

IDENTIFIKASI FITOKIMIA DAN KARAKTERISASI ANTOSIANIN DARI SABUT KELAPA HIJAU (*COCOS NUCIFERA L VAR VARIDIS*)

Identification of Phytochemical and Characterization of Anthocyanin Green Coconut Fiber (Cocos nucifera L var varidis)

Rista Anggriani*, Nurul Ain, Syaiful Adnan
Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan – Fakultas Teknologi Pertanian Peternakan –
Universitas Muhammadiyah Malang
Jalan Tlogomas No. 246 Malang

*Penulis Korespondensi: email: anggriani_riesta@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia dan mengarakterisasi antosianin pada sabut kelapa hijau. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kasar metanol yang mengandung HCl 1% dari sabut kelapa hijau mengandung antosianin sebagai salah satu flavonoid dengan kandungan 8.34 mg/100 g berat basah. Hasil LC/MS menyatakan bahwa terdapat 4 jenis antosianin didalamnya yakni Cyanidin-3-O-glucoside, Peonidin-3-O-glucoside, Cyanidin-3-O-(6"-O-coumaroyl)-glucoside, Petunidin-3-O-glucoside. Hasil ini menunjukkan bahwa sabut kelapa hijau dapat berpotensi sebagai sumber pigmen antosianin alami

Kata kunci : Antosianin, Sabut Kelapa Hijau, Uji Fitokimia

ABSTRACT

The objective of this study was to identify photochemical and characterize anthocyanin of green coconut fiber. The result of phytochemical screening of methanol HCl 1% extract showed the presence of anthocyanin 8.34 mg/100 g (wb) as one of flavonoid. Moreover, LC/MS confirmed 4 types of anthocyanin detected such as Cyanidin-3-O-glucoside, Peonidin-3-O-glucoside, Cyanidin-3-O-(6"-O-coumaroyl)-glucoside, Petunidin-3-O-glucoside. This study recommend that green coconut fiber can potentially as a source of natural anthocyanin

Keywords: Anthocyanin, Green Coconut Fiber, Phytochemical Analysis

PENDAHULUAN

Dewasa ini, bumi sebagai tempat tinggal merupakan lingkungan yang kaya akan radikal bebas, penyebab beberapa macam penyakit, misalnya kelainan organ hati (Buttriss, 1988; Duthie, 1990; Rachmawati, 2003). Radikal bebas (*free radical*) atau sering juga disebut senyawa oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ROS*) adalah sebuah molekul atau atom yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas bersifat tidak stabil, sangat reaktif dan dapat merebut elektron dari molekul lain dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya. Sistem pertahanan tubuh untuk melawan radikal bebas dapat dilakukan dengan mengonsumsi ba-

han pangan yang mengandung zat-zat gizi antioksidan maupun antioksidan non gizi (komponen bioaktif). Ada dua kelompok sumber antioksidan, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami atau yang terkandung dalam bahan alami) (Astuti, 2008).

Antosianin merupakan senyawa organik dari keluarga flavonoid yang larut dalam air yang memberikan warna merah, biru, violet, yang juga berperan sebagai antioksidan. Pigmen antosianin merupakan pigmen yang amat potensial yang tersebar luas ditemukan pada bahan alami yang menyumbangkan warna oranye, merah muda, merah, ungu hingga biru (Li, 2009). Beberapa

senyawa antosianin yang paling banyak ditemukan adalah pelargonidin, peonidin, sianidin, malvidin, petunidin, dan delphinidin (Adams, 1981; Lestario *et al.*, 2011; Praja, 2015; Weber dan Larsen, 2017). Pada beberapa penelitian disebutkan bahwa aktivitas antioksidan antosianin lebih besar 2-6 kali dibandingkan antioksidan umum lain seperti asam askorbat (Prior *et al.*, 1998; Luzia dan Jorge, 2012; Jorge dan Andreo, 2013).

Terdapat beberapa jenis bahan alami yang berpotensi mengandung antosianin, diantaranya adalah kelapa hijau. Kelapa hijau mempunyai ciri khas yang dapat dibedakan dari dua jenis kelapa lainnya, kelapa coklat dan kelapa gading, yakni dari sabut kelapanya yang berwarna merah muda. Selama ini kelapa hijau hanya dikenal manfaat airnya saja dalam mengatasi berbagai penyakit seperti untuk mengatasi keracunan, pereda panas luka bakar bahkan mengatasi sumbatan arteri jantung. Tingginya konsumsi kelapa hijau inilah yang menyebabkan banyak limbah sabut dari kelapa hijau (Hengky, 1994; Subiyanto, 2000). Komposisi buah kelapa yaitu sabut kelapa 35%, tempurung 12%, daging buah 28% dan air buah 25% (Tan *et al.*, 2014; Sengupta dan Basu, 2016; Arivalagan *et al.*, 2018). Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi senyawa fitokimia dan karakterisasi antosianin dengan memanfaatkan limbah sabut kelapa hijau yang melimpah, sehingga hasil penelitian ini dapat menggali potensi pigmen antosianin sebagai zat pewarna alami dari sumber daya alam Indonesia seperti dari limbah sabut kelapa.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah sabut kelapa hijau. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain akuades, methanol (p.a), heksana (p.a), HCl (p.a), NaOH (p.a), FeCl₃ (p.a), pita kecil Mg, ammonia (p.a), asam sulfat (p.a), reagen dragendorff, DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil), butanol (p.a), asam asetat (p.a), kertas saring (Whatman No. 1).

Alat

Peralatan yang digunakan antara lain *glassware*, *hot plate* merk Favorit HSD707,

timbangan analitik merk Mettler Toledo, rotary evaporator Hanshin, Vortex Barnstead tipe 37600, Sentrifugator PLC-03, Spektrofotometer *single beam* Caliesys, Spektrofotometer *double beam* Shimadzu UV-1800, Lampu UV Vilber Loumat.

Metode

Prosedur Penelitian

Persiapan Sampel Serabut Kelapa Hijau

Sabut kelapa hijau dipilih yang masih segar dengan warna sabut merah muda. Sabut yang sudah terlalu lama terekspos udara dengan warna sabut kelapa hijau berubah menjadi coklat kehitaman tidak dipilih. Selanjutnya, sabut kelapa hijau dipotong kecil kecil.

Uji Pelarut untuk Ekstraksi Serabut Kelapa Hijau

Potongan sabut kelapa hijau di maserasi selama satu malam pada suhu $\pm 5^\circ\text{C}$, dengan tiga jenis pelarut yang berbeda polaritas yakni akuades, metanol, dan heksana. Pelarut yang mampu melarutkan warna sabut kelapa hijau dipilih untuk proses ekstraksi selanjutnya.

Ekstraksi Sampel Serabut Kelapa Hijau

Potongan sabut kelapa hijau di maserasi dengan metanol yang mengandung 1% HCl dengan perbandingan sampel terhadap pelarut 1:4 (b/v), selama satu malam pada suhu $\pm 5^\circ\text{C}$. Filtrat disaring dengan kertas Whatman No. 1, lalu supernatan di maserasi kembali dengan metanol yang mengandung 1% HCl. Prosedur yang sama diterapkan pada supernatan tersebut untuk maserasi yang kedua. Hasil filtrasi yang kedua digabung dengan filtrat yang pertama kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator suhu 50°C , kecepatan 80 rpm untuk mendapatkan ekstrak kasar.

Analisa Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

Uji Alkaloid dilakukan dengan metode Dragendorff. Sampel sebanyak 3 ml diletakkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan methanol sebanyak 5 ml, lalu ditambahkan 3 ml ammonia hingga nilai pH 8-9. Ekstrak methanol disaring kemudian ditambahkan 2 ml asam sulfat dan dikocok untuk mendapatkan 2 lapisan. Lapisan atas (sulfat) diambil 5 tetes kemudian diberi 1 tetes pereaksi Dragen-dorf dan terbentuknya endapan jingga menunjukkan adanya alkaloid (Marliana *et al.*, 2005).

Uji Saponin

Uji Saponin dilakukan dengan metode *Forth* yaitu dengan cara memasukkan 2 ml sampel ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml akuades lalu dipanaskan selama 2-3 menit, dan didinginkan. Setelah itu dikocok selama 30 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya saponin (Marliana *et al.*, 2005).

Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan metode Shinoda. Sebanyak 0.5 ml sampel diteteskan pada gelas preparat. Selanjutnya ditambahkan 3 tetes methanol dan diaduk hingga homogen. Setelah itu ditambahkan potongan kecil pita Mg, lalu diberikan 3 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna kuning, oranye, merah atau biru menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid (Markham dan Wallace, 1980).

Uji Fenolik

Sebanyak 0.50 ml sampel diteteskan pada gelas preparat, selanjutnya ditambahkan 3 tetes methanol dan diaduk hingga homogen, kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 5%. Terbentuknya warna hijau, merah, ungu atau biru menunjukkan adanya senyawa golongan fenolik (Marliana *et al.*, 2005).

Uji Penegasan Flavonoid dengan TLC (*Thin Layer Chromatography*)

Filtrat pada skrining fitokimia flavonoid ditutul pada plat silika gel 60 F254, kemudian diusap dengan butanol : asam asetat : air sebanyak 3:1:1, kemudian dikeringkan dan diamati menggunakan sinar UV 254 nm dan 366 nm. Selanjutnya, plat disemprot dengan amonia, dikeringkan dan diamati kembali dengan sinar UV 254 nm dan 366 nm (Marliana *et al.*, 2005).

Uji Pembuktian Antosianin Secara Kualitatif

Pembuktian keberadaan antosianin dapat dilakukan dengan cara yang sederhana. Cara yang pertama adalah sampel dipanaskan dengan HCl 2M selama 2 menit pada suhu 100 °C, kemudian diamati warna sampel. Apabila warna merah pada sampel tidak berubah (mantap), maka menunjukkan adanya antosianin. Cara kedua dengan menambahkan sampel dengan NaOH 2M tetes demi tetes. Apabila warna merah berubah

menjadi hijau biru dan memudar perlahan maka menunjukkan adanya antosianin (Lestario *et al.*, 2011).

Total Antosianin

Penentuan kandungan antosianin total dilakukan dengan metode pH perbedaan (Giusti dan Wrolstad, 1996). Ekstrak antosianin dilarutkan dalam buffer KCl-HCl (1 M, pH 1) dan buffer NaOAc (1 M, pH 4.5) dengan perbandingan ekstrak terhadap buffer adalah 1:5 (v/v). Masing-masing larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm setelah diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang, hasilnya dimasukkan ke Persamaan 1.

$$A = [(A_{510-A700}) \text{ pH } 1 - (A_{510-A700}) \text{ pH } 4.5] \dots\dots\dots(1)$$

Selanjutnya, hasil perhitungan tersebut dimasukkan ke dalam hukum Lambert-Beer, yakni $A = \epsilon \cdot L \cdot C \cdot \epsilon$ dan berat molekul mengikuti antosianin sianidin-3-glukosida (koefisien ekstingsi 26.900 L mol⁻¹ cm⁻¹ dan berat molekul 449.20 g mol⁻¹).

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan diukur dengan metode penangkapan radikal bebas dengan DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil), yaitu 1 ml 0.10 mM DPPH (pelarut methanol) ditambah dengan 1 ml sampel (konsentrasi akhir 200 ppm), lalu diencerkan dengan methanol sampai 5 ml. Selanjutnya diamkan selama 30 menit, dibuat juga blanko dengan cara yang sama tetapi tidak memakai ekstrak buah, kemudian dilakukan pengukuran absorbans pada λ optimum. Aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan membandingkan absorbansi sampel dengan blanko, dengan rumus Aktivitas Antioksidan (100%) = $\{1 - (A \text{ sampel} / A \text{ blanko})\} \times 100\%$. Kapasitas antioksidan (persen inhibisi) untuk menghambat radikal bebas menurut Andayani *et al.* (2008) ditentukan dengan Persamaan 2.

$$\% \text{inhibisi} = ((A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}) : A_{\text{kontrol}}) \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

Dengan Abs kontrol adalah nilai serapan (Abs) larutan kontrol pada panjang gelombang optimum, dan Abs Sampel merupakan nilai serapan (Abs) larutan uji atau larutan pembanding pada panjang gelombang optimum (Ninan *et al.*, 2007).

Analisa Komposisi Antosianin dengan LC/MS (Liquid Chromatography/Mass Spectra)

Antosianin dari ekstrak metanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau diidentifikasi dengan metode yang sistematis menggunakan *Mass Spectrometry* (MS) yang dipasangkan dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan menggunakan metode dari TSQ Quantum Instrument. Kolom yang digunakan berupa Hypersil Gold dengan ukuran 50 mm x 2.1 mm x 1.9 μ m. Selanjutnya karakterisasi antosianin dilakukan dengan *Selected Reaction Monitoring* (SRM).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Sampel Sabut Kelapa Hijau

Proses ekstraksi dimulai dengan uji pelarut dengan range kepolaran dari polar sampai yang non polar untuk mengetahui kelarutan pigmen dari sabut kelapa hijau (Tabel 1). Hasil dari uji pelarut tersebut menunjukkan bahwa pigmen yang terdapat pada sabut kelapa hijau larut dalam pelarut metanol yang bersifat semi polar. Sifat fisik dan kimia dari antosianin dilihat dari kelarutan antosianin dalam pelarut polar seperti metanol, aseton, atau kloroform terlebih sering dengan air dan diasamkan dengan asam klorida atau asam format. Antosianin stabil pada pH 3-5 dan suhu 50°C (Harborne, 1987; Guan dan Zhong, 2015; Prietto *et al.*, 2017). Proses ekstraksi selanjutnya pada penelitian ini dilakukan dengan pelarut metanol dengan penambahan 1% senyawa asam (HCl) untuk menstabilkan antosianin yang mungkin terekstrak pada sabut kelapa hijau dan dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 50 °C. Pada antosianin dari sumber lain seperti buah duwet juga diekstraksi menggunakan pelarut metanol 0.1% (Sari *et al.*, 2009). Bahan pangan lain yang mengandung antosianin juga akan mengalami perubahan warna, yakni pada pH rendah akan berwarna merah dan pada pH tinggi akan berubah menjadi violet dan kemudian menjadi biru (Octavia dan Choo, 2017; Ogawa *et al.*, 2017; Prietto *et al.*, 2017; Qian *et al.*, 2017). Hasil dari ekstraksi sabut kelapa hijau (Tabel 2) menunjukkan bahwa ekstrak kasar yang didapatkan berwarna kuning kecoklatan dengan rendemen yang dihasilkan sekitar 45%. Warna kuning kecoklatan tersebut merupakan

flavonoid yang mempunyai ciri khas warna yang dimunculkan dari tak berwarna sampai kekuningan (Adams, 1981; Wang *et al.*, 2018). Ekstrak inilah yang digunakan untuk analisa berikutnya untuk mengetahui senyawa fitokimia yang terdapat dalam ekstrak kasar tersebut.

Uji Skrining Fitokimia

Hasil uji skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 3, yang menunjukkan bahwa kandungan kimia yang terdapat pada ekstrak methanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau adalah flavonoid dan alkaloid. Hal ini memperkuat dugaan bahwa ketika ekstraksi yang terekstrak dari sabut kelapa hijau merupakan flavonoid.

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kalium alkaloid, sedangkan hasil positif pada uji Shinoda yang ditandai dengan warna jingga dihasilkan oleh ikatan kovalen koordinasi antara ion magnesium dengan gugus OH fenolik senyawa flavonoid (Marliana *et al.*, 2005).

Uji Penegasan Flavonoid dengan TLC (Thin Layer Chromatography)

Prosedur uji TLC (*Thin Layer Chromatography*) dilakukan untuk menegaskan hasil skrining fitokimia. Oleh karena itu uji TLC hanya dilakukan untuk golongan-golongan senyawa yang menunjukkan hasil positif pada skrining fitokimia (flavonoid dan alkaloid). Hasil uji TLC ditunjukkan pada Tabel 4. Hasil uji yang ditampilkan hanya terhadap flavonoid dikarenakan untuk memperkuat dugaan antosianin yang merupakan golongan flavonoid terdapat pada ekstrak kasar tersebut. Pelarut pengembang yang digunakan pada uji TLC untuk flavonoid adalah butanol:asam asetat:air (3:1:1). Setelah disemprot dengan amonia, timbul noda dengan Rf 0.96 yang berwarna kuning muda setelah disemprot dengan ammonia pada pengamatan dengan sinar tampak dan berwarna biru pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan flavonoid pada ekstrak methanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau.

Uji Pembuktian Antosianin Secara Kualitatif

Hasil uji pembuktian adanya antosianin dapat dilihat pada Tabel 5, yang menunjukkan bahwa pigmen dari ekstrak methanol

Tabel 1. Hasil uji pelarut

Jenis Pelarut	Nilai Polaritas*	Sifat Polaritas	Warna Pelarut Hasil Ekstraksi	Keterangan
Akuades	9.0	Polar	Bening	Pigmen tidak larut
Metanol	5.1	Semi polar	Kuning Kecoklatan	Pigmen larut
Heksana	0.0	Non polar	Bening	Pigmen tidak larut

Sumber : * Sarker *et al.* (2006)

Tabel 2. Hasil ekstraksi sabut kelapa hijau dengan metanol yang mengandung HCl 1%

Kondisi Ekstraksi	Jumlah
Berat sabut kelapa hijau (g)	100
Volume pelarut (ml) (2x maserasi)	800
Volume setelah evaporasi (ml)	41
Berat setelah evaporasi (g)	45
Rendemen (%)	45

Tabel 3. Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol yang mengandung 1% HCl sabut kelapa hijau

Kandungan Kimia	Metode Pengujian	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Dragendorff	Endapan jingga	+
Saponin	Forth	Tidak terbentuk buih	-
Flavonoid	Shinoda	Warna Jingga	+
Fenolik	+ FeCl ₃	Tidak ada perubahan warna	-

Keterangan: + = ada; - = tidak ada

Tabel 4. Hasil uji TLC (*Thin Layer Chromatography*) pada ekstrak metanol yang mengandung 1% HCl sabut kelapa hijau

Kandungan Kimia	Rf	Sinar Tampak		UV 254		UV 336		Ket.
		Tanpa pereaksi	Dengan pereaksi	Tanpa pereaksi	Dengan pereaksi	Tanpa pereaksi	Dengan pereaksi	
Flavonoid	0.96	-	Kuning muda	-	-	Biru	Biru	+

Keterangan: + = ada

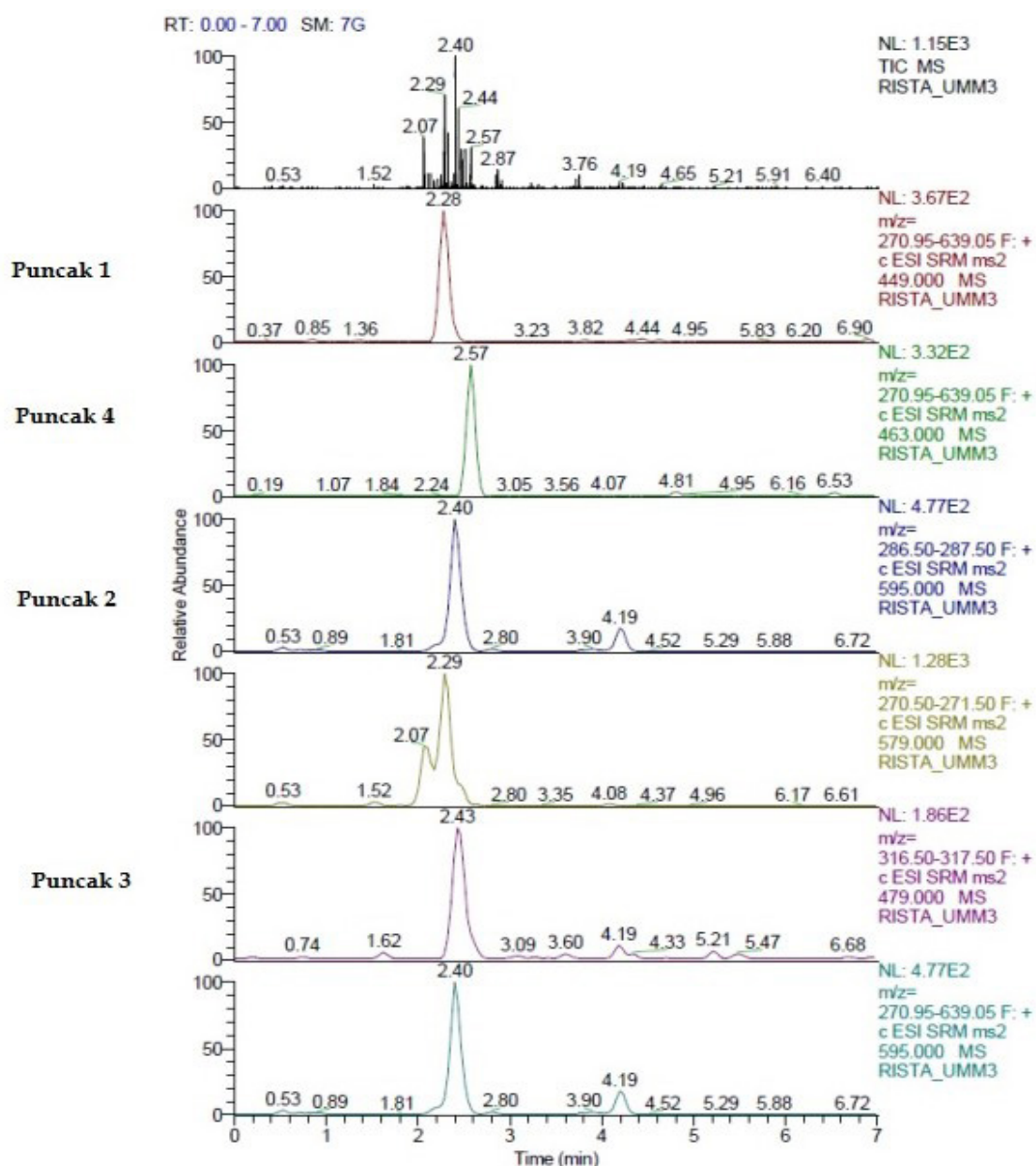
Tabel 5. Hasil pengujian antosianin secara kualitatif

No	Metode	Karakter Antosianin	Hasil	Keterangan
1.	Dipanaskan dengan HCl 2M selama 2 menit pada suhu 100 °C	warna mantap/ tidak pudar	warna merah mantap	+
2.	Ditambahkan sampel dengan NaOH 2 M tetes demi tetes	warna merah berubah menjadi hijau biru	warna agak kehijauan	+

Keterangan; + = ada

Tabel 6. Macam antosianin ekstrak metanol yang mengandung 1% HCl sabut kelapa hijau

Puncak	Antosianin	Singkatan	RT (menit)	[M] ⁺ (m/z)	Fragmen Ion (m/z)
1	Cyanidin-3-O-glucoside	Cy-G	2.28	449	270
2	Cyanidin-3-O-(6''-O-coumaroyl)-glucoside	Cy-G-Co	2.40	595	286
3	Petunidin-3-O-glucoside	Pt-G	2.43	479	316
4	Peonidin-3-O-glucoside	Pn-G	2.57	463	270



Gambar 1. Profil antosianin LC/MS ekstrak metanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau

yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau adalah antosianin. Hal ini terlihat bahwa ketika ekstrak methanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau diberikan senyawa basa NaOH disertai pemanasan maka mengalami perubahan warna menjadi hijau kebiruan dan sebaliknya ketika diberikan senyawa asam HCl maka berubah menjadi merah. Pada pH tinggi antosianin akan cenderung berwarna biru, sedangkan pada pH rendah berwarna merah.

Kandungan Antosianin Total

Berdasarkan hasil pengukuran, diperoleh kandungan antosianin total dari ekstrak methanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau adalah sebesar 8.34 mg/100 g, yang dihitung sebagai sianidin-3-glikosida. Kandungan antosianin total sabut kelapa hijau ini lebih rendah bila dibandingkan dengan beberapa buah lokal berantosianin lain seperti juwet (161 mg/100g) (Sari *et al.*, 2009), ubi jalar ungu (61.85 mg/100 g) (El Husna *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2015; Gras *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2017). Akan tetapi, kadar antosianin sabut kelapa hijau hampir sama dengan antosianin kulit buah naga (8.34-8.50 mg/100 mg) (Einbond *et al.*, 2004; Timberlake dan Bridle, 1982; Hidayah, 2013; Wang *et al.*, 2016).

Perbedaan antosianin total antar bahan kemungkinan dikarenakan adanya perbedaan dominasi jenis antosianin yang terdapat di dalamnya. Pada buah duwet, antosianin yang mendominasi adalah delphinidin-3,5-diglukosida. Faktor lain yang mempengaruhi perbedaan antosianin total adalah dari intensitas warna dari bahan tersebut yang dapat diperkirakan kandungan total antosianinnya.

Warna sabut kelapa hijau mempunyai intensitas merah yang rendah dibandingkan dengan sumber lain seperti duwet, umbi ungu, dan kulit buah naga. Hal ini kemungkinan dikarenakan tingkat kematangan sabut kelapa hijau. Kelapa hijau yang dianalisa pada penelitian ini merupakan kelapa hijau yang masih muda, sehingga kemungkinan antosianin yang terbentuk belum maksimal. Rendahnya kandungan antosianin dari sabut kelapa hijau juga terlihat dari warna ekstrak methanol yang mengandung 1% HCl menunjukkan warna dominan kuning kecoklatan bukan merah keunguan, meskipun menurut Li (2009) menyatakan bahwa pigmen antosianin menyumbangkan warna

oranye, merah muda, merah, ungu hingga biru. Menurut El Husna *et al.* (2013) yang meneliti antosianin pada ubi jalar ungu menyatakan bahwa warna predomanan daging ubi ubi jalar berkorelasi dengan kandungan antosianin, semakin pekat warna ungu, maka semakin tinggi kandungan antosianin umbi. Begitu pula pada buah duwet, kulit buah mentah berwarna merah dan akan berubah menjadi ungu kehitaman pada saat buah matang, menunjukkan kandungan pigmen antosianin (Sari *et al.*, 2009). Proses pematangan pada berbagai buah melibatkan biosintesis antosianin yang larut dalam air yang terakumulasi dalam vakuola sentral dalam sel mesofil. Proses pembentukan antosianin ini diawali oleh malonil-CoA yang berasal dari 3 asetil-CoA dan p-koumaroil-CoA fenilalanin (MacDougall, 2002; Martynenko dan Chen, 2016).

Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan hasil pengukuran, diperoleh aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau adalah sebesar 68.17%. Aktivitas antioksidan sabut kelapa hijau ini hampir mendekati aktivitas antioksidan bekatul (71.74-73.95%) (Zubaidah *et al.*, 2012) dan kulit buah naga (76.71%) (Hidayah, 2013), serta lebih besar apabila dibandingkan ubi jalar ungu (59.25%) (El Husna *et al.*, 2013). Aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau ini disebabkan oleh senyawa flavonoid yang terdeteksi. Flavonoid merupakan senyawa yang erat kaitannya sebagai zat yang mempunyai kapasitas antioksidan bagi tubuh (Astuti, 2008; Permana *et al.*, 2016; Wen *et al.*, 2017). Antosianin yang terdeteksi dalam ekstrak metanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau kemungkinan besar juga menyumbangkan aktivitas antioksidan. Suda *et al.* (2003) menyatakan bahwa paling sedikit satu gugus caffeoyl asylated pada antosianin menyumbangkan aktivitas radikal yang tinggi.

Komposisi Antosianin

Gambar 1 menampilkan kromatogram LC/MS dari ekstrak metanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau. Hasil pemisahan antosianin dengan LC/MS diperoleh 6 puncak. Identifikasi dilakukan dengan membandingkan antara ion molekuler dan ion fragmen penting yang didapat pada

penelitian yang dilakukan oleh Wang *et al.* (2012). Pada Gambar 3, dari 6 puncak tersebut dapat diidentifikasi bahwa terdapat 4 jenis antosianin yang terdeteksi pada ekstrak metanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau yakni Cyanidin-3-O-glucoside (puncak 1), Peonidin-3-O-glucoside (puncak 4), Cyanidin-3-O-(6"-O-coumaroyl)-glucoside (puncak 2), Petunidin-3-O-glucoside (puncak 3). Keempat jenis antosianin tersebut menunjukkan bahwa gula yang berikatan pada antosianin dari ekstrak metanol yang mengandung 1% HCl dari sabut kelapa hijau adalah glukosa. Antosianin merupakan pigmen yang seringkali terdapat dalam bentuk aglikon sebagai antosianidin dan glikon sebagai gula yang diikat secara glikosidik. Gugus gula pada antosianin biasanya berupa glukosa, ramnosa, silosa, galaktosa, arabinosa, dan fruktosa (Markakis, 1982; Kovačević *et al.*, 2015; Thamaphat *et al.*, 2015; Sahamishirazi *et al.*, 2017).

SIMPULAN

Sabut kelapa hijau positif mempunyai senyawa flavonoid dan alkaloid. Salah satu golongan flavonoid yang terdeteksi adalah pigmen antosianin dengan kandungan antosianin total sekitar 8.34 mg/100 g berat basah. Ada 4 jenis antosianin yang terdeteksi pada sabut kelapa hijau yakni Cyanidin-3-O-glucoside, Peonidin-3-O-glucoside, Cyanidin-3-O-(6"-O-coumaroyl)-glucoside, Petunidin-3-O-glucoside. Diperlukan usaha untuk mengetahui berapa kadar antosianin pada tiap jenisnya yang terkandung dalam sabut kelapa hijau dan mengetahui jenis flavonoid apa yang mendominasi dalam sabut kelapa hijau, sehingga bisa diisolasi untuk dikembangkan sebagai alternatif pewarna alami untuk pangan dan nutrasetikal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, J. B. 1981. The colour of fruit and vegetables: and the effects of processing Part 2. *Nutrition & Food Science*. 81(3):17-19
- Andayani, R, Maimunah, Lisawati, Y. 2008. Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenol total, dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersinum* L.). *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 13(1):1-7
- Arivalagan, M, Manikantan, M, R, Yasmeen, A, M, Sreejith, S, Balasubramanian, D, Hebbar, K, B, Kanade, S, R. 2018. Physicochemical and nutritional characterization of coconut (*Cocos nucifera* L.) haustorium based extrudates. *LWT*. 89:171-178
- Astuti, S. 2008. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13 (2): 126-136
- Buttriss, J. 1988. Free radicals and nutrition. *Nutrition & Food Science*. 88(6):2-3
- Duthie, G, G. 1990. Antioxidant vitamins, free radicals and coronary heart disease. *British Food Journal*. 92(8):32-36
- Einbond, L, S, Reynertson, K, A, Dong Luo, X, Basile, M, J, Kennelly, E, J. 2004. Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chemistry*. 84(1):23-28
- El Husna, N, Novita, M, Rohaya, S. 2013. Kandungan antosianin dan aktivitas antioksidan ubi jalar ungu segar dan produk olahannya. *AGRITTECH*. 33(3):296-302
- Giusti, M, M, Wrolstad, R, E. 1996. Characterization of red radish anthocyanins. *Journal of Food Science*. 61(2):322-326
- Gras, C, C, Nemetz, N, Carle, R, Schweiggert, R, M. 2017. Anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) and their color modulation by the addition of phenolic acids and food-grade phenolic plant extracts. *Food Chemistry*. 235:265-274
- Guan, Y, Zhong, Q. 2015. The improved thermal stability of anthocyanins at pH 5.0 by gum arabic. *LWT - Food Science and Technology*. 64(2):706-712
- Harborne, JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. ITB, Bandung
- Hengky, N. 1994. Keanekaragaman kelapa dan pemanfaatannya. *HAYATI Journal of Biosciences*. 1(2)
- Hidayah, T. 2013. Uji Stabilitas Pigmen dan Antioksidan Hasil Ekstraksi Zat Warna Alami dari Kulit Buah naga (*Hylocereus undatus*). Skripsi. Universitas Negeri Semarang. Semarang
- Jorge, N, Andreo, D. 2013. Antioxidant activity of ginger extract (*zingiber officinale*) in soybean oil under thermoxidation. *Nutrition & Food Science*. 43(1):49-54

- Kovačević, D, B, Putnik, P, Dragović-Uzelac, V, Vahčić, N, Babojelić, M, S, Levaj, B. 2015. Influences of organically and conventionally grown strawberry cultivars on anthocyanins content and color in purees and low-sugar jams. *Food Chemistry*. 181:94-100
- Lestario, L, N, Rahayuni, E, Timotius, K, H. 2011. Kandungan antosianin dan identifikasi antosianidin dari kulit buah jenitri (*Elaeocarpus angustifolius blume*). *AGRITECH*. 31(2):93-101
- Li, J. 2009. Total anthocyanin content in blue corn cookies as effected by ingredients and oven types. Diakses 23 Juli 2017. <<https://krex.k-state.edu/dspace/bitstream/handle/2097/1673/Jian-Li2009.pdf?sequence=1>>
- Luzia, D, M, M, Jorge, N. 2012. Soursop (*Annona muricata* L.) and sugar apple (*Annona squamosa* L.): Antioxidant activity, fatty acids profile and determination of tocopherols. *Nutrition & Food Science*. 42(6):434-441
- Macdougall, DB. 2002. *Colour in food: Improving Quality*. CRC Press, Boca Raton
- Markakis, P. 1982. *Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press, New York
- Markham, K, R, Wallace, J, W. 1980. C-Glycosylxanthone and flavonoid variation within filmy-ferns (*Hymenophyllaceae*). *Phytochemistry*. 19(3):415-420
- Marliana, S, D, Suryanti, V, Suyono. 2005. Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi*. 3(1):26-31
- Martynenko, A, Chen, Y. 2016. Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing. *Journal of Food Engineering*. 171:44-51
- Ninan, L, N, Hastuti, P, Raharjo, S, Tranggono. 2007. Sifat antioksidatif ekstrak buah duwet (*Syzygium cumini*). *AGRITECH*. 25(1):24-31
- Octavia, L, Choo, W, S. 2017. Folate, ascorbic acid, anthocyanin and colour changes in strawberry (*Fragaria × annanasa*) during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology*. 86:652-659
- Ogawa, M, Takee, R, Okabe, Y, Seki, Y. 2017. Bio-geo hybrid pigment; clay-anthocyanin complex which changes color depending on the atmosphere. *Dyes and Pigments*. 139:561-565
- Permana, A, H, C, Husni, A, Budhiyanti, S, A. 2016. Aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak lamun. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 17(1):37-46
- Praja, DI. 2015. *Zat Aditif Makanan: Manfaat dan bahayanya*. Garudhawaca, Yogyakarta
- Prietto, L, Mirapalhete, T, C, Pinto, V, Z, Hoffmann, J, F, Vanier, N, L, m, L, T, Dias, A, R, G, Zavareze, E, R. 2017. pH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. *LWT*. 80:492-500
- Prior, R, L, Cao, G, Martin, A, Soffic, E, Mcewen, J, O'Brien, C, Lishchne, N, Ehlenfeldt, M, Kalt, W, Krewer, G, Mainland, C, M. 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and antochyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* species. *J. Agric. Food Chem*. 46(7):2686-2693
- Qian, B, J, Liu, J, H, Zhao, S, J, Cai, J, X, Jing, P. 2017. The effects of gallic/ferulic/caffeic acids on colour intensification and anthocyanin stability. *Food Chemistry*. 228:526-532
- Rachmawati, Y. 2013. Efek Pemberian Dekok Meniran (*phyllanthusniruri* linn) Terhadap Glomerulus Ginjal Tikus (*Rattusnorvegicus*) Strain Wistar yang Diinduksi CCl4. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Sahamishirazi, S, Moehring, J, Claupein, W, Graeff-Hoenninger, S. 2017. Quality assessment of 178 cultivars of plum regarding phenolic, anthocyanin and sugar content. *Food Chemistry*. 214:694-701
- Sari, P, Christofora, H, W, Sajuthi, D, Supratman, U. 2009. Identifikasi antosianin buah duwet (*Syzygium cumini*) menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi-diode array detection. *J.Teknologi & Industri Pangan*. 10(2):102-108
- Sarker, SD, Latif, Z, Gray, AI. 2006. *Natural Products Isolation, 2nd Edition (Methods in Biotechnology, Vol. 20)*. Humana Press Inc, Totowa
- Sengupta, S, Basu, S. 2016. Properties of Coconut Fiber. *Reference Module in Materials Science and Materials Engineering*
- Subiyanto. 2000. Prospek industri pengolahan limbah sabut kelapa. *Jurnal Teknologi Lingkungan*. 1(1):1-9
- Suda, I, Oki, T, Masuda, M, Kobayashi, M, Nishiba, Y, Furuta, S. 2003. Physiological functionality of purple-fleshed seet potatoes containing anthocyanins and

- their utilization in foods. *Japan Agricultural Research Quarterly*. 37: 167-173
- Tan, T, C, Cheng, L, H, Bhat, R, Rusul, G, Easa, A, M. 2014. Composition, physicochemical properties and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase from coconut (*Cocos nucifera*) water obtained from immature, mature and overly-mature coconut. *Food Chemistry*. 142:121-128
- Timberlake, C, F, Bridle, P. 1982. 'Distribution of Anthocyanins in Food Plants'. Dalam P Markakis. *Anthocyanins As Food Colors*. Elsevier, USA
- Thamaphat, K, Goodman, B, A, Limsuwan, P, Smith, S, M. 2015. Rapid screening for anthocyanins in cane sugars using ESR spectroscopy. *Food Chemistry*. 171:123-127
- Wang, B, Jianjun, H, Changqing, D, Xiuming, Y, Lina, Z, Zhaosen, X, Caixi, Z, Wenping, X, Shiping, W. 2012. Root restriction affects anthocyanin accumulation and composition in berry skin of 'Kyoho' grape (*Vitis vinifera* L. × *Vitis labrusca* L.) during ripening. *Scientia Horticulturae*. 137: 20-28
- Wang, L, Zhao, Y, Zhou, Q, Luo, C, L, Deng, A, P, Zhang, Z, C, Zhang, J, L. 2017. Characterization and hepatoprotective activity of anthocyanins from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L. cultivar Eshu No. 8). *Journal of Food and Drug Analysis*. 25(3):607-618
- Wang, T, Y, Li, Q, Bi, K, S. 2018. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 13(1):12-23
- Wang, W, Jung, J, Tomasino, E, Zhao, Y. 2016. Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. *LWT - Food Science and Technology*. 72:229-238
- Weber, F, Larsen, L, R. 2017. Influence of fruit juice processing on anthocyanin stability. *Food Research International*. 100:354-365
- Wen, L, Zhao, Y, Jiang, Y, Yu, L, Zeng, X, Yang, J, Tian, M, Liu, H, Yang, B. 2017. Identification of a flavonoid C-glycoside as potent antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*. 110:92-101
- Xu, J, Su, X, Lim, S, Griffin, J, Carey, E, Katz, B, Tomich, J, Smith, J, S, Wang, W. 2015. Characterisation and stability of anthocyanins in purple-fleshed sweet potato P40. *Food Chemistry*. 186:90-96
- Zubaidah, E, Saparianti, E, Hindrawan, J. 2012. Studi aktivitas bekatul dan susu skim terfermentasi probiotik (*Lactobacillus plantarum* B2 dan *Lactobacillus acidophilus*). *Jurnal Teknologi Pertanian*. 13(2):111-118