4. PEMBAHASAN

Air merupakan kebutuhan utama sekaligus penunjang kesehatan alami bagi manusia dimana kandungan mineral didalamnya harus benar-benar terjaga dengan baik. Sebagian masyarakat mulai menyadari akan pentingnya kesehatan dengan dibantu oleh para ahli gizi dan memperkenalkan *trend* baru bernama *infused water*. *Infused water* merupakan air yang ditambahkan dengan berbagai jenis buah atau sayuran dengan cara direndam dalam beberapa waktu agar senyawa penting didalam buah atau sayuran tersebut dapat terekstrak keluar dan masuk ke dalam air serta nilai plus dari produk ini ialah tidak dilakukan penambahan gula atau zat aditif lain sehingga aman untuk dikonsumsi secara rutin serta bisa mendapatkan sensasi rasa dan aroma yang khas juga manfaat lebih bagi kesehatan dibandingkan hanya mengkonsumsi air mineral biasa (Harifah *et al*., 2014). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui senyawa bioaktif seperti flavonoid dan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam sayuran dimana sangat bermanfaat bagi kesehatan. Jenis sayur yang digunakan dalam pembuatan *infused water* yaitu seledri. Menurut Menurut Arisandi R. dan Sukohar A. (2016) seluruh bagian seledri terdapat senyawa fenol seperti flavonoid, apiin, apigenin, isokuersitrin serta senyawa lain yakni tanin, seleri, bergapten, apiumosida, apiumetin, apigravrin, ostenol, isopimpinellin, isoimperatorin, selereosida, dan 8-hidroksi metoksipsoralen juga minyak atsiri dan beberapa vitamin.

Pembuatan *infused water* ini menggunakan prinsip difusi atau terjadi pengeluaran senyawa (*leaching*) dari daun seledri ke dalam air. Proses difusi merupakan perpindahan suatu senyawa dari yang berkonsentrasi tinggi ke rendah seperti halnya perpindahan dari daun seledri ke dalam air ini dengan ditandai adanya perpindahan senyawa selama beberapa waktu perendaman dan terjadi perubahan fisik pada daun seledri menjadi layu kusam atau tidak segar lagi seperti semula. Air yang digunakan dalam pembuatan *infused water* ini adalah air minum dalam kemasan (AMDK) yang disimpan dalam 2 jenis kemasan berbahan kaca dan plastik. Penyimpanan *infused water* ini dilakukan dalam suhu rendah (refrigerator) selama 0 hingga 24 jam, pada jam ke-0, 1, 2, 4, 6, 12, 18, dan 24 dilakukan pengujian aktivitas antioksidan, kadar flavonoid, tingkat kekeruhan serta uji organoleptik berupa sensori *rating* hedonik dengan 4 macam atribut meliputi aroma, rasa

warna, dan secara keseluruhan (*overall*).

4.1. Proses Pembuatan *Infused Water*

Pembuatan diawali dengan memilah daun seledri segar yang kurang lebih lebar daunnya seragam lalu menimbangnya sebanyak 15 gram berukuran 5x2 cm ke dalam kemasan berbahan kaca dan plastik yang berisi air minum dalam kemasan (AMDK) merek *club* sebanyak 200 mL. Pemilahan daun seledri tanpa menggunakan batangnya dilakukan karena menurut Sukandar *et. al*., (2006) daun seledri mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, apiin, saponin, tanin, apigenin, minyak atsiri, kolin, zat pahit asparagin serta vitamin A, B, dan C yang bermanfaat bagi kesehatan. Pada pembuatan *infused water* ini terjadi proses difusi, dimana difusi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, perbedaan konsentrasi, bahan penyusun atau matriks serta tekanan (Yahya, 2015).

Infused water dimasukkan ke dalam jar berbahan kaca dan plastik kemudian disimpan dalam suhu rendah (refrigerator) sekitar 4°C selama 0 hingga 24 jam untuk melihat kinetika *leaching* senyawa biokatif yang terdapat pada daun seledri. Menurut Blongkod *et al*., (2016) bahwa penyimpanan suhu rendah memiliki beberapa manfaat secara fisiologis seperti menghambat proses penguapan dan aktivitas mikroorganisme sehingga kualitas daun seledri tetap terjaga dengan baik, selain itu Blongkod *et al*., (2016) menambahkan bahwa penyimpanan suhu rendah dapat mengurangi tidak hanya pertumbuhan mikroorganisme namun juga proses penuaan atau pelayuan dan respirasi pada bahan segar. Namun, suhu penyimpanan harus tetap terjaga dengan tidak boleh terlalu tinggi juga terlalu rendah hal ini dikarenakan penggunaan suhu yang tinggi akan mempercepat proses pembusukan daun seledri dan suhu yang rendah akan merusak jaringan daun seledri. Salah satu penyebab terjadinya pelayuan ialah proses transpirasi (penguapan air) yang dilakukan melalui stomata pada daun, dimana aktivitas membuka dan menutupnya stomata dipengaruhi oleh suhu jika suhu tinggi stomata akan membuka maka daun cepat layu namun jika suhu relatif rendah maka stomata akan menutup (Ester *et al*. 2007).

4.2. Analisa Kimia pada *Infused Water* Daun Seledri

4.2.1. Aktivitas Antioksidan pada *Infused Water* Daun Seledri

Senyawa fitokimia mampu memberi identitas yang khas pada masing-masing jenis tumbuhan. Antioksidan merupakan salah satu jenis senyawa fitokimia yang terdapat pada tanaman seledri bermanfaat dalam menangkal radikal bebas, sehingga antioksidan ini dapat diartikan sebagai senyawa atau komponen yang dalam jumlah tertentu dapat berfungsi menghambat kerusakan yang disebabkan oleh proses oksidasi pada bahan pangan (Yenrina dan Sayuti, 2015). Antioksidan *infused water* menggunakan daun seledri dikarenakan kandungan flavonoid, apiin, saponin, tanin, apigenin, minyak atsiri, kolin, zat pahit asparagin serta vitamin A, B, dan C yang terdapat didalamnya (Sukandar *et. al*. 2006).

Pengujian aktivitas antioksidan ini dilakukan dengan mencampur 0,1 mL sampel dengan larutan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) konsentrasi 100 ppm sebanyak 3.9 mL (terdiri dari 2,4 mg DPPH dalam 100 mL metanol) lalu diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 517 nm menggunakan alat spektrofotometer, hal ini menurut Nishizawa *et al*. (2005) bahwa DPPH sebagai penentu aktivitas antioksidan. DPPH berperan sebagai radikal bebas berubah menjadi 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin yang bersifat non-radikal yang reaksinya ditandai dengan perubahan warna ungu tua menjadi merah muda atau kuning pucat (Molyneux, 2004).

Pada daun seledri nilai aktivitas antioksidan yang terukur sebesar 60,141% per 100 gram bahan (Tabel 2). Pembuatan *infused water* hanya menggunakan 15 gram daun seledri sehingga aktivitas antioksidan yang menjadi perbandingan dengan *infused water* adalah 9,021% per 15 gram bahan. Hasil aktivitas antioksidan tertinggi menggunakan 15 gram/200 mL *infused water* didapatkan pada perendaman jam ke-6 menggunakan kemasan kaca sebesar 0,148 % dan perendaman jam ke-12 sebesar 0,201 % menggunakan kemasan plastik. Sedangkan hasil aktivitas antioksidan terendah pada waktu awal perendaman pada kemasan kaca sebesar 0,007 % dan kemasan plastik tidak terdeteksi adanya aktivitas antioksidan (Tabel 3). Hal ini didukung pernyataan Haitami *et al*. (2017) bahwa dalam pembuatan *infused water* waktu perendaman berkisar 4 hingga 12 jam pada suhu rendah (refrigerator). Nilai aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada rentang waktu optimal pembuatan *infused water* yaitu perendaman jam ke-6, sedangkan nilai aktivitas antioksidan terendah terjadi pada waktu awal perendaman hal tersebut karena

belum terjadi perpindahan senyawa dari dalam daun seledri (konsentrasi tinggi) yang menembus secara difusi ke dalam air (konsentrasi rendah). Yahya (2015) menyatakan bahwa proses difusi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, perbedaan konsentrasi, bahan penyusun atau matriks serta tekanan sehingga hal ini memberikan pengaruh pada hasil aktivitas antioksidan dengan adanya variasi waktu perendaman.

Aktivitas antioksidan sampel pada kemasan kaca dan kemasan plastik meningkat seiring bertambahnya waktu perendaman dari jam ke-0 hingga jam ke-6 lalu mengalami penurunan pada perendaman jam ke-8 hingga jam ke-24 kecuali pada perendaman jam ke-12 dengan kemasan plastik justru mengalami peningkatan. Peningkatan dan penurunan nilai aktivitas antioksidan ini dapat terjadi dikarenakan aktivitas antioksidan itu sendiri dipengaruhi oleh banyak faktor seperti suhu, tekanan oksigen, komponen kimia bahan pangan seperti air, dll (Yenrina dan Sayuti, 2015). Othman (2005) menambahkan bahwa antioksidan akan terus melepaskan atom hidrogen selama proses oksidasi berlangsung untuk menetralisir radikal peroksida (oksigen) yang membuat aktivitas antioksidan semakin menurun seiring bertambahnya waktu perendaman. Pada sampel terdapat *headspace* ruang antara permukaan bahan dan kemasan yang berisi udara atau oksigen membuat antioksidan bereaksi dengan radikal bebas (oksigen) sehingga mempengaruhi nilai aktivitas antioksidan menjadi mengalami penurunan seiring bertambahnya waktu perendaman. Namun secara keseluruhan tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara penggunaan pada kedua jenis kemasan (Utami *et al*. 2018).

Pada Tabel 6 dan 7 dapat dilihat bahwa terdapat korelasi antara aktivitas antioksidan dengan TPC dan kekeruhan pada kemasan kaca namun tidak ditemukan korelasi pada kemasan plastik. Menurut Zubia *et al*. (2007) aktivitas antioksidan memang memiliki hubungan yang erat dengan senyawa fenol. Lee *et al*. (2004) menambahkan bahwa polifenol bersifat sebagai antioksidan karena memiliki kemampuan mendonorkan atom hidrogen, pengikat logam, dan menangkap radikal bebas yang bertindak sebagai metabolit sekunder. Antara kemasan kaca dan kemasan plastik memiliki perbedaan dikarenakan kemasan berbahan plastik memiliki permeabilitas atau kemampuan menembus membran yang lebih dibandingkan kemasan berbahan kaca (Marsh and Bugusu, 2007).

4.2.2. Kadar Flavonoid/*Total Phenolic Content* (TPC) pada *Infused Water* Daun Seledri

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenolik terbesar yang biasa ditemukan dalam sayur dan buah-buahan yang dapat berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang bersifat membahayakan bagi kesehatan manusia (Yenrina dan Sayuti, 2015). Senyawa fenol dapat menangkap sejumlah senyawa dengan sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil dan gugus hidroksil ini menyebabkan senyawa fenol bersifat polar yang larut dalam pelarut polar (Matheos *et al*, 2014). Hal ini didukung dengan pernyataan Rijke (2005) bahwa flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Menurut Arisandi R. dan Sukohar A. (2016) seluruh bagian seledri terdapat senyawa fenol seperti flavonoid, apiin, apigenin, isokuersitrin serta senyawa lain yakni tanin, seleri, bergapten, apiumosida, apiumetin, apigravrin, ostenol, isopimpinellin, isoimperatorin, selereosida, dan 8-hidroksi metoksipsoralen juga minyak atsiri dan beberapa vitamin.

Pengujian kadar flavonoid ini dilakukan dengan mencampurkan 1 mL sampel dengan 2,5 mL folin ciocalteu (10-fold-diluted) yang merupakan pengenceran dari 10 mL *folin ciocalteau* dengan 90 mL aquades dan 2 mL Na_2CO_3 (7,5%). Selanjutnya larutan dihomogenkan selama 1 menit dan diinkubasi pada suhu ruang selama 15 menit. Larutan tersebut dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm. Untuk menghitung kandungan total fenol pada sampel maka dibuat juga kurva kalibrasi dengan menggunakan asam gallat yang dilarutkan dalam methanol. Hasil pengujian dihitung sebagai mg *galic acid* per 100 gram buah (mg GAE/100 g buah). Menurut Amin *et al*. (2004) bahwa untuk mengetahui total fenol dalam bahan pangan menggunakan metode folin ciocalteu. Pada daun seledri kadar flavonoid yang terukur sebesar 34,048 mg GAE per 100 gram bahan (Tabel 2). Pembuatan *infused water* hanya menggunakan 15 gram daun seledri sehingga kadar flavonoid yang menjadi perbandingan dengan *infused water* adalah 5,107 mg GAE per 15 gram bahan. Secara keseluruhan hasil kadar flavonoid pada sampel mengalami peningkatan dan penurunan, hal ini didukung pernyataan Kitao dan Sekine (1993) bahwa tingkat kelarutan serta stabilitas flavonoid yang cukup rendah. Hasil kadar flavonoid tertinggi menggunakan 15 gram/200 mL *infused water* didapatkan pada perendaman jam ke-12 menggunakan kemasan kaca yaitu

sebesar 3,186 ppm dan menggunakan kemasan plastik sebesar 6,048 ppm sedangkan nilai terendah terjadi pada perendaman jam ke-6 menggunakan kemasan kaca sebesar 0,767 ppm dan perendaman jam ke-4 menggunakan kemasan plastik sebesar 0,903 ppm (Tabel 4). Haitami *et al*. (2017) menyatakan bahwa dalam pembuatan *infused water* waktu perendaman berkisar antara 4 hingga 12 jam pada suhu rendah (refrigerator).

Leaching atau proses difusi senyawa membutuhkan waktu untuk zat terlarut (konsentrasi tinggi) dapat menembus membran hingga keluar dan bercampur dengan pelarut (konsentrasi rendah) hal ini terjadi pada waktu awal perendaman hingga jam ke-2 belum terdeteksi adanya kadar flavonoid pada kedua jenis yang berarti belum terjadi perpindahan senyawa dari dalam daun seledri (konsentrasi tinggi) ke dalam air (konsentrasi rendah). Perendaman jam ke-18 dan jam ke-24 pada kemasan kaca sudah tidak terdeteksi adanya kadar flavonoid dibandingkan pada kemasan plastik dimana masih ditemukan adanya kadar flavonoid hingga waktu akhir perendaman. Perbedaan kemasan yang digunakan mempengaruhi hasil kadar flavonoid dimana secara keseluruhan kadar flavonoid pada kemasan plastik lebih tinggi dibandingkan pada kemasan kaca. Penggunaan kemasan kaca diperoleh hasil yang lebih rendah dari kemasan plastik dikarenakan ukuran yang digunakan berbeda dimana kemasan kaca memiliki ukuran yang lebih besar sehingga menyebabkan *headspace* ruang antara permukaan bahan dan kemasan berisi udara atau oksigen lebih besar, hal ini berarti potensi senyawa flavonoid dalam daun seledri yang direndam bereaksi dengan radikal bebas (oksigen) lebih besar pula menyebabkan hasil kadar flavonoid mengalami penurunan yang lebih signifikan seiring bertambahnya waktu perendaman (Utami *et al*. 2008).

Gambar 7. *Headspace* pada kemasan kaca dan kemasan plastik yang digunakan

Pada Tabel 6 dan 7 dapat dilihat bahwa terdapat korelasi antara TPC dengan aktivitas antioksidan namun tidak ditemukan adanya korelasi dengan kekeruhan pada kemasan kaca, demikian sebaliknya pada kemasan plastik. Menurut Zubia *et al*. (2007) aktivitas antioksidan mempunyai hubungan yang erat dengan senyawa fenol sehingga terdapat korelasi antara TPC dan aktivitas antioksidan.

4.2.2. Uji Kekeruhan (Turbiditas)

Pengujian tingkat kekeruhan ini dilakukan dengan cara sebelum sampel diukur, alat dikalibrasi dengan beberapa standar kekeruhan yang tersedia dan kaca tabung dibersihkan dengan *tissue*. Kemudian sampel dikocok dengan baik, dan didiamkan hingga tidak ada lagi gelembung udara. Lalu sampel dituangkan ke dalam tabung turbidimeter hingga mencapai leher tabung dan ditutup. Tabung dimasukkan dalam lubang *sample cell*, bagian atas, serta lubang ditutup dengan penutup untuk menghindari cahaya yang masuk dari luar lubang dan sementara itu tabung tidak boleh dikocok untuk menghindari adanya gelembung udara. Menurut Nuzula dan Endarko (2013) turbidimeter merupakan alat untuk mengetahui tingkat kekeruhan air. Hasil kekeruhan yang diperoleh secara keseluruhan mengalami kenaikan lalu penurunan, kenaikan pada perendaman menggunakan kemasan kaca terjadi pada jam ke-18 sebesar 12,808 NTU dan perendaman menggunakan kemasan plastik terjadi pada jam ke-24 sebesar 20,26 NTU sedangkan nilai kekeruhan terendah pada waktu peredaman awal pada kedua jenis kemasan sebesar 0 NTU (belum terdeteksi adanya kekeruhan) (Tabel 5). Hal ini dikarenakan pada awal perendaman belum terjadi pengeluaran (*leaching*) senyawa dari daun seledri sehingga masih belum terdeteksi kekeruhannya sedangkan semakin lama waktu perendaman akan semakin banyak senyawa yang keluar bahkan mengalami kejenuhan setelah melewati perendaman selama 12 jam menyebabkan air menjadi sangat keruh, hal ini juga didukung oleh pernyataan Haitami *et al*. (2017) bahwa dalam pembuatan *infused water* waktu perendaman berkisar 4 hingga 12 jam saja pada suhu rendah (refrigerator).

Secara umum, memasukkan suatu bahan pangan ke dalam air akan menyebabkan keluarnya zat/komponen yang bersifat larut dalam air sehingga dapat menimbulkan kekeruhan setelah dilakukan beberapa waktu perendaman. Hal ini didukung pernyataan Harifah *et al*. (2014) bahwa *infused water* merupakan air yang ditambahkan berbagai jenis

buah maupun sayuran dengan cara direndam dalam beberapa waktu agar senyawa penting didalam buah atau sayuran tersebut dapat terekstrak keluar dan masuk ke dalam air. Hasil pada Tabel 6 dan 7 menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara kekeruhan dengan aktivitas antioksidan namun tidak dengan TPC pada kemasan kaca, demikian sebaliknya pada kemasan plastik. Kekeruhan memiliki korelasi dengan aktivitas antioksidan pada kemasan kaca dan TPC pada kemasan plastik ini membuktikan bahwa selama waktu perendaman terjadi *leaching* atau keluarnya senyawa dari daun seledri ke dalam air. Dengan demikian, untuk menilai banyak atau sedikitnya kandungan bioaktif di *infused water* dapat dilihat dari kekeruhannya dimana semakin tinggi angka kekeruhan maka aktivitas antioksidan dan TPC didalamnya semakin tinggi pula.

4.2.3. Uji Organoleptik (Sensori *Rating* Hedonik)

Analisa sensori merupakan suatu metode ilmiah untuk menafsirkan tanggapan terhadap suatu produk melalui indera penciuman, penglihatan, rasa, sentuhan juga suara (Yamagata Y. dan Sugawara Y., 2014). Metode analisa sensori yang dilakukan jenis *rating* hedonik dimana hal ini bertujuan untuk mengetahui penerimaan konsumen secara acak pada tiap masing-masing atribut yang diujikan meliputi aroma, warna, rasa juga *overall* (keseluruhan) dengan memberi skor 1 (tidak suka), 2 (netral), dan 3 (suka). Sampel *infused water* yang digunakan ialah dengan waktu perendaman jam ke-2, 6, dan 12 dalam kemasan berbahan kaca, pemilihan ini dilakukan karena *infused water* perendaman jam ke-2 merupakan waktu awal *leaching* senyawa bioaktif dari daun seledri, perendaman jam ke-6 dimana waktu paling efektif dikarenakan pada perendaman ini diperoleh hasil senyawa antioksidan dan kadar flavonoid tertinggi, sedangkan perendaman jam ke-12 dikarenakan waktu maksimal *leaching* senyawa bioaktif pada daun seledri sebelum mengalami penurunan yang signifikan.

Pada Tabel 7 menunjukkan hasil pengujian sensori terhadap perendaman daun seledri pada jam ke-2 (sampel A), jam ke-6 (sampel B), dan jam ke-12 (sampel C) dalam kemasan berbahan kaca. Hasil sensori tertinggi pada atribut aroma sampel B perendaman jam ke-6 sedangkan hasil terendah pada sampel A perendaman jam ke-2, hal ini dikarenakan pada awal perendaman belum terjadi *leaching* senyawa dari daun seledri sehingga belum dihasilkan aroma yang kuat. Hasil pada atribut warna hasil tertinggi yaitu

diperoleh sampel A perendaman jam ke-2 sedangkan hasil terendah pada sampel B perendaman jam ke-6, hal ini dikarenakan pada awal perendaman masih terlihat bening (belum keruh) yang membuat panelis lebih tertarik memilih sampel tersebut. Sensori pada atribut rasa hasil tertinggi diperoleh sampel B perendaman jam ke-6 sedangkan hasil terendah diperoleh sampel A perendaman jam ke-2, hal ini dikarenakan waktu pembuatan *infused water* yang ideal ialah perendaman selama 4 hingga 12 jam sebelum mencapai waktu maksimal rasa dari *infused water* masih enak karena larutan belum terlalu jenuh atau mungkin terjadi pelayuan yang mengubah rasa dari *infused water* itu sendiri. Namun dari keempat jenis atribut yang diuji antar sampel tidak ditemukan adanya perbedaan yang signifikan, dimana scara keseluruhan panelis memberikan skor rata-rata berkisar 1 dan 2 hal ini berarti panelis cenderung tidak suka atau netral saja sehingga produk *infused water* ini membutuhkan perbaikan secara sensoris dikarenakan penerimaan yang tergolong masih kurang atau rendah dalam masyarakat.