

STUDI AWAL KANDUNGAN ANTOSIANIN PADA BUAH CANTIGI UNGU (*VACCINIUM VARINGIAEFOLIUM* (BL.) MIQ.) YANG BERPOTENSI SEBAGAI SUPLEMEN ANTIOKSIDAN

¹Esti Rachmawati Sadiyah, ²Reza Abdul Kodir

^{1,2} Program Studi Farmasi, Universitas Islam Bandung, Jl. Rangka Gading No. 8 Bandung 40116

e-mail: ¹esti_sadiyah@ymail.com, ²reza.abdul.kodir@gmail.com

Abstrak. Cantigi ungu (*Vaccinium varingiaefolium* (Bl.) Miq.) merupakan salah satu tumbuhan yang tumbuh alami di pulau Jawa. Buahnya berwarna hitam kebiruan dan mengindikasikan terkandungnya antosianin yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan telaah fitokimia awal terhadap kandungan antosianin pada buah matang cantigi ungu. Secara keseluruhan penelitian dibagi menjadi enam tahap, yaitu; (1) pengumpulan bahan, (2) determinasi serta pengamatan makroskopik dan mikroskopik tumbuhan, (3) ekstraksi menggunakan campuran air, asam trifluoroasetat dan asetonitril yang diikuti dengan penapisan flavonoid, (4) pemurnian dengan kromatografi kolom menggunakan fasa diam berupa resin poliakrilik Amberlite XAD-7 dan tiga komposisi fasa gerak, (5) identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis, serta (6) analisis data. Kandungan antosianin dapat terlihat pada hasil identifikasi yang menunjukkan adanya serapan pada panjang gelombang 533 dan 536 nm. Berdasarkan hasil tersebut, diduga jenis aglikon antosianin yang terkandung dalam sampel adalah sianidin dan peonidin.

Kata kunci: Cantigi ungu (*Vaccinium varingiaefolium* (Bl.) Miq.), buah, antosianin.

1. Pendahuluan

Cantigi ungu (*Vaccinium varingiaefolium* (Bl.) Miq.) merupakan salah satu tumbuhan yang tumbuh alami di pulau Jawa. Tumbuhan ini hidup di sekitar kawah pegunungan berapi. Di sekitar Bandung, tumbuhan ini dapat dijumpai mendominasi vegetasi sekitar kawah gunung Tangkuban Perahu dan sekitarnya (Bandung utara) pegunungan Patuha (Bandung selatan), serta Gunung Papandayan.

Buah cantigi ungu berwarna hitam kebiruan. Menurut Andersen dan Markham (2006), warna merah, ungu, biru, biru-hitam/ungu-hitam merupakan ciri yang mudah diamati dari tumbuhan yang mengandung antosianin. Kemungkinan adanya antosianin pada tumbuhan ini didukung data hasil wawancara terhadap masyarakat sekitar gunung Papandayan tentang buah cantigi ungu dapat berperan pada kesehatan penglihatan. Hal ini didukung oleh berbagai data penelitian mengenai efek antosianin pada kesehatan mata (Lila, 2004).

Potensi cantigi ungu sebagai bahan alam baru lokal Indonesia cukup besar. Ketersediaannya sebagai sumber bahan alam cukup melimpah. Antosianin yang mungkin dikandung oleh daun dan buah tumbuhan ini menjadikan cantigi ungu merupakan sumber antosianin yang potensial. Peran antosianin sebagai senyawa yang berkhasiat antioksidan menambah nilai perlunya dilakukan penelitian kandungan antosianin pada tumbuhan ini.

Tujuan dari penelitian awal yang akan dilakukan adalah melakukan telaah fitokimia awal terhadap kandungan antosianin pada buah cantigi ungu. Penelitian ini

diharapkan memberikan data jenis antosianin yang diduga dikandung oleh cantigi ungu. Pada akhirnya kita dapat mensyukuri bahwa salah satu wujud rezeki Allah adalah ditumbuhkan-Nya beragam tumbuhan untuk kemashlahatan umat manusia.

2. Metode Penelitian

2.1 Pengumpulan bahan

Bahan berupa buah cantigi segar yang diperoleh dari kawasan Gunung Patuha, Kabupaten Bandung, Jawa Barat. Bahan segar kemudian disimpan dalam lemari pendingin sebelum dianalisis lebih lanjut (Kähkönen, *et al.*, 2003; Byamukama *et al.*, 2006; Vergara *et al.*, 2009)

2.2 Determinasi serta pengamatan makroskopik mikroskopik

Cantigi yang diperoleh dideterminasi terlebih dahulu untuk memperoleh keterangan kebenaran jenis. Determinasi serta pengamatan makroskopik dan mikroskopik dilakukan di Laboratorium Penelitian Farmasi Unisba.

2.3 Ekstraksi dan penapisan flavonoid

Bahan berupa buah cantigi segar diekstraksi dengan cara homogenasi, seperti yang dilakukan Kähkönen, *et al.*, (2003) dan Vergara *et al.*, (2009). Homogenasi menggunakan campuran asetonitril - asam trifluoroasetat - air (49,5:0,5:50 v/v/v), dengan perbandingan 2 gram : 20 ml pelarut. Hasil homogenasi kemudian disaring, filtrat kemudian dievaporasi dan dipekatkan, kemudian dilarutkan dalam asam trifluoroasetat (TFA) 1% (v/v) untuk tahap pemurnian (Kähkönen, *et al.*, 2003).

Penapisan flavonoid dilakukan untuk memastikan kandungan flavonoid antosianin dalam ekstrak yang dihasilkan. Penapisan flavonoid menggunakan serbuk magnesium, HCl 2N dan amil alkohol. Timbulnya warna pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya kandungan flavonoid pada ekstrak yang diuji.

2.4 Pemurnian

Hasil ekstraksi dimurnikan dengan kromatografi kolom menggunakan fasa diam resin poliakrilik Amberlite XAD-7 (Kähkönen, *et al.*, 2003 dan Byamukama *et al.*, 2006). Fasa gerak yang digunakan adalah; (1) Asetonitril (CH₃CN) 6% (CH₃CN : TFA : H₂O = 6 : 0,5 : 93,5 v/v/v), (2) Asetonitril 50% (CH₃CN : TFA : H₂O = 50 : 0,5 : 49,5 v/v/v), (3) Asetonitril 99,5% (CH₃CN : TFA = 99,5 : 0,5 v/v).

2.5 Identifikasi

Hasil tahap pemurnian yang berupa fraksi-fraksi dari kromatografi kolom kemudian digunakan untuk proses identifikasi antosianin menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Parameter yang diukur adalah puncak-puncak serapan pada panjang gelombang 200-800 nm.

2.6 Analisis data

Data yang diperoleh dari proses identifikasi dicocokkan dengan panjang gelombang serapan senyawa-senyawa antosianin yang telah diketahui dari pustaka. Perbandingan dilakukan untuk memperoleh dugaan jenis antosianin yang terkandung dalam sampel buah cantigi ungu.

3. Studi Kasus dan Analisis Hasil

3.1 Determinasi serta pengamatan makroskopik mikroskopik

Menurut Backer & Bakhuizen van den Brink (1965), cantigi ungu merupakan perdu atau pohon kecil dengan tinggi 0,10-10 m. Informasi ini sesuai dengan yang ditemukan di lapangan. Daun mudanya berwarna merah keunguan dengan tangkai berwarna merah. Bunganya majemuk (perbungaan) dengan helaian mahkota berwarna merah keunguan.

Buah cantigi ungu yang digunakan (*varingiaefolii fruktus*) adalah buah matang dari *Vaccinium varingiaefolium* (Bl.) Miq. Buah cantigi ungu merupakan buah buni, berwarna hijau pada saat muda dan akan berubah menjadi biru-ungu kehitaman pada saat matang. Diameter buah matang cantigi ungu menurut Backer dan Backhuizen van Den Brink adalah sekitar 8 mm. Diameter tersebut lebih besar dari buah *bilberry* (*Vaccinium myrtillus*) yang memiliki rata-rata 5 mm (WHO, 2009:211).

Pada bagian dalam buah cantigi ungu terdapat kulit buah yang dilanjutkan dengan jaringan mesokarp (daging buah). Daging buah cantigi ungu memiliki warna lebih terang (ungu kemerahan) dari bagian hipantiumnya yang berwarna biru-hitam. Biji buah cantigi ungu berukuran kecil dan terbenam dalam mesokarp. Buah cantigi ungu tidak memberikan aroma khas. Pemerian rasa buah cantigi ungu matang adalah manis kesat.

Pada pengamatan mikroskopik sampel buah segar cantigi ungu yang dihancurkan terdapat beberapa fragmen dominan, yaitu fragmen biji, sel batu (skelereid), dan rambut penutup. Biji cantigi ungu berwarna jingga-merah cerah dengan bentuk yang bervariasi. Warna cerah yang kuat menunjukkan pada biji juga terdapat kandungan pigmen dalam kadar yang cukup tinggi. Sel batu juga merupakan fragmen yang dijumpai dalam jumlah dominan. Sel batu buah cantigi ungu memiliki ukuran dan bentuk yang bervariasi. Pada beberapa fragmen sel batu juga teramati sisa-sisa pigmen berwarna ungu-merah muda yang menandakan kehadiran antosianin pada fragmen-fragmen sel tersebut. Rambut penutup berasal dari permukaan luar buah cantigi ungu. Rambut penutup ini tampak seperti lapisan putih-pucat yang menyelimuti permukaan luar buah. Dari keseluruhan fragmen yang ditemukan pada saat pengamatan, pemerian mikroskopik buah cantigi ungu memiliki kesamaan dengan buah *bilberry*. Perbedaan pemerian hanya terdapat pada tidak adanya titik minyak pada buah cantigi ungu sementara titik minyak tersebut ada pada buah *bilberry*.

3.2 Ekstraksi dan penapisan flavonoid

Ekstraksi dilakukan menurut metode yang telah dilakukan oleh Kähkönen, *et al.*, (2003) dan Vergara *et al.*, (2009). Pada penelitian ini, ekstraksi hanya dilakukan pada buah cantigi ungu berdasarkan informasi yang diperoleh bahwa bagian tumbuhan yang banyak dimanfaatkan untuk kesehatan adalah buahnya.

Hasil dari ekstraksi dalam suasana asam diharapkan berupa ekstrak yang mengandung aglikon antosianin bebas, yaitu antosianidin. Gugus gula pada antosianin perlu dihidrolisis dari aglikonnya dikarenakan gugus gula dapat memberikan hasil identifikasi yang tidak akurat pada saat dilakukan spektrofotometri UV-Vis.

Proses penapisan flavonoid dilakukan melalui beberapa tahap berdasarkan prinsip reduksi magnesium-hidroklorida menggunakan serbuk magnesium, larutan HCl 2N, dan larutan amil alkohol. Hasil menunjukkan terbentuknya dua fasa, yaitu fasa amil alkohol yang terletak di bagian atas dan fasa air yang terletak di bagian bawah. Larutan

amil alkohol yang semula bening menjadi berwarna setelah bercampur dengan sampel. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa sampel positif mengandung flavonoid.

3.3 Pemurnian

Proses pemurnian dilakukan untuk memisahkan senyawa antosianin dengan senyawa lainnya. Kromatografi kolom menggunakan fasa diam berupa resin poliakrilik Amberlite XAD-7 (Kähkönen, *et al.*, 2003 dan Byamukama *et al.*, 2006). Adapun fasa gerak yang digunakan terdiri dari tiga macam larutan, yaitu:

1. Asetonitril (CH₃CN) 6%. Komposisi tersebut digunakan untuk elusi pertama (E1), menarik fraksi yang mengandung senyawa-senyawa antosianin gula bebas, asam-asam organik dan asam-asam fenolat.
2. Asetonitril 50%. Komposisi tersebut digunakan untuk elusi kedua (E2), menarik fraksi yang mengandung antosianidin.
3. Asetonitril 99,5%. Komposisi tersebut digunakan untuk elusi ketiga (E3), menarik fraksi yang mengandung sisa-sisa senyawa fenolat.

Pada elusi pertama (E1) tampak warna kolom berubah menjadi ungu merah. Fraksi tersebut tidak digunakan dalam tahap identifikasi karena masih berupa campuran antara antosianin, gula bebas, asam-asam fenolat, dan asam-asam organik lainnya. Kehadiran antosianin pada fraksi ini dikarenakan proses hidrolisis oleh asam pada awal tahap ekstraksi tidak berlangsung dengan sempurna (Harborne, 1987).

Pada elusi kedua (E2), warna kolom memudar. Warna ungu pekat yang masih tertinggal hanya terdapat di bagian atas kolom. Proses elusi dilakukan menggunakan eluen 2 untuk mengalirkan antosianidin yang sudah terbebas dari gugus-gugus gula yang sudah terfraksinasi pada E1. Terdapat 18 tabung vial (@5ml) hasil E2 yang menunjukkan gradasi warna. Seri awal vial (1-3) menunjukkan warna fraksi pudar yang menunjukkan sisa-sisa fraksi dari E1. Fraksi pada vial 4-6 menunjukkan warna merah keunguan yang menunjukkan antosianidin yang terelusi oleh eluen E2. Fraksi-fraksi selanjutnya (vial 7-18) berwarna pudar karena sebagian besar antosianidin sudah terelusi pada vial-vial sebelumnya. Fraksi-fraksi terutama yang memiliki warna paling kuat kemudian diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Visible untuk ditentukan panjang gelombang yang dapat diserap secara maksimal.

Pada elusi ketiga (E3), fraksinat yang dihasilkan tidak menunjukkan kehadiran antosianin. Hal tersebut terlihat dari warna fraksinat E3 yang jernih (bukan berwarna ungu/merah). Hasil dari E3 tidak digunakan untuk tahap identifikasi.

3.4 Identifikasi

Identifikasi dilakukan dengan mengukur serapan maksimum berdasarkan rentang panjang gelombang 200-800 nm menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang tersebut dipilih mengingat antosianin memiliki serapan maksimum antara panjang gelombang 270-560 nm (Harborne, 1987; Markham, 1988). Fraksinat hasil elusi kedua (E2) yang digunakan untuk identifikasi adalah vial 1-3 untuk mengetahui kandungan antosianidin pada fraksinat awal yang berwarna pudar, vial 4-6 untuk mengetahui kandungannya pada fraksinat dengan warna merah keunguan yang paling pekat. Vial 18 digunakan sebagai perwakilan dari fraksinat terakhir yang diperoleh untuk proses identifikasi tersebut.

Tabel 1 memperlihatkan bahwa setiap fraksinat memiliki serapan pada panjang gelombang 533-536 nm, yang berarti antosianidin dan antosianin teridentifikasi pada

sampel yang diukur. Menurut Markham (1988), antosianidin dan antosianin memiliki spektrum khas yang terdiri atas dua rentang serapan maksimum yaitu pada 270-280 nm (pita II) dan 465-560 nm (pita I).

3.5 Analisis data

Hasil identifikasi memperlihatkan bahwa sampel fraksinat yang diukur diketahui mengandung antosianidin dan antosianin. Berdasarkan serapan yang diperoleh pada masing-masing fraksinat ternyata lebih dari satu puncak, diketahui bahwa hasil fraksinasi tersebut belum berupa senyawa tunggal.

Dari enam jenis aglikon antosianin, lima di antaranya terdapat pada buah *bilberry*. Kelima aglikon tersebut adalah sianidin, peonidin, delfinidin, petunidin, dan malvidin (Burdulis *et al.*, 2007; WHO, 2009). Kelima aglikon tersebut memiliki serapan maksimum untuk panjang gelombang berturut-turut 535, 532, 546, 543, dan 542 nm (Harborne, 1987).

Dari data pada Tabel 1 diketahui bahwa pada panjang gelombang 536 nm didapatkan serapan maksimum pada enam dari tujuh vial yang diidentifikasi. Nilai tersebut memberikan indikasi kuat terhadap jenis aglikon antosianin yang terkandung dalam sampel, yaitu sianidin. Dari ketujuh vial juga terdapat vial dengan serapan panjang gelombang pita I di daerah 533 nm. Nilai panjang gelombang yang paling mendekati untuk nilai ini adalah nilai panjang gelombang peonidin (532 nm). Dari data nilai serapan maksimum pada rentang pita I diperoleh kesimpulan sementara bahwa ada aglikon antosianin pada buah matang cantigi ungu yang juga terkandung dalam buah *bilberry*. Kesimpulan tersebut masih harus dikonfirmasi dengan analisis terhadap bentuk glikosidanya, apakah glikosida antosianin pada buah matang cantigi ungu sama dengan buah *bilberry*. Akan tetapi, dengan kesimpulan sementara ini, besar kemungkinan bahwa jenis-jenis antosianin, baik dalam bentuk glikosida ataupun aglikon, pada buah matang cantigi ungu dan *bilberry* memiliki kesamaan.

Tabel 1.
Hasil analisis spektrum UV-Vis fraksinat (vial) 1 s.d 6 dan 18 hasil E2

Vial	Puncak	Panjang gelombang (nm)	Absorbansi
1	1	658	0,4644
	2	536	1,0217
	3	448	1,3467
	4	340	0,8925
	5	287	1,9932
2	1	657	0,4688
	2	536	1,0045
	3	447	1,3505
	4	340	2,8925
	5	286	2,0061
3	1	657	0,4673
	2	536	1,0813
	3	448	1,3739
	4	344	3,5259
4	1	533	1,8049
	2	448	1,7478
	3	340	3,5717
	4	283	3,7478

5	1	536	1,6716
	2	448	1,7048
	3	282	3,6228
6	1	729	0,0076
	2	536	1,3188
	3	447	1,5325
	4	341	3,2037
	5	281	2,9131
18	1	657	0,4651
	2	536	0,9978
	3	447	1,3499
	4	340	2,9131
	5	285	2,0431

Keterangan: angka yang dicetak dengan warna merah menunjukkan nilai panjang gelombang yang diserap maksimum untuk antosianin dan antosianidin (Harborne, 1987; Markham, 1988)

4. Kesimpulan dan Saran

Ekstrak buah matang cantigi ungu (*Vaccinium varingiaefolium* (Bl.) Miq.) diduga kuat mengandung antosianidin peonidin dan sianidin. Penelitian lebih lanjut diharapkan dapat melakukan analisis lebih spesifik terhadap fraksi-fraksi yang dihasilkan sehingga memberikan informasi yang lebih lengkap mengenai jenis antosianin dalam buah maupun bagian-bagian lainnya dari cantigi ungu.

5. Ucapan Terima Kasih

Kegiatan ini dilaksanakan atas Biaya Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Tahun Anggaran 2011-2012, dengan Surat Kontrak No : 32/B-3/LPPM SP3/II/2012

6. Daftar Pustaka

- Andersen, Ø. M. dan Markham K. R., (2006). *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry, and Applications*, United States of America: Taylor and Francis Group.
- Backer, C. A. dan van Den Brink R. C. B., (1965). *Flora of Java (Spermatophytes Only) Volume II*, Groningen – Netherland: N.V.P. Noordhoff.
- Burdulis, D., Ivanauskas L., Dirsėl V., S. Kazlauskas, dan Ražukas A., (2007). “Study of diversity of anthocyanin composition in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruits”. *Medicina (Kaunas)*; 43 (12).
- Byamukama, R., Jordheim M., Kiremire B., Namukobe J., dan Andersen Ø. M., (2006), “Anthocyanins from flowers of *Hippeastrum* cultivars”, *Scientia Horticulturae* 109: 262–266.
- Harborne, J. B. (1987), *Metode Fitokimia*, Terbitan Kedua, Terjemahan Padmawinata, K. dan Soediro, I., Bandung: Penerbit ITB.
- Kähkönen, M. P., Heinämäki J., Ollilainen V., dan Heinonen M., (2003). “Berry Anthocyanins: Isolation, Identification and Antioxidant Activities”, *J.Sci.Food.Agric* 83:1403–1411.
- Lila, M. A. (2004). “Plant pigments and human health” dalam Davies, K. (editor). *Plant Pigments and Their Manipulation (Annual Plant Reviews, volume 14)*. United States of America: Blackwell Publishing, Ltd., pp. 248-274
- Markham, K. R., (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Terjemahan Padmawinata, K., Bandung: Penerbit ITB.
- World Health Organization. (2009). *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants volume 4*, Geneva Switzerland: WHO Press., pp 210-225
- Vergara, C., D. Von Baer, Hermosin I., Ruiz A., Hirschfeld M. A., Castillo N., dan Mardones C., (2009). “Anthocyanins That Confer Characteristic Color To Red Copihue Flowers (*Lapageria rosea*)”, *J. Chil. Chem. Soc.*, 54: 2.