuk memastikan pemecahan ikatan senyawa secara optimal, tetapi tidak memungkinkan senyawa menjadi substrat untuk pertumbuhan mikroba[13].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapatkan dapat disimpulkan bahwa

1. Sampel *eco enzime* kulit jeruk keprok memiliki kandungan vitamin C, mulai dari 64,95±0,62 mg/g dalam sampel kontrol positif, 73,47±0,33 mg/g dalam sampel 1, 113,61±1,55 mg/g

dalam sampel 2, dan 95,94±0,3 mg/g dalam sampel 3.

2. Sampel *eco enzime* kulit jeruk keprok memiliki aktivitas antioksidan dengan Nilai IC50 dari sampel adalah 157,05±1,95 untuk sampel 1, 133,26±5,12 untuk sampel 2 dan 329,03±3,87 untuk sampel 3.

SARAN

Perlunya dilakukan penelitian antioksidan *eco enzyme* kulit jeruk keprok dengan menggunakan metode lain agar dapat diketahui potensinya terhadap jenis radikal bebas yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L, 2015, Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. In Indian Journal of Clinical Biochemistry (Vol. 30, Issue 1). https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0
2. Werdhasari, A, 2014, Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia, 3(2).
3. Sharma, K., Mahato, N., & Lee, Y. R. ,2019, Extraction, Characterization And Biological Activity Of Citrus Flavonoids. Reviews in Chemical Engineering, 35(2). https://doi.org/10.1515/revce-2017-0027
4. Vama, L., & Cherekar, M. N, 2020, Production, Extraction and Uses of Eco-Enzyme Using Citrus Fruit Waste: Wealth From Waste. Biotech. Env. Sc, 22(2).
5. Hasanah, U.,2018, Penentuan Kadar Vitamin C Pada Mangga Kweni Dengan Menggunakan Metode Iodometri. Jurnal Keluarga Sehat Sejahtera.
6. Lung, J. K. S., & Destiani, D. P. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH. Farmaka Suplemen, 15(1).
7. Achyadi, N. S., Taufik, Y., & Khairunissa, D. I.,2018, Pengaruh Konsentrasi Bubur Buah Dan Tepung Kedelai Terhadap Karakteristik Fit Bar Black Mulberry. Pasundan Food Technology Journal, 4(3). https://doi.org/10.23969/pftj.v4i3.670
8. Andriani, D., & Murtisiwi, L.,2020, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (Clitoria ternatea L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH. Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia, 17(1). https://doi.org/10.23917/pharmacon.v17i1.9321
9. Yunita, E., Arifah, E. N., & Tamara, V. F., 2019, Validasi Metode Penetapan Kadar Vitamin C Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*) secara Spekteofotometri UV-Vis. PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia), 16(1). https://doi.org/10.30595/pharmacy.v16i1.4552

10. F.O Adetuyi, A.U Osagie, A. . A.,2008, Antioxidant Degradation in Six Indigenous Okra Abelmoschus esculentus (L) Moench Varieties During Storage in Nigeria. Journal of Food Technology, 6(5)
11. Ademiluyi, A. O., & Oboh, G., 2011,. Antioxidant Properties Of Condiment Produced From Fermented Bambara Groundnut (Vigna subterranea l. verdc). Journal of Food Biochemistry, 35(4). ttps://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2010.00441.x
12. Moktan, B., Saha, J., & Sarkar, P. K. (2008). Antioxidant Activities Of Soybean As Affected By Bacillus-Fermentation To Kinema. Food Research International, 41(6). https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.04.003
13. Karimi, E., Oskoueian, E., & HZE, R. H. J, 2010, Solid State Fermentation Effects on Pistachio Hulls Antioxidant Activities. KKU Research Journal, 15(5).