KARAKTERISTIK ZAT WARNA ANTOSIANIN DARI BIJI KAKAO NON FERMENTASI SEBAGAI SUMBER ZAT WARNA ALAM

Characterization of Antosianin Source of Natural Dyes from Unfermented Cocoa Beans As a Source of Natural Dyes

Alfrida Lullung Sampebarra
Balai Besar Industri Hasil Perkebunan
Jl. Prof Dr. Abdurahman Basalamah No. 28 Makassar
e-mail : alfridalullung@yahoo.com

***Abstract**. This study aims to determine the characterization of anthocyanin dye from unfermented cocoa beans as a natural dye. The extraction of an anthocyanin dye using ethanol solvent with two types of acids i.e. acetic acid and oxalic acid at pH 2, 3 and 4. The result showed that the extraction solution was identified as red solution. The results of anthocyanin dye extract test from cocoa beans with ethanol pretation with acetic acid each at pH 2: antosianin level 4.156%, antioxidant activity 91.91%, color intensity 0.288, pH 3 antosianin 4.499%, antioxidant activity 91.92%, color intensity 0.430 and pH 4 anthocyanin content 2.221%, antioxidant activity 88.08%, color intensity 0.194. While the use of solvent ethanol and oxalic acid is pH 2 levels of anthocyanin 4.156%, antioxidant activity 61.17%, color intensity 0.223, pH 3 antosianin 4.499%, antioxidant activity 49.83%, color intensity 0.356. and pH 4 levels of anthocyanin 2.221%, antioxidant activity 69.74%, color intensity 0.143. The test results showed that the extract with the use of ethanol and acetic acid solvent at pH 3 gave better result than the other extract.*

***Keywords**: anthocyanin preparations, natural dyes, unfermented cocoa beans*

***Abstrak.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakterisasi zat warna antosianin dari biji kakao non fermentasi sebagai sumber zat warna alami. Ekstraksi zat warna antosianin menggunakan pelarut etanol dengan dua jenis asam yaitu asam asetat dan asam oksalat pada pH 2, 3 dan 4. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak teridentifikasi sebagai larutan berwarna merah. Hasil pengujian ekstrak zat warna antosianin dari biji kakao dengan pelarut etanol dan asam asetat pada pH 2 adalah sebagai berikut kadar antosianin = 4,156%, aktivitas antioksidan = 91,91%, intensitas warna = 0,288, pada pH 3, kadar antosianin = 4,499%, aktivitas antioksidan = 91,92%, intensitas warna = 0,430 dan pada pH 4, kadar antosianin = 2,221%, aktivitas antioksidan = 88,08%, intensitas warna = 0,194. Sedangkan pada penggunan pelarut etanol dan asam oksalat, hasil yang diperoleh adalah sebagai berikut: pada pH 2, kadar antosianin = 4,156%, aktivitas antioksidan = 61,17%, intensitas warna = 0,223, pada pH 3, kadar antosianin = 4,499%, aktivitas antioksidan = 49,83%, intensitas warna = 0,356 dan pada pH 4, kadar antosianin = 2,221%, aktivitas antioksidan = 69,74%, intensitas warna = 0,143. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak dengan pelarut etanol dan asam asetat pada pH 3 memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak lainnya.*

***Kata kunci:** sediaan antosianin, zat warna alami, biji kakao non fermentasi*

PENDAHULUAN

Zat warna alami yang bersifat lebih aman dapat digunakan dan dikembangkan antara lain dari pigmen karotenoid, kurkumin, antosianin, dan pigmen lainnya yang terkandung dalam jaringan buah, bunga, daun, batang maupun akar tanaman Antosianin merupakan pigmen alami yang banyak ditemui pada tanaman yang berwarna merah dan ungu. Tanaman kakao merupakan salah satu sumber daya lokal yang mengandung pigmen alami yaitu pigmen antosianin. Pigmen antosianin sendiri selain bisa digunakan sebagai bahan pewarna, juga merupakan antioksidan yang baik. Oleh karenanya, tanaman kakao dapat merupakan alternatif baru penghasil antioksidan. Kandungan dari biji kakao adalah purin alkaloid (teobromin dan kafein), lemak (asam oleat, asam stearat dan asam palmitat), protein, pati, monosakarida (sukrosa, glukosa dan fruktosa), amin

biogenik (fenil etil amin, tiramin, triptamin dan serotonin), alkaloid isokuinolin (salsolinol), tanin katekin (oligomerik proantosianidin) dan oksalat (Hii *et al*., 2009).

Antosianin merupakan pigmen berwarna merah, ungu dan biru yang biasa terdapat pada tanaman. Antosianin dapat menggantikan penggunaan pewarna sintetik rhodamin B, carmoisin, dan amaranth sebagai pewarna merah pada produk pangan. JEFCA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) telah menyatakan bahwa ekstrak yang mengandung antosianin memiliki efek toksisitas yang rendah. Selain berperan sebagai pewarna makanan, antosianin juga dipercaya berperan dalam sistem biologis, termasuk kemampuannya sebagai pengikat radikal bebas dan kemampuan untuk menghambat tahap inisiasi reaksi kimiawi yang menyebabkan karsinogenesis (Arivani, 2010). Antosianin dapat memberikan manfaat bagi kesehatan manusia. seperti antineoplastik, antikarsinogenik, antiatherogenik, antiviral, dan efek anti-inflamsi, menurunkan permeabilitas dan fragilitas kapiler, menghambat agregasi platelet serta immunitas. Semua aktivitas ini didasarkan pada peranan sebagai antioksidan. Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan.

Beberapa bahan yang dapat diekstrak sebagai sumber pewarna alami yang mengandung antosianin yaitu kelopak bunga rosella, kubis merah, ubi jalar ungu, bunga kana, buah duwet, strawberry, daun bayam merah, kulit rambutan, kulit buah anggur dan kulit manggis (Endang *et al.,* 2009). Umumnya cara mengekstrak antosianin menggunakan pelarut dan asam. Fungsi pelarut untuk ekstrak antosianin merupakan faktor yang menentukan kualitas dari suatu ekstraksi, dan memiliki daya yang besar untuk melarutkan. Sedangkan penambahan asam berfungsi untuk lebih mengoptimalkan ekstraksi antosianin. Dalam penelitian yang dilakukan Saati dan Elfi Anis (2002) pelarut dan asam yang terbaik yaitu etanol 96% dengan asam asetat pada proses ekstraksi antosianin dari bunga kana. Penelitian bertujuan untuk mengetahui karakterisasi zat warna antosianin dari biji kakao non fermentasi sebagai sumber zat warna alami.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain : timbangan, neraca analitik, lumpang alu, *rotary evaporator*, oven, penangas air, pH meter, cawan penguap, *mixer*, waskom *stainless steel*, lumpang porcelain, corong, botol plastik, *beaker glass*, gelas ukur, sendok takar, gelas pengaduk, toples kaca, masker, sarung tangan, wadah pengering.

Sedangkan bahan yang digunakan adalah biji kakao non fermentasi, etanol, asam sitrat, asam asetat, natrium hidroksida, aquabides, kertas pH, kertas saring.

METODE PENELITIAN

Data kadar antosianin, karakteristik, intensitas warna, aktivitas antioksidan dan efek iritasi pada kulit dari sediaan antosianin diperoleh dari hasil eksperimen dan uji laboratorium.

Prosedur penelitian meliputi hal-hal berikut.

1. Penyiapan bahan baku
   Penyiapan biji kakao non fermentasi mengikuti metode standar (Sri Mulato *et al*., 1995). Pengeringan biji kakao melalui penjemuran dibawah sinar matahari selama 5 jam setiap hari selama 5 hari, untuk mendapatkan biji kakao kadar air 7%. Selanjutnya biji kakao dipisahkan dari kulit arinya, sebelum digiling.
2. Ekstraksi zat warna
   Pada tahap ini untuk setiap eksperimen dilakukan ekstraksi zat warna alami dari 1 kg biji kakao (nib) secara maserasi selama 2 x 24 jam, menggunakan 2 liter pelarut etanol dengan penambahan untuk dua jenis asam yaitu asam oksalat dan asam asetat masing-masing pada pH 2, 3 dan 4. Ekstraksi dilakukan sebanyak tiga kali. Hasil ekstraksi disaring dan

filtratnya diuapkan menggunakan pada suhu 40 ^{0}C.

3. Uji sediaan zat warna alami
   Uji hasil ekstrak zat warna antosianin dalam bentuk sediaan dilakukan pada Laboratorium Farmasi UNHAS Makassar dan Laboratorium Farmasi ITB Bandung untuk parameter-parameter kadar antosianin, intensitas warna, kestabilan dan aktivitas antioksidan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian zat warna alam antosianin dari biji kakao non fermentasi ini mencakup kadar antosianin, intensitas warna, aktivitas anti oksidan, dan efek iritasi antosianin pada kulit berturut-turut dapat dilihat pada Tabel 1.

Kadar Antosianin

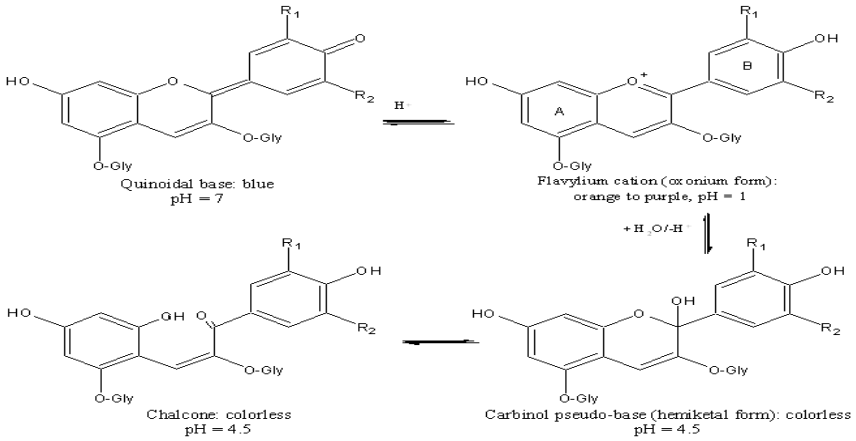
Kadar antosianin yang terdapat dalam ekstrak etanol-asam asetat pH 2 (AApH2), etanol-asam asetat pH 3 (AApH3), etanol-asam asetat pH 4 (AApH4), etanol-asam oksalat pH 2 (AOpH2), etanol-asam oksalat pH 3 (AOpH3), dan etanol-asam oksalat pH 4 (AOpH4) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar Antosianin dalam Ekstrak Biji Kakao

No.	Kode Sampel	Kadar Antosianin (%)
1.	AApH2	4,156
	AApH3	4,499
	AApH4	2,221
2.	AOpH2	4,057
	AOpH3	3,347
	AOpH4	3,383

Hasil pengujian (Tabel 1) kadar antosianin ekstrak biji kakao non fermentasi menunjukkan bahwa kadar antosianin berkurang dengan meningkatnya nilai pH, Hal ini disebabkan antosianin merupakan zat warna merah yang stabil pada pH rendah, dan stabilitasnya akan turun apabila pH dinaikkan. Winarti dan Firdaus (2010) menyatakan bahwa stabilitas warna yang ditunjukkan oleh nilai absorbansi sangat dipengaruhi oleh nilai pH.

Reaksi yang terjadi akibat penambahan pH ditunjukkan pada Gambar 1. Perubahan warna akibat pengaruh pH terjadi karena kation flavilium yang berwarna merah berubah dari hidrat menjadi basa karbinol atau pseudobase (bentuk awal kalkon) tak berwarna dan akhirnya menjadi kalkon yang tidak berwarna (Winarti S. dan Firdaus A., 2010).



Gambar 1. Perubahan struktur akibat pengaruh penambahan buffer pH (Sumber: Lee, et. al, 2005 dalam Nurlela dan Siregar (2011).

Sari *at al*., (2003) menyatakan bahwa pada pH rendah sebagian besar antosianin terdapat dalam bentuk kation flavilium yang berwarna merah, sedangkan senyawa basa karbinol yang tidak berwarna relatif kecil jumlahnya. Peningkatan pH memperbanyak senyawa basa karbinol dan kalkon yang tidak berwarna. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Sudarmanto (1990) bahwa inti flavilium pigmen antosianin bersifat defisien elektron sehingga sangat reaktif dan mudah mengalami reaksi yang umumnya menyebabkan dekolorasi warna.

Hasil ekstrak yang diperoleh juga dipengaruhi oleh jenis asam organik yang digunakan. Hal tersebut disebabkan karena perbedaan derajat disosiasi dari asam yang digunakan. Tetapan disosiasi dari asam asetat lebih besar daripada tetapan disosiasi dari asam oksalat. Tetapan disosiasi untuk asam asetat adalah 1,75 x 10^{-5} dan asam oksalat adalah 5,4 x 10^{-5}, 5,2 x 10^{-5} (Vogel 1987). Semakin besar tetapan disosiasi semakin kuat suatu asam karena semakin besar jumlah ion hidrogen yang dilepaskan ke dalam larutan. Dalam hal ini, asam asetat merupakan asam organik lebih kuat jika dibandingkan dengan asam oksalat. Selain itu asam asetat juga merupakan asam monoprotik, yang berarti dapat berdisosiasi melepaskan satu H^+ hanya sekali sedangkan asam oksalat melepaskan H^+ dua kali. 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 dan menyebabkan dinding sel vakuola yang pecah sehingga semakin banyak antosianin yang terekstrak (Fennema, 1985).

Uji Stabilitas Warna

Tabel 2 menunjukan serapan ekstrak yang diperoleh pada berbagai panjang gelombang.

Tabel 2. Hasil Uji Intensitas Warna

Panjang Gelombang	Serapan sampel					
nm	AOpH2	AOpH3	AOpH4	AApH2	AApH3	AApH4
550	0,141	0,1397	0,033	0,193	0,268	0,098
555	0,132	0,388	0,049	0,193	0,266	0,094
560	0,126	0,351	0,037	0,183	0,253	0,089
565	**0,223**	**0,356**	**0,143**	**0,288**	**0,430**	**0,194**
570	0,102	0,290	0,033	0,165	0,234	0,079
575	0,092	0,255	0,030	0,161	0,224	0,078
580	0,172	0,312	0,128	0,245	0,303	0,166
585	0,069	0,189	0,031	0,139	0,193	0,067
590	0,061	0,158	0,028	0,127	0,174	0,062
595	0,046	0,125	0,024	0,113	0,151	0,053
600	0,109	0,025	0,027	0,105	0,133	0,052

Penentuan stabilitas sampel diawali dengan mencari panjang gelombang maksimun serapan anthosianin. Panjang gelombang yang digunakan pada ekstrak antosianin dari biji kakao non fermentasi berkisar antara 550-600 nm. puncak serapan maksimum panjang gelombang pada ekatrak antosianin dengan pelarut etanol dan asam asetat AApH3 terjadi pada panjang gelombang 565 nm dan pada pelarut etanol dan asam oksalat puncak serapan maksimum terjadi pada panjang gelombang 565 nm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak tersebut adalah senyawa antosianin. Menurut Ritter *at al*., (1990), panjang gelombang serapan maksimum antosianin berada sekitar 550-570 nm Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak yang diperoleh merupakan senyawa antosianin. Serapan maksimun pada panjang gelombang 565

nm menghasilkan intensitas warna tertinggi untuk ekstrak zat warna dengan etanol dan asam asetat pada pH 3 sebesar 0,430.

Intensitas Warna

Intensitas warna yaitu suatu karakteristik cahaya yang dapat diukur panjang gelombangnya. Suatu zat akan berwarna jika zat tersebut melakukan absorbsi selektif sinar yang masuk dan meneruskan sebagian sinar yang tidak diadsorbsi atau sinar yang lewat. Ekstrak dengan total antosianin yang paling besar akan memiliki intensitas warna yang besar pula.

Tabel 2 menunjukkan bahwa stabilitas antosianin sangat dipengaruhi oleh nilai pH dan jenis asam. Perubahan nilai absorbansi dari ekstrak pada pH 2 dan pH 3 kurang signifikan. Namun pada pH 4 nilai absorbansi mengalami perubahan secara tajam. Pada hasil penelitian ini terlihat bahwa warna paling kuat intensitasnya pada pH 3 dan mengalami penurunan secara tajam pada pH 4. semakin tinggi pH yang diberikan semakin tidak stabil kadar antosianinnya atau semakin tinggi kerusakan antosianin biji kakao non fermentasi Pigmen antosianin masih stabil pada pH 3, sedangkan pada media pH 4 pigmen mengalami kerusakan (tidak stabil). Menurut Brouillard (1982), antosianin berubah warna dari warna merah menjadi berkurang warnanya pada asam lemah, pada pH rendah antosianin berada dalam bentuk kation flavilium yang merupakan bentuk yang paling stabil. Pada pH >3 warna merah terang kation flavilium kemudian berubah bentuk menjadi basa kuinonoidal yang berwarna biru atau menjadi karbinol pseudobase yang tidak berwarna sejalan dengan naiknya pH. Ketika pH naik ke nilai pH 4-5 atau pH semakin ditingkatkan akan menyebabkan hilangnya proton lebih cepat yang akan menyebabkan deprotonisasi dan hidrasi kation flavilium dan pada pH >4 struktur antosianin tidak stabil dan dapat mengalami transformasi stabilitas pigmen (Bridgers, *et al*., 2010).

Suhu

Hasil pengujian zat warna antosianin dari biji kakao non fermentasi pada berbagai suhu diberikan pada Tabel 3. Absorbansi antosianin pada panjang gelombang maksimum mengalami penurunan seiring dengan semakin meningkatnya suhu. Pada suhu 40 °C, 52 °C dan 62 °C, nilai absorbansi umumnya mengalami penurunan. Hal ini disebabkan karena pada temperatur yang tinggi, antosianin mengalami dekomposisi/perubahan struktur. Degradasi mudah terjadi pada antosianin. Stabilitas senyawa antosianin dipengaruhi salah satunya oleh suhu. Menurut Adam (1973) dalam Yudiono (2011), suhu tinggi menyebabkan antosianin membentuk kalkon yang cincinnya terbuka, dan bersifat labil. Keberadaan O_2 pada suhu tinggi menyebabkan antosianin berubah menjadi coklat. Hal ini diperkuat oleh pernyataan Winarti *et al*., (2010) bahwa suhu dan lama pemanasan menyebabkan dekomposisi dan perubahan struktur sehingga terjadi pemucatan.

Tabel 3. Serapan Sampel sebagai Fungsi Suhu

suhu (°C)	AApH2	AApH3	AApH4	AOpH2	AOpH3	AOpH4
suhu kamar/ruang	0,288	0,356	0,194	0,223	0,430	0,143
40	0,175	0,218	0,085	0,201	0,239	0,156
52	0,165	0,211	0,082	0,192	0,233	0,157
62	0,180	0,227	0,076	0,230	0,300	0,158

Berdasarkan hasil penelitian Hidayah (2013), diperoleh bahwa semakin tinggi suhu pemanasan maka absorbansi atau stabilitas warna semakin rendah sehingga warna merah akan berkurang. Penurunan absorbansi ini disebabkan karena terjadi kerusakan gugus kromofor pigmen yang menyebabkan kerusakan warna. Menurut Markakis (1982), menyatakan bahwa menurunnya stabilitas warna karena suhu yang tinggi disebabkan karena terjadinya dekomposisi antosianin dari bentuk aglikon menjadi kalkon (tidak berwarna). Kerusakan akibat pemanasan dapat terjadi melalui dua tahap, pertama terjadi hidrolisis ikatan glikosidik antosianin sehingga menghasilkan aglikon yang tidak stabil, kemudian cincin aglikon terbuka membentuk gugus karbinol dan kalkon yang tidak berwarna.

Aktifitas Antioksidan

Untuk uji aktivitas antioksidan, vitamin C digunakan untuk validasi metode. Aktivitas antioksidan dari vitamin C diberikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan dari Vitamin C

Vitamin C (ppm)	Serapan	Serapan	Rerata	Aktivitas antioksidan (%)
		1,0163±0,029		
1000	0,0724	0,0721	0,07225	92,89
500	0,0762	0,0743	0,07315	92,80
250	0,0759	0,0736	0,07475	92,62
125	0,0940	0,0829	0,09345	90,80
62,5	0,5553	0,3961	0,4757	53,19

Data yang diperoleh menunjukkan bahwa metode yang digunakan valid.

Aktivitas antioksidan dari ekstrak biji kakao dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Daya Aktivitas Antioksidan

Konsentrasi (ppm)	% inhibisi peredaman DPPH					
	AApH2	AApH3	AApH4	AOpH2	AOpH3	AOpH4
2500	91,13	91,17	92,02	85,32	74,39	90,44
1250	91,90	91,95	92,47	74,64	60,75	83,72
625	91,91	91,92	88,08	61,17	49,83	69,74
312,5	85,11	81,14	66,96	53,06	39,34	54,16
156,25	61,88	62,63	50,05	40,83	28,89	36,26

Ekstrak zat warna antosianin dari biji kakao non fermentasi memiliki kemampuan sebagai penangkal radikal bebas yang sangat baik, hal ini terlihat pada Tabel 5. Aktivitas penangkal radikal dibuktikan dengan perubahan warna ungu menjadi warna kuning, dan ketika ekstrak ditambahkan larutan DPPH, ekstrak menunjukkan aktivitas penangkal yang lebih besar karena warna larutan langsung berubah dari ungu menjadi kuning ketika ditambahkan DPPH. Berdasarkan hasil analisis aktivitas penangkal radikal bebas DPPH pada konsentrasi 625 ppm ekstrak antosianin dari biji kakao non fermentasi dengan etanol dan asam asetat pada pH 3 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yakni sebesar 91,92% sedangkan terendah adalah penggunaan asam oksalat pH 3 dengan aktivitas antioksidan sebesar 49,83%. Senyawa yang memiliki kemampuan penangkal radikal umumnya merupakan pendonor atom hidrogen (H), sehingga atom H tersebut dapat ditangkap oleh radikal DPPH untuk

berubah menjadi bentuk netralnya. Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa melepaskan atom hidrogennya untuk menetralkan elektron yang tidak berpasangan pada senyawa radikal bebas. Pada prinsipnya metode penangkal radikal bebas merupakan pengukuran penangkalan radikal bebas sintetik dalam pelarut organik polar seperti metanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan. Proses penangkalan radikal bebas ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan. Radikal bebas sintetik yang digunakan adalah DPPH, senyawa ini bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan untuk mendapatkan pasangan elektron. Keberadaan sebuah antioksidan yang dapat menyumbangkan elektron kepada DPPH menghasilkan warna kuning yang merupakan ciri spesifik dari reaksi radikal DPPH (Kiay *et al.*, 2011). Vitamin C yang digunakan sebagai pembanding, pada konsentrasi 500 ppm memberikan aktivitas sebesar 92,80% sedangkan pada konsentrasi vitamin C 1000 ppm, aktivitas antioksidan adalah sebesar 92,89%. Hasil ini menunjukan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak zat warna antosianin dari biji kakao non fermentasi merupakan aktivitas antioksidan yang kuat dan setara dengan aktivitas antioksidan vitamin C.

Untuk penentuan IC_{50} kurva regresi dibuat antara persentasi penangkal radikal bebas terhadap konsentrasi larutan uji. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan besarnya nilai IC_{50}, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Hasil perhitungan nilai IC_{50} dari masing-masing ekstrak zat warna antosianin dari biji kakao non fermentasi dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Nilai IC_{50} dari Ekstrak Biji Kakao

No.	Kode Sampel	Nilai IC (µg/ml)	Aktivitas antioksidan
1.	AApH2	1,367 x10^{-5}	sangat Kuat
	AApH3	9,394 x 10^{-3}	sangat Kuat
	AApH4	0,926	Sangat kuat
2.	AOpH2	68	kuat
	AOpH3	1124	Tidak berkhasiat
	AOpH4	62,8	kuat

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH terhadap ekstrak zat warna antosianin dari biji kakao nonfermentasi untuk penentuan nilai IC_{50} dapat dilihat bahwa hasil ekstrak AApH2, AApH3 dan AApH4 memiliki potensi aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan konsentrasi yang sangat kecil yaitu 1,367 x 10^{-5} µg/ml, 9,394 x 10^{-3} µg/ml dan 0,926 µg/ml Jadi, pada konsentrasi tersebut ekstrak air sampel kering dan basah sudah memiliki potensi sebesar 50 % dalam menangkal radikal bebas. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak zat warna antosianin dari biji kakao non fermentasi dengan etanol dan asam asetat mempunyai daya antioksidan yang sangat kuat, dengan nilai IC_{50} kurang dari 50 µg/mL. Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Sinaga, 2009). Suatu senyawa dikatakan antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 µg/mL, kuat jika IC_{50} bernilai 50 µg/mL sampai 100 µg/mL, sedang jika IC_{50} bernilai 100 µg/mL sampai 150 µg/mL dan lemah jika IC_{50} bernilai 151 µg/mL sampai 200 µg/mL (Anonim, 2005).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ekstraksi antosianin terhadap parameter yang diamati, dapat diambil kesimpulan bahwa penggunaan jenis asam dan pH memberikan pengaruh terhadap kadar antosianin yang

dihasilkan. Pigmen antosianin pada biji kakao non fermentasi dengan warna merah lebih stabil dalam keadaan asam yaitu pH 3 dan kadar antosianin tertinggi diperoleh pada penggunaan pelarut etanol dengan asam asetat pH 3 yakni sebesar 4,499%. Ekstraksi zat warna alami dari biji kakao non fermentasi dapat digunakan pada produk makanan minuman dan kosmetik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. Online 2005. Tanaman Obat Indonesia. http://www.iptek.go.id.
2. Arivani, S. 2010. Total Antosianin Ekstrak Buah Salam dan Korelasinya dengan Kapasitas Anti Peroksidasi pada Sistem Linoleat. Agrointek, 4 (2) : 121-127.
3. Bridgers, N. E., Chin, S. M., Den Truong, V. 2010. Extraction of Anthocyanins from Industrial Purple-Fleshed Sweetpotatoes and Enzymatic Hydrolysis of Residues for Fermentable Sugars. Industrial Crops and Products 32 (2010) 613-620.
4. Brouillard, R. 1982. Chemical Structure of Anthocyanin. Di dalam P. Markakis (ed). Anthocyanin as Food Colors. Academic Press. New York.
5. Endang, K., Dwi. A. S, Agus. W dan Adi. T. 2009. Zat Pewarna Tekstil Dari Kulit Buah Manggis. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Surakarta, Surakarta.
6. Fennema, Owen. 1985. Food Chemistry. 2nd edition. Marcell Dekker, Inc. New York.
7. Hii, C. L., Law, C. L., Suzannah, S., Misnawi, & Cloke, M., 2009, Polyphenols in cocoa (Theobroma cacao L.), Asian Journal of Food and Agro-Industry, 2, 04, 702-722.
8. ISO 10993-10-2010, Biological Evaluation of Medical Devices – Part 10; test for Irritation and Sensitization, Geneva, 1995, 2-5.
9. Kiay, N., Suryanto, E., Mamahit, L., Efek Lama Perendaman Ekstrak Kalamansi (Citrus Microcarpa) terhadap Aktivitas Antioksidan Tepung Pisang Goroho (Musa spp.). Chem. Prog. 2011, 4, 27-33.
10. Nurlela, Siregar, D. I. Y. 2011. Ekstraksi dan Uji Stabilitas Zat Warna Alami dari Bunga Kembang Sepatu (Hibiscus rosa-sinensis L) dan Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L). Jakarta. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Syarif Hidayatullah Jakarta. Valensi Vol. 2 No. 3.
11. Ritter, L. and C.A., Franklin, Dermal Toxicity Testing: Exposure and Absorption, in Handbook of *In vivo* Toxicity Testing, 1990, D.L. Arnold, H. C. Grice, and D.R. Krewski (Eds.,) Academic press, Inc., Toronto 247-257.
12. 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.
13. Sari, Diah Permata & Saati, Elfi Anis,. 2003. Pengujian Efektivitas Penggunaan Jenis Pelarut dan Asam dalam Ekstraksi Pigmen Antosianin Bunga Kanan. Skripsi. Jurusan THP, Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Malang.
14. Sri-Mulato, Wahyudi, T.,Atmawinata, O., & Amin, S.(1995). Beberapa Alternatif Sarana Pengolahan Kakao Rakyat. Prosiding Seminar Pengeringan Biji Kakao dengan Energi Surya. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. Jember.
15. Sudarmanto. 1990. Bahan Pewarna Alami dalam Tanaman Pangan. PAU Pangan dan Gizi. UGM. Yogyakarta.
16. Vogel. 1987. Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik. Penerjemah :Pudjaatmaka H dan Setiono. EGC. Jakarta.
17. Winarti S. dan Firdaus A., 2010. Stabilitas Warna Merah Ekstrak Bunga Rosela Untuk Pewarna Makanan Dan Minuman. Surabaya. Jurnal Teknologi Pertanian Vol. 11 No. 87-93.
18. Yudiono. K. 2011. Ekstraksi Antosianin Dari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas CV.* Ayamurasaki) Dengan Teknik Ekstraksi Subcritical Water. *Jurnal Teknologi Pangan.*