

EKSTRAKSI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTOSIANIN DARI JANTUNG PISANG RAJA (*Musa X paradisiaca L.*) SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDANNYA

Jessica Alvionita, Djaswir Darwis, Mai Efdi

Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Andalas

Email: jessicaalvionita@yahoo.com

ABSTRACT

Anthocyanin compound have been successfully extracted from plantain bud (*Musa x paradisiaca L.*) which can used as natural colorant and antioxidant. Anthocyanin compound was extracted using maceration method with solvent ethanol that has been acidified with acetic acid and citric acid until pH 1.5. The extract anthocyanin is identified by UV-Vis spectrophotometer (260-800 nm) and retrieved two peaks that are 277 nm (UV) and 533 nm (Visible). Further treatment is carried out with KCKT-DAD at a wavelength 516 nm. Anthocyanin treatment given temperature and pH. Total anthocyanin monomeric obtained for ethanol + acetic acid was 30.22 mg/L; ethanol + citric acid was 18.20 mg/L. The warming influence of the anthocyanin compound lead to degradation of color is highest for ethanol + acetic citric on temperature 100°C with percentage degradation of 61.97 %. The antioxidant activity of the extract was measured by 1,1- difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) the result showed that the anthocyanin extracts from Plantain bud has antioxidant activity ethanol + acetic citric acid extract is very active as an antioxidant with IC₅₀ values of 3,74 mg/L.

Keywords: *Musa x paradisiaca L., Anthocyanin, Degradation of Color.*

PENDAHULUAN

Bahan pangan merupakan hal yang sangat penting bagi kehidupan manusia, untuk itu mutu dari suatu bahan pangan tersebut harus menjadi perhatian yang sangat penting. Penentuan mutu bahan pangan pada umumnya sangat bergantung pada beberapa faktor di antaranya cita rasa, warna, tekstur, nilai gizi dan sifat mikrobiologis. Tetapi pada aplikasinya faktor warna lebih menjadi perhatian bahkan kadang-kadang sangat menentukan^[1].

Dalam dekade terakhir ini penggunaan pewarna dalam bahan pangan sangat populer. Pewarna yang digunakan terbagi menjadi dua jenis yaitu pewarna alami dan pewarna buatan. Terbatasnya kualitas dan sumber pewarna alami menyebabkan penggunaan pewarna buatan berkembang pesat.

Kebanyakan produsen sering menggunakan zat warna sintesis yang tidak aman dan cenderung memberikan efek yang negatif terhadap kesehatan karena bersifat toksik bahkan karsinogenik. Melihat efek samping dari pewarna buatan pangan yang berbahaya dan didukung gaya hidup *back to nature* maka masyarakat beralih menggunakan pewarna alami yang aman dikonsumsi^[2,3].

Saat ini antosianin telah menjadi sumber yang penting bagi pewarna alami dalam produksi bahan pangan, kosmetik, dan farmasi yang dapat digunakan sebagai pengganti dari penggunaan pewarna buatan. Penelitian lainya juga menunjukkan bahwa antosianin memiliki banyak sifat yang menguntungkan bagi kesehatan seperti aktivitas antioksidan. Hal ini juga menjadi alasan terhadap peningkatan penggunaan

antosianin dalam produksi bahan pangan saat ini^[4].

Antosianin mempunyai kestabilan rendah yang bergantung pada suhu, pH, oksigen, cahaya, konsentrasi dari antosianin, dan zat tambahan lain seperti kopigmen^[5]. Oleh sebab itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kestabilan antosianin dari segi pH dan suhu.

Dalam kajian ini akan dibahas tentang proses ekstraksi, karakterisasi dengan UV-Vis (UV-Visibel) dan KCKT-DAD (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi). Kestabilan antosianin dengan berbagai variasi pH dan suhu, serta uji aktivitas antioksidannya dari tanaman (*Musa x paradisiaca* L.). Sampel diperoleh dari Nagari Tabek di Kota Batusangkar. Sehingga diharapkan dapat menjadi tambahan data dalam pengembangan antosianin sebagai zat warna alami.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah jantung pisang raja sebagai sampel uji, dan bahan kimia berupa pelarut organik seperti etanol teknis 96 % (C_2H_5OH) teknis yang didistilasi, asam sitrat ($C_6H_8O_7$), asam asetat ($C_2H_4O_2$), buffer pH 3, buffer pH 5, buffer pH 7, buffer pH 9, buffer pH 11, 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), dan bahan kimia lainnya seperti NaOH 1%, kloroform ($CHCl_3$), Asam klorida (HCl) pekat, asam sitrat, logam magnesium (Mg), besi (III) klorida ($FeCl_3$), anhidrida asetat, H_2SO_4 pekat, dan pereaksi Meyer.

Peralatan

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat distilasi, plat tetes, aluminium foil, pipet tetes, penangas air, termometer, spektrofotometer UV-Vis, (Thermo Scientific – Evolution 201 UV/Vis Spectrophotometer) KCKT-DAD (UFLC-Shimadzu) serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

Persiapan Sampel

Sampel yang diperlukan untuk penelitian diperoleh dari Nagari Tabek di Kota

Batusangkar. Bagian yang akan diteliti adalah jantung dari tanaman pisang raja (*Musa x paradisiaca* L.).

Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman sampel dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas dengan nomor identifikasi 236/K-ID/ANDA/VIII/2015 Berdasarkan data diketahui bahwa tanaman yang diidentifikasi merupakan famili Musaceae dengan jenis/spesies *Musa x paradisiaca* L.

Ekstraksi Antosianin

Antosianin diekstrak dengan metode maserasi yaitu sebanyak 150 gram sampel yang telah dipotong kecil-kecil diekstrak dengan 2 jenis pelarut yaitu etanol + asam sitrat, etanol + asam asetat, air + asam asetat, air + asam sitrat hingga pH 1,5 masing-masingnya sebanyak 500 mL. Pengekstrakan dilakukan duplo.

Karakterisasi Antosianin dengan UV-Vis

Karakterisasi antosianin dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis. Metode ini sekaligus digunakan dalam penentuan kadar total monomer antosianin.

Karakterisasi Antosianin Dengan High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detektor (HPLC-DAD)

Metode HPLC-DAD yang digunakan berpedoman pada metode Huang, 2012^[7] dengan sedikit modifikasi. Dimana kolom yang digunakan adalah jenis kolom C-18. Fase gerak yang digunakan berupa larutan A = 2% asam format, Larutan B = asetonitril : Air (1 : 1) yang mengandung 2% asam format. Dengan gradien elusi dari 6 - 10% B selama 0 - 4 menit, 10 - 25% B dari 8 - 12 menit, lalu dibiarkan isokratik dengan 25% B hingga menit ke 13, 25 - 40% B dari menit 13 - menit ke 20, 40 - 60% dari 20 - 35 menit, 60 - 100% B dari 35 - 40 menit, dan kembali ke 5% B selama 5 menit, dengan kecepatan alir eluen 1.0 mL/min. Penginjeksian sampel dilakukan sebanyak 100 μ L, dan pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 516 nm.

Penentuan Kadar Total Monomer Antosianin Dan Kadar Total Antosianin

Kadar total monomer antosianin dapat dihitung dengan rumus :

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

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

Keterangan :

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 gram menjadi mg

Perlakuan Terhadap Sampel Variasi pH

Ekstrak di variasikan pHnya yaitu pH 1, pH 3, pH 5, pH 7, pH 9 dan pH 11. Tiap-tiap variasi pH diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 260 – 800 nm.

Variasi Suhu

Untuk variasi suhu, sampel di variasikan suhunya yaitu 30°C, 50°C, 70°C, 90°C, dan 100°C. Tiap-tiap variasi suhu diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 260 – 780 nm.

Uji Antioksidan

Pemeriksaan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metoda DPPH yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm, Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal bebas melalui perhitungan persentase inhibisi serapan 1,1-difenil-2 pikrilhidrazil dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Absorban kontrol: absorban 3 mL DPPH + 2 mL metanol

Absorban sampel: absorban 3 mL DPPH + 2 mL larutan sampel

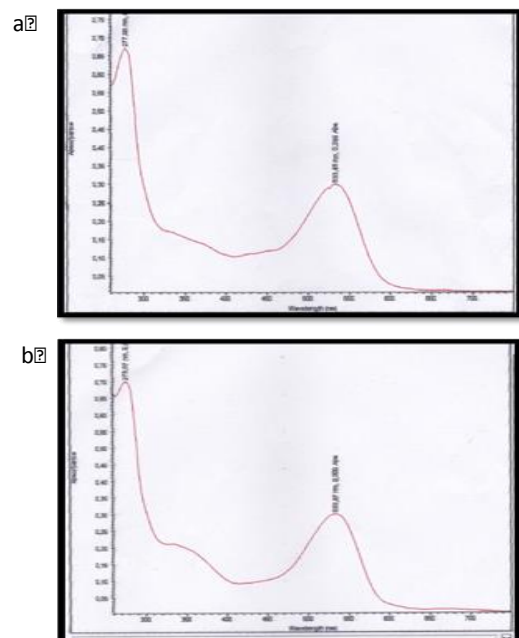
Untuk penentuan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*), dilakukan varisasi konsentrasi mulai dari 200 $\mu\text{g/mL}$, 400 $\mu\text{g/mL}$, 600 $\mu\text{g/mL}$, 800 $\mu\text{g/mL}$, dan 1000 $\mu\text{g/mL}$.

HASIL DAN DISKUSI

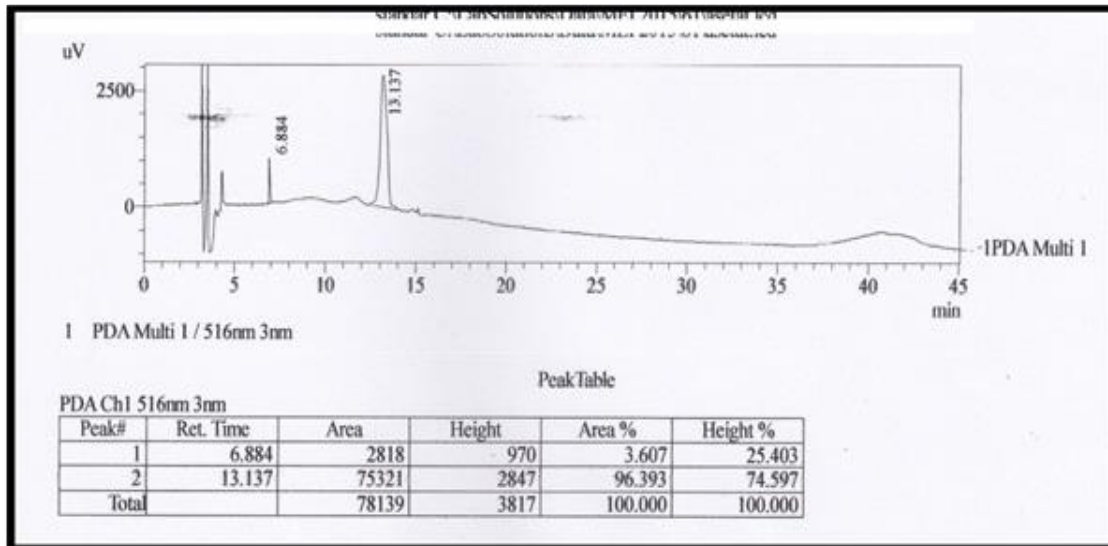
Karakterisasi antosianin

Spektrum yang didapatkan dari pengukuran UV-Vis masing-masing ekstrak memperlihatkan adanya dua puncak serapan yaitu pada daerah UV 277 nm dan pada daerah Visibel 533 nm. Dugaan sementara antosianin yang terkandung dalam jantung pisang batu adalah antosianin turunan sianidin. Hasil spektrum untuk tiap ekstrak dapat dilihat pada Gambar 1.

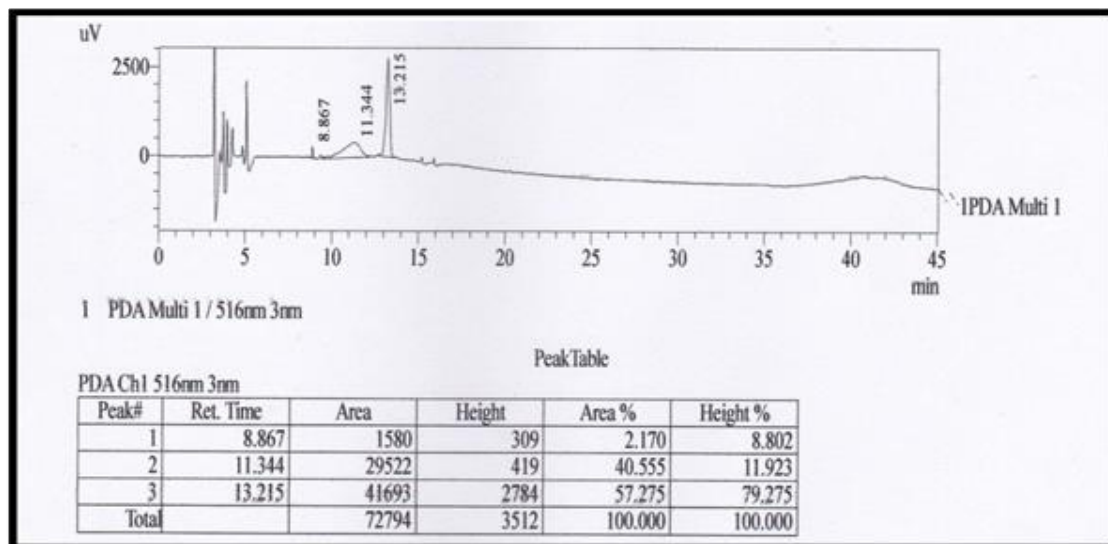
Analisa dengan KCKT-DAD didapatkan dua puncak dominan yaitu puncak pada waktu retensi sekitar 13,13 dan 6,88 menit. Sesuai dengan kromatogram standar yang digunakan, jenis antosianin yang terkandung dalam jantung pisang raja adalah sianidin 3-galaktosida dan sianidin-3-glukosida untuk kromatogram pada Gambar 2. Untuk kromatogram pada Gambar 3, pada waktu retensi 13,21 menit adanya sianidin 3-galaktosida, 11,34 menit untuk sianidin 3-glukosida



Gambar 1. Spektrum antosianin pada pH 1,5 untuk tiap ekstrak : a) etanol + asam asetat, b) etanol + asam sitrat.



Gambar 2. Kromatogram ekstrak etanol yang diasamkan dengan asam asetat.



Gambar 3. Kromatogram ekstrak etanol yang di asamkan dengan asam sitrat.

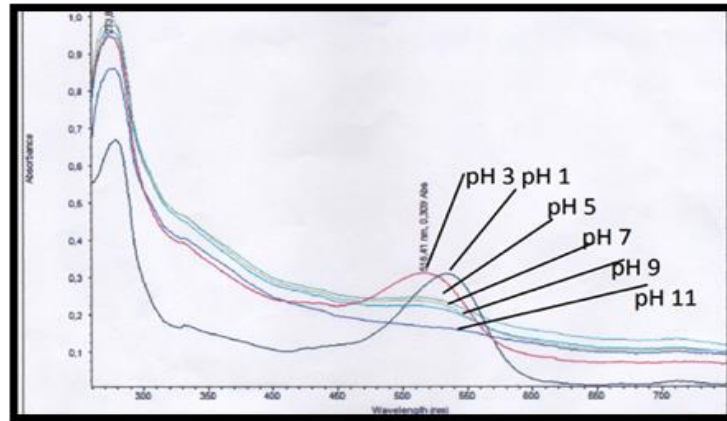
Kadar total monomer antosianin didapatkan dari perhitungan dengan metode pH-differensial adalah sebanyak 30,22 mg/L pada ekstrak etanol yang diasamkan dengan asetat, 18,20 mg/L pada etanol yang diasamkan dengan asam sitrat, Hasil ekstrak dapat dilihat pada Gambar 4 dan Gambar 5.

Jika dibandingkan dari segi asam, kandungan antosianin ekstrak dengan asam asetat lebih tinggi dibanding dengan asam asitrat. Jika dilihat dari pKa asam asetat (4,76) yang lebih kecil dibanding pKa asam sitrat (6,39). Sehingga asam asetat jauh lebih kuat

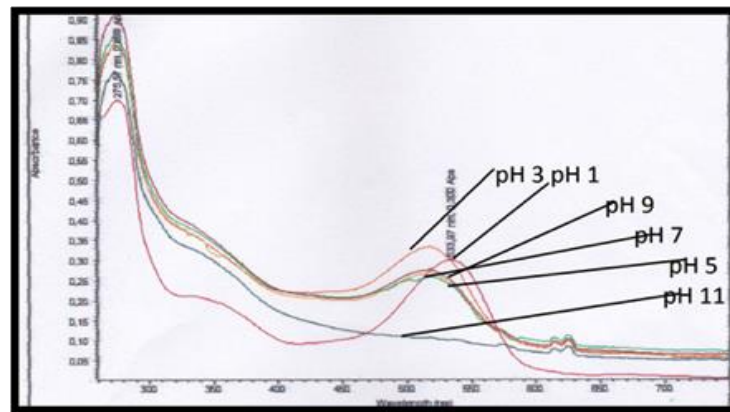
keasamannya yang menyebabkan ekstrak antosianin yang dihasilkan lebih bagus dalam pengekstrakan.

Analisa pengaruh pH dan suhu terhadap kestabilan antosianin

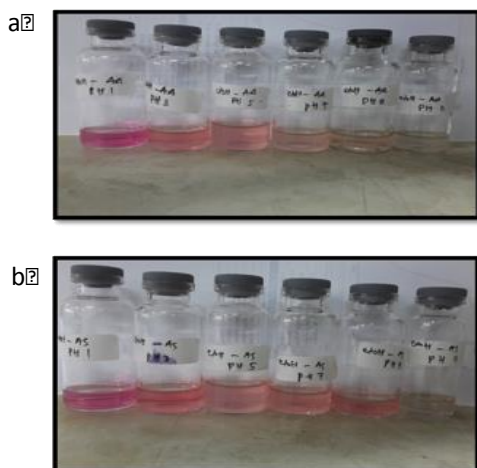
Semakin asam kondisi larutan (pH<7), maka warna antosianin akan semakin merah. Sebaliknya, semakin basa kondisi larutan (pH>7) maka warna merah antosianin akan semakin berkurang (Gambar 6). Hal ini dikarenakan bahwa antosianin mengalami degradasi selang kenaikan pH.



Gambar 4. Perubahan spektrum UV-Vis variasi pH ekstrak etanol yang diasamkan dengan asam asetat.



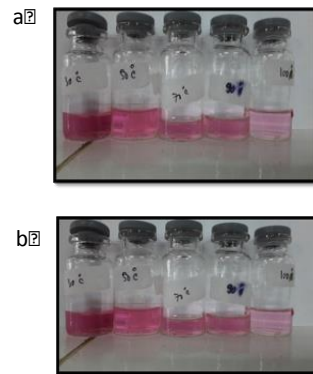
Gambar 5. Perubahan spektrum UV-Vis variasi pH ekstrak etanol yang diasamkan dengan asam sitrat.



Gambar 6. Hasil ekstraksi jantung pisang raja dengan 2 jenis pelarut a) Etanol + Asam Asetat, b) Etanol + Asam Sitrat.

Berdasarkan data yang diperoleh, dapat dilihat bahwa senyawa antosianin sangat stabil pada pH 1 sampai 3 dikarenakan kation flavilium sangat stabil pada pH asam. Namun dengan menurunnya derajat keasaman, antosianin berubah struktur. Perubahan warna antosianin dalam tingkatan pH 5 mengarah ke tidak berwarna, hal ini disebabkan membentuk pseudobasa yang mulai kehilangan warna pada rentang pH 4-6, kemudian bentuk pseudobasa ini mengalami tautomerik, keseimbangan antara bentuk keto dan bentuk enol menghasilkan alfa diketon, dan pH 7 dan pH 9 antosianin akan berubah struktur menjadi suatu basa kuinoidal yang berwarna biru. Seiring dengan kenaikan pH juga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah hipsokromik. Hal ini terjadi karena adanya penghilangan konjugasi dari struktur antosianin.

Pada pH 11 antosianin terdegradasi secara keseluruhan sehingga menyebabkan senyawa antosianin tidak stabil yang ditandai dengan penurunan nilai absorban dan warna berubah menjadi tidak berwarna. Perubahan warna ekstrak jantung pisang raja terhadap pengaruh pH merupakan suatu indikator dari antosianin tersebut, karena dapat berubah warna terhadap faktor keasaman dan kebasaan dari larutannya^[7]. Perubahan warna antosianin jantung pisang raja terhadap perubahan suhu pemanasan juga memberikan efek penurunan intensitas warna dan absorban pada ekstrak (Gambar 8).



Gambar 8. Pengaruh suhu pemanasan pada ekstrak a) etanol yang diasamkan dengan asam asetat b) ekstrak etanol yang diasamkan dengan asam sitrat terhadap kestabilan antosianin.

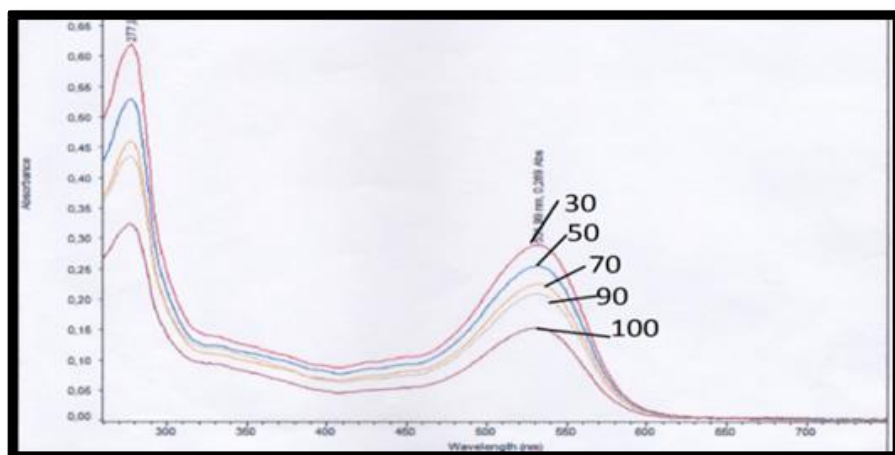
Penurunan absorban seiring dengan kenaikan suhu dapat juga menentukan persentase degradasi antosianin yang menerangkan kemampuan antosianin untuk tetap stabil jika dipanaskan (Gambar 9 dan 10). Dengan nilai persentase degradasi yang paling tinggi ialah 61,97 % pada ekstrak etanol yang diasamkan dengan asam sitrat. Dan data hasil dari perhitungan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase degradasi warna antosianin akibat pemanasan

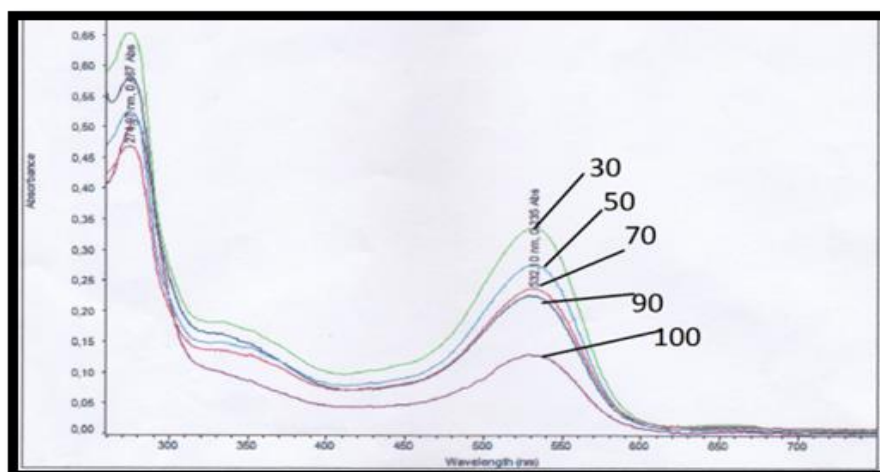
Jenis Pelarut	Suhu (°C)	% Degradasi
Etanol + asam asetat	30	Kontrol
	50	11,76
	70	22,49
	90	28,02
	100	47,40
Etanol + asam sitrat	30	Kontrol
	50	17,96
	70	32,03
	90	32,93
	100	61,97

Analisa Uji Aktivitas Antioksidan Antosianin

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) adalah senyawa yang memiliki radikal pada atom nitrogen. Proses penangkalan radikal bebas oleh ekstrak ditandai dengan memudarnya warna larutan dari ungu menjadi kuning. Dari uji ini dapat ditentukan nilai IC₅₀ masing-masing ekstrak yang diperlihatkan oleh Tabel 2.



Gambar 9. Perubahan spektrum variasi suhu ekstrak etanol yang diasamkan dengan asam asetat.



Gambar 10. Perubahan spektrum variasi suhu ekstrak etanol yang diasamkan dengan asam sitrat.

Table 2. Nilai IC_{50} Ekstrak Antosianin dari Jantung Pisang

Jenis Pelarut	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Etanol yang diasamkan dengan Asam Asetat	5,95
Etanol yang diasamkan dengan Asam Sitrat	3,74

Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat jika IC_{50} bernilai 50 $\mu\text{g/mL}$ sampai 100 $\mu\text{g/mL}$, sedang jika IC_{50} bernilai 100 $\mu\text{g/mL}$ sampai 150 $\mu\text{g/mL}$ dan lemah jika IC_{50} bernilai 151 $\mu\text{g/mL}$ sampai 200 $\mu\text{g/mL}$.⁸

Dari Tabel 2 dapat disimpulkan bahwa antosianin dari jantung batu baik sebagai antioksidan karena memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$ terutama pada ekstrak etanol yang diasamkan dengan asam sitrat.

KESIMPULAN

Jantung pisang raja mengandung antosianin dengan senyawa turunan sianidin yang lebih dominan dengan kadar total monomer pada ekstrak etanol yang diasamkan dengan asam asetat yang paling banyak sebesar 30,22 mg/L. Antosianin yang diperoleh stabil pada pH 1- 3 dan tidak terlalu mengalami kerusakan dengan variasi suhu, dengan

persentase degradasi tertinggi sebesar 61,97 % pada ekstrak etanol yang diasamkan dengan asam sitrat pada pemansan suhu 100°C dan nilai IC_{50} dari ekstrak tersebut sebesar 3,74 $\mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada ibu Mitralena selaku Analis Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Universitas Andalas.

DAFTAR PUSTAKA

1. Winarno, G., 2004. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia, Jakarta.
2. Yoga, Matius Kristiarso, Wibowo Catur. Antosianin Jantung Pisang Kepok (*Musa x Paradisiaca*) Sebagai Pewarna Agar-Agar (Kajian Berdasarkan Stabilitas Terhadap Cahaya Dan Organoleptik). Salatiga.
3. Barnes, Jeremi S., 2010. Analytical Characterization of Anthocyanins from Natural Product by Reverse-Phase Liquid Chromatography-Photodiode Array-Electrospray Ionization-Ion of Flight Mass Spectrometry. Master of Science in Chemistry. The University of Texas at Arlington.

4. Lestario, Danu dan Kris., **2009**. Kandungan Antosianin dan Antosianidin dari Jantung Pisang Klutuk (*Musa brachycarpa Back*) dan Pisang Ambon (*Musa acuminata Colla*). Jurnal Teknologi dan Industry Pangan. Salatiga. Volume XX, No. 2, Hal 143 – 148.
5. Armour publishing Pte Ltd., **2009**., Tress of our garden city. National parks Board. Singapore. Edition 2nd. Hal 184-185.
6. Huang, Wen Jian, Shao-Ling Zhang., Gai-Hua Qin, Le Wenqua, Jun Wu., **2012**. Isolation and determination of Major Anthocyanin Pigment in The Pericarp of *P. Communis L. Cv. 'Red Du Comices'* and Their Associatio with Antioxidant Activity. African Journal of Agricultural Research, Vol. 7 (26),3772-3780.
7. Supiyanti, Wiwin, E. D., Dwi Wulansari, dan Lia Kusmita., **2010**. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kandungan Antosianin Total Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana L.*). *Majalah Obat Tradisional*, 15(2), 64 – 70.
8. Anonim. **2012**. Stabilitas Antosianin Buah Duwet (*Syzygium cumini*) Dalam Minuman Model. Jurnal IPB, Bogor.