

IDENTIFIKASI ANTOSIANIN BUAH DUWET (*Syzygium cumini*) MENGGUNAKAN KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI - DIODE ARRAY DETECTION

[Identification of Anthocyanins in Jambolan Fruit (*Syzygium cumini*) by High Performance Liquid Chromatography - Diode Array Detection]

Puspita Sari^{1)*}, Christofora Hanny Wijaya²⁾, Dondin Sajuthi³⁾, dan Unang Supratman⁴⁾

¹⁾Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember
Kampus Tegalboto Jl. Kalimantan I, Jember 68121

²⁾Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

³⁾Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680

⁴⁾Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Jatinangor, Sumedang 45363

Diterima 1 Juli 2009 / Disetujui 7 Desember 2009

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the content of total monomeric anthocyanins and to identify the anthocyanin composition of jambolan fruit (*Syzygium cumini*) growing in Indonesia. Anthocyanins were extracted with methanol containing 0.1% HCl, removed from non-polar impurities by partition with chloroform and purified in a C₁₈ solid phase cartridge. Anthocyanins were identified by high-performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD), UV-visible spectral analysis, and physico-chemical reactions. Using pH-differential method, it was known that the content of total monomeric anthocyanin in the ripe fruit was 161 mg/100 g fresh fruit (731 mg/100 g skin on wet basis or 3430 mg/100 g skin on dry basis), based on cyanidin-3-glucoside. Furthermore, five anthocyanins without acylating groups were identified as 3,5-diglucoside derivatives of delphinidin (41.29%), petunidin (27.79%), malvidin (25.60%), cyanidin (4.19%), and peonidin (1.13%). These results demonstrate that the skin of jambolan fruit especially the ripe one is rich in anthocyanin, with wide range in anthocyanidin backbone (five aglycons).

Key words: jambolan fruit, *Syzygium cumini*, anthocyanin, HPLC-DAD

PENDAHULUAN

Buah duwet merupakan salah satu buah tropis yang juga banyak ditemui di Indonesia. Buah duwet biasanya dikonsumsi secara langsung dalam bentuk buah segar, mempunyai rasa manis, asam, dan sedikit sepat (*astringent*). Kulit buah yang mentah berwarna merah dan berubah menjadi ungu kehitaman pada waktu buah telah matang, menunjukkan kandungan pigmen berwarna, yaitu antosianin. Pigmen ini dapat memberikan warna biru, ungu, violet, dan merah pada bagian tertentu pada tanaman dan bersifat larut dalam air (Bridle dan Timberlake, 1997; Giusti dan Wrolstad, 2003). Antosianin telah digunakan secara luas sebagai pewarna alami untuk pangan (Mateus & Freitas, 2009). Selain itu, antosianin juga memiliki peranan penting untuk kesehatan manusia (Kong *et al.*, 2003).

Antosianin termasuk dalam kelompok flavonoid dari senyawa polifenol dan merupakan glikosida dari turunan polihidroksi dan polimetoksi dari kation 2-fenilbenzopirilium atau kation flavilium (Brouillard, 1982; Kong *et al.*, 2003). Antosianin yang ditemukan pada tanaman pangan umumnya dalam bentuk glikosida dan asilglikosida dari 6 antosianidin (aglikon) utama, yaitu pelargonidin,

sianidin, delphinidin, peonidin, petunidin, dan malvidin (Castañeda-Ovando *et al.*, 2009). Sebanyak 258 antosianin telah ditemukan dalam buah, sayuran, dan biji-bijian (Mazza dan Miniati, 1993) dan sampai sekarang telah dilaporkan lebih dari 500 antosianin berasal dari berbagai tanaman (Andersen dan Jordhein, 2006).

Sejumlah kajian telah mengidentifikasi antosianin dalam beberapa bahan pangan dan pewarna yang mengandung antosianin dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi-*diode array detection* (KCKT-DAD) (Hong dan Wrolstad, 1990a dan 1990b) dan kromatografi cair kinerja tinggi-*electrospray ionization tandem mass spectrometry* (KCKT-ESI-MS/MS) (Giusti *et al.*, 1999; Wu dan Prior, 2005a dan 2005b). Selain itu, antosianin dapat diidentifikasi dengan menggabungkan metode KCKT dan elusidasi struktur menggunakan spektrometer resonans magnetik inti (Cabrita dan Andersen, 1999; Cabrita *et al.*, 2000; Hanamura *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2009). Identifikasi antosianin diperlukan untuk mengetahui struktur dan komposisi antosianin dalam suatu bahan pangan karena ciri kimia antosianin berhubungan dengan kestabilan dan aktivitas hayati dari antosianin.

Untuk itu penelitian ini bertujuan mengidentifikasi antosianin dalam buah duwet dengan menggunakan KCKT-DAD. Antosianin pada buah duwet diidentifikasi untuk konfirmasi karena terdapat perbedaan hasil identifikasi antosianin buah duwet dari beberapa peneliti sebelumnya, yaitu dari Lestario (2003), Nazif (2007), Veigas *et al.*, (2007), dan Brito *et al.*, (2007).

*Korespondensi penulis : HP. 081559601972
E-mail : poespatha_s@yahoo.com

METODOLOGI

Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah buah duwet matang berwarna ungu kehitaman yang diperoleh dari hutan di Probolinggo, Jawa Timur.

Persiapan sampel kering beku

Buah duwet disortasi, dicuci dengan air bersih, lalu ditiriskan. Kulit buah duwet dikupas menggunakan pisau baja tahan-karat dan diblansir selama 3 menit. Selanjutnya kulit buah duwet dihancurkan dengan menggunakan *hand blender* dan dikeringkan dengan menggunakan pengering beku. Sampel kering beku dikemas dalam kantong plastik polietilena (PE) dan wadah plastik kedap udara lalu disimpan pada suhu -20°C .

Ekstraksi antosianin

Antosianin diekstraksi dengan pelarut metanol yang mengandung 0,1% HCl (Francis, 1982) dengan nisbah sampel kering dan pelarut 1:25. Ekstraksi dilakukan secara maserasi (diaduk) pada suhu ruang selama 30 menit lalu disentrifus (3552 g) untuk memisahkan filtrat dan residu. Ekstraksi diulang kembali dengan menggunakan pelarut yang sama hingga diperoleh filtrat yang bening (4 kali ekstraksi). Filtrat digabung dan disaring dengan menggunakan penyaring vakum, lalu pelarut diuapkan dengan rotavapor pada suhu 40°C . Selanjutnya ekstrak dipisahkan dari *impurities* non-polar dengan kloroform secara partisi. Residu pelarut organik (kloroform) dalam ekstrak dihilangkan dengan menggunakan rotavapor. Ekstrak ditempatkan dalam vial, dihisap nitrogen, dan disimpan pada suhu -20°C .

Ekstrak dianalisis kandungan total antosianin monomerik dengan metode pH-diferensial (Giusti dan Wrolstad, 2001). Total antosianin monomerik dihitung sebagai sianidin-3-glukosida menggunakan koefisien pemadaman molar sebesar $29600\text{ L cm}^{-1}\text{mg}^{-1}$ dan bobot molekul sebesar 448,8.

Purifikasi antosianin

Antosianin dipurifikasi secara parsial menggunakan *solid-phase extraction* (SPE) dengan C_{18} Sep-Pak *cartridge* yang telah diaktivasi. Ekstrak dilewatkan pada kolom mini C_{18} Sep-Pak *cartridge*, lalu dicuci dengan 0,01% HCl-akuades (v/v) dan etil asetat. Antosianin yang diserap pada kolom mini dielusi dengan 0,01% HCl-metanol (v/v). Selanjutnya pelarut organik diuapkan dengan menggunakan rotavapor pada suhu 40°C (Hong dan Wrolstad, 1990a).

Hidrolisis asam

Hidrolisis dilakukan dengan menempatkan antosianin yang sudah dipurifikasi ke dalam tabung reaksi berulir, kemudian ditambahkan larutan 2 N HCl. Campuran dalam tabung reaksi berulir diembus gas nitrogen lalu ditutup. Pigmen antosianin dihidrolisis selama 45 menit di dalam penangas berisi air mendidih, lalu didinginkan menggunakan serpihan es. Hidrolisat selanjutnya dipurifikasi menggunakan C_{18} Sep-Pak *cartridge*. Gula dielusi dari kolom mini dengan 0,01% HCl-akuades (v/v) dan ditampung untuk

identifikasi. Antosianidin yang diserap pada kolom mini dielusi dengan 0,01% HCl-metanol (v/v) (Hong dan Wrolstad, 1990a).

Identifikasi gula

Larutan gula dari hasil hidrolisis dipekatkan dengan rotavapor, dikeringkan pada suhu 45°C , dan disimpan semalam dalam desikator vakum (Fang *et al.*, 2006). Gula diidentifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT-gel silika) dengan pengembang (fase gerak) 2-propanol:piridin:akuades (3,25:1,25:0,5). Gula diwarnai menggunakan pelarut difenilamin/anilin/asam ortofosfat (Gamar *et al.*, 1997).

Analisis antosianin dengan KCKT-DAD

Analisis KCKT dilakukan pada Shimadzu *liquid chromatography* (Kyoto, Jepang) dengan menggunakan detektor *diode array* (SPD-M20A, Shimadzu, Kyoto, Jepang). Data diproses melalui komputer personal menggunakan program *Lab Solution* (LC solution Shimadzu). Kolom analitik yang digunakan adalah Shimadzu-ODS (250×4 mm diameter internal, $5\ \mu\text{m}$ ukuran partikel; Shimadzu, Jepang) dengan kondisi suhu 30°C .

KCKT dikondisikan mengikuti prosedur dari Durst dan Wrolstad (2001). Fase gerak yang digunakan untuk memisahkan antosianidin (aglikon) dan antosianin (glikon) adalah fase gerak A: 100% asetonitril dan fase gerak B: 10% asam asetat, 5% asetonitril, 1% asam fosfat, dan 84% akuades. Sistem elusi KCKT dilakukan secara gradien linear dari 5% ke 20% fase gerak A selama 20 menit lalu dari 20% ke 5% fase gerak A selama 5 menit dengan laju alir 1 ml/menit. Sampel diinjeksikan sebanyak 20 μl , sebelum diinjeksikan, sampel disaring menggunakan $0,45\ \mu\text{m}$ membran filter PP Whatman.

Spektrum absorpsi UV-vis diukur secara *on-line* selama analisis KCKT. Spektrum direkam pada panjang gelombang 200-600 nm dengan 520 nm sebagai panjang gelombang deteksi. Kandungan individu antosianidin dan antosianin dinyatakan secara relatif dan dilaporkan sebagai persen dari total luas puncak.

Reaksi fisiko-kimia

Reaksi dengan aluminium klorida (AlCl_3) digunakan untuk mendeteksi keberadaan gugus hidroksil aromatik. Spektrum absorpsi dari antosianin yang dilarutkan dalam metanol diukur sebelum dan sesudah penambahan metanol yang mengandung 5% AlCl_3 (Markakis, 1982; Jackman dan Smith, 1996).

Keberadaan substituen pada C-5 antosianin dapat dideteksi dengan adanya senyawa antosianin yang berpendar (*fluorescence*) di bawah radiasi ultraviolet (Francis, 1982). Sebelum dideteksi di bawah radiasi ultraviolet, antosianin dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis (KLT-ODS) menggunakan fase gerak air:metanol (2:2) yang mengandung asam format.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan total antosianin monomerik

Hasil pengujian kandungan total antosianin monomerik (metode pH-diferensial) dari buah duwet segar yang matang rata-rata sebesar 161 mg/100 g buah segar (bb). Bagian kulit buah duwet

matang mengandung antosianin rata-rata sebesar 731 mg/100 g kulit buah (bb) atau 3430 mg/100 g kulit buah (bk). Kandungan antosianin pada bagian kulit buah memiliki kandungan 4,5 kali lebih banyak dibandingkan pada buah utuh yang segar. Hal ini menunjukkan bahwa bagian kulit buah duwet berpotensi untuk digunakan sebagai sumber antosianin. Antosianin yang terkandung dalam buah duwet banyak terdapat pada bagian kulit buah yang berwarna ungu kehitaman. Salah satu ciri khas adanya kandungan antosianin pada bagian tanaman adalah warna biru, ungu, violet, dan merah, sebagaimana dinyatakan oleh Bridle dan Timberlake (1997) serta Giusti dan Wrolstad (2003).

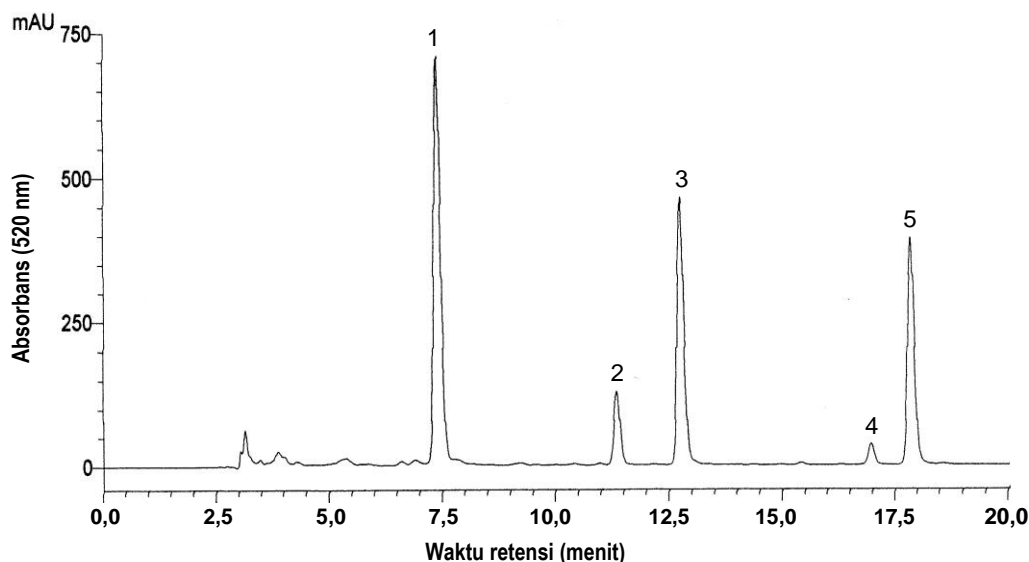
Beberapa buah dan sayuran lainnya yang juga mengandung antosianin, dinyatakan sebagai bobot buah dan sayuran segar, seperti apel (10 mg/100 g), *blackberry* (83-326 mg/100 g), *bilberry* (300-320 mg/100 g), *black currant* (130-400 mg/100 g), *cranberry* (60-200 mg/100 g), *blueberry* (25-495 mg/100 g), kubis merah (25 mg/100 g), anggur (6-600 mg/100 g), plum (2-25 mg/100 g), bawang merah (7-21 mg/100 g), lobak merah (11-60 mg/100 g), strawberi (15-35 mg/100 g) (Mazza dan Miniati, 1993; Clifford, 2000). Kandungan antosianin buah duwet segar (161 mg/100 g buah segar) lebih tinggi dibandingkan apel, kubis merah, plum, bawang merah, lobak merah, dan strawberi yang mengandung antosianin pada kisaran nilai antara 2-60 mg/g buah segar, namun lebih rendah dibandingkan dengan *bilberry* (300-320 mg/100 g buah segar). Kandungan antosianin buah duwet segar di dalam kisaran nilai kandungan antosianin dari *blackberry*, *black currant*, *cranberry*, *blueberry*, dan anggur dengan kisaran nilai antara 25-600 mg/g buah segar.

Komposisi antosianidin

Analisis antosianidin merupakan pendekatan awal yang diperlukan untuk mendapatkan informasi jenis aglikon antosianin

(antosianidin). Identifikasi awal menjadi lebih mudah karena hanya terdapat 6 antosianidin utama yang ditemukan pada bahan pangan, yaitu pelargonidin, sianidin, delphinidin, peonidin, petunidin, dan malvidin (Brouillard, 1982; Hong dan Wrolstad, 1990a). Hidrolisis dari antosianin buah duwet terpurifikasi menghasilkan 5 antosianidin yang dipisahkan menggunakan KCKT-DAD dideteksi pada panjang gelombang 520 nm (Gambar 1). Identifikasi dilakukan dengan membandingkan waktu retensi dan spektrum ($A_{vis-max}$) dari antosianidin buah duwet dengan standar antosianidin. Selain itu, kromatogram KCKT dari antosianidin buah duwet juga dibandingkan dengan antosianidin dari anggur (*concord grape*) yang diperoleh dari pustaka (Ordaz-Galindo *et al.*, 1999; Durst dan Wrolstad, 2001). Lebih lanjut menurut Hong dan Wrolstad (1990a), pada pemisahan antosianidin dengan sistem KCKT fase terbalik, urutan elusi dari antosianidin (aglikon) dapat diprediksi berdasarkan jumlah fenolik hidrofilik dan gugus metoksil hidrofobik, dengan urutan elusi adalah delphinidin, sianidin, petunidin, pelargonidin, peonidin, dan malvidin.

Lima antosianidin yang terdapat pada buah duwet adalah delphinidin (41,03%), sianidin (6,75%), petunidin (26,90%), peonidin (1,82%), dan malvidin (23,50%). Delphinidin, petunidin, dan malvidin merupakan antosianidin utama. Kandungan antosianidin pada buah duwet memiliki komposisi antosianidin yang sama dengan anggur (*red* dan *concord grape*), namun berbeda dalam persentase relatifnya. Antosianidin utama pada anggur *concord* adalah delphinidin dan sianidin (Ordaz-Galindo *et al.*, 1999; Durst dan Wrolstad, 2001; Wu dan Prior, 2005a). Ciri kromatogram KCKT dan spektrum antosianidin buah duwet ditabulasi pada Tabel 1, sedangkan struktur kimia dari kelima antosianidin buah duwet ditampilkan pada Gambar 2.



Gambar 1 Kromatogram KCKT dari antosianin duwet terhidrolisis asam (antosianidin): (1) delphinidin, (2) sianidin, (3) petunidin, (4) peonidin, dan (5) malvidin.

Tabel 1. Ciri kromatogram KCKT dan spektrum dari antosianin duwet terhidrolisis asam (antosianidin)

Puncak	t_R^a (menit)	% Relatif antosianidin ^b	$\lambda_{vis-maks}^c$ (nm)	Antosianidin
1	7,3	41,03	531	delfinidin
2	11,35	6,75	524	sianidin
3	12,73	26,90	533	petunidin
4	16,96	1,82	526	peonidin
5	17,84	23,50	535	malvidin

^a t_R , waktu retensi

^b persen relatif antosianidin didasarkan pada total luas puncak

^c panjang gelombang daerah visibel yang menghasilkan nilai absorbans maksimum

Komposisi antosianin

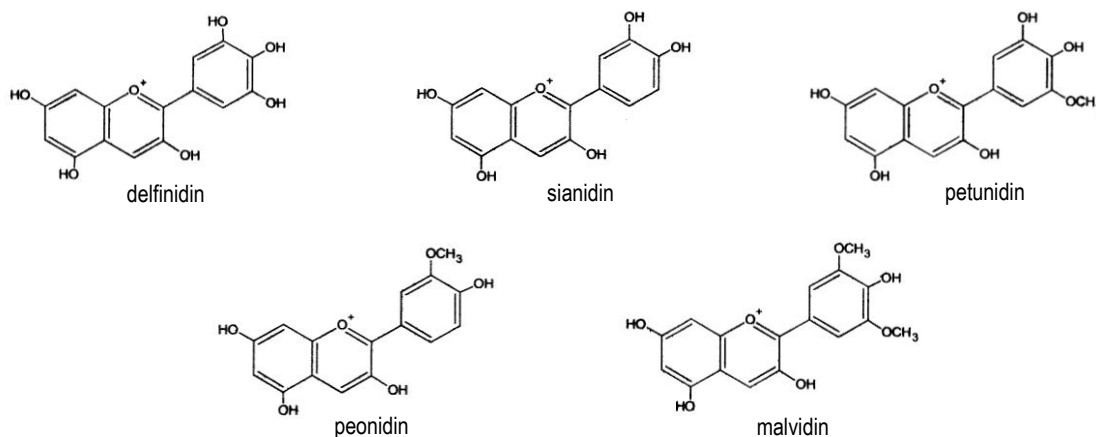
Gambar 3 menampilkan kromatogram KCKT dari antosianin buah duwet terpurifikasi yang dideteksi menggunakan detektor *diode array* pada panjang gelombang 520 nm. Hasil pemisahan antosianin dengan KCKT-DAD diperoleh 5 puncak antosianin (Gambar 3) yang memiliki jumlah puncak yang sama dengan hasil pemisahan pada antosianidin (Gambar 1), sehingga 5 puncak antosianin dapat diidentifikasi secara berurutan sebagai delfinidin glikosida (puncak 1), sianidin glikosida (puncak 2), petunidin glikosida (puncak 3), peonidin glikosida (puncak 4), dan malvidin glikosida (puncak 5). Identifikasi antosianin pada sistem KCKT fase terbalik didasarkan pada relatif hidrofobitas dari antosianin serta tingkat glikosidasi (tri, di, dan mono-glikosida) dan jenis gula yang terkonjugasi (heksosa dan pentosa). Pola elusi antosianin pada sistem KCKT fase terbalik adalah antosianin dengan substitusi tri-glikosida dielusi sebelum di-glikosida dan di-glikosida dielusi sebelum mono-glikosida. Sementara itu, glikosida dari heksosa lebih polar dan terelusi lebih dahulu daripada glikosida gula pentosa. Urutan elusi dari aglikon didasarkan pada gugus fenolik hidrofilik dan metoksil hidrofobik (Hong dan Wrolstad, 1990a; Durst dan Wrolstad, 2001).

Data spektrum memberikan informasi tentang keberadaan gugus asil pada molekul antosianin. Keberadaan gugus asil asam organik aromatik dapat dideteksi dengan adanya puncak pada

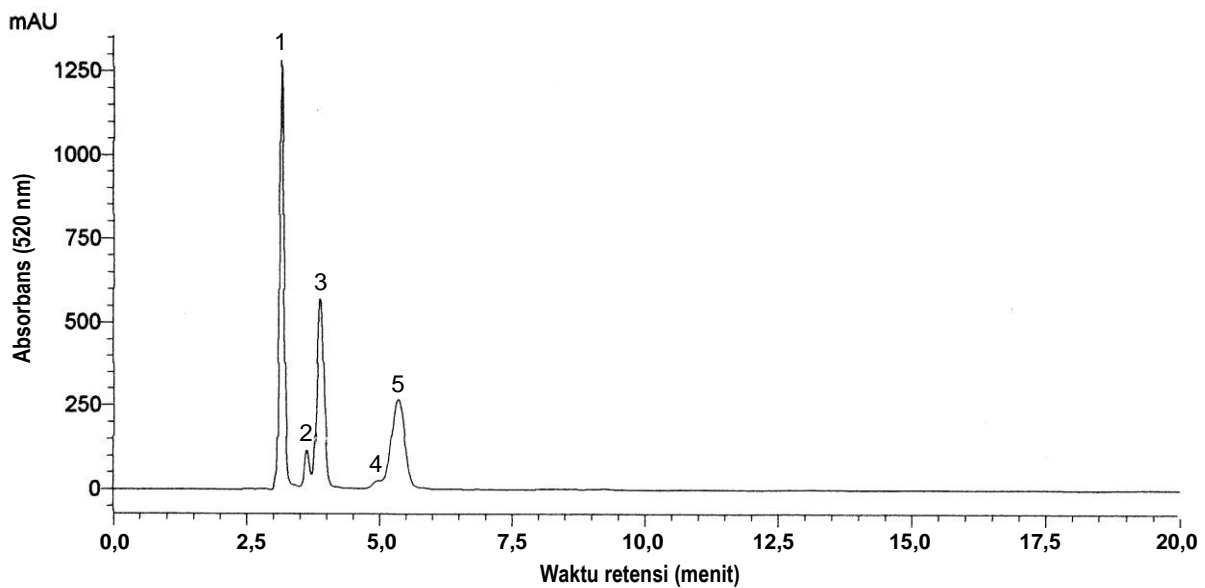
spektrum pada daerah panjang gelombang 310-340 nm (Harborne, 1958; Hong dan Wrolstad, 1990a). Pada setiap spektrum antosianin buah duwet tidak ditemukan absorbans maksimum pada daerah 310-340 nm yang mengindikasikan tidak ada asilasi asam organik aromatik (asam sinamat) pada antosianin buah duwet.

Selain itu, informasi mengenai pola substitusi glikosidasi antosianin juga dapat diperoleh dari data spektrum. Pola substitusi 3-glikosida dan 3,5-diglikosida memiliki spektrum visibel maksimum yang sama tetapi menunjukkan perbedaan pada daerah 400-460 nm. Umumnya digunakan nisbah $A_{440}/A_{\lambda_{vis-maks}}$ untuk menunjukkan perbedaan karakteristik spektrum dari 3-glikosida dan 3,5-diglikosida; 3-glikosida menunjukkan nisbah dua kali lebih besar daripada 3,5-diglikosida. Apabila nisbah lebih besar dari ~0,3 (30%), maka antosianin diidentifikasi sebagai 3-glikosida dan apabila nisbah lebih kecil dari 0,2 (20%) maka antosianin diidentifikasi sebagai 3,5-diglikosida (Harborne 1967 dan 1958; Hong dan Wrolstad, 1990a). Pada Tabel 2 dicantumkan nilai nisbah $A_{440}/A_{\lambda_{vis-maks}}$ dari masing-masing antosianin buah duwet. Nilai nisbah $A_{440}/A_{\lambda_{vis-maks}}$ berkisar 10-17%. Nilai nisbah ini menunjukkan bahwa seluruh antosianin buah duwet mengandung glikosida pada posisi 3 dan 5 (3,5-diglikosida). Keberadaan substituen glikosidik pada posisi 5 juga dikonfirmasi dengan berpendarnya antosianin di bawah radiasi ultraviolet (Francis, 1982). Identifikasi gula dengan kromatografi lapis tipis (KLT-gel silika) menunjukkan bahwa gula yang berikatan pada antosianin buah duwet adalah glukosa.

Dari semua informasi yang diperoleh, dapat diidentifikasi bahwa semua antosianin pada buah duwet dalam bentuk 3,5-diglukosida tanpa adanya asilasi dari asam sinamat. Oleh karena itu, puncak 1, 2, 3, 4, dan 5 berturut-turut dapat diidentifikasi sebagai delfinidin-3,5-diglukosida (41,29%), sianidin-3,5-diglukosida (4,19%), petunidin-3,5-diglukosida (27,79%), peonidin-3,5-diglukosida (1,13%), dan malvidin-3,5-diglukosida (25,60%). Struktur antosianin yang terkandung dalam buah duwet disajikan pada Gambar 4. Besarnya nilai persen relatif dari delfinidin dan petunidin (69%) dapat juga dikonfirmasi oleh adanya pergeseran batokromik setelah penambahan $AlCl_3$ pada ekstrak terpurifikasi (Markakis, 1982; Jackman dan Smith, 1996).



Gambar 2 Struktur antosianidin buah duwet. Struktur antosianidin berdasarkan sitasi dari Brouillard (1982).



Gambar 3 Kromatogram KCKT dari antosianin buah duwet yang telah dipurifikasi: (1) delfinidin glikosida, (2) sianidin glikosida, (3) petunidin glikosida, (4) peonidin glikosida, dan (5) malvidin glikosida.

Tabel 2. Ciri kromatogram KCKT dan spektrum dari antosianin buah duwet

Puncak	t_r^a (menit)	% Relatif antosianin ^b	$\lambda_{vis-maks}^c$ (nm)	$A_{440}/A_{\lambda_{vis-maks}^d}$	Antosianin ^e
1	3,14	41,29	524	0,15 (15%)	dpd-3,5-diglukosida
2	3,64	4,19	516	0,16 (16%)	cyd-3,5-diglukosida
3	3,88	27,79	525	0,17 (17%)	ptd-3,5-diglukosida
4	4,89	1,13	520	0,16 (16%)	pnd-3,5-diglukosida
5	5,35	25,60	526	0,10 (10%)	mvd-3,5-diglukosida

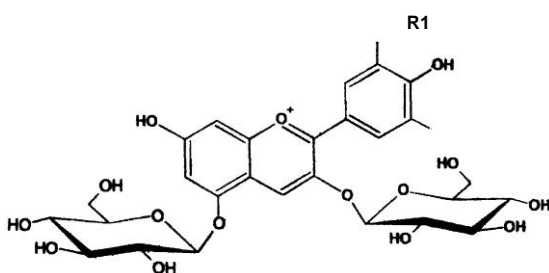
^a t_r , waktu retensi

^b persen relatif antosianin didasarkan pada total luas puncak

^c panjang gelombang daerah visibel yang menghasilkan nilai absorbans maksimum

^d nisbah nilai absorbans pada panjang gelombang 440 nm dengan nilai absorbans maksimum pada panjang gelombang daerah visibel

^e dpd, delfinidin; cyd, sianidin; ptd, petunidin; pnd, peonidin; mvd, malvidin



sianidin-3,5-diglukosida R₁ = OH, R₂ = H (orange - merah)
 delfinidin-3,5-diglukosida R₁ = R₂ = OH (biru - merah)
 malvidin-3,5-diglukosida R₁ = R₂ = OCH₃ (biru - merah)
 peonidin-3,5-diglukosida R₁ = OCH₃, R₂ = H (orange - merah)
 petunidin-3,5-diglukosida R₁ = OH, R₂ = OCH₃ (biru - merah)

Gambar 4 Struktur antosianin buah duwet

Nilai persen relatif dari setiap antosianidin (Tabel 1) dan antosianin (Tabel 2) yang hampir sama menunjukkan bahwa kedua metode yang digunakan memberikan hasil yang tidak jauh berbeda.

Perbedaan hanya ditemui pada waktu retensi, dengan antosianidin menunjukkan waktu retensi yang lebih lama dibandingkan antosianin. Hal ini berhubungan dengan ciri kepolaran dari kedua molekul. Antosianidin bersifat nonpolar dan antosianin bersifat polar karena adanya gugus gula (diglukosida).

Hasil identifikasi antosianin pada penelitian ini menunjukkan kesamaan hasil seperti yang dilakukan oleh Brito *et al.*, (2007) yang juga mengidentifikasi antosianin buah duwet yang tumbuh di Brazil. Identifikasi dilakukan menggunakan KCKT-ESI-MS/MS. Lima antosianin yang berhasil diidentifikasi oleh Brito *et al.*, (2007) yaitu delfinidin (33,2%), sianidin (3,8%), petunidin (31,8%), peonidin (9,7%) dan malvidin (21,5%), dengan semua antosianin dalam bentuk 3,5-diglukosida. Sementara itu, hasil identifikasi antosianin buah duwet yang dilakukan oleh Lestario (2003), Nazif (2007), dan Veigas *et al.*, (2007) menunjukkan hasil yang berbeda. Lestario (2003) melaporkan tiga jenis antosianin yang terkandung dalam buah duwet yang tumbuh di Indonesia, yaitu pelargonidin-3,5-diglukosida, sianidin-3-ramnosil-glukosida-5-glukosida, dan pelargonidin-3-(*p*-kumaril-glukosida)-5-glukosida. Antosianin

dipisahkan dengan kromatografi kertas. Nazif (2007) melaporkan empat antosianin yang diisolasi dari buah duwet yang tumbuh di Arab, yaitu pelargonidin-3-glukosida, pelargonidin-3,5-diglukosida, sianidin-3-malonil-glukosida, dan delphinidin-3-glukosida. Identifikasi dilakukan dengan analisis spektrum (¹H-NMR dan FAB/MS). Veigas *et al.*, (2007) melaporkan tiga jenis antosianin didalam buah duwet yang tumbuh di India, yaitu delphinidin (23%), petunidin (35%), dan malvidin (38%) yang diidentifikasi sebagai diglukosida menggunakan KCKT-ESI-MS.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kandungan total antosianin monomerik buah duwet matang yang tumbuh di Indonesia rata-rata sebesar 161 mg/100 g buah segar (bb) dan pada bagian kulit sebesar 731 mg/100 g kulit buah (bb). Lima antosianin dapat diidentifikasi dengan menggunakan KCKT-DAD, yaitu delphinidin-3,5-diglukosida (41,29%), petunidin-3,5-diglukosida (27,79%), malvidin-3,5-diglukosida (25,60%), sianidin-3,5-diglukosida (4,19%), dan peonidin-3,5-diglukosida (1,13%). Komposisi antosianin dari hasil penelitian ini (buah duwet yang tumbuh di Indonesia) memiliki kesamaan komposisi dengan buah duwet yang tumbuh di Brazil dan berbeda dalam komposisi dengan buah duwet yang tumbuh di Arab dan India. Antosianin yang terkandung dalam buah duwet dapat dikembangkan sebagai pewarna alami untuk pangan dan nutrasetikal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puspita Sari mengucapkan terima kasih kepada *International Foundation for Science (IFS)*, Stockholm, Sweden dan *Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons (OPCW)*, The Hague, The Netherlands yang telah mendanai penelitian ini melalui *Research Project of First IFS Research Grant*.

DAFTAR PUSTAKA

- Andersen ØM, Jordheim M. 2006. The Anthocyanins. Di dalam: Andersen ØM, Markham KR, editor. *Flavonoids: Chemistry, biochemistry, and applications*. CRC Press, Boca Raton.
- Bridle P, Timberlake CF. 1997. Anthocyanins as natural food colours - selected aspects. *Food Chemistry* 58(1-2):103-109.
- Brito ES, Araújo MCP, Alves RE, Carkeet C, Clevidence BA, Novotny JA. 2007. Anthocyanins present in selected tropical fruits: Acerola, jambolão, jussara, and guajiru. *J Agric Food Chem* 55:9389-9394.
- Brouillard R. 1982. Chemical Structure of Anthocyanins. Di dalam: Markakis P, editor. *Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press, New York.
- Cabrita L, Andersen ØM. 1999. Anthocyanins in blue berries of *Vaccinium padifolium*. *Phytochemistry* 52:1693-1696.
- Cabrita L, Frøystein NA, Andersen ØM. 2000. Anthocyanin trisaccharides in blue berries of *Vaccinium padifolium*. *Food Chemistry* 69:33-36.
- Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández ML, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 113:859-871.
- Clifford MN. 2000. Anthocyanins - Nature, occurrence and dietary burden. *J Sci Food Agric* 80:1063-1072.
- Durst RW, Wrolstad RE. 2001. Separation and Characterization of Anthocyanins by HPLC. Di dalam: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley and sons, New York.
- Fang ZX, Zhang M, Wang LX, Sun JC. 2006. Identification of anthocyanin in bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) by HPLC-DAD-ESI/MS and GC. *J Food Drug Analysis* 14(4):368-372.
- Francis FJ. 1982. Analysis of anthocyanins. Di dalam: Markakis P, editor. *Anthocyanins as food colors*. Academic Press, New York.
- Gamar L, Blondeau K, Simonet JM. 1997. Physiological approach to extracellular polysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* strain C83. *J Applied Microbiology* 83:281-287.
- Giusti MM, Rodriguez-Saona LE, Griffin D, Wrolstad RE. 1999. Electrospray and tandem mass spectroscopy as tools for anthocyanin characterization. *J Agric Food Chem* 47:4657-4664.
- Giusti MM, Wrolstad RE. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. Di dalam: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. John Wiley and sons, New York.
- Giusti MM, Wrolstad RE. 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food system: Review. *Biochemical Engineering Journal* 14:217-225.
- Hanamura T, Hagiwara T, Kawagishi H. 2005. Structural and functional characterization of polyphenols isolated from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruit. *Biosci Biotechnol Biochem* 69(2):280-286.
- Harborne JB. 1958. Spectral methods of characterizing anthocyanins. *Biochem J* 70:22-28.
- Harborne JB. 1967. *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*. Academic Press, New York.
- Hong V, Wrolstad RE. 1990a. Use of HPLC separation/photodiode array detection for characterization of anthocyanins. *J Agric Food Chem* 38:708-715.
- Hong V, Wrolstad RE. 1990b. Characterization of anthocyanin-containing colorants and fruit juices by HPLC/photodiode array detection. *J Agric Food Chem* 38:698-708.
- Jackman RL, Smith, JL. 1996. Anthocyanins and Betalains. Di dalam: Hendry GAF, Houghton JD, editor. *Natural Food Colorants*. Ed ke-2. Blackie Academic and Professional, London.
- Kong JM, Chia LS, Goh NK, Chia TF, Brouillard R. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64:923-933.
- Lee JH, Kang NS, Shin S-O, Shin S-H, Lim, S-G, Suh D-Y, Baek I-Y, Park K-Y, Ha TJ. 2009. Characterisation of anthocyanins in

- the black soybean (*Glycine max* L.) by HPLC-DAD-ESI/MS analysis. *Food Chemistry* 112:226-231.
- Lestario LN. 2003. The potential of java plum (*Syzygium cumini*) as source of food natural antioxidant. *Indonesian Food and Nutrition Progress* 10(1):40-45.
- Markakis P. 1982. Stability of Anthocyanins in Food. Di dalam: Markakis P, editor. *Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press, New York.
- Mateus N, Freitas V. 2009. Anthocyanins as Food Colorants. Di dalam: Gould K, Davies K, Winefield C, editor. *Anthocyanins :Biosynthesis, Functions, and Applications*. Springer Science+Business Media, LLC, New York.
- Mazza G, Miniati E. 1993. *Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains*. CRC Press, Boca Raton.
- Nazif NM. 2007. The Anthocyanin components and cytotoxic activity of *Syzygium cumini* (L.) fruits growing in Egypt. *Natural Product Sciences* 13(2):135-139.
- Ordaz-Galindo A, Wesche-Ebeling P, Wrolstad RE, Rodriguez-Saona L, Argaiz-Jamet A. 1999. Purification and identification of Capulin (*Prunus serotina* Ehrh) anthocyanins. *Food Chemistry* 65:201-206.
- Veigas JM, Narayan MS, Laxman PM, Neelwarne B. 2007. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. *Food Chemistry* 105:619-627.
- Wu X, Prior RL. 2005a. Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: Fruits and berries. *J Agric Food Chem* 53:2589-2599.
- Wu X, Prior RL. 2005b. Identification and characterization of anthocyanins by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry in common foods in the United States: Vegetables, Nuts, and Grains. *J Agric Food Chem* 53:3101-3113.