

**KAPASITAS ANTI RADIKAL EKSTRAK ANTOSIANIN BUAH SALAM
(*SYZYGIVM POLYANTHUM* [WIGHT.] WALP) SEGAR
DENGAN VARIASI PROPORSI PELARUT**

**ANTI RADICAL CAPACITY OF ANTHOSIANIN EXTRACT FROM FRESH SALAM
(*SYZYGIVM POLYANTHUM* [WIGHT.] WALP) FRUITS WITH VARIED
SOLVENT PROPORTION**

Setyaningrum Ariviani
Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan UNS

ABSTRAK

Buah salam berwarna merah gelap diduga mengandung senyawa antosianin. Hasil penelitian terbaru melaporkan bahwa antosianin yang berasal dari buah-buahan merupakan antioksidan yang efektif. Kemampuan antioksidatif antosianin timbul dari reaktifitasnya yang tinggi sebagai pendonor hidrogen atau elektron, kemampuan radikal turunan polifenol untuk menstabilkan dan mendelokalisasi elektron tidak berpasangan, serta kemampuannya mengkhelat ion logam. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kapasitas anti radikal ekstrak antosianin buah salam segar dengan variasi proporsi pelarut dan korelasinya terhadap kadar total antosianin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak antosianin buah salam segar memperlihatkan kapasitas anti radikal yang semakin meningkat seiring peningkatan proporsi pelarut. Kapasitas anti radikal ekstrak ini memiliki korelasi yang tinggi terhadap kadar antosianinnya ($R\ 0.954, P<0.05$)

Kata kunci: buah salam, ekstrak, antosianin, kapasitas anti radikal

ABSTRACT

*Dark red colored salam (*Syzygium polyanthum* [Wight.] Walp) fruits was expected contain of anthocyanin compounds. Recent research results have shown that anthocyanins from edible fruits were effective antioxidants. Antioxidative properties of anthocyanins arise from their high reactivity as hydrogen or electron donors, and from the ability of the polyphenol-derived radicals to stabilize and delocalize the unpaired electron, and from their ability to chelate transition metal ion. This research aims to determine anti radical capacity of anthocyanin extract from fresh salam fruits extracted with different solvent proportion and their correlation to the total anthocyanin content. Results indicated anthocyanin extract from fresh salam fruits showed anti radical capacity that increased along to solvent proportion raised. The anti radical capacity showed high correlation with the total anthocyanin content ($R\ 0.954, P<0.05$).*

Keywords : *salam fruits, extract, anthocyanin, anti radical capacity*

PENDAHULUAN

Antosianin banyak ditemukan pada pangan nabati yang berwarna merah, ungu, merah gelap seperti pada beberapa buah, sayur, maupun umbi. Beberapa sumber antosianin telah dilaporkan seperti buah mulberry, bluberry, cherry, blackberry, rosela, kulit dan sari buah anggur, strawberry, lobak merah dan *java plum* (jawa: duwet) (Timberlake and Bridle, 1982; Pokorny *et al.*, 2001; Ayed and Al-Tamimi, 2007, Lestario *et al.*, 2005), namun masih sangat sedikit penelitian tentang sumber antosianin dari bahan lokal.

Beberapa dekade yang lalu anak-anak didaerah bantul mengkonsumsi buah salam tanpa menimbulkan dampak keracunan. Buah salam merupakan buah buni, bulat, berdiameter 8-9 mm, buah muda berwarna hijau, setelah masak menjadi merah gelap. Salam ditanam untuk diambil daunnya sebagai pelengkap bumbu dapur, sedangkan kulit batang, akar dan buah juga berkhasiat sebagai obat (Dalimartha, 2006). Buah salam masak berwarna ungu kehitaman, hal ini diduga karena adanya senyawa antosianin.

Antosianin telah banyak digunakan sebagai pewarna, khususnya minuman, karena banyak pewarna sintesis diketahui bersifat toksik dan karsinogenik (Francis, 1999). Menurut Clifford *et al.* (2000), JEFCA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) telah menyatakan bahwa ekstrak yang mengandung antosianin efek toksisitasnya rendah. Perhatian terhadap pigmen antosianin intensif dalam beberapa tahun terakhir ini karena manfaatnya terhadap kesehatan, termasuk mengurangi resiko penyakit jantung koroner, resiko stroke, aktivitas antikarsinogen, efek anti-inflamatory, memperbaiki ketajaman mata, dan memperbaiki perilaku kognitif. Studi klinis di Italy memperlihatkan bahwa 79% dari pasien diabetes yang mengkonsumsi ekstrak bilberry (160 mg dua kali sehari selama 1 bulan) menunjukkan peningkatan diabetic retinopathy pada akhir percobaan (Wrolstad, 2004).

Antosianin dipercaya dapat memberikan manfaat bagi kesehatan manusia. Antosianin ini diketahui dapat diabsorpsi dalam bentuk molekul utuh dalam lambung (Passamonti *et al.*, 2003), meskipun absorpsinya jauh dibawah 1%, antosianin setelah ditransport ke tempat yang memiliki aktivitas metabolik tinggi memperlihatkan aktivitas sistemik seperti antineoplastik, antikarsinogenik, antiatherogenik, antiviral, dan efek anti-inflamatory, menurunkan permeabilitas dan fragilitas kapiler dan penghambatan agregasi platelet serta immunitas, semua aktivitas ini didasarkan pada peranannya sebagai antioksidan (Clifford *et al.*, 2000; Middleton *et al.*, 2000). Antosianin yang tidak terabsorpsi memberikan perlindungan terhadap kanker kolon (Halliwell *et al.*, 2000). Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Umumnya senyawa flavonoid berfungsi sebagai antioksidan primer, chelator dan scavenger terhadap superoksida anion. Antosianin dalam bentuk aglikon lebih aktif daripada bentuk glikosidanya (Santoso, 2006). Kemampuan antioksidatif antosianin timbul dari reaktifitasnya yang tinggi sebagai pendonor hidrogen atau elektron, dan kemampuan radikal turunan polifenol untuk menstabilkan dan mendelokalisasi elektron tidak berpasangan, serta kemampuannya mengkhelat ion logam (terminasi reaksi Fenton) (Rice-Evans *et al.*, 1997). Aktivitas antioksidan antosianin dipengaruhi oleh sistem yang digunakan sebagai substrat dan kondisi yang dipergunakan untuk mengkatalisis reaksi oksidasi (Pokorny *et al.*, 2001).

pH suatu sistem akan sangat mempengaruhi aktivitas antioksidan antosianin.

Antosianin kurang efektif sebagai *metal chelators* pada kondisi pH rendah (asam). Tetapi kemampuan mendonorkan hidrogen (*hydrogen-donating activity*) dari antosianin meningkat pada kondisi yang semakin asam (Pokorny *et al.*, 2001). pH juga akan mempengaruhi stabilitas dari antosianin disamping berpengaruh terhadap warna dari antosianin tersebut. Antosianin lebih stabil pada pH asam dibanding dalam pH netral atau basa (Markakis, 1982). Ekstraksi antosianin dapat dilakukan dengan beberapa jenis solven, seperti air, etanol, metanol, tetapi yang paling efektif adalah dengan menggunakan metanol yang diasamkan dengan HCl. Tetapi karena sifat toksik dari metanol biasanya dalam sistem pangan digunakan air atau etanol yang diasamkan dengan HCl (Francis, 1982; Yu Gao and Cahoon, 1998).

Turker dan Erdogdu (2006) menyatakan bahwa suhu dan pH berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi antosianin dan koefisien difusinya, semakin rendah pH maka koefisien distribusi semakin tinggi, demikian juga semakin tinggi temperaturnya. Tetapi antosianin merupakan senyawa fenolik yang labil dan mudah rusak akibat pemanasan, sehingga berakibat pada penurunan bioaktivitasnya. Menurut Revilla (1998) pengaruh suhu menjadi tidak signifikan dengan penambahan HCl pada pelarut yang digunakan untuk ekstraksi, karena pengaruh HCl lebih besar daripada pengaruh suhu. Penggunaan HCl 1% dalam ekstraksi antosianin akan menyebabkan hidrasi sebagian hingga total antosianin yang terasetilasi sehingga akan mempengaruhi absorpsinya dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kapasitas anti radikal ekstrak antosianin buah salam segar yang diekstrak dengan menggunakan air yang diasamkan dengan 1% HCL pada berbagai proporsi pelarut. Selanjutnya ditentukan korelasinya dengan kadar total antosianin.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Sampel yang digunakan adalah buah salam masak dengan warna merah gelap, buah salam diperoleh dari lahan salam di wilayah Gamping, Sleman Yogyakarta. Bahan kimia yang digunakan meliputi: DPPH, dan BHT masing-masing produksi Sigma, HCl p.a, etanol p.a, dan metanol p.a dan ammonium thiocyanat produksi Merck. Peralatan yang digunakan meliputi: Spektrofotometer Shimadzu Uv-Vis, vacuum filter Miliphore, rotary evaporator Buchi, peralatan gelas, kertas saring dan oven Memmert.

Persiapan sampel

Sampel buah salam dipisahkan daging buah dan isinya dengan cara diremas-remas hingga lumat, kemudian dilewatkan melalui ayakan aluminium untuk memisahkan daging buah. Rendemen daging buah 54,5% b/b.

Ekstraksi antosianin buah salam

Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut air yang diasamkan dengan penambahan 1% HCL pada proporsi sampel : pelarut (1:1), (1:3) dan (1:5) b/v. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan vacuum filter, dikentalkan menggunakan vacuum evaporator pada suhu 60°C hingga berbentuk pasta. Selanjutnya ekstrak dilarutkan (konsentrasi 10% b/v) dalam etanol 75% untuk pengujian kadar total antosianin, dan dalam metanol 75% untuk pengujian kapasitas anti radikal. Larutan ekstrak kemudian disimpan dalam botol gelap dan dihembus dengan nitrogen untuk mengusir oksigen dalam head space, botol ditutup dan disimpan dalam coolroom suhu 4°C sampai digunakan untuk analisis kimia.

Analisis kimia

Analisa kimia yang dilakukan meliputi analisis kadar total antosianin ekstrak buah salam dengan teknik spektrofotometri (Lees and Francis, 1972), kapaitas anti radikal dengan metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyn (DPPH) Free Radical Scavenging (Kim *et al.*, 2004)

Analisis data

Data dianalisis menggunakan ANOVA dan untuk menguji perbedaan antar perlakuan dilakukan uji DMRT. Korelasi diuji dengan menggunakan corellate bivariate.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Antosianin Daging Buah Salam

Menurut Francis (1982) dan Yu Gao and Cahoon (1998), ekstraksi pigmen antosianin dapat dilakukan dengan beberapa jenis solven, seperti air, etanol, metanol, tetapi yang paling efektif adalah dengan menggunakan metanol yang diasamkan dengan HCl. Tetapi karena sifat toksik dari metanol biasanya dalam sistem pangan digunakan etanol yang diasamkan dengan HCl. Ekstraksi antosianin sebagai pewarna makanan pada umumnya dilakukan dengan menggunakan air, air yang mengandung SO₂ dan alkohol yang diasamkan (Francis, 1982)

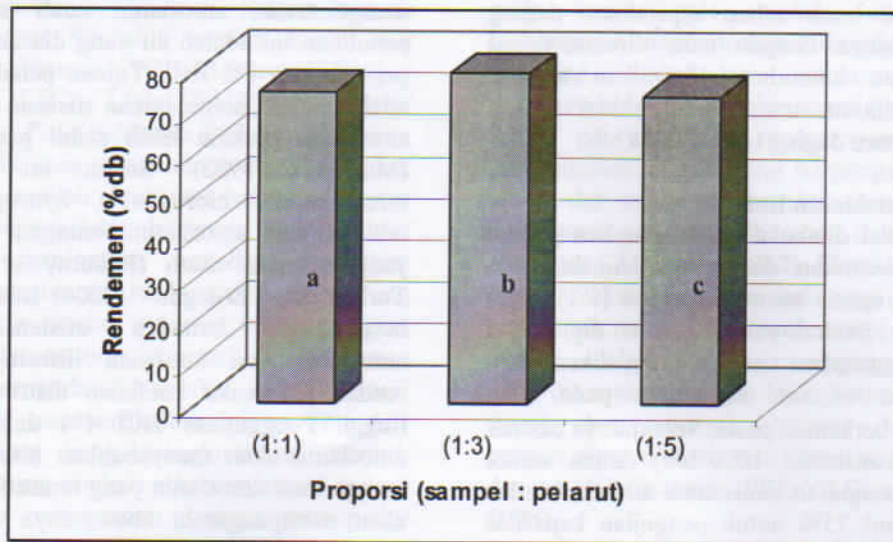
Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi antosianin buah salam dalam penelitian ini adalah air yang diasamkan dengan penambahan 1% HCl. Tujuan penambahan HCl adalah untuk memeberikan suasana asam karena antosianin bersifat lebih stabil pada pH asam (Markakis, 1982). Selain itu kemampuan mendonorkan hidrogen (*hydrogen-donating activity*) dari antosianin meningkat pada kondisi yang semakin asam (Pokorny *et al.*, 2001). Turker dan Erdogdu (2006) menyatakan pH berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi antosianin dan koefisien difusinya, semakin rendah pH maka koefisien distribusi semakin tinggi. Penggunaan HCl 1% dalam ekstraksi antosianin akan menyebabkan hidrasi sebagian hingga total antosianin yang terasetilasi sehingga akan mempengaruhi absorbsinya dalam tubuh (Revilla, 1998)

Rendemen ekstrak buah salam dengan berbagai proporsi pelarut dapat dilihat pada Grafik 3.1. Berdasarkan Grafik 3.1 tersebut diketahui bahwa proporsi pelarut berpengaruh terhadap rendemen ekstrak yang dihasilkan, urutan dari rendemen tertinggi adalah sebagai berikut 1 : 3 > 1 : 1 > 1 : 5

Kadar Antosianin Ekstrak Kasar

Kadar antosianin ekstrak buah salam ditentukan dalam sistem pelarut etanol. Metode yang digunakan adalah metode Lees and Francis (1972) yang prinsipnya adalah mengukur absorbansi warna ungu dari antosianin dalam sistem pelarut etanol pada panjang gelombang 535 nm. Kadar total antosianin sebanding dengan absorbansinya. Berdasarkan analisis data yang dilakukan diketahui bahwa perbandingan pelarut berpengaruh terhadap kadar total antosianin ekstrak yang dihasilkan, semakin besar proporsi pelarut, kadar antosianin ekstrak semakin meningkat. Kadar antosianin ekstrak buah salam segar pada berbagai proporsi pelarut dapat dilihat dalam Tabel 3.1.

Rendemen antosianin ekstrak buah salam (mg antosianin/100gr daging buah basah) dengan berbagai proporsi pelarut dapat dilihat dalam Grafik 3.2. Grafik tersebut memberikan informasi bahwa rendemen antosianin sejalan dengan kadar total antosianin ekstrak, yaitu semakin meningkat dengan peningkatan proporsi pelarut.

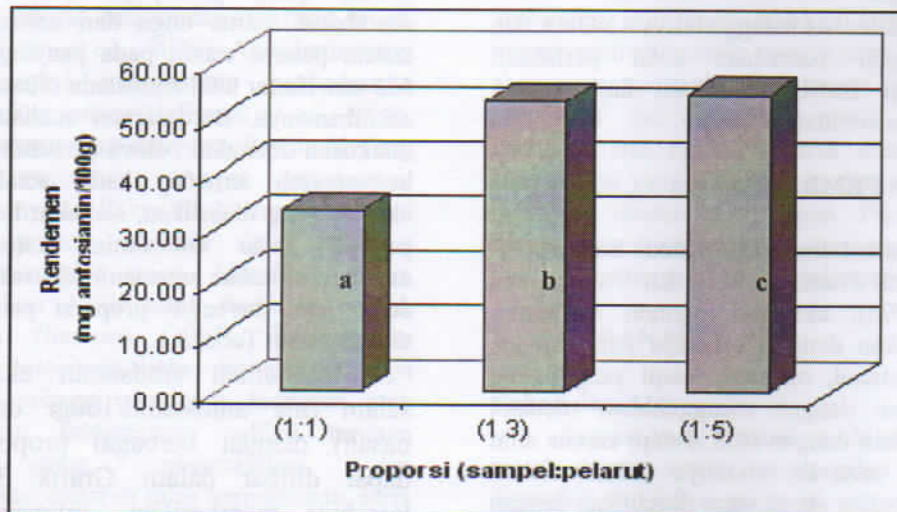


Grafik 3.1 Rendemen Ekstrak Buah Salam (%db) dengan Berbagai Proporsi Pelarut. Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada α 0.05

Tabel 3.1 Kadar Total Antosianin Ekstrak Buah Salam Segar

Proporsi sampel : pelarut	Kadar antosianin total (mg/gr ekstrak)
1 : 1	2.37 ^a
1 : 3	3.59 ^b
1 : 5	3.95 ^c

Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada α 0.05.



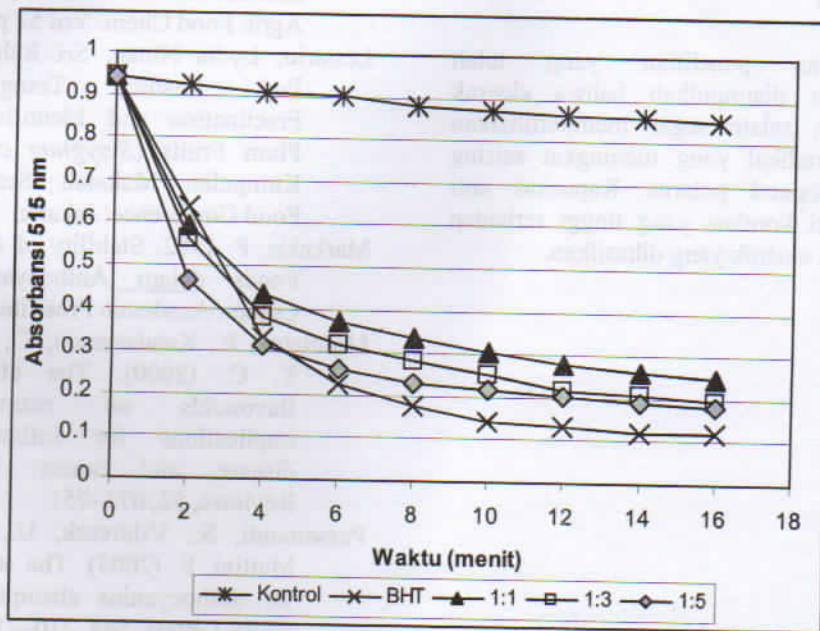
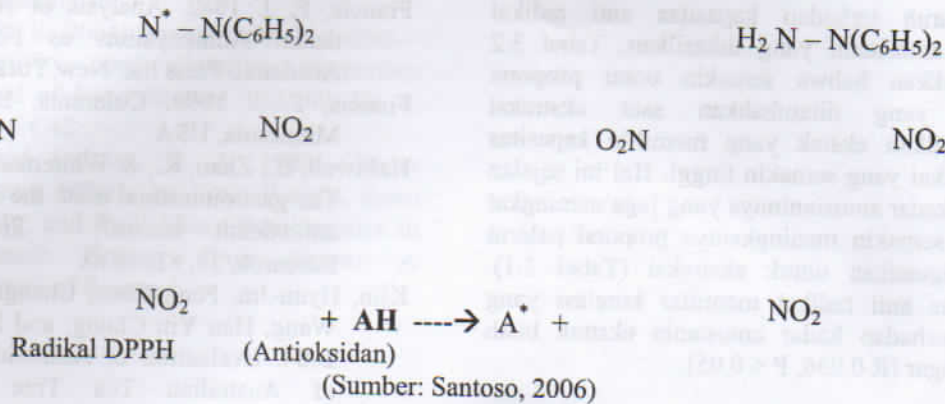
Grafik 3.2 Rendemen antosianin ekstrak buah salam (mg antosianin/100gr daging buah basah). Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada α 0.05

Sedangkan rendemen ekstrak pada Grafik 3.1 memperlihatkan bahwa rendemen tertinggi pada proporsi pelarut (1:3). Hal ini mengindikasikan bahwa proporsi pelarut yang optimum untuk ekstraksi antosianin buah salam segar adalah (1:5).

Kapasitas Anti Radikal Ekstrak Antosianin Buah Salam Segar

Kapasitas Anti Radikal ditentukan dengan metode DPPH (Kim *et al.*, 2004). Prinsip pengujian kapasitas anti radikal

dengan metode ini adalah bahwa radikal DPPH yang bersifat tidak stabil akan dinetralkan/ ditangkap oleh antosianin (antioksidan) sehingga terjadi penurunan intensitas warna ungu dari DPPH. Semakin tinggi kapasitas anti radikal maka penurunan intensitas warna semakin cepat. Intensitas warna ungu sebanding dengan absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Reaksi antara radikal DPPH dan Antioksidan (AH) adalah berikut:



Grafik 3.3 Grafik absorbansi vs waktu pada pengujian kapasitas anti radikal dengan metode DPPH

Tabel 3.2 Kapasitas Anti Radikal Ekstrak Antosianin Buah Salam

Proporsi sampel : pelarut	Kapasitas anti radikal ^{a)} (% terhadap aktivitas 200 ppm BHT)
1 : 1	82.24 ^a
1 : 3	89.56 ^b
1 : 5	91.72 ^c

Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada α 0.05

^{a)} Kapasitas anti radikal di ukur pada konsentrasi ekstrak 1% b/v

Pola penurunan absorbansi warna ungu DPPH oleh ekstrak buah salam konsentrasi 1% (b/v), kontrol dan BHT 200 ppm dapat dilihat pada Grafik 3.3. Pada Grafik 3.3 tersebut terlihat bahwa pada menit ke-2 semua ekstrak antosianin buah salam segar memiliki kemampuan mengikat radikal DPPH lebih tinggi daripada BHT yang ditunjukkan dengan pola penurunan absorbansi yang lebih curam, tetapi pada menit – menit berikutnya pola penurunan BHT lebih curam daripada yang lain.

Hasil analisis statistik yang dilakukan memperlihatkan bahwa proporsi pelarut berpengaruh terhadap kapasitas anti radikal ekstrak antosianin yang dihasilkan. Tabel 3.2 menunjukkan bahwa semakin besar proporsi pelarut yang ditambahkan saat ekstraksi menghasilkan ekstrak yang memiliki kapasitas anti radikal yang semakin tinggi. Hal ini sejalan dengan kadar antosianinnya yang juga meningkat dengan semakin meningkatnya proporsi pelarut yang digunakan untuk ekstraksi (Tabel 3.1). Kapasitas anti radikal memiliki korelasi yang tinggi terhadap kadar antosianin ekstrak buah salam segar ($R = 0.956$, $P < 0.05$).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak antosianin buah salam segar memperlihatkan kapasitas anti radikal yang meningkat seiring peningkatan proporsi pelarut. Kapasitas anti radikal memiliki korelasi yang tinggi terhadap kadar antosianin ekstrak yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayed Amr and Al-Tamimi, E. 2007. Stability of the crude extracts of *Ranunculus asiaticus* anthocyanins and their use as food colourants. *International Journal of Food Science & Technology* 42 (8), 985–991.
- Clifford, M. N. (2000). Anthocyanins— nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1063–1072.
- Dalimartha, S. 2006. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. dalam www.pdpersi.co.id
- Francis, F. J. 1982. Analysis of Anthocyanins dalam *Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press inc. New York.
- Francis, F. J. 1999. *Colorants*. Eagan Press. Minnesota, USA.
- Halliwell, B., Zhao, K., & Whiteman, M. (2000). The gastrointestinal tract: the major site of antioxidant action?. *Free Radical Research*, 33, 819–830.
- Kim, Hyun-Jin, Feng Chen, Changqing Wu, Xi Wang, Hau Yin Chung, and Zhengyu Jin. 2004. Evaluation of Antioxidant Activity of Australian Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*) Oil and Its Components. *J. Agric Food Chem*. Vol 52 p.2849-2854.
- Lestario, Lydia Ninan, Sri Raharjo, Suparmo, Puji Hastuti, Tranggono. 2005. Fractination and Identification of Java Plum Fruits (*Syzygium cumini*) Extract. Kumpulan Makalah Seminar ASEAN Food Conference. Jakarta.
- Markakis, P. 1982. Stability of Anthocyanins in Foods dalam *Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press inc. New York.
- Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52, 673–751.
- Passamonti, S., Vrhovsek, U., Vanzo, A., & Mattivi, F. (2003). The stomach as a site for anthocyanins absorption from food. *FEBS Letters*, 544, 210–213.
- Pokorny J, N. Yanishlieva, M. Gordon., 2001. *Antioxidants in Food*. CRC Press. Boca Raton Boston New York Washington, DC.
- Rice-Evans, C., Miller, N. J., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2, 152–159.
- Revilla, E., 1998. Comparison of Several Procedures Used for The Extraction of

- anthocyanin from Red Grape. *J. Agric Food Chem.*
- Santoso, U. 2006. *Antioksidan*. Sekolah Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Timberlake, C. F., and Bridle, P. 1982. *Distribution of Antocyanins In Food Plants dalam Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press inc. New York.
- Turker, N., dan Erdogdu, F. 2006. Effects of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.) *Journal of Food Engineering* 76, 579–583
- Wrolstad, R. E. 2004. Anthocyanin Pigments—Bioactivity and Coloring Properties. *Journal of Food Science* Vol. 69, Nr. 5, C419–C42
- Yu Gao and Cahoon, G. A. 1998. Cluster Thinning Effects on Fruit Weight, Juice Quality, and Fruit Skin Characteristics in 'Reliance' Grapes. *Fruit Crops: A Summary of Research*.