

# Aktivitas Antioksidan dan Sifat Kestabilan Warna Campuran Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.)

MIKSUSANTI, ELFITA, DAN HOTDELINA S.

Jurusan Kimia, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia

**INTISARI:** Aktivitas antioksidan dari ekstrak etil asetat kulit buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta kombinasinya telah dipelajari dengan metode 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Campuran warna terbaik adalah perbandingan 1:2 ( $M_1 : S_2$ ) dan telah dilakukan uji stabilitas ekstrak warnanya terhadap pengaruh pH, stabilitas terhadap oksidator, sinar UV, waktu dan suhu pemanasan, serta suhu selama penyimpanan dengan mengukur absorbansinya pada  $\lambda_{max}$  440 nm. Hasil pengujian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit buah Manggis lebih aktif dibandingkan dengan ekstrak etil asetat kayu Secang dengan  $IC_{50}$  14,1882 ppm. Ekstrak etil asetat kulit buah Manggis ini hampir sebanding dengan standar antioksidan asam askorbat yang memberikan  $IC_{50}$  15,3769 ppm. Kombinasi terbaik campuran ekstrak etil asetat kayu Secang dan kulit buah Manggis yang memberikan aktivitas antioksidan tertinggi dengan persen inhibisi sebesar 96% dan  $IC_{50}$  terendah 17,6791 ppm adalah perbandingan 1:1 ( $M_1:S_1$ ). Semua perlakuan uji kestabilan menyebabkan perubahan warna. Warna campuran berubah dari kuning menjadi kuning pucat dan jingga. Persentase perubahan serapan warna campuran berturut-turut adalah: 26% untuk pengaruh oksidator, 34% untuk pengaruh sinar UV pada botol gelap, 35% untuk pengaruh penyimpanan suhu dingin, 97% untuk pengaruh sinar UV pada botol bening, dan 93% penyimpanan pada suhu kamar. Ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang mengandung warna yang berfungsi sebagai antioksidan yang potensial.

**KATA KUNCI:** antioksidan, DPPH, warna, kulit buah Manggis, kayu Secang

**ABSTRACT:** Antioxidant activity of ethyl acetate extract of Mangosteene husk (*Garcinia mangostana* L.) and Secang wood (*Caesalpinia sappan* L.) and its combination have been studied by 1.1 difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) methode. The best mixture for colour was combination 1:2 ( $M_1 : S_2$ ) and have been tasted for its colour stability. The parameter were influence pH, stability to oksidator, light of UV, time and warm-up temperature, and also temperature of during depository with measuring its absorbance at  $\lambda_{max}$  440 nm. The result indicate that antioxidant activity ethyl acetate extract of Mangosteene husk more active than ethyl acetate extract of Secang wood with  $IC_{50}$  14.1882 ppm. This ethyl acetate extract Mangosteene husk is proportional almost with the standard antioxidant of askorbat acid giving  $IC_{50}$  15.3769 ppm. The best combination mixture ethyl acetate extract of Secang wood and Mangosteene husk is combination 1:1 ( $M_1 : S_2$ ). At this combination radical inhibition was 96% with  $IC_{50}$  17.6791 ppm. All the treatment effect the intensity of colour. The colour change from yellow to orange (dark orange). Percentace of absorbance colour change were 26% for oxidator effect, 34% for UV effect at dark bottle, 35% for cold temperature, 97% for UV effect at transparent bottle, and 93% at room temperature. Ethyl acetate extract of Mangosteen husk and Secang wood contain the pigment which have antioxidant potency.

**KEYWORDS:** antioxidant, DPPH, colour, Mangosteen husk, Secang wood

E-MAIL: ati\_mik@yahoo.com

## 1 PENDAHULUAN

Senyawa antioksidan memiliki peran yang sangat penting bagi kesehatan. Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi resiko terhadap penyakit degeneratif. Antioksidan

adalah zat yang dapat menetralsir radikal bebas sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan mendapat pasangan elektron<sup>[1]</sup>. Penggunaan senyawa antioksidan semakin berkembang, baik untuk makanan maupun untuk pengobatan seiring dengan

bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas<sup>[2]</sup>. Stres oksidatif merupakan keadaan yang tidak seimbang antara jumlah molekul radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh<sup>[3]</sup>. Senyawa antioksidan merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi. Efek antioksidan senyawa fenolik dikarenakan sifat oksidasi yang berperan dalam menetralkan radikal bebas<sup>[4]</sup>.

Warna merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi penerimaan konsumen terhadap suatu produk pangan. Oleh karena itu, banyak produk pangan yang ditambahkan pewarna untuk membuat produk tersebut lebih menarik. Penyalahgunaan pewarna sintetis dapat menyebabkan kanker, stroke, dan penyakit jantung<sup>[5]</sup>. Melihat efek samping yang cukup berbahaya, masyarakat beralih untuk menggunakan pewarna alami yang lebih sehat dan aman.

Kayu Secang merupakan sumber zat warna merah, yang dapat dipakai sebagai bahan pewarna katun, sutera dan minuman. Bagian terdalam kayu Secang (*heartwood*) mengandung warna merah yang disebut *Sappanin*. Kayu Secang juga mengandung *Brazilin*, yaitu senyawa penting penghasil warna merah berasal dari kayu brazil (*Brazilwood*). Ekstrak zat warna yang diperoleh merupakan 20% dari berat bagian dalam kayu kering<sup>[6]</sup>. Hasil uji fitokimia menunjukkan batang bagian luar dan bagian dalam mengandung alkaloid, flavonoid, triterpen, brazilin, tannin, dan glikosida<sup>[7]</sup>. Terdapatnya kandungan flavonoid dan senyawa fenolat lainnya pada kayu secang, mengindikasikan secang berpotensi sebagai antioksidan. Kayu Secang telah lama digunakan sebagai pewarna alami dan obat tradisional sebagai jamu dan minuman yang sangat digemari karena rasanya yang dapat diterima secara organoleptik. Buah Manggis pada umumnya dikonsumsi daging buahnya sedangkan kulitnya yang mencakup  $\frac{2}{4}$  bagian dibuang. Hal ini sangat disayangkan karena peningkatan nilai ekonomis

Buah manggis dapat dilakukan dengan memanfaatkan kulitnya. Penelitian-penelitian fitokimia sebelumnya menyatakan bahwa kulit buah manggis (KBM) merupakan senyawa flavonoid dengan berbagai manfaat. Senyawa-senyawa flavonoid dapat mencegah stroke, menghambat pertumbuhan sel tumor, bersifat antiinflamasi, antiviral, dan memiliki aktivitas antimikroba<sup>[8]</sup>. Kandungan kimia kulit Manggis adalah santon, mangostin, garsinon, flavonoid dan tanin. Menurut hasil penelitian kulit buah Manggis memiliki aktivitas HIV tipe I<sup>[9]</sup>, antibakteri, antioksidan, dan antimetastasis pada kanker usus<sup>[10]</sup>.

Pada penelitian ini akan dilakukan pencampuran warna ekstrak kulit buah Manggis dan kayu Secang. Ekstrak warna dari kulit buah Manggis dan kayu Secang serta campuran keduanya akan dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil). Cam-

puran warna ekstrak etil asetat kulit manggis dan kayu Secang yang optimum aktif antioksidan akan dilakukan uji kestabilan terhadap pH, oksidator, pemanasan, sinar UV dan suhu selama penyimpanan.

## 2 METODE PENELITIAN

### 2.1 Alat dan Bahan

**Alat.** Alat-alat yang digunakan berupa pisau *stainless steel*, *autoclave*, *shaker*, neraca analitik, blender kering, sentrifus, Spektrometer Genesys 20, sudip, batang pengaduk, botol vial gelap, *plastic wrap* (*cling wrap*), seperangkat alat distilasi, *rotary vakum evaporator*, pH-meter, lampu UV, aluminium foil, labu ukur, botol kaca berwarna gelap, mikropipet dan peralatan gelas kimia.

**Bahan yang digunakan.** Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah Manggis dan kayu Secang yang diperoleh dari pasar 16 Ilir Palembang Sumatera Selatan. Bahan-bahan lain yang digunakan adalah aquadest, etil asetat teknis yang sudah didestilasi, Metanol p.a, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, HCl, NaOH, DMSO, DPPH, dan asam askorbat.

### 2.2 Prosedur Kerja

**Persiapan sampel.** Kulit Manggis diambil dari buah Manggis yang sudah matang (5 kg) dipisahkan dari buahnya dengan menggunakan pisau *stainless steel* sehingga diperoleh kulit buahnya saja, lalu dibersihkan, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan pada suhu kamar sampai beratnya konstan. Kulit Manggis yang telah kering di blender kering untuk memperoleh serbuk kulit Manggis.

Kayu Secang yang kering (3 kg) digiling untuk memperoleh serbuk kayu Secang. Serbuk kayu Secang dan kulit Manggis disimpan dalam keadaan kering agar tidak terkena jamur sebelum digunakan selanjutnya.

**Ekstraksi kulit buah Manggis dan kayu Secang.** Serbuk kulit buah Manggis sebanyak 350 gram dimaserasi dengan pelarut etil asetat yang sudah didistilasi. Residu diekstrak lagi sampai filtrat yang tertampung berwarna jernih. Untuk memisahkan filtrat dan residu digunakan sentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 30 menit. Filtrat yang ada ditampung dalam erlenmeyer kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* sampai diperoleh ekstrak pekat etilasetat kulit buah Manggis. Hal yang sama juga dilakukan untuk mendapatkan ekstrak pekat etilasetat kayu Secang.

**Uji aktivitas antioksidan dari kulit buah Manggis dan kayu Secang serta campurannya dengan**

**metode DPPH**<sup>[11]</sup>. Larutan DPPH 0,05 mM disiapkan dalam metanol. Larutan induk ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dibuat dalam dimetil sulfoksida (DMSO) dengan konsentrasi 1000 g/mL. Variasi konsentrasi dibuat dengan pengenceran larutan induk menjadi 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,625 dan 0 g/mL. Kepada 0,2 mL berbagai konsentrasi larutan ditambahkan 3,8 mL larutan DPPH 0,05 mM. Campuran larutan dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda_{maks}$  517 nm. Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit buah Manggis ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan rumus sebagai berikut:

$$\%Inhibisi = \frac{A_k - A_s}{A_k} \times 100$$

$A_k$  = Absorban kontrol

$A_s$  = Absorban sampel

Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kayu Secang ditentukan dengan perlakuan yang sama seperti ekstrak etil asetat kulit buah Manggis. Untuk kontrol positif digunakan antioksidan standar (asam askorbat) dengan perlakuan yang sama seperti ekstrak tunggal. Nilai  $IC_{50}$  (*inhibition concentration*) didefinisikan sebagai konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat oksidasi sebesar 50% atau konsentrasi sampel uji yang dibutuhkan untuk menangkap 50% radikal DPPH. Grafik dibuat dengan konsentrasi sampel uji (ppm) sebagai absis (sumbu x) terhadap % inhibisi sebagai ordinat (sumbu y). Nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi dimana ekstrak dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi liniery  $y = aX + b$ . Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat bila nilai  $IC_{50} < 50$  ppm, kuat bila nilai  $IC_{50}$  bernilai 50-100 ppm, sedang bila nilai  $IC_{50}$  bernilai 100-150 ppm, dan lemah bila nilai  $IC_{50}$  bernilai 151-200 ppm<sup>[12]</sup>.

Untuk menentukan kestabilan paling optimum pada variasi ekstrak etil asetat kulit Manggis dan ekstrak etil asetat kayu Secang, maka dilakukan penggabungan keduanya untuk kemudian dilakukan preparasi pengujian terhadap kombinasinya untuk mengetahui apakah aktivitas antioksidan yang dihasilkan bersifat sinergis (aktivitas antioksidan hasil kombinasi lebih besar dari aktivitas antioksidan dari sampel tunggalnya) atau antagonis (aktivitas antioksidan hasil kombinasi sampel lebih kecil dari aktivitas antioksidan dari sampel tunggalnya). Dibuat campuran ekstrak campuran ekstrak warna kulit Manggis dan kayu Secang dengan perbandingan variasi kombinasi: 1:1 ( $M_1 : S_1$ ), 1:2 ( $M_1 : S_2$ ), 2:1 ( $M_2 : S_1$ ), dengan  $M$  adalah ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan  $S$  adalah ekstrak etil asetat kayu Secang.

Masing-masing kombinasi konsentrasi sampel diuji absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada  $\lambda_{maks}$  517 nm dengan cara yang sama dengan sampel tunggal.

**Uji kestabilan campuran terbaik ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang**<sup>[13]</sup>. Pengujian stabilitas terhadap oksidator, cahaya, suhu pemanasan dan penyimpanan dilakukan pada pH awal ekstrak kulit buah Manggis dan kayu Secang tunggal dan kombinasi keduanya untuk mempertahankan kestabilan warna. Kondisi pH awal dari larutan kombinasi ekstrak kulit buah Manggis dan kayu Secang selanjutnya diukur pada berbagai parameter uji kestabilan.

Pengujian stabilitas ekstrak campuran kulit buah Manggis dan kayu Secang yang terpilih dilakukan dengan melihat karakteristik terhadap beberapa variasi pH, serta mengukur kestabilannya terhadap oksidator, cahaya, suhu pemanasan, dan kondisi penyimpanan (suhu dingin dan suhu ruang). Stabilitas digambarkan dalam persen perubahan warna (%) yang dihitung dengan menggunakan persamaan:  $(B - A)/A \times 100$  % dimana A adalah nilai absorbansi warna sebelum diberi perlakuan dan B adalah nilai absorbansi setelah diberi perlakuan.

- Karakterisasi zat warna campuran ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang pada beberapa variasi pH  
Kombinasi campuran ekstrak kulit buah Manggis dan kayu Secang yang terpilih dilarutkan dalam aquades, dibuat konsentrasi 500 ppm. Untuk melihat variasi pH, maka larutan diatur pHnya menjadi pH 1-8 dengan 1M HCl atau 10% NaOH dan didiamkan selama 30 menit. Spektra UV-visibel larutan zat warna pada setiap nilai pH diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 400 sampai 700 nm untuk melihat pergeseran panjang gelombang maksimum.
- Stabilitas terhadap oksidator  
Kombinasi campuran ekstrak yang terpilih ditambah 0,25 ml  $H_2O_2$  (1%) (volume akhir larutan dijaga tetap 10 ml) dimasukkan ke dalam botol gelap. Hasil campuran komposisi optimum ini diukur absorbansinya dengan spektrofotometer ( $\lambda_{maks}$  dari perlakuan pH pada  $\lambda_{400-700}$ ) pada setiap waktu kontak 0, 3, 6, 9, 12 dan 15 jam. Naik atau turunnya absorbansi menunjukkan terjadinya perubahan warna dan intensitas warna.
- Stabilitas terhadap sinar UV  
Kombinasi campuran ekstrak yang terpilih dimasukkan ke dalam botol gelap dan botol bening kemudian disinari dengan lampu UV 40 watt (intensitas sinar 2500 lux) selama 3 jam/ hari selama 7 hari. Pengukuran absorbansi dilakukan

setiap hari dengan spektrofotometer pada ( $\lambda_{max}$  dari perlakuan pH pada  $\lambda_{400}$ -  $\lambda_{700}$ ). Naik atau turunnya absorbansi menunjukkan terjadinya perubahan warna dan intensitas warna.

- d. Stabilitas terhadap suhu dan lama pemanasan  
Hasil campuran ekstrak yang terpilih dimasukkan ke dalam botol gelap dan diinkubasi pada suhu 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100° C, selama 90 menit. Hasil campuran komposisi optimum ini diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada ( $\lambda_{max}$  dari perlakuan pH pada  $\lambda_{400}$ -  $\lambda_{700}$ ) setiap interval waktu 30 menit. Naik atau turunnya absorbansi menunjukkan terjadinya perubahan warna dan intensitas warna.
- e. Stabilitas terhadap suhu selama penyimpanan  
Kombinasi campuran ekstrak yang terpilih dimasukkan ke dalam botol gelap dan disimpan pada suhu kamar (30°C) dan suhu dingin (100), selama 7 hari. Hasil campuran komposisi optimum ini diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada ( $\lambda_{max}$  dari perlakuan pH pada  $\lambda_{400}$ -  $\lambda_{700}$ ) dengan interval waktu pengamatan setiap hari. Naik atau turunnya absorbansi menunjukkan terjadinya perubahan warna dan intensitas warna.

**Uji organoleptik.** Uji kesukaan ini dibuat untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis terhadap campuran ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang. Uji kesukaan ini dilakukan secara visual terhadap 25 orang panelis. Campuran ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang dengan kombinasi terbaik diberikan ke panelis untuk mengamati warna dan aromanya. Para panelis menuliskan tingkat kesukaan atau ketidaksukaan mereka dengan skala penilaian 1-4, kemudian dihitung persentase terhadap kesukaan sediaan perlakuan masing-masing.

**Analisis Percobaan.** Data hasil percobaan antioksidan dan uji sifat kestabilan warna dianalisis menggunakan sidik ragam pada  $\lambda = 5\%$ . Jika signifikan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada  $\lambda = 5\%$ . Rancangan Percobaan yang digunakan dalam uji kestabilan warna ekstrak campuran terbaik adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari dua faktor dengan tiga kali ulangan. Uji statistika dianalisis berdasarkan program STATISTIKA 6.

### 3 HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Ekstraksi zat warna kulit buah Manggis dan kayu Secang

Serbuk kering kulit buah Manggis (350 g) telah diekstraksi dengan etil asetat dan setelah dipekatkan de-

ngan *rotary evaporator* didapatkan ekstrak etil asetat (25,225 g). Serbuk kering kayu Secang (350 g) telah diekstraksi dengan etil asetat dan setelah dipekatkan dengan *rotary evaporator* didapatkan ekstrak etil asetat (8,633 g). Metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat dimaksudkan untuk menarik senyawa semipolar dari kulit buah Manggis dan kayu Secang. Selanjutnya ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang dilakukan pengujian aktivitas antioksidan tunggal dan campuran keduanya dengan 3 variasi perbandingan.

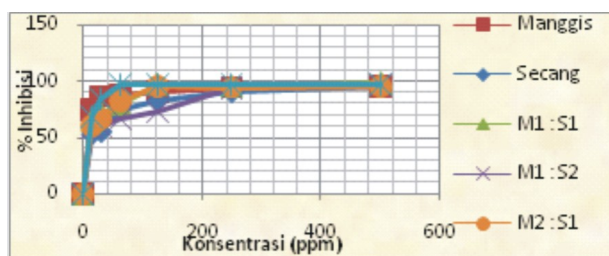
#### 3.2 Analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH<sup>[11]</sup>

Uji antioksidan dilakukan di ruang gelap dan menggunakan peralatan gelap, dikarenakan DPPH (1,1 difenil-2- pikrilhidrazil) sangat peka terhadap cahaya. Metode DPPH menggunakan 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil sebagai sumber radikal bebas. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan. Mekanisme reaksi dari senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak etil asetat kulit buah manggis dan ekstrak kayu secang terhadap radikal DPPH merupakan reaksi reduksi yang menunjukkan aktivitas antiradikal. Aktivitas ini dapat diamati berdasarkan penurunan absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Apabila DPPH direduksi maka ditunjukkan dengan penurunan warna keunguan menjadi warna kuning karena adanya aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah Manggis dan kayu Secang. Donasi proton menyebabkan radikal DPPH (berwarna ungu) menjadi senyawa non-radikal. Senyawa non-radikal DPPH tersebut tidak berwarna. Dengan demikian aktivitas penangkapan radikal dapat dihitung dari peluruhan radikal DPPH. Kadar radikal DPPH tersisa diukur secara spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm<sup>[11]</sup>. Ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang dapat mereduksi warna ungu dari DPPH menjadi warna kuning dan tidak berwarna. Hasil penelitian menunjukkan warna tereduksi hingga konsentrasi terkecil yaitu, 15,625 ppm.

Dari analisis yang telah dilakukan, diperoleh persen inhibisi radikal bebas oleh ekstrak etil asetat kulit buah Manggis lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat kayu Secang dan hampir setara dengan reduksi asam askorbat. Adapun menurut Nurkamari dan Purnomo (1979)<sup>[13]</sup>, dikatakan bahwa kulit buah Manggis mempunyai daya reduksi sebanding dengan daya reduksi asam askorbat. Pada konsentrasi 15,625 ppm persen inhibisi ketiga sampel uji mengalami penurunan, dan yang paling rendah adalah kayu Secang hanya sebesar 53%<sup>[14]</sup>. Dengan bertambahnya konsentrasi akan meningkatkan persen inhibisi. Analisis IC<sub>50</sub> dihitung berdasarkan persamaan regresi lin-

ier yang didapatkan dengan cara memplot konsentrasi larutan uji dengan persen inhibisi DPPH sebagai parameter aktivitas antioksidan, dimana konsentrasi larutan uji (ppm) sebagai absis, dan persen inhibisi sebagai ordinat. Hasil persamaan regresi linier untuk ekstrak etil asetat kulit Manggis adalah  $y = 2,784X + 10,5$ , untuk kayu Secang adalah  $y = 1,76X + 8,5$ . Sedangkan untuk kombinasi perbandingan variasi campuran ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang yaitu, untuk perbandingan  $M_1 : S_1$  adalah  $y = 2,272X + 9,833$ , untuk perbandingan  $M_1 : S_2$  adalah  $y = 1,92X + 9,333$ , pada perbandingan  $M_2 : S_1$  adalah  $y = 2,144X + 19,0454$ , dan pada asam askorbat adalah  $y = 2,688X + 8,6667$ .

Berdasarkan nilai  $IC_{50}$ , ternyata ekstrak etil asetat kulit buah Manggis memberikan persen inhibisi terbesar diantara keenam jenis sampel yang diuji, yaitu 14,1882 ppm, lebih aktif dibandingkan dengan asam askorbat dengan nilai  $IC_{50}$  15,3769 ppm. Hal ini menunjukkan kemampuan ekstrak etil asetat kulit buah Manggis untuk meredam radikal bebas sangat kuat. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak etil asetat kayu Secang lebih besar dibanding ekstrak etil asetat kulit buah manggis, dengan nilai sebesar 23,5795 ppm menunjukkan nilai aktivitas antioksidannya lebih rendah dari ekstrak etil asetat kulit buah Manggis. Untuk melihat pengaruh pencampuran kedua ekstrak ini juga telah dilakukan uji antioksidan terhadap pencampuran kedua ekstrak ini.



GAMBAR 1: Hubungan konsentrasi dengan % inhibisi dengan metode DPPH

Hasil uji sidik ragam menunjukkan  $F_{hitung} > F_{tabel}$  berarti menunjukkan bahwa konsentrasi yang diuji coba pada ekstrak etil asetat kulit buah Manggis menunjukkan perbedaan yang signifikan antar konsentrasi. Konsentrasi 15,625 ppm memiliki kemampuan meredam radikal bebas sebesar 75%, dan konsentrasi 500 ppm mampu meredam radikal bebas sebesar 96%. Begitu juga dengan hasil uji sidik ragam yang diujicoba pada ekstrak etil asetat kayu Secang juga menunjukkan perbedaan yang signifikan antar konsentrasi. Konsentrasi 15,625 ppm hanya mampu meredam radikal bebas sebesar 53%, dan konsentrasi 500 ppm mampu meredam radikal bebas sebesar 95%.

Berdasarkan perhitungan sidik ragam terdapat

persen inhibisi  $M_1 : S_1$  tidak memberi perbedaan yang nyata setiap perlakuannya, besarnya konsentrasi tidak mempengaruhi persen inhibisi radikal bebas. Konsentrasi 15,625 ppm pada perbandingan,  $M_1 : S_2$  dan perbandingan 2:1  $M_2 : S_1$  memberi perbedaan yang nyata, ( $p < 0,05$ ) dimana konsentrasi mempengaruhi besarnya kemampuan dalam meredam radikal bebas. Aktivitas antioksidan yang paling rendah dibandingkan yang lainnya adalah kombinasi  $M_1 : S_2$ , hal ini dikarenakan secang dalam keadaan tunggal memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibanding yang lainnya.

Senyawa-senyawa yang memungkinkan mendonasikan protonnya memiliki aktivitas penangkapan radikal cukup kuat. Senyawa tersebut adalah golongan fenol, flavonoid, tanin, senyawa yang memiliki banyak gugus sulfida, dan alkaloid. Pada konsentrasi 125 ppm hingga 500 ppm, persen inhibisi asam askorbat sebagai kontrol positif, masing-masing ekstrak tunggal dan campuran ekstrak menunjukkan kemampuan meredam radikal bebas hampir sama. Kemampuan antioksidatif ini dikarenakan kulit manggis dan Secang memiliki gugus fenol. Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam organik polifungsional.

Adapun aktivitas antioksidan setelah pencampuran menurut perbandingan tertentu dari kedua ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang, ternyata tidak menunjukkan kemampuan meredam radikal bebas yang jauh lebih tinggi dari kemampuan ekstrak etil asetat kulit buah Manggis. Efek pencampuran yang terjadi hanya mampu meningkatkan aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kayu Secang, dimana nilai  $IC_{50}$  dari ketiga perbandingan lebih rendah dari nilai  $IC_{50}$  ekstrak etil asetat kayu Secang, tetapi ketiga perbandingan menunjukkan sifat antioksidan yang masih kuat, dimana nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan lebih kecil dari 50 ppm. Perbandingan  $M_1 : S_1$  memberikan nilai  $IC_{50}$  sebesar 17,6791 ppm. Nilai ini merupakan nilai terendah diantara ketiga perbandingan yang ada, sehingga  $M_1 : S_1$  merupakan kombinasi warna campuran ekstrak yang memiliki sifat antioksidan yang lebih tinggi.

Hasil ketiga kombinasi campuran ekstrak kulit buah Manggis dan kayu Secang memberikan tingkat kecerahan warna yang berbeda. Tabel 1 menunjukkan persentase kesukaan panelis terhadap aroma dan warna dari ekstrak tunggal maupun variasi kombinasi warna yang dihasilkan. Campuran warna ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang  $M_1 : S_1$  merupakan campuran terbaik dalam meredam radikal bebas, tetapi tidak ditindaklanjuti untuk melihat sifat kestabilannya, karena secara uji organoleptik aroma dan warnanya kurang disukai oleh panelis. Campuran ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu

TABEL 1: Persentase (%) kesukaan dari 25 orang panelis terhadap ekstrak tunggal dan kombinasinya

Skala Penilaian	Secang		Manggis		1:1 ( $M_1:S_1$ )		1:2 ( $M_1:S_2$ )		2:1( $M_2:S_1$ )	
	A	W	A	W	A	W	A	W	A	W
1	-	-	8	8	-	4	-	-	12	-
2	28	24	84	56	28	60	28	8	68	64
3	72	36	8	36	68	36	68	76	20	32
4	-	40	-	-	4	-	4	16	-	4

Secang perbandingan  $M_1 : S_2$  ditindaklanjuti untuk melihat sifat kestabilan warnanya terhadap pengaruh pH, oksidator  $H_2O_2$  1 %, sinar UV, waktu dan suhu pemanasan, serta suhu selama penyimpanan, karena secara uji organoleptik, warna dan aroma campuran ekstrak pada perbandingan  $M_1 : S_2$  lebih disukai.

### 3.3 Uji kestabilan campuran terbaik ekstrak etil asetat kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dan kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*)<sup>[13]</sup>

**Karakterisasi warna ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang pada beberapa variasi pH.** Intensitas warna ekstrak etil asetat campuran terbaik ( $M_1 : S_2$ ) diukur menggunakan spektrofotometer. Pemilihan deretan nilai pH 1-8 dimaksudkan untuk melihat perubahan warna campuran ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang pada pH asam, netral dan basa. Pengaruh pH terhadap intensitas warna terlihat dari peningkatan dan penurunan nilai absorbansi pada panjang gelombang 400-650 nm. Nilai pH awal dari ekstrak etil asetat kulit Manggis adalah sekitar 4,27, sedangkan untuk ekstrak etil asetat kayu Secang adalah sekitar 4,53, dan setelah dicampurkan keduanya didapat nilai pH sekitar 4,37. Pencarian panjang gelombang maksimum dilakukan masing-masing terhadap ekstrak tunggal dan  $M_1 : S_2$  antara panjang gelombang 400-650 nm. Ekstrak etil asetat warna kulit buah Manggis didapat panjang gelombang maksimum pada 400 nm, sedangkan untuk ekstrak etil asetat warna kayu Secang pada 440 nm, dan  $M_1 : S_2$  pada 440 nm. Hasil kombinasi  $M_1 : S_2$  diduga mengandung senyawa flavonoid jenis antrakuinon. Antrokuinon dalam spektrum sinar tampak berada pada panjang gelombang maksimum antara 420-460 nm<sup>[15]</sup>.

Hasil perlakuan pH pada kombinasi  $M_1 : S_2$  memberikan kontribusi warna masing-masing pada deretan nilai pH 1-8. Visualisasi warna pada pH 1-4 terlihat warna kuning yang masih cerah, hal ini ditunjukkan oleh nilai absorbansi yang lebih rendah dari

nilai pH 5-8. Perlakuan pH juga menyebabkan pergeseran panjang gelombang, setiap pH menun-



GAMBAR 2: Perubahan warna pH 1-8 campuran terbaik ekstrak etil asetat kulit buah manggis dan kayu secang

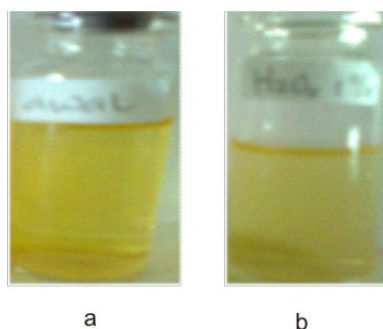
jukkan setiap senyawa yang dominan dalam kontribusi warnanya. Pada pH 1,2,7 dan 8 yang lebih dominan adalah zat warna antosianin dan antosianidin dengan masing-masing panjang gelombang maksimum 520,510, 470, dan 540 nm, di mana menurut<sup>[16]</sup> interval serapan spektrum UV-tampak flavonoid jenis antosianin dan antosianidin berada pada panjang gelombang 465-560 nm. Sedangkan pada pH 3,4,5 dan 6, adalah senyawa flavonoid jenis auron dengan panjang gelombang maksimum antara 400 dan 410 nm. Interval serapan spektrum UV - tampak flavonoid jenis auron berada pada panjang gelombang 380-430 nm<sup>[16]</sup>

Pada analisis selanjutnya tentang stabilitas warna campuran ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang terhadap pengaruh oksidator, sinar UV, suhu pemanasan dan suhu selama penyimpanan dilakukan pada pH awal (4,37). Perlakuan pada pH awal adalah karena hal ini masih dalam tahap uji pendahuluan terhadap uji stabilitas warna campuran ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang, belum ada studi literatur yang menelitinya.

**Stabilitas warna ekstrak campuran terbaik terhadap oksidator.** Keberadaan senyawa oksidator dalam larutan yang mengandung zat warna dapat menstimulasi akumulasi senyawa hasil degradasi zat warna seperti kalkon dan turunannya yang tidak berwarna. Hal tersebut dapat menyebabkan adanya penurunan warna kuning selama waktu kontak dengan oksidator. Visualisasi perubahan warna campuran ekstrak kulit manggis dan kayu secang akibat pengaruh oksidator dapat dilihat pada Gambar



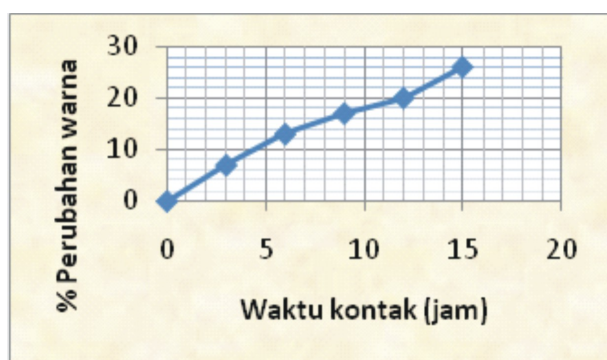
## 3. Hasil visualisasi terhadap intensitas warna pada



GAMBAR 3: Perubahan warna akibat pengaruh oksidator (a) Sebelum penambahan oksidator dan (b) Setelah 15 jam kontak dengan oksidator ( $H_2O_2$  1%)

pH awal akibat pengaruh oksidasi menunjukkan adanya pengurangan intensitas warna kuning larutan setelah 15 jam waktu kontak dengan oksidator. Pengukuran dengan spektrofotometer seperti disajikan pada Gambar 4 memberikan gambaran yang lebih jelas tentang hubungan antara berkurangnya intensitas warna karena pengaruh proses oksidasi.

Pengamatan stabilitas warna campuran ekstrak etil asetat kayu Secang dan kulit buah Manggis  $M_1 : S_2$  karena pengaruh oksidasi oleh senyawa oksidator dalam hal ini  $H_2O_2$  1 %, dilakukan selama 15 jam dengan interval waktu pengamatan 3 jam. Hasil pengamatan menunjukkan semakin meningkatnya waktu kontak  $H_2O_2$  degradasi warna semakin tinggi, ini dapat dilihat dari persen perubahan yang diperoleh (Gambar 4).

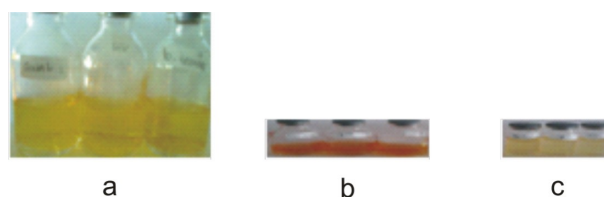


GAMBAR 4: Grafik Perubahan nilai retensi warna ekstrak campuran kombinasi akibat pengaruh oksidasi oleh  $H_2O_2$  1%

Hasil analisa absorbansi dengan spektrofotometri menunjukkan adanya penurunan absorbansi setelah ditambah oksidator  $H_2O_2$  pada pengamatan setelah 15 jam. Kontak dengan oksidator selama 15 jam menyebabkan perubahan warna sebesar 26%. Dari penelitian Lydia S. dkk. (2001), hasil pengamatan intensitas warna dari ekstrak kulit rambut terhadap pe-

ngaruh oksidator memberikan pengaruh yang nyata, hal ini dapat dilihat dari hilangnya absorbansi maksimum pada konsentrasi yang telah disimpan selama 12 jam dan diukur absorbansinya setiap 3 jam. Akibat penambahan oksidator menyebabkan penurunan serapan atau berkurangnya kadar pewarna yang disebabkan akibat penyerangan pada gugus reaktif pada pewarna oleh oksidator, sehingga gugus reaktif yang bersifat memberi warna berubah menjadi tidak memberi warna<sup>[17]</sup>. Berdasarkan uji sidik ragam diketahui bahwa penambahan oksidator berpengaruh nyata terhadap penurunan warna campuran perbandingan kombinasi  $M_1 : S_2$ .

**Stabilitas warna ekstrak campuran terbaik terhadap sinar ultraviolet.** Stabilitas warna karena pengaruh sinar UV, dilakukan dengan menyinari larutan warna campuran ekstrak terbaik selama 3 jam/hari sampai 7 hari. Perlakuan dibedakan dalam botol bening dan botol gelap dan dilakukan pengamatan intensitas warnanya setiap hari. Visualisasi perubahan warna akibat pengaruh sinar UV dapat dilihat pada Gambar 5.

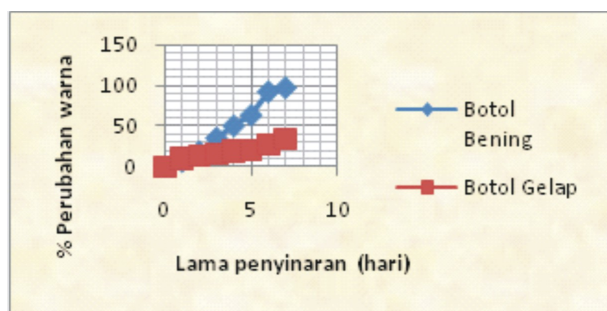


GAMBAR 5: Perubahan warna campuran ekstrak kulit buah manggis dan kayu secang

Hasil visualisasi terhadap intensitas warna campuran ekstrak pada pH awal akibat pengaruh kontak dengan sinar UV menunjukkan bahwa jenis tempat penyimpanan mempengaruhi warna. Pada botol bening (terang) langsung kontak dengan sinar UV menyebabkan terjadinya konjugasi elektron karena adanya energi yang berasal dari sinar ultraviolet sehingga warnanya menjadi merah kecoklatan dan degradasi warna kuning cerah (warna awal) meningkat, dengan berubahnya warna hingga 97%. Sedangkan pada botol gelap warnanya semakin terdegradasi oleh sinar UV ditandai dengan warnanya semakin memucat. Pada botol gelap tidak terjadi penyerapan energi dari sinar UV, sehingga tidak terjadi konjugasi elektron dan warnanya menjadi kuning bening, penurunan intensitas berubah sebesar 34%.

Hasil pengukuran dengan spektrofotometer yang disajikan dalam Gambar 6 memberikan gambaran yang jelas tentang berkurangnya intensitas warna awal (kuning cerah) akibat pengaruh penyinaran sinar UV. Berdasarkan hasil uji sidik ragam  $p < 0,05$  menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara perlakuan

penyinaran sinar UV pada botol gelap maupun pada botol bening dan lama penyinaran sinar UV. Hal ini menunjukkan bahwa sinar UV mempunyai pengaruh yang besar terhadap kestabilan warna.



GAMBAR 6: Grafik hubungan pengaruh penyinaran sinar UV terhadap perubahan warna.

Zat warna memiliki kecenderungan yang kuat mengabsorbir sinar tampak dan energi radiasi sinar menyebabkan reaksi fotokimia pada spektrum tampak dan mengakibatkan perubahan warna<sup>[17]</sup> Faktor utama yang mempengaruhi stabilitas warna adalah pH, temperatur, cahaya dan oksigen. Pada pengamatan terhadap stabilitas warna dari kulit rambutan, adanya sinar matahari menyebabkan degradasi pigmen yang ditunjukkan penurunan absorbansi, dimana secara visual perubahan pigmen semakin bening kemudian warna merah tidak terlihat. Penurunan nilai absorbansi atau pemucatan warna disebabkan karena terjadinya perubahan struktur pigmen zat warna sehingga bentuk aglikon menjadi kalkon (tidak berwarna) dan akhirnya membentuk alfa diketon yang berwarna coklat<sup>[17]</sup>.

**Stabilitas warna ekstrak campuran terbaik terhadap suhu dan lama pemanasan.** Stabilitas warna dipengaruhi oleh temperatur. Peningkatan waktu dan suhu pemanasan dapat menstimulasi akumulasi senyawa hasil degradasi warna seperti kalkon dan turunannya yang tidak berwarna. Suhu dan lama pemanasan berpengaruh nyata terhadap peningkatan degradasi warna awal. Gambar 7 merupakan visualisasi warna ekstrak etil asetat campuran terbaik yang telah dipanaskan selama 90 menit pada suhu 30 sampai 100°C.

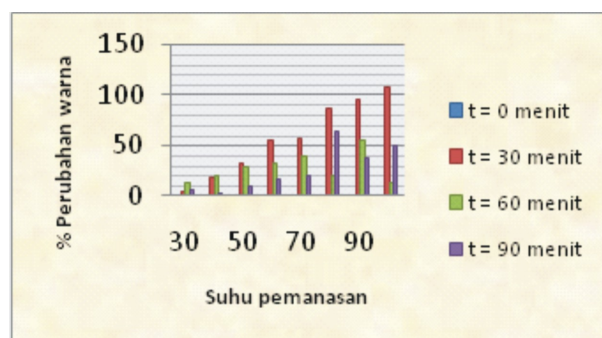
Perubahan warna akibat perubahan temperatur diakibatkan energi yang ditimbulkan oleh suhu pemanasan sehingga terjadi konjugasi elektron menyebabkan perubahan warna kuning jingga menjadi coklat. Pengamatan visual stabilitas warna campuran ekstrak kulit buah Manggis dan kayu Secang  $M_1 : S_2$  terhadap pemanasan yang dilakukan pada suhu 30 sampai 100°C selama 90 menit diperkuat oleh hasil pengukuran dengan spektrofotometer. Hasil pengamatan menunjukkan semakin meningkatnya suhu dan lama



GAMBAR 7: Warna ekstrak campuran terbaik (a) Sebelum pemanasan (b) Setelah 90 menit pemanasan pada suhu 30 sampai 100°C

waktu pemanasan, intensitas warna semakin tinggi dengan berubahnya warna kuning cerah menjadi warna coklat, ini dapat dilihat dari perubahan warna yang diperoleh.

Pemanasan selama 90 menit lebih nyata mengalami degradasi warna kuning cerah menjadi warna coklat. Perlakuan pemanasan 100°C mengalami perubahan warna yang paling tinggi setelah pemanasan selama 90 menit (Gambar 8). Hal ini dapat karena terjadinya hidrolisis cincin pirolium zat warna yang menghasilkan senyawa kalkon, yang bertanggung jawab terhadap terjadinya perubahan warna seperti terbentuknya warna coklat pada makanan yang mengandung zat warna.



GAMBAR 8: Perubahan nilai % perubahan warna berbagai suhu pemanasan

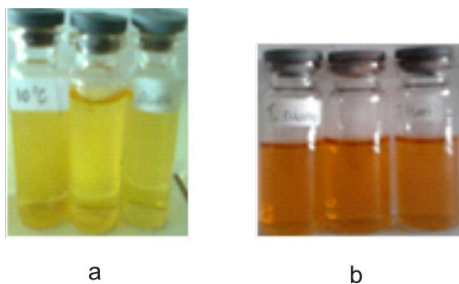
Hasil uji sidik ragam  $p < 0,05$  menunjukkan perbedaan yang signifikan antar perlakuan variasi suhu dan lama pemanasan. Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian<sup>[18]</sup> yang menunjukkan bahwa pemanasan

pada suhu 100°C selama 8 jam secara terus menerus dapat menurunkan stabilitas warna dari katul beras ketan hitam<sup>[18]</sup>. Nilai retensi warna purple corn yang dipanaskan pada suhu 98°C selama 120 menit menjadi 49%. Hal ini menunjukkan stabilitas yang semakin menurun dengan semakin meningkatnya suhu pemanasan<sup>[17]</sup>.

**Stabilitas warna ekstrak campuran terbaik terhadap suhu selama penyimpanan.** Pengamatan terhadap stabilitas warna ekstrak campuran kulit

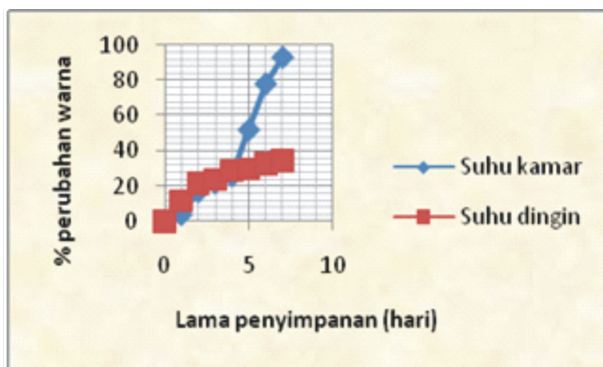


buah Manggis dan kayu Secang pada pH awalnya dilakukan pada suhu ruang ( $30^{\circ}\text{C}$ ), dan suhu refrigerator ( $10^{\circ}\text{C}$ ) selama 7 hari. Setiap hari dilakukan pengamatan terhadap perubahan intensitas warna yang terjadi. Gambar 9 menunjukkan visualisasi warna ekstrak campuran kulit buah Manggis dan kayu Secang pada pH awal yang disimpan pada suhu ruang dan suhu refrigerator (dingin) selama 7 hari.



GAMBAR 9: Perubahan warna ekstrak campuran kulit buah manggis dan secang (a) Sebelum penyimpanan; (b) Suhu ruang dan (c) Suhu refrigerator

Hasil visualisasi terhadap intensitas warna akibat pengaruh penyimpanan menunjukkan adanya pengurangan intensitas warna kuning cerah dengan perbedaan suhu dalam penyimpanan. Pengukuran dengan spektrofotometer seperti yang disajikan pada Gambar 10 memberi gambaran yang lebih jelas tentang hubungan antara berkurangnya warna kuning jingga dengan perbedaan suhu dan lama penyimpanan. Penyimpanan pada suhu ruang terjadi perubahan warna hingga 93%, warnanya berubah dari kuning cerah menjadi warna merah jingga.



GAMBAR 10: Pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap perubahan warna campuran ekstrak kulit buah Manggis dan kayu Secang

Berdasarkan hasil uji sidik ragam pengaruh suhu selama penyimpanan  $p < 0,05$  menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam perlakuan suhu dan lama penyimpanan yang mempengaruhi stabilitas warna campuran terbaik  $M_1 : S_2$ .

## 4 KESIMPULAN DAN SARAN

### 4.1 Kesimpulan

Aktivitas antioksidan ekstrak etil asetat kulit buah Manggis lebih tinggi dibandingkan kayu Secang dan asam askorbat pada konsentrasi terendah (15,625 ppm) dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 14,1882 ppm. Hasil campuran ekstrak optimum aktif antioksidan yaitu perbandingan  $M_1 : S_1$  dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 17,6791 ppm, dan nilai inhibisi DPPH sebesar 97%, tetapi tidak dilanjutkan pada uji kestabilan karena warnanya kurang menarik dan kurang disukai menurut uji organoleptik, sehingga yang diteruskan untuk uji kestabilan sebagai campuran terbaik adalah perbandingan kombinasi  $M_1 : S_2$ . Pengaruh pH, oksidator, sinar UV, waktu dan lama pemanasan, serta suhu penyimpanan menurunkan stabilitas

warna campuran ekstrak etil asetat kulit buah Manggis dan kayu Secang kombinasi  $M_1 : S_2$ , dengan melihat perubahan warna yang terjadi dari masing-masing perlakuan. Ketiga campuran kombinasi  $M_1 : S_1$ ,  $M_1 : S_2$ ,  $M_2 : S_1$  menunjukkan sifat antioksidan yang masih kuat, dimana ketiga campuran tersebut memiliki nilai  $IC_{50}$  lebih kecil dari 50 ppm.

### 4.2 Saran

Perlu dilakukan pengujian sifat antioksidan dari kombinasi campuran warna terbaik yang dipanaskan. Hasil penelitian ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui perubahan molekul yang bagaimana terjadi setelah semua perlakuan yang diamati dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kosasih, dkk. 2004. *Peranan Antioksidan Pada Lanjut Usia*. Jakarta: Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia, hal. 48-49, 56-69 press
- [2] Boer, Y., 2000, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq), *Jurnal Matematika dan IPA 1*, (1) hal 26-33
- [3] Trilaksana, W. 2003. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peran Terhadap Kesehatan*, hal 1-12. Bogor: Institute Pertanian Bogor
- [4] Panovska, T.K., Kulevanova, S., Stefova., 2005, *In Vitro Antioxidant Activity of Some Teucrium Species (Lamiaceae)*, *Acta Pharm*, 55: 207-214
- [5] Ernie A.B. 1986. Zat pewarna makanan dan peraturan pemakaiannya. *Media Teknologi Pangan (2)*. Bogor: Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia
- [6] Lemmens, R.H., (1992), "Dye and Tannin Producing Plants", *Plants Resources of East Asia*, Pudoc DLO, Wageningen Nederland
- [7] Sundari, D., L. Widowati, dan M.W. Winarno. 1998. Informasi khasiat, keamanan dan fitokimia tanaman secang (*Caesalpinia sappan* L.). *Warta Tumbuhan Obat Indonesia* 4(3): 173
- [8] Wrolstad, R. E. 2000. Anthocyanins. *Di dalam*: G. J. Lauro, and F. J. Francis, Editor. *Natural Food Colorants: Science and Technology*. New York: Marcel Dekker

- [9] Chen SX, Wan M, Loh BN., 1996, Active constituents against HIV-1 protease from *Garcinia mangostana*, *Planta Med.*, hal. 62(4):381-2
- [10] Tambunan, R. M., 1998. *Telaah Kandungan dan Aktivitas Antimikroba Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana L.)* [Thesis Magister Farmasi], Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Bandung: ITB. pp 1 dan 40
- [11] Selvi, A.T, Joseph, G.S, and Jayaprakasha, G.K. 2003. Inhibitor of Growth and Aflatoxin Production in *Aspergillus flavus* by *Garcinia indica* Extract and its Antioxidant Activity. *Food Microbiology*. 20:455-460
- [12] Anonim. Online 2005. *Tanaman Obat Indonesia*. <http://www.iptek.go.id>
- [13] Sari Puspita, A Fitriyah, K Mukhamad, Unus, F Mukhamad, L. Triana, 2005. Ekstraksi dan Stabilitas Antosianin dari Kulit Buah Duwet (*Syzigum cumini*). *Jurnal Teknol dan Industri Pangan* Vol XVI No.2 Th 2005
- [14] Setyowati, Nus Asih. 2000. *Pengaruh Perendaman Konsentrasi Larutan kapur Tohor Terhadap Efektifitas Netralisasi Rasa Pahit Pada Produk Jelly Kulit Buah Manggis*. UNNES: Fakultas Teknik
- [15] Harbone, JB. 1996. *Metode Fitokimia*. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Penerjemah Padmawinata, K dan I. Soediro). Bandung: ITB
- [16] Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB
- [17] Lydia S. Wijaya, Simon B. Widjanarko, Tri Susanto. (2001). Ekstraksi dan Karakterisasi Pigmen dari Kulit Buah Rambutan (*Nephelium Lappaceum*). *Var. Binjai Biosain*, Vol. 1 No. 2. Hal. 42-53
- [18] Hanum, T. (2000) Ekstraksi dan Stabilitas Zat Pewarna Alam dari Katul Beras Ketan Hitam (*Oryza sativa glutinosa*). *Buletin Teknologi dan Industri Pangan* XI (1): 17- 23
-