



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**IDENTIFIKASI SERTA APLIKASI SENYAWA ANTOSIANIN DARI
BUAH TERUNG BELANDA (*Cyphomandra betacca sendt*)
SEBAGAI PEWARNA ALAMI PADA MINUMAN**

SKRIPSI



**ELISABET
07932018**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

**IDENTIFIKASI SERTA APLIKASI SENYAWA ANTOSIANIN DARI BUAH
TERUNG BELANDA (*Cyphomandra betacea* sendt) SEBAGAI PEWARNA
ALAMI PADA MINUMAN**

**Oleh :
Elisabet**

Skripsi ini diajukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Andalas

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2011**

Lembar Pengesahan

Karakterisasi Serta Aplikasi Senyawa Anthocyanin Dari Daging Buah Terung Belanda (*Cyphomandra Betacea Sendt*) Sebagai Pewarna Alami Minuman, makalah hasil oleh Elisabet (07932018) diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S1) Kimia Organik Bahan Alam pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.

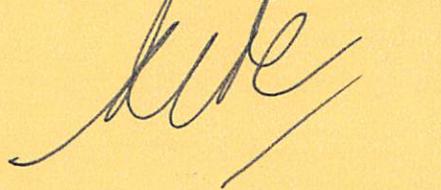
Disetujui Oleh :

Pembimbing I



Dr. Adlis Santoni
NIP. 196212031988111002

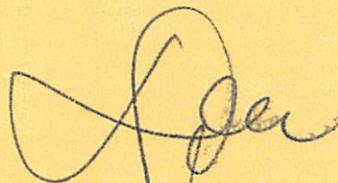
Pembimbing II



Dr. Djaswir Darwis, MS. DEA
NIP. 195012081980031001

Mengetahui :

Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Andalas



Dr. Adlis Santoni
NIP. 196212031988111002



Dpd Thanks to...

Syukur Alhamdulillah akhirnya sebuah karya kecil ini dapat terselesaikan juga. Semua itu tak akan mungkin terjadi tanpa izin dari Sang penguasa alam semesta Allah SWT, dan junjungan ku Nabi Muhammad SAW.

Terima kasih ya Allah atas setiap hembusan nafas, rezeki, karunia dan kesempatan yang telah Engkau berikan walaupun hamba-Mu ini terkadang belum bisa sepenuhnya bersyukur atas apa yang telah Engkau berikan. Semoga kelak hamba dapat berguna dan mensyukuri semua nikmat yang Engkau beri. Amin.....

Penulisan skripsi ini juga tak lepas dari dukungan berbagai pihak, yaitu :

Kedua orang tua Q tercinta (Hendri Gozali & Rasi'ah) yang tak henti-hentinya memberikan kasih sayang, dorongan, motivasi dan semangat kepada ananda sehingga ananda dapat memberikan karya kecil ini dan menyelesaikan pendidikan ananda hingga jenjang perguruan tinggi. Koko Q (Mulyadi, Amd) atas motivasi yang diberikan, tempat berbagi keluh kesah. Adik2 Q tersayang (Fonny Fitri & Yoserizal), smoga kelak dapat menjadi kebanggaan orang tua Q....

Buk Len (analis kami tercinta), terima kasih atas nasehat, sayang dan perhatian ibuk selama Sa menjalani penesitian di Labor K.O.B.A. Kak S2 K.O.B.A: Kiki Kurniawan, M. Si (Tx 4 everything da. Tx buat ilmu, waktu, dan tenaga yang ud berikan. Makasi atas smangat & nasehat yang ny da). Dg Lismi & K' Yani (makasi dah berbagi ilmu sama Sa kak

\$ abg. Smoga jd keluarga Samara, hehehe...). Kak Kiki (Smangat kak....), Bg dedy en Bg Hendry (makasi dah nemenin Sa sgambis sampel plus jasan2ny...), Ni Adiak (smangat nyari krstal ni), da Phyto, da Rejak, da Heru

Rekan-rekan K.O.B.A 2007 : Allez "karambia" (tq buat bukuzny, ilmuny, semuanya sah yang ndak bisa di sebut cieki..), Qori (accok2 main k sab Q), Dian, Jie, Dini, Yosi, Nanahe, Erik (tx buat durianny Rik..), Mas Abdi, Hendra "Icun" (diet sai bia sangsing, hahaha..), Pual "hell boy" (maniak india, tq tuk galak2nyo paul..), Alfion.

Keluarga Besar So_cH4 : nilam "pir" (yq dah nosongin Sa bikin buffer), ame, cipuik "puz", fani, ayu "loading" (tq dah jadi tempat curhat Sa. Bilo wk karaokean liak... pengen manggila bareng kashian...), hisfi, nesya, gita, arif, vz (tq dah boleh numpang kerja di sab bawah), nila "kur", wit "jeng", riki, rianda, miauw, semong, icul, mahar, doni, yana, rika, lupi, mak uo (sobok mak uo takana utang. Hahahaha), cuyun, boim (tq tumpangan pulang en ngampus ny boy). Smua yang tak dapat disebut satu per satu.. makasi atas smua yang telah kashian berikan...

Keluarga besar 018 : 06 (da Ragil, Bg tinov), 07 (fi2, my sobep), 08 (Fani, Nina), 09 (Widya), 010 (Wulan, Fajri)...

Kakak2 2004, 2005, 2006 serta adik2 2008, 2009, & 2010. Smua pihak yang telah berjasa atas selesainya karya kecil ini yang tak dapat disebut satu persatu. Trima kasih atas smuanya.....

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia yang tiada henti kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan makalah hasil yang Berjudul **Identifikasi Serta Aplikasi Senyawa Antosianin Dari Buah Terung Belanda (*Cyphomandra Betacea Sendt*) Sebagai Pewarna Alami Pada Minuman.**

Makalah ini ditulis sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S1) yang didapat dari penelitian bidang Kimia Organik Bahan Alam di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas Padang.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Orang tua serta keluarga yang telah memberikan dorongan moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan hingga jenjang perguruan tinggi.
2. Bapak Dr. Adlis Santoni dan Bapak Dr. Djaswir Darwis, MS, DEA selaku pembimbing yang telah memberikan banyak ilmu, nasehat, bimbingan dan arahan selama penulis melakukan penelitian dan penulisan skripsi ini.
3. Dr. Mai Efdi M.Si sebagai koordinator pendidikan yang telah memberikan perhatian dan berbagi ilmu kepada penulis.
4. Ibu Mitralena selaku analis di laboratorium Kimia Organik Bahan Alam.
5. Ibu Nofrida, S.Sos yang telah membantu dalam pengadaan zat.
6. Keluarga besar KOBA 2007, kakak-kakak S2 KOBA serta teman-teman senasib dan sepenanggungan yang telah memberikan dorongan dan semangat kepada penulis.

7. Keluarga besar So₂CH₄ yang telah memberikan dorongan dan masukan kepada penulis.
8. Semua pihak yang telah berjasa hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Menyadari keterbatasan penulis dalam melakukan penelitian ini, penulis berharap kritik dan saran dari para pembaca yang bersifat membangun agar penelitian ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan.

Padang, Juli 2011

Penulis

ABSTRAK

IDENTIFIKASI SERTA APLIKASI SENYAWA ANTOSIANIN DARI BUAH TERUNG BELANDA (*Cyphomandra betacea* sendt) SEBAGAI PEWARNA ALAMI PADA MINUMAN

Oleh

Elisabet (07932018)

Sarjana Sain (S.Si) dalam bidang Kimia Fakultas MIPA Universitas Andalas
Pembimbing Dr. Adlis Santoni, MS dan Dr. Djaswir Darwis, MS. DEA

Fraksi etanol ekstrak buah terung belanda diidentifikasi mengandung senyawa antosianin, dimana senyawa antosianin ini dapat digunakan sebagai pewarna alami pada makanan dan minuman. Senyawa antosianin ini di ekstrak dengan menggunakan metoda maserasi dengan pelarut etanol dengan penambahan asam asetat 25 % hingga didapatkan pelarut pH 3. Ekstrak etanol yang mengandung antosianin ini diidentifikasi dengan spektroskopi UV-vis dengan range lamda maksimum 200-600 nm. Antosianin diberi perlakuan variasi pH dan suhu. Untuk variasi pH diketahui senyawa antosianin ini mengalami perubahan pada suasana netral ataupun basa. Untuk variasi suhu dengan pemanasan 30°, 45°, 60°, 75°, 90°, dan 100°C terjadi degradasi warna sebesar 6 %, 61%, 65.33%, 65.5%, 65.83%, dan 66.33% berturut-turut. Kadar antosianin total yang di dapat pada penelitian ini adalah 161.98 mg/L dan kadar monomer totalnya sebesar 143,61 mg/L. Aplikasi senyawa antosianin di lakukan terhadap minuman dengan pH berbeda dimana warna yang menarik di hasilkan pada penambahan antosianin ke dalam minuman ber-pH asam (pH 3).

ABSTRACT

IDENTIFICATION AND APPLICATION OF ANTHOCYANIN FROM TAMARILLO (*Cyphomandra betacea sendt*) AS A NATURAL DYE FOR BEVERAGES

By

Elisabet (07932018)

Bachelor of Science Chemistry

Faculty of Mathematic and Natural Science University of Andalas

Advised by Dr. Adlis Santoni, MS and Dr. Djaswir Darwis, MS, DEA

The etanol fraction from tamarillo was identified containing anthocyanin which can be used as a natural dye for food and beverages. This anthocyanin was extracted by using maceration method with etanol by the addition 25 % of acetic acid and resulted the solution pH 3. The etanol extract which contains anthocyanin was identified by UV-Vis spectrophotometer with the range of wavelength 200-600 nm. Anthocyanin was treated by the variation of pH and temperature. From the pH variation, it was known that the anthocyanin had changed in neutral or base condition. For the variation of temperature by the heating at 30⁰, 45⁰, 60⁰, 75⁰, 90⁰ and 100⁰ C there were degradation in color for 6 %, 61 %, 65.33 %, 65.5 %, 65.83 % and 66.3 %. The total anthocyanin resulted 161.98 mg/L and the total monomer 143.61 mg/L. The application of anthocyanin was treated to beverages with the variation of pH value which resulted the interesting colors by the addition of anthocyanin to the acidic beverages (pH 3).

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Botani	3
2.2 Pigmen Antosianin	4
2.2.1 Tinjauan Umum	4
2.2.1 Sifat-sifat Antosianin	10
2.2.3 Biosintesis Antosianin	12
2.3 Karakterisasi Antosianin	12
2.3.1 Metoda Identifikasi dengan Spektroskopi UV-Vis	13
2.3.2 Spektroskopi UV-Vis	21
III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2 Alat dan Bahan	23
3.2.1 Alat	23
3.2.2 Bahan	23
3.3 Pengambilan dan Persiapan Sampel	23
3.4 Pembuatan Reagen	24

3.4.1 Pembuatan Larutan CH ₃ COONH ₄ 0,5 % , CH ₃ COOH 2 % , KH ₂ PO ₄ 0,01 M dan NaOH 0,1 M.	24
3.4.2 Pembuatan Buffer pH 1	24
3.4.3 Pembuatan Buffer pH 3	24
3.4.4 Pembuatan Buffer pH 5	24
3.4.5 Pembuatan Buffer pH 7	25
3.4.6 Pembuatan Buffer pH 9	25
3.5 Uji Profil Fitokimia	25
3.6 Ekstraksi Antosianin	27
3.7 Analisa Antosianin	27
3.8 Perlakuan Terhadap Sampel	28
3.8.1 Variasi Konsentrasi	28
3.8.2 Variasi pH	28
3.8.3 Variasi Suhu	28
3.9 Aplikasi Pigmen Antosianin	28
3.10 Penentuan Kadar Total Monomer dan Kadar Total Antosianin	29
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
V. KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR KEPUSTAKAAN	49
LAMPIRAN	51

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Warna Antosianin hasil isolasi dari berbagai macam tanaman	7
Tabel2. Struktur utama anthocyanin-3- <i>O</i> -glukosida di dalam buah-buahan dan masing-masing panjang gelombang pada serapan maksimum di daerah sinar tampak.	13
Tabel 3. Jenis antosianin berdasarkan lamda maksimum	14
Tabel 4. Uji pendahuluan profil fitokimia daging buah terung belanda	30
Tabel 5. Hasil KLT ekstrak etanol dengan berbagai perbandingan pelarut	31
Tabel 6. Hasil KLT dengan berbagai variasi suhu/pH	31
Tabel 7. Besar absorban pada $\lambda_{vis\ max\ (nm)}$ 535 nm pada berbagai konsentrasi	38
Tabel 8. Persentase degradasi akibat pemanasan	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerangka dasar Antosianin	4
Gambar 2. Resonansi antosianin	5
Gambar 3. Golongan antosianidin	6
Gambar 4. Struktur antosianin yang diidentifikasi dari <i>Manihot esculenta</i>	9
Gambar 5. Perubahan struktur antosianin (cyanidin 3- <i>O</i> -glucosida) di dalam larutan tergantung pada pH larutan	11
Gambar 6. Biosintesis antosianin	12
Gambar 7. Spektrum UV hasil maserasi	32
Gambar 8. Spektrum UV variasi konsentrasi 1%	33
Gambar 9. Spektrum UV variasi konsentrasi 2%	34
Gambar 10. Spektrum UV variasi konsentrasi 3%	35
Gambar 11. Spektrum UV variasi konsentrasi 4%	36
Gambar 12. Spektrum UV variasi konsentrasi 5%	37
Gambar 13. Spektrum gabungan variasi konsentrasi	38
Gambar 14. Perubahan warna karena variasi pH	39
Gambar 15. Perubahan struktur antosianin pada pH yang berbeda	40
Gambar 16. Spektrum UV variasi pH	40
Gambar 17. Perubahan warna karena pemanasan (variasi suhu)	41
Gambar 18. Spektrum UV variasi suhu	42
Gambar 19. Pengaruh suhu terhadap degradasi warna	43
Gambar 20. Perubahan warna dengan berbagai konsentrasi pada minuman bersoda limun	44
Gambar 21. Perubahan warna dengan berbagai konsentrasi pada minuman bersoda bermerk (sprite)	45
Gambar 22. Perubahan warna dengan berbagai konsentrasi pada minuman susu fermentasi (yakult)	46
Gambar 23. Pengaruh pH terhadap penambahan antosianin pada berbagai minuman	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Keja Metoda Ekstraksi	51
Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan larutan $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0,5 % , CH_3COOH 2 % , KH_2PO_4 0,01 M dan NaOH 0,1 M	52
Lampiran 3. Contoh Perhitungan pembuatan Buffer	53
Lampiran 4. Perhitungan kadar total antosianin dan kadar monomerik antosianin	55
Lampiran 5. Perhitungan persen degradasi warna	56
Lampiran 6. Gambar Terung Belanda	57

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Senyawa-senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan merupakan hasil dari metabolisme, baik metabolisme primer maupun metabolisme sekunder. Hasil metabolisme sekunder banyak memberikan efek fisiologis dan efek farmakologis yang lebih dikenal dengan senyawa kimia aktif. Hal ini mendorong para ahli untuk melakukan penelitian tentang isolasi, sintesis, uji bioaktivitas dan pemanfaatannya lebih lanjut.¹

Salah satu hasil metabolisme sekunder tersebut adalah golongan senyawa antosianin. Senyawa antosianin ini merupakan turunan dari golongan flavonoid. Salah satu manfaat dari senyawa antosianin ini adalah sebagai bahan pewarna makanan. Penggunaan bahan tambahan pangan khususnya pewarna makanan banyak mendapat sorotan karena produsen pangan olahan terutama skala industri rumah tangga banyak menyalahgunakan pewarna yang sebenarnya bukan untuk pangan. Alasan utama penyalahgunaan tersebut adalah karena pewarna *food grade* harganya relatif mahal sehingga biaya produksi juga akan menjadi lebih mahal.

Disamping itu beberapa pewarna sintetikpun ternyata tidak aman digunakan untuk pangan karena sifatnya yang toksik, bahkan beberapa diantaranya bersifat karsinogenik. Oleh karena itu, perlu dicari sumber sumber pewarna alami yang dapat digunakan dalam pengolahan pangan sehingga dihasilkan pewarna yang aman dengan harga relatif murah.

Salah satu pigmen yang dapat diekstrak dari sumber bahan alami adalah antosianin yang termasuk golongan senyawa flavonoid. Salah satu tanaman yang mengandung senyawa ini adalah terung belanda yang pada uji pendahuluan memberikan hasil positif terhadap senyawa flavonoid. Pigmen ini berperan terhadap timbulnya warna merah hingga biru pada beberapa bunga, buah dan daun.² Terung belanda merupakan salah satu sumber dari berbagai tanaman yang menghasilkan zat warna (pigmen) antosianin ini.

1.2 Perumusan masalah

1. Mengetahui kandungan metabolit sekunder dari buah terung belanda.
2. Mengetahui pengaruh pH dan suhu terhadap kestabilan antosianin.
3. Melihat perubahan warna terhadap penambahan antosianin ke dalam berbagai minuman (aplikasi sebagai pewarna pada minuman).

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengaplikasikan pigmen antosianin dari daging buah terung belanda (*Cyphomandra betacea sendt*) sebagai alternatif zat warna alami pada minuman.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi tentang adanya pigmen antosianin yang terkandung pada buah terung belanda dan dapat di aplikasikan sebagai alternatif pewarna alami dalam produksi minuman.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Botani

Terung belanda merupakan tanaman yang dapat tumbuh pada ketinggian antara 1000 – 1800 m di atas permukaan laut sehingga dapat tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Pada dataran rendah, pohon terung belanda tidak mampu berbunga, sedangkan pada daerah sejuk, dapat mendorong pembungaan. Tanaman ini berbuah matang pada musim dingin di daerah subtropik, dan jika ditanam di daerah tropis buah matang setelah udara dingin.

Terung belanda tumbuh baik di daerah yang memiliki drainase baik, kandungan organik dan kelembaban sedang serta tidak tahan terhadap genangan air. Pohonnya berbuah lebat, berumur panjang, dan responsif terhadap pupuk kandang dan tempat-tempat kering. Pohon terung belanda mulai berbuah setelah 1,5 – 2 tahun dan terus produktif antara 5 – 6 tahun. Pohon akan terus berbuah sampai 11 hingga 12 tahun.

Terung belanda merupakan buah non klimaterik yang tidak akan mudah rusak setelah pemanenan. Pada buah-buahan nonklimaterik, produksi karbondioksida dan gas etilen setelah pemanenan sangat rendah dan tidak terjadi peningkatan selama tahap pematangan. Lama musim panen terung belanda sekitar 6 – 7 bulan atau lebih.

Klasifikasi dari tumbuhan ini adalah sebagai berikut :

Divisi	: Tracheobionta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae
Genus	: <i>Cyphomandra</i>
Spesies	: <i>Cyphomandra Betacea Sendt</i>

Terung belanda dikenal juga dengan nama terung pirus, terung kori, terung madras, tomat pohon atau tamarillo. Masyarakat Sumatera Utara menyebutnya tiung,

terong belanda, terong jepang atau terong berastagi. Secara umum di Indonesia bernama Terung Belanda. Tanaman ini bukan tanaman asli Indonesia, melainkan tanaman (dengan nama Tamarillo) yang didatangkan dari Amerika pada zaman penjajahan Belanda. Terung belanda berupa tanaman perdu, tingginya 2 – 3 meter, pangkal batangnya pendek, percabangannya lebat. Daunnya tunggal, berselang-seling, bentuknya bundar telur sampai bentuk jantung. Bunga berada dalam rangkaian kecil di ketiak daun, dekat ujung cabang, berwarna merah jambu sampai biru muda.

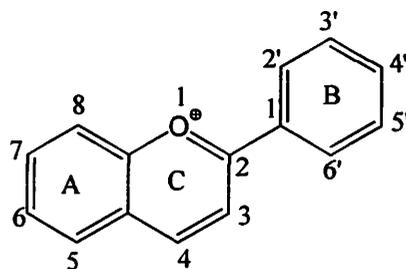
Terung belanda mempunyai komponen kimia yang lengkap. Buah terung belanda mempunyai macam-macam antioksidan, baik yang berbentuk vitamin dan yang bukan, seperti vitamin E, Vitamin A, Vitamin C, Vitamin B6, senyawa karotenoid, antosianin dan serat.

2.2. Pigmen Antosianin

2.2.1. Tinjauan Umum

Antosianin adalah pigmen yang larut di dalam air yang memberikan warna merah, ungu ataupun biru. Antosianin terdapat dalam tumbuhan tingkat tinggi, kebanyakan terdapat pada bunga dan buah tetapi juga terdapat di dalam daun, batang dan akar.

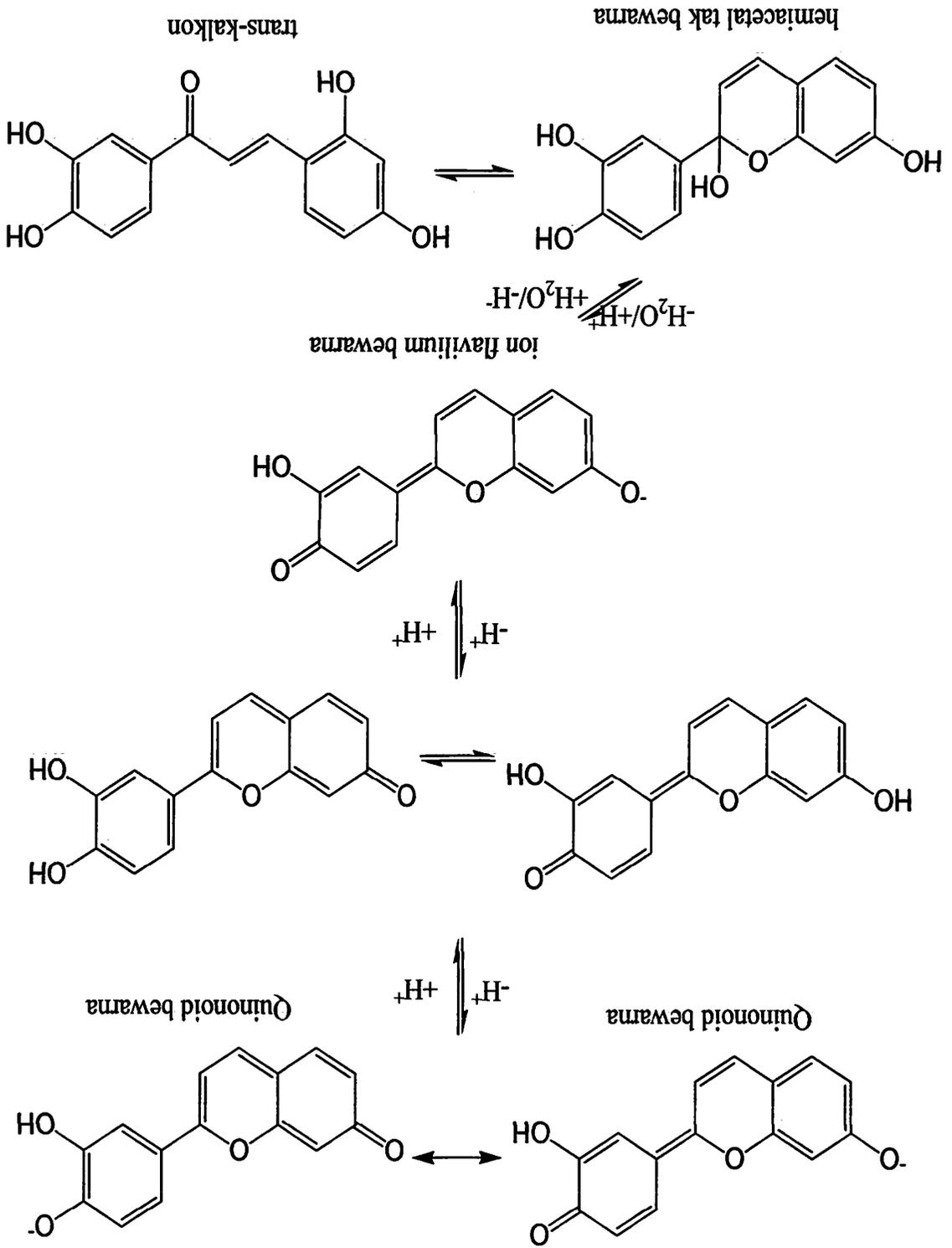
Antosianin termasuk ke dalam kelompok flavonoid. Warna dari antosianin tergantung pada struktur dan tergantung juga pada tingkat keasaman dari buah tersebut. Kebanyakan antosianin berwarna merah pada keadaan asam dan berwarna biru pada tingkat keasaman yang rendah. Secara kimia antosianin dibagi menjadi aglikon antosianidin bebas gula dan glikosida antosianin. Kerangka dasar antosianin berasal dari kation flavilium.



Gambar 1. Kerangka dasar Antosianin

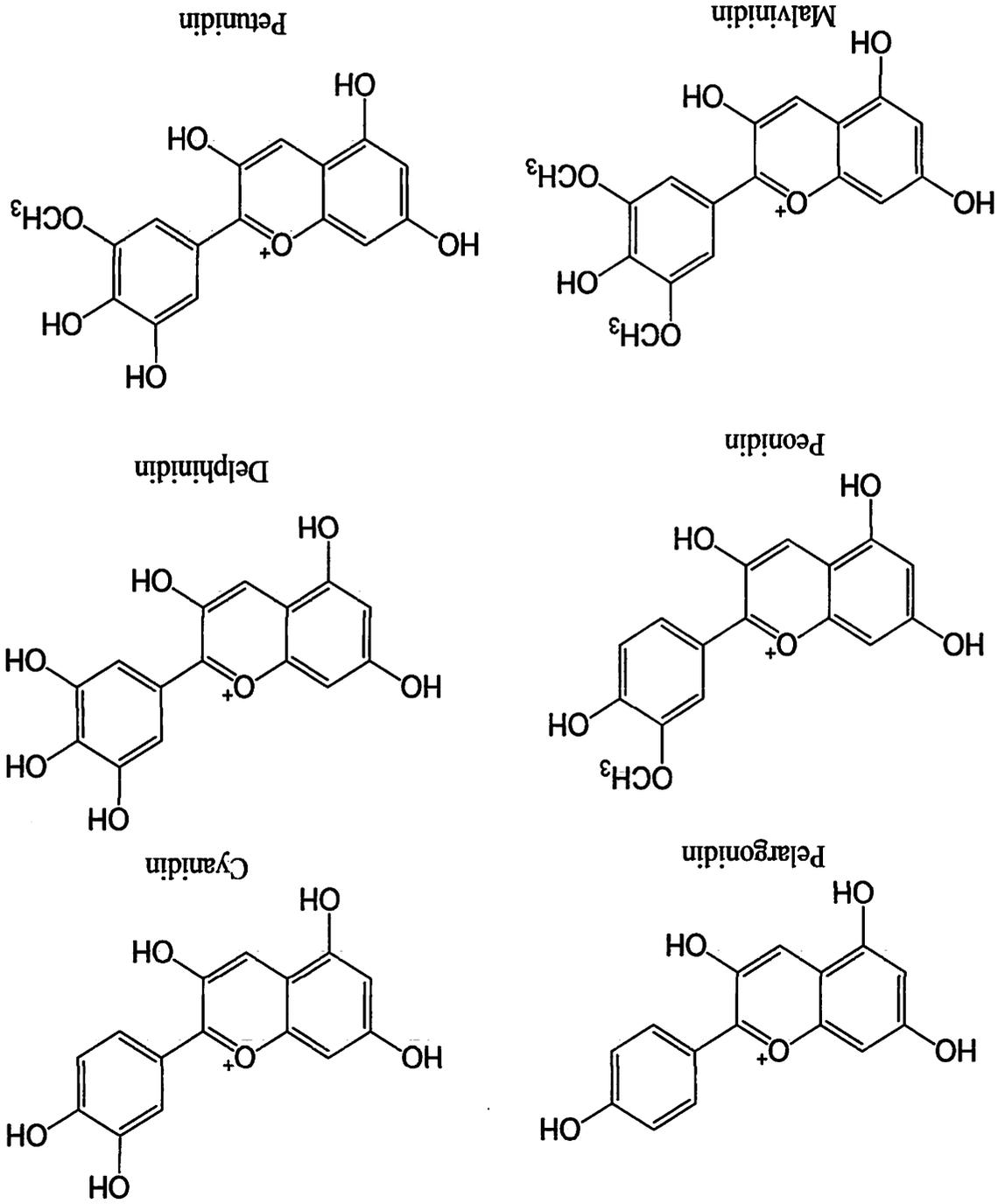
Sumber : Marja P.Kahkonen dan Marina Heinonen (2009)

Gambar 2. Resonansi antosianin



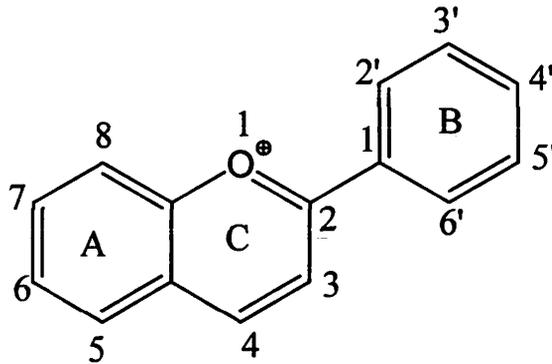
Resonansi struktur dari antosianin dapat dilihat pada Gambar 2 dibawah ini :³

Gambar 3. Golongan antosianidin



Ada 6 golongan antosianidin yang penting, yaitu :

Lebih dari 500 jenis antosianin telah diisolasi dari berbagai macam tanaman. Di antaranya dapat dilihat pada tabel 1 berikut⁴ :



Tabel 1. Antosianin hasil isolasi dari berbagai macam tanaman

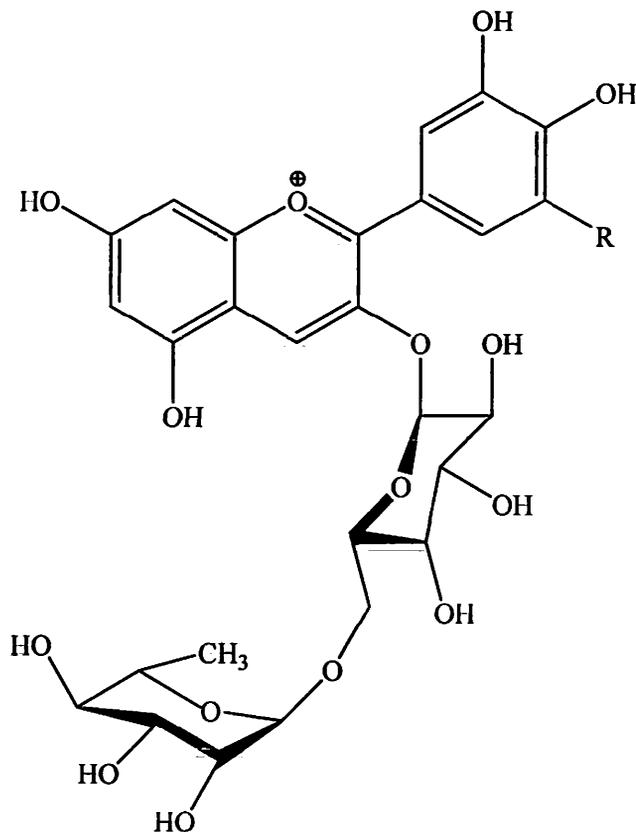
Antosianidin	Pola substitusi							Warna
	3	5	6	7	3'	4'	5'	
Carajurin	H	H	OH	OH	H	OCH ₃	OCH ₃	-
Arrabidin	H	H	OH	OH	H	OH	OCH ₃	-
3'-Hydroxyarra- bidin	H	H	OH	OH	OH	OH	OCH ₃	-
Apigenin	H	OH	H	OH	H	OH	H	Orange
Luteolin	H	OH	H	OH	OH	OH	H	Orange
Tricetinidin	H	OH	H	OH	OH	OH	OH	Merah
Pelargonidin	OH	OH	H	OH	H	OH	H	Orange
Aurantidin	OH	OH	OH	OH	H	OH	H	Orange
Cyanidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Orange kemerahan
5-Methylcyani- din	OH	OCH ₃	H	OH	OH	OH	H	orange kemerahan
Peonidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	H	Merah
Rosinidin	OH	OH	H	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	Merah

6-Hydroxycyanidin	OH	OH	OH	OH	OH	OH	H	Merah
6-Hydroxydelphinidin	OH	OH	OH	OH	OH	OH	OH	Merah kebiruan
Delphinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Merah kebiruan
Petunidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OH	Merah kebiruan
Malvidin	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	Merah kebiruan
Pulchellidin	OH	OCH ₃	H	OH	OH	OH	OH	Merah kebiruan
Eupinidin	OH	OCH ₃	H	OH	OCH ₃	OH	OH	Merah kebiruan
Capensinidin	OH	OCH ₃	H	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	Merah kebiruan
Hirsutidin	OH	OH	H	OCH ₃	OCH ₃	OH	OCH ₃	Merah kebiruan

Sumber : Maarit Rein (2005).

Robert Byamuka dan tim pada tahun 2009, telah mengisolasi senyawa sianidin-3-O-(6''-O- α -ramnopiranosil- β -glukopiranosid) dan delpinidin 3-O-(6''-O- α -ramnopiranosil- β -glukopiranosid) dari tangkai daun singkong (*Manihot esculenta Crantz*) dengan menggunakan metoda kromatografi dan struktur senyawa tersebut dijelaskan dengan menggunakan spektroskopi homo- dan heteronuklir magnetik resonansi. Kandungan senyawa ini diperkirakan sebesar 92 % untuk sianidin-3-O-(6''-O- α -ramnopiranosil- β -glukopiranosid) dan 4 % untuk delpinidin 3-O-(6''-O- α -

ramnopiranosil- β -glukopiranosid). Gambar 4 berikut adalah senyawa hasil isolasi antosianin dari tangkai daun singkong⁵



Gambar 4. Struktur antosianin yang diidentifikasi dari *Manihot esculenta*, R = H : sianidin-3-*O*-(6''-*O*- α -ramnopiranosil- β -glukopiranosid) dan R = OH : delpinidin 3-*O*-(6''-*O*- α -ramnopiranosil- β -glukopiranosid).

Marja P. Kahkonen dan Marina Heinonen dari Finland pada tahun 2009 telah melakukan penelitian tentang aktifitas antioksidan dari antosianin beserta aglikonnya terhadap LDL manusia (Low Density Lipoprotein), *bulk* dan emulsi metil linoleat. Mereka menggunakan 6 golongan antosianidin (aglikon) yaitu pelargonidin, sianidin, delfinidin, peonidin, petunidin dan malvidin beserta glikosida-glikosidanya dengan penambahan senyawa 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). Kebanyakan antosianin dan aglikonnya bertindak sebagai antioksidan kuat di dalam emulsi dan LDL. Dari data yang diperoleh di dalam emulsi, aktifitas antioksidan glikosida dan aglikonnya tidak berbeda jauh. Di dalam LDL aktifitas antioksidan untuk aglikon lebih tinggi di

banding glikosidanya. Sedangkan di dalam *bulk* glikosida lebih efektif dibanding dengan aglikonnya.³

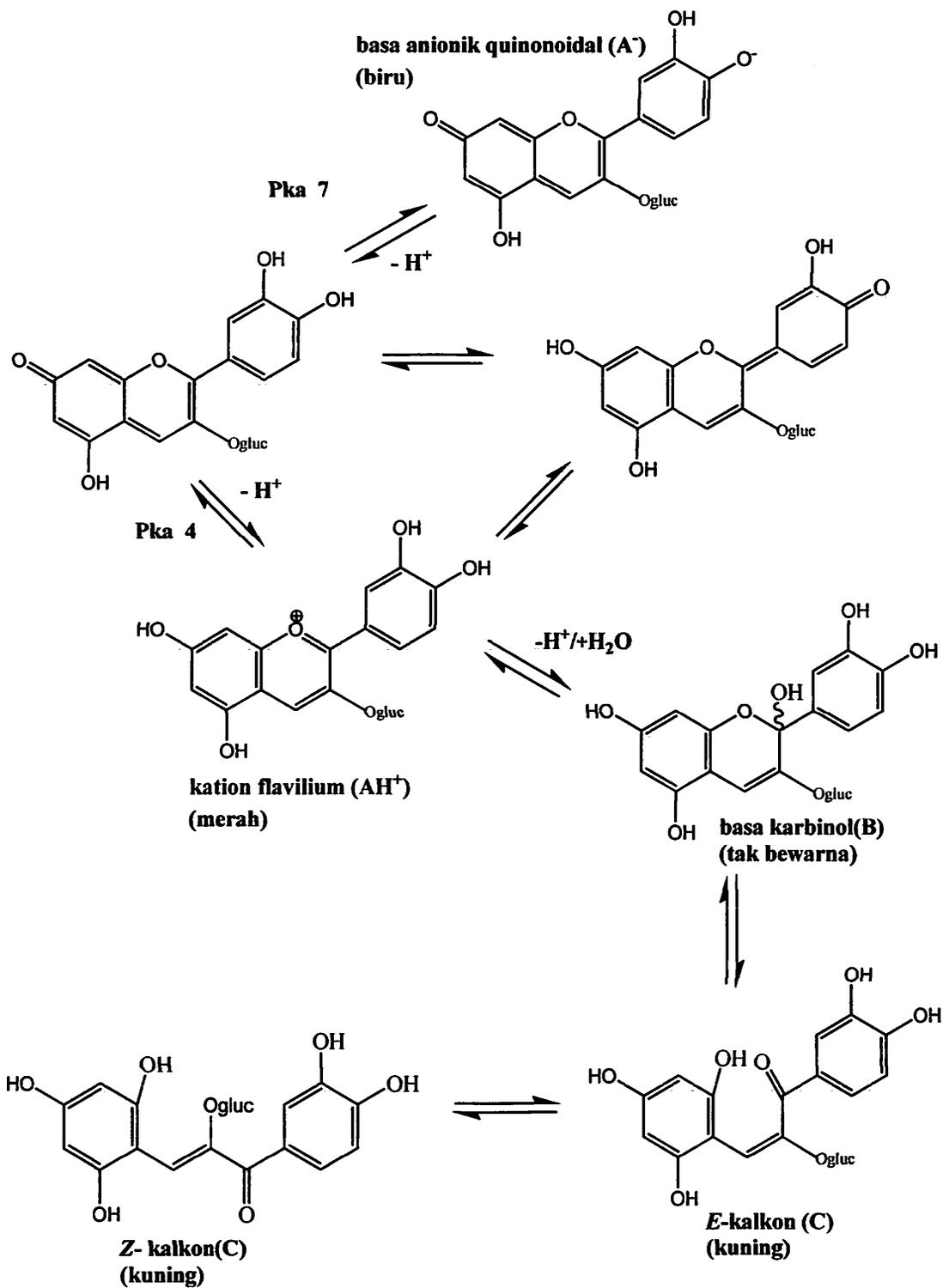
2.2.2 Sifat-sifat Antosianin

Antosianin seperti pigmen alami lainnya memiliki tingkat kestabilan yang rendah. Dapat terurai selama proses ekstraksi, pemurnian, dan selama penyimpanan. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kestabilan dari antosianin ini adalah struktur dari pigmen itu sendiri, pH, suhu, dan tipe pelarut. Warna dan kestabilan dari antosianin sangat tergantung pada pH. Antosianin stabil dan memberikan warna cerah pada pH rendah dan perlahan-lahan akan kehilangan warna seiring dengan meningkatnya pH, menjadi tak berwarna pada pH berkisar 4 – 5.⁶

Pada kisaran pH 1-3 pigmen antosianin berada dalam bentuk ion oxonium (I) yang berwarna merah dan merupakan bentuk yang paling stabil. Bentuk tersebut dapat mengalami hidrolisis pada pH yang lebih tinggi menjadi pseudobasa (II) yang tidak berwarna. Pseudobasa yang terbentuk ini dapat mengalami kesetimbangan tautomerik (kesetimbangan antara bentuk keto dan bentuk enol) menghasilkan alfa diketon.⁷

Kestabilan dan tingkat degradasi antosianin khususnya dipengaruhi oleh suhu. Kestabilan termal dari antosianin dilakukan dengan variasi suhu dan pH. Dengan adanya oksigen dan interaksi dengan senyawa lain, seperti gula dan asam askorbat juga mempengaruhi kestabilan antosianin.⁸

Degradasi antosianin dapat terjadi selama proses ekstraksi, aplikasi pada makanan dan selama penyimpanan. Oleh karena itu, pengetahuan sebenarnya mengenai faktor kestabilan antosianin terlihat menentukan dalam aplikasi yang bereputasi baik dalam komponen makan sebagai bahan pewarna. Faktor menarik yang terkait kuat sebagai pewarna diperlihatkan antosianin sebagai fakta keberadaannya di dalam larutan encer dalam keseimbangan antara lima spesies yang tergantung pada pH : kation flavilium, basa karbinol, kalkon, basa quinonoidal, dan basa anionik quinonoidal⁸. Hal ini dapat terlihat pada Gambar 5 berikut ini

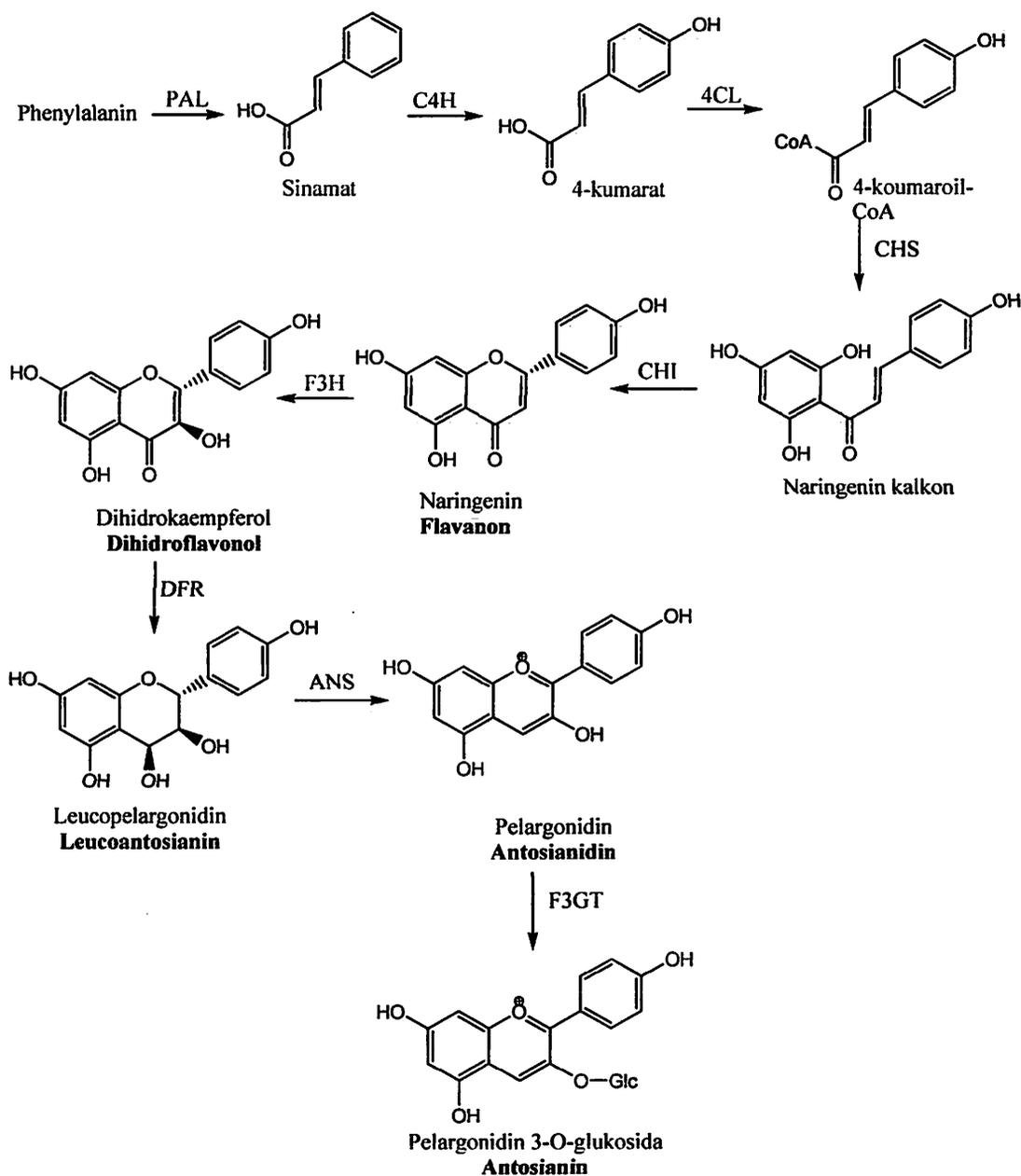


Gambar 5 Perubahan struktur antosianin (sianidin 3-O-glucosida) di dalam larutan tergantung pada pH larutan ⁹.

2.2.3. Biosintesis Antosianin

Jalur biosintesis antosianin digambarkan pada genetik dan tingkat enzimatik, dengan urutan gen yang tersedia untuk semua langkah kunci biosintesis antosianin utama dan juga untuk beberapa modifikasi aktifitas sekunder. Pigmen dasar adalah antosianidin, dengan glikosilat menjadi bentuk antosianin.

Biosintesis antosianin secara garis besar dapat dilihat pada Gambar 6⁹

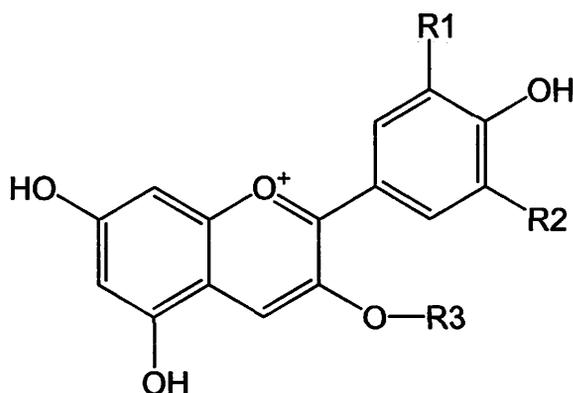


Gambar 6. Biosintesis antosianin

2.3 Karakterisasi Antosianin

2.3.1 Metoda identifikasi dengan spektroskopi UV-Vis

Secara kimia, flavonoid ini secara alami terbentuk sebagai glikosida flavilium atau garam 2- fenilbenzopirilium dan kebanyakan tergolong menjadi 6 antosianidin : pelargonidin, sianidin, peonidin, delphinidin, petunidin dan malvidin. Sebagian gulanya bertukar-tukar tapi biasanya glukosa, ramnosa, galaktosa atau arabinosa. Gula ini dapat berupa monosakarida atau disakarida, dan dapat berupa asilat dengan fenolik atau asam alifatik. Senyawa ini berbeda di dalam pola substitusi metoksil dan hidroksil pada cincin B. Senyawa antosianin dapat diketahui dari panjang gelombang maksimumnya jika diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis.⁹



Tabel 2. Struktur utama anthosianin-3-O-glukosida di dalam buah-buahan dan masing-masing panjang gelombang pada serapan maksimum di daerah sinar tampak.

Antosianin	R1	R2	λ_{\max} (nm) [*]	
			R3 = H	R3 = gluc
Delfinidin	OH	OH	546	541
Petunidin	OH	OCH ₃	543	540
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃	542	538
Sianidin	OH	H	535	530
Peonidin	OCH ₃	H	532	528
Pelargonidin	H	H	520	516

* dalam metanol dengan 0.01% HCl (Harborne 1984; Giusti et al. 1999)

Dari jurnal yang ditulis oleh Mónica Giusti dan Ronald E. Wrolstad pada tahun 2001, dapat diketahui jenis antosianin berdasarkan serapan maksimum yang diberikan pada pengukuran menggunakan spektroskopi UV-Vis. Berikut adalah data jenis antosianin berdasarkan serapan maksimum pada panjang gelombang visible yang dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Jenis antosianin berdasarkan lamda maksimum¹⁵

Antosianin^a	Sistem pelarut	$\lambda_{vis-max}$ (nm)	Molar absorptivity (ϵ)	Referensi
<i>Cyanidin (Cyd)</i>				
Cyd	0,1% HCl dalam etanol	510,5	24600	Schou, 1927
	0,1% HCl dalam etanol	547	34700	Ribereau-Gayon, 1959
Cyd-3-ara	15:85 0,1 N HCl/etanol	538	44400	Zapsalis and Francis, 1965
	15:85 0,1 N HCl/etanol	535	44460	Fulcki and Francis, 1968a
Cyd-3,5-diglu	0,1 N HCl	520	30175	Niketic-Aleksic and Hrazdina, 1972
	Metanol/HCl	508,5	35000	Brouillard and El Hache Chahine, 1980
Cyd-3-gal	0,1% HCl dalam metanol	530	34300	Siegelman and Hendricks, 1958

	15:85 0,1 N HCl/etanol	535	44900	Sakamura and Francis, 1961
	15:85 0,1 N HCl/etanol	535	46200	Zapsalis and Francis, 1965
	15:85 0,1 N HCl/etanol	535	46230	Fuleki and Francis, 1968a
	HCl dalam metanol	530	30200	Swain, 1965
Cyd-3-glu	Buffer pH 1	510	26900	Jurd and Asen, 1966
	0,1 N HCl	520	25740	McClure, 1967
	1% HCl dalam metanol	530	34300	Siegelman and Hendricks, 1958
	10% etanol, pH 1,5	512	18800	Heredia et al., 1998
Cyd-3-rut	Buffer pH 0,9	510	7000	Figueiredo et al., 1996
	1% HCl	523	28840	Swain, 1965
Cyd-3-sam-5-glu	Buffer pH 0,9	522	3600	Figueiredo et al., 1996
Cyd-3-sam-5-glu + sinapic + caffeic + malonic	Buffer pH 0,9	538	21200	Figueiredo t al.e, 9961
Cyd-3-sam-5-glu + sinapic + Ferulik	Buffer pH 0,9	528	15100	Figueiredo t al.e, 9961

Cyd-3-sam-5-glu + sinapic + ferulic + malonic	Buffer pH 0,9	538	20100	Figueiredo t al.e, 9961
Cyd-3-sam-5-glu + sinapic + p-coum + malonic	Buffer pH 0,9	536	19000	Figueiredo et al., 1996
Cyd-3-soph-5-glu	Metanol/HCl	524	37150	Hrazdina et al., 1977
Cyd-3-soph-5-glu + malonic	Metanol/HCl	528	32360	Hrazdina et al., 1977
Cyd-3-soph-5-glu + sinapic	Metanol/HCl	528	37150	Hrazdina et al., 1977
Cyd-3-soph-5-glu + di-sinapic	Metanol/HCl	530	38020	Hrazdina et al., 1977
Cyd-3-soph-5-glu + ferulic	Metanol/HCl	528	32360	Hrazdina et al., 1977
Cyd-3-soph-5-glu + di-ferulic	Metanol/HCl	530	34670	Hrazdina et al., 1977
Cyd-3-soph-5-glu + p-coumaric	Metanol/HCl	526	38020	Hrazdina et al., 1977
Cyd-3-soph-5-glu + di-p-coumaric	Metanol/HCl	528	32360	Hrazdina et al., 1977
<i>Delphinidin (Dpd)</i>				
Dpd	0,1% HCl dalam etanol	522,5	34700	Schou, 1927
Dpd-3-glu	1% HCl dalam metanol	543	29000	Asen et al., 1959
Mvd	0,1% HCl dalam etanol	520	37200	Schou, 1927

	0,1% HCl dalam etanol	557	36200	Ribereau-Gayon, 1959
Mvd-3,5-diglu	0,1% HCl dalam etanol	519	10700	Schou, 1927
	0,1% HCl dalam etanol	545	10300	Ribereau-Gayon, 1959
	0,1 N HCl	520	520	Niketic-Aleksic and Hrazdina, 1972
Mvd-3-glu	0,1% HCl dalam metanol	546	13900	Somers, 1966
	0,1% HCl dalam metanol	538	29500	Koeppen and Basson, 1966
	0,1 N HCl	520	28000	Niketic-Aleksic and Hrazdina, 1972
	Metanol, pH 1,0	535	36400	Metivier et al., 1980
	10% etanol, pH 1,5	520	20200	Heredia et al., 1998
Mvd-3-glu + p-coum	0,1% HCl dalam metanol	536	30200	Koeppen and Basson, 1966
<i>Pelargonidin (Pg)</i>				
Pg	0,1% HCl dalam etanol	504,5	17800	Schou, 1927
	0,025 M buffer KCl, pH 1,0	505	18420	Giusti et al., 1999

	0,1% HCl dalam metanol	524	19780	Giusti et al., 1999
Pg-3,5-diglu	HCl dalam methanol	510	32360	Swain, 1965
Pg-3-(dicaffeoylglu)-soph-5-glu	Buffer pH 0.8	512	28000	Dangles et al., 1993
Pg-3-glu	1% HCl dalam air	496	27300	Jorgensen and Geissman, 1955
			36600	Wrolstad et al., 1970
	1% HCl	513	22390	Swain, 1965
	1% HCl dalam etanol	516	31620	Swain, 1965
	0,025 M buffer KCl, pH 1,0	496	15600	Giusti et al., 1999
	0,1% HCl dalam metanol	508	17330	Giusti et al., 1999
	Pg-3-rut-5-glu + p-coumaric	0,025 M buffer KCl, pH 1.0	504	32080
0,1% HCl dalam metanol		511	39591	Giusti et al., 1999
Pg-3-soph-5-glu	Buffer pH 0,8	498	18000–20000	Dangles et al., 1993
	0,025 M buffer KCl, pH 1,0	497	25370	Giusti et al., 1999

	0,1% HCl dalam metanol	506	30690	Giusti et al., 1999
Pg-3-soph-5-glu + ferulik	0,025 M buffer KCl, pH 1.0	506	30690	Giusti et al., 1999
	0,1% HCl dalam metanol	507	29636	Giusti et al., 1999
Derivate Pg-3-soph-5-glu caffeoyl	Buffer pH 0,8	498	18000-20000	Dangles et al., 1993
Pg-3-soph-5-glu + p-coumaric	0,025 M buffer KCl, pH 1,0	506	28720	Giusti et al., 1999
	0,1% HCl dalam metanol	508	34889	Giusti et al., 1999
Pg-3-soph-5-glu + p-coumaric + malonic	0,025 M buffer KCl, pH 1,0	508	33010	Giusti et al., 1999
	0,1% HCl dalam metanol	508	39785	Giusti et al., 1999
Pg-3-soph-5-glu + ferulic + malonic	0,025 M buffer KCl, pH 1,0	508	31090	Giusti et al., 1999
	0,1% HCl dalam metanol	508	39384	Giusti et al., 1999
<i>Peonidin (Pnd)</i>				
Pnd	0,1% HCl dalam etanol	511	37200	Schou, 1927
	15:85 0,1 N HCl/etanol	532	40800	Sakamura and Francis, 1961
Pnd-3-ara	15:85 0,1 N HCl/etanol	532	46100	Zapsalis and Francis, 1965

	15:85 0,1 N HCl/etanof	532	46070	Fuleki and Francis, 1968a
Pnd-3,5-diglu	0.1 N HCl	520	36654	Niketic- Aleksic and Hrazdina, 1972
Pnd-3-gal	15:85 0,1 N HCl/etanof	532	48400	Sakamura and Francis, 1961
	15:85 0,1 N HCl/etanof	532	48400	Zapsalis and Francis, 1965
	15:85 0,1 N HCl/etanof	531	48340	Fuleki and Francis, 1968a
Pnd-3-glu	0,1% HCl dalam metanol	536	11300	Somers, 1966
	10% etanol, pH 1,5	512	14100	Heredia et al., 1998
<i>Petunidin (Ptd)</i>				
Ptd-3,5-diglu	0,1 N HCl	520	33040	Niketic- Aleksic and Hrazdina, 1972
	HCl dalam metanol	535	23440	Swain, 1965
Ptd-3-glu	0,1% HCl dalam metanol	546	12900	Somers, 1966
	10% etanol, pH 1,5	520	18900	Heredia et al., 1998

^aSingkatan : ara: arabinosida; gal: galaktosida; glu: glukosida; rut: rutinosida; sam: sambubiosida; soph: sophorosida. Sumber : Mónica Giusti dan Ronald E. Wrolstad (2001).

2.3.2 Spektroskopi UV-Vis

Spektrum di daerah tampak (tampak bagi manusia) sama dengan gelombang cahaya 400 – 800 x 10⁻⁹ m cahaya di daerah ultraviolet mempunyai panjang gelombang yang lebih pendek yaitu 200 – 400 x 10⁻⁹ m. Biasanya panjang gelombang ini dinyatakan di dalam nanometer (1 nm = 10⁻⁹ m). energi yang terlibat dalam radiasi ultraviolet sama dengan 75 – 150 kkal/mol, dan energi di daerah sinar tampak adalah 37 – 75 kkal/mol.

Transisi di daerah tampak atau ultraviolet adalah transisi. Hal ini dikaitkan dengan lompatan elektron dari orbital molekul penuh (terisi) ke molekul orbital kosong yang lebih tinggi energinya. Energi sinar tampak dan ultraviolet mampu melakukan peralihan ini.

Intensitas (ketajaman) serapan dapat dinyatakan secara kuantitatif. Ketajaman pita tergantung pada struktur molekul dan jumlah molekul yang menyerap yang terdapat pada lintasan sinar. Serapan (absorban) yaitu logaritma dari perbandingan sinar yang masuk terhadap sinar yang meninggalkan sampel, dinyatakan dengan persamaan

$$A = \epsilon c l \quad (\text{Hukum Beer})$$

Dimana ϵ adalah absorptivitas molar (kadang-kadang dinamakan extinction coefficient), c adalah konsentrasi larutan dalam mol/liter, dan l adalah panjang sampel yang dilalui oleh sinar, dalam sentimeter. Nilai ϵ untuk setiap molekul adalah tetap dan merupakan ciri suatu struktur molekul.

Spektra UV-Vis umumnya digunakan untuk mendeteksi adanya konjugasi. Pada umumnya molekul tanpa ikatan ganda-dua dan molekul dengan hanya satu ikatan ganda-dua tidak menyerap sinar di daerah 200-800 nm. Sistem konjugasi dapat dideteksi pada daerah ini, dan semakin banyak konjugasi semakin panjang gelombang serapan maksimumnya.¹⁰

Pemakaian spektroskopi UV dalam penentuan struktur molekul senyawa organik prinsipnya berdasarkan transisi elektron dari orbital yang memiliki tingkat energi yang lebih rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi. Elektron dalam molekul pada keadaan biasa berada pada tingkat energi dasar. Adanya energi yang berasal dari energi elektromagnetik dapat berinteraksi dengan molekul organik, akibatnya elektron yang berada pada keadaan dasar dapat berpindah ke orbital yang lebih tinggi elektronnya (terekstisasi). Bagian molekul yang mampu menyerap energi untuk melakukan proses eksitasi disebut kromofor.^{11,12}

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Februari 2011 sampai dengan Juni 2011 bertempat di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, vakum, erlemeyer vakum, stirrer, *spektrofotometer UV-1700 Series*, lampu UV 254 nm dan 365 nm, plat tetes, oven, kertas saring, aluminium foil, penangas air, plat KLT serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah buah terung belanda segar matang yang diambil secara random dari kebunnya, dan bahan kimia berupa pelarut organik seperti etanol teknis yang didistilasi, metanol teknis yang didistilasi, etil asetat teknis yang didistilasi, n-heksana teknis didistilasi, buffer pH 1, buffer pH 3, buffer pH 5, buffer pH 7, buffer pH 9 dan bahan kimia lainnya seperti NaOH 1%, klorofom, HCl pekat, logam Mg, FeCl₃, anhidrida asetat, H₂SO₄ pekat, dan pereaksi Meyer.

3.3. Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel yang diperlukan untuk penelitian diperoleh dari daerah Alahan Panjang, Solok, Sumatera Barat. Bagian yang akan diteliti adalah daging buah yang telah dipisahkan dari kulitnya, dihaluskan, kemudian ditimbang.

3.4 Pembuatan Reagen

3.4.1 Pembuatan Larutan $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0,5 % , CH_3COOH 2 % , KH_2PO_4 0,01 M dan NaOH 0,1 M.

Larutan $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0,5 % dibuat dengan melarutkan 0,5 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ dalam labu ukur 100 ml dengan aquadest dan larutan CH_3COOH 2 % dibuat dengan melarutkan 2 mL CH_3COOH glacial dalam labu ukur 100 mL dengan aquadest. Larutan KH_2PO_4 0,01 M dibuat dengan melarutkan 0,136 g KH_2PO_4 dalam labu ukur 100 mL dengan aquadest. Larutan NaOH 0,1 M dibuat dengan melarutkan 0,4 g NaOH dalam labu ukur 100 mL dengan aquadest.

3.4.2 Pembuatan Buffer pH 1

Larutan buffer pH 1 dibuat dengan mencampurkan 50 mL $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0,1 M dan sejumlah CH_3COOH glacial sambil diukur dengan menggunakan pH meter hingga di dapatkan larutan pH 1.

3.4.3 Pembuatan Buffer pH 3

Larutan buffer pH 3 dibuat dengan melarutkan 0,05 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ dan 2,41 ml CH_3COOH glasial, diencerkan dalam labu ukur 100 mL. pH larutan ditepatkan 3 dengan penambahan sedikit demi sedikit CH_3COOH 2 % atau $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0,5 % sambil diukur dengan menggunakan pH meter.

3.4.4 Pembuatan Buffer pH 5

Larutan buffer pH 5 dibuat dengan melarutkan 1,824 g $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ dan 0,87 mL CH_3COOH glasial, diencerkan dalam labu ukur 100 mL. pH larutan ditepatkan 5 dengan penambahan sedikit demi sedikit CH_3COOH 2 % atau $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0,5 % sambil diukur dengan menggunakan pH meter.

3.4.5 Pembuatan Buffer pH 7

Larutan buffer pH 7 dibuat dengan mencampurkan 50 mL KH_2PO_4 0,01 M dan sejumlah NaOH 0,1 M sambil diukur dengan menggunakan pH meter hingga di dapatkan larutan pH 7.

3.4.6 Pembuatan Buffer pH 9

Larutan buffer pH 9 dibuat dengan mencampurkan 50 mL KH_2PO_4 0,01 M dan sejumlah NaOH 0,1 M sambil diukur dengan menggunakan pH meter hingga di dapatkan larutan pH 9.

3.5 Uji Profil Fitokimia

Metode pemeriksaan kandungan flavonoid, triterpenoid, steroid, dan senyawa fenolik, diadopsi dari Simens et.al.¹³, yaitu :

2 gram sampel segar dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dimaserasi dengan metanol yang telah dipanaskan (di atas penangas air) selama 15 menit. Kemudian disaring panas-panas ke dalam tabung reaksi lain dan biarkan seluruh metanol menguap hingga kering. Lalu ditambahkan kloroform dan air suling dengan perbandingan 1:1 masing-masingnya sebanyak 5 mL, kocok dengan baik, kemudian pindahkan ke dalam tabung reaksi, biarkan sejenak hingga terbentuk dua lapisan kloroform-air. Lapisan kloroform di bagian bawah digunakan untuk pemeriksaan senyawa triterpenoid dan steroid. Sedangkan lapisan air digunakan untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik dan saponin.

1. Pemeriksaan Flavonoid (Sianidin Tes)

Sebagian dari lapisan air diambil dan dipindahkan dengan menggunakan pipet ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan asam klorida pekat dan beberapa butir bubuk magnesium, terbentuknya warna orange sampai merah menunjukkan adanya flavonoid (kecuali untuk flavon).

2. Pemeriksaan Fenolik

Sebagian dari lapisan air diambil dan dipindahkan dengan pipet ke dalam tabung reaksi kecil, kemudian tambahkan pereaksi FeCl_3 , terbentuknya warna biru/ungu menandakan adanya kandungan senyawa fenolik.

3. Pemeriksaan Saponin

Dari lapisan air, kocok kuat-kuat dalam sebuah tabung reaksi, terbentuknya busa yang tidak hilang dengan penambahan beberapa tetes HCl pekat menunjukkan adanya saponin.

4. Pemeriksaan Triterpenoid dan Steroid (Lieberman Buchard)

Dari lapisan kloroform diambil sedikit dan dimasukkan ke dalam tiga lubang plat tetes, biarkan hingga kering. Ke dalam satu lubang plat tetes ditambahkan H_2SO_4 pekat, ke dalam lubang plat tetes lainnya ditambahkan setetes anhidrida asetat dan setetes H_2SO_4 pekat. Terbentuknya warna hijau atau hijau biru menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuknya warna merah atau merah ungu menandakan adanya triterpenoid.

5. Pemeriksaan Alkaloid

Sampel sebanyak 2 – 4 gram dipotong kecil-kecil, kemudian dihaluskan dalam lumpang dengan penambahan sedikit pasir dan 10 mL kloroform-amoniak 0,05 N, kemudian diaduk/digerus perlahan. Larutan disaring dengan corong kecil, di dalamnya diletakkan kapas sebagai penyaring dan hasil saringan dimasukkan ke dalam sebuah tabung reaksi, kemudian tambahkan 10 tetes H_2SO_4 2 N dan kocok secara perlahan. Biarkan sejenak sampai terbentuk pemisahan lapisan asam dan kloroform. Lapisan asam diambil dengan bantuan pipet dan dipindahkan ke dalam sebuah tabung reaksi. Kemudian tambahkan pereaksi Meyer, reaksi positif ditandai dengan adanya endapan putih (+4), kabut putih tebal (+3), kabut putih tipis (+2), kabut putih sangat tipis (+1).

6. Pemeriksaan Kumarin

Sampel sebanyak 2 – 5 gram dirajang halus dan diekstrak dengan pelarut metanol. Hasil ekstrak ditotolkan pada batas bawah plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler, dibiarkan kering pada udara terbuka. Kemudian dielusi dalam bejana yang

berisi 10 mL eluen etil asetat 100%. Noda yang dihasilkan dimonitor di bawah lampu UV (365 nm). Hasil KLT kemudian disemprot dengan larutan NaOH 1% dalam etanol : air (1 : 1), dan selanjutnya dilihat dibawah lampu UV (365 nm). Adanya fluoresensi yang bertambah terang setelah disemprot dengan NaOH 1% menandakan adanya senyawa kumarin.

3.6 Ekstraksi Antosianin

Maserasi merupakan metoda ekstraksi yang biasa digunakan untuk mengisolasi konstituen kimia tertentu di dalam jaringan tumbuhan dengan menggunakan pelarut. Teknik maserasi dipilih karena sifat senyawa yang terdapat dalam sampel belum diketahui dengan jumlah sampel yang cukup banyak. Di samping itu, pengerjaan dengan teknik ini lebih mudah dan sederhana.

Sebanyak 500 gram daging buah terung belandayang telah dihancurkan dimasukkan ke dalam wadah dan dimaserasi dengan menggunakan etanol sebanyak 1 L selama 4 hari. Proses maserasi dilakukan secara berulang hingga pelarut hasil penyaringan berwarna hampir sama dengan pelarut yang akan dimasukkan. Hasil yang diperoleh dari proses maserasi kemudian disaring dan diuapkan pelarutnya menggunakan serangkaian alat vakum-stirrer, sehingga diperoleh ekstrak etanol. Karena sampel yang digunakan adalah sampel basah maka ekstrak etanol masih mengandung air. Air ini dihilangkan dengan menambahkan Na_2SO_4 anhidrat sehingga diperoleh ekstrak pekat etanol.

3.7 Analisa Antosianin

Senyawa antosianin di analisa dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 200 – 600 nm. Data yang diperoleh dibandingkan dengan data yang terdapat pada literatur.

3.8 Perlakuan Terhadap Sampel

3.8.1 Variasi Konsentrasi

Ekstrak pekat etanol yang telah diperoleh divariasikan konsentrasinya dari konsentrasi 1% - 5%. Gunanya untuk mengetahui konsentrasi maksimum yang akan digunakan untuk pengukuran selanjutnya. Tiap-tiap konsentrasi diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 200 – 600 nm.

3.8.2 Variasi pH

Dari spektrum UV hasil pengukuran variasi konsentrasi, diketahui bahwa konsentrasi optimum berada pada konsentrasi 5%. Selanjutnya sampel berkonsentrasi 5% ini di variasikan pHnya yaitu pH 1, pH 3, pH 5, pH 7, dan pH 9. Tiap-tiap variasi pH diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 200 – 600 nm.

3.8.3 Variasi Suhu

Selanjutnya sampel dengan pH 3 di variasikan suhunya yaitu 30°C, 45°C, 60°C, 75°C, 90°C, dan 100°C. Tiap-tiap variasi suhu diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 200 – 600 nm.

3.9 Aplikasi Pigmen Antosianin

Pigmen antosianin yang diperoleh di aplikasikan terhadap dua minuman ringan dimana minuman yang digunakan berbeda tingkat keasamannya (pH). Minuman ringan yang digunakan adalah minuman ringan bersoda dan minuman susu fermentasi. pH dari masing-masing minuman harus diketahui terlebih dahulu. Perlakuan terhadap aplikasi ini adalah variasi konsentrasi pada pH yang berbeda untuk melihat perubahan warna pigmen antosianin di dalam minuman.

3.10 Penentuan Kadar Total Monomer Antosianin Dan Kadar Total Antosianin

Kadar total monomer antosianin dan kadar total antosianin dalam sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

- a. Kadar total monomer antosianin

$$A = (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

$$\text{Kadar total Monomer Antosianin (mg/L)} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times l}$$

- b. Kadar total antosianin

$$A' = (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1}$$

$$\text{Kadar Total Antosianin (mg/L)} = \frac{A' \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Dimana : MW = berat molekul sianidin 3-glukosida (g/mol)

DF = faktor pengenceran

ϵ = molar absorpsifitas ($\text{L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$)

l = tebal kuvet (1 cm)

1000 = pengubah g menjadi mg

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bagian daging buah terung belanda dilakukan uji pendahuluan profil fitokimia seperti yang dicantumkan pada tabel 4.

Tabel 4 . Uji pendahuluan profil fitokimia daging buah terung belanda

No	Kandungan Kimia	Pereaksi	Keterangan
1.	Alkaloid	Dragendorff, Meyer	√
2.	Flavonoid	Shinoda (Mg/HCl)	√
3.	Fenolik	FeCl ₃	√
4.	Kumarin	NaOH 1% + Fluoresensi dengan UV	√
5.	Terpenoid	Liebermann-Burchard	√
6.	Steroid	Liebermann-Burchard	-
7.	Saponin	H ₂ O	-

Keterangan : (√) : ada

(-) : tidak ada

Dari Tabel 3 di atas, dapat diketahui bahwa daging buah terung belanda mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, fenolik, kumarin, terpenoid dan alkaloid. Sedangkan saponin dan steroid tidak ditemukan pada uji pendahuluan.

Dalam melakukan ekstraksi pelarut yang digunakan adalah etanol teknis yang didistilasi. Pertimbangan menggunakan etanol sebagai pengekstrak yaitu antosianin merupakan senyawa polar yang dapat larut dalam etanol dan juga nantinya ekstrak yang didapat akan di aplikasikan ke minuman. Antosianin ini stabil dalam keadaan asam. Untuk itu dalam melakukan ekstraksi pelarut yang digunakan dibuat dalam suasana asam (pH 3) dengan menggunakan asam asetat 25%.

Kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam ekstrak etanol daging buah terung belanda ini bukan hanya antosianin. Terdapat beberapa senyawa lainnya seperti yang terlihat pada hasil KLT dengan berbagai perbandingan pelarut.

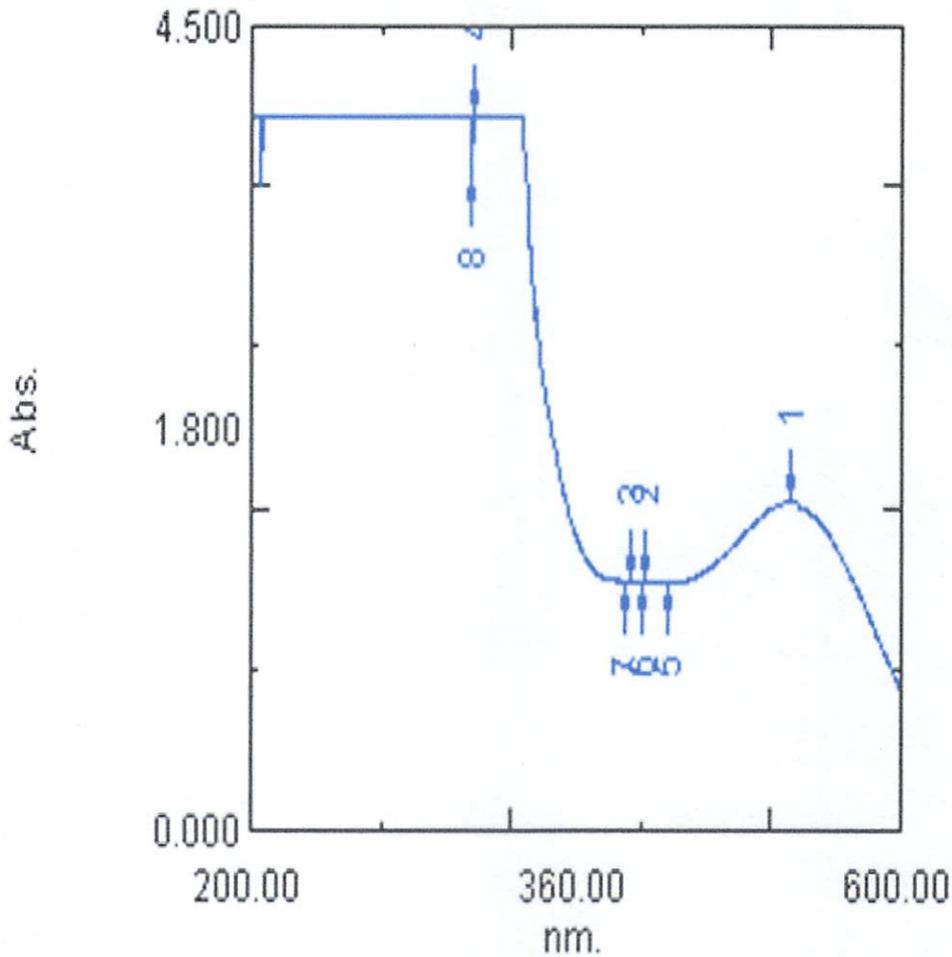
Tabel 5. Hasil KLT ekstrak etanol dengan berbagai perbandingan pelarut

No	Perbandingan eluen	Jumlah noda	Rf
1	100 % etil asetat	1 noda	0,05
2	Etil : metanol (9 : 1)	1 noda	0,05
3	Etil : metanol (8 : 2)	1 tailing	-
4	Etil : metanol (7 : 3)	1 tailing	-
5	Etil : metanol (6 : 4)	1 tailing	
6	Etil : metanol (5 : 5)	1 tailing	-
7	Etil : metanol (4 : 6)	1 tailing	-
8	Etil : metanol (3 : 7)	1 tailing	-
9	Etil : metanol (2 : 8)	1 noda	0,425
10	Etil : metanol (1 : 9)	1 noda	0,425
11	100 % metanol	1 noda, 1 tailing	0,425

Tabel 6. Hasil KLT dengan berbagai keadaan (eluen 100% metanol)

No	Variasai pH/suhu	Jumlah noda	Rf
1	pH 1	2 noda	0,05 ; 0,15
2	pH 3	2 noda	0,075 ; 0,425
3	pH 5	2 noda	0,4 ; 0,5
4	pH 7	1 noda	0,05
5	Suhu 30°C	2 tailing	-
6	Suhu 45°C	1 tailing, 1 noda	0,05
7	Suhu 60°C	1 tailing	-
8	Suhu 75°C	1 noda, 1 tailing	0,35
9	Suhu 90°C	1 noda	0,45
10	Suhu 100°C	1 noda	0,425

Hasil ekstraksi (maserasi) buah terung belanda ini di analisa menggunakan spektrometer UV-vis sehingga menghasilkan spektrum seperti yang terlihat pada gambar 7 di bawah ini.

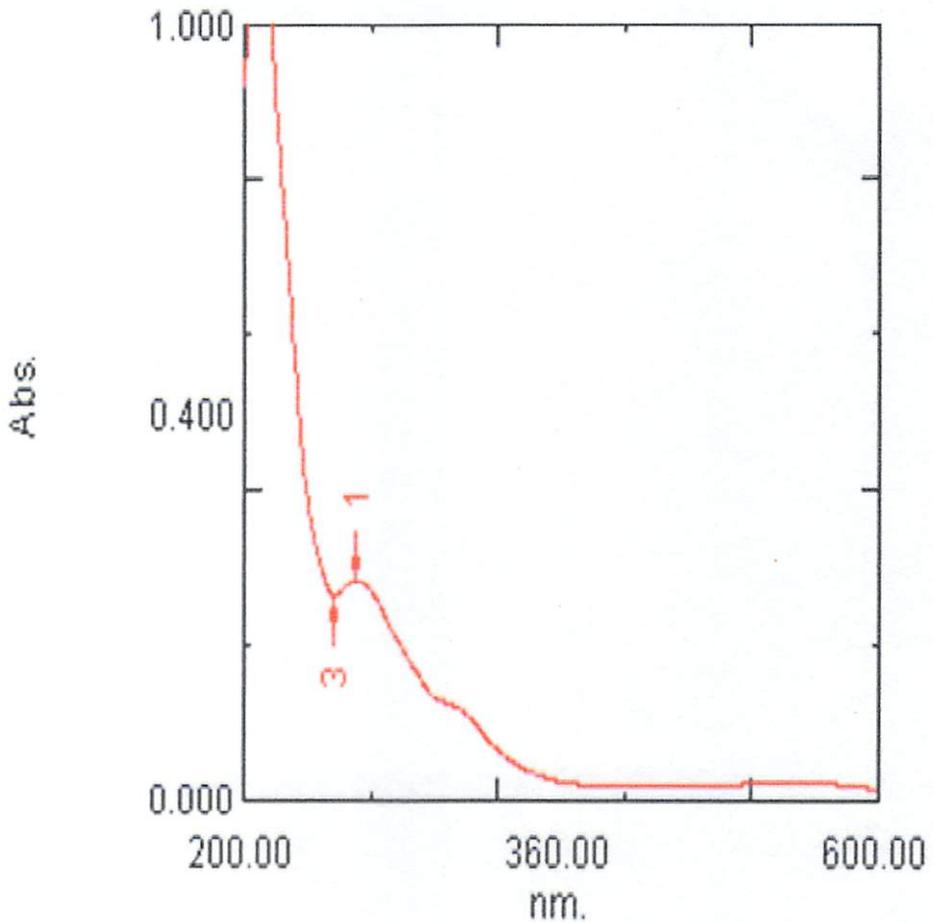


Gambar 7. Spektrum UV hasil maserasi

Dari hasil spektrum UV di atas dapat dilihat bahwa fraksi etanol ekstrak buah terung belanda mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 531 nm di mana pada panjang gelombang ini jenis antosianin yang ada adalah Peonidin-3-galaktosida. Jenis antosianin ini diketahui dengan membandingkan serapan maksimum yang diperoleh dengan serapan maksimum yang terdapat di dalam jurnal yang ditulis oleh Mónica Giusti dan Ronald E. Wrolstad pada tahun 2001 dimana pada serapan maksimum ini (531 nm) jenis antosianinnya Peonidin-3-galaktosida.¹⁴

Ekstrak etanol daging buah terung belanda ini dipekatkan sehingga di dapatkan ekstrak pekat etanol. Ekstrak pekat ini divariasikan konsentrasinya yaitu konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4% dan 5% yang selanjutnya di analisa menggunakan spektroskopi UV sehingga memberikan spektrum UV seperti yang terlihat pada Gambar 8 di bawah ini.

a. Konsentrasi 1%

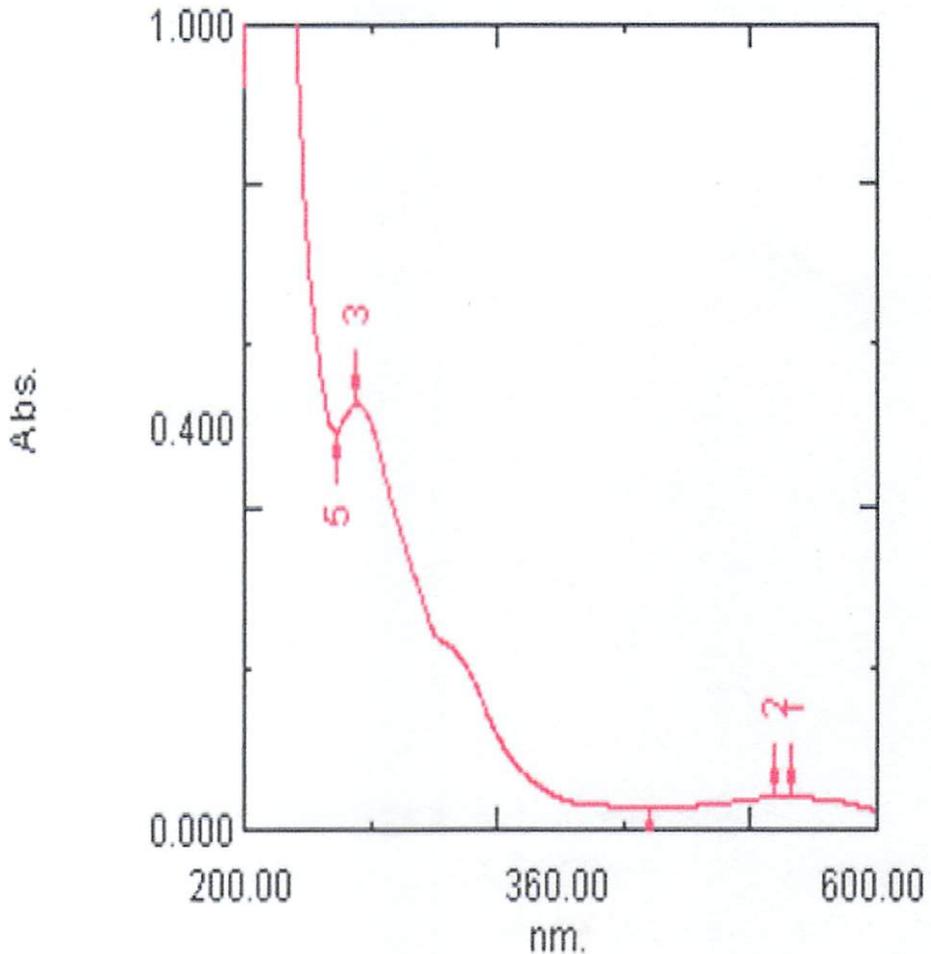


Gambar 8. Spektrum UV variasi konsentrasi 1%

Dari hasil spektrum UV di atas dapat diketahui bahwa dengan variasi konsentrasi 1 % didapatkan serapan maksimum pada panjang gelombang 269,5 nm. dari serapan maksimum yang di dapat diketahui tidak adanya kandungan antosianin pada varaiasi 1 % ini karena daerah serapan

maksimum untuk senyawa antosianin ini berkisar 270-280 nm (untuk daerah uv) dan 465-560 nm (untuk daerah visibel).

b. Konsentrasi 2%

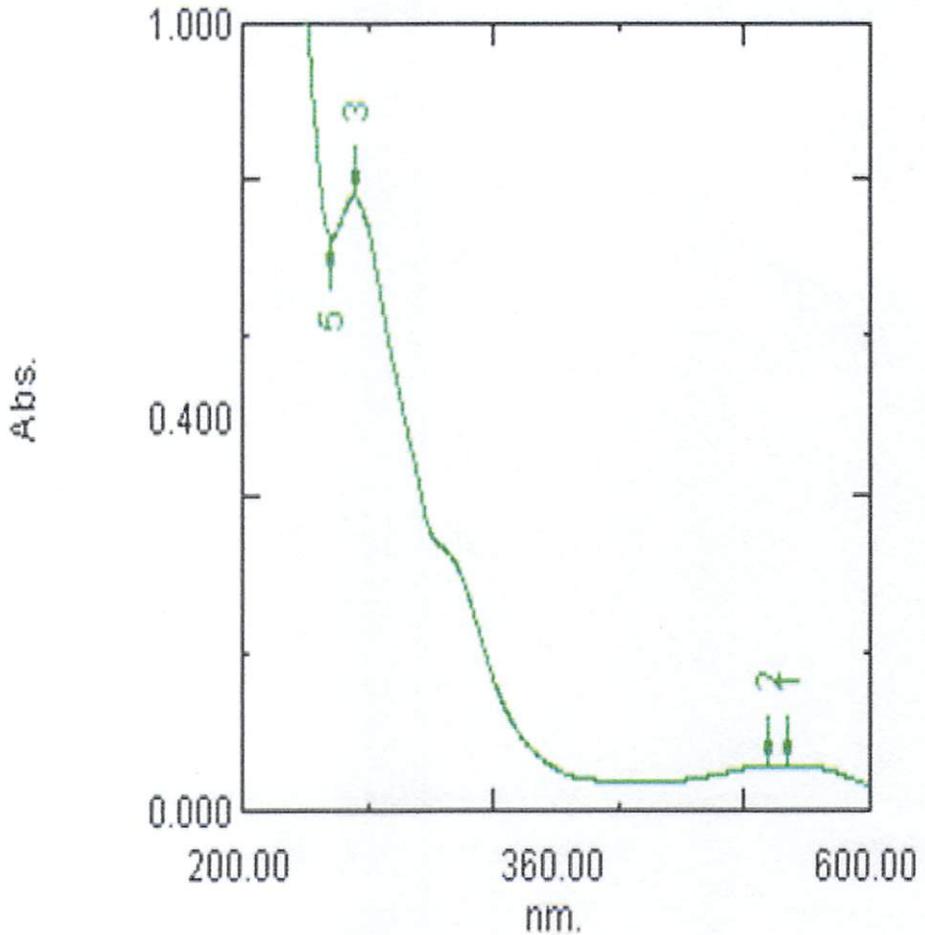


Gambar 9. Spektrum UV variasi konsentrasi 2%

Untuk variasi konsentrasi 2 % di dapatkan serapan maksimumnya pada panjang gelombang 535,5 nm. Jenis antosianin yang terdapat pada serapan maksimum ini adalah sianidin-3-galaktosida atau sianidin-3-arabinosida. Jenis antosianin ini diketahui dengan membandingkan serapan maksimum hasil pengukuran dengan serapan maksimum yang terdapat di dalam jurnal yang ditulis oleh Mónica Giusti dan Ronald E. Wrolstad pada tahun 2001 dimana pada serapan maksimum ini (535 nm)

jenis antosianinnya adalah sianidin-3-galaktosida atau sianidin-3-arabinosida.¹⁴

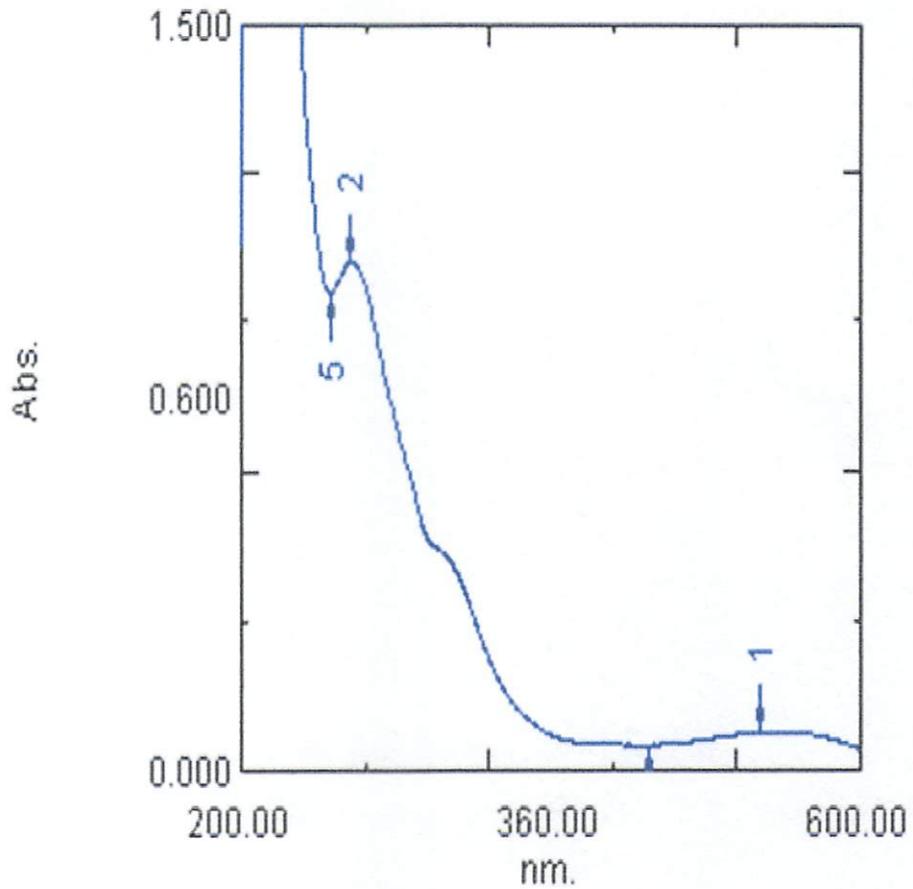
c. Konsentrasi 3%



Gambar 10. Spektrum UV variasi konsentrasi 3%

Jenis antosianin yang terdapat pada konsentrasi 3 % ini sama dengan jenis antosianin yang terdapat pada variasi konsentrasi 2 % yaitu sianidin-3-galaktosida atau sianidin-3-arabinosida, tetapi kandungan senyawa ini pada konsentrasi 3% lebih banyak. Hal ini diketahui dari absorban pada konsentrasi 3 % lebih besar jika dibandingkan dengan absorban yang terdapat pada variasi 2 %.

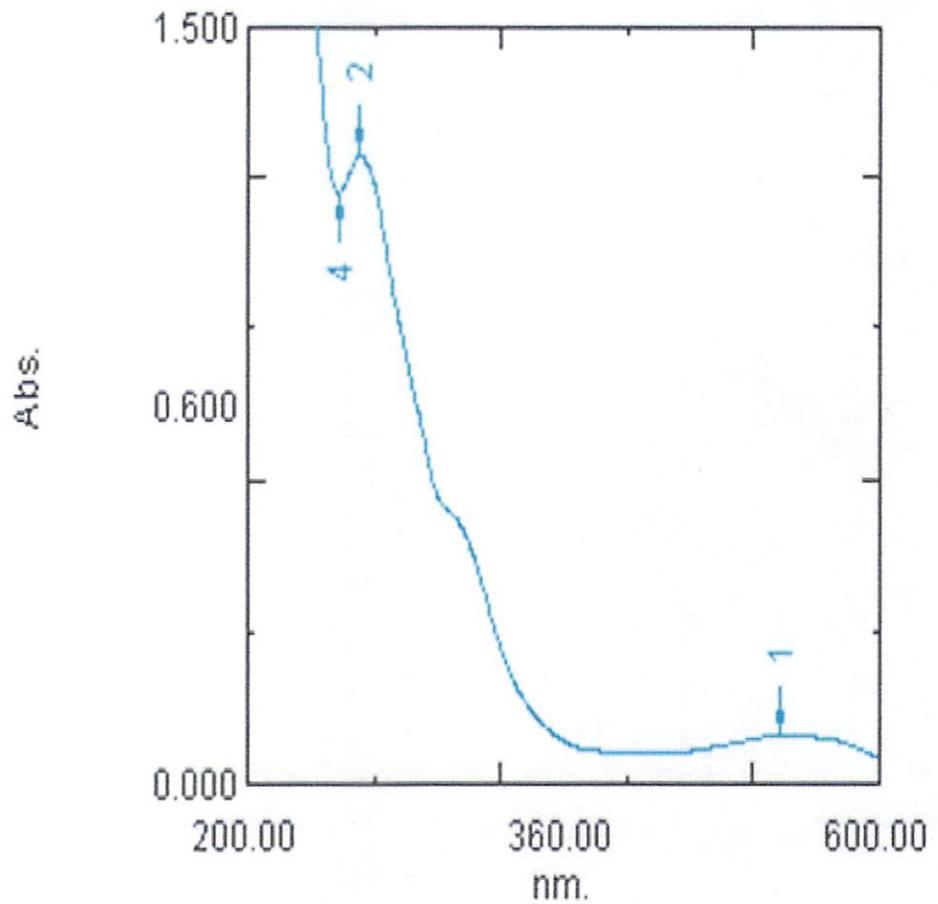
d. Konsentrasi 4%



Gambar 11. Spektrum UV variasi konsentrasi 4%

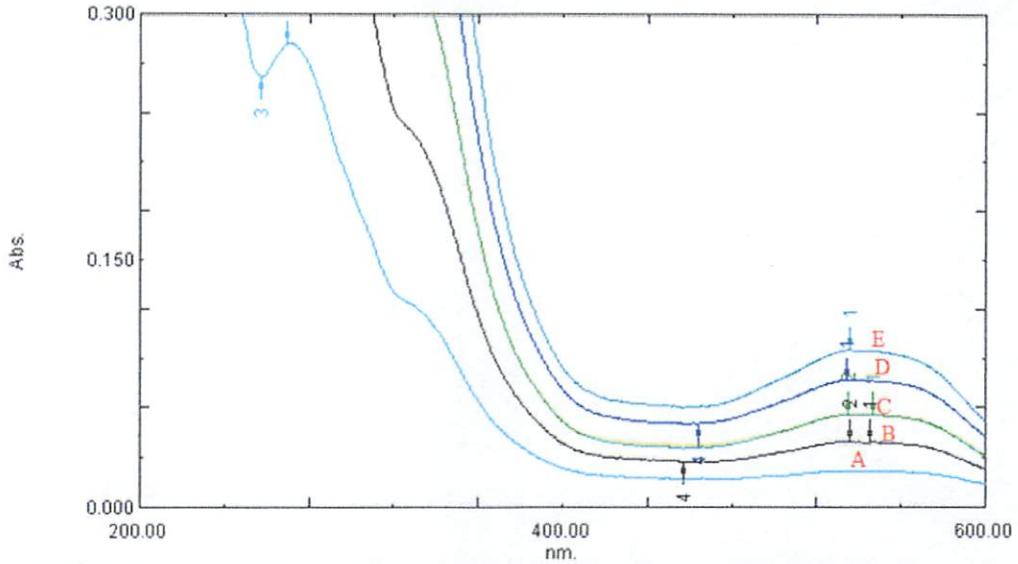
Jenis antosianin yang terdapat pada variasi konsentrasi 4% ini sama dengan jenis antosianin yang terdapat pada variasi konsentrasi 2 % dan 3% yaitu sianidin-3-galaktosida atau sianidin-3-arabinosida, tetapi kandungan senyawa ini pada konsentrasi 4% lebih banyak. Hal ini diketahui dari absorbansi pada konsentrasi 4 % lebih besar jika dibandingkan dengan absorbansi yang terdapat pada variasi 2% dan 3%.

e. Konsentrasi 5%



Gambar 12. Spektrum UV variasi konsentrasi 5 %

Sama halnya dengan variasi 2%, 3% dan 4%. Jenis antosianin yang terdapat pada konsentrasi 5% ini sama dengan jenis antosianin yang terdapat pada variasi konsentrasi 2%, 3% dan 4% yaitu sianidin-3-galaktosida atau sianidin-3-arabinosida, tetapi kandungan senyawa ini pada konsentrasi 5% lebih banyak. Hal ini diketahui dari absorban pada konsentrasi 5 % lebih besar jika di bandingkan dengan absorban yang terdapat pada variasi 2%, 3%, dan 4%, seperti yang terlihat pada Gambar 13 dan Tabel 7 berikut ini.



Gambar 13. Spektrum gabungan variasi konsentrasi (A= konsentrasi 1 %, B = konsentrasi 2 %, C = konsentrasi 3 %, D = konsentrasi 4 %, E = konsentrasi 5 %).

Tabel 7. Besar absorbansi pada $\lambda_{\text{vis max (nm)}}$ 535 nm pada berbagai konsentrasi

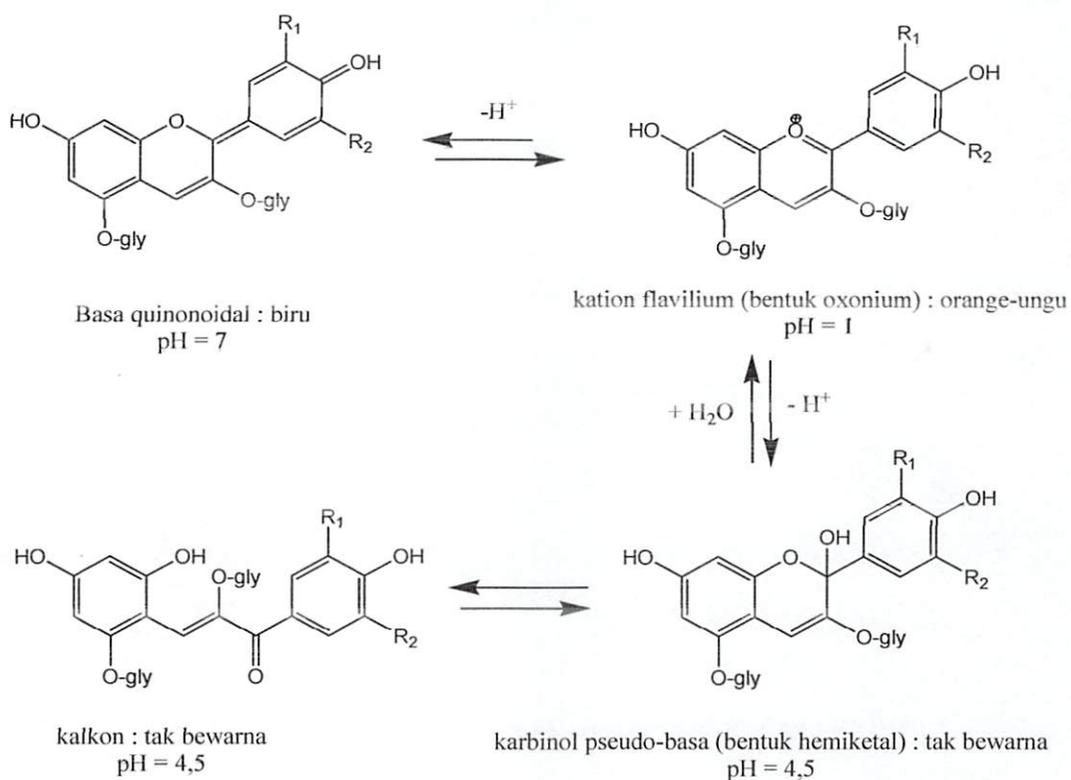
No	Variasi konsentrasi (%)	$\lambda_{\text{vis max (nm)}}$	Abs.
1	1 %	-	-
2	2 %	535,5	0,04
3	3 %	535	0,056
4	4 %	534,5	0,077
5	5 %	536	0,095

Dari spektrum UV variasi konsentrasi di atas diketahui bahwa konsentrasi yang paling baik untuk perlakuan selanjutnya (variasi pH) adalah pada konsentrasi 5%. Perlakuan selanjutnya berupa variasi pH, yaitu pH 1, 3, 5, 7 dan 9. Pada variasi pH ini terlihat bahwa warna yang ditimbulkan tiap pH berbeda-beda seperti yang terlihat pada Gambar 14.



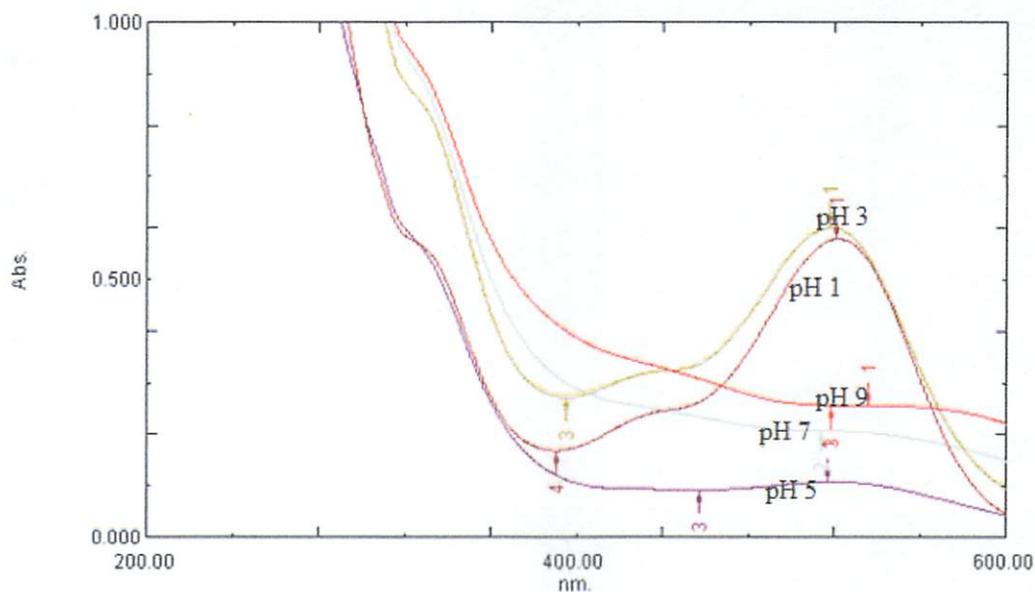
Gambar 14. Perubahan warna karena variasi pH

Semakin asam pH suatu larutan maka warna yang dihasilkan pigmen ini semakin cerah. Sebaliknya semakin basa larutan, maka warna yang ditimbulkan semakin pucat/tak bewarna. Hal ini menyatakan bahwa pada pH yang berbeda struktur antosianin mengalami perubahan, seperti yang terlihat pada Gambar 15.



Gambar 15. Perubahan struktur antosianin pada pH yang berbeda.¹⁴

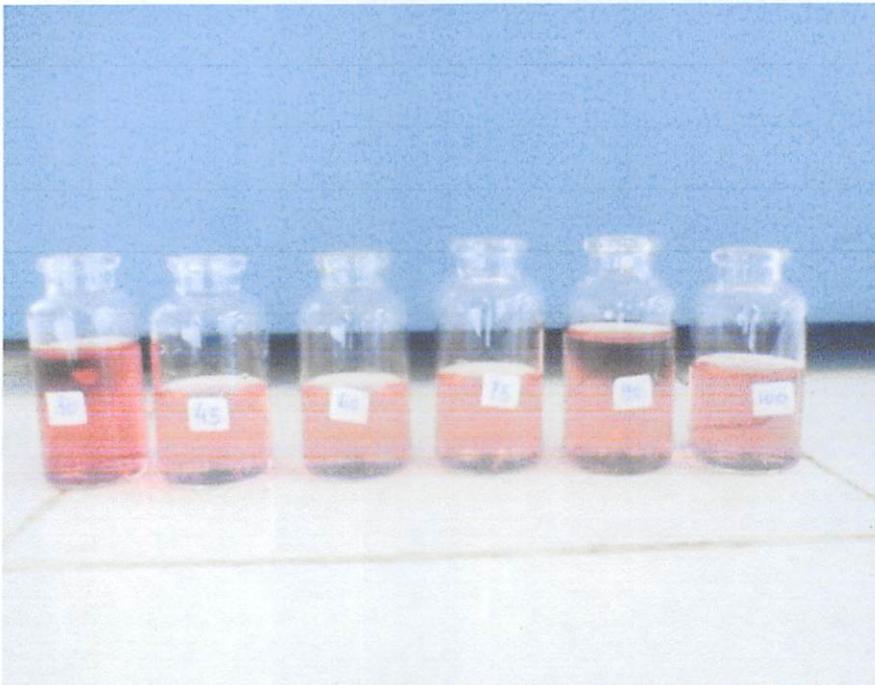
Selanjutnya variasi pH ini dianalisis menggunakan spektroskopi UV-vis sehingga menghasilkan spektrum seperti yang terlihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Spektrum UV variasi pH

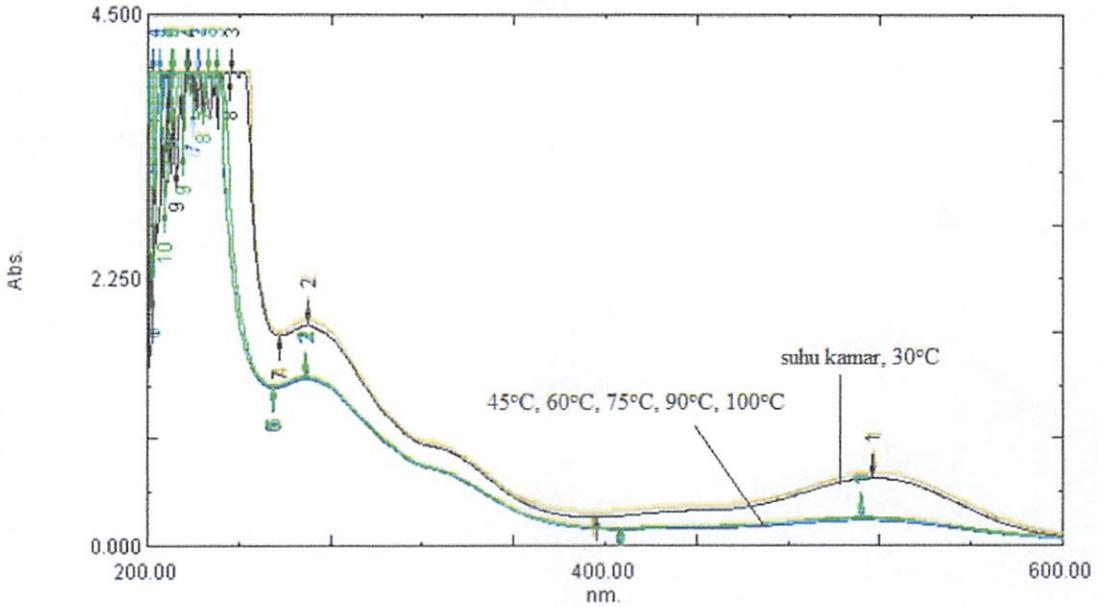
Kandungan senyawa yang terdapat pada tiap-tiap pH berbeda, hal ini dapat dilihat dari serapan maksimumnya. Antosianin yang terdapat pada pH 1 dengan serapan maksimum 521 nm adalah malvidin. Pada pH 3 dan 5 dengan serapan maksimum masing-masingnya 517.5 nm dan 517 nm adalah senyawa pelargonidin-3-glukosa tetapi kadar antosianin yang terdapat pada pH 3 dan pH 5 ini berbeda, hal ini dapat diketahui dari absorbannya dimana absorban pada pH 3 enam kali lebih besar dibanding dengan absorban pada pH 5. Pada pH 7 serapan maksimumnya pada panjang gelombang 270,5 nm dan pada pH 9 serapan maksimumnya pada panjang gelombang 535,5 nm yang diidentifikasi adanya senyawa sianidin-3-galaktosida atau sianidin-3-arabinosida.

Perlakuan selanjutnya berupa variasi suhu, yaitu suhu 30°, 45°, 60°, 75°, 90°, dan 100°C yang nantinya akan dianalisis dengan spektroskopi UV-Vis. Untuk perlakuan ini digunakan larutan dengan pH 3. Perubahan warna pada larutan yang mengandung senyawa antosianin akibat pemanasan dapat dilihat pada Gambar 17 berikut ini.



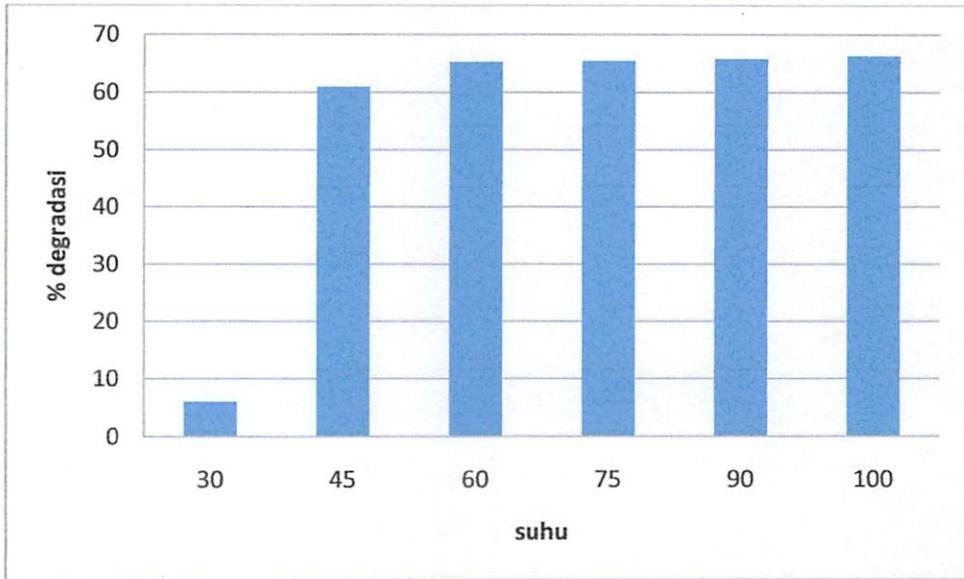
Gambar 17. Perubahan warna karena pemanasan (variasi suhu)

Selanjutnya dilakukan pengukuran dengan menggunakan spektroskopi UV-vis sehingga memberikan spektrum seperti yang terlihat pada gambar 18.



Gambar 18. Spektrum UV variasi suhu

Dengan pemanasan di atas 30°C warna yang dihasilkan pudar yang berarti jika diberi pemanasan senyawa awal yang terkandung di dalam larutan tersebut akan rusak. Senyawa awal yang terdapat dalam ekstrak dengan pH 3 yaitu pelargonidin-3-glukosa dengan pemanasan suhu 30°C tidak mengalami kerusakan tetapi kadar senyawanya berubah dengan degradasi sebesar 6 %. Sedangkan untuk pemanasan dengan suhu 45° C, 60° C, 75° C, 90° C, dan 100°C terjadi kerusakan senyawa awal menjadi peonidin yang memberikan serapan sebesar 512 nm dengan persen degradasi berturut-turut 61%; 65,33%; 65,5%; 65,83%, dan 66,33% (Gambar 19 dan Tabel 8).



Gambar 19. Pengaruh suhu terhadap degradasi warna

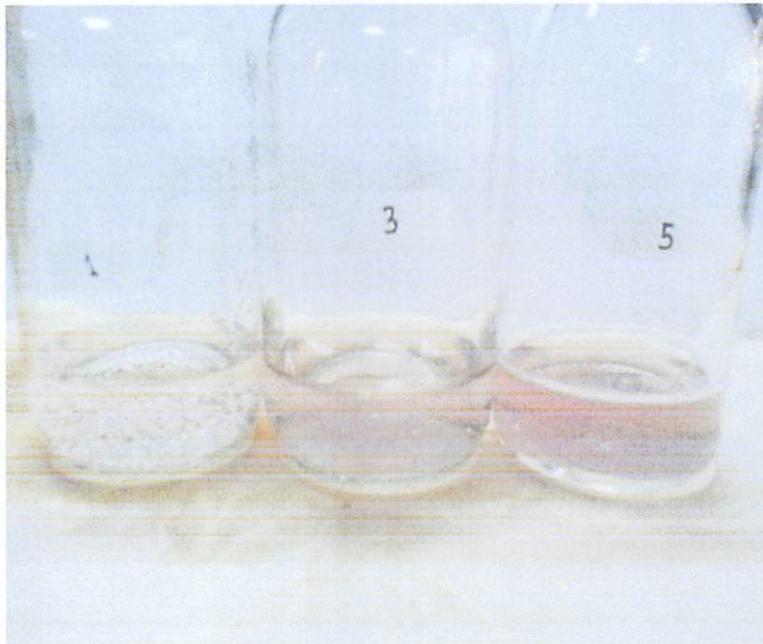
Tabel 8. Persentase degradasi akibat pemanasan

No	Suhu ($^{\circ}$ C)	% Degradasi
1	30	6
2	45	61
3	60	65,33
4	75	65,5
5	90	65,83
6	100	66,33

Kandungan antosianin yang ada di dalam buah terung belanda ini kemungkinan adalah senyawa Peonodin-3-galaktosida dengan serapan maksimum 531 nm, sianidin -3-galaktosa ; sianidin-3-arabinosa dengan serapan maksimum berkisar 535 nm, malvidin dengan serapan maksimum 521 nm, pelargonidin-3-glukosa dengan serapan maksimum 517 nm, dan peonidin dengan serapan maksimum 512 nm. Data ini diperoleh dengan membandingkan serapan maksimum yang di dapat dengan serapan maksimum antosianin yang terdapat di dalam jurnal “Current Protocols in Food Analitical Chemistry” sebagai acuannya. Dari jurnal yang ditulis oleh Mónica Giusti dan Ronald E. Wrolstad serapan untuk sianidin -3-galaktosa dan

sianidin-3-arabinosa adalah 535 nm, malvidin 520 nm, pelargonidin-3-glukosa 516 nm, dan untuk peonidin 511 nm.¹⁴

Dari penambahan pigmen antosianin ke dalam masing-masing minuman dengan berbagai variasi konsentrasi dapat dilihat jelas bahwasannya terjadi perubahan warna terhadap masing-masing minuman. Untuk minuman bersoda limun yang mempunyai pH 6 setelah penambahan antosianin dengan variasi 1%, 3% dan 5% terjadi perubahan warna mulai dari sedikit keunguan sampai bewarna keunguan yang dapat dilihat pada gambar 20.



Gambar 20. Perubahan warna dengan berbagai konsentrasi pada minuman bersoda limun

Untuk minuman bersoda bermerk (sprite) yang mempunyai pH 3 setelah penambahan antosianin dengan variasi 1%, 3% dan 5% terjadi perubahan warna mulai dari keunguan, sedikit kemerahan dan bewarna merah yang dapat dilihat pada gambar 21.



Gambar 21. Perubahan warna dengan berbagai konsentrasi pada minuman bersoda bermerk (sprite)

Untuk minuman susu berfermentasi (yakult) yang mempunyai pH 3 setelah penambahan antosianin dengan variasi 1%, 3% dan 5% terjadi perubahan warna mulai dari sedikit kemerahan sampai bewarna merah yang dapat dilihat pada gambar 22.



a. Tanpa pengenceran



b. Pengenceran dengan perbandingan 1:1

Gambar 22. Perubahan warna dengan berbagai konsentrasi pada minuman susu fermentasi (yakult)

Dengan penambahan pigmen antosianin ke masing-masing minuman dapat dilihat perbedaan warna yang terjadi terhadap masing-masing minuman. Hal ini disebabkan karena pH minuman yang berbeda memberikan warna yang berbeda. Semakin asam pH minuman maka warna yang dihasilkan oleh pigmen antosianin ini semakin cerah karena pada pH asam (pH 1-3) antosianin membentuk ion oxonium yang berwarna merah, sedangkan untuk untuk pH yang lebih tinggi menjadi pseudobasa yang tak berwarna sehingga untuk minuman yang pH-nya lebih dari 3 warna yang ditimbulkan akan semakin hilang (tak berwarna) seperti yang terlihat pada Gambar 23.



Gambar 23. Pengaruh penambahan antosianin pada berbagai minuman dengan berbagai pH (A= minuman bersoda limun, B = yakult tanpa pengenceran, C = yakult : aquadest 1:1, D = minuman bersoda sprite).

Ada beberapa keuntungan menggunakan antosianin sebagai bahan pewarna pada makanan ataupun minuman, diantaranya adalah :

1. Sebagai pewarna alami yang dapat menggantikan pewarna sintetik.
2. Tidak berbahaya bagi tubuh karena pewarna yang digunakan adalah pewarna alami yang di dapat dari tumbuh-tumbuhan.
3. Antosianin ini bersifat sebagai antioksidan, yang secara tak langsung kita mengkonsumsi zat antioksidan yang dibutuhkan oleh tubuh.

Dari penelitian yang telah dilakukan terhadap identifikasi dan aplikasi antosianin terhadap minuman yang diperoleh dari buah terung belanda di dapatkan kadar monomer total antosianin sebesar 143,61 mg/L dan kadar antosianin total sebesar 161,98 mg/L.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Daging buah terung belanda (*Cyphomandra betacea* Sendt) mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, fenolik, kumarin, terpenoid dan alkaloid serta mengandung antosianin karena memberikan serapan maksimum berkisar antara 465 – 560 nm, yaitu : Peonidin-3-galaktosida, sianidin-3-galaktosida ; sianidin-3-arabinosida, malvidin, pelargonidin-3-glukosida, dan peonidin
2. Antosianin yang diperoleh stabil pada pH 1- 3. Warna dari antosianin tidak mengalami degradasi pada suhu 28 °C dan mengalami degradasi 6 % pada suhu 30 °C, sedangkan pada suhu lebih dari 45 °C degradasi mencapai 66,33 %.
3. Penambahan senyawa antosianin ke dalam minuman bersuasana asam (pH 3) memberikan warna merah, sedangkan penambahan senyawa antosianin ke dalam minuman pH 6 menghasilkan warna keunguan. Dalam aplikasi terhadap minuman ini antosianin hanya stabil selama 1 minggu.

5.2 Saran

1. Melakukan karakterisasi lebih lanjut terhadap senyawa antosianin yang terdapat di dalam buah terung belanda menggunakan HPLC, GC/MS dan NMR.
2. Untuk aplikasi terhadap perubahan warna yang terjadi karena penambahan antosianin ke dalam berbagai minuman diperlukan adanya panelis sebagai penilai.
3. Meneliti pengaruh cahaya terhadap kestabilan senyawa antosianin.

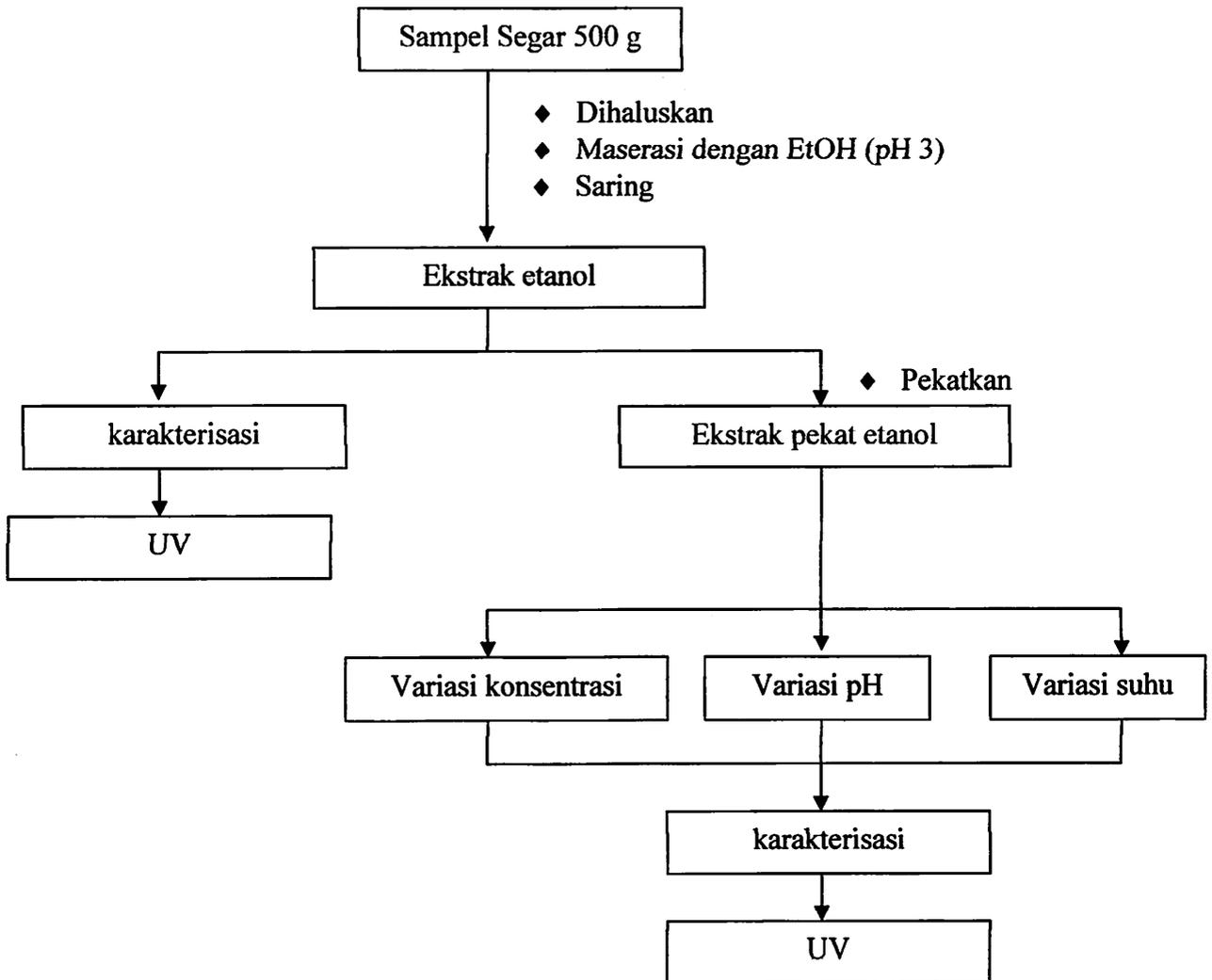
DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. H. Suryani. *Kimia dan Sumber Daya Alam*. Pusat Penelitian Universitas Andalas, Padang. 1991. Hal 31.
2. Tensiska, Een Sukarminah dan Dita Natalia. *Ekstraksi Pewarna Alami Dari Buah Arben (*Rubus Idaeus* (Linn.)) Dan Aplikasinya Pada Sistem Pangan*. UNPAD.
3. Kahkonen, Marja P. And Marina Heinonen.. Antioxidant Activity of Anthocyanins and Their Aglycons, *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 628-633.
4. Maarit Rein. *Academic Dissertation "Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins."*. University of Helsinki , Finland. 2005
5. Robert Byamukama, Jane Namukobe and Bernard Kiremire.. *Anthocyanin From Leaf Stalks Of Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz)*. Makerere University, Uganda. 2009
6. Ramos, L.A, K.O. Lupetti, E.T. Carvalho, and O.Fatibello-Filho.. *Utilização do extrato bruto de frutos de *Solanum nigrum* L. no ensino de química. Eclética Química* (Brasil). 2000, 25:110-120.
7. K.A. Harper and B.V Chandler.. *Structural changes of flavilium salts.1.polarographic and spectrometric examination of 7-4'-dihidroxy flavilium perchlorate*. Academic press, New York. 1968
8. Eliana Ferreira Ozela. Paulo César Stringheta, and Milton Cano Chauca.. *Stability of anthocyanin in spinach vine (*Basella rubra*) fruits. Cien. Inv. Agr.* 2007, 34(2): 115-120.
9. K. Gould, Kevin Davies, and Chris Winefield. *Anthocyanin Biosynthesis, functions and applications*. Springer, New Zealand .
10. Harold Hart. *Kimia Organik*. Erlangga, Jakarta . 1993. Hal 314-316
11. P, Manitto.. *Biosynthesis of Natural Products*. Ellis Horwoud Ltd, England . 1981
12. C.J .Cresswell.. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Edisi ke-2. ITB, Bandung. 1982
13. Nordin, C. *Aspect of Natural Product Chemistry Proceeding, The Phytochemical Survey*. Dept. Chemistry UPM, Malaysia . 1985,

14. Mónica Giusti and Ronald E. Wrolstad.. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc. 2001

Lampiran 1

Skema Kerja Metoda Ekstraksi Daging Buah Terung Belanda (*Cyphomandra betacea* Sendt).



Lampiran 2

Perhitungan Pembuatan larutan $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0,5 % , CH_3COOH 2 % ,
 KH_2PO_4 0,01 M dan NaOH 0,1 M

- Pembuatan larutan $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 0,5 %

$$\begin{aligned} &= \frac{0,5 \text{ g amonium asetat}}{100 \text{ g larutan}} \times \frac{1,17 \text{ g Larutan}}{1 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mol amonium asetat}}{77,08 \text{ g amonium asetat}} \times \frac{100 \text{ mL}}{0,1 \text{ L}} \\ &= 0,0758 \text{ M} \\ &= 0,076 \text{ M} \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan CH_3COOH 2 %

$$\begin{aligned} &= \frac{2 \text{ mL asam asetat}}{100 \text{ mL larutan}} \times \frac{1,049 \text{ g larutan}}{1 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mol asam asetat}}{60,05 \text{ g asam asetat}} \times \frac{100 \text{ mL}}{0,1 \text{ L}} \\ &= 0,349 \text{ M} \\ &= 0,35 \text{ M} \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan KH_2PO_4 0,01 M

$$\begin{aligned} 0,01 \text{ M} &= \frac{\text{g}}{136,09 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \\ \text{g} &= \frac{0,01 \text{ M} \times 136,09 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 100 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \\ \text{g} &= 0,136 \text{ g} \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan NaOH 0,1 M

$$\begin{aligned} 0,1 \text{ M} &= \frac{\text{g}}{40 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \\ \text{g} &= \frac{0,1 \text{ M} \times 40 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 100 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}} \\ \text{g} &= 0,4 \text{ g} \end{aligned}$$

Lampiran 3

Contoh Perhitungan pembuatan Buffer

- **Buffer 3**

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log \frac{[\text{garam}]}{[\text{asam}]}$$

$$3 = 4,74 + \log \frac{a}{b}$$

$$\log \frac{a}{b} = 3 - 4,74$$

$$\log \frac{a}{b} = -1,74$$

$$\frac{a}{b} = 0,01819$$

$$a = 0,01819 b$$

$$a + b = 0,43$$

$$0,01819 b + b = 0,43$$

$$1,01819 b = 0,43$$

$$b = 0,4223 \text{ M}$$

$$a = 0,01819 b$$

$$a = 7,68 \times 10^{-3}$$

$$\text{garam} = \frac{7,68 \times 10^{-3} \text{ M}}{0,076 \text{ M}} \times 0,5 \text{ g} = 0,05 \text{ g}$$

$$\text{asam} = \frac{0,4223 \text{ M}}{0,35 \text{ M}} \times 2 \text{ mL} = 2,41 \text{ mL}$$

- **Buffer 7**



$$K = \frac{[\text{H}^+]}{[\text{KH}_2\text{PO}_4^{2-}]} [\text{HPO}_4^{2-}] \longrightarrow [\text{H}^+] = [\text{HPO}_4^{2-}]$$

$$6,12 \times 10^{-8} = \frac{[\text{H}^+]^2}{0,01}$$

$$[H^+]^2 = 6,12 \times 10^{-10}$$

$$[H^+] = \sqrt{6,12 \times 10^{-10}}$$

$$[H^+] = 2,4738 \times 10^{-5}$$

$$pH = -\log[H^+]$$

$$= -\log(2,4738 \times 10^{-5})$$

$$= 5 - \log 2,4738$$

$$= 5 - 0,3933$$

$$= 4,6067$$

Untuk mendapatkan pH 7 tambahkan sejumlah NaOH 0,1 M sambil diukur dengan menggunakan pH meter hingga di dapatkan larutan pH 7.

Lampiran 4

Perhitungan Kadar Total Monomer Antosianin

$$A = (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

$$\text{Kadar total Monomer Antosianin (mg/L)} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times l}$$

$$A = (A_{521 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{517 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

$$A = (0.578 - 0.093) - (0.107 - 0.052)$$

$$A = 0.43$$

$$\text{Kadar Total Monomer Antosianin (mg/L)} = \frac{0.43 \times 449.2 \times 20 \times 1000}{26900 \times 1} = 143.61$$

Perhitungan Kadar Total Antosianin

$$A' = (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1}$$

$$\text{Kadar Total Antosianin (mg/L)} = \frac{A' \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times l}$$

$$A' = (A_{521 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH } 1}$$

$$A' = (0.578 - 0.093)$$

$$A' = 0.485$$

$$\text{Kadar Total Antosianin (mg/L)} = \frac{0.485 \times 449.2 \times 20 \times 1000}{26900 \times 1} = 161.98$$

Dimana : MW = berat molekul sianidin 3-glukosida (g/mol)

DF = faktor pengenceran

ϵ = molar absorpsifitas ($\text{L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$)

l = tebal kuvet (1 cm)

1000 = pengubah g menjadi mg

Lampiran 5

Perhitungan degradasi warna (%)

$$\text{Total sisa Antosianin (\%)} = \frac{\text{absorban setelah perlakuan}}{\text{absorban sebelum perlakuan}} \times 100 \%$$

$$\text{Degradasi warna (\%)} = 100 \% - \text{total sisa antosianin}$$

a. Suhu 30°C

$$\text{Degradasi warna (\%)} = \frac{0.6 - 0.564}{0.6} \times 100 \% = 6 \%$$

b. Suhu 45°C

$$\text{Degradasi warna (\%)} = \frac{0.6 - 0.234}{0.6} \times 100 \% = 61 \%$$

c. Suhu 60°C

$$\text{Degradasi warna (\%)} = \frac{0.6 - 0.208}{0.6} \times 100 \% = 65.33 \%$$

d. Suhu 75°C

$$\text{Degradasi warna (\%)} = \frac{0.6 - 0.207}{0.6} \times 100 \% = 65.5 \%$$

e. Suhu 90°C

$$\text{Degradasi warna (\%)} = \frac{0.6 - 0.205}{0.6} \times 100 \% = 65.83 \%$$

f. Suhu 100°C

$$\text{Degradasi warna (\%)} = \frac{0.6 - 0.202}{0.6} \times 100 \% = 66.33 \%$$

Lampiran 6

Gambar Tumbuhan Terung Belanda (*Cyphomandra betacea* Sendt).

