



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.

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTOSIANIN DARI
BUNGA DADAP (*Erythrina crista-galli* L) SERTA APLIKASI PADA
MINUMAN DAN UJI ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI



**NURSABTRIA
0810412052**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG 2012**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTOSIANIN DARI BUNGA
DADAP (*Erythrina crista-galli* l) SERTA APLIKASI PADA MINUMAN
DAN UJI ANTIOKSIDAN**

Oleh :
Nursabtria

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

2012

Lembar Pengesahan

Isolasi dan Dentifikasi Senyawa Antosianin dari Bunga Dadap (*Erythrina crista-galli L*) serta Aplikasi pada Minuman dan Uji Antioksidan, makalah hasil oleh Nursabtria (0810412052) diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (Strata 1) Kimia Organik Bahan Alam pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang.

UNIVERSITAS ANDALAS

Disetujui Oleh :

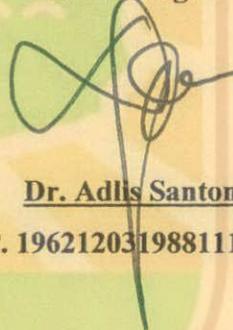
Pembimbing I



Dr. Djaswir Darwis, MS. DEA

NIP. 195012081980031001

Pembimbing II



Dr. Adlis Santoni

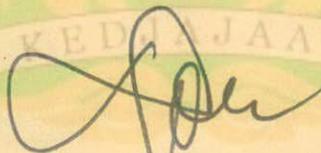
NIP. 196212031988111002

Mengetahui :

Ketua Jurusan Kimia

FMIPA Universitas Andalas

UNTUK KEDAJAAN BANGSA



Dr. Adlis Santoni

NIP. 196212031988111002

ABSTRAK

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTOSIANIN DARI BUNGA DADAP (*Erythrina crista-galli* L) SERTA APLIKASI PADA MINUMAN DAN UJI ANTIOKSIDAN

Oleh

Nursabtria

Sarjana Sain (SSi) dalam bidang Kimia Fakultas MIPA Universitas Andalas
Dibimbing oleh Dr. Djaswir Darwis, MS.DEA dan Dr. Adlis Santoni

Penelitian terhadap Bunga dadap (*Erythrina crista-galli* L) diidentifikasi mengandung senyawa antosianin yang dapat digunakan sebagai pewarna alami pada minuman. Senyawa antosianin ini diekstrak menggunakan metoda maserasi dengan pelarut metanol dalam suasana asam (pH 1-2). Ekstrak metanol diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 240-600 nm, diperoleh antosianin jenis turunan pelargonidin pada λ_{\max} 512 nm. Kestabilan antosianin dilakukan terhadap variasi pH dan suhu. Pada variasi pH diketahui senyawa antosianin stabil pada pH 1-3 dan mengalami perubahan pada pH 5-9 sedangkan untuk variasi suhu 30°, 45°, 60°, 75°, 90°, dan 100°C antosianin stabil terhadap perubahan suhu. Pengujian antioksidan antosianin dilakukan pada variasi konsentrasi 0,2 %; 0,15 %; 0,1 %; dan 0,05%, dan diperoleh inhibisi maksimum pada konsentrasi 0,2%. Kadar total antosianin ekstrak metanol-asam klorida didapatkan sebesar 94,80 mg/L dan ekstrak metanol-asam sitrat sebesar 68,22 mg/L. Aplikasi senyawa antosianin terhadap minuman pada pH 5, 6, dan 9 diketahui terjadi degradasi senyawa antosianin.

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 **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antosianin dari Bunga Dadap (*Erythrina crista-galli* L) serta Aplikasi pada Minuman dan Uji Antioksidan**. Skripsi 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. Djaswir Darwis, MS. DEA dan Bapak Dr. Adlis Santoni selaku pembimbing yang telah memberikan banyak ilmu, nasehat, bimbingan dan arahan selama penulis melakukan penelitian dan penulisan skripsi ini.
3. Bapak dan Ibu dosen kimia UNAND yang telah memberikan banyak ilmu, nasehat, bimbingan dan arahan selama masa pembelajaran 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 2008, kakak-kakak S2 KOBA serta teman-teman senasib dan sepenanggungan yang telah memberikan dorongan dan semangat kepada penulis.
7. Keluarga besar D-Chaos dan semua 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 2012

Penulis



DAFTAR ISI

ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
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	
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan <i>Erythrina crista-galli</i> L.....	3
2.1.2 Kegunaan dan khasiat.....	3
2.1.3 Tinjauan Kimia Genus <i>Erythrina</i>	4
2.1 Pigmen Antosianin	
2.2.1 Tinjauan Umum.....	7
2.2.2 Sifat-sifat Antosianin.....	7
2.2.3 Ekstraksi Antosianin.....	9
2.3 Karakterisasi Antosianin	
2.3.1 Metoda Identifikasi Spektroskopi UV-Vis.....	9
2.4 Antioksidan	
2.4.1 Profil Antioksidan.....	11
2.4.2 Mekanisme Antioksidan.....	12
2.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan	
2.5.1 Metoda DPPH.....	13

4.7	Aplikasi Minuman.....	33
4.8	Kadar Total Antosianin.....	34
V. KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1	Kesimpulan.....	35
5.2	Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....		36
LAMPIRAN.....		40



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Sifat-sifat bahan pewarna alami.....	15
Tabel 2. Hasil uji pendahuluan kandungan kimia (<i>Erythrina crista-galli</i> L).	22
Tabel 3. Besar $\lambda_{\text{vis max}}$ (nm) ekstrak metanol-HCl dan..... metanol-asam sitrat pada variasi pH.	27
Tabel 4. Besar $\lambda_{\text{vis max}}$ (nm) ekstrak metanol-HCl dan..... metanol-asam sitrat pada variasi pH.	31
Tabel 5. Perbandingan % inhibisi dari ekstrak metanol-asam sitrat..... dan metanol-asam klorida.	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja Metoda Ekstraksi Bunga Dadap merah.....40 (<i>Erythrina crista-galli</i> L).
Lampiran 2. Skema Kerja Uji Antioksidan Terhadap.....41 Penangkapan Radikal Bebas.
Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Reagen Buffer.....42
Lampiran 4. Perhitungan % Inhibisi Metoda DPPH.....44
Lampiran 5. Perhitungan Kadar Total Antosianin.....45
Lampiran 6. Jenis antosianin berdasarkan lamda maksimum.....46



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penggunaan bahan tambahan makanan (*food additive*), khususnya zat pewarna sangat berkaitan dengan kesehatan. Pada kenyataannya masyarakat masih banyak menggunakan bahan tambahan makanan (*food additive*) yang kurang terpantau dengan baik, salah satu bahan tambahan yang digunakan adalah zat warna sintetis. Penggunaan zat warna sangat diperlukan untuk menghasilkan suatu produk yang lebih bervariasi dan juga menambah nilai artistik makanan atau minuman tersebut.

Zat warna sintetis memiliki dampak yang sangat buruk bagi tubuh karena dapat bersifat toksik maupun karsinogen sehingga dapat menyebabkan kanker kulit, kanker mulut, dan kerusakan otak.¹ Oleh karena itu, sudah saatnya menyadarkan kita akan pentingnya menjaga kesehatan dengan menggunakan bahan alami. Untuk mengatasi permasalahan tersebut, maka perlu dicari alternatif bahan alam yang dapat digunakan sebagai zat pewarna alami. Hal ini disebabkan karena pewarna alami lebih bersifat aman untuk dikonsumsi dan dapat berfungsi sebagai antioksidan.²

Antosianin merupakan turunan dari golongan senyawa flavonoid yang dapat digunakan sebagai zat pewarna alami yang berperan sebagai pengikat radikal bebas.³ Manusia sejak lama telah mengkonsumsi antosianin bersamaan dengan buah dan sayuran yang mereka makan. Selama ini tidak pernah terjadi suatu penyakit atas keracunan yang disebabkan oleh pigmen ini sehingga antosianin aman untuk dikonsumsi, tidak beracun dan tidak menimbulkan mutasi gen.⁴ Beberapa penelitian di Jepang menyatakan bahwa antosianin memiliki fungsi fisiologi, misalnya sebagai antioksidan, antikanker, dan perlindungan terhadap kerusakan hati.⁵ Antosianin juga berperan sebagai pangan fungsional, sebagai contoh "*food ingredient*" yang sangat berguna bagi kesehatan mata dan retina yang pertama kali dipublikasikan di Jepang pada tahun 1997.⁶

Antosianin ini dapat diisolasi dari tumbuhan, salah satunya yang berasal dari pohon dadap (*Erythrina crista-galli* L) yang memiliki bunga berwarna merah. Pada umumnya isolasi pewarna alami dapat dilakukan dengan mengekstrak bahan

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Botani

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan *Erythrina crista-galli* L

Erythrina crista-galli L yang dikenal dengan nama dadap merah merupakan salah satu spesies dari family *Fabaceae* (suku polong-polongan), tumbuhan ini memiliki klasifikasi sebagai berikut :

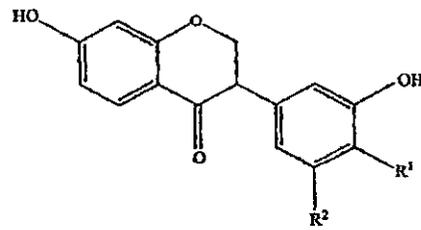
- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : Rosidae
- Ordo : Fabales
- Genus : *Erythrina*
- Spesies : *Erythrina crista-galli* L.

Erythrina crista-galli L atau dalam bahasa Indonesia dikenal dengan nama Dadap Merah. *Erythrina crista-galli* L memiliki batang berduri dan daun menyebar pada batang. Tinggi pohon antara 1 - 25 m, besar batang 45 – 60 cm dan berduri. Bunga berwarna merah, berada dalam tandan, pada ujung ranting yang gundul atau yang ada daun mudanya. Bunga bersifat hermafrodit, daun pelindung cepat rontok. Panjang bunga 5 -6 cm. Bunga tiga-tiga pada tonjolan, anak tangkai 0,5-1 cm, kelopak akhir membelah seperti pelepah. Sayap bunga muncul diluar kelopak 1,5 – 2,5 cm panjangnya. Tumbuhan memiliki akar tunggang dan tidak dapat tumbuh ditempat teduh. Tumbuhan ini biasanya digunakan sebagai tanaman hias dan sebagai pagar hidup.⁸

2.1.2 Kegunaan dan Khasiat

Kulit pohon dadap berguna sebagai obat demam, daunnya memiliki sifat anti-muntah. Daun dan bijinya memiliki sifat membius dan sebagai insektisida. Daun, bunga dan bijinya bisa digunakan sebagai obat haid. Air rebusan kulit atau daun berguna sebagai obat demam, penyakit asma, diare, mejan dan darah dalam air

[2'',3'':4',5']isoflavon (erilatissin B), 7,3'-dihidroksi-4'-metoksi-5'-(γ,γ -dimetilalil) flavanon (erilatissin C) pada tahun 2004. Struktur dapat dilihat pada Gambar 3.¹²

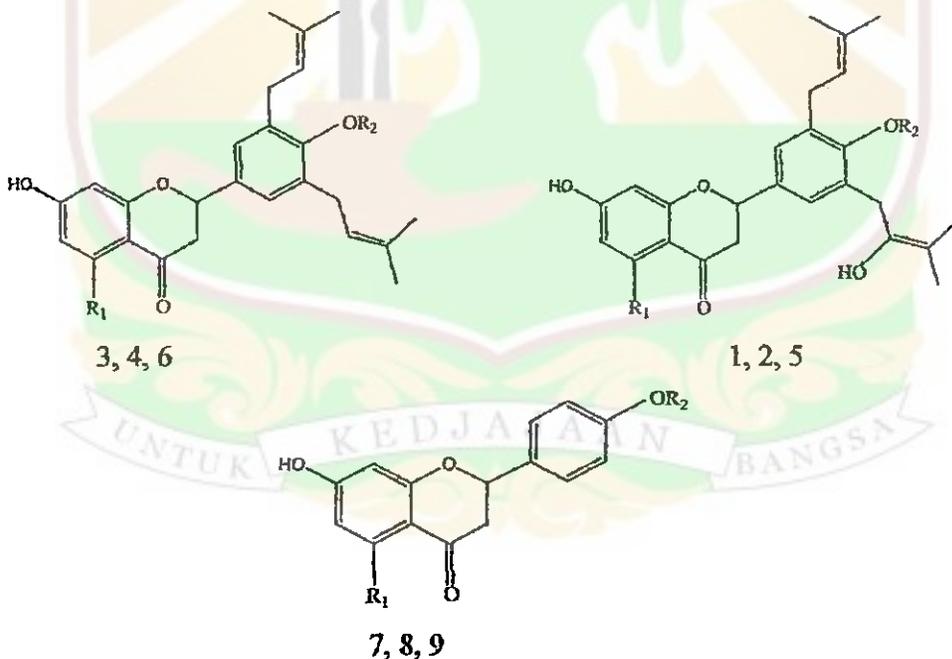


1. R1 = Ome, R2 = γ,γ -dimetilalil

2. R1 + R2 =

Gambar 3. Struktur isoflavon dan flavanon dari *Erythrina latissima*.

Pada bagian kulit batang oleh Watjen, dkk dari *Erythrina addisoniae* ditemukan senyawa 4'-metilabisinon V (1), abisinon IV (2), 2S-3'-(2-hidroksi-3-metilbut-3-enil)likoflavon-4'-metil eter (3), 2S-3'-(2-hidroksi-3-metilbut-3-enil)abisinon II (4), abisinon V (5), abisinoflavon VII (6), naringenin (7), isosakuranetin (8), liquiritigenin (9) tahun 2007. Struktur dapat dilihat pada Gambar 4.¹³



3 R₁ = OH; R₂ = CH₃

4 R₁, R₂ = H

1 R₁ = OH; R₂ = CH₃

2 R₁, R₂ = H

7 R₁ = OH; R₂ = H

8 R₁ = OH; R₂ = CH₃

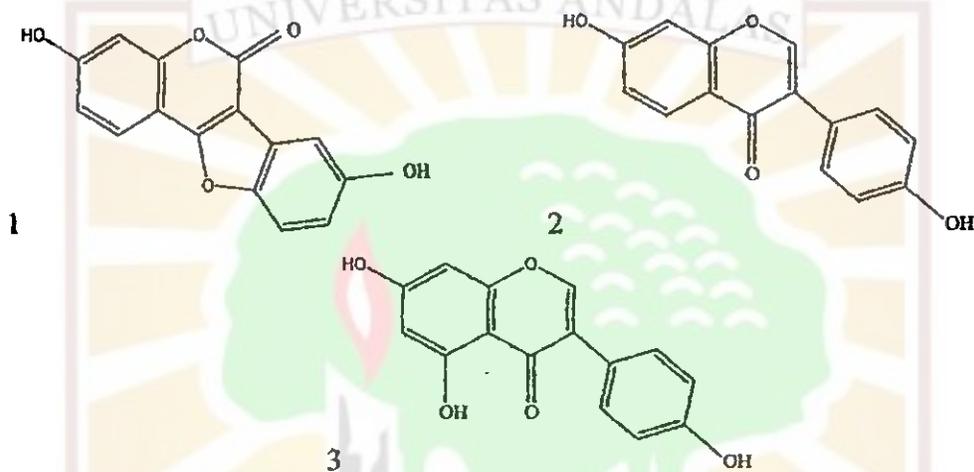
6 $R_1 = OH; R_2 = H$

5 $R_1 = OH; R_2 = H$

9 $R_1, R_2 = H$

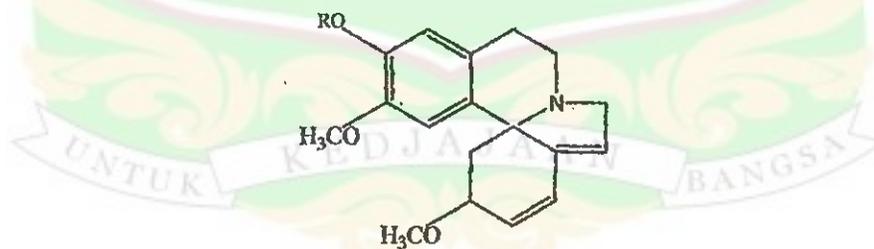
Gambar 4. Struktur 4'-metilabisinon V (1), abisinon IV (2), 2S-3'-(2-hidroksi-3-metilbut-3-enil)likoflavon-4'-metil eter (3), 2S-3'-(2-hidroksi-3-metilbut-3-enil)abisinon II (4), abisinon V (5), abisinoflavon VII (6), naringenin (7), isosakuranetin (8), liquiritigenin (9) dari *Erythrina addisoniae*.

Pada bagian ranting muda *Erythrina crista galli* oleh Flavia Redko, dkk ditemukan senyawa isoflavonoid komestrol (1), genistein (2), dan daidzein(3) pada tahun 2006. Struktur dapat dilihat pada Gambar 5.¹⁴



Gambar 5. Struktur isoflavonoid komestrol (1), genistein (2), dan daidzein(3) dari *Erythrina crista galli*.

Pada bagian bunga oleh Maria Amelia, dkk telah berhasil mengisolasi senyawa Alkaloids erysodine (1) and erysothrine (2) dari *Erythrina suberosa* tahun 2011. Struktur dapat dilihat pada Gambar 6.¹⁵

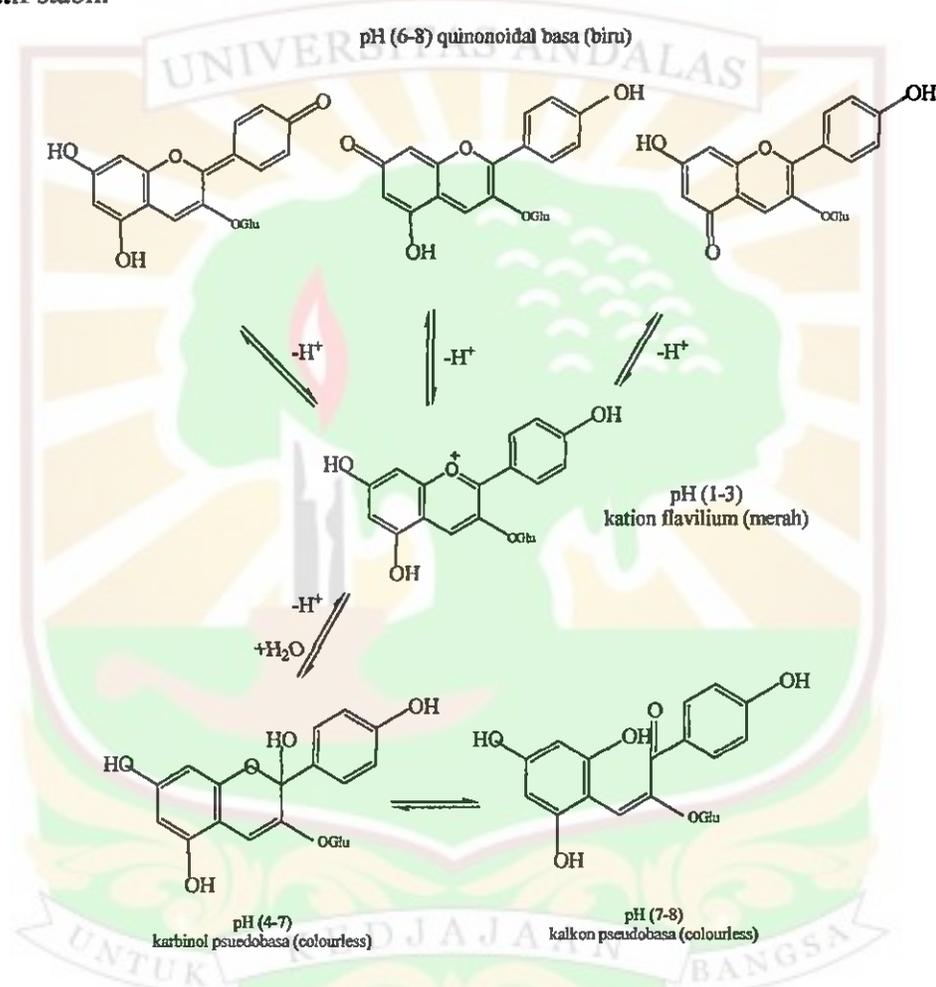


1. $R = H$ (erysodine)

2. $R = CH_3$ (erysothrine)

Gambar 6. Struktur Alkaloids erysodine (1) and erysothrine (2) dari *Erythrina suberosa*

Pada pH tinggi antosianin cenderung berwarna biru atau tidak berwarna, kemudian cenderung berwarna merah pada pH rendah.²⁴ Kebanyakan antosianin menghasilkan warna pada pH kurang dari 4. Jumlah gugus hidroksi atau metoksi pada struktur antosianidin, akan mempengaruhi warna antosianin. Jumlah gugus hidroksi yang dominan menyebabkan warna cenderung biru dan relatif tidak stabil. Sedangkan jumlah gugus metoksi yang dominan dibandingkan gugus hidroksi pada struktur antosianidin, menyebabkan warna cenderung merah dan relatif stabil.²⁵



Gambar 8. Perubahan struktur antosianin (pelargonidin 3-glukosida) dalam larutan tergantung pada pH larutan.²⁶

memerlukan lebih banyak energi untuk promosi akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek yaitu pada daerah violet. Untuk molekul yang memerlukan energi yang lebih sedikit akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang, yaitu pada daerah tampak.³²

Spektroskopi UV dan sinar tampak merupakan cara tunggal yang paling berguna untuk menganalisis struktur flavonoid karena ciri spektrum yang sama memberikan data mengenai jenis senyawa yang sama. Keuntungan utama cara spektroskopi ialah sangat sedikitnya jumlah sampel yang diperlukan untuk analisis lengkap, biasanya sekitar 0,1 mg. Sebagai pemastian akhir, perbandingan langsung dengan senyawa autentik harus dilakukan. Bila senyawa autentik tidak terdapat, maka perbandingan yang sama dengan daftar pustaka, sudah mencukupi untuk diidentifikasi.³³

Molekul antosianin mengandung gugus-gugus kromofor ($-C=C-$) yang berkonjugasi dan gugus-gugus auksokrom (OH) dan OCH_3). Serapan radiasi elektromagnetik dari spektrum Ultraviolet dan Vis akan menyebabkan transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi^*$. Kebanyakan penerapan spektrofotometri ultraviolet dan cahaya tampak (UV-Vis) pada senyawa organik didasarkan pada transisi $n-\pi^*$ ataupun $\pi-\pi^*$ dan karenanya memerlukan kehadiran gugus kromofor dalam molekul itu. Transisi ini terjadi dalam daerah spektrum (sekitar 200 hingga 700 nm) yang praktis untuk digunakan dalam eksperimen.³⁴

Spektrum khas antosianin terdiri atas dua maksimal pada rentang 240-285 nm (pita II) dan 300- 550 (pita I). Rentangan serapan spektrum untuk antosianin dan antosianidin pada 270-280 nm (pita II) dan 465-560 nm pada pita I,³⁵ sedangkan pendapat lain jangka spektrum tampak dari antosianin adalah 475 sampai 550 nm.³³

Turunan pelargonidin mempunyai panjang gelombang maksimum tampak pada 512 nm.³⁶ sianidin dan turunan peonidin ditunjukkan panjang gelombang maksimum pada 529-533 nm.³⁷ Mengenai spektrum serapan UV-Vis tertera pada lampiran 6.

2.4 Antioksidan

2.4.1 Profil Antioksidan

Antioksidan adalah molekul yang menetralkan radikal bebas dengan cara menerima atau memberikan elektron untuk mengeliminasi kondisi tidak berpasangan. Ini berarti antioksidan menjadi radikal pada proses netralisasi molekul radikal bebas. Tetapi radikal antioksidan lebih tidak reaktif dari pada radikal bebas yang akan dinetralisasi. Radikal antioksidan ini dapat dinetralkan oleh antioksidan lain atau dengan mekanisme lain yang menghentikan radikal.³⁸

Antioksidan memiliki ciri-ciri sebagai berikut (a) aman dalam penggunaan, (b) tidak memberi flavor dan warna pada produk, (c) efektif pada konsentrasi rendah, (d) tahan terhadap proses pengolahan produk (berkemampuan antioksidan yang baik), (e) tersedia dengan harga yang murah. Ciri keempat merupakan hal yang sangat penting karena sebagian proses pengolahan menggunakan suhu tinggi. Suhu tinggi akan merusak lipida dan stabilitas antioksidan yang ditambahkan sebagai bahan tambahan pangan. Kemampuan bertahan antioksidan terhadap proses pengolahan sangat diperlukan untuk dapat melindungi produk akhir.³⁹

Sebagaimana suatu benda pada umumnya, antioksidan juga memiliki keterbatasan-keterbatasan. Keterbatasan tersebut meliputi (a) antioksidan tidak dapat memperbaiki flavor lipida yang berkualitas rendah, (b) antioksidan tidak dapat memperbaiki lipida yang sudah tengik, (c) antioksidan tidak dapat mencegah kerusakan hidrolisis, maupun kerusakan mikroba.³⁹

Fungsi Antioksidan digunakan untuk melindungi komponen-komponen makanan yang bersifat tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap), terutama lemak dan minyak. Meskipun demikian antioksidan dapat pula digunakan untuk melindungi komponen-komponen lain seperti vitamin dan pigmen, yang juga banyak mengandung ikatan rangkap di dalam strukturnya. Antioksidan efektif dalam mengurangi ketengikan oksidatif dan polimerisasi tetapi tidak mempengaruhi hidrolisis. Penggunaan antioksidan secara berlebihan menyebabkan lemah otot, mual-mual, pusing, dan kehilangan kesadaran, sedangkan penggunaan dosis rendah secara terus-menerus menyebabkan tumor, kantung kemih, kanker sekitar lambung dan kanker paru-paru.⁴⁰

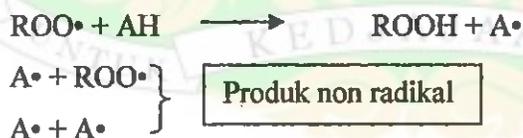
2.4.2 Mekanisme Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil.⁴¹

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan (A^*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru. Reaksi Penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida sebagai berikut :⁴¹



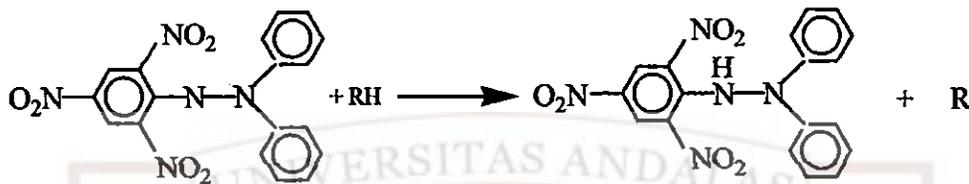
Autooksidasi dapat dihambat dengan menambahkan antioksidan (AH) dalam konsentrasi rendah yang dapat berasal dari penginterferensian rantai propagasi atau inisiasi. Radikal-radikal antioksidan dapat saling bereaksi membentuk produk non radikal. Reaksi penghambatan antioksidan antar radikal antioksidan sebagai berikut :⁴²



Konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan. Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang

ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji.⁴³

DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi difenilpicrilhidrazin dan radikal antioksidan. Reaksi antara antioksidan dengan molekul DPPH. Reaksi antara antioksidan dengan molekul DPPH.⁴⁴



Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan satuan % aktivitas. Nilai ini diperoleh dengan rumus :⁴⁴

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorban kontrol} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban kontrol}} \times 100 \%$$

2.6 Pewarna Bahan Pangan

2.6.1 Pewarna Alami

Penentuan mutu bahan pangan pada umumnya sangat tergantung pada beberapa faktor, seperti cita rasa, tekstur, dan nilai gizinya. Akan tetapi, sebelum faktor-faktor lain dipertimbangkan, secara visual faktor warna tampil lebih dahulu dan kadang-kadang sangat menentukan. Selain sebagai faktor yang ikut menentukan mutu, warna juga dapat digunakan sebagai indikator kesegaran atau kematangan. Baik tidaknya cara pencampuran atau cara pengolahan dapat ditandai dengan adanya warna yang seragam dan merata.⁴⁵

Banyak warna cemerlang dimiliki oleh tanaman dan hewan yang dapat digunakan sebagai pewarna untuk makanan. Beberapa pewarna alami ikut menyumbangkan nutrisi (karotenoid, riboflavin, dan kobalamin), merupakan bumbu (kunir dan paprika) atau pemberi rasa (caramel) ke bahan olahannya. Beberapa pewarna alami yang berasal dari tanaman dan hewan, diantaranya adalah klorofil, mioglobin dan hemoglobin, anthosianin, flavonoid, tannin, quinon dan xanthon, serta karotenoid.⁴⁶

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam dan laboratorium instrumen, 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, rotary evaporator Heidolph WB 2000, stirrer, spektrofotometer UV-VIS, lampu UV 254 nm dan 365 nm, plat tetes, oven, kertas saring, alumunium foil, penangas air, plat KLT serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah bunga dadap merah segar, metanol teknis yang didistilasi, asam sitrat, HCl, buffer pH 1, buffer pH 3, buffer pH 5, buffer pH 7, buffer pH 9 dan bahan kimia lainnya seperti natrium hidroksida, klorofom, asam klorida pekat, logam Magnesium, besi (III) klorida, anhidrida asetat, asam sulfat pekat, dan pereaksi meyer.

3.3. Pengambilan dan Persiapan Sampel

Sampel yang diperlukan untuk penelitian diperoleh dari daerah Limau Manis, Kecamatan Kuranji, Padang. Bagian yang akan diteliti adalah bunga segar.

3.4 Pembuatan Reagen

3.4.1 Pembuatan Reagen Buffer

- Pembuatan larutan KCl 0,2 M dibuat dengan melarutkan 0,74 g KCl dalam 50 mL akuades.
- Pembuatan larutan HCl 0,2 M dibuat dengan melarutkan 1,65 mL HCl dalam 100 mL akuades.

- Pembuatan larutan CH_3COONa 0,2 M dibuat dengan melarutkan 2,7 g CH_3COONa dalam 100 mL akuades.
- Pembuatan larutan CH_3COOH 0,2 M dibuat dengan melarutkan 1,2 mL CH_3COOH dalam 100 mL akuades.
- Larutan KH_2PO_4 0,1 M dibuat dengan melarutkan 1,3609 g KH_2PO_4 dalam 100 mL akuades.
- Larutan NaOH 0,1 M dibuat dengan melarutkan 0,4 g NaOH dalam 100 mL akuades.
- Larutan NaOH 0,2 M dibuat dengan melarutkan 0,8 g NaOH dalam 100 mL akuades.
- Larutan $\text{H}_3\text{BO}_3 + \text{KCl}$ dengan melarutkan 6,1845 g H_3BO_3 dan 7,4555 g KCl dalam 500 mL akuades.

3.4.2 Pembuatan buffer pH 1

Larutan buffer pH 1 dibuat dengan mencampurkan 67,0 mL larutan HCl 0,2 M, 25 mL larutan KCl 0,2 M, dan 8 mL aquades. pH larutan ditepatkan 1 dengan penambahan sedikit demi sedikit HCl 0,2 M atau KCl 0,2 M sambil diukur dengan menggunakan pH meter.

3.4.3 Pembuatan buffer pH 3

Larutan buffer pH 3 dibuat dengan mencampurkan 87,0 mL larutan CH_3COOH dan 13 mL larutan CH_3COONa 0,2 M. pH larutan ditepatkan 3 dengan penambahan sedikit demi sedikit CH_3COOH atau CH_3COONa 0,2 M sambil diukur dengan menggunakan pH meter.

3.4.4 Pembuatan buffer pH 5

Larutan buffer pH 5 dibuat dengan mencampurkan 30 mL larutan CH_3COOH dan 70 mL larutan CH_3COONa 0,2 M. pH larutan ditepatkan 5 dengan penambahan sedikit demi sedikit CH_3COOH atau CH_3COONa 0,2M 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 0.1 M, 29.1 mL larutan NaOH 0.1 M dan 20,9 mL akuades. pH larutan ditepatkan 7 dengan penambahan sedikit demi sedikit KH_2PO_4 0.1 M atau NaOH 0.1 M sambil diukur dengan menggunakan pH meter.

3.4.6 Pembuatan buffer pH 9

Larutan buffer pH 9 dibuat dengan mencampurkan 21.40 mL larutan NaOH 0.2 M, 128.60 mL aquadest, dan 50 mL larutan $\text{H}_3\text{BO}_3 + \text{KCl}$. pH larutan ditepatkan 9 dengan penambahan sedikit demi sedikit NaOH 0.2 M atau larutan $\text{H}_3\text{BO}_3 + \text{KCl}$ sambil diukur dengan menggunakan pH meter.⁴⁸

3.5 Uji Profil Fitokimia

Metode pemeriksaan kandungan flavonoid, triterpenoid, steroid, dan senyawa fenolik 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.

2. Pemeriksaan Fenolik

Sebagian dari lapisan air diambil dan dipindahkan dengan pipet ke dalam tabung reaksi kecil, kemudian tambahkan pereaksi besi (III) klorida,

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 asam sulfat pekat, ke dalam lubang plat tetes lainnya ditambahkan setetes anhidrida asetat dan setetes asam sulfat 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 asam sulfat 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.

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 natrium hidroksida 1% dalam etanol : air (1 : 1), dan selanjutnya dilihat dibawah lampu UV (365 nm). Adanya fluoresensi yang

bertambah terang setelah disemprot dengan natrium hidroksida 1% menandakan adanya senyawa kumarin.⁴⁹

3.6 Ekstraksi Antosianin

Sebanyak 50 gram bunga dadap merah segar dimasukkan ke dalam wadah dan dimaserasi dengan menggunakan metanol yang di asamkan dengan HCl dan metanol yang diasamkan dengan asam sitrat. Kedua jenis pelarut tersebut dalam kondisi asam pH 1. Proses maserasi dilakukan secara berulang hingga tidak ada noda dengan pengecekan dengan KLT.

Hasil yang diperoleh dari proses maserasi kemudian disaring dan diuapkan pelarutnya menggunakan serangkaian alat *rotary evaporator* tanpa pemanasan, sehingga diperoleh ekstrak metanol-HCl dan metanol-As.sitrat. sampel yang digunakan adalah sampel basah maka ekstrak metanol masih mengandung air. Air ini dihilangkan dengan menambahkan natrium sulfat anhidrat sehingga diperoleh ekstrak pekat metanol.

3.7 Analisa Antosianin

Ekstrak pekat dianalisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200 – 600 nm, dimana spektrum khas senyawa antosianin berada pada daerah UV 270 – 280 nm dan daerah Vis 465 – 560 nm. Data yang diperoleh dibandingkan dengan data yang terdapat pada literatur seperti pada lampiran 6

3.8 Perlakuan Terhadap Sampel

3.8.1 Variasi pH

Ekstrak pekat dilarutkan pada larutan buffer pH 1, pH 3, pH 5, pH 7, dan pH 9. Tiap-tiap variasi pH diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 240 – 600 nm.

3.8.2 Variasi Suhu

Selanjutnya berdasarkan variasi pH, hasil yang baik di variasikan suhunya yaitu 30°C, 45°C, 60°C, 75°C, 90°C, dan 100°C. Tiap-tiap variasi suhu diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 240 – 600 nm.

3.9 Aplikasi Pigmen Antosianin

ekstrak yang diperoleh di aplikasikan terhadap minuman ringan dimana minuman yang digunakan berbeda pH. Minuman ringan yang digunakan adalah minuman ringan bersoda pH basa, minuman pH asam dan minuman susu fermentasi. Perlakuan terhadap aplikasi ini untuk melihat perubahan warna terhadap pigmen antosianin di dalam minuman.

3.10 Metoda Pengujian Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak bunga dadap dilakukan dengan cara sebanyak 4,0 mL DPPH 0,1 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 50 μ L ekstrak dengan konsentrasi 0,2%, 0,15%, 0,1%, 0,05% kemudian didiamkan 30 menit ditempat gelap. Serapan larutan diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm. Blanko yang digunakan adalah metanol. Kemudian dihitung % aktivitas antioksidan dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorban kontrol} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban kontrol}} \times 100 \%$$

Keterangan :

Serapan kontrol: Serapan DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM;

Serapan larutan uji : Serapan hasil reaksi antara 4,0 mL DPPH konsentrasi 0,1 mM dengan 50 μ L ekstrak bunga dadap.⁵⁰

3.11 Penentuan Kadar Total Antosianin

Kadar total antosianin dihitung dengan menggunakan rumus :⁵⁰

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

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

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

4.1 Uji Pendahuluan

Pada bagian bunga dari tumbuhan (*Erythrina crista-galli* L) dilakukan uji pendahuluan kandungan kimia (fitokimia), hasil yang didapatkan tercantum pada Tabel 1 dibawah ini :

Tabel 2. Hasil uji pendahuluan kandungan kimia (*Erythrina crista-galli* L).

No	Kandungan kimia	Pereaksi	Pengamatan
1.	Flavonoid	Mg/HCl	+
2.	Fenolik	FeCl ₃	+
3.	Alkaloid	Dragendorff / Meyer	-
4.	Triterpenoid	Liebermann-Burchard (LB)	+
5.	Steroid	Liebermann-Burchard (LB)	-
6	Saponin	Lapisan air	-
7..	Kumarin	NaOH 1 %	-

Keterangan : (+) = ada

(-) = tidak ada

Dari data diatas dapat diketahui bahwa bunga dari tumbuhan (*Erythrina crista-galli* L) mengandung senyawa metabolit sekunder, yaitu flavonoid, fenolik, dan triterpenoid sementara untuk alkaloid, steroid, saponin dan kumarin memberikan hasil uji yang negatif.

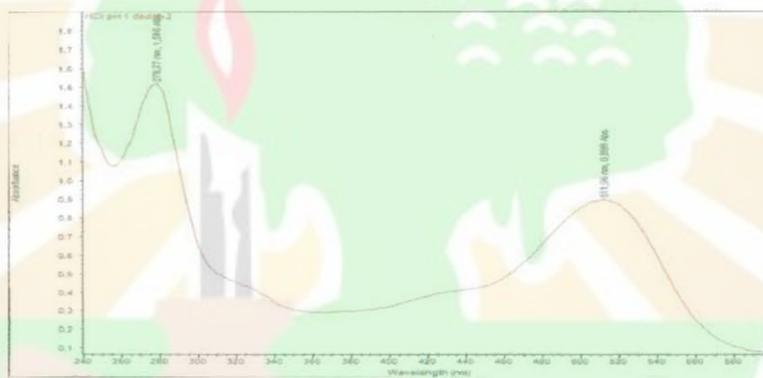
4.2 Ekstraksi Senyawa

Sebanyak 50 g bunga segar dari tumbuhan bunga dadap (*Erythrina crista-galli* L) dihaluskan dengan tujuan untuk memperbesar luas permukaan dari sampel sehingga interaksi antara sampel dengan pelarut semakin besar yang akan mempercepat proses pelarutan senyawa yang diinginkan. Sampel yang digunakan dalam keadaan segar dengan pertimbangan untuk mengurangi kerusakan sifat senyawa antosianin akibat pengeringan menggunakan cahaya matahari. Proses ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan metanol dengan waktu tertentu. Cara ini dipilih karena sifat senyawa yang belum diketahui, dan kesederhanaan pengerjaannya.

Pelarut yang digunakan metanol karena sifat senyawa antosianin polar. Proses ekstraksi antosianin dalam keadaan asam karena senyawa antosianin stabil pada kondisi asam. Oleh karena itu dilakukan pengasaman dengan dua jenis asam yang berbeda yaitu asam klorida dan Asam sitrat pada pH (1-2). Fungsi menggunakan kedua jenis asam untuk membandingkan hasil yang baik dengan kedua jenis asam tersebut. Ekstrak yang diperoleh sebanyak 75,11 mL untuk ekstrak asam klorida dan 80,35 mL untuk ekstrak asam sitrat.

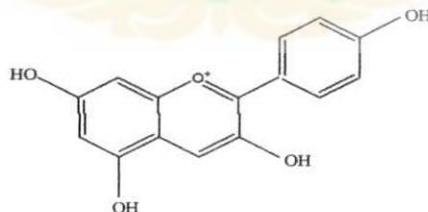
4.3 Senyawa Antosianin dalam *Erythrina crista-galli* L.

Senyawa antosianin dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis, Berdasarkan spektrum UV-Vis pada pengukuran 240-600 nm, terdapat dua puncak yaitu puncak yang pertama pada daerah UV dan puncak kedua pada daerah Vis. Hal ini menunjukkan bahwa ciri khas dari senyawa antosianin dengan pengukuran UV-Vis yang dapat dilihat pada Gambar 9.

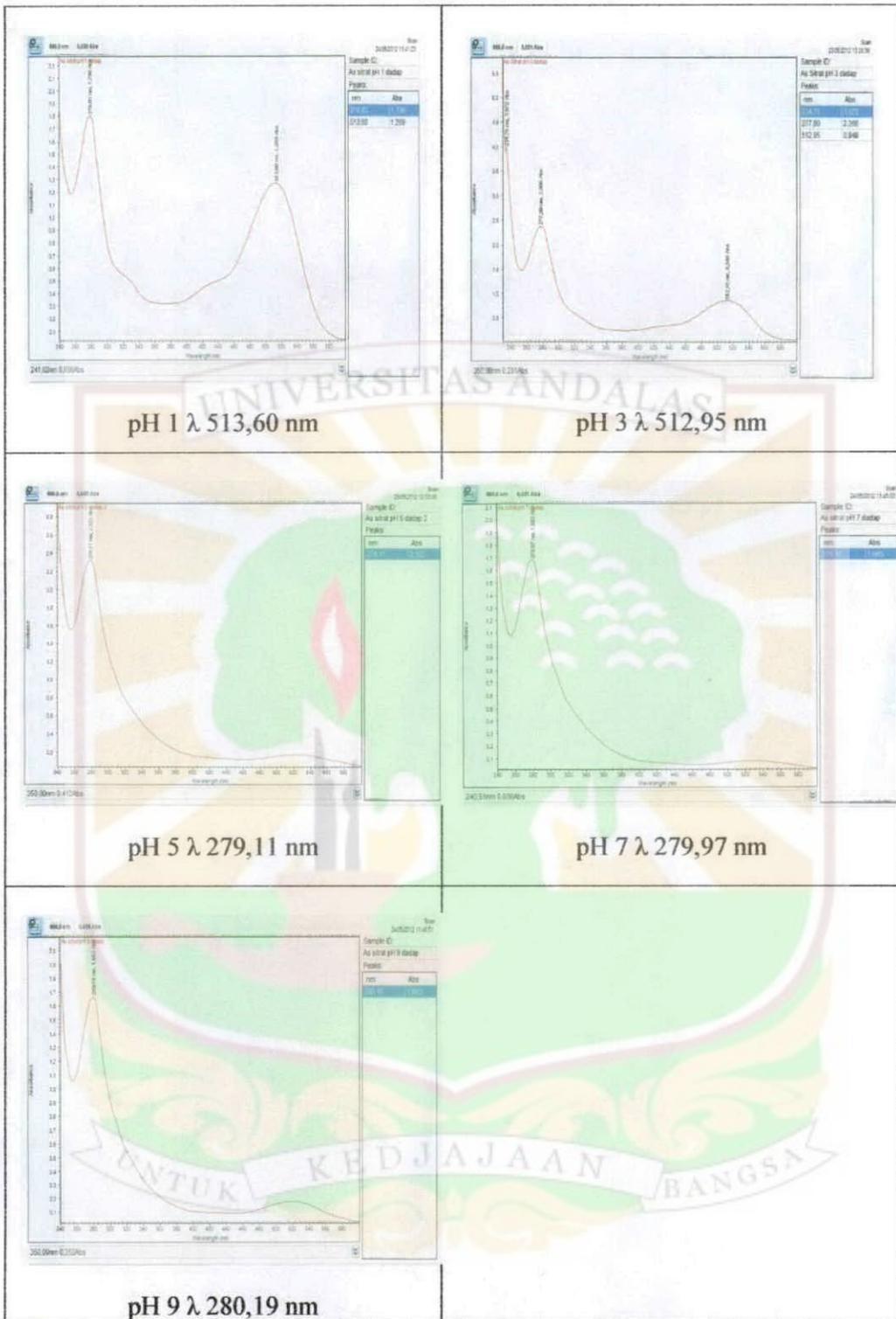


Gambar 9. Spektrum UV-Vis pada ekstrak bunga dadap.

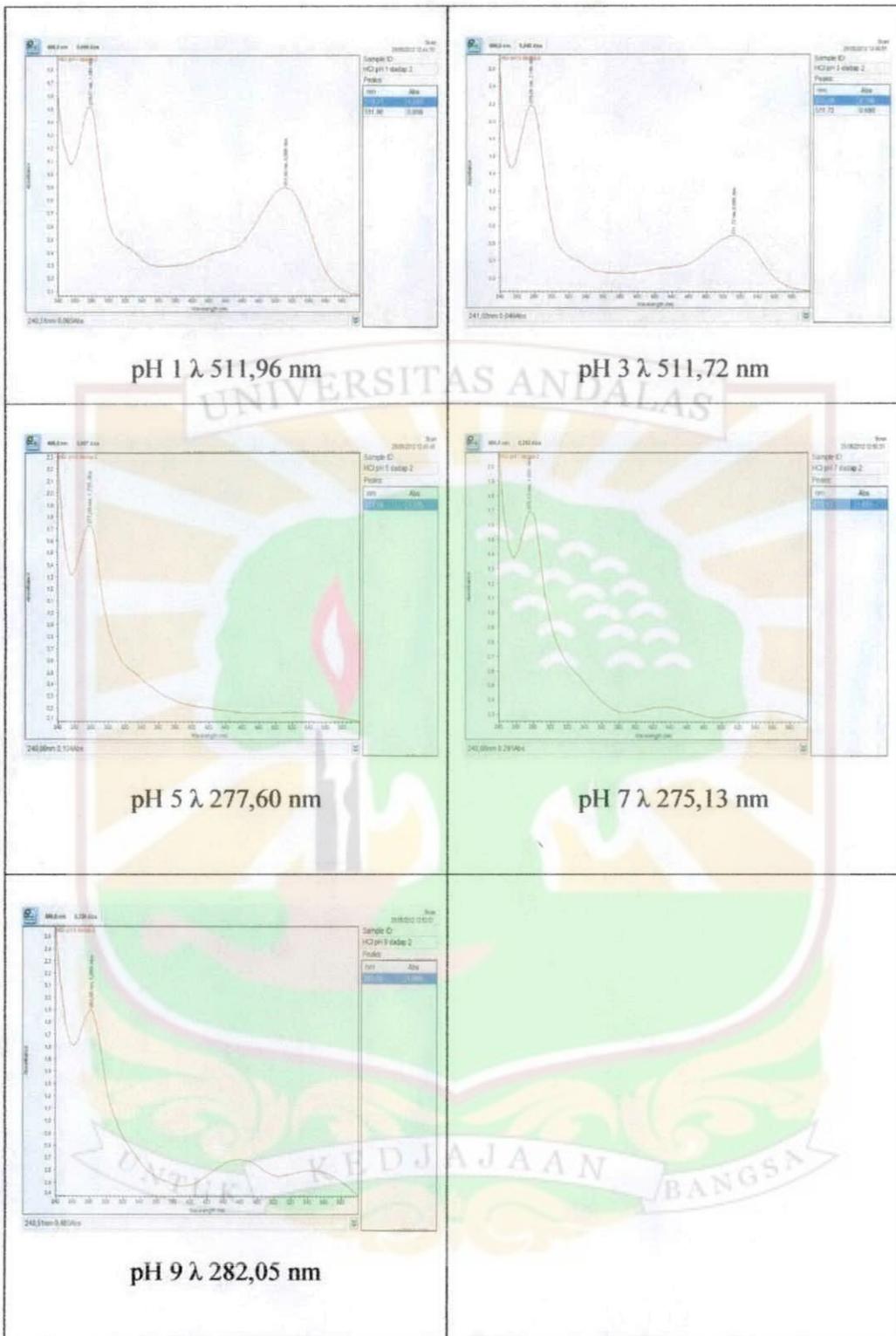
Berdasarkan serapan maksimum panjang gelombang diperkirakan termasuk jenis antosianin turunan pelargonidin dengan λ 512 nm.⁴⁶ Hal ini juga berdasarkan nilai panjang gelombang yang dominan muncul berdasarkan dua ekstrak metanol-asam klorida dan metanol-asam sitrat. Struktur pelargonidin seperti pada Gambar 10.



Gambar 10. Struktur pelargonidin



Gambar 13. Perubahan bentuk spektrum variasi pH pelarut metanol-As.sitrat



Gambar 14. Perubahan bentuk spektrum variasi pH pelarut metanol-as.klorida

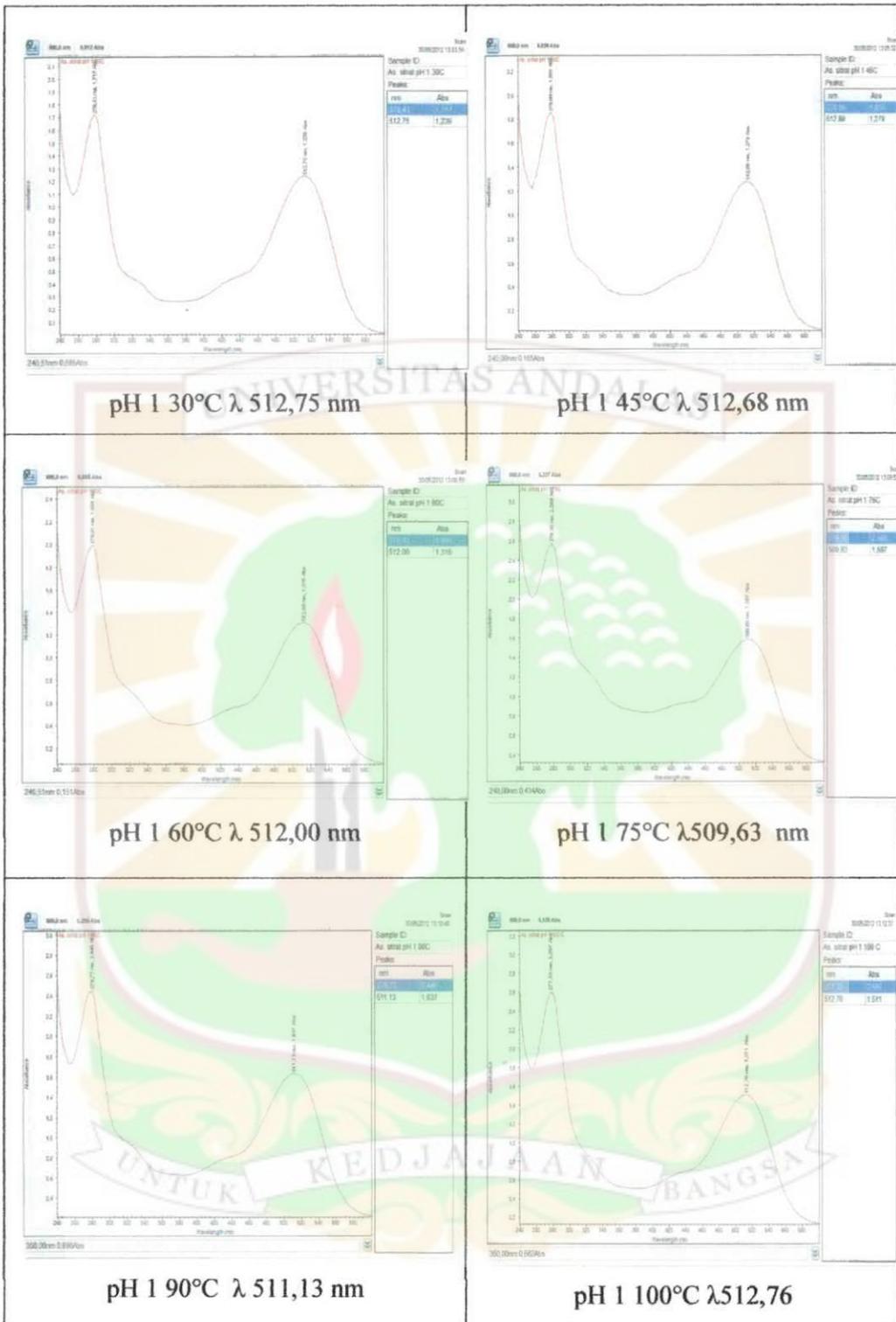
Berdasarkan hasil dari spektrum UV_VIS dapat diketahui bahwa kestabilan antosianin berkisar antara pH 1-3. Hal ini sesuai dengan literatur antosianin bersifat stabil pada kondisi pH yang lebih asam yaitu pada kisaran pH 1-4.⁵¹

Tabel 3. Besar $\lambda_{\text{vis max (nm)}}$ ekstrak metanol-HCl dan metanol-asam sitrat pada variasi pH.

pH	Ekstrak metanol-HCl	Ekstrak metanol-asam sitrat
1	511,96	513,60
3	511,72	512,95
5	277,60	279,11
7	275,13	279,97
9	282,05	280,19

Bila Ditinjau dari $\lambda_{\text{vis max}}$ secara umum λ untuk ekstrak metanol-asam sitrat dan metanol-asam klorida tidak jauh berbeda atau masih dikatakan dalam satu golongan senyawa antosianin. Untuk pH 1 dan pH 3 panjang gelombang mendekati 512 nm diperkirakan merupakan senyawa turunan pelargonidin.⁴⁶ Untuk panjang gelombang 511 nm diperkirakan pelargonidin-3-rutinosida-5-glukosida-p-kumarin, dan 513 nm pelargonidin-3-glukosida, Data ini diperoleh dengan membandingkan serapan maksimum antosianin yang terdapat pada Lampiran 6.⁵²

Untuk pH 5 – 9 terjadi perubahan λ_{max} yaitu berada pada rentang UV hal ini diidentifikasi terjadi perubahan bentuk struktur dari senyawa antosianin. Pada pH 5 berubah menjadi kalkon atau karbinol pseudo-basa dan pada pH basa berubah menjadi basa quinonoidal.⁵² Perubahan struktur dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 16. Spektrum UV_VIS variasi temperatur pelarut metanol-as.sitrat

Tabel 4. Besar $\lambda_{\text{vis max (nm)}}$ ekstrak metanol-HCl dan metanol-asam sitrat pada variasi temperatur.

suhu	Ekstrak metanol-HCl	Ekstrak metanol-Asam sitrat
30°C	510,08	512,75
45°C	510,23	512,88
60°C	509,64	512,00
75°C	512,02	509,83
90°C	512,59	511,13
100°C	510,96	512,76

Berdasarkan pada tabel diatas dapat diketahui bahwa tidak terjadi kerusakan pada senyawa antosianin. Hal ini diketahui berdasarkan nilai $\lambda_{\text{vis max (nm)}}$ yang masih berada dalam rentang senyawa antosianin yakni pada daerah UV 270 – 280 nm dan Vis 465 – 560 nm.³⁴ Secara umum $\lambda_{\text{vis max (nm)}}$ masih berada dalam rentang panjang gelombang untuk senyawa turunan pelargonidin 509 – 512 nm, hanya saja terjadi perubahan sedikit panjang gelombang antara suhu yang satu dengan yang lain nya. Perubahan panjang gelombang ini berdasarkan literatur disebabkan karena terjadi hidrolisis ikatan glikosida pada antosianin dan terbentuknya struktur intermediet dari antosianin karena pengaruh suhu tersebut.⁵³

4.6 Uji Antioksidan

Uji antioksidan dari ekstrak bunga dadap dilakukan dengan menggunakan metoda DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan panjang gelombang 517 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum dari DPPH 0.1 mM. Adanya aktivitas antioksidan dalam ekstrak mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol yang direaksikan dengan larutan ekstrak. Larutan DPPH semula berwarna ungu menjadi kuning. Hal ini dikarenakan bereaksinya radikal DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh ekstrak sehingga terbentuk senyawa DPPH-H. Perubahan warna dapat dilihat pada Gambar 18-19.



Gambar 18. Perubahan warna ekstrak metanol-asam klorida.

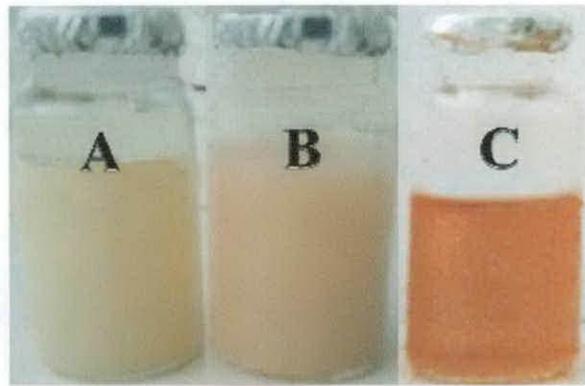


Gambar 19. Perubahan warna ekstrak metanol-asam sitrat.

Berdasarkan tabel dibawah dapat diketahui perbandingan % inhibisi dari kedua ekstrak. Nilai inhibisi dari ekstrak metanol-asam klorida lebih besar daripada ekstrak metanol-asam sitrat. Hal ini karena pengaruh asam yang diberikan, asam klorida merupakan asam kuat sehingga senyawa antosianin lebih banyak tertarik didalam ekstrak tersebut. Oleh karena itu ekstrak dengan asam klorida akan lebih banyak menyumbangkan atom H pada radikal bila dibandingkan pada ekstrak dengan asam sitrat.

Tabel 5. Perbandingan % inhibisi dari ekstrak metanol-asam sitrat dan metanol-asam klorida.

sampel	% inhibisi			
	0,2 %	0,15 %	0,1 %	0,05 %
Ekstrak metanol-as. klorida	78,89	77,05	64,99	64,82
Ekstrak metanol-as. sitrat	49,91	48,40	36,51	36,18



Gambar 22. Perubahan warna pada yakult.

4.8 Kadar Total Antosianin

Dari penelitian yang telah dilakukan didapatkan kadar total antosianin dari ekstrak metanol-asam klorida sebesar 94,80 mg/L dan ekstrak metanol-asam sitrat 68,22 mg/L. Berdasarkan kedua hasil tersebut terdapat perbedaan kadar antosianin dari ekstrak metanol-asam klorida dan metanol-as.sitrat. kadar yang terkandung dalam ekstrak metanol-asam klorida lebih banyak dari pada kadar metanol-as.sitrat. Hal ini karena asam klorida merupakan asam kuat sehingga senyawa antosianin tersebut lebih banyak tertarik pada ekstrak metanol-asam klorida dibandingkan dengan ekstrak metanol-asam sitrat yang merupakan asam lemah.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak metanol-asam klorida lebih bagus dari pada ekstrak metanol-asam sitrat.
2. Bunga dadap (*Erythrina crista-galli* L) terdapat senyawa antosianin jenis turunan pelargonidin dengan serapan maksimum λ 512 nm.
3. Antosianin yang diperoleh stabil pada pH 1- 3 yaitu berwarna merah dan pada pH 5-9 berwarna ungu muda – coklat dan stabil terhadap perubahan suhu 30°C, 45°C, 60°C, 75°C, 90°C, 100°C.
4. Penambahan senyawa antosianin ke dalam minuman yakult (pH 5) memberikan warna pink, adem sari (pH 6) menghasilkan warna pink muda, dan limun (pH 9) memberikan warna ungu.
5. Ekstrak bunga dadap dapat bersifat sebagai antioksidan.
6. Kadar total antosianin ekstrak metanol-asam klorida sebesar 94,80 mg/L dan ekstrak metanol-asam sitrat sebesar 68,22 mg/L.

5.2 Saran

1. Melakukan karakterisasi lebih lanjut terhadap senyawa antosianin yang terdapat di dalam buah terung belanda menggunakan LC-MS , GC/MS dan NMR.
2. Perlu kajian lebih lanjut tentang ekstraksi dan identifikasi jenis antosianin dari genus *Erythrina*.
3. Perlu kajian lebih lanjut dari hasil ekstraksi bunga dadap untuk diaplikasikan dalam produk pangan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Djuni, Pristiyanto. 2002. 'Pewarna Kue Yang Alami'. [Http://Www.SuaraMerdeka.Com/Harian/021/14/Ragam,htm](http://www.SuaraMerdeka.Com/Harian/021/14/Ragam,htm). (diakses juni 2012)
2. Winarno, F. G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : PT Gramedia.
3. Smith M, et al. 2000. Bioactive Properties of Wild Blueberry Fruits. *Journal of Food Science*. Vol 65: 352–356.
4. Nugrahan. 2007. *Ekstraksi Antosianin dari Buah Kiara Payung (Filicum decipiens) dengan Menggunakan Pelarut yang Diasamkan (Kajian jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi)*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Fakultas Teknologi Unibraw.
5. Tanuwijaya, V. 2007. *Ekstraksi Antosianin Buah Genjret (Anredera scanden) Kajian Perbandingan Bahan: Pelarut dan Konsentrasi Asam Sitrat*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Unibraw.
6. Imelda. 2002. *Ekstraksi Antosianin Kasar Ubi Ungu Jepang (Ipoema batatos var Yamagawa Muasaki): Kajian pH Pelarut dan Lama Ekstraksi dan Stabilitasnya*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Unibraw.
7. Hidayat, N., dan E. A. Saati. 2006. 'Membuat Pewarna Alami'. Cetakan Pertama. Penerbit Trubus Agrisarana. Surabaya.
8. Manulena, A. B. 2007. 'Tanaman Obat Indonesia'. http://toiusd.multiply.com/journal/item/68/Erythrina_cristagalli. (diakses agustus 2011)
9. Cronquist, A. 1981. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York : Columbia University Press.
10. Lourenzi, H. 1992. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas*. Plantarum. ISBN 9788586714320. São Paulo. Brazil.
11. Kebenei, J. S, et al. 2011. Synergism of artemisinin with abyssinone –V from *Erythrina abyssinica* (Lam. ex) against *Plasmodium falciparum* parasites: A potential anti-malarial combination therapy. *Journal of Medicinal Plants Research*. Kenya. Vol 5: 1355-1360.
12. Musa C, et al. 2004. Antimicrobial and radical scavenging flavonoids from the stem wood of *Erythrina latissima*. *ScienceDirect*. Gaborone. Botswana. Vol 5: 99-104.

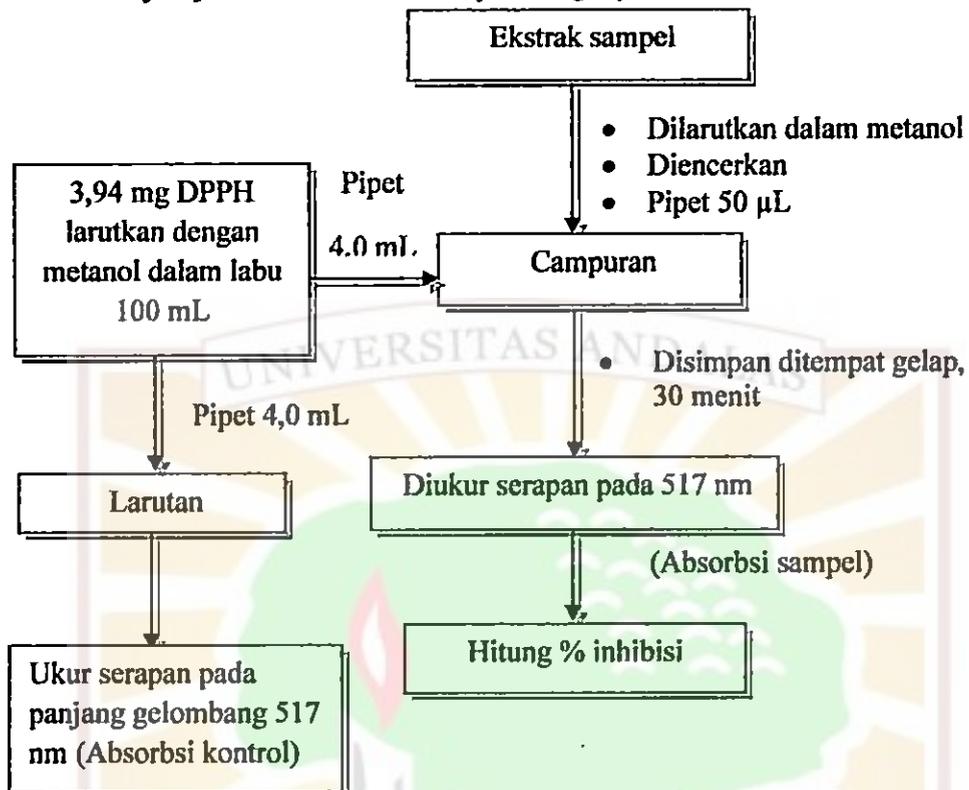
13. Watjen, et al. 2001. Prenylated Flavonoid Derivates from The Bark of *Erythrina addisoniae*. *Elsivier*. Vol 71: 735 – 738.
14. Redko F. et al. 2007. Antimicrobial isoflavonoids from *Erythrina crista galli* infected with *Phomopsis* sp. *National Institutof Healt*. Vol 62: 105-109.
15. Maria Amelia. Et al. 2011. Anxiolytic-Like Effects of Erythrinian Alkaloids from *Erythrina suberosa*.
16. Moss, B.W. 2002. *The Chemistry of Food Colour*. Di dalam: D.B. MacDougall, Editor. 2002. *Colour in Food: Improving Quality*. Washington: CRC Press.
17. Santoso U. 2006. *Antioksidan*. Tesis tidak diterbitkan. Yogyakarta. Pasca Sarjana. Universitas Gadjah Mada.
18. Rice-Evans C, et al. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*. Vol 2: 152–159.
19. Pokorny JN, et al. 2001. *Antioxidants in Food*. New York Washington: CRC Press.
20. Timberlake, C. F. dan P. Bridle. 1997. *The Anthocyanins*. Di dalam J. B. Harborne (ed). *The Flavonoid*. Chapman and Hall. London.
21. Harborne J. B. dan Grayer R. J. 1988. *The Anthocyanins*. Di dalam J. B. Harborne (ed). *The Flavonoids*. Chapman and Hall. London.
22. Jackman R. L., et al. 1996. *Anthocyanins and Betalains*. Di dalam Hendry. G. A. P dan J. D. Houghton (eds). *Natural Food Colorants*. Second Edition. Chapman and Hall. London.
23. Markakis, P. 1982. *Anthocyanin as Food Colors*. New York: Academic Press.
24. Deman, J.M. 1997. *Kimia Makanan*. Edisi Kedua. Terjemahan K. Padmawinata. Bandung: ITB Press.
25. Chen, W., et al. 2008. One-Pot Depolymerizative Extraction of Proanthocyanidins from Mangosteen Pericarps. *Journal of Food Chem*.
26. Brouillard, R. 1988. Flavonoids and flower colour. In Harborne, J. B., ed. *The Flavonoids: advances in research since 1988*. pp 525-538. Chapman and Hall, London.
27. Brian, S.F. et al. 1989. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*. 5th ed. England: Longmans Group UK.

28. Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri I*. Terjemahan Ketaren, S. Jakarta: UI-Press.
29. Arisandi, Y. 2001. *Studi Tentang Pengaruh Kopigmentasi Terhadap Stabilitas Antosianin dari Kulit Buah Anggur (Alphonso lavelle) Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Fakultas MIPA Unibraw.
30. Imelda 2002. *Ekstraksi Antosianin Kasar Ubi Ungu Jepang (Ipoema batatos var Yamagawa Muasaki): Kajian pH Pelarut dan Lama Ekstraksi dan Stabilitasnya. Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Fakultas Teknologi Pertanian Unibraw.
31. Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: Liberty.
32. Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S. 1986. *Kimia Organik. Jilid I*. Jakarta: Erlangga.
33. Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Padmawiyata, K. dan Soediro, I. Bandung: ITB.
34. Rao, C.N.R. 1975. *Ultraviolet and Visible, Spectroscopy Chemical Application, 3th Edition*. Dalam Arisandi, Y. 2001. *Studi Tentang Pengaruh Kopigmentasi Terhadap Stabilitas Antosianin dari Kulit Buah Anggur (Alphonso lavelle). Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Fakultas MIPA Unibraw.
35. Markham. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.
36. Wrolstad, R. 2001. The Possible Health Benefits of Anthocyanin Pigments and Polyphenolics. <http://lpi.oregonstate.edu/ss01/anthocyanin.html>. (Diakses tanggal 07 April 2008).
37. Hurst, J. 2008. *Method Analysis for Functional Foods and Nutraceutical*. London : CRC Press.
38. Best, B. 2006. *General AntiOxidant Actions*. www.benbest.com/nutrceut/AntiOxidants.html. (Diakses 21 Maret 2008).
39. Coppen, P.P 1983. *The use of antioxidant*. Di dalam: J.C. Allen dan R.J Hamilton, editor. *Rancidity in Foods*. Applied Science Publishers, London.
40. Cahyadi, W. 2006. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Makan*. Jakarta: Bumi Aksara.
41. Gordon, M.H 1990. *The mechanism of antioxidants action in vitro*. Di dalam B.J.F. Hudson (ed). *Food Antioxidants*. Elsevier Applied Science. London.

42. Hamilton, R.J and J. C Allen. 1994. *Rancidity in Foods*. London: Blackie Academic and Professional.
43. Prakash, et al. 2001. *Medallion laboratories: analytical progress. Antioxidant Activity*. www.terranostrachocolate.com/files/Comparative_and_General_Antioxidant_Information.pdf. (Diakses 21 Maret 2008).
44. Molyneux, P. 2003. *The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), For Estimating Antioxidant Activity*. Songklanakarin J. Sci. Technol. Vol 26: 211-219. www.sjst.psu.ac.th/journal/26-2.pdf/07-DPPH.pdf. (Diakses 21 Maret 2008).
45. Fransiska Zakaria. 1992. *Komponen Kimia Berbahaya. Materi Pelatihan Singkat Keamanan Pangan. Standart dan Peraturan Pangan*. PAU. Pangan dan Gizi IPB.
46. Wrolstad, R. 2001. *The Possible Health Benefits of Anthocyanin Pigments and Polyphenolics*. <http://lpi.oregonstate.edu/ss01/anthocyanin.html>. Diakses tanggal 07 April 2008.
47. Deman, J.M. 1997. *Kimia Makanan*. Penerjemah K. Padmawinata. Bandung: ITB Press.
48. Mulyono. 2006. *Membuat Reagen Kimia*. Jakarta: Bumi Aksara.
49. Miller, L.P. 1973. *Phytochemistry of Organic Metabolite*. Van Nostrand Reinhold, Co. New York.
50. Wiwin S dkk. 2010. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kandungan Antosianin Total Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L)*. Vol 15: 64-70.
51. Shi Z, et al. 1992. *Stability of Anthocyanins from Tradescantia pallida*. *Journal of Food*. Vol 57: 758 - 760.
52. Mónica Giusti and Ronald E. Wrolstad. 2001. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc.
53. Rein, M. 2005. *Copygment Reaction and Stability of Berry Anthocyanin*. Desertation. University of Helsinki.

Lampiran 2

Skema Kerja Uji Antioksidan Terhadap Penangkapan Radikal Bebas.



$$(\%) \text{inhibisi} = \frac{\text{Absorpsi kontrol} - \text{Absorpsi sampel}}{\text{Absorpsi kontrol}} \times 100 \%$$

Lampiran 3

Perhitungan Pembuatan Larutan $\text{H}_3\text{BO}_3 + \text{KCl}$, KCl 0,2 M, HCl 0,2 M, CH_3COONa 0,2 M, CH_3COOH 1,2 %, KH_2PO_4 0,1 M, NaOH 0,1 M, NaOH 0,2 M.

- Pembuatan larutan KCl 0,2 M

$$0,2 \text{ M} = \frac{\text{g}}{74 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{50 \text{ mL}}$$

$$\text{g} = \frac{0,2 \text{ M} \times 74 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 50 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$\text{g} = 0,74 \text{ g}$$

- Pembuatan larutan HCl 0,2 M

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \cdot 12,06 \text{ M} = 100 \text{ mL} \cdot 0,2 \text{ M}$$

$$V_1 = 1,65 \text{ M}$$

- Pembuatan larutan CH_3COONa 0,2 M

$$0,2 \text{ M} = \frac{\text{g}}{136 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{100 \text{ mL}}$$

$$\text{g} = \frac{0,2 \text{ M} \times 136 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 100 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$\text{g} = 2,7 \text{ g}$$

- Pembuatan larutan CH_3COOH 1,2 %

$$= \frac{1,2 \text{ mL asam asetat}}{100 \text{ mL larutan}} \times \frac{1,049 \text{ g larutan}}{1 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mol asam asetat}}{60,05 \text{ g asam asetat}} \times \frac{100 \text{ mL}}{0,1 \text{ L}}$$

$$= 0,209 \text{ M}$$

- Pembuatan larutan KH_2PO_4 0,1 M

$$0,1 \text{ M} = \frac{\text{g}}{136,09 \text{ g/mol}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{100 \text{ mL}}$$

$$\text{g} = \frac{0,1 \text{ M} \times 136,09 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 100 \text{ mL}}{1000 \text{ mL}}$$

$$\text{g} = 1,3609 \text{ g}$$

Lampiran 4

Perhitungan % Inhibisi Metoda DPPH

$$A_{\text{DPPH}}(\text{blanko}) = 0,597$$

Konsentrasi (%)	$A_{\text{metanol-as. klorida}}$	$A_{\text{metanol-as.sitrat}}$
0,2	0,126	0,299
0.15	0,137	0,308
0.1	0,209	0,381
0.05	0,211	0,379

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban blanko}} \times 100 \%$$

- **% Inhibisi Ekstrak metanol-as.klorida**

$$[0,2 \ %] = \frac{0,597 - 0,126}{0,597} \times 100 \ % = 78,89 \ %$$

$$[0,15 \ %] = \frac{0,597 - 0,137}{0,597} \times 100 \ % = 77,05 \ %$$

$$[0,1 \ %] = \frac{0,597 - 0,209}{0,597} \times 100 \ % = 64,99 \ %$$

$$[0,05 \ %] = \frac{0,597 - 0,210}{0,597} \times 100 \ % = 64,82 \ %$$

- **% Inhibisi Ekstrak metanol-as.sitrat**

$$[0,2 \ %] = \frac{0,597 - 0,299}{0,597} \times 100 \ % = 49,91 \ %$$

$$[0,15 \ %] = \frac{0,597 - 0,308}{0,597} \times 100 \ % = 48,40 \ %$$

$$[0,1 \ %] = \frac{0,597 - 0,381}{0,597} \times 100 \ % = 36,18 \ %$$

$$[0,05 \ %] = \frac{0,597 - 0,379}{0,597} \times 100 \ % = 36,51 \ %$$

Lampiran 5

Perhitungan Kadar Total Antosianin

- Ekstrak metanol-asam sitrat

$$A = (A_{512\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{512\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

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

$$A = (A_{512\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{512\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

$$A = (0,267 - 0,008) - (0,010 - 0,000)$$

$$A = 0,249 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar Total Antosianin (mg/L)} = \frac{0,249 \times 271 \times 20 \times 1000}{19780 \times 1} = 68,22$$

- Ekstrak metanol-asam klorida

$$A = (A_{512\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{512\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

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

$$A = (A_{512\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 1} - (A_{512\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 5}$$

$$A = (0,397 - 0,007) - (0,058 - 0,014)$$

$$A = 0,346 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kadar Total Antosianin (mg/L)} = \frac{0,346 \times 271 \times 20 \times 1000}{19780 \times 1} = 94,80$$

Lampiran 6

Jenis antosianin berdasarkan lamda maksimum.⁵²

Antosianin ^a	Sistem pelarut	$\lambda_{\text{vis-max}}$ (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	Fuleki 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	Giusti et al., 1999
	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

	metanol			
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: rutinosa; sam: sambubiosida; soph: sophorosida. Sumber : Mónica Giusti dan Ronald E. Wrolstad (2001).

