

ANTHOYCANIN TOTAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF RURUHI (*Syzygium polycephalum* Merr.) FRUITS

Irnawati¹⁾, Wa Ode Sitti Zubaydah¹⁾, Arifah¹⁾

¹⁾Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi Halu Oleo University, Kendari

ABSTRACT

*The aims of the study were to determine the best extraction method and to evaluation of antioxidant activity of the ruruhi (*Syzygium polycephalum* Merr.) fruits extract. Different extraction methods were evaluated for total anthocyanin content of ruruhi fruits. The conventional maceration method and modified maceration method with ethanol acidified with HCl provided better anthocyanin and its stability. The highest levels of the total anthocyanin content that found in the modified maceration method were 5.69 and 1.53 g/L of ruruhi peels and whole ruruhi fruits, respectively. The antioxidant activity was increasing by following the total anthocyanin levels.*

Keywords: *maceration, anthocyanin, antioxidant, ruruhi fruits, *Syzygium polycephalum* Merr.*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode ekstraksi yang cocok untuk buah ruruhi (*Syzygium polycephalum* Merr.) dan menguji aktifitas antioksidannya. Metode ekstraksi yang berbeda digunakan untuk menentukan kandungan antosianin total buah ruruhi. Metode maserasi konvensional dan metode maserasi termodifikasi dengan menggunakan etanol yang asamkan dengan HCl untuk menjaga antosianin dan stabilitasnya. Total antosianin tertinggi didapatkan pada metode maserasi termodifikasi yaitu 5,69 dan 1,53 g/L pada kulit buah ruruhi dan buah utuh ruruhi, secara berturut-turut. Aktifitas antioksidan meningkat seiring dengan peningkatan jumlah antosianin total.

Kata kunci: maserasi, antosianin, antioksidan, buah ruruhi, *Syzygium polycephalum* Merr.

PENDAHULUAN

Buah ruruhi (*Syzygium polycephalum* Merr.) (Gambar 1) adalah buah dari tanaman liar suku jambu-jambuan atau Myrtaceae. Kulit buah ruruhi berwarna merah hingga ungu. Antosianin adalah pigmen yang masuk dalam kelas flavonoid yang berperan dalam munculnya warna merah, biru dan ungu pada banyak bunga dan buah (Lima, et al. 2011). Antosianin berpotensi sebagai pewarna alami (Lee dkk. 2005; Amelia et al. 2013) dan sebagai antioksidan (Lee dkk. 2005).

Antosianin stabil dan memberikan warna cerah pada pH asam dan perlahan-lahan akan kehilangan warna seiring dengan meningkatnya pH, menjadi tak berwarna pada pH berkisar 4 – 5 (Ramos, et al. 2000). Kestabilan warna senyawa antosianin dipengaruhi oleh pH atau tingkat keasaman, dan akan lebih stabil apabila dalam suasana asam atau pH yang rendah (Belitz dan Grosch, 1999). Antosianin ditemukan stabil pada pH 1-3 dan berubah pada pH 5-9 untuk suhu 30°C (Arja dkk. 2013). Stabilitas antosianin dipengaruhi oleh suhu dan pH (Amelia et al. 2013).



Gambar 1. Buah Ruruhi
Antosianin diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan

pelarut metanol yang di asamkan dengan HCl dan dengan asam sitrat hingga pH 1 (Arja, dkk. 2013), Amelia et al. (2013) menggunakan aquades and etanol 70% yang diasamkan dengan HCl 1% dan dengan asam sitrat 3%, Inácio et al. (2013) menggunakan buffer potassium chloride 0,025 M (pH1) dan buffer sodium acetate 0,4 M (pH 4,5).

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan metode ekstraksi yang cocok untuk buah ruruhi (*Syzygium polycephalum* Merr.) dan menguji aktifitas antioksidannya.

METODE PENELITIAN

Preparasi Sampel

Buah ruruhi diperoleh dari Desa Puday Kabupaten Konawe Selatan. Sampel buah dibagi atas bagian kulit buah dan buah secara utuh kecuali biji. Setiap bagian sampel dihaluskan dengan blender.

Ekstraksi

Sampel yang telah dihaluskan, masing-masing diekstraksi dengan kedua metode yang digunakan yaitu metode maserasi konvensional dan metode maserasi termodifikasi (pengadukan stirer). Metode maserasi konvensional dilakukan selama 3x24 jam dan metode maserasi termodifikasi dilakukan 2x1 jam, masing-masing metode menggunakan pelarut etanol yang diasamkan dengan HCl 1%.

Penetapan Antosianin Total

Menurut Suzery dkk., (2010), penetapan kadar antosianin dilakukan dengan menggunakan metode pH differensial. Sebanyak masing-masing 0,05 mL sampel dimasukkan ke dalam 2 buah

tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambah larutan buffer potasium klorida (0,025 M) pH 1 sebanyak 4,95 mL dan tabung reaksi kedua ditambahkan larutan buffer sodium asetat (0,4 M) pH 4,5 sebanyak 4,95 mL. Pengaturan pH dalam pembuatan buffer potasium klorida dan sodium asetat menggunakan HCl pekat. Absorbansi dari kedua perlakuan pH diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm pada masing-masing larutan setelah didiamkan selama 15 menit. Nilai absorbansi sampel ekstrak dihitung dengan menggunakan persamaan:

$$A = [(A_{520} - A_{700})pH1 - (A_{520} - A_{700})pH4.5]$$

Konsentrasi antosianin dihitung sebagai sianidin-3-glikosida menggunakan koefisien ekstingsi molar sebesar 26.900 L cm⁻¹ dan berat molekul sebesar 448,8 g/mol.

$$\text{Konsentrasi antosianin (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{A \times \text{BM} \times \text{FP} \times 1000}{(\epsilon \times 1)}$$

dimana:

- A = absorbansi
- BM = berat molekul (448.8)
- FP = faktor pengenceran (5 mL / 0.05 mL)
- ε = koefisien ekstingsi molar (26 900 L cm⁻¹)

Konsentrasi antosianin selanjutnya dinyatakan dalam mg CyE/g sampel (CyE = sianidin equivalen)

Uji Aktifitas Antioksidan

Metode DPPH merupakan metode pengujian aktifitas antioksidan yang mudah dan cepat (Garcia et al. 2012). Pengukuran peredaman radikal DPPH berdasarkan metode Brand-Williams et al. (1995). Sebanyak 1 mL larutan sampel direaksikan dengan 1 mL DPPH, kemudian ditambahkan lagi 2 mL etanol. Dikocok hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm. Persentase peredaman radikal DPPH dihitung berdasarkan persamaan Ohkawa, et al. (1979)

$$\text{Persen peredaman DPPH (\%)} = \frac{A_{con} - A_{test}}{A_{con}} \times 100 \%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Antosianin

Ekstraksi antosianin sampel buah ruruhi menggunakan metode maserasi konvensional dan metode maserasi termodifikasi. Metode maserasi termodifikasi menghasilkan rendamen ekstrak lebih banyak dibandingkan metode maserasi konvensional, walaupun perbedaannya cukup kecil. Rendamen ekstrak untuk semua sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendamen Ekstrak

Sampel	% Rendemen Ekstrak (b/b)	
	Maserasi Konvensional	Maserasi Dengan Pengadukan
Kulit Buah	5,05	5,46
Buah utuh	5,31	5,61

Kadar Antosianin Total Buah Ruruhi

Penetapan kadar antosianin total buah ruruhi dilakukan menggunakan metode pH differensial dengan alat spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 520 dan 700. Panjang gelombang 520 nm merupakan panjang gelombang maksimum dari sianidin-3-glukosida, sedangkan panjang gelombang 700 nm untuk mengoreksi sampel. Jika sampel benar-benar jernih maka

absorbansi pada panjang gelombang 700 nm adalah 0. Penggunaan panjang gelombang sianidin-3-glukosida sebagai acuan karena sianidin-3-glukosida merupakan jenis antosianin yang jumlahnya paling melimpah di alam.

Berdasarkan hasil pengukuran kadar antosianin total masing-masing sampel maka didapatkan hasil seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar Antosianin Total Masing-masing Sampel

Sampel	Kadar Antosianin Total Sampel	
	Maserasi Konvensional (g/L)	Maserasi Dengan Pengadukan (g/L)
Kulit Buah	0,87	5,69
Buah utuh	0,84	1,53

Berdasarkan data Tabel 2, kadar antosianin pada kulit buah lebih tinggi dari pada buah utuh, hal ini disebabkan karena pigmen warna banyak terdapat pada kulit buah. Daging buah ruruhi berwarna putih, kecuali pada daerah dekat kulit yang berwarna agak kemerahan akibat pengaruh dari kulit buah, sehingga kadar antosianin pada buah utuh lebih rendah jika dibandingkan dengan kulit buah.

Berdasarkan metode ekstraksi yang digunakan, kadar antosianin yang diperoleh juga berbeda. Kadar antosianin sampel dengan metode maserasi termodifikasi lebih tinggi dibanding metode maserasi konvensional. Metode maserasi termodifikasi memakan waktu yang lebih singkat dibandingkan metode maserasi konvensional. Menurut Harborne (2005), degradasi antosianin salah satunya terjadi selama ekstraksi. Stabilitas antosianin dipengaruhi oleh pH, suhu, cahaya dan oksigen, sehingga dengan

proses ekstraksi yang lebih singkat dapat meminimalkan proses degradasi antosianin akibat faktor-faktor tersebut. Selain itu, pengadukan yang terus menerus pada metode maserasi termodifikasi dapat menambah efektifitas dari proses ekstraksi, dibandingkan dengan proses maserasi konvensional yang hanya diaduk sesekali.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Ruruhi

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Metode uji antioksidan dengan DPPH (*2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazil*) dipilih karena metode ini adalah metode yang sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron (Molyneux, 2004). Pengukuran

terhadap radikal DPPH dilakukan berdasarkan metode Brand-Williams et al. (1995)

Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan jika mampu mendonorkan elektronnya sehingga membuat DPPH menjadi stabil. Peristiwa tersebut menyebabkan penurunan intensitas warna DPPH dari warna ungu menjadi kuning, hal ini menandakan bahwa sifat DPPH sebagai radikal bebas menurun atau bahkan hilang. Pada pengukuran dengan spektrofotometer Tabel 3. Kadar antosianin total dan aktivitas antioksidan sampel

Sampel		Antosianin Total (g/L)	IC ₅₀ (mg/L)
Kulit buah	Maserasi konvensional	0,87	7,92
	Maserasi dengan pengadukan	5,69	2,89
Buah Utuh	Maserasi konvensional	0,84	31,59
	Maserasi dengan pengadukan	1,53	8,27

Berdasarkan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel buah ruruhi diketahui bahwa buah ruruhi memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Molyneux (2004), menyatakan bahwa suatu zat memiliki sifat antioksidan sangat kuat apabila memiliki nilai IC₅₀ di bawah 50 ppm. Sampel kulit buah yang diekstraksi dengan pengadukan memiliki kadar antosianin total tertinggi juga menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi. Dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa aktifitas antioksidan

visibel nilai absorbansi yang terbaca adalah nilai warna ungu DPPH yang tersisa. Menurut Molyneux (2004), penurunan warna DPPH ini juga diikuti oleh penurunan absorbansi DPPH sehingga aktivitas antioksidan penangkal radikal dapat diketahui dengan menghitung rasio penurunan absorbansi DPPH. Makin kuat suatu senyawa antioksidan yang ada dalam senyawa uji dapat menyebabkan warna DPPH makin memudar. Hasil pengukuran aktifitas antioksidan sampel dapat dilihat pada Tabel 3. sampel meningkat seiring dengan peningkatan kadar antosianin total.

Pigmen antosianin merupakan salah satu polifenol yang masuk kelas flavonoid yang banyak terdapat dalam buah. Antosianin merupakan pigmen yang memberikan warna merah, biru dan ungu pada buah dan bunga (Lima et al., 2008). Aktivitas antioksidan blueberry berkorelasi dekat dengan kandungan fenolat (Gil dkk., 2002). Heim et al. (2002), menyatakan bahwa senyawa fenol memegang peran dalam aktifitas antioksidan buah, dimana kulit buah menunjukkan aktifitas antioksidan yang tinggi dan memiliki senyawa fenol yang tinggi.

KESIMPULAN

1. Metode maserasi termodifikasi merupakan metode yang baik untuk ekstraksi antosianin buah ruruhi dengan kadar antosianin total sebesar 5,69 g/L (kulit buah), dan 1,53 g/L (buah keseluruhan).
2. Buah ruruhi memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.
3. Aktifitas antioksidan meningkat seiring dengan peningkatan kadar antosianin total buah ruruhi

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kemristek-Dikti yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amelia, F., Galih, N.A., Arini, M., Alia N.F., Sisca U. and Mimiek M., 2013, Extraction and Stability Test of Anthocyanin from Buni Fruits (*Antidesma Bunius* L) as an Alternatsive Natural and Safe Food Colorants, *J.Food Pharm.Sci.* 1:49-53
- Arja, S.F., Djaswir D. dan Adlis S., 2013. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Antioksidan Senyawa Antosianin dari Bauh Sikaduduk (*Melastoma malabathricum* L.) Serta Aplikasi Sebagai Pewarna Alami, *Jurnal Kimia Unand* (ISSN No. 2303-3401), Volume 2 Nomor 1
- Belitz, H. D dan Grosch, W., 1999, *Food Chemistry*, 2nd Edition. Germany, Springer.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C., 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebenson Wiss Technol* 28:25-30.
- Garcia, E.J., Tatiane, L.C.O., Severino, M. D.A., Alessandra, R., Alessandro D. L. And Rosa, H.M.G., 2012. Antioxidant Activity by DPPH Assay of Potential Solutions to be Applied on Bleached Teeth, *Braz Dent J* 23(1): 22-27
- Gil, M.I, Tomás-Barberán, F.A, Hess-Pierce B., and Kader A.A. 2002. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J Agric Food Chem.* Aug 14;50(17):4976-82
- Harborne, J. B., 2005, *Encyclopedia of Food and Colour Additive*, New York CRC Press Inc.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. dan Bobilya, D. J. 2002 Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and struture activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, Stonelam, v. 13, n. 9, p. 572-584
- Inácioa, C.R.M., Kássio M.G.de L., Valquiria, G.L., José, D.C.P. and Gustavo, H. de A. T., 2013, Total anthocyanin content determination in intact açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and palmitero-juçara (*Euterpe edulis* Mart.) fruit using near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate calibration, *Food Chemistry* 136:1160–1164
- Lee, J., Durst, R.W. dan Wrolstad, R.E. 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content Of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method. Collaborative study. *Journal of Association of Offriial Analytical Chemists International* 88(5): 1269-1278
- Lima, A. J. B, Correa, A. D, Alves, A. P.C, Abreu, C. M. P, Dantas-

- Barros, A. M. 2008. Caracterização química do fruto jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de suas frações. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Caracas, v. 58, n.4, p.416-421
- Lima, B. J. De A., Angelita D.C., ADELIR A.S., Mariana, P.M., RACHEL, and Oliveira C., 2011. Anthocyanins, Pigment Stability and Antioxidant Activity in Jaboticaba [*Myrciaria cauliflora*(Mart.) O. Berg]. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP*, v. 33, n. 3, p. 877-887
- Molyneux, P. 2004. The Use The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J. Science Technology* 26 (2):201-209
- Ohkawa, H., Ohisini, N., Yagi K., Assay lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 353-358.
- Ramos, L.vA., Lupetti, K.vO., Carvalho, E.T., and Fatibello-Filho, O., 2000, Utilização do extrato bruto de frutos de *Solanum nigrum* L. no ensino de química. *Eclética Química*, 25:110-120.
- Suzery, M., Lestari, S., dan Cahyono, B., 2010, Penentuan Total Antosianin dari Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L) Dengan Metode Maserasi Dan Sokshletasi, *Jurnal Sains dan Matematika*, 18(1) : 1-6