

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENENTUAN KANDUNGAN ANTOSIANIN TOTAL KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana L.*)

TEST OF ANTIOXIDANT ACTIVITY AND DETERMINATION OF TOTAL ANTHOCYANIN CONTENT IN RIND OF MANGOSTEEN (*Garcinia mangostana L.*)

Wiwin Supiyanti, Endang Dwi Wulansari dan Lia Kusmita*)

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang

ABSTRAK

Buah manggis dengan nama latin *Garcinia mangostana L.* mendapat julukan Queen of tropical fruit (Ratunya Buah-buahan Tropik). Kulit buah manggis berwarna ungu kehitaman. Diduga kulit buah manggis mengandung senyawa antosianin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah manggis dan kandungan antosianin total dalam kulit buah manggis. Obyek penelitian adalah kulit buah manggis yang sudah layak untuk dikonsumsi. Kulit buah manggis dihaluskan kemudian direndam dengan pelarut metanol yang mengandung HCl 1%. Dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan penentuan kandungan antosianin total dalam kulit buah manggis menggunakan metode perbedaan pH. Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah manggis meliputi uji aktivitas antioksidan secara kualitatif berupa lempeng KLT ekstrak kulit buah manggis disemprotkan penampak bercak DPPH 0,1 mM menghasilkan bercak kuning pucat dengan latar belakang ungu. Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif berdasarkan parameter EC₅₀ menggunakan metode DPPH dengan pembanding vitamin C. Diperoleh nilai EC₅₀ sebesar 8,5539 µg/mL dan nilai EC₅₀ vitamin C adalah 3,3676 µg/mL. Rata-rata kandungan antosianin total dalam kulit buah manggis adalah 59,3 mg dalam 100 gram kulit buah manggis.

Kata kunci : antosianin, kulit buah manggis, *Garcinia mangostana L.*, antioksidan

ABSTRACT

Mangosteen fruit with latin name *Garcinia mangostana L.* got the nickname Queen of tropical fruit (Tropical Fruits queen). Most of the mangosteen fruit is consumed in fresh condition. Mangosteen rind purple black. Mangosteen rind allegedly containing anthocyanin compounds. This study aimed to determine antioxidant activity of bark extracts of the mangosteen fruit and the total anthocyanin content in the rind of the mangosteen fruit. Object of research is that the mangosteen rind has been good to consume. Mangosteen rind mashed and then soaked with methanol containing 1% HCl. Antioxidant activity test mangosteen rind extract includes a qualitative test of antioxidant activity of extracts of TLC plates sprayed mangosteen rind 0.1 mM DPPH reagent produces patches of pale yellow with a purple background. Quantitative test of antioxidant activity based on the parameters EC₅₀ using DPPH method with the comparison of vitamin C. Obtained EC₅₀ value of 8.5539 tg/mL and EC₅₀ values of vitamin C is 3.3676 tg/mL. Average total anthocyanin content in the skin of the mangosteen fruit is 59.3 mg in 100 grams of the mangosteen rind.

Key words: anthocyanin, rind of mangosteen, *Garcinia mangostana L.*, antioxidants

PENDAHULUAN

Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana L.*) adalah salah satu buah asli negara tropik yang mempunyai nilai ekonomis yang cukup tinggi.

*Korespondensi : Lia Kusmita

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan
Pharmasi Semarang
Email : lia_kusmita@yahoo.com

Manggis di luar negeri dikenal sebagai "Queen of Fruits" dan "The Finest Fruit of Tropis", karena memiliki keistimewaan dari warna kulit, daging buah dan mempunyai rasa yang unik yaitu manis, asam serta menyegarkan. Selain itu, manggis juga memiliki nilai gizi yang tinggi. Salah satu nilai gizinya adalah sebagai sumber vitamin dan mineral yang sangat bermanfaat bagi tubuh manusia.

Buah manggis merupakan buah yang mempunyai banyak keunggulan dibandingkan buah lainnya. Bagian kulit buah manggis dapat dimanfaatkan sebagai penghasil zat warna alami yang dapat digunakan sebagai pewarna makanan, juga dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, antidiare dan antikanker. Pemanfaatan kulit buah manggis belum maksimal. Penampilan kulit buah manggis yang berwarna ungu menunjukkan ada pewarna alami yang terkandung didalamnya. Salah satu senyawa flavonoid yang terkandung dalam kulit buah manggis adalah antosianin, untuk itu perlu diteliti kandungan antosianin total dalam kulit buah manggis untuk memperoleh sumber zat warna alami. Antosianin diketahui dapat berfungsi sebagai antioksidan (Jordheim, 2007) sehingga perlu dilakukan penelitian aktivitas antioksidan kulit buah manggis.

Antosianin adalah pigmen yang bisa larut dalam air. Secara kimiawi antosianin bisa dikelompokkan dalam golongan flavonoid (Harborne, 1984 : 81) dan fenolik (Steed dan Truong, 2008). Zat tersebut berperan dalam pemberian warna terhadap bunga atau bagian tanaman lain dari mulai merah, biru sampai ke ungu termasuk juga kuning (Samsudin dan Khoiruddin, 2008).

Antioksidan adalah zat yang dapat menangkal atau mencegah reaksi oksidasi dari radikal bebas (Haila, 1999; Chang, *et al.*, 2002). Oksidasi merupakan suatu reaksi kimia yang mentransfer elektron dari satu zat ke oksidator. Reaksi oksidasi dapat menghasilkan radikal bebas dan memicu reaksi berantai, menyebabkan kerusakan sel dalam tubuh. Radikal bebas sangat berbahaya karena dapat merusak jaringan tubuh yang dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti kanker, tekanan darah tinggi, jantung koroner, diabetes melitus, katarak, proses penuaan dini, dan lain-lain (Haila, 1999; Buratti , *et al.*, 2001; Chang, *et al.*, 2002; Rahmat, *et al.*, 2003; Shivashankara, *et al.*, 2004).

Vitamin C disebut juga asam askorbat, merupakan senyawa yang banyak terdapat pada buah-buahan seperti jeruk, mangga, tomat, markisa ataupun daging buah manggis. Adanya vitamin C yang terkandung pada buah menyebabkan rasa kecut apabila dikonsumsi. Vitamin C dapat berfungsi sebagai antioksidan.

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah manggis dengan pembanding vitamin C dan kandungan antosianin total dalam kulit buah manggis.

METODOLOGI

Objek yang diteliti dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah manggis dan kandungan antosianin total dalam kulit buah manggis. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah manggis yang berasal dari kecamatan Bandungan, Kabupaten Ungaran, Kota Semarang. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah teknik *purposive sampling*.

Teknik pengumpulan data yaitu uji pendahuluan dengan melakukan uji warna, penentuan nilai R_f secara kromatografi dan mengidentifikasi pola spektrum antosianin secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 200 nm - 600 nm, uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah manggis dan penentuan kandungan antosianin total dalam kulit buah manggis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah manggis, etanol p.a, hidrogen klorida (HCl) p.a, silika gel GF₂₅₄, butanol p.a, asam asetat glasial, natrium asetat p.a, kalium klorida p.a, vitamin C, metanol p.a, aquadest, serbuk DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil)

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortir, lempeng kaca kromatografi lapis tipis preparatif, erlenmeyer 250 mL, gelas ukur 10 mL dan 100 mL, beaker glass, anak timbangan, neraca, batang pengaduk, pipa kapiler, kertas jenuh, kertas saring whatman, tabung reaksi, pipet volume, pipet ukur, filler, cawan porselen, blender, corong pisah, chamber, kaca penutup chamber, labu takar, spektrofotometer UV-Vis mini 1240, kuvet, mikropipet dan pipet tetes.

Cara kerja

Ekstraksi kulit buah manggis

Kulit buah manggis diblender sampai halus kemudian diekstraksi dengan ditambahkan pelarut metanol yang mengandung HCl 1% pekat sampai semua bahan terendam selama 1 jam. Kemudian ampas kulit manggis diperas dengan kain flanel dan ekstrak disaring dengan kertas saring. Filtrat diuapkan sampai terbentuk ekstrak kulit buah manggis yang kental. Ekstrak yang dihasilkan digunakan untuk uji identifikasi antosianin dan uji aktivitas antioksidan.

Uji identifikasi antosianin

Uji pendahuluan berupa uji warna

Dilakukan dengan cara ekstrak kulit buah manggis ditambahkan HCl 2M dipanaskan 100°C selama 5 menit. Hasil positif bila timbul warna merah. Juga ditambahkan NaOH 2M tetes demi

tetes sambil diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif bila timbul warna hijau biru yang memudar berlahan-lahan (Harborne, 1987).

Uji kromatografi lapis tipis (KLT)

Menggunakan fase gerak yang berbeda, yaitu HCl 1% dan BAA (butanol:asam asetat:air dengan perbandingan 4:1:5; lapisan atas) dan dihitung nilai R_f (Harborne, 1987 : 84). Nilai R_f antosianin dalam fase gerak HCl 1% adalah rendah sampai pertengahan dan nilai R_f antosianin dalam fase gerak BAA adalah sedang (0,10 – 0,40).

Pengamatan λ maksimal dan pola spektrum antosianin.

KLT preparatif dilakukan terhadap ekstrak kulit buah manggis dengan fase gerak BAA (4:1:5; lapisan atas) dan fase diam silika gel GF₂₅₄. Bercak yang terbentuk dari KLT preparatif dikerok, dilarutkan dengan metanol HCl 1% dan diamati spektrumnya pada panjang gelombang 200 nm – 600 nm (Markham, 1988 : 53). Panjang gelombang maksimal antosianin pada rentang 505 nm – 535 nm.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah manggis

Uji aktivitas antioksidan secara kualitatif

Ekstrak dari kulit buah manggis ditotolkan pada lempeng silika gel GF₂₅₄ yang selanjutnya dielusi dengan fase gerak butanol : asam asetat glasial : air (BAA) (4:1:5). Setelah elusi selesai lempeng dikeringkan dan disemprotkan dengan larutan DPPH 0,1 mM dalam metanol. Komponen ekstrak yang bersifat antiradikal bebas menghasilkan bercak kuning pucat dengan latar belakang ungu dalam waktu 30 menit (Calvin, 1998 : 394).

Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan metode DPPH (Andayani *et al.*, 2008).

Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah manggis dilakukan dengan cara sebanyak 4,0 mL DPPH 0,1 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 50 μ L ekstrak dengan kadar tertentu (0,04%; 0,08%; 0,12%; 0,16%; 0,20%) kemudian divortex 1 menit sampai tercampur rata lalu didiamkan 30 menit dalam tabung gelap. Serapan larutan diukur secara spetrofotometri pada panjang gelombang 515 nm. Blanko yang digunakan adalah metanol. Sebagai pembanding digunakan vitamin C (0,01%; 0,02%; 0,03%; 0,04% dan 0,05 %) dengan perlakuan yang sama dengan ekstrak. Kemudian dihitung %

aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah manggis dan vitamin C dengan rumus :

$$\% \text{ aktivita} = \frac{\text{serapan kontrol} - \text{serapan larutan uji}}{\text{serapan kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Serapan kontrol: Serapan DPPH dengan konsentrasi 0,1 mM;

Serapan larutan uji: Serapan hasil reaksi antara 4,0 mL DPPH konsentrasi 0,1 mM dengan 50 μ L ekstrak kulit buah manggis.

EC₅₀ dihitung dari kurva regresi linear antara ekstrak kulit buah manggis dan pembanding vitamin C pada berbagai konsentrasi uji versus % aktivitas antioksidan.

Uji kandungan antosianin total dalam kulit buah manggis dengan metode perbedaan pH.

Kulit buah manggis yang telah diblender halus dilarutkan dengan dapar KCl pH 1,0 dan dapar dapar CH₃CO₂Na.3H₂O pH 4,5. Lalu larutan pada kondisi pH yang berbeda tersebut diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm. Kandungan antosianin total dalam kulit buah manggis dihitung menggunakan perhitungan dengan koefisien ekstingsi molar (ϵ) sebesar 29.600 (berdasar koefisien ekstingsi molar dari sianidin-3 glukosida) dan bobot molekul sebesar 449,2 sebagai berikut :

$$\text{Total antosianin (mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times 1}$$

Keterangan :

A : (A_{520 nm} – A_{700 nm})pH 1 – (A_{520 nm} – A_{700 nm})pH 4,5

E : koefisien ekstingsi molar (L x mol⁻¹ x cm⁻¹)

MW : Bobot molekul

DF : Faktor pengenceran

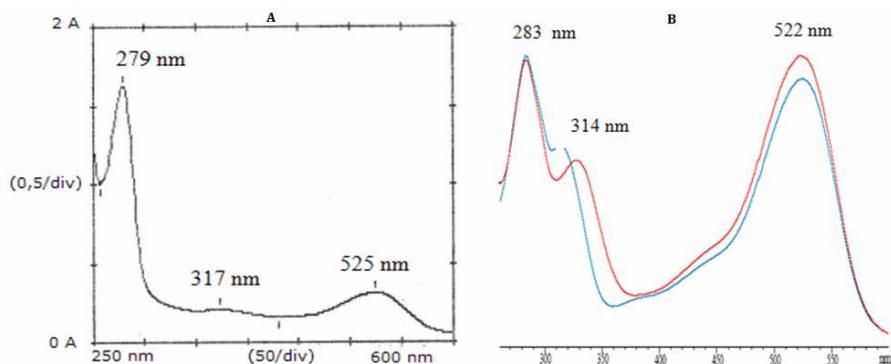
1 : Tebal kuvet (1 cm) (Lee, *et al.*, 2005)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Salah satu senyawa flavonoid dalam kulit buah manggis adalah antosianin. Antosianin merupakan pigmen yang menyebabkan warna merah sampai warna biru pada kulit buah-buahan maupun sayuran. Identifikasi awal antosianin dari ekstrak kulit buah manggis dilakukan dengan menggunakan uji warna terhadap ekstrak kulit buah manggis dengan penambahan NaOH 2M dan HCl 2M. Identifikasi selanjutnya menggunakan kromatografi lapis tipis dengan dua macam fase gerak serta melihat spektrum isolat dari hasil kromatografi lapis tipis preparatif. Hasil identifikasi antosianin dari ekstrak kulit buah

Tabel I. Uji identifikasi antosianin ekstrak kulit buah manggis

Uji	Penelitian	Hasil
		Harborne, 1987
Dipanaskan dengan HCl 2M selama 5 menit pada suhu 100°C	Warna tetap	Warna tetap (dapat diekstraksi dengan amil alkohol)
Ditambahkan larutan NaOH 2M tetes demi tetes	Warna berubah menjadi hijau dan memudar berlahan-lahan	Warna berubah menjadi hijau biru dan memudar perlahan-lahan
Kromatografi dengan fase gerak HCl 1%	Rf : 0,58	Rf rendah sampai pertengahan
Kromatografi dengan fase gerak BAA	Rf: 0,25	HRf sedang (10-40)
Spektrum dalam pelarut metanol-HCl	Panjang gelombang maksimal 525 nm	Panjang gelombang maksimal antara 505 nm - 535 nm



Gambar 1. Spektrum UV hasil KLT preparatif, dengan panjang gelombang maksimal 279 nm, 317 nm dan 525 nm (A) dan spektrum sianidin (B).

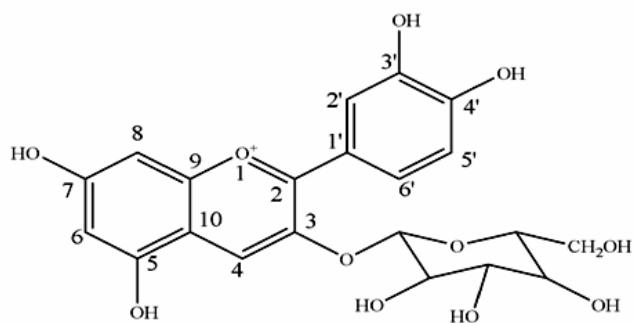
manggis dibandingkan dengan hasil sesuai literatur Harborne (1987) dapat diamati di tabel I.

Salah satu faktor yang mempengaruhi warna dari antosianin adalah pH. Sifat asam akan menyebabkan warna antosianin menjadi merah, sedangkan sifat basa menyebabkan antosianin menjadi biru. Selain faktor pH, konsentrasi pigmen, adanya campuran dengan senyawa lain (kopigmentasi), jumlah gugus hidroksi dan metoksi juga mempengaruhi warna dari antosianin (Satyatama, 2008). Jumlah gugus hidroksi yang dominan menyebabkan warna cenderung biru dan relatif tidak stabil. Sedangkan jumlah gugus metoksi yang dominan dibandingkan gugus hidroksi pada struktur antosianidin, menyebabkan warna cenderung merah dan relatif lebih stabil.

Identifikasi untuk mengetahui pola spektrum antosianin menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan cara ekstrak-

kulit buah manggis ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif kemudian dielusi menggunakan fase gerak BAA (4 : 1 : 5). Hasil spektrum yang dihasilkan pada panjang gelombang 200 - 600 nm. Pengukuran spektrum pada panjang gelombang 200 - 600 nm dihasilkan puncak pada panjang gelombang 279 nm, 317 nm dan 525 nm. Puncak pada panjang gelombang 279 nm dan 525 nm menunjukkan ciri dari senyawa antosianin. Antosianin jenis sianidin (3,5,7,3',4')-3-glukosida memiliki panjang gelombang maksimal 275 nm dan 523 nm (Markham, 1982).

Hasil tersebut juga didukung oleh Jordheim (2007) yang mengukur spektrum senyawa antosianin golongan sianidin pada biji jarak (*Ricinus communis*) mempunyai serapan maksimal pada panjang gelombang (gambar 1B) (biru) 283 nm, 314 nm dan 522 nm. Struktur sianidin 3-glukosida ditunjukkan di Gambar 2.



Gambar 2. Spektrum UV hasil KLT preparatif, dengan panjang gelombang maksimal 279 nm, 317 nm dan 525 nm (A) dan spektrum sianidin (B).



Gambar 3. Hasil KLT ekstrak kulit buah manggis yang disemprotkan dengan larutan DPPH 0,1 mM.

Tabel II. Kadar antosianin total kulit buah manggis

Replikasi	Kadar antosianin
1	0,0828%
2	0,0714%
3	0,0525%
4	0,0481%
5	0,0418%
Rata-rata	0,0593%

Berdasarkan uji warna, penentuan nilai *Rf* dan perolehan panjang gelombang maksimal yang dihasilkan dengan pengukuran spektrum menggunakan spektrofotometer UV-Vis, kemungkinan kulit buah manggis mengandung antosianin jenis sianidin. Untuk memastikannya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai elusidasi struktur dari antosianin yang terdapat dalam ekstrak kulit buah manggis.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah manggis secara kualitatif dilakukan secara KLT dengan mengamati bercak yang tampak setelah disemprot DPPH 0,1 mM. Hasil menunjukkan

positif sebagai antioksidan apabila senyawa yang disemprot berwarna kuning dengan latar berwarna ungu. Ekstrak kulit buah manggis menunjukkan hasil yang positif sebagai antioksidan seperti di Gambar 3.

Gambar 2 menunjukkan bahwa kulit buah manggis memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif adalah metode serapan radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Panjang gelombang 515 nm merupakan panjang gelombang maksimum dari DPPH 0,1 mM. Mengacu penelitian Andayani *et al.*,

(2003) waktu pendiaman (*operating time*) DPPH adalah 30 menit dengan asumsi dalam waktu 30 menit DPPH sudah bereaksi sempurna.

Suatu senyawa dikatakan antioksidan sangat kuat jika nilai EC₅₀ kurang dari 50 µg/mL, kuat jika EC₅₀ bernilai 50 µg/mL sampai 100 µg/mL, sedang jika EC₅₀ bernilai 100 µg/mL sampai 150 µg/mL dan lemah jika EC₅₀ bernilai 151 µg/mL sampai 200 µg/mL(Anonim, 2005). Uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah manggis menggunakan metode DPPH pada konsentrasi 4,94 µg/mL; 9,88 µg/mL; 14,82 µg/mL; 19,76 µg/mL; 24,7 µg/mL diperoleh nilai EC₅₀ sebesar 8,5539 µg/mL. Uji aktivitas antioksidan vitamin C menggunakan metode DPPH pada konsentrasi 1,23 µg/mL; 2,46 µg/mL; 3,69 µg/mL; 4,92 µg/mL, dan 6,15 µg/mL diperoleh nilai EC₅₀ sebesar 3,3676 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa nilai EC₅₀ ekstrak kulit buah manggis lebih besar dari vitamin C. Semakin kecil nilai EC₅₀ berarti semakin besar daya antioksidan. Walaupun daya antioksidan vitamin C 2,5 kali lebih kuat dari ekstrak kulit buah manggis, tetapi hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah manggis mempunyai daya antioksidan yang sangat kuat, karena nilai EC₅₀ kurang dari 50 µg/mL.

Kondisi pH 1,0 antosianin dalam bentuk oksanium berwarna yang mewakili jumlah antosianin dan senyawa - senyawa pengganggu. Sedangkan pada pH 4,5 antosianin dalam bentuk hemiketal dan terjadi penurunan intensitas warna sampai tidak berwarna sehingga serapan yang terbaca kecil atau tidak menimbulkan serapan, sehingga serapan yang ada adalah serapan yang mewakili jumlah senyawa pengganggu. Serapan antosianin yang dilarutkan dalam dapar dengan berbagai kondisi pH diukur pada panjang gelombang 520 nm yang merupakan panjang gelombang maksimal dari sianidin 3-glikosida, sedangkan serapan pada panjang gelombang maksimal 700 nm dilakukan sebagai faktor koreksi.

Dilakukan lima kali replikasi pada penentuan kandungan total antosianin dalam kulit buah manggis dan kadarnya dinyatakan dalam satuan gram/100gram bobot kulit buah. Hasil percobaan diperoleh kandungan total antosianin seperti di Tabel 2.

Hasil yang diperoleh memperlihatkan bahwa kadar total antosianin dalam kulit buah manggis sekitar 59,3 mg/100 gram. Berdasarkan hasil tersebut kadar antosianin total kulit buah manggis lebih besar dibandingkan dengan kadar antosianin total buah strawberry segar (*Fragaria*

Ananassa), yaitu sebesar 35 mg/100 gram (Gould, 2009). Berdasarkan hasil tersebut kulit buah manggis merupakan sumber antosianin yang lebih potensial dibandingkan buah strawberry. Sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sumber zat warna alami juga sebagai antioksidan alami.

KESIMPULAN

Ekstrak kulit buah manggis mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai EC₅₀ adalah 8,5539 µg/mL dan nilai EC₅₀ vitamin C adalah 3,3676 µg/mL Kulit buah manggis mengandung antosianin dengan rata-rata kadar antosianin total adalah 59,3 mg/100 gram.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., Lisawati, Y dan Maimuna. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen pada Buah Tomat (*Solanum Lycopersicum L*). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi* 13 (1) : 31-37
- Anonim. Online 2005. *Tanaman Obat Indonesia*. <http://www.iptek.go.id>
- Buratti, S., Pellegrini, Nicoletta., Brenna, O. V. dan Mannino, Saverio. 2001. Rapid Electrochemical Method for the Evaluation of the Antioxidant Power of Some Lipophilic Food Extracts. *J. Agric. Food Chem* 49 : 5136-5141
- Chang, L, Yen, Wen-Jhe., Huang, S. C. and Duh., Pir-Der. 2002. Antioxidant activity of sesame coat. *Food Chemistry* 78 : 347-354
- Cavin, A., Hostetman, K., Dyatmiko, W., Potterat, O. 1998. Antioksidant and Lipophilic Constituents of *Tinospora Crispa*. *Planta Medica* 64 : 393-396
- Gould, k., Davies M. K and Winefield K. 2009. *Anthocyanins: biosynthesis, functions, and applications*. New York : Springer
- Haila, K. 1999. *Effects of Carotenoids and Carotenoid-Tocopherol Interaction on Lipid Oxidation In Vitro*. University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology Helsinki
- Jordheim, M. 2007. *Isolation, Identifikation and Properties of Pyranoanthocyanins and Anthocyanin Form*. Disertasi. Norway : Department of Chemistry University of Bergen
- Lee, J. 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method:

- Collaborative Study. *Journal Of AOAC International*, 88 (5) : 1269
- Rahmat, A., Kumar, V., Fong, L. M., Endrini, S. dan Sani, H. A. 2003. Determination of total antioxidant activity in three types of local vegetables shoots and the cytotoxic effect of their ethanolic extracts against different cancer cell lines. *Asia Pasific J Clin Nutr* 12(3) : 292-295
- Samsudin, A.M., dan Khoiruddin. 2008. Ekstraksi, Filtrasi Membran dan Uji Stabilitas Zat Warna dari Kulit Manggis (*Garcinia mangostana*). (Makalah Penelitian). Jurusan Teknik Kimia. Universitas Diponegoro
- Satyatama, D. I. 2008. Pengaruh Kopigmentasi Terhadap Stabilitas Warna Antosianin Buah Duwet (*Syzygium cumini*). Tesis : Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor
- Shivashankara, K. S., Isobe, Seiichiro., Al-Haq, M. I., Takenaka, Makiko dan Shina, Takeo., 2004. Fruit Antioxidant Activity, Ascorbic Acid, Total Phenol, Quercetin, and Carotene of Irwin Mango Fruits Stored at Low Temperature after High Electric Field Pretreatment. *J. Agric. Food Chem* 52 : 1281-1286
- Steed, L.E dan V. D. Truong. 2008. Anthocyanin Content, Antioxidant Activity, and Selected Physical Properties of Flowable Purple-Fleshed Sweetpotato Purees. *Journal of Food Science* 73 (5) : 215-221