

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan analisis antosianin pada kulit buah duwet dengan menggunakan metode *pH differential*. Metode ini digunakan karena dilihat dari faktor yang mempengaruhi stabilitas antosianin salah satunya adalah pH, maka dari itu metode ini spesifik untuk analisis antosianin.

5.1 Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah duwet (*syzygium cumini* L). Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di Herbarium Fakultas Biologi Universitas Padjajaran bahwa buah duwet yang diperoleh dari Majalengka (Desa Bayureja, Kecamatan Sindang, Kabupaten Majalengka (*syzygium cumini* L). (**Lampiran 1**).

5.2 Penyiapan Bahan

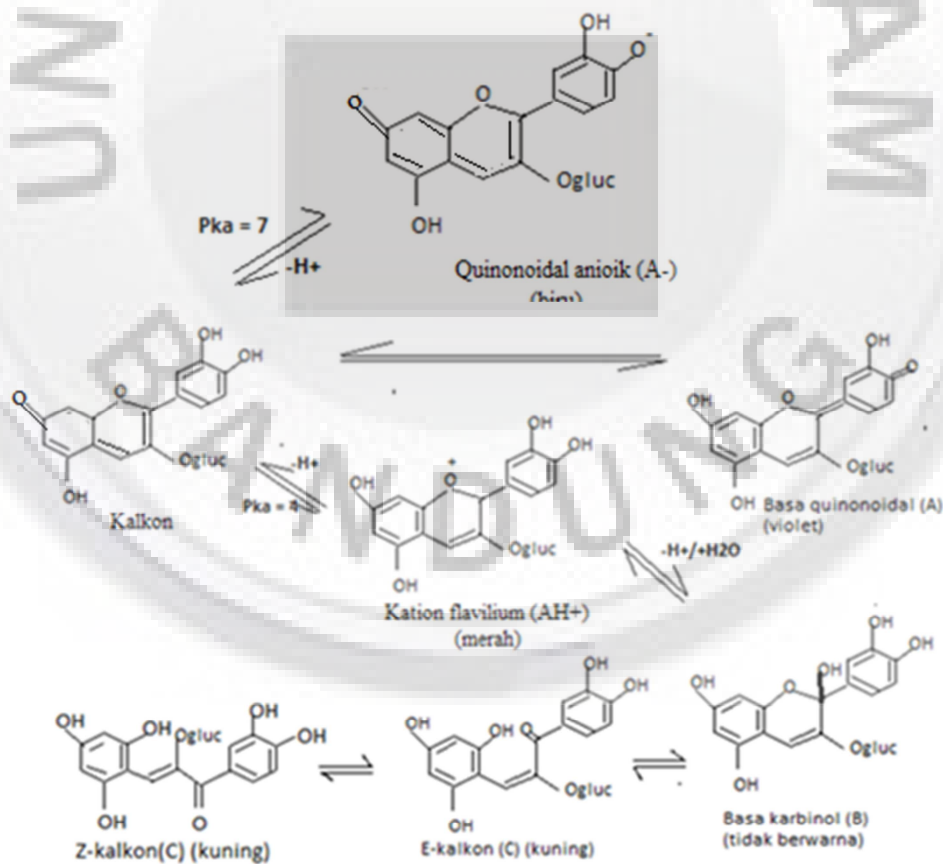
5.2.1 Buah Duwet

Buah duwet dikumpulkan lalu di cuci bersih, ditiriskan, dipisahkan dari bijinya, dan dirajang. Kemudian dilakukan karakterisasi simplisia segar yang meliputi rasa, bau, bentuk, dan warna. Hasil karakterisasi simplisia segar yaitu rasa asam dan sepat, tidak berbau, bentuk bulat kecil dan warna ungu kehitaman.

5.2.2 Larutan Penyangga

Larutan penyangga yang dibuat adalah untuk pH 1 dan pH 4,5 (**Lampiran 2**). Hal ini dimaksudkan karena di dalam larutan, antosianin berada dalam lima

bentuk kesetimbangan tergantung pada kondisi pH. Kelima bentuk tersebut yaitu kation flavilium, basa karbinol, kalkon, basa quinonoidal dan quinonoidal anionik. Dan pada pH sangat asam (pH 1-2), bentuk dominan antosianin adalah kation flavilium. Pada bentuk inilah antosianin berada dalam kondisi stabil dan paling berwarna. Sedangkan ketika pH meningkat di atas 4 terbentuk senyawa antosianin berwarna kuning (bentuk kalkon), senyawa yang berwarna biru (bentuk quinoid) atau senyawa yang tidak berwarna (basa karbinol) (Andarwulan,2012). Perubahan warna akibat pengaruh pH ini disebabkan karena terjadinya degradasi warna dari antosianin yang disebabkan oleh kation flavilium yang berwarna merah dan akhirnya menjadi kalkon menjadi tidak berwarna.



Gambar V.1 Bentuk Kesetimbangan Antosianin (Andarwulan,2012)

5.2.3 Ekstraksi

Untuk mendapatkan ekstrak dari buah duwet, maka dilakukan ekstraksi. Ekstraksi bertujuan untuk melarutkan semua zat yang terkandung di dalam sampel menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Riset Universitas Islam Bandung. Sebanyak 200 gram simplisia segar diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut campuran yaitu metanol : asam asetat : akuades dengan perbandingan pelarut 80:16:104, 100:16:84, dan 120:16:64. selama 9 hari dan dilakukan penggantian pelarut setiap 24 jam sekali. Pelarut metanol dan air dimaksudkan karena sifat antosianin yang polar sehingga mudah menarik senyawa yang terkandung dalam buah duwet termasuk pigmen antosianin, sedangkan asam asetat dimaksudkan karena antosianin stabil dalam suasana asam sehingga akan menstabilkan dan memperkuat warna antosianin yang diekstraksi dari buah duwet tersebut. Setelah itu maserat disaring menggunakan penyaring vakum, dan dipekatkan di *rotary evaporator* dengan suhu 60⁰ C hingga mendapatkan ekstrak kental 25 ml (**Lampiran 3**).

5.4 Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Buah Duwet (*Syzygium cumini* L)

Penapisan fitokimia ekstrak meliputi pemeriksaan golongan polifenolat, flavonoid, tanin, kuinon, monoterpen, sesquiterpen, triterpenoid, steroid, saponin, dan alkaloid. Hasil penapisan fitokimia (**Lampiran 4**), dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel V. 1 Hasil penapisan fitokimia ekstrak buah duwet

| Golongan Senyawa | Identifikasi Ekstrak buah duwet |
|-------------------------|------------------------------------|
| Flavonoid | + |
| Alkaloid | + |
| Polifenol | + |
| Tanin | + |
| Kuinon | + |
| Saponin | + |
| Monoterpen Sesquiterpen | + |
| Triterpenoid Steroid | + |

Keterangan :

(+) Terdeteksi ; (-) Tidak Terdeteksi

5.5 Analisis Antosianin

Analisis antosianin dilakukan dengan membuat larutan stok. Ekstrak satu membuat 20 ppm, pembuatan larutan stok pada ekstrak satu dilakukan dengan cara mengambil ekstrak kental 0,2 ml kemudian diencerkan sampai 10 ml menggunakan pelarut yang digunakan pada saat maserasi. Kemudian untuk analisis antosianin dibuat konsentrasi 2 ppm yaitu dengan cara mengambil 1 ml sampel dari larutan stok ke dalam gelas ukur, setelah itu tambahkan 1,8 ml larutan penyangga pH 1 pada gelas ukur pertama ditambah menggunakan pelarut yang digunakan pada saat maserasi, dan pada gelas ukur kedua tambahkan 1,8 ml larutan penyangga pH 4,5 ditambah menggunakan menggunakan pelarut yang digunakan pada saat maserasi. Nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometri sinar tampak pada panjang gelombang 400-700 nm. Dan puncak serapan atau λ_{\max} terletak pada panjang gelombang 527 nm. Dilakukan perlakuan yang sama pada ekstrak dua dan tiga.

Jumlah antosianin yang terkandung dalam ekstrak, kemudian dihitung dengan menggunakan *AOAC Methods* dengan persamaan sebagai berikut :

$$A = (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700})_{pH1} - (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700})_{pH4,5}$$

$$\text{Antosianin} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{(\epsilon \times 1)}$$

Dengan menggunakan persamaan diatas diperoleh hasil perhitungan jumlah antosianin yaitu untuk perbandingan pelarut metanol : asam asetat : akuades (80:16:104) menghasilkan jumlah antosianin sebanyak 187,987 mg/100 gram. Perbandingan pelarut metanol : asam asetat : akuades (100:16:84) menghasilkan jumlah antosianin sebanyak 163,242 mg/100 gram. Sedangkan perbandingan pelarut metanol : asam asetat : akuades (120:16:64) menghasilkan jumlah antosianin sebanyak 217,063 mg/100 gram (**Lampian.5**).

Dari data diatas dapat diketahui bahwa terdapat hubungan perbandingan pelarut dengan jumlah antosianin. Semakin banyak metanol yang digunakan maka jumlah antosianin semakin banyak, sebaliknya jika sedikit metanol akan menghasilkan jumlah antosianin yang sedikit. Namun pada perbandingan pelarut metanol : asam asetat : akuades (100:16:84) menghasilkan jumlah antosianin sebanyak 163,242 mg/100 gram karena pemanasan sangat berpengaruh pada stabilitas pigmen antosianin yang mengakibatkan warna menjadi pucat, hal ini disebabkan karena terjadinya dekomposisi antosianin berbentuk aglikon menjadi kalkon (tidak berwarna) dan akhirnya membentuk alfa diketon berwarna coklat (Al-Alwi,2011), sehingga jumlah antosianin menurun. Karena antosianin merupakan pigmen yang sangat sensitif terhadap cahaya dan pemanasan.

Tabel V. 2 Kadar Antosianin Pada Berbagai Bahan Pangan

| No | Bahan Pangan | Kadar Antosianin (mg per 100 gram) |
|----|------------------------|-------------------------------------|
| 1 | Chokeberry | 2147 |
| 2 | Buah Murbey | 1.993 |
| 3 | Black Raspberry | 845 |
| 4 | Blubberies liar | 705 |
| 5 | Blubberies hasil kebun | 529 |
| 6 | Marrion blackberries | 433 |
| 7 | Blackberries | 353 |
| 8 | Plum | 250 |
| 9 | Buah Duwet | 210,5-242 |
| 10 | Anggur | 192 |
| 11 | Sweet cery | 177 |
| 12 | Cranberry | 133 |
| 13 | Red raspberry | 116 |
| 14 | Lobak merah | 116 |
| 15 | Kubis merah | 113 |
| 16 | Strawberry | 69 |
| 17 | Bawang merah | 39 |
| 18 | Terong | 35 |
| 19 | Kacang hitam | 23 |

(Astawan,2008 & Radha,2007)

Dilihat dari tabel diatas bahwa buah duwet memiliki kadar total antosianin yang baik, sehingga dapat digunakan sebagai sumber antioksidan alami. Antosianin disusun dari sebuah aglikon (antosianidin) yang teresterifikasi dengan satu gugus gula (glikon), dan kebanyakan antosianin ditemukan dalam enam bentuk antosianidin yaitu pelargonidin, sianidin, peonidin, delphinidin, petunidin dan malvidin. Gugus gula pada antosianin bervariasi, namun kebanyakan dalam bentuk glukosa, ramnosa, galaktosa atau arabinosa, dan gugus gula ini bisa dalam bentuk mono, atau disakarida (Faradila,2012). Dari hasil penelitian analisis antosianin dalam bentuk antosianidin yaitu sianidin-3-glikosida pada buah duwet

dengan perbandingan pelarut yang berbeda, didapat bahwa kadar antosianin terukur mendekati kadar antosianin yang tertera pada literatur **Tabel V.2**.

5.6 Validasi metode

5.6.1 Presisi

Presisi dilakukan dengan mengambil 1 ml ekstrak satu dari larutan stok kemudian dilarutkan dengan pH 1 sebanyak 1,8 ml dan ditambah menggunakan pelarut yang digunakan pada saat maserasi sampai 10 ml, lalu di absorbansi dengan panjang gelombang 527 nm, sebanyak 6 kali. Dilakukan hal yang sama pada ekstrak satu dan dua

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa metode yang digunakan presisi. Pada perbandingan pelarut metanol : asam asetat : akuades (80:16:104) adalah 0,08%. Perbandingan pelarut metanol : asam asetat : akuades (100:16:84) adalah 1,6%. Sedangkan perbandingan pelarut metanol : asam asetat : akuades (120:16:64) adalah 0,21% (**Lampiran 6**). Dari ketiga perbandingan pelarut yang berbeda didapat $RSD < 2\%$. Hal ini menandakan bahwa metode yang digunakan presisi.