

**EFEKTIVITAS PENGGUNAAN JENIS ASAM DALAM PROSES
EKSTRAKSI PIGMEN ANTOSIANIN KULIT MANGGIS (*Garcinia
mangostana L.*) DENGAN PENAMBAHAN ASETON 60%**

Skripsi

Jurusan/Program Studi Teknologi Hasil Per tanian



Oleh :

Enri Nugraheni Setyaningrum

H 0605010

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2010**

**EFEKTIVITAS PENGGUNAAN JENIS ASAM DALAM PROSES
EKSTRAKSI PIGMEN ANTOSIANIN KULIT MANGGIS (*Garcinia
mangostana L.*) DENGAN PENAMBAHAN ASETON 60%**

yang dipersiapkan dan disusun oleh

Enri Nugraheni Setyaningrum

H 0605010

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal: Juni 2010

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Ketua Anggota I Anggota II

Ir. Basito, M.Si. Godras Jati Manuhar a, S.TP. Ir. MAM. Andriani, MS.
NIP. 195206151983031001 NIP.198103302005011001 NIP. 195005251986092001

Surakarta, Juni 2010

Mengetahui

Universitas Sebelas Maret

Fakultas Pertanian

Dekan

Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS
NIP. 19551217 198203 1 003

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya, sehingga skripsi yang berjudul **“Efektivitas Penggunaan Jenis Asam Dalam Proses Ekstraksi Pigmen Antosianin Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Dengan Penambahan Aseton 60%”** dapat terselesaikan. Penulisan skripsi ini merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi oleh mahasiswa untuk mencapai gelar Sarjana Stratum Satu (S-1) pada program studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Ir. Kawiji, MP selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Ir. Basito, M.Si selaku Pembimbing Utama. Terima kasih atas waktu dan bimbingan dari awal hingga akhir penyusunan skripsi, serta yang selalu sabar memberikan nasehat dan masukan kepada penulis.
4. Godras Jati Manuhara, S.TP selaku Pembimbing Pendamping Skripsi. Terima kasih atas bimbingan, arahan, dan saran yang berharga sehingga terselesaikannya skripsi ini.
5. Ir. MAM. Andriani, MS selaku penguji skripsi yang telah memberikan masukan dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu Dosen serta seluruh staff Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta atas ilmu yang telah diberikan dan bantuannya selama masa perkuliahan penulis.
7. Keluarga tercinta Papa, Mama, d' Ita & d' Ane. Terima kasih atas segala doa, dukungan baik material maupun spiritual, hingga terselesainya penulisan ini.
8. Maz Fendi, terima kasih atas semua doa, motivasi juga bantuan selama penyusunan skripsi.

9. Te Is, tante tercinta. Terima kasih atas semua doa, bantuan, serta dukungan baik materiil dan spiritual, selama penyusunan skripsi ini.
10. Teman-teman “Garcinia in Love”: Ririt, Bayu, Ayu, dan Indie.
11. Teman-teman THP 2005, Ratna, Dita, Niken, Dila, dan Tina. Terima kasih atas segala bantuan dan kerja samanya.
12. Teman-temanku semua di Teknologi Hasil Pertanian 2005, terima kasih atas waktu dan kerjasamanya selama di bangku kuliah. Hidup H0605!!!
13. Semua pihak yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini dan memberi dukungan, doa serta semangat bagi penulis.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis menyadari masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak untuk lebih menyempurnakan isi dari skripsi ini sehingga dapat lebih berguna dan membantu bagi pihak-pihak yang memerlukannya.

Surakarta, Juni 2010

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
RINGKASAN	x
SUMMARY	xi
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka	6
B. Kerangka Berpikir	17
C. Hipotesis	17
BAB III. METODE PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian	18
B. Bahan dan Alat	18
C. Tahapan Penelitian	19
D. Rancangan	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Karakteristik Hasil Ekstraksi	22
1. Kadar Air	22
2. Rendement	23
3. pH	24

4. Intensitas Warna	25
5. Kadar Antosianin	27
6. Kadar Total Fenol	28
7. Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	30
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	32
B. Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kelarutan Beberapa Pelarut Organik dalam Air	13
Tabel 4.1 Hasil Analisa Kadar Air	22
Tabel 4.2 Hasil Analisa Rendemen	23
Tabel 4.3 Hasil Analisa pH	24
Tabel 4.4 Hasil Analisa Intensitas Warna	26
Tabel 4.5 Hasil Analisa Kadar Antosianin	27
Tabel 4.6 Hasil Analisa Total Fenol	29
Tabel 4.7 Hasil Analisa Aktivitas Antioksidan	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Flavylium Antosianin	8
Gambar 2.2. Struktur Aseton.....	14
Gambar 2.3. Kerangka berfikir.....	17
Gambar 3.1 Kulit Buah Manggis.....	18
Gambar 3.2 Proses Ekstraksi Pigmen Antosianin	20

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN	37
A. CARA KERJA	37
B. HASIL ANALISA SPSS	41
C. DOKUMENTASI	46

**EFEKTIVITAS PENGGUNAAN JENIS ASAM DALAM PROSES
EKSTRAKSI PIGMEN ANTOSIANIN KULIT MANGGIS (*Garcinia
mangostana L.*) DENGAN PENAMBAHAN ASETON 60%**

**Enri Nugraheni Setyaningrum
H 0605010**

RINGKASAN

Berkembangnya industri pengolahan pangan dan terbatasnya jumlah dan mutu zat pewarna alami menyebabkan penggunaan zat warna sintetis meningkat. Sejak ditemukannya zat pewarna sintetis penggunaan pigmen sebagai zat warna alami semakin menurun, meskipun keberadaannya tidak menghilang sama sekali. Oleh karena itu penggunaan pewarna alami perlu ditingkatkan kembali, salah satunya dengan memanfaatkan kulit manggis.

Selama ini belum banyak diteliti tentang penggunaan jenis pelarut dengan penambahan berbagai jenis asam pada kulit manggis. Sehingga pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi pigmen kulit manggis menggunakan pelarut aseton 60% dengan variasi asam HCl 1%, asam sitrat 3% dan asam asetat 3%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan jenis asam (HCl, asam sitrat dan asam asetat) yang ditambahkan dalam ekstraksi pigmen kulit buah manggis dengan menggunakan penambahan pelarut aseton 60% terhadap karakteristik pigmen yang dihasilkan yang meliputi rendemen, kadar air, pH, intensitas warna, kadar antosianin, aktivitas antioksidan dan kadar total fenol. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor variasi jenis asam. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA pada tingkat signifikansi 5%. Jika didapat hasil yang berbeda maka dilanjutkan dengan uji DMRT.

Hasil ekstraksi pigmen yang terbaik terdapat pada perlakuan aseton 60% dengan penambahan asam klorida (HCl) 1%. Dengan karakteristik kadar air 21,4855%; rendemen 15,6833%; pH 3,7750; intensitas warna merah 38,7000; intensitas warna kuning 9,7500; intensitas warna biru 11,7875; antosianin 0,1505 mg/100 gram; total fenol 7,1941% ekuivalen GAE dan aktivitas antioksidan 74,3627%. HCl merupakan asam kuat yang lebih efektif mendegradasi dinding sel sehingga lebih memudahkan ekstraksi antosianin.

Kata Kunci: Antosianin, Aseton 60%, Jenis asam, Kulit Manggis

**USAGE EFFECTIVENESS OF ACID TYPE IN PROCESS OF
MANGOSTEEN (*Garcinia mangostana* L.) SKIN ANTHOCYANIN
PIGMENT EXTRACTION WITH ADDITION OF ACETONE 60%**

**Enri Nugraheni Setyaningrum
H 0605010**

SUMMARY

The growth of food processing industry and the limited amounts and quality of natural colorant causes increasing of synthetic dye usage. Since the invention of synthetic colorant, the usage of pigment as natural dye increasingly declines, though its existence doesn't disappear at all. Therefore usage of natural colorant need to be improved again, one of them is by exploiting mangosteen skin.

Till now there is not many researchs about usage of solvent type with addition of various types of acid at mangosteen skin. So at this research will be done extraction of mangosteen skin pigment applies acetone solvent 60% with various acid HCl 1%, citrate acid 3% and acetic acid 3%. This research aim to know influence of acid type usage (HCl, citrate and acetic acid) which added in extraction of mangosteene skin pigment by using addition of acetone solvent 60% to pigment characteristic yielded covering rendement, water content, hydrogen ion exponent, color intensity, anthocyanin rate, antioxidant activity and phenol total rate. Design of experiments applied is Complete Randomized Design (RAL) with one factor various acid type. Data obtained analyzed by using ANOVA at significance level 5%. If gotten a real different result then continued with DMRT test.

The best pigment extraction found in treatment of acetone 60% with addition of chloride acid (HCl) 1%. With characteristic of water content 21,4855%; rendement 15,6833%; hydrogen ion exponent 3,7750; red color intensity 38,7000; yellow color intensity 9,7500; blue color intensity 11,7875; anthocyanin 0,1505 mg/100 gram; phenol total 7,1941% GAE equivalent and antioxidant activity 74,3627%. HCl is strong acid which more effective in degradation of cell wall so that more facilitating anthocyanin extraction.

Keyword: *Anthocyanin, Acetone 60%, Acid type, Mangosteen Skin*

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Berkembangnya industri pengolahan pangan dan terbatasnya jumlah dan mutu zat pewarna alami menyebabkan penggunaan zat warna sintetis meningkat (Garcia dan Cruz Remes, 1993). Sejak ditemukannya zat pewarna sintetis penggunaan pigmen sebagai zat warna alami semakin menurun, meskipun keberadaannya tidak menghilang sama sekali (Winarno, 1992).

Secara umum bahan pewarna yang sering digunakan dalam makanan olahan terbagi atas pewarna sintetis (buatan) dan pewarna natural (alami). Pewarna sintetis pada umumnya terbuat dari bahan-bahan kimia, seperti tartrazin dan sunset yellow untuk warna kuning, allura red, eritrosin, dan amaranth untuk warna merah, serta biru berlian untuk warna biru. Sedangkan untuk pewarna alami misalnya klorofil untuk warna hijau, karotenoid untuk warna kuning-oranye dan antosianin untuk warna merah-ungu (Anonim^a, 2008).

Menurut Jenie et al., (1994), penggunaan pewarna sintetis sebagai pewarna makanan atau minuman dapat berdampak negatif yaitu menyebabkan toksik dan karsinogenik. Oleh karena itu penggunaan pewarna alami perlu ditingkatkan kembali, salah satunya dengan memanfaatkan kulit manggis untuk diolah menghasilkan pewarna alami yang berpotensi menggantikan pewarna sintetis.

Manggis (*Garcinia mangostana L.*) merupakan salah satu komoditas buah tropis primadona ekspor Indonesia, hal ini dapat dilihat dari ekspor buah-buahan di Indonesia didominasi komoditas manggis, yaitu pada tahun 2006 kontribusi ekspor manggis terhadap total ekspor buah-buahan nasional adalah sebesar 37,4% sedangkan kontribusi produksi manggis adalah hanya 0,5% dari total produksi nasional (Anonim^b, 2008).

Berdasarkan data statistik produksi hortikultura, tampak bahwa perkembangan luas panen maupun produksi manggis di Indonesia selama lima tahun menunjukkan keadaan berfluktuasi. Luas panen manggis pada tahun 2002 adalah sebesar 8.051 Ha meningkat menjadi 9.354 Ha pada tahun 2003, lalu turun kembali menjadi 8.473 Ha pada tahun 2004. Selanjutnya pada tahun 2005 meningkat kembali menjadi 9.119 Ha walaupun pada tahun 2006 turun lagi menjadi 8.275 Ha. Demikian juga produksi manggis pada tahun 2002 tercatat sebesar 62.055 ton meningkat menjadi 79.073 ton pada tahun 2003, tetapi pada tahun 2004 mengalami penurunan lagi menjadi 62.117 ton dan meningkat kembali pada tahun 2005 dan tahun 2006 masing-masing menjadi 64.711 ton dan 72.634 ton (Anonim^b, 2008).

Kulit buah manggis mengandung antosianin seperti *cyanidin-3-sophoroside* dan *cyanidin-3-glucoside* yang merupakan antioksidan dan berperan penting pada pewarnaan kulit manggis, selain itu kulit buahnya mengandung senyawa pektin, tanin, dan resin yang dimanfaatkan untuk menyamak kulit dan sebagai zat pewarna hitam untuk makanan dan industri tekstil, sedangkan getah kuning dimanfaatkan sebagai bahan baku cat dan insektisida (Qosim, 2007).

Antosianin merupakan salah satu zat pewarna alami berwarna kemerah-merahan yang larut dalam air dan tersebar luas di dunia tumbuhan. Antosianin tergolong senyawa flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antioksidan alami (Madhavi, 1996 dalam Nuciferani, 2004). Antosianin mampu menghentikan reaksi radikal bebas dengan menyumbangkan hidrogen atau elektron pada radikal bebas dan menstabilkannya. Menurut Francis (1985) dan Markakis (1982) dalam Nuciferani (2004), sifat antosianin sebagai antioksidan dikarenakan terdapatnya dua cincin benzena yang dihubungkan dengan tiga atom C dan dirapatkan oleh satu atom O sehingga terbentuk cincin di antara dua cincin benzena pada antosianin.

Dalam mengekstrak zat warna diperlukan metode yang sesuai dengan sifat bahan (sumber pigmen) agar dihasilkan rendemen dan stabilitas pigmen yang tinggi. Beberapa metode ekstraksi zat warna antosianin dari bahan alami, telah banyak dilaporkan seperti ekstraksi dengan pelarut organik yang diasamkan dengan asam organik (Francis, 1982) dan yang diasamkan dengan asam anorganik (Budiarto, 1991; Chiriboda dan Francis, 1970 dalam Francis, 1987). Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan satu atau lebih komponen dari bahan asalnya dengan tujuan untuk memisahkan komponen yang dikehendaki dari bahan.

Dari penelitian ekstraksi pigmen kulit buah naga merah (*Hylocareus costaricensis*) yang dilakukan oleh Saa ti (2002) dengan menggunakan pelarut yang berupa aquades, aquades yang ditambah dengan asam sitrat, dan etanol yang ditambah dengan menggunakan asam sitrat. Ekstraksi pigmen antosianin kulit buah manggis menggunakan air dengan asam sitrat 5% menghasilkan rendemen sebesar 13,99% (Pareira, 2008). Sedangkan penambahan asam organik pada pelarut aquades untuk menghasilkan total antosianin tertinggi pada ekstraksi pigmen dari buah arben adalah asam tartarat dengan konsentrasi 0,75% (Tensiska, 2006).

Robinson (1995) dalam Tensiska (2006) menyatakan bahwa, ekstraksi senyawa golongan flavonoid dianjurkan dilakukan pada suasana asam, karena asam berfungsi mendenaturasi membran sel tanaman, kemudian melarutkan pigmen antosianin sehingga dapat keluar dari sel, serta dapat mencegah oksidasi flavonoid. Sedangkan asam organik yang sering digunakan untuk ekstraksi pigmen adalah asam klorida, asam sitrat, dan asam asetat.

Dalam penelitian ini akan dilakukan pengekstrakan pigmen antosianin menggunakan pelarut aseton yang dikombinasikan dengan asam sitrat, asam asetat dan asam klorida (HCl). Aseton adalah senyawa berbe ntuk cairan yang tidak berwarna dan mudah te rbakar. Aseton merupakan keton yang paling sederhana. Dalam laboratorium, aseton digunakan sebagai pelarut a portik polar dalam kebanyakan reaksi organik,

seperti reaksi § 2. Oleh karena polaritas aseton yang menengah, maka dapat melarutkan berbagai macam senyawa.

Asam klorida adalah asam kuat. Senyawa ini juga digunakan secara luas dalam industri. Dalam larutan asam klorida, H^+ bergabung dengan molekul air membentuk ion hidronium, H_3O^+ . Asam klorida adalah asam kuat karena berdisosiasi penuh dalam air (Perry, 1984). Asam sitrat merupakan asam organik lemah. Zat ini juga dapat digunakan sebagai zat pembersih yang ramah lingkungan dan sebagai antioksidan (Anonim^b, 2009). Keasaman asam sitrat didapatkan dari tiga gugus karboksil $COOH$ yang dapat melepas proton dalam larutan (Anonim^a, 2010). Asam asetat merupakan salah satu asam karboksilat paling sederhana. Larutan asam asetat dalam air merupakan sebuah asam lemah, artinya hanya terdisosiasi sebagian menjadi ion H^+ dan CH_3COO^- (Anonim^c, 2009).

Setelah diperoleh pigmen antosianin yang berupa pekatan kemudian dilakukan karakterisasi pigmen meliputi rendemen, kadar air, pH, intensitas warna, kadar antosianin, kadar total fenol, dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

B. Perumusan Masalah

Manggis merupakan buah tropis yang banyak tumbuh di Indonesia. Dalam kulit manggis mengandung pigmen antosianin yang dapat digunakan sebagai pewarna alami dan merupakan antioksidan. Beberapa metode ekstraksi zat warna antosianin dari bahan alami telah banyak disebutkan seperti ekstraksi dengan pelarut organik yang diasamkan dengan asam organik dan yang diasamkan dengan asam anorganik. Robinson (1995) dalam Tensiska (2006) menyatakan bahwa, ekstraksi senyawa golongan flavonoid dianjurkan dilakukan pada suasana asam, karena asam berfungsi mendenaturasi membran sel tanaman, kemudian melarutkan pigmen antosianin sehingga dapat keluar dari sel.

Dari uraian latar belakang di atas, dapat dirumuskan masalah yaitu apakah ada pengaruh penggunaan jenis asam (HCl, asam sitrat dan asam asetat) yang ditambahkan dalam ekstraksi pigmen kulit buah manggis dengan menggunakan pelarut aseton 60% terhadap karakteristik pigmen yang dihasilkan yang meliputi rendemen, kadar air, pH, intensitas warna, kadar antosianin, kadar total fenol, dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

C. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan jenis asam (HCl, asam sitrat dan asam asetat) yang ditambahkan dalam ekstraksi pigmen kulit buah manggis dengan menggunakan penambahan pelarut aseton 60% terhadap karakteristik pigmen yang dihasilkan yang meliputi rendemen, kadar air, pH, intensitas warna, kadar antosianin, kadar total fenol, dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Untuk memanfaatkan bagian dari buah manggis (kulit) yang tidak digunakan.
2. Untuk memberikan informasi ilmiah yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu dan teknologi pangan khususnya mengenai karakteristik pigmen kulit manggis dalam ekstraksi penggunaan jenis asam (HCl, asam sitrat dan asam asetat) dengan menggunakan penambahan pelarut aseton 60%.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

Manggis (*Garcinia mangostana L*) merupakan tanaman buah berupa pohon yang berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara yaitu hutan belantara Malaysia atau Indonesia. Dari Asia Tenggara, tanaman ini menyebar ke daerah Amerika Tengah dan daerah tropis lainnya seperti Srilanka, Malagasi, Karibia, Hawaii dan Australia Utara. Di Indonesia, manggis disebut dengan berbagai macam nama lokal seperti manggu (Jawa Barat), manggus (Lampung), manggusto (Sulawesi Utara), dan manggista (Sumatera Barat) (Anonim^b, 2008).

Buah bernama Latin, *Garcinia mangostana L*. ini termasuk Famili *Guttiferae* dan merupakan spesies terbaik dari Genus *Garcinia*. Pada umumnya masyarakat memanfaatkan tanaman manggis karena buahnya yang menyegarkan dan mengandung gula sakarosa, dekstrosa, dan levulosa. Komposisi bagian buah yang dimakan per 100 gram meliputi 79,2 gram air; 0,5 gram protein; 19,8 gram karbohidrat; 0,3 gram serat; 11 mg kalsium; 17 mg fosfor; 0,9 mg besi; 14 IU vitamin A; 66 mg vitamin C; vitamin B (tiamin) 0,09 mg; vitamin B₂(riboflavin) 0,06 mg; dan vitamin B5 (niasin) 0,1 mg (Qosim, 2007).

Sentra produksi manggis terbesar di Indonesia berada di Provinsi Jawa Barat. Tercatat kontribusi produksi manggis di Provinsi Jawa Barat terhadap produksi manggis nasional adalah sebesar 38%. Sebagian besar produksi manggis berasal dari Kabupaten Purwakarta, Subang, Bogor dan Tasikmalaya. Kontribusi produksi manggis dari empat kabupaten tersebut terhadap Provinsi Jawa Barat sebesar 90% dan terhadap produksi nasional sebesar 29%. Melihat begitu besarnya potensi pengembangan kawasan manggis di Provinsi Jawa Barat dalam peningkatan ekspor, oleh karena itu perlu difokuskan pengembangan manggis secara terintegrasi di kawasan Kabupaten Purwakarta, Subang, Bogor, dan Tasikmalaya yang akan digunakan sebagai

pengembangan kawasan laboratorium manggis dan sekaligus sebagai kawasan percontohan (Anonim^b, 2008).

Taksonomi tanaman manggis adalah sebagai berikut:

- Divisio : *Spermatophyta*
- Sub Divisio : *Angiospermae*
- Classis : *Dicotyledoneae*
- Sub Classis : *Archielamidacea*
- Ordo : *Parietales*
- Famile : *Guttiferae*
- Genus : *Garcinia*
- Species : *Garcinia mangostana linn*

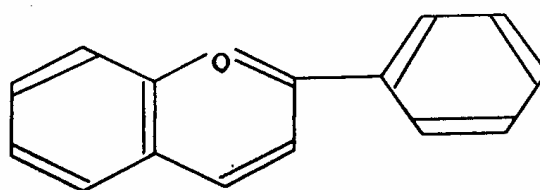
(Juanda dan Cahyono, 2000)

Buah manggis berbentuk bulat dengan kulit tebal, lunak, dan bergetah kuning. Pada waktu masih muda kulit buahnya berwarna hijau, setelah tua berubah menjadi merah tua sampai ungu kehitaman. Daging buahnya tersusun dalam beberapa segmen atau juring, berwarna putih bersih, dan rasanya manis segar sedikit asam. Jumlah juringnya biasanya dapat diperkirakan dari jumlah "celah" yang terdapat pada ujung buah. Biasanya dalam sebutir buah terdiri dari tujuh juring. Bijinya berukuran kecil, berwarna kecoklatan, dan biasanya berjumlah 1-2 biji dalam setiap buah (Anonim^b, 2008).

Kulit buah manggis merupakan bagian buah manggis yang membungkus daging buah. Rasio bagian buah yang dikonsumsi dengan bagian buah yang dibuang, lebih tinggi bagian buah yang dibuang, dalam hal ini yaitu kulit buahnya yang mencapai $\frac{2}{3}$ bagian buah atau 66,6%. Menurut Pareira (2008), kulit buah manggis mengandung dua senyawa alkaloid, serta lateks kering manggis mengandung sejumlah pigmen yang berasal dari dua metabolit, yaitu mangostin dan -mangostin yang jika diekstraksi dapat menghasilkan bahan pewarna alami berupa antosianin yang menghasilkan warna merah, ungu dan biru. Kulit buah mengandung antosianin seperti *cyanidin-3-sophoroside* dan *cyanidin-3-glucoside*. Senyawa tersebut berperan penting pada pewarnaan kulit manggis (Qosim, 2007).

Puryati (2004) menyatakan bahwa, antosianin merupakan sekelompok zat warna yang berwarna kemerah-merahan yang larut dalam air dan tersebar luas di dunia tumbuh-tumbuhan. Zat warna ini banyak diisolasi untuk digunakan dalam beberapa bahan olahan makanan maupun minuman (Tranggono, 1990). Menurut Hutching (1994) dalam Abbas (2003), bahwa pada kondisi asam antosianin akan lebih stabil dibandingkan dengan pada kondisi basa atau netral. Stabilitas antosianin dipengaruhi beberapa faktor antara lain yaitu pH, temperatur, oksigen, dan ion logam (Nollet, 1996). Antosianin ditampakkan pada panjang gelombang absorbansi maksimal spektrum pada 525 nm (Henry, 1996).

Antosianin merupakan salah satu zat pewarna alami berwarna kemerah-merahan yang larut dalam air dan tersebar luas di dunia tumbuh-tumbuhan (Nuciferani, 2004). Antosianin juga tergolong senyawa flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antioksidan alami (Madhavi et al., 1996). Antosianin merupakan pigmen warna paling umum pada tumbuhan tingkat tinggi yang juga memiliki aktivitas antioksidan. Antosianin mampu menghentikan reaksi radikal bebas dengan menyumbangkan hidrogen atau elektron pada radikal bebas dan menstabilkannya (Madhavi et al., 1996). Menurut Francis (1985) dan Markakis (1982), hal tersebut dikarenakan terdapatnya dua cincin benzena yang dihubungkan dengan tiga atom C dan dirapatkan oleh satu atom O sehingga terbentuk cincin di antara dua cincin benzena pada antosianin. Antosianin termasuk flavonoid karena mempunyai karakteristik kerangka karbon $C_6C_3C_6$. Struktur dasar antosianin adalah 2-phenyl-benzopyrylium dari garam flavylum.



Gambar 2.1 Struktur flavylum antosianin

(Sumber: Sofro dkk, 1992)

Zat antioksidan adalah substansi yang dapat menetralkan atau menghancurkan radikal bebas. Radikal bebas merupakan jenis oksigen yang memiliki tingkat reaktif yang tinggi dan secara alami ada di dalam tubuh sebagai hasil dari reaksi biokimia di dalam tubuh. Radikal bebas juga terdapat di lingkungan sekitar kita yang berasal dari polusi udara, asap tembakau, penguapan alkohol yang berlebihan, bahan pengawet dan pupuk, sinar ultraviolet, X-rays, dan ozon. Radikal bebas dapat merusak sel tubuh apabila tubuh kekurangan zat antioksidan atau saat tubuh kelebihan radikal bebas. Hal ini dapat menyebabkan berkembangnya sel kanker, penyakit hati, arthritis, katarak, dan penyakit degeneratif lainnya, bahkan juga mempercepat proses penuaan. Radikal bebas dapat merusak membran sel serta merusak dan merubah DNA. Merubah zat kimia dalam tubuh dapat meningkatkan resiko terkena kanker serta merusak dan menonaktifkan protein (Anonim^a, 2009).

Antioksidan sebenarnya didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tidak reaktif yang relatif stabil. Tetapi mengenai radikal bebas yang berkaitan dengan penyakit, akan lebih sesuai jika antioksidan didefinisikan sebagai senyawa-senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen reaktif (Anonim^a, 2009).

Indigomorie (2009) menyatakan bahwa, antioksidan dapat didefinisikan sebagai suatu zat yang dapat menghambat atau memperlambat proses oksidasi. Oksidasi adalah jenis reaksi kimia yang melibatkan pengikatan oksigen, pelepasan hidrogen, atau pelepasan elektron. Proses oksidasi merupakan peristiwa alami yang terjadi di alam dan dapat terjadi dimana-mana tak terkecuali di dalam tubuh kita. Antioksidan terbagi menjadi antioksidan enzim dan vitamin.

Antioksidan enzim meliputi superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GSH.Prx). Antioksidan vitamin lebih populer sebagai antioksidan dibandingkan enzim. Antioksidan vitamin mencakup alfa tokoferol (vitamin E), betakaroten dan asam askorbat (vitamin C). Di samping penggolongan antioksidan tersebut, ada pula senyawa lain yang dapat

menggantikan vitamin E, yaitu flavonoid. Hal ini dikemukakan oleh Department of Environmental and Molecular Toxicology, Oregon State University. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang terdapat pada teh, buah-buahan, sayuran, anggur, bir dan kecap. Aktivitas antioksidan flavonoid tergantung pada struktur molekulnya terutama gugus prenil $(CH_3)_2C=CH-CH_2$. Dalam penelitian menunjukkan bahwa gugus prenil flavonoid dikembangkan untuk pencegahan atau terapi terhadap penyakit-penyakit yang diasosiasikan dengan radikal bebas (Sofia, 2009).

Antioksidan dibagi dalam dua golongan besar yaitu yang larut dalam air dan larut dalam lemak. Setiap golongan dibagi lagi dalam grup yang lebih kecil. Sebagai contoh adalah antioksidan dari golongan vitamin, yang paling terkenal adalah vitamin C dan vitamin E. Vitamin C banyak kita peroleh pada buah-buahan, sedangkan vitamin E banyak diperoleh dari minyak nabati. Antioksidan dari golongan enzim seperti golongan enzim Superoksida Dismutase (SODs), katalase, dan peroksidase. Golongan antioksidan lain yang terkenal adalah antioksidan dari senyawa polifenol dan yang paling banyak diteliti adalah dari golongan flavonoid yang terdiri dari flavonols, flavones, catechins, flavanones, anthocyanidins, dan isoflavonoids. Sumber senyawa polifenol adalah dari teh, kopi, buah-buahan, minyak zaitun, cinnamon, dan sebagainya. Antosianin termasuk dalam golongan flavonoid dan merupakan zat warna yang larut dalam air (Indigomorie, 2009).

Zat antioksidan dalam tumbuhan dibedakan menjadi flavonoid yang larut dalam air dan karotenoid yang larut dalam lemak. Flavonoid mampu memperbaiki ketidakseimbangan sistem antioksidan dalam tubuh. Diketahui ada lebih dari 4.000 jenis flavonoid, seperti epigallocatekin dalam teh hijau, isoflavon dalam kedelai, dan lain-lain (Tadda, 2006).

Ekstraksi bertingkat merupakan suatu proses pemisahan satu atau lebih komponen dari bahan asalnya yang dilakukan berkali-kali pada suatu bahan dengan tujuan yang sama untuk memisahkan komponen yang dikehendaki dari bahan. Tingkat ekstraksi menunjukkan berapa kali bahan tersebut diekstraksi.

Menurut Anonim^b(2010), beberapa jenis ekstraksi antara lain maserasi, sokhletasi, perkolasi, refluks, destilasi uap air, dan rotavapor, seperti dijelaskan berikut ini:

1. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin.

2. Sokhletasi

Sokhletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun menyari simplisia dalam klongsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa sifon.

3. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian dengan mengalirkan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Keuntungan metode ini adalah tidak memerlukan langkah tambahan yaitu sampel padat (*marc*) telah terpisah dari ekstrak. Kerugiannya adalah kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan pelarut menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien.

4. Refluks

Keuntungan dari metode ini adalah digunakan untuk mengekstraksi sampel-sampel yang mempunyai tekstur kasar dan tahan pemanasan langsung. Sedangkan kerugian metode ini adalah membutuhkan volume total pelarut yang besar dan sejumlah manipulasi dari operator.

5. Destilasi Uap Air

Destilasi uap adalah metode yang populer untuk ekstraksi minyak-minyak menguap (*essensial*) dari sampel tanaman. Metode destilasi uap air

diperuntukkan untuk menyari simplisia yang mengandung minyak menguap atau mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal.

6. Rotavapor

Prinsip proses pemisahan ekstrak dari cairan penyarinya dengan rotavapor yaitu dengan cara pemanasan yang dipercepat oleh putaran dari labu alas bulat, cairan penyari dapat menguap 5-10°C di bawah titik didih pelarutnya disebabkan oleh karena adanya penurunan tekanan. Dengan bantuan pompa vakum, uap larutan penyari akan menguap naik ke kondensor dan mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan pelarut murni yang ditampung dalam labu alas bulat penampung.

Berdasarkan cara-cara ekstraksi tersebut, ternyata proses ekstraksi kebanyakan dilakukan secara mekanis sehingga penyarian secara chemis dirasa belum berkembang. Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dicoba proses ekstraksi secara mekanis yang dikombinasikan dengan cara chemis yaitu menggunakan pelarut aseton 60% dengan menggunakan variasi asam klorida, asam sitrat, dan asam asetat.

Ekstraksi dalam penelitian ini adalah yang menggunakan pelarut, sehingga dapat diartikan sebagai suatu proses pemisahan komponen yang larut dengan komponen yang tidak larut atau komponen yang mempunyai kelarutan kecil. Suyitno (1989) dalam Lestari (2005) menyatakan bahwa, ekstraksi merupakan salah satu cara pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu bahan yang merupakan sumber komponen tersebut. Komponen yang dipisahkan dengan ekstraksi dapat berupa padatan dari suatu sistem campuran cair-cair atau berupa padatan dari suatu sistem padat-padat.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi antosianin adalah waktu ekstraksi, pH dan temperatur ekstraksi. pH larutan ekstraksi berpengaruh terhadap kestabilan warna pigmen. Robinson (1995) dalam Tensiska (2006) menyatakan bahwa, ekstraksi senyawa golongan flavonoid dianjurkan dilakukan pada suasana asam karena asam berfungsi mendenaturasi membran sel tanaman, kemudian melarutkan pigmen

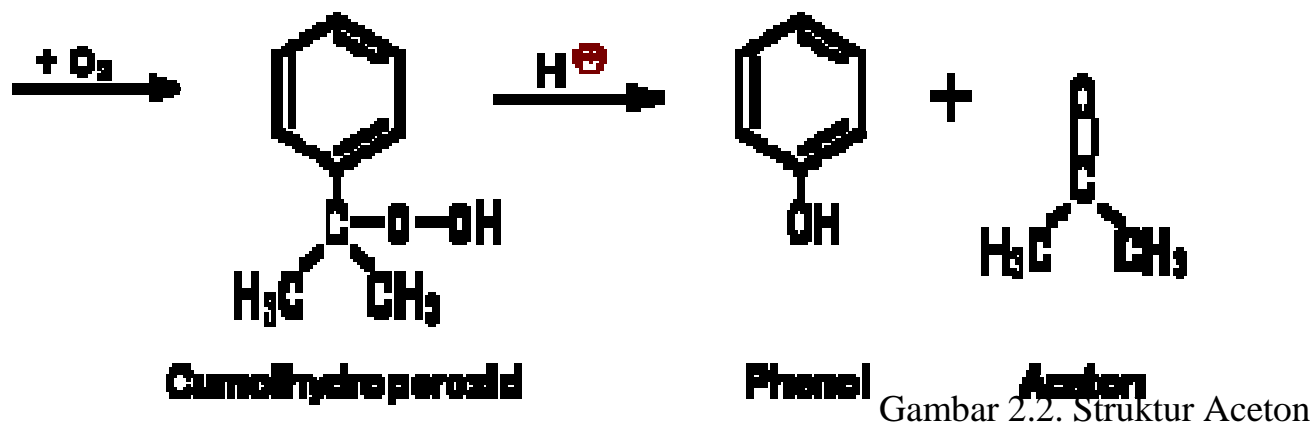
antosianin sehingga dapat keluar dari sel, serta dapat mencegah oksidasi flavonoid. Senyawa golongan flavonoid termasuk senyawa polar dan dapat diekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar pula. Beberapa pelarut yang bersifat polar diantaranya etanol, air dan etil asetat (Widjanarko, 2008).

Tabel 2.1 Kelarutan Beberapa Pelarut Organik dalam Air

Pelarut Organik	*D	Kelarutan dalam air
		Tak Larut Sedikit Larut Missible
Heksan	1,89	+
Petroleum eter	1,90	+
Toluen	2,38	+
Dietil eter	3,34	+
Etil asetat	6,02	+
Asam asetat	6,15	+
Aseton	20,7	+
Etanol	24,3	+
Metanol	33,6	+

Sumber: Sudarmadji dkk, 1989 *D : Konstanta dielektrikum

Aseton yang juga dikenal sebagai propanon, dimetil keton, 2-propanon, propan-2-on, dimetilformaldehida, dan -ketopropana adalah senyawa berbentuk cairan yang tidak berwarna dan mudah terbakar. Aseton merupakan keton yang paling sederhana. Aseton larut dalam berbagai perbandingan dengan air, etanol, dietil eter, dan lain-lain. Aseton sendiri juga merupakan pelarut yang penting. Aseton digunakan untuk membuat plastik, serat, obat-obatan, dan senyawa-senyawa kimia lainnya. Aseton dapat melarutkan berbagai macam plastik, meliputi botol Nalgene yang dibuat dari polistirena, polikarbonat, dan beberapa jenis poliprolilena. Dalam laboratorium, aseton digunakan sebagai pelarut aprotik polar dalam kebanyakan reaksi organik, seperti reaksi S_N2 . Penggunaan pelarut aseton juga berperan penting pada oksidasi Jones. Oleh karena polaritas aseton yang menengah, maka dapat melarutkan berbagai macam senyawa. Aseton umumnya ditampung dalam botol cuci dan digunakan sebagai untuk membilas peralatan gelas laboratorium (Anonim^b, 2009).



Mengenai bahan-bahan pelarut seperti asam klorida (HCl), asam sitrat, dan asam asetat akan didiskripsikan sebagai berikut:

a. HCl

Asam klorida adalah larutan akuatik dari gas hidrogen klorida. HCl adalah asam kuat dan merupakan komponen utama dalam asam lambung. Senyawa ini juga digunakan secara luas dalam industri. Asam klorida harus ditangani dengan peranti keselamatan yang tepat karena merupakan cairan yang sangat korosif (Anonim^o, 2009). Hidrogen klorida (HCl) adalah asam monoprotik, yang berarti bahwa asam tersebut dapat berdisosiasi melepaskan satu H⁺ hanya sekali. Dalam larutan asam klorida, H⁺ ini bergabung dengan molekul air membentuk ion hidronium, H₃O⁺. Asam klorida adalah asam kuat karena dapat berdisosiasi penuh dalam air (Perry, 1984).

b. Asam Sitrat

Asam sitrat merupakan asam organik lemah yang ditemukan pada daun dan buah tumbuhan Genus *Citrus* (jeruk-jerukan). Senyawa ini merupakan bahan pengawet yang baik dan alami, selain itu juga digunakan sebagai penambah rasa masam pada makanan dan minuman ringan. Dalam biokimia, asam sitrat dikenal sebagai senyawa antara dalam siklus asam sitrat yang penting dalam metabolisme makhluk hidup sehingga ditemukan pada hampir semua makhluk hidup. Zat ini juga dapat digunakan sebagai zat pembersih yang ramah lingkungan dan sebagai antioksidan. Rumus kimia asam sitrat adalah C₆H₈O₇. Struktur asam ini tercermin pada nama

IUPAC-nya, asam 2-hidroksi-1,2,3-propanatrikarboksilat (Anonim^d, 2009). Keasaman asam sitrat didapatkan dari tiga gugus karboksil COOH yang dapat melepas proton dalam larutan. Asam sitrat bersifat seperti asam karboksilat lainnya. Jika dipanaskan di atas 175°C, asam sitrat dapat terurai dengan melepaskan karbondioksida dan air (Anonim^a, 2010).

c. Asam Asetat

Anonim^e (2009) menyatakan bahwa asam asetat, asam etanoat atau asam cuka adalah senyawa kimia asam organik yang dikenal sebagai pemberi rasa asam dan aroma dalam makanan. Asam cuka memiliki rumus empiris $C_2H_4O_2$. Rumus ini seringkali ditulis dalam bentuk CH_3-COOH , CH_3COOH , atau CH_3CO_2H . Asam asetat merupakan nama trivial atau nama dagang dari senyawa ini, dan merupakan nama yang paling dianjurkan oleh IUPAC. Nama ini berasal dari kata Latin yaitu *acetum*, yang berarti cuka. Nama sistematis dari senyawa ini adalah *asam etanoat*. Asam asetat glasial merupakan nama trivial yang merujuk pada asam asetat yang tidak bercampur air (asam asetat murni). Disebut demikian karena asam asetat bebas air merupakan cairan higroskopis tidak berwarna dan membentuk kristal mirip es dengan titik beku pada 16,7°C; sedikit di bawah suhu ruang.

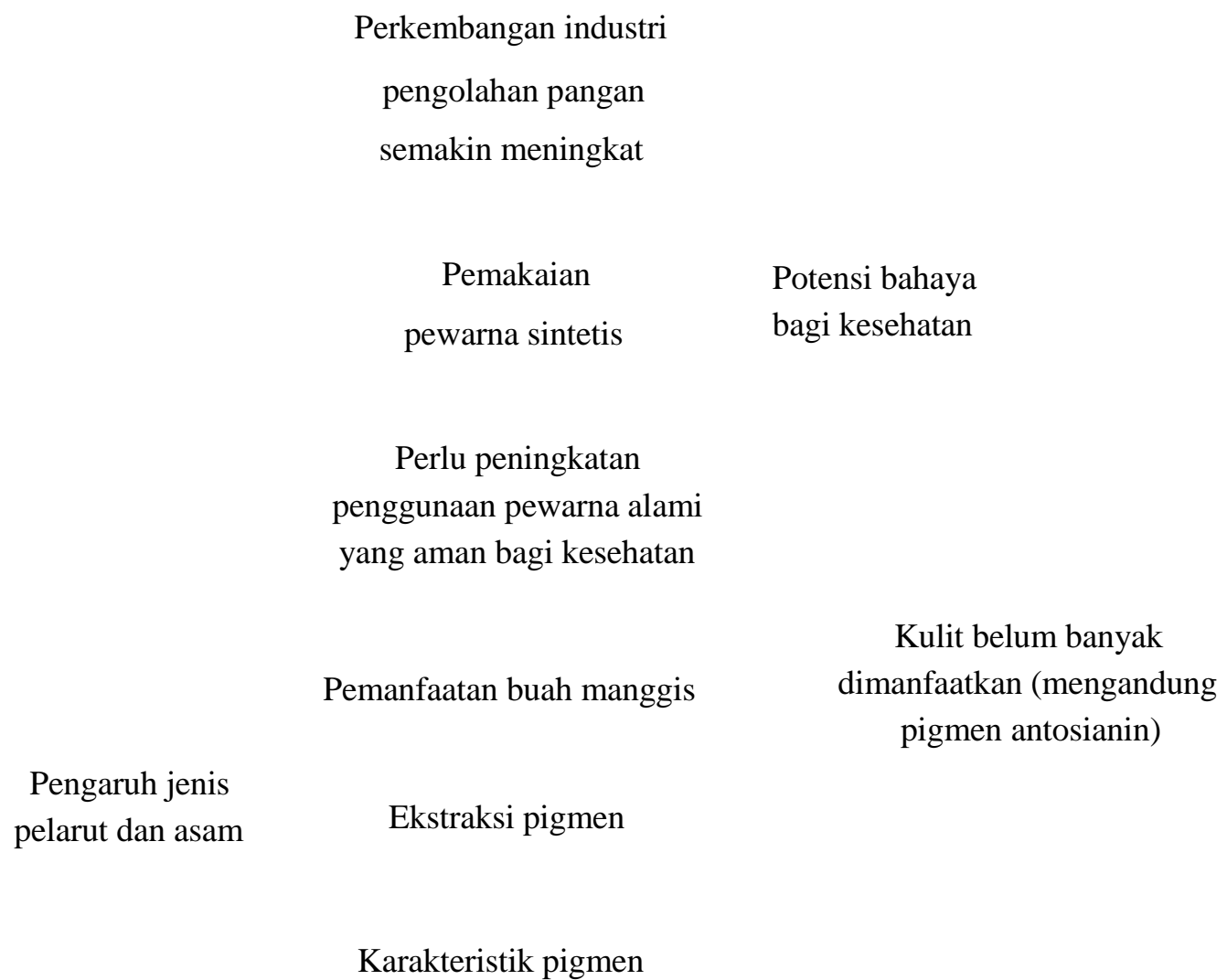
Asam asetat merupakan salah satu asam karboksilat paling sederhana setelah asam format. Larutan asam asetat dalam air merupakan sebuah asam lemah, artinya hanya terdisosiasi sebagian menjadi ion H^+ dan CH_3COO^- (Anonim^c, 2009).

Asam asetat cair adalah pelarut protik hidrofilik (polar), mirip seperti air dan etanol. Asam asetat memiliki konstanta dielektrik yang sedang yaitu sebesar 6,2 sehingga dapat melarutkan baik senyawa polar seperti garam anorganik dan gula maupun senyawa nonpolar seperti minyak dan unsur-unsur seperti sulfur dan iodin. Asam asetat bercampur dengan mudah dengan pelarut polar atau nonpolar lainnya seperti air, kloroform dan heksana. Sifat kelarutan dan kemudahan bercampur dari

asam asetat ini membuatnya digunakan secara luas dalam industri kimia (Anonim^c, 2009).

Perbedaan total antosianin yang dihasilkan untuk setiap jenis asam organik berkaitan erat dengan perbedaan tetapan disosiasi dari masing-masing jenis asam. Fennema (1996) dalam Tensiska (2006) menyatakan bahwa, semakin besar tetapan disosiasi maka semakin kuat suatu asam karena semakin besar jumlah ion hidrogen yang dilepaskan ke dalam larutan. Keadaan yang semakin asam apalagi mendekati pH 1 akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavilium atau oxonium yang berwarna dan pengukuran absorbansi akan menunjukkan jumlah antosianin yang semakin besar. Di samping itu keadaan yang semakin asam menyebabkan semakin banyak dinding sel vakuola yang pecah sehingga pigmen antosianin semakin banyak yang terekstrak (Tensiska, 2006).

B. Kerangka Berpikir



Gambar 2.3 Kerangka berfikir

C. Hipotesis

Hipotesa dari penelitian ini adalah penggunaan jenis asam (HCl, asam sitrat dan asam asetat) yang ditambahkan dalam ekstraksi pigmen kulit buah manggis dengan menggunakan pelarut aseton 60% akan meningkatkan randement, kadar air, pH, intensitas warna, kadar antosianin, kadar total fenol, dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dari ekstrak kulit manggis.

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian, Laboratorium Pangan dan Gizi Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta, serta Laboratorium Pangan dan Gizi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari hingga Maret 2010.

B. Bahan dan Alat



Gambar 3.1 Kulit Buah Manggis

1. Bahan Baku : kulit buah manggis
2. Bahan Pelarut : aseton 60%, HCl, asam sitrat, dan asam asetat
3. Bahan Analisa
 - a) Analisa pH: aquades
 - b) Analisa kadar antosianin: larutan buffer pH 1,0 dan pH 4,5; aquades; dan sinidin-3-glukosida.
 - c) Analisa aktivitas antioksidan: larutan DPPH (1,1 diphenyl picrylhydrazyl)
 - d) Analisa kadar total fenol: Na_2CO_3 alkali 2%, folin ciocalteu, aquades, dan fenol murni.

4. Alat

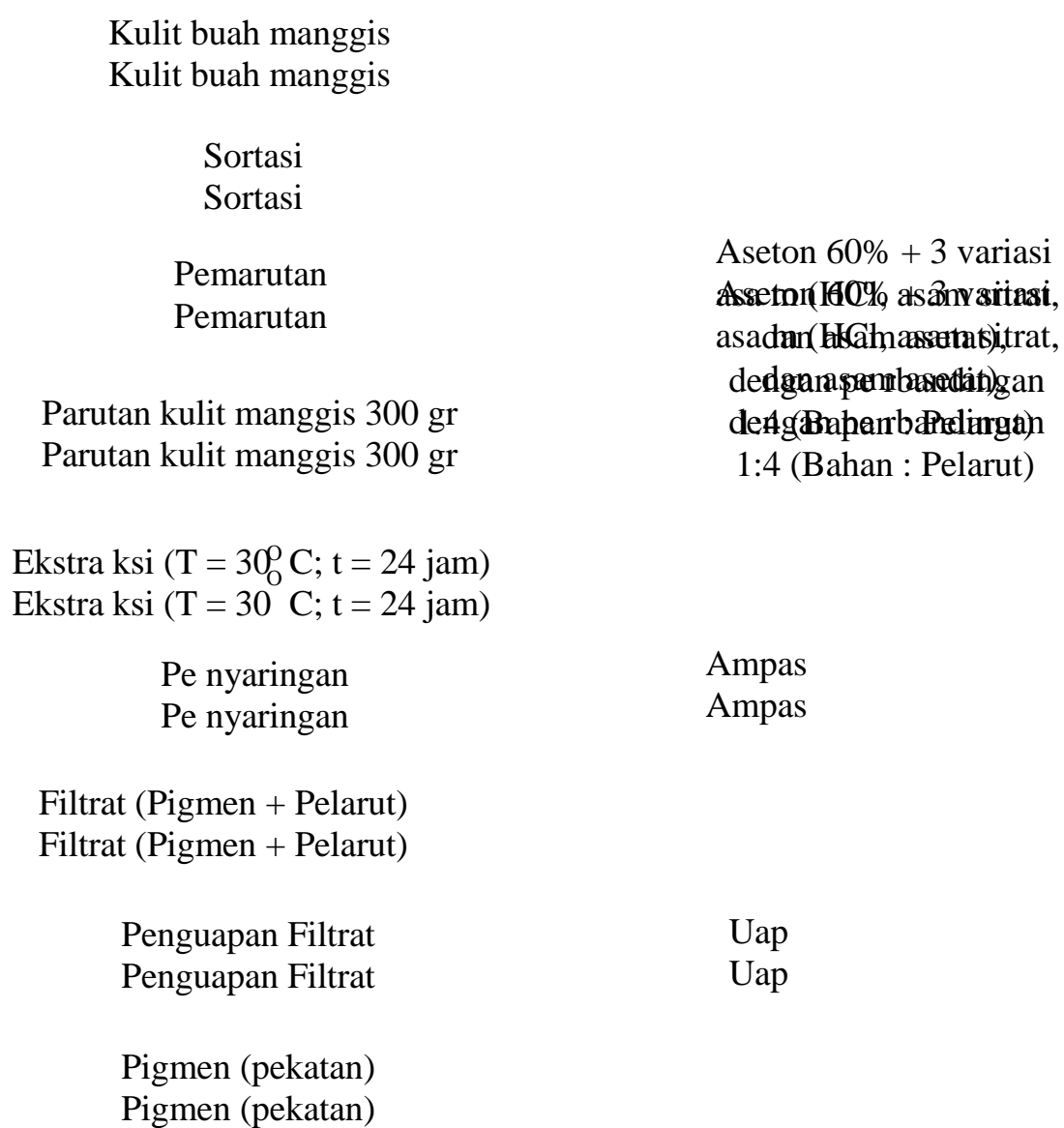
Alat yang digunakan untuk proses ekstraksi pigmen antosianin antara lain timbangan analitik, pipet, gelas ukur, labu takar, kain saring, pamarut, dan destilator. Sedangkan alat-alat yang digunakan untuk analisa antara lain:

- a) Analisa randement: timbangan analitik
- b) Analisa kadar air: labu distilasi, bunsen, kondensor dan timbangan analitik.
- c) Analisa pH: pH meter, pengaduk, gelas sloki, dan tissue.
- d) Analisa intensitas warna: kuvibontometer
- e) Analisa kadar antosianin: spektrofotometer, labu ukur 1L, dan tabung reaksi.
- f) Analisa aktivitas antioksidan: spektrofotometer thermospectronic GENESYS 20, kuvet, mikro pipet, pipet volume 5 mL, propipet, vortex mixer, dan timbangan analitik.
- g) Analisa kadar total fenol: vortex dan spektrofotometer.

C. Tahapan Penelitian

Kulit buah manggis disortasi terlebih dahulu. Setelah disortasi dilakukan pamarutan (300 gram), kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut aseton 60% dengan variasi asam (HCl, asam sitrat, dan asam asetat), dengan perbandingan kulit buah manggis (bahan) dengan pelarut yaitu 1:4, pada suhu 30°C selama 24 jam. Setelah itu dilakukan penyaringan dan filtrat (pigmen + pelarut) yang diperoleh diuapkan selama 8 jam dengan suhu 70°C, dan dihasilkan ekstrak pigmen antosianin yang berupa pekatan (Wijaya et al., (2001) dalam Tensiska, 2006).

Adapun bagan alir tahapan penelitian proses ekstraksi pigmen antosianin kulit manggis dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Proses Ekstraksi Pigmen Antosia nin (2010)

Setelah didapa tkan ekstrak pigmen kulit manggis, maka dilakukan analisa antara lain sebagai berikut:

1. Analisa Ra ndeme nt

$$\text{Randement \%} = (\text{total pigmen : jumlah sampel awal}) \times 100\%$$

2. Analisa Kadar Air

Pengukuran analisa kadar a ir dilakukan dengan menggunakan me tode Termovolumetri atau distilasi toluene.

3. Analisa pH

Pengukuran pH dilakukan de ngan menggunakan pH-meter.

4. Analisa Intensitas Warna

Analisa intensitas warna diukur dengan menggunakan alat yang disebut dengan Lovibontometer.

5. Analisa Kadar Antosianin

Analisa kadar antosianin dilakukan dengan menggunakan metode pH Differensial menurut Giusti dan Worlsted (2001) dalam Telesiska et al., (2006).

6. Analisa Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Analisa aktivitas antioksidan dilakukan dengan uji penangkapan radikal bebas DPPH menurut Yen and Chen (1995) dalam Praptiwi (2006).

7. Analisa Kadar Total Fenol

Kandungan total fenol diukur dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Singleton dan Rossi, 1965 dalam Asami et al., 2003).

D. Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu variasi asam (HCl, asam sitrat, dan asam asetat). Ulangan perlakuan dilakukan sebanyak dua kali dengan dua kali ulangan analisa. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan perlakuan pada tingkat $\alpha = 0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan DMRT pada tingkat α yang sama.

Keempat perlakuan yang dilakukan, yaitu sampel yang diekstrak menggunakan aquades sebagai pembanding, sampel yang diekstrak menggunakan aseton 60% dengan asam klorida (A1), sampel yang diekstrak menggunakan aseton 60% dengan asam sitrat (A2) dan sampel yang diekstrak menggunakan aseton 60% dengan asam asetat (A3).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Karakteristik Hasil Ekstraksi

1. Kadar Air

Kadar air merupakan banyaknya air yang terkandung dalam bahan yang dinyatakan dalam persen (%). Kadar air juga salah satu karakteristik yang sangat penting pada bahan pangan, karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, dan cita rasa pada bahan pangan (Winarno, 2002). Kadar air awal kulit buah manggis dari hasil perhitungan adalah 60,59%.

Tabel 4.1 Tabel Hasil Analisa Kadar Air

Sampel	Kadar air (%)	
Pembanding (aquades)	35,77	d
Aseton 60% + HCl 1%	21,49	a
Aseton 60% + Asam sitrat 3%	23,61	b
Aseton 60% + Asam asetat 3%	27,95	c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf = 5%.

Dari Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa kadar air dari masing-masing perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Kadar air tertinggi terdapat pada sampel pembanding (aquades) sebesar 35,77% sedangkan kadar air terendah terdapat pada sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam HCl 1% sebesar 21,49%.

Pada sampel pembanding (aquades) memiliki kadar air yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan karena pada sampel pembanding, pelarut yang digunakan seluruhnya adalah aquades. Karena aquades memiliki titik didih yang lebih tinggi daripada pelarut aseton maka pada penguapan suhu 70 °C, air yang menguap sangat sedikit sehingga air yang tertinggal dalam sampel masih tinggi.

2. Randement

Penghitungan randement dilakukan untuk mengetahui jumlah pekatan yang dihasilkan dari ekstraksi kulit manggis dengan variasi jenis asam. Hasil penghitungan randement dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Tabel Hasil Analisa Randement

Sampel	Randement (%)	
Pembanding (aquades)	2,97	a
Aseton 60% + HCl 1%	15,68	d
Aseton 60% + Asam sitrat 3%	7,93	c
Aseton 60% + Asam asetat 3%	6,03	b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf = 5%

Dari Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa penambahan berbagai jenis asam pada pelarut aseton 60% dalam ekstraksi pigmen kulit manggis memberikan hasil yang berbeda nyata pada setiap perlakuan. Randement tertinggi terdapat pada sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam HCl 1% yaitu sebesar 15,68% sedangkan randement terendah terdapat pada sampel pembanding (aquades) sebesar 2,97%.

Pada sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam HCl 1% didapatkan randement yang paling tinggi dibanding dengan perlakuan asam lainnya. Hal ini disebabkan karena asam klorida merupakan asam anorganik, yang bersifat monoprotik dan tergolong dalam asam kuat, yang berarti bahwa HCl dapat berdisosiasi melepaskan satu H⁺ hanya sekali sehingga diduga banyak membran sel yang terdegradasi maka menghasilkan randement yang lebih banyak (Anonim^a, 2010).

Robinson (1995) dalam Tensiska (2006) menyatakan bahwa, ekstraksi senyawa golongan flavonoid dianjurkan dilakukan pada suasana asam, karena asam dapat berfungsi mendenaturasi membran sel tanaman, kemudian melarutkan pigmen antosianin sehingga dapat keluar dari sel, serta dapat mencegah oksidasi flavonoid. Pareira (2008) juga menyatakan bahwa, kelarutan senyawa dalam senyawa lain dipengaruhi oleh tingkat keasaman dari sifat-sifat elektrik molekul pelarut dan senyawa yang

dilarutkan. Air dalam kondisi asam memiliki sifat-sifat elektrik yang lebih dibandingkan air yang netral sehingga mampu mengekstrak lebih kuat. Oleh karena itu, randement yang dihasilkan dari ekstraksi menggunakan aseton 60% dengan penambahan asam didapat randement yang lebih tinggi dibanding dengan sampel pembanding (aquades).

3. pH

pH adalah derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu larutan. Hasil analisis pH dari ekstrak kulit manggis dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Tabel Hasil Analisa pH

Sampel	pH	
Pembanding (aquades)	4,15	c
Aseton 60% + HCl 1%	3,78	a
Aseton 60% + Asam sitrat 3%	3,90	ab
Aseton 60% + Asam asetat 3%	3,95	b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf = 5%.

Dari Tabel 4.3 dapat diketahui bahwa jenis asam memberikan hasil yang bervariasi pada pengukuran pH ekstrak kulit manggis. Sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam HCl 1% tidak berbeda nyata dengan sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam sitrat 3%. Akan tetapi berbeda nyata dengan sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam asetat 3%. Nilai pH tertinggi terdapat pada sampel pembanding (aquades) sebesar 4,15; sedangkan nilai pH terendah adalah pada sampel yang diekstrak menggunakan perlakuan aseton 60% dengan variasi asam HCl 1% yaitu sebesar 3,78.

Sampel pembanding (aquades) memiliki pH yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan karena pada sampel pembanding (aquades) tidak dilakukan penambahan asam sehingga hasil ekstraksinya cenderung memiliki pH yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ketiga jenis perlakuan lainnya. Menurut Winarno

(2002), unsur yang menyebabkan asam adalah adanya ion H^+ atau ion hidrogenium H_3O^+ . Anonim^a(2010) juga menyatakan bahwa, hidrogen klorida (HCl) adalah asam monoprotik, yang berarti bahwa HCl dapat berdisosiasi melepaskan satu H^+ hanya sekali. Dalam larutan asam klorida, H^+ ini bergabung dengan molekul air membentuk ion hidronium (H_3O^+). Dengan adanya ion hidrogenium H_3O^+ tersebut, maka sampel dengan perlakuan aseton 60% yang divariasikan dengan asam klorida menjadi lebih asam daripada perlakuan lainnya. Robinson (1995) dalam Tensiska (2006) menyatakan bahwa, ekstraksi senyawa golongan flavonoid dianjurkan dilakukan pada suasana asam, karena asam dapat berfungsi mendenaturasi membran sel tanaman, kemudian melarutkan pigmen antosianin sehingga dapat keluar dari sel.

4. Intensitas Warna

Warna adalah faktor yang paling menentukan menarik tidaknya suatu produk makanan (Winarno, 1991). Menurut Fennema (1985), warna adalah atribut kualitas yang paling penting bersama-sama dengan tekstur dan rasa. Warna berperan dalam penentuan tingkat penerimaan suatu makanan, bahkan Kartika, dkk (1988) menyatakan bahwa, warna merupakan salah satu profil visual yang menjadi kesan pertama konsumen dalam menilai bahan makanan.

Untuk itu perlu dilakukan pengukuran terhadap intensitas warna, yang meliputi warna merah, kuning dan biru. Warna merah diasumsikan sebagai warna pigmen antosianin. Hal ini sesuai dengan pernyataan Madhavi et al., (1996) dalam Nuciferani (2004), yang mengemukakan bahwa antosianin merupakan salah satu zat pewarna alami berwarna kemerah-merahan yang larut dalam air dan tersebar luas di dunia tumbuhan. Sedangkan warna kuning terbentuk dari senyawa tanin yang ikut terekstrak. Menurut Winarno (2002) menyebutkan bahwa, tanin dapat dalam bentuk tidak berwarna sampai berwarna kuning atau kecoklatan. Adapun warna biru merupakan warna dasar yang akan memberikan kesan

warna ungu jika bercampur dengan warna merah. Hasil analisa intensitas warna dari ekstrak kulit manggis disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Tabel Hasil Analisa Intensitas Warna

Sampel	Intensitas	Warna Merah	Intensitas Warna Kuning	Intensitas Warna Biru
Pembanding (aquades)	12,91	a	7,85 ^a	2,18 ^a
Aseton 60% + HCl 1%	38,70	d	9,75 ^d	11,79 ^d
Aseton 60% + Asam sitrat 3%	35,67	c	9,53 ^c	11,06 ^c
Aseton 60% + Asam asetat 3%	18,64	b	8,77 ^b	6,79 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf = 5%.

Dari Tabel 4.4 dapat diketahui bahwa jenis asam memberikan hasil yang berbeda nyata pada intensitas warna dari ekstrak kulit manggis. Intensitas warna terendah terdapat pada sampel pembanding (aquades) yaitu sebesar 12,91; sedangkan intensitas warna tertinggi terdapat pada sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam HCl 1% yaitu sebesar 38,70. Menurut Nollet (1996) bahwa, peningkatan nilai tingkat warna kemerahan yang cukup tinggi menunjukkan adanya sumbangan warna pigmen dominan merah dan sebagian cenderung ke arah merah oranye yang merupakan ciri warna dari pigmen antosianin. Faktor yang mempengaruhi stabilitas antosianin adalah pH, temperatur, sinar dan oksigen. Selain itu Winarno (2002) juga menyatakan bahwa, konsentrasi pigmen sangat berperan dalam menentukan warna, dan pada konsentrasi pekat akan berwarna merah.

Pada sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam HCl 1% didapatkan hasil pengukuran intensitas warna yang paling tinggi dibanding dengan perlakuan asam lainnya. Hal ini dikarenakan HCl memiliki tetapan disosiasi paling tinggi jika dibandingkan dengan asam sitrat maupun asam asetat. Tetapan disosiasi untuk asam klorida, asam asetat, dan asam sitrat berurutan yaitu 1; $1,8 \times 10^{-5}$; dan $8,4 \times 10^{-4}$ (Day, 1988). Fennema (1996) dalam Tensiska (2006) menyatakan bahwa, semakin besar tetapan disosiasi maka semakin kuat suatu asam karena semakin besar jumlah ion hidrogen yang dilepaskan ke dalam larutan. Keadaan yang semakin asam

apalagi mendekati pH 1 akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavilium atau oxonium yang berwarna lebih pekat.

5. Kadar Antosianin

Antosianin merupakan salah satu zat pewarna alami berwarna kemerah-merahan yang larut dalam air dan tersebar luas di dunia tumbuhan (Nuciferani, 2004). Antosianin juga tergolong senyawa flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antioksidan alami (Madhavi et al., 1996). Antosianin merupakan pigmen warna paling umum pada tumbuhan tingkat tinggi yang juga memiliki aktivitas antioksidan. Antosianin mampu menghentikan reaksi radikal bebas dengan menyumbangkan hidrogen atau elektron pada radikal bebas dan menstabilkannya (Madhavi et al., 1996). Menurut Francis (1985) dan Markakis (1982), hal tersebut dikarenakan terdapatnya dua cincin benzena yang dihubungkan dengan tiga atom C dan dirapatkan oleh satu atom O sehingga terbentuk cincin di antara dua cincin benzena pada antosianin.

Tabel 4.5 Tabel Hasil Analisa Kadar Antosianin

Sampel	Kadar Antosianin (mg/100 gram)	
Pembanding (aquades)	0,02	a
Aseton 60% + HCl 1%	0,15	d
Aseton 60% + Asam sitrat 3%	0,11	c
Aseton 60% + Asam asetat 3%	0,08	b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf = 5%.

Dari Tabel 4.5 dapat diketahui hasil pengukuran kadar antosianin dari keempat sampel menunjukkan hasil yang berbeda nyata. Kadar antosianin terendah terdapat pada sampel pembanding (aquades) yaitu sebesar 0,02 mg/100 gram sedangkan kadar antosianin tertinggi terdapat pada sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam HCl 1% yaitu sebesar 0,15 mg/100 gram.

Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antioksidan alami (Madhavi et al., 1996). pH larutan ekstraksi berpengaruh terhadap kestabilan antosianin. Ekstraksi senyawa golongan flavonoid dianjurkan dilakukan pada suasana asam karena asam berfungsi mendenaturasi membran sel tanaman kemudian melarutkan pigmen antosianin (Robinson, 1995 dalam Tensiska, 2006). Perbedaan total antosianin yang dihasilkan untuk setiap jenis asam berkaitan dengan perbedaan tetapan disosiasi dari masing-masing jenis asam. Tetapan disosiasi untuk asam klorida, asam asetat, dan asam sitrat berurutan yaitu 1; $1,8 \times 10^{-5}$; dan $8,4 \times 10^{-4}$ (Day, 1988). Semakin besar tetapan disosiasi maka semakin kuat suatu asam karena semakin besar jumlah ion hidrogen yang dilepaskan ke dalam larutan. Dalam hal ini, HCl merupakan asam kuat jika dibandingkan dengan kedua asam yang lain (asam sitrat dan asam asetat). Selain itu HCl juga merupakan asam monoprotik, yang berarti bahwa HCl dapat berdisosiasi melepaskan satu H^+ hanya sekali. Dalam larutan asam klorida, H^+ ini bergabung dengan molekul air membentuk ion hidronium (H_3O^+) (Anonim^a, 2010).

Semakin besar tetapan disosiasi maka semakin kuat suatu asam karena semakin besar jumlah ion hidrogen yang dilepaskan. Keadaan yang semakin asam menyebabkan pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavilium atau oxonium yang berwarna dan pengukuran absorbansi akan menunjukkan jumlah antosianin yang semakin besar (Fennema, 1996 dalam Tensiska, 2006).

6. Kadar Total Fenol

Komponen fenolik atau disebut juga polifenol merupakan produk metabolisme sekunder tanaman yang banyak didapatkan pada tanaman, substansi ini mempunyai berbagai macam struktur dan fungsi yang berbeda. Secara umum fenolik terdiri atas cincin aromatik yang mengikat satu atau lebih gugus hidroksil (Robards et al., 1999).

Tabel 4.6 Tabel Hasil Analisa Kadar Total Fenol

Sampel	Kadar Total Fenol (% ekuivalen GA)	
Pembanding (aquades)	4,36	a
Aseton 60% + HCl 1%	7,19	d
Aseton 60% + Asam sitrat 3%	6,46	c
Aseton 60% + Asam asetat 3%	5,70	b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf = 5%.

Dari Tabel 4.6 dapat dilihat bahwa kadar total fenol yang terendah yaitu pada perlakuan sampel pembanding (aquades) yaitu 4,36% ekuivalen GA; sedangkan kadar total fenol yang tertinggi yaitu pada sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam HCl 1% sebesar 7,19% ekuivalen GA, artinya bahwa jumlah fenol yang terdapat dalam ekstrak kulit manggis setara dengan jumlah asam galat yang digunakan sebagai standar. Asam galat digunakan sebagai standar dikarenakan asam galat merupakan salah satu senyawa fenolik yang mudah ditemukan di alam.

Perlakuan aseton 60% dengan penambahan asam klorida dapat menghasilkan kadar total fenol yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan sampel yang lain. Hal ini dikarenakan semakin asam maka semakin banyak senyawa fenol yang terekstrak. Asam klorida merupakan asam anorganik, bersifat monoprotik dan tergolong dalam asam kuat, yang berarti bahwa HCl dapat berdisosiasi melepaskan satu H⁺ hanya sekali sehingga diduga banyak membran sel yang terdegradasi maka fenol mudah keluar dari dalam sel (Anonim^a, 2010).

Fenol mempunyai sifat asam, mudah dioksidasi, mudah menguap, sensitif terhadap cahaya dan oksigen, serta bersifat antiseptik. Kadar fenol tersebut akan menurun antara lain dengan perlakuan pencucian, perebusan, dan proses pengolahan lebih lanjut untuk dijadikan produk yang siap dikonsumsi (Sundari, 2008).

7. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas. Fennema (1985) menyatakan bahwa, antioksidan merupakan substansi kimia yang dapat menghambat permulaan (inisiasi) atau memperlambat kecepatan oksidasi pada bahan yang mudah teroksidasi (*autoxidizable*). Mekanisme reaksi penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan adalah $DPPH^{\circ} + AH \rightarrow DPPH-H + A^{\circ}$. Reaksi yang cepat dari radikal DPPH terjadi dengan beberapa fenol misalnya -tokoferol (Pokorny, 2001).

Tabel 4.7 Tabel Hasil Analisa Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Sampel	Aktivitas Antioksidan (%)	
Pembanding (aquades)	22,55	a
Aseton 60% + HCl 1%	74,36	d
Aseton 60% + Asam sitrat 3%	70,88	c
Aseton 60% + Asam asetat 3%	65,10	b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf = 5%.

Dari Tabel 4.7 dapat dilihat bahwa nilai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH terendah ditunjukkan pada sampel pembanding (aquades) yaitu sebesar 22,55%; sedangkan nilai aktivitas antioksidan tertinggi ditunjukkan pada sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam HCl 1% yaitu sebesar 74,36% artinya bahwa banyaknya antioksidan yang menghambat radikal DPPH sebesar 74,36% dari total radikal bebas yang ada.

Aktivitas antioksidan yang tinggi berkaitan dengan aktivitas antosianin dan kadar total fenol. Semakin tinggi aktivitas antosianin dan kadar total fenol maka aktivitas antioksidan juga semakin tinggi. Antosianin dan fenol merupakan senyawa flavonoid yang memiliki fungsi sebagai antioksidan (Madhavi et al., 1996). Dari penelitian ini didapatkan kadar antosianin dan kadar total fenol tertinggi terdapat pada sampel perlakuan aseton 60% dengan variasi asam HCl 1% sehingga pengukuran aktivitas antioksidan tertinggi juga terdapat pada sampel tersebut. Hal ini

disebabkan karena HCl merupakan asam kuat dan memiliki derajat disosiasi paling tinggi dibandingkan dengan kedua jenis asam lainnya, sehingga makin banyak antosianin dan fenol yang terekstrak. HCl memiliki tetapan disosiasi 1 sedangkan kedua asam yang lain lebih rendah.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Perlakuan ekstraksi dengan menggunakan pelarut aquades sebagai pembanding, didapatkan hasil pekatan pigmen dengan karakteristik kadar air 35,77% (b/b); randement 2,97% (b/b); pH 4,15; intensitas warna merah 12,91; intensitas warna kuning 7,85; intensitas warna biru 2,18; kadar antosianin 0,02 mg/100gram; kadar total fenol 4,36% ekivalen GA dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH 22,55%.
2. Perlakuan ekstraksi dengan menggunakan pelarut aseton 60% yang ditambahkan asam klorida atau HCl, didapatkan hasil pekatan pigmen dengan karakteristik kadar air 21,49%; randement 15,68%; pH 3,78; intensitas warna merah 38,70; intensitas warna kuning 9,75; intensitas warna biru 11,79; kadar antosianin 0,15 mg/100 gram; kadar total fenol 7,19% ekivalen GA dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH 74,36%.
3. Perlakuan ekstraksi dengan menggunakan pelarut aseton 60% yang ditambahkan asam sitrat, didapatkan hasil pekatan pigmen dengan karakteristik kadar air 23,61%; randement 7,93%; pH 3,90; intensitas warna merah 35,67; intensitas warna kuning 9,53; intensitas warna biru 11,06; kadar antosianin 0,11 mg/100 gram; kadar total fenol 6,46% ekivalen GA dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH 70,88%.
4. Perlakuan ekstraksi dengan menggunakan pelarut aseton 60% yang ditambahkan asam asetat, didapatkan hasil pekatan pigmen dengan karakteristik kadar air 27,95%; randement 6,03%; pH 3,95; intensitas warna merah 18,64; intensitas warna kuning 8,77; intensitas warna biru 6,79; kadar antosianin 0,08 mg/100 gram; kadar total fenol 5,70% ekivalen GA dan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH 65,10%.
5. Hasil tertinggi dari setiap analisa, yaitu:
 - a. Kadar air tertinggi, yaitu 35,77% (b/b).

- b. Rendement tertinggi, yaitu 15,68% (b/b).
 - c. pH tertinggi, yaitu 4,15.
 - d. Intensitas warna merah tertinggi, yaitu 38,70.
 - e. Kadar antosianin tertinggi, yaitu 0,15 mg/100gram.
 - f. Kadar total fenol tertinggi, yaitu 7,19% ekuivalen GA.
 - g. Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH tertinggi, yaitu 74,30.
6. Hasil pekatan pigmen dengan karakteristik terbaik dihasilkan pada perlakuan aseton 60% dengan penambahan asam klorida 1% merupakan asam kuat yang lebih efektif mendegradasi dinding sehingga lebih memudahkan ekstraksi antosianin.

B. SARAN

Dari penelitian ini, dapat diambil saran antara lain:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penggunaan konsentrasi asam yang lebih bervariasi supaya dapat dihasilkan ekstrak pigmen antosianin yang memiliki kualitas lebih baik.
2. Dilakukan pengujian toksisitas terhadap ekstrak pigmen antosianin : aman digunakan dalam produk makanan.
3. Perlu dilakukan analisa kadar aseton dalam sampel.
4. Perlu dilakukan pengujian terhadap pelarut aseton apakah food grade atau tidak.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, Asmi. 2003. *Identifikasi dan Pengujian Stabilitas Pigmen Antosianin Bunga Kana (Canna coccinea Mill.) serta Aplikasinya pada Produk Pangan*. <http://digilib.gunadarma.ac.id>. Diakses pada 20 Maret 2009.
- Anonim^a. 2008. *Dilema Pewarna Makanan*. <http://www.halalguide.info/2009/05/25/dilema-pewarna-makanan/>. Diakses pada 5 Januari 2009.
- Anonim^b. 2008. *Kawasan Percontohan, Laboratorium Lapangan Manggis*. <http://www.hortikultura.deptan.go.id>. Diakses pada tanggal 12 Mei 2009.
- Anonim^a. 2009. *Antioksidan*. [http://www.wyethindonesia.com/\\$\\$Anti%20Oksidan.html?menu_id=233&menu_item_id=3](http://www.wyethindonesia.com/$$Anti%20Oksidan.html?menu_id=233&menu_item_id=3). Diakses pada 22 Oktober 2009.
- Anonim^b. 2009. *Aseton*. <http://id.wikipedia.org/wiki/Aseton>. Diakses pada tanggal 7 Desember 2009.
- Anonim^c. 2009. *Asam Klorida*. http://id.wikipedia.org/wiki/Asam_klorida. Diakses pada tanggal 7 Desember 2009.
- Anonim^d. 2009. *Asam Sitrat*. http://id.wikipedia.org/wiki/Asam_sitrat. Diakses pada tanggal 7 Desember 2009.
- Anonim^e. 2009. *Asam Asetat*. http://id.wikipedia.org/wiki/Asam_asetat. Diakses pada tanggal 7 Desember 2009.
- Anonim^a. 2010. *pH*. <http://id.wikipedia.org/wiki/PH>. Diakses pada tanggal 26 Februari 2010.
- Anonim^b. 2010. *Asam Klorida*. http://wapedia.mobi/id/Asam_klorida. Diakses pada tanggal 13 Februari 2010.
- Aviv, Mochammad. 2009. *Sargassum sebagai Alternatif Pewarna Alami*. <http://teknologi.kompasiana.com/2009/12/16/sargassum-sebagai-alternatif-pewarna-alami/>. Diakses tanggal 5 Januari 2009.
- Fennema, Owen. 1985. *Food Chemistry. 2nd edition*. Marcell Dekker, Inc. New York.
- Indigomorie. 2009. *Antioksidan: Apa yang Kita Perlu Ketahui Tentangnya*. <http://netsains.com/2009/06/antioksidan-apa-yang-kitaperlu-ketahui-tentangnya/>. Diakses pada 22 Oktober 2009.

- Juanda dan Cahyono. 2000. *Manggis Budidaya Dan Analisis Usaha Tani*. Kanisius. Yogyakarta.
- Kartika, Bambang, Puji Hastuti dan Wahyu Supartono. 1988. *Pedoman Uji Inderawi Bahan Pangan*. UGM. Yogyakarta.
- Lestari, Sri. 2005. *Pengaruh Penyimpanan dan Pengeringan Biji Bixa Orellana Terhadap Total Zat Warna Ekstrak Biksin*. UGM Press. Yogyakarta.
- Nuciferani, Niken Mahargyantini. 2004. *Potensi Pigmen Antosianin Bunga Mawar (Rosa Sp) Sortiran sebagai Zat Warna dan Antioksidan Alami pada Produk Yoghurt dan Sari Buah Jeruk (Kajian Warna Bunga dan Umur Simpan)*. <http://digilib.umm.ac.id>. Diakses pada 20 Maret 2009.
- Nollet, L.M.L. (1996). *Hand Book of Food Analysis. Two Edition*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Pareira, Macklin. 2008. *Pemanfaatan Kulit Buah Manggis Untuk Dijadikan Pewarna Alami*. <http://www.macklin.onbuk.com/2008/12/pemanfaatan-kulit-buah-manggis-untuk-dijadikan-bahan-pewarna-alami/>. Diakses pada 26 Februari 2009.
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., and Gordon, M. 2001. *Antioxidant in Food*. CRC Press Cambridge. England.
- Puryati, Niendyah Agustini. 2004. *Efektivitas Jenis Pelarut dan Bentuk Pigmen Antosianin Bunga Kana (Canna coccinea Mill.) serta Aplikasinya pada Produk Pangan*. <http://digilib.umm.ac.id>. Diakses pada 20 Maret 2009.
- Qosim, Warid Ali. 2007. *Kulit Buah Manggis sebagai Antioksidan*. <http://anekaplanta.wordpress.com/2007/12/26/kulit-buah-manggis-sebagai-antioksidan/>. Diakses pada tanggal 31 Maret 2009.
- Saati, Elfi Anis. 2002. *Identifikasi dan Uji Kualitas Pigmen Kulit Buah Naga Merah (Hylocareus costaricensis) pada Beberapa Umur Simpan dengan Perbedaan Jenis Pelarut*. UMM Press. Malang.
- Sofia, Dinna. 2009. *Antioksidan dan Radikal Bebas*. http://www.chemistry.org/artikel_kimia/berita/antioksidan_dan_radikal_bebas/. Diakses pada 22 Oktober 2009.
- Sofro, A.S.M., Lestariana, W. Dan Haryadi, 1992. *Protein, Vitamin dan bahan Ikutan Pangan*, PAU UGM, Yogyakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, Suhardi. 1989. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit Liberty. Yogyakarta.

- Sundari, Tri. 2008. *Potensi Asap Cair Tempurung Kelapa Sebagai Alternatif Pengganti Hidrogen Peroksida (H₂O₂) Dalam Pengawetan Ikan Tongkol (Euthynnus affinis)*. UNS. Surakarta.
- Tadda, Asri. 2006. *Mekanisme Kerja Beberapa Antioksidan*. <http://astaqauliyah.com/2006/04/17/mekanisme-kerja-beberapa-antioksidan/>. Diakses pada 22 Oktober 2009.
- Tensiska, E. Sukarminah dan D. Natalia. 2006. *Ekstraksi Pewarna Alami dari Buah Arben (Rubus idaeus (Linn.)) dan Aplikasinya pada Sistem Pangan*. <http://digilib.umm.ac.id>. Diakses pada 20 Maret 2009.
- Winarno, F.G. 1992. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia. Jakarta.
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.