



**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SARI BUAH BUNI (*Antidesma bunius*) SELAMA PENYIMPANAN**

**SKRIPSI**

Oleh

**RIZMA NURRUSLIANA  
NIM 031710101116**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2008**

**Aktivitas Antioksidan Sari Buah Buni (*Antidesma bunius*) Selama Penyimpanan;**  
Rizma Nurrusliana, 031710101116; 2008; 60 halaman; Jurusan Teknologi Hasil  
Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

## RINGKASAN

Minuman ringan merupakan produk pangan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat dari berbagai kalangan, baik anak-anak, remaja maupun dewasa. Peningkatan konsumsi minuman ringan perlu diikuti dengan adanya upaya memanfaatkan minuman tersebut menjadi minuman fungsional. Salah satu upaya yang dapat dilakukan misalnya dengan memanfaatkan buah buni sebagai bahan dasar pembuatan minuman ringan golongan sari buah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan lama penyimpanan pada suhu 5 °C dan 27 °C terhadap aktivitas antioksidan sari buah buni serta untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan sari buah buni.

Penelitian dilakukan terdiri dari dua tahap. Tahap pertama (penelitian pendahuluan) bertujuan untuk menentukan konsentrasi sari buah buni yang disukai. Tahap kedua merupakan penelitian utama yaitu perlakuan konsentrasi sari buah buni 2.5% dan 10% pada penyimpanan suhu 5 °C dan 27 °C selama 8 minggu dengan interval pengamatan setiap 2 minggu. Analisa kimia yang dilakukan meliputi aktivitas antioksidan, kadar antosianin, kadar vitamin C, total polifenol, dan derajat keasaman (pH).

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor untuk masing-masing suhu 5 °C dan 27 °C dan perbandingan antar perlakuan diuji dengan Duncan's Multiple Range Test (DNMRT) pada taraf 5% dan uji T (*T Test*).

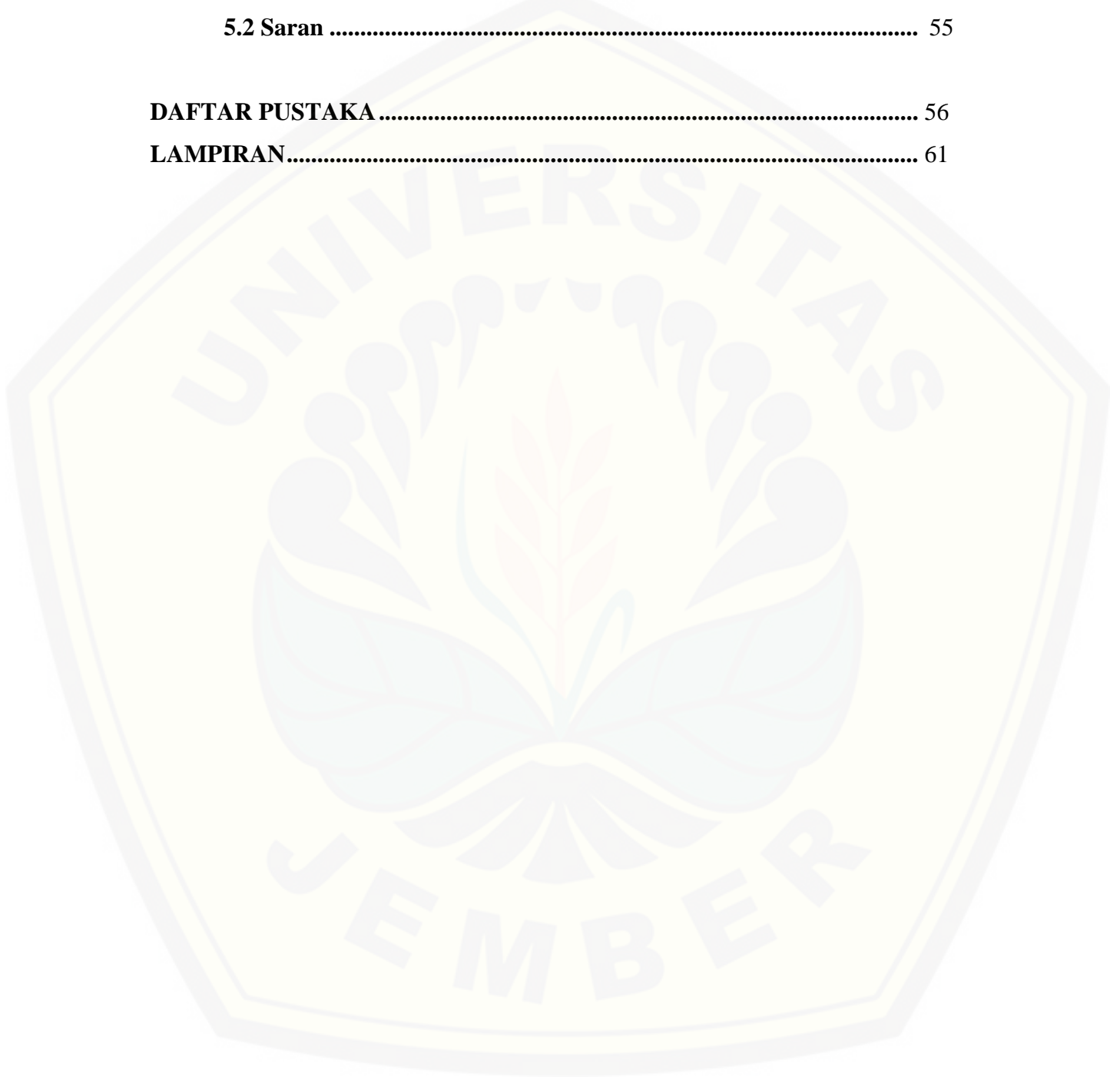
Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi sari buah buni dan suhu penyimpanan pada suhu 5 °C berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, kadar antosianin, total polifenol, dan derajat keasaman (pH) namun tidak berpengaruh terhadap kadar Vitamin C. Kemudian konsentrasi sari buah buni dan lama penyimpanan pada suhu 27 °C berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, kadar antosianin, total polifenol, derajat keasaman (pH), namun tidak berpengaruh terhadap kadar Vitamin C. Sedangkan suhu penyimpanan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, kadar antosianin, total polifenol, dan derajat keasaman (pH), namun tidak berpengaruh terhadap kadar vitamin C.

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN SAMBUTAN</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>LEMBAR PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	vi
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	vii
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	viii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ix
<b>RINGKASAN</b> .....	x
<b>PRAKATA</b> .....	xii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xix
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xxi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Permasalahan</b> .....	2
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	2
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	2
<b>1.5 Hipotesis</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Buah Buni</b> .....	4
<b>2.2 Antioksidan</b> .....	6
<b>2.3 Aktivitas Antioksidan dan Scavenging         terhadap Radikal Bebas</b> .....	8

<b>2.4 Komponen Bioaktif</b> .....	11
2.4.1 Antosianin .....	11
2.4.2 Vitamin C .....	16
2.4.3 Senyawa Polifenol.....	17
2.4.4 Senyawa Radikal (DPPH).....	18
<b>2.5 Minuman Fungsional</b> .....	19
<b>2.6 Sari Buah</b> .....	19
2.6.1 Bahan-bahan Dasar Pembuatan Sari Buah.....	20
<b>2.7 Hipotesis</b> .....	27
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	28
<b>3.1 Bahan dan Alat</b> .....	28
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	28
<b>3.3 Metode Penelitian</b> .....	28
3.3.1 Penelitian Pendahuluan .....	28
3.3.2 Penelitian Utama .....	29
3.3.2.1 Pembuatan Sari Buah Buni .....	29
3.3.2.2 Rancangan Percobaan .....	32
<b>3.4 Parameter Yang Diamati</b> .....	34
<b>3.5 Prosedur Analisa</b> .....	34
<b>BAB 4. PEMBAHASAN</b> .....	38
<b>4.1 Aktivitas Antioksidan</b> .....	38
<b>4.2 Antosianin</b> .....	41
<b>4.3 Vitamin C</b> .....	45
<b>4.4 Senyawa Polifenol</b> .....	48
<b>4.5 Derajat Keasaman (pH)</b> .....	51

<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	55
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	55
<b>5.2 Saran</b> .....	55
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	56
<b>LAMPIRAN</b> .....	61



## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Minuman ringan merupakan produk pangan yang sering dikonsumsi oleh masyarakat dari berbagai kalangan, baik anak-anak, remaja maupun dewasa. Yang termasuk minuman ringan yakni minuman berkarbonatasi, sari buah, air minum dalam kemasan (AMDK), minuman isotonik atau energi. Selain itu minuman ringan dapat dikonsumsi dalam berbagai situasi dan kondisi, sehingga produksi minuman ringan di pasaran memiliki potensi yang sangat besar. Data Badan Pusat Statistik menunjukkan bahwa produksi minuman ringan di Indonesia sejak tahun 1988 sampai dengan 2000, yaitu 266.442.000 liter menjadi 393.793.000 liter (Anonim, 2001).

Peningkatan produksi tersebut menunjukkan bahwa konsumsi minuman ringan dari tahun ke tahun semakin digemari. Dengan fakta itu, industri minuman ringan memiliki potensi yang sangat besar untuk dikembangkan lebih lanjut, terlebih kalau melihat jumlah penduduk Indonesia yang sangat besar, dengan pendapatan per kapita yang terus meningkat.

Peningkatan konsumsi minuman ringan perlu diikuti dengan adanya upaya memanfaatkan minuman tersebut menjadi minuman fungsional. Salah satu upaya yang dapat dilakukan misalnya dengan memanfaatkan buah buni sebagai bahan dasar pembuatan minuman ringan golongan sari buah. Dengan demikian, minuman ringan berfungsi selain sebagai minuman pelepas dahaga, tetapi juga sebagai minuman fungsional.

Perkembangan minuman fungsional dewasa ini banyak diminati oleh konsumen, hal ini disebabkan karena minuman tersebut dipercaya memiliki khasiat atau manfaat bagi kesehatan. Minuman fungsional yang sekarang ini banyak dikembangkan dan diteliti adalah minuman fungsional yang mengandung antioksidan. Mengingat peranannya yang multi fungsi sebagai pencegah timbulnya berbagai penyakit kronis, perhatian banyak ditujukan pada upaya peranan zat-zat

antioksidan yang potensial terutama yang berasal dari tumbuh-tumbuhan misalnya buah buni.

Buah buni merupakan salah satu buah yang ternyata banyak mengandung antioksidan. Saat ini buah buni belum banyak dimanfaatkan, hal ini karena adanya keengganan dalam mengkonsumsi buah buni yang rasanya masam. Oleh karena itu perlu upaya untuk memanfaatkan buah buni antara lain dengan dibuat sari buah yang juga berfungsi sebagai minuman fungsional.

Cita rasa sari buah buni antara lain ditentukan oleh konsentrasi buahnya. Namun konsentrasi akan mempengaruhi jumlah komponen antioksidannya. Selain konsentrasi, lama dan suhu penyimpanan juga mempengaruhi tingkat kerusakan dari senyawa antioksidan. Suhu penyimpanan yang tinggi dan waktu penyimpanan yang lama menyebabkan oksidasi antosianin, polifenol, dan vitamin C sehingga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidannya.

## **1.2 Permasalahan**

Buah buni mempunyai potensi untuk dibuat menjadi minuman fungsional dalam bentuk sari buah karena mengandung senyawa antioksidan. Namun bagaimana pengaruh konsentrasi sari buah dan lama penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan sari buah buni pada penyimpanan suhu dingin (5 °C) dan suhu ruang (27 °C) belum diketahui sehingga perlu dilakukan penelitian.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan penelitian adalah:

- a. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan lama penyimpanan pada suhu 5 °C dan 27 °C terhadap aktivitas antioksidan sari buah buni.
- b. Untuk mengetahui pengaruh suhu penyimpanan terhadap aktivitas antioksidan sari buah buni.



#### **1.4 Manfaat Penelitian**

- a. Meningkatkan nilai ekonomi buah buni
- b. Memberikan informasi tentang pembuatan sari buah buni dan aktivitas antioksidan selama penyimpanan.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Buah Buni

Buah buni sering dinamakan buah *wuni* (Jawa), *katika* (Maluku), *bune* (Makasar), *u ye cah* (Cina) dan *burneh* untuk orang Madura. Buni bukan merupakan pohon tropik, sebab dapat pula tumbuh dan berbuah di Florida bagian tengah. Di daerah tropik buni dijumpai tumbuh dari 0 dpl. sampai di atas 1000 dpl. Di Indonesia, buni ditanam di propinsi-propinsi bagian timur yang beriklim muson dan juga di bagian barat yang lembab, tetapi penyebarannya di India menandakan bahwa buni bukan merupakan tanaman yang toleran terhadap kekeringan. Waktu panen buah buni pada bulan Februari-Maret di Indonesia, Juli-Agustus di Filipina, dan Juli-September di Vietnam bagian utara (Verheij dan Coronel, 1997).

Pohon buah mempunyai tinggi 15-30 m. Pohon berbatang sedang ini tersebar di Asia Tenggara dan Australia, di Jawa tumbuh liar di hutan atau ditanam di halaman dan dapat ditemukan dari dataran rendah sampai 1.400 m dpl (dibawah permukaan laut). Daun tunggal, bertangkai pendek, panjang 9-25 cm, tepi agak rata bergelombang, ujung meruncing, pangkal tumpul. Daun muda warnanya hijau muda, setelah tua menjadi hijau tua (Anonim, 2006).

Buah buni memiliki bahasa latin *Antidesma bunius*, secara botani dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Bangsa	: <i>Euphorbiales</i>
Suku	: <i>Euphorbiaceae</i>
Marga	: <i>Antidesma</i>
Jenis	: <i>Antidesma bunius</i>



**Gambar 2. 1. Buah buni (*Antidesma Bunius*) (Anonim, 2006)**

Keterangan gambar 2. 1:

- a. Buah masak optimal dengan warna ungu kehitaman dan lunak
- b. Buah masak dengan dengan warna merah
- c. Buah agak masak dengan warna kuning, agak keras.
- d. Buah mentah dengan warna hijau, keras.

Buah buni berupa buah batu, berbentuk bulat atau bulat telur, berdiameter 8-10 mm, berwarna merah kekuning-kuningan sampai ungu kebiru-biruan, mengandung banyak sari buah. Biji berbentuk bulat telur-lonjong, berukuran (6-8) mm x (4,5-5,5) mm. Buah buni yang matang dapat dimakan dalam keadaan segar, tetapi dapat mewarnai mulut dan jari. Sari buah dari buah yang matang benar berguna sebagai minuman penyegar dan menghasilkan anggur yang istimewa. Orang Indonesia membuat saus-asem ikan dari buah buni. Daun mudanya juga berguna untuk memberi aroma ikan atau daging rebus (stew), dan baik buah muda maupun daun muda dapat digunakan sebagai pengganti cuka. Daun muda juga dimakan sebagai lalap, kulit dan daun mengandung alkaloid yang memiliki khasiat obat, tetapi dilaporkan juga beracun. Kayunya berwarna kemerah-merahan dan keras tetapi kurang bermanfaat.

Bagian buah buni yang dapat dimakan sebesar 65 - 80% dari keseluruhan buah. Setiap 100 gram bagian yang dapat dimakan berisi 90 - 95 g air, 6.3 g karbohidrat, 0.8 g lemak, 0.7 g protein, 3.2 - 120 mg kalsium, 22 - 40 mg fosfor, 0.1 -

0.7 mg besi, 8 mg vitamin C dan 10 IU vitamin A dan nilai energinya 134 kJ/100 g. Asam askorbat merupakan asam organik yang paling menonjol dalam buah buni (Verheij dan Coronel, 1997). Buah buni yang berubah-ubah warnanya menyebabkan tanaman ini menjadi pohon hias yang menarik (Verheij dan Coronel, 1997).

## 2. 2 Antioksidan

Secara umum antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochtar dan Rossel dalam Trilaksani, 2003). Ditambahkan oleh Cuppert dalam Trilaksani (2003), antioksidan dinyatakan sebagai senyawa yang secara nyata dapat memperlambat oksidasi walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah sekalipun dibandingkan dengan substrat yang dioksidasi. Menurut Medikasari (2000), antioksidan adalah bahan tambahan yang digunakan untuk melindungi komponen-komponen makanan yang bersifat tidak jenuh (mempunyai ikatan rangkap) terutama lemak dan minyak.

Antioksidan adalah komponen kimia yang memiliki kemampuan dalam mengikat oksigen dan menjadi donor hidrogen radikal. Sistem kerjanya adalah merubah komponen radikal menjadi netral. Antioksidan dibedakan menjadi dua tipe:

- Antioksidan primer atau pemecah rantai oksidasi adalah suatu zat, yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal yang melepaskan hidrogen. Sistem kerjanya adalah dengan memecah rantai oksidasi dari peroksi sehingga tidak bereaksi lebih lanjut dengan asam lemak tak jenuh dan membuatnya lebih stabil.
- Antioksidan sekunder adalah suatu zat yang dapat mencegah kerja prooksidan sehingga dapat digolongkan sebagai sinergik. Sistem kerjanya dengan menghambat atau mengurangi laju autooksidasi lemak dengan beberapa cara,

yaitu mengikat ion logam, mengusir oksigen bebas dalam bahan dan memecah hidrogen peroksida menjadi produk non radikal (Winarno, 1993).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Diantara beberapa contoh antioksidan sintetik yang diijinkan untuk makanan ada lima antioksidan yang penggunaannya meluas dan menyebar diseluruh dunia, yaitu BHA, BHT, propilgalat, TBHQ dan tokoferol. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintesis untuk tujuan komersial (Buck, 1991).

Antioksidan sangat bermanfaat bagi kesehatan dan berperan penting untuk mempertahankan mutu produk pangan. Berbagai kerusakan seperti ketengikan, perubahan nilai gizi, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik lain pada produk pangan karena oksidasi dapat dihambat oleh antioksidan (Trilaksani, 2003). Ditambahkan oleh Anonim (2001), selama lebih dari setengah abad antioksidan telah dimanfaatkan dalam pengolahan pangan untuk menghambat kerusakan makanan. Biasanya antioksidan ini ditambahkan pada makanan yang mengandung lemak atau minyak, buah segar atau sayuran agar tidak cepat rusak. Senyawa antioksidan juga dapat mencegah perubahan warna dan rasa yang disebabkan oksigen di udara.

Menurut Prat dan Hudson (1990) dalam Trilaksani (2003), senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavin, katekin, flavanol dan kalkon. Sementara asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain. Senyawa antioksidan alami polifenolik ini multifungsional dan dapat bereaksi sebagai pereduksi, penangkap radikal bebas, pengkelat logam, dan peredam terbentuknya singlet oksigen.

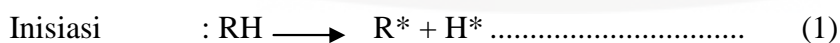
Menurut Fessenden (1997), senyawa fenol adalah senyawa dengan suatu gugus OH yang terikat pada cincin aromatik. Gugus OH merupakan aktifator kuat

dalam reaksi substitusi pada cincin aromatik elektrofilik. Fenol adalah antioksidan yang efektif yang biasanya digunakan untuk mencegah reaksi dari radikal bebas. Fenol bereaksi dengan radikal intermediet menghasilkan radikal fenolik yang stabil dan tidak reaktif. Pembentukan radikal fenolik yang stabil ini mengakhiri proses oksidasi radikal yang tidak dikehendaki.

Kira-kira 2 % dari seluruh karbon yang disintesis oleh tumbuhan diubah menjadi flavonoid atau senyawa yang berkaitan dengannya sehingga flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Lebih lanjut disebutkan bahwa flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau (Markham, 1998 dalam Trilaksani 2003). Ada banyak bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami, seperti rempah-rempah, dedaunan, teh, kakao, biji-bijian, sereal, buah-buahan, sayur-sayuran dan tumbuhan/alga laut. Bahan pangan ini mengandung jenis senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan seperti asam amino, asam askorbat, golongan flavonoid, tokoferol, karotenoid, tannin, peptida, melanoidin, produk-produk reduksi, dan asam-asam organik lain (Pratt, 1992 dalam Trilaksani, 2003).

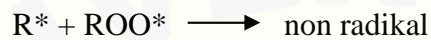
### 2.3 Aktivitas Antioksidan dan Scavenging terhadap Radikal Bebas

Menurut Medikasari (2000), mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak yaitu suatu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen (reaksi 1). Pada tahap selanjutnya yaitu propagasi dimana radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi 2). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3)

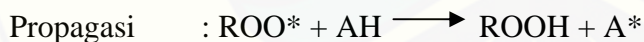
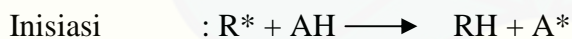




Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggung jawab atas flavour makanan berlemak. Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antar radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal (reaksi 4)

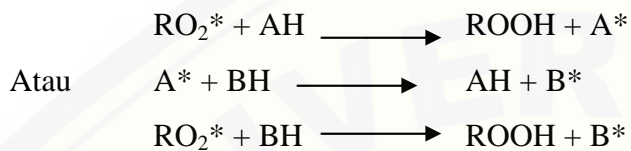


Menurut Gordon (1990) dalam Trilaksani (2003), sesuai mekanisme kerjanya, antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ( $\text{R}^*$ ,  $\text{ROO}^*$ ) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan ( $\text{A}^*$ ) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil.



Antioksidan sekunder seperti asam sitrat, asam askorbat, dan esternya, sering ditambahkan pada lemak dan minyak sebagai kombinasi dengan antioksidan primer. Kombinasi tersebut dapat memberi efek sinergis sehingga menambah keefektifan kerja antioksidan primer. Antioksidan sekunder ini bekerja dengan satu atau lebih mekanisme (a) memberikan suasana asam pada medium (sistem makanan), (b) meregenerasi antioksidan primer, (c) menkelat atau mendeaktifkan kontaminan logam prooksidan, (d) menangkap oksigen, (e) mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen (Gordon, 1990 dalam Trilaksani, 2003). Menurut Madhavi,

*et al.* (1996), sinergisme umumnya memperpanjang umur dari antioksidan primer dan aktivitas antioksidan dari gabungan antioksidan lebih besar daripada antioksidan tersebut bila digunakan sendiri-sendiri. Ketaren (1986), menggambarkan reaksi efek dari sinergisme antara hidrokwinoon (AH) dengan asam askorbat (BH) sebagai berikut:



Radikal A\* akan bereaksi dengan O<sub>2</sub>



Oksidasi adalah suatu proses kimia, dimana suatu molekul yang bereaksi mengambil elektron dari molekul lain. Perusakan oksidatif adalah serangan dari molekul bebas (superoksida, hidroksil radikal) atau molekul non radikal (singlet oksigen dan ozon) kepada molekul biologis. Radikal bebas yang diproduksi oleh mitokondria, lisosom, retikulum endoplasma, dan inti sel. Sedangkan secara eksogen, radikal bebas berasal dari asap rokok, polutan radiasi, obat-obatan dan pestisida (Medikasari, 2000).

Radikal bebas pada tubuh akan menyebabkan kerusakan sel, gangguan fungsi sel, bahkan kematian sel. Molekul utama didalam tubuh yang dirusak oleh radikal bebas adalah DNA, lemak, dan protein. Radikal bebas akan menyebabkan kanker, aterosklerosis, serangan jantung, dan lain-lain (Medikasari, 2000).

Mekanisme penangkapan radikal bebas oleh flavonoid adalah dengan melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya. Pemberian atom hidrogen ini menyebabkan radikal bebas menjadi stabil dan berhenti melakukan gerakan ekstrim, sehingga tidak merusak lipida, protein dan DNA yang menjadi target kerusakan seluler. Flavonoid menghentikan tahap awal reaksi dengan melepaskan satu atom hidrogen kemudian berikatan dengan satu radikal bebas. Selanjutnya dengan mekanisme seperti itu radikal peroksi dapat dihancurkan atau distabilkan dengan

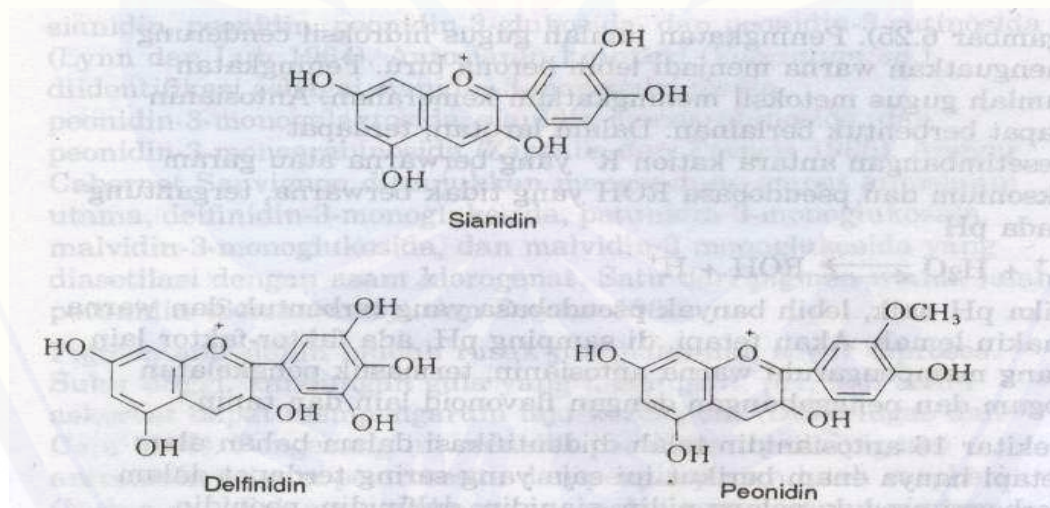


resonansi dari gugus-gugus hidroksil yang membuat energi aktivasinya berkurang (Anonim, 2005).

## 2. 4 Komponen Bioaktif

### 2. 4. 1 Antosianin

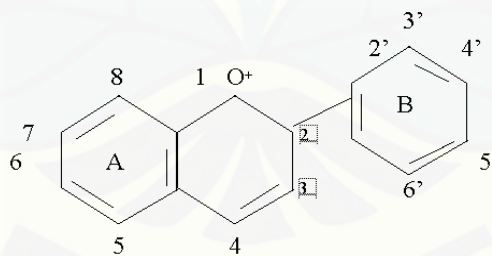
Pigmen antosianin merupakan sejenis bahan pewarna makanan bukan sintetik yang banyak terdapat pada buah-buahan, kelopak bunga, dan daun tumbuh-tumbuhan. Secara fisik antosianin mempunyai berbagai warna seperti merah, merah jambu, ungu muda dan biru mengikuti jenis tumbuh-tumbuhan dan bagian yang mengandung antosianin. Dua puluh jenis senyawa turunan antosianin telah ditemukan namun hanya enam jenis yang memegang peranan penting dalam bahan makanan yaitu pelargonidin, sianidin, delpidin, peonidin, petunidin dan mavidin. Senyawa dalam bentuk lain jarang ditemukan (Francis, 1985). Sedangkan antosianin pada buah buni terdiri dari campuran berbagai jenis antosianin yang terdapat di alam.



**Gambar 2.2. Struktur Beberapa Antosianidin Penting (Francis, 1985)**

Antosianin merupakan keluarga Melastomaceae dari familia flavonoid yang mempunyai sifat larut dalam air. Pigmen antosianin mudah rusak jika buah dan sayur dimasak dengan suhu tinggi, kandungan gula meningkat, pH dan asam askorbat dapat mempengaruhi laju kerusakan (Markakis, 1982).

Antosianidin adalah aglikon antosianin yang terbentuk bila antosianin dihidrolisa dengan asam. Antosianidin yang paling umum adalah sianidin yang berwarna merah lembayung. Warna jingga disebabkan oleh pelargonidin yang gugus hidroksilnya kurang satu dibandingkan sianidin, sedangkan warna merah senduk, lembayung dan biru umumnya disebabkan oleh delphinidin yang gugus hidroksilnya lebih satu dibandingkan sianidin (Francis, 1985). Semua antosianin merupakan derivat dari struktur dasar kation flavium, seperti pada Gambar 2.3. Pada molekul flavium ini terjadi substitusi dengan molekul OH dan O untuk membentuk antosianidin (Markakis, 1982). Pada setiap inti kation flavium terdapat molekul yang berperan sebagai gugus pengganti (Francis, 1985). Gugus pengganti pada kation flavium untuk antosianidin dapat dilihat pada Tabel 2.1 dan struktur dari senyawa antosianidin dapat dilihat pada Gambar 2.4.

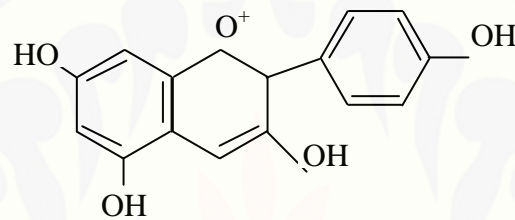


**Gambar 2.3. Rangka struktur kation flavium dan penomoran atom karbonnya**

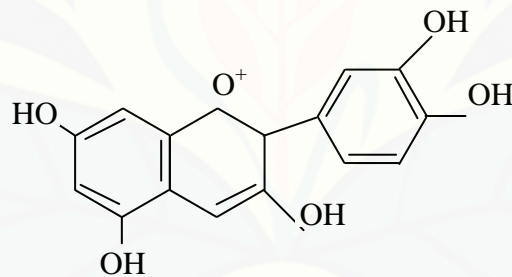
**Tabel 2.1. Gugus pengganti pada kation flavium untuk membentuk antosianidin**

Struktur antosianidin	Gugus pada Karbon Nomor		
	3'	4'	5'
Pelargonidin	H	OH	H
Sianidin	OH	OH	H
Delpinidin	OH	OH	OH
Peordinin	OMe	OH	H
Petunidin	OMe	OH	OH
Malvidin	OMe	OH	OMe

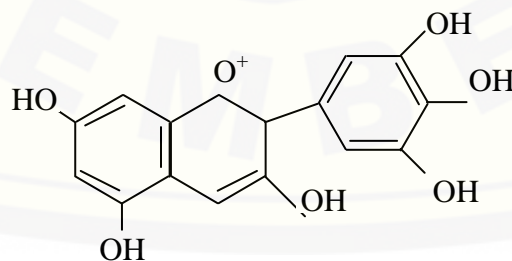
Sumber: Tranggono (1990)



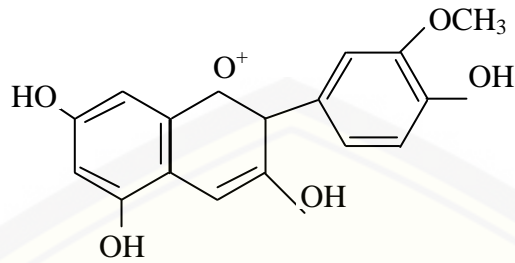
3, 5, 7, 4' kation tetrahidroksiflavium (Pelargonidin)



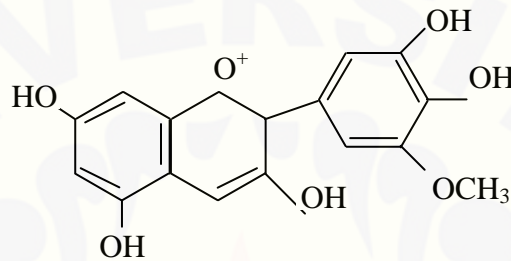
3, 5, 7, 3', 4' kation pentahidroksiflavium (Sianidin)



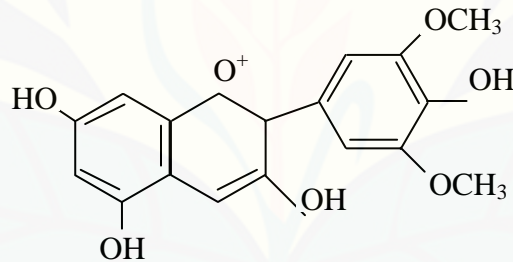
3, 5, 7, 3', 4', 5' kation heksahidroksiflavium (Delpinidin)



3, 5, 7, 4' kation tetrahidroksi-3 metoksi flavium (Peonidin)



3, 5, 7, 3', 4' kation tetrahidroksi-5 metoksiflavium (Petunidin)



3, 5, 7, 4' kation tetrahidroksi-3', 5' dimetoksiflavium (Malvidin)

#### Gambar 2.4. Struktur Senyawa Antosianidin (Francis, 1985)

Antosianin adalah senyawa yang bersifat amfoter, yaitu memiliki kemampuan untuk bereaksi baik dengan asam maupun basa. Dalam media asam, antosianin berwarna merah seperti halnya saat dalam vakuola sel dan berubah menjadi ungu dan biru jika media bertambah basa. Perubahan warna karena perubahan kondisi lingkungan ini tergantung dari gugus yang terikat pada struktur dasar dan posisi

ikatannya (Anonim, 2006). Perubahan pH mengakibatkan perubahan warna antosianin seperti ditunjukkan pada **Tabel 2.2**

**Tabel 2.2. pH dan Warna Antosianin**

Warna	pH
Cherry red	1 – 2
Cerise	3
Royal purple	5
Blue purple	6
Blue	7
Blue green	8
Merald green	9 – 10
Yellow	14

Sumber: Anonim (2006)

Pada pH rendah (asam) pigmen ini berwarna merah dan pada pH tinggi berubah menjadi violet dan kemudian menjadi biru. Penentuan warna juga dipengaruhi oleh konsentrasi pigmen. Pada konsentrasi yang semakin encer antosianin berwarna biru, sebaliknya pada konsentrasi pekat berwarna merah dan konsentrasi biasa berwarna ungu. Adanya tanin akan banyak mengubah warna antosianin (Winarno, 2002).

Kerusakan antosianin dipengaruhi oleh pH, semakin tinggi pH semakin tinggi laju kerusakannya. Kerusakan zat warna antosianin umumnya disebabkan oleh berubahnya kation flavium yang berwarna merah menjadi basa karbinol yang tidak berwarna dan akhirnya menjadi kalkon yang tidak berwarna (Francis, 1985). Suhu sangat berpengaruh terhadap stabilitas antosianin. Panas mengubah kesetimbangan terhadap kalkon dari reaksi balik menjadi lebih lambat daripada reaksi semula (Fennema, 1996). Dalam kondisi proses yang melibatkan panas, kesetimbangan antara kation flavium, basa anhydro, basa karbinol dan kalkon berubah meningkatnya bentuk basa, dimana hal ini didukung dengan mekanisme oksidasi. Adanya furfural dan hydroxmetyl furfural serta produk dari reaksi browning meningkatkan degradasi antosianin (Hulme, 1971).

#### 2. 4. 2 Vitamin C

Vitamin C merupakan senyawa yang sangat mudah larut dalam air, mempunyai sifat asam dan sifat pereduksi yang kuat. Sifat-sifat tersebut terutama disebabkan adanya struktur enediol yang berkonjugasi dengan gugus karbonil dalam cincin lakton. Bentuk vitamin C yang ada di alam terutama adalah L-asam askorbat. D-asam askorbat jarang terdapat di alam dan hanya 10% aktivitas vitamin C. Biasanya D-asam askorbat ditambah ke dalam bahan pangan sebagai antioksidan, bukan sebagai vitamin C (Andarwulan, 1989).

Andarwulan (1989) menyatakan bahwa, asam askorbat bersifat sangat sensitif terhadap pengaruh-pengaruh luar yang menyebabkan kerusakan seperti suhu, konsentrasi gula dan garam, pH, oksigen, enzim, katalisator logam, konsentrasi awal baik dalam larutan maupun system model, dan rasio antara asam askorbat dan dehidro asam askorbat.

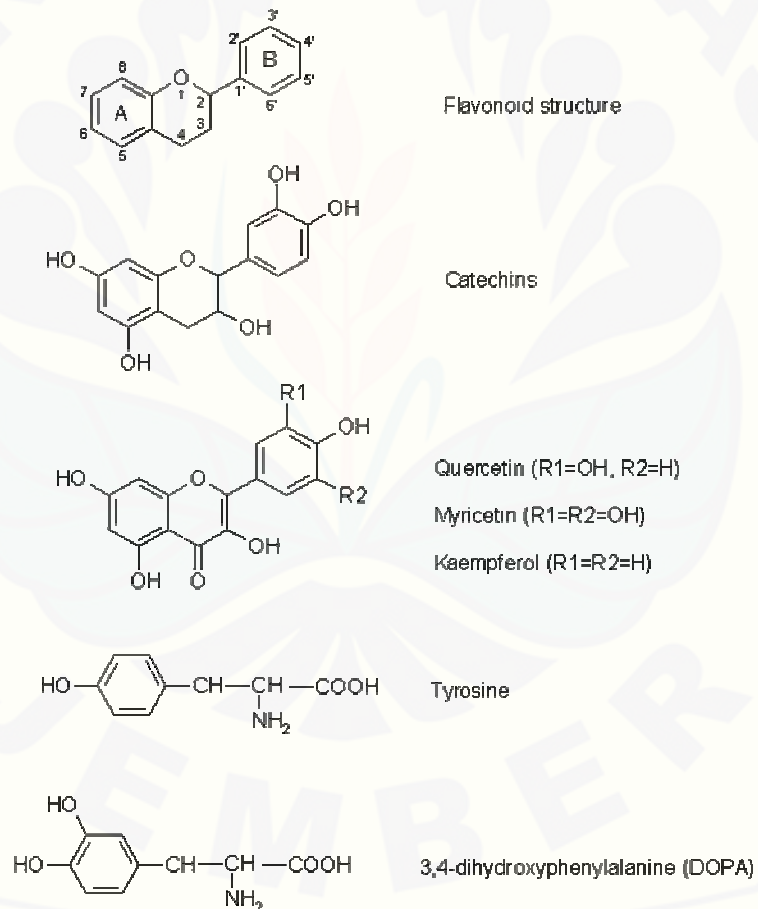
Asam askorbat bersifat sangat larut dalam air, akibatnya sangat mudah hilang akibat luka di permukaan atau pada waktu pemotongan bahan pangan. Dalam pengolahan pangan, kehilangan vitamin C terbanyak terjadi akibat degradasi kimiawi. Dalam bahan pangan yang kaya akan vitamin C seperti pada buah-buahan, kehilangannya biasanya berhubungan dengan reaksi kecoklatan non-enzimatik.

Pengaruh aktivitas air terhadap stabilitas asam askorbat terhadap kecepatan kerusakan asam askorbat dalam bahan pangan akan meningkat dengan meningkatnya aktivitas air, walaupun pengaruh energi aktivasi tidak tetap.

Jumlah asam askorbat yang hilang pada pengalengan buah-buahan yang disebabkan oleh sterilisasi makanan kaleng, atau karena penanganan yang salah. Andarwulan (1999), menyatakan bahwa pada sterilisasi komersial yang dilakukan pada waktu itu menghasilkan retensi asam askorbat sebesar 92-97% pada sari buah kaleng.

### 2. 4. 3 Senyawa Polifenol

Istilah senyawa phenol mencakup senyawa yang cukup luas. Senyawa tersebut mempunyai cincin aromatis yang berhubungan dengan hidroksil substituen, termasuk turunannya. Senyawa phenol bersifat mudah teroksidasi. Dengan adanya oksigen, asam klorogenat, asam fosfat dan senyawa otodiphenol dapat teroksidasi dalam larutan alkalis atau karena enzim poliphenolase. Senyawa phenol juga mudah terikat oleh protein. Senyawa poliphenol dari tanaman antara lain asam phenolat, flavonoid, dan tanin (Fatimah, 1993).



**Gambar 2.5 Struktur Senyawa Polifenol (Medikasari, 2000)**

Menurut Suradikusumah (1989) senyawa fenol bersifat mudah teroksidasi. Dengan adanya oksigen, asam klorogenat, asam fosfat dan senyawa ortodifenol dapat teroksidasi dalam larutan alkalis atau karena enzim fenolase oksidase. Senyawa fenol juga mudah terikat dengan protein.

Menurut Bender (1998), bahwa poliphenol dalam bahan pangan dapat berperan sebagai antioksidan. Antioksidan phenol berfungsi sebagai penghambat radikal bebas dan pengkelat dari ion-ion logam yang mampu mengkatalisis peroksidasi lipid. Hal ini juga dikemukakan oleh Anonim (2001) senyawa poliphenol bersifat antioksidatif alami, mampu menangkap senyawa radikal bebas. Radikal bebas adalah suatu molekul oksigen dalam atom gugus pada orbit terluarnya mempunyai elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas dibutuhkan dalam proses fagisitosis, bakterisidal, bakteriolisis, sistem NADP oksidase dan sintesa DNA. Apabila jumlah radikal bebas yang ada dalam tubuh melebihi sistem pertahanan tubuh dapat menimbulkan efek negatif atau toksik. Hal ini terjadi karena dalam usaha untuk memenuhi keganjilan jumlah elektronnya. Molekul radikal bebas tersebut merebut eletron dan molekul biologis lainnya seperti lipid, dan DNA yang mengakibatkan kerusakan sel-sel tubuh.

#### **2.4.4 Senyawa Radikal DPPH**

Pengujian kapasitas penangkapan radikal biasa diukur dengan menggunakan suatu senyawa radikal DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) yang bersifat stabil dan dapat menerima elektron atau radikal hidrogen menjadi suatu senyawa yang secara diamagnetik stabil (Soares, *et al.*, 1997). Lebih lanjut Duh, *et al.*, (1999) menyatakan bahwa kemampuan radikal DPPH untuk direduksi atau distabilisasi oleh antioksidan diukur dengan mengukur penurunan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm. Oleh karena itu DPPH biasa digunakan untuk mengkaji kapasitas penangkapan radikal.



Menurut Prakash (2001), elektron yang tidak berpasangan pada DPPH memiliki kemampuan penyerapan yang kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu. Perubahan warna ungu menjadi kuning terjadi karena perubahan DPPH menjadi DPPH-H (Xu, *et al.*, 2004). Antioksidan berperan mendonorkan atom H sehingga terbentuk DPPH-H tereduksi. Kapasitas penangkapan radikal bebas ditunjukkan dengan persentase berkurangnya warna ungu dari DPPH (Kim, 2005)

## **2. 5 Minuman Fungsional**

Berdasar ketetapan BPOM (2005), pangan fungsional adalah pangan olahan yang mengandung satu atau lebih komponen fungsional yang berdasar kajian ilmiah mempunyai fungsi fisiologis tertentu, terbukti tidak membahayakan dan bermanfaat bagi kesehatan. Salah satu komponen pangan fungsional adalah antioksidan, yang biasanya banyak terdapat pada buah-buahan.

Minuman sehat dapat diartikan sebagai minuman yang dapat meningkatkan fungsi fisiologis tubuh seperti menghilangkan stress, menurunkan kandungan kolesterol, meningkatkan fungsi otak. Selain itu juga mempunyai rasa yang enak serta kandungan gizi yang sesuai dengan peruntukannya (Antara, 1997).

## **2. 6 Sari Buah**

Menurut Departemen Perindustrian (1979), sari buah didefinisikan sebagai cairan yang diperoleh dengan memeras buah, baik disaring atau tidak, yang tidak mengalami fermentasi dan dimaksudkan untuk minuman segar yang dapat langsung diminum. Sari buah merupakan salah satu minuman yang disukai, karena praktis, enak dan menyegarkan, serta bermanfaat bagi kesehatan mengingat kandungan vitamin secara umum tinggi (Fachruddin, 2002).

Di Indonesia umumnya proses pembuatan sari buah masih dilakukan dengan cara sederhana. Pada umumnya, sebelum menjadi sari buah, buah perlu diproses

melalui tahap perlakuan pendahuluan, yaitu pemisahan daging buah dari kulit dan biji, dilanjutkan dengan pemotongan dan pencucian. Kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi untuk memperoleh cairan buah yang diinginkan. Pada prinsipnya, ekstraksi buah dapat dilakukan dengan berbagai cara, antara lain:

a) Pemisahan dengan pemisah sentrifugal

Dengan memasukkan daging buah ke dalam silinder pemisah sentrifugal yang dijalankan dengan motor listrik dengan kecepatan 3000-5000 rpm, untuk pemisahan cairan sari buah dari biji dan pulp.

b) Pemisahan dengan alat pres

Dengan membungkus daging buah yang telah dihaluskan dengan kain blacu yang kuat, kemudian diperas dengan alat pres untuk mengeluarkan sari buah, kemudian diperas dengan alat pres untuk mengeluarkan sari buah (Anonim, 2007).

Sari buah yang dihasilkan umumnya bersifat keruh dan mengandung endapan karena adanya pectin pada buah. Semakin tinggi kadar pektin, maka sari buah yang diperoleh makin keruh. Disamping kekeruhan, cita rasa dan warna juga menentukan kualitas sari buah. Cita rasa dan warna yang menyimpang dari sifat khas bahan tidak dikehendaki oleh konsumen. Sari buah umumnya berasa masam khas buah dengan derajat keasaman 3-4 (Departemen Perindustrian, 1977).

Masalah utama pada pembuatan sari buah adalah perubahan suspensi sari buah tersebut terutama apabila mengalami penyimpanan. Perubahan itu dapat terjadi karena terbentuknya endapan di dasar botol, sehingga kekeruhan menjadi tidak stabil. Kualitas sari buah dipengaruhi oleh stabilitas kekeruhannya. Sari buah yang berkualitas baik adalah sari buah yang tampak keruh merata (Suter, 1981).

### **2. 6. 1 Bahan-bahan Tambahan pada Pembuatan Sari Buah**

Bahan-bahan tambahan yang digunakan pada pembuatan sari buah sangat mempengaruhi kualitas dan penerimaan terhadap minuman tersebut. Bahan tambahan

yang digunakan pada pembuatan sari buah adalah air, pemanis, asam, Na-benzoat, dan bahan penstabil.

**a. Air**

Pengendalian mutu air sangatlah penting terutama untuk pembuatan minuman berkarbonat atau minuman ringan, karena kesadahan karbonat yang tinggi (alkalinitas) dapat menyebabkan minuman asam menjadi tidak lezat dan rasanya menjadi tawar. Minuman pada hakekatnya adalah air maka rasa atau bau apapun yang kurang menyenangkan yang ada didalam air akan mempengaruhi rasa produk akhir. Kejernihan yang tinggi merupakan faktor penting bagi sebagian besar produk minuman ringan. Komponen-komponen lain yang batasnya juga harus diperhatikan adalah termasuk total padatan, zat besi dan magnesium, sisa klorin serta bermacam-macam mikroorganisme (Buckle, *et al.*, 1987).

Menurut Winarno (2002), air merupakan komponen penting dalam bahan makanan karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, dan cita rasa makanan. Air berfungsi sebagai bahan yang dapat mendispersikan berbagai senyawa yang ada di dalam bahan makanan. Untuk beberapa bahan, air berfungsi sebagai bahan pelarut. Air dapat melarutkan berbagai bahan seperti, vitamin yang larut air, mineral, dan senyawa-senyawa cita rasa.

Air merupakan penyusun minuman ringan yang terbesar yang mencapai 92 % dari jumlah keseluruhan minuman ringan. Air yang digunakan harus memenuhi persyaratan air minum yaitu tidak berbau, jernih, tidak berasa, dan tidak mengandung bahan tersuspensi atau kekeruhan, bebas dari Fe, dan Mn (Suryawan, 1987). Ditambahkan oleh Anonim (2003), air yang digunakan harus bebas dari organisme hidup dalam air, alkalinitas < 50 ppm, total padatan terlarut < 500 ppm dan kandungan Fe dan Mn < 0.1 ppm.

**b. Pemanis**

Pada umumnya, minuman ringan diterima karena rasa manisnya, tapi hal tersebut bukan merupakan satu-satunya faktor yang dipertimbangkan. Pemanis yang

tepat, yang dapat bekerja secara sinergis dengan komponen lain, dapat mendukung keseimbangan secara keseluruhan pada minuman.

Selain air, industri minuman penyegar dan minuman ringan memakai banyak gula. Fungsi gula dalam produk ini bukanlah untuk pemanis saja meskipun sifat ini sangat penting, akan tetapi gula juga bersifat menyempurnakan pada rasa asam dan citarasa lainnya dan juga memberikan rasa berisi pada minuman karena memberikan kekentalan (Buckle, *et al.* 1987).

Penggunaan gula dalam suatu minuman berfungsi sebagai pemanis, penyeimbang komponen lain dalam rasa, juga sebagai penyebar komponen flavor agar menjadi homogen. Bahan pemanis ini dapat digolongkan dalam pemanis alam seperti sirup, glukosa, fruktosa dan gula pasir. Sedang pemanis yang lainnya digolongkan dalam pemanis buatan, yang digunakan untuk diet rendah kalori atau manipulasi rasa manis, dan penggunaannya harus memenuhi ketentuan yang berlaku. Gula yang digunakan dalam minuman ringan biasanya adalah gula berkarbonatasi yang memberikan hasil putih dan tidak memberikan warna pada minuman (Subiyanto, 1986).

Minuman ringan biasanya ditambah dengan bahan pemanis, contohnya sukrosa. Rumus molekul sukrosa adalah  $C_{12}H_{22}O_{11}$ , memiliki berat molekul 342,30 yang terdiri dari gugus glukosa dan fruktosa. Secara kimiawi disebut  $\alpha$ -D-glukopiranosil- $\beta$ -D-fruktofuranosida (Sudarmadji, 1982).

Menurut Ashurst (1998), penambahan gula pada minuman ringan sebesar 10-12%. Gula dapat memberikan profil kemanisan, *mouthfeel*, dan mendukung tekstur pada produk. Gula ditambahkan biasanya berbentuk butiran halus atau dalam bentuk larutan yang memiliki kadar terlarut 67 °Brix (Somogyi, *et al.*,1996).

### **c. Asam**

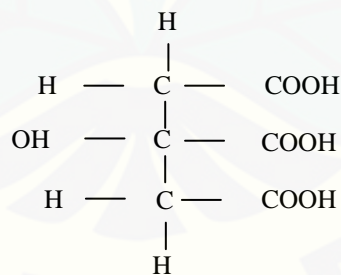
Menurut Ashurst (1999), asam dapat menambah sensasi asam yang sedap, tajam, berani, dan menggigit pada minuman ringan sekaligus berfungsi sebagai zat pengawet. Penambahan asam memberi sifat kepuasan, yang dapat menstimulasi kelenjar ludah pada mulut. Selain itu, asam juga berperan dalam sistem pengawet

dengan pH rendah untuk menghindari pertumbuhan bakteri patogen pada produk. Nilai pH di bawah 4 dapat mengefektifkan proses pasteurisasi dan disosiasi asam.

Asam ditambahkan dalam minuman dengan tujuan untuk memberikan rasa asam, memodifikasi rasa manisnya gula, berlaku sebagai pengawet, dan dapat mempercepat inversi gula dalam minuman / sirup. Asam yang digunakan dalam minuman harus jenis asam yang dapat dimakan (*edible/ food grade*) antara lain asam sitrat, asam fosfat, asam malat, asam tartarat, asam fumarat, asam adipat, dan lain-lain (Anonim, 2001).

Asam yang sering digunakan dalam minuman buah adalah asam sitrat. Asam sitrat mempunyai karakter buah ringan yang bercampur baik dengan hampur semua aroma buah, yang diharapkan terdapat dalam semua buah. Asam sitrat biasanya dihasilkan dari ekstraksi buah lemon, atau bergamot konsentrat sari buah, dan presipitasi asam sitrat sebagai garam kalsium, yang kemudian dimurnikan. Selain itu dapat diperoleh dari hasil fermentasi glukosa atau gula lain (Ashurst, 1998).

Menurut Gaman, *et al.*, (1992), asam sitrat adalah asam trikarboksilat, yaitu molekulnya mengandung 3 gugus karboksilat. Selain itu ada satu gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon yang ada di tengah. Struktur asam sitrat dapat dilihat pada **Gambar 2.6**



**Gambar 2.6 Struktur Asam Sitrat (Gaman, *et al.*, 1992)**

Asam sitrat merupakan suatu asidulan, yaitu senyawa kimia yang bersifat asam yang ditambahkan pada proses pengolahan makanan dengan berbagai tujuan. Asidulan dapat bertindak sebagai penegas rasa dan warna atau menyelubungi *after*

*taste* yang tidak disukai. Sifat senyawa asam ini dapat mencegah pertumbuhan mikroba, sehingga dapat bertindak sebagai pengawet (Winarno, 2002).

Menurut Nishiyama (2004), asam sitrat biasanya diproduksi dalam bentuk kristal monohidrat ( $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ). Kristal-kristal asam sitrat tidak berwarna, tak berbau, berasa asam, dan dengan cepat larut dalam air. Kelarutannya lebih tinggi dalam air dingin daripada di dalam air panas.

#### d. Na-Benzot

Asam benzoat sering kali digunakan sebagai antimikroba dalam makanan seperti sari buah, minuman ringan dan lain-lain. Garam sodium dari asam benzoat lebih sering digunakan karena bersifat larut air dari pada bentuk asamnya (Medikasari, 2000).

Asam benzoat ( $C_6H_5COOH$ ) merupakan bahan pengawet yang luas penggunaannya dan sering digunakan pada bahan yang asam. Bahan ini digunakan untuk mencegah pertumbuhan khamir dan bakteri. Benzoat efektif pada pH 2.5 sampai 4.0 (Winarno, 2002). Ditambahkan oleh Buckle *et al.* (1987), pada konsentrasi diatas 25 mg/l asam-asam terurai akan menghambat pertumbuhan kapang. Aktivitas optimum terjadi antara pH 2.5 dan 4. pengaruh pH pada penguraian asam benzoat disajikan pada **Tabel 2.3**

**Tabel 2.3 Pengaruh pH pada penguraian asam benzoat**

Derajat Keasaman (pH)	Asam yang terurai (benzoat %)
3	94
4	60
5	13
6	1.5
7	0.15

Sumber: Buckle *et al.* (1987)

Asam benzoat akan ditolak pada konsentrasi diatas 400 mg/l dan tidak mempunyai pengaruh pada pencoklatan enzimatik dan non enzimatik. Walaupun demikian asam ini tidak bergabung dengan komponen-komponen bahan pangan seperti halnya belerang dioksida dan tidak mempunyai pengaruh terhadap pengkaratan kaleng (Buckle, *et al.* 1987). Menurut Khomsan (2001), benzoat sejauh ini dideteksi sebagai pengawet yang aman. Di Amerika Serikat benzoat termasuk senyawa pertama yang diizinkan untuk makanan dan senyawa ini digolongkan dalam GRAS. Bukti-bukti menunjukkan pengawet ini mempunyai toksisitas sangat rendah terhadap hewan maupun manusia. Hal ini karena hewan dan manusia mempunyai mekanisme detoksifikasi benzoat yang efisien. Dilaporkan bahwa pengeluaran senyawa ini antara 66 - 95% jika benzoat dikonsumsi dalam jumlah besar. Sampai saat ini benzoat dipandang tidak mempunyai efek teratogenik (cacat bawaan) jika dikonsumsi melalui mulut dan juga tidak mempunyai efek karsinogenik. Nawasari, *et al* (2000), menyebutkan bahwa kadar maksimal penggunaan Na-benzoat pada minuman menurut Departemen Kesehatan Republik Indonesia adalah 1000 ppm.

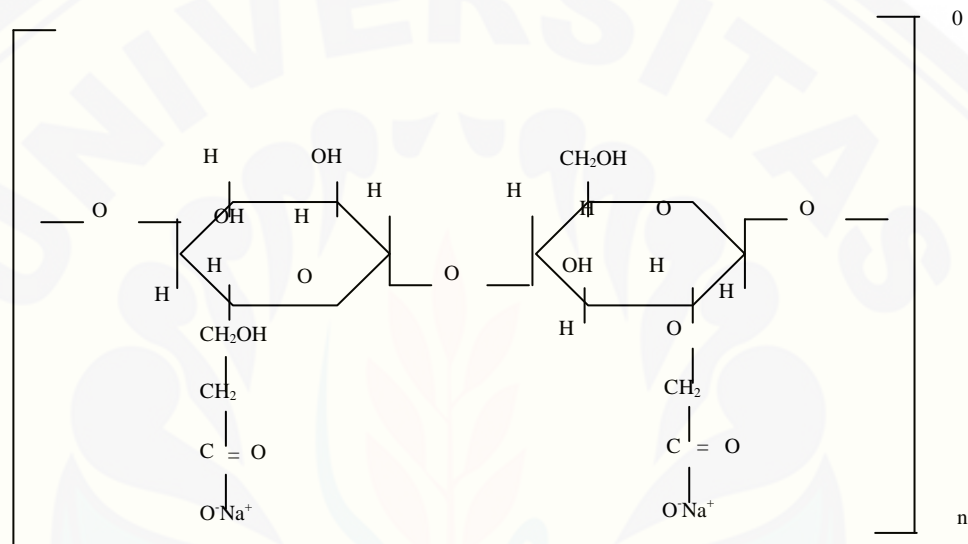
#### **e. Bahan Penstabil (Stabilizer)**

Menurut Desroisier (1969), pektin adalah termasuk golongan galakturonat yang terdapat dalam sari buah yang membentuk koloidal dalam air dan berasal dari perubahan protopektin selama pemasakan buah. Agar sari buah yang dihasilkan tetap stabil dalam keadaan koloid dan mencegah terjadinya agresi serta pengendapan, sehingga diperlukan penambahan sejumlah kecil stabilisator.

Menurut Klose, *et al.*, (1972), bahan penstabil adalah bahan yang menstabilkan atau memekatkan makanan untuk membentuk kekentalan tertentu. Dalam formulasi minuman ringan, *stabilizer* diperlukan untuk memberikan stabilitas terhadap disperse zat padat terlarut dan meningkatkan *mouthfeel* yang khas dengan meningkatkan viskositas minuman. *Stabilizer* yang biasanya digunakan dalam minuman, antara lain alginate, karagenan, vegetable gum, pektin, acacia, guar, tragacanth, xanthan, dan *carboxymethylcellulose* (CMC) (Ashurst, 1998). Selanjutnya menurut Stephen (1995), menjelaskan bahwa CMC yang banyak digunakan dalam

industri makanan dan minuman adalah dalam bentuk Na-CMC, karena mempunyai kelarutan yang tinggi daripada dalam bentuk asam bebasnya.

Na-CMC merupakan zat dengan warna putih atau sedikit kekuningan, tidak berbau dan tidak berasa, berbentuk granula yang halus atau bubuk yang bersifat higroskopis (Stephen, 1995). Menurut Tranggono, dkk (1991), CMC ini mudah larut dalam air panas maupun air dingin. Struktur Na-CMC dapat dilihat pada **Gambar 2.7**



**Gambar 2.7 Struktur Na-CMC (Fennema, 1996)**

Na-CMC akan terdispersi dalam air, butir-butir Na-CMC yang bersifat hidrofilik akan menyerap air dan membengkak. Air yang sebelumnya berada di luar granula dan bebas bergerak, tidak dapat bergerak lagi sehingga keadaan larutan lebih mantap dan terjadi peningkatan viskositas (Fennema, 1996). Hal ini menyebabkan partikel-partikel terperangkap dalam sistem tersebut akan memperlambat proses pengendapan karena adanya pengaruh gaya gravitasi.

Pada pembuatan sari buah, CMC bersifat membentuk lapisan (selaput) tipis yang resisten, berfungsi sebagai selubung butiran sehingga mencegah terjadinya pengendapan (Klose, *et al.*, 1972). Molekul-molekul CMC yang menyelubungi partikel-partikel tidak terlarut dalam sari buah bermuatan negatif sehingga akan



terjadi tolak menolak antara partikel-partikel tidak terlarut yang bermuatan sama (Aurand, *et al.*, 1973). Jadi peranan CMC disini adalah menyelubungi dan mengikat partikel-partikel tersuspensi misalnya pektin, lemak, dan fosfolipid. Hal ini mengakibatkan partikel-partikel tersuspensi tidak mengendap dan kestabilannya dapat dipertahankan.

Aurand, *et al.*, (1973) menyatakan bahwa penggunaan Na-CMC sebagai derivat dari selulosa, yaitu antara 0,01-0,8% akan mempengaruhi produk pangan seperti jelly, sari buah, mayonnaise, dan lain-lain. Na-CMC dipengaruhi oleh pH larutan karena Na-CMC memiliki gugus karboksil. PH optimumnya adalah 5 dan bila pH terlalu rendah atau kurang dari 3, maka Na-CMC akan mengendap (Winarno, 2002).

## **2.7 Hipotesis**

1. Konsentrasi dan lama penyimpanan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan sari buah buni.
2. Suhu penyimpanan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan sari buah buni selama penyimpanan.

## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3. 1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah buni, gula pasir, asam sitrat, dan aquadest. Bahan kimia yang digunakan CMC (*Carboxil Metil Celulose*), dan Na-benzoat, KCl, Na-asetat, DPPH, ethanol, Reagen Follin, Larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7%, Larutan Yodium 0,01 N, Larutan Amilum 1%, Asam Gallat, dan Asam Askorbat.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah ulekan kayu, baskom plastik, baskom dan panci stainless steel, corong, pengaduk kayu, lemari pendingin (Gorenje), oven, magnetik stirer (Stuart Scientific), batang stirer, timbangan analitik (Ohaus), kain saring, kapas pembalut, spatula, alat-alat gelas, pH meter (JenWay Tipe 3320 Jerman), Spectronic 21D (Melton Roy) dan kuvet, Vortex (Maxi Mix Tipe 16700), mikro pipet, dan spektrofotometer.

### 3. 2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian dan Mikrobiologi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juli - Oktober 2007.

### 3. 3 Metode Penelitian

#### 3. 3. 1 Penelitian Pendahuluan

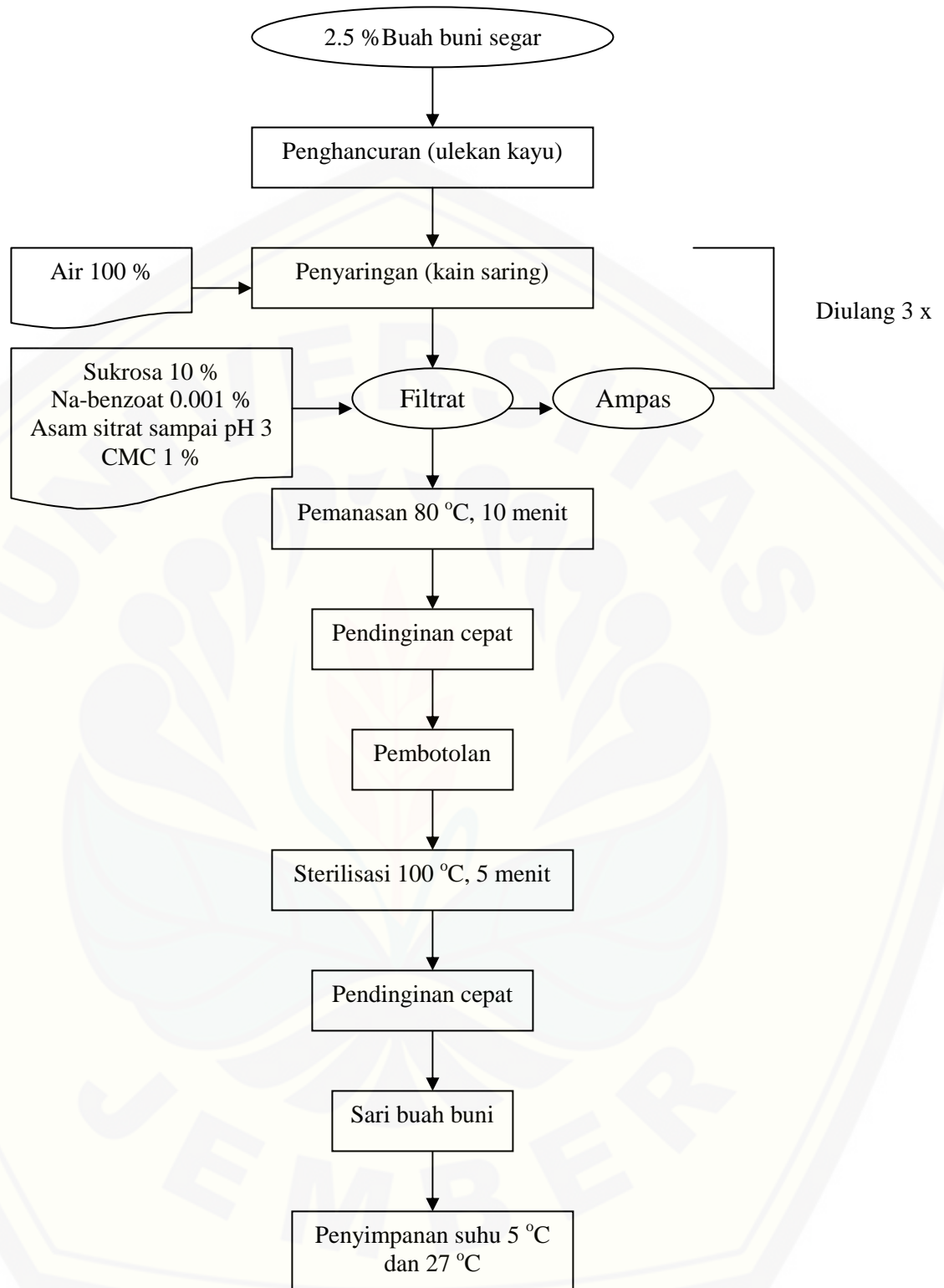
Penelitian pendahuluan dilakukan dengan membuat sari buah buni pada berbagai variasi konsentrasi 2.5 %, 5 %, 7.5 %, dan 10 % buah buni terhadap jumlah air. Secara *trial and error* dibuat formulasi sari buah yang tepat antara bahan-bahan, sukrosa, asam sitrat, Na-benzoat, dan CMC. Setelah didapat formulasi sari buah yang tepat, dilakukan uji organoleptik untuk mengetahui sari buah mana yang paling

disukai oleh panelis. Parameter yang diuji meliputi warna, aroma, rasa dan keseluruhan dengan skor 1-5 dimana 1 (sangat suka), 2 (suka), 3 (agak suka), 4 (tidak suka), dan 5 (sangat tidak suka). Sari buah yang terpilih yaitu sari buah dengan konsentrasi buah buni sebesar 2.5 % dan 10 %. Hasil terbaik dari penelitian pendahuluan selanjutnya digunakan sebagai perlakuan pada penelitian utama.

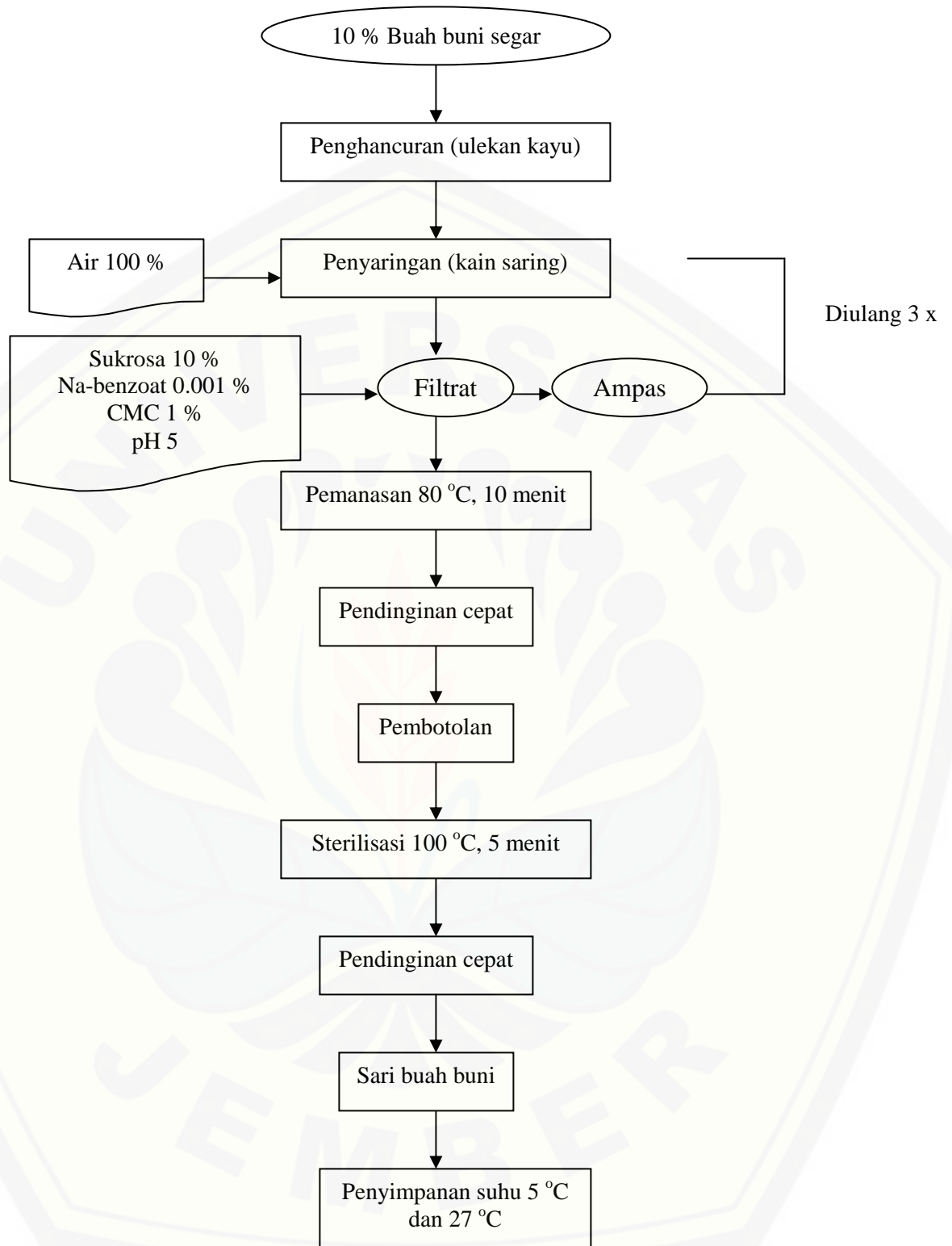
### 3. 3. 2 Penelitian Utama

#### 3. 3. 2. 1 Pembuatan Sari Buah Buni

Langkah awal dalam proses pembuatan sari buah adalah dilakukan penimbangan buah buni segar dengan variasi jumlah sebanyak 2.5 % dan 10 % buah buni dari jumlah air, kemudian dihancurkan sampai halus dan diusahakan biji tidak sampai pecah. Selanjutnya buah buni yang telah dihancurkan ditambah 100 ml air dan dilakukan ekstraksi dengan metode pemerasan menggunakan kain saring hingga terpisahkan antara filtrat dan residu. Residu yang dihasilkan dimasukkan kedalam panci dan diekstraksi 3 kali dengan ditambahkan air sebanyak 100 ml. Setelah itu filtrat hasil pengepresan dan filtrat hasil ekstraksi dengan pelarut digabung, dan ditambahkan gula pasir 10 %, Na-benzoat 0.001 %, dan CMC 1 %. Selanjutnya sari buah diatur pHnya sampai mencapai pH 3 dan pH 5 dengan dan tanpa penambahan asam sitrat. Kemudian dilakukan pemanasan sampai mendidih pada suhu 80 °C selama 10 menit untuk melarutkan bahan-bahan dalam sari buah. Selanjutnya sari buah dikemas dalam botol dan dilakukan sterilisasi pada suhu 100 °C selama 5 menit untuk mematikan mikroorganisme yang mungkin masih terdapat dalam sari buah. Penyimpanan dilakukan selama 8 minggu dengan interval pengamatan setiap 2 minggu sekali. Diagram alir pembuatan sari buah dengan konsentrasi 2.5 % dan 10 % disajikan pada **Gambar 3.1 dan 3.2**



**Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian Pembuatan Sari Buah Buni pada Konsentrasi 2.5%**



**Gambar 3.2 Diagram Alir Penelitian Pembuatan Sari Buah Buni pada Konsentrasi 10%**

### 3. 3. 2. 2 Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 3 analisa data yaitu Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor untuk suhu 5 °C, Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan dua faktor untuk suhu 27 °C, selanjutnya untuk mengetahui perbedaan dari ke-2 variasi suhu tersebut dilakukan uji T (*T Test*).

Faktor pertama (faktor A) terdiri dari dua level, yaitu formulasi sari buah buni. Faktor kedua adalah lama penyimpanan (faktor B) yang terdiri dari 5 level. Penelitian ini diulang sebanyak 3 kali.

#### 1. Rancangan Acak Kelompok untuk sari buah pada suhu penyimpanan 5 °C

Faktor A : konsentrasi buah buni

A1 : sari buah dengan konsentrasi 2.5 % buah buni

A2 : sari buah dengan konsentrasi 10 % buah buni

Faktor B : lama penyimpanan

B1 : 0 minggu

B2 : 2 minggu

B3 : 4 minggu

B4 : 6 minggu

B5 : 8 minggu

Kombinasi perlakuan :

A1B1            A2B1

A1B2            A2B2

A1B3            A2B3

A1B4            A2B4

A1B5            A2B5

#### 2. Rancangan Acak Kelompok untuk sari buah pada suhu penyimpanan 27 °C

Faktor C : konsentrasi sari buah buni

C1 : sari buah dengan konsentrasi 2.5 % buah buni

C2 : sari buah dengan konsentrasi 10 % buah buni

Faktor D : lama penyimpanan

D1 : 0 minggu

D2 : 2 minggu

D3 : 4 minggu

D4 : 6 minggu

D5 : 8 minggu

Kombinasi perlakuan :

C1D1	C2D1
C1D2	C2D2
C1D3	C2D3
C1D4	C2D4
C1D5	C2D5

Model linear yang digunakan dalam rancangan seperti diatas, adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + R_k + E_{ijk}$$

Keterangan :

$Y_{ijk}$  = Pengamatan pada satuan percobaan pada blok ke-k yang mendapat faktor A ke-i dan faktor B ke-j

$\mu$  = Nilai rata-rata pengamatan pada populasi

$A_i$  = Pengaruh faktor A pada level ke-i

$B_j$  = Pengaruh faktor B pada level ke-j

$(AB)_{ij}$  = Pengaruh interaksi antara faktor A level ke-i dengan faktor B level ke-j

$R_k$  = Pengaruh pemblokkan blok ke-k

$E_{ijk}$  = Pengaruh error yang bekerja pada suatu percobaan

Data yang telah diperoleh kemudian diolah menggunakan sidik ragam dan dilanjutkan dengan uji beda DNMRT (Duncan's Multiple Range Test) .

### 3. Uji T (*T Test*)

Uji T dilakukan untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara penyimpanan sari buah buni pada suhu 5 °C dan 27 °C.

Penelitian dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Pengolahan data hasil analisa dilakukan dengan metode deskriptif. Data yang didapat dirata-rata, dicari standar deviasinya dan ditampilkan dalam bentuk tabel. Untuk mempermudah interpretasi data, maka dibuat histogram.

### 3.4 Parameter yang Diamati

Beberapa parameter yang diamati dari sari buah buni yang dihasilkan meliputi:

- Aktifitas Antioksidan (Gadow, 1997)
- Total Poliphenol (Andarwulan, *et al.*, 1999)
- Konsentrasi Antosianin (Prior, *et al.*, 1998)
- Vitamin C (Sudarmadji, dkk., 1984)
- pH (pH-meter JenWay)

### 3.5 Prosedur Analisa

#### 3.5.1. Aktifitas Antioksidan dan DPPH (Gadow, 1997)

Aktivitas antioksidan dianalisis berdasarkan kemampuannya menangkap radikal bebas (*radical scavenging activity/RSA*) *diphenilpicrylhydrazyl* (DPPH) menurut metode yang dikembangkan Gadow (1997) dengan modifikasi. Mengambil 3 ml larutan DPPH dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 950 µl etanol dan 50 µl sample. Tabung reaksi *divortex* dan didiamkan selama 15 menit. Absorbansi diukur dengan menggunakan *spektrofotometer* 21D pada  $\lambda = 517$  nm.



Kemampuan antioksidan dalam mengikat radikal bebas dinyatakan dalam % penghambatan. Rumus yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{AbsorbansiBlanko} - \text{AbsorbansiSampel}}{\text{AbsorbansiBlanko}} \times 100\%$$

### 3.5.2 Total Poliphenol (Andarwulan, *et al.*, 1999)

Kandungan poliphenol ditentukan menggunakan metode Follin ciocalteu yang dikembangkan oleh Andarwulan *et al* (1999), yaitu: memipet 0.1 ml filtrat, 4.9 ml aquadest, 0.5 ml reagen folin ciocalteu lalu divortex agar larutan homogen, dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian ditambahkan larutan 1 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dan divortex dan tabung reaksi dibungkus dengan aluminum foil agar tidak kena cahaya dan didiamkan selama 60 menit. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dengan  $\lambda = 750$  nm. Larutan standar dibuat dengan menggunakan asam galat, yang selanjutnya dibuat kurva standar. Hasil absorbansi dihitung dengan menggunakan kurva standar  $Y = 0.0026x - 0.0077$ .

### 3.5.3 Konsentrasi Antosianin (Prior, *et al.*, 1998)

Metode yang digunakan dalam pengukuran konsentrasi antosianin dengan menggunakan pH *differential* seperti yang dilakukan oleh Prior, *et al.*, (1998). Menyiapkan 2 tabung reaksi dimana, tabung reaksi 1 diisi larutan buffer kalium klorida pH 1 sedangkan tabung reaksi 2 diisi larutan buffer natrium asetat pH 4,5. Setelah itu setiap tabung reaksi ditambahkan sari buah sebanyak 0.1 ml dengan larutan buffer sebanyak 4.9 ml, didiamkan selama 15 menit. Kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada  $\lambda = 520$  nm dan 700 nm. Nilai absorbansi dihitung dengan persamaan:

$$A = [(A_{520} - A_{700})_{pH1} - (A_{520} - A_{700})_{pH4,5}]$$

Sedangkan konsentrasi antosianin dihitung sebagai sianidin-3-glikosida dengan menggunakan koefisien ekstingsi molar sebesar  $26500 \text{ L cm}^{-1}$  dengan berat molekul 449,2. Kosentrasi antosianin dihitung dengan persamaan :

$$\text{Kosentrasi antosianin (mg/L)} = (A \times \text{BM} \times \text{FP} \times 1000) / (C \times l)$$

dimana:

A = absorbansi

BM = berat molekul (449,2)

FP = faktor pengenceran

C = ekstingsi molar ( $26900 \text{ L cm}^{-1}$ )

#### 3.5.4 Vitamin C, cara titrasi Yodium (Sudarmadji, dkk. 1984)

Penentuan vitamin C dapat dilakukan dengan titrasi iodine. Hal ini berdasarkan sifat vitamin C yang dapat bereaksi dengan iodine. Indikator yang digunakan adalah amilum. Akhir titrasi ditandai dengan terjadinya warna biru dari iod-amilum. Sampel 2.5 gr dan 10 gr dimasukkan dalam labu takar 100 ml dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, kemudian disaring. Sebanyak 5 ml filtrat dimasukkan dalam erlenmeyer 25 ml, kemudian ditambahkan 2 ml larutan amilum 1%. Setelah itu dititrasi dengan 0,01N standar iodium yang mengandung 16 g KI per liter.

Perhitungan kadar vitamin C:

$$\text{Kadar vitamin} = \frac{\text{vol titrasi} \times 0,88 \times \text{fp}}{\text{sampel}} \times 100\%$$

### 3.5.5 Derajat Keasaman (pH-meter JenWay)

Penentuan derajat keasaman (pH) dilakukan dengan memasukkan 10 ml sari buah buni ke dalam gelas ukur. Ujung elektroda dimasukkan ke dalam gelas ukur dan baca skala yang tertera pada pH meter setelah muncul tanda grafik pada layar. Standarisasi pH meter dilakukan dengan menggunakan buffer pH 4, 7, dan 10.



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Konsentrasi sari buah buni dan lama penyimpanan pada suhu 5 °C berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, kadar antosianin, total polifenol, dan derajat keasaman (pH) namun tidak berpengaruh terhadap kadar Vitamin C.
2. Konsentrasi sari buah buni dan lama penyimpanan pada suhu 27 °C berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, kadar antosianin, total polifenol, derajat keasaman (pH), namun tidak berpengaruh terhadap kadar Vitamin C.
3. Suhu penyimpanan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, kadar antosianin, total polifenol, dan derajat keasaman (pH), namun tidak berpengaruh terhadap kadar vitamin C.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui umur simpan sari buah buni.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abbers, J.E, R.E Wrolstad. 1979. *Causative Factors of Colour Deterioration in Strawberry Preserves During Processing and Storage*. J. Food Sci. 44:75-78
- Anonim. 2001. *Kajian Terhadap minuman Ringan Sebagai Calon Barang Kena Bea Cukai Dalam Rangka Ekstensifikasi Objek Barang Kena Bea Cukai*. <http://www.beacukai.go.id/sisdur/cukai/softdrink.htm> (10 Januari 2007)
- \_\_\_\_\_. 2003. *Tak lebih Baik Tapi Bisa Menggantikan*. [http://www.jawapos.co.id/index.php.?=detail\\_c &id=54328](http://www.jawapos.co.id/index.php.?=detail_c&id=54328). (10 Januari 2007)
- \_\_\_\_\_. 2005. *Tanaman Obat Indonesia*. <http://www.IPTEKnet.com>. (15 Agustus 2007)
- \_\_\_\_\_. 2006. *Darah Tinggi dan Buah Buni*. [http://www.suaramerdeka.com/cybernews/sehat/obat alami/ obat-alami33.html](http://www.suaramerdeka.com/cybernews/sehat/obat%20alami/obat-alami33.html). (2 Maret 2007)
- \_\_\_\_\_. 2007. *Sari Buah*. [http://id.wikipedia.org/wiki/sari buah](http://id.wikipedia.org/wiki/sari_buah). (10 Januari 2007)
- Andarwulan, N., D. Fardiaz, G.A Wattiwena dan K. Shetty. 1999. *Antioxidant Activity Associated with Lipid An Phenolik Mobilization during Seed Germination of Pangium Edule Reinw*. J. Agric. Food Chem., 47: 3158-3163.
- Andarwulan, N. 1989. *Kimia Vitamin*. PAU Pangan dan Gizi IPB
- Antara, N. T. 1997. *Aplikasi Teknik Kokristalisasi dalam Pengembangan Produk Minuman Sehat*. Di dalam S. Budijanto, F. Zakaria, R. Dewanti-Hariyadi dan B. Satiawiharja (ed). *Prosiding Seminar Teknologi Pangan*. Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia. Denpasar-Bali 16-17 Juli 1997.
- Ashurst, P.R. 1998. *The Chemistry and Technology of Soft Drink and Fruit Juices*. England: Sheffield Academic Press.
- Ashurst, P.R. 1999. *Production and Packaging of Non-Carbonated Fruit Juices and Fruit Beverages*. Gaitherburg, Maryland: an aspen Publisher, Inc.

- Aurand, L. W & A. E Woods. 1973. *Food Chemistry*. Wesport, Connecticut: The AVI Publishing Co.
- Bender, A.E. 1998. *Dictionary of Nutrition and Food Technology*. Sixth edition. England: Woodhead Publishing Lyd.
- BPOM. 2005. *Ketentuan Pokok Pengawasan Pangan Fungsional*.  
<http://www.bpom.co.id> (5 Agustus 2007)
- Buck, D. F. 1991. *Antioxidants*. Di dalam: J. Smith. Food Additive User's.
- Buckle, K. A, R. A. Edwards, G. H Fleet dan M. Wooton. 1984. *Ilmu Pangan*. UI Press, Jakarta.
- Duh, P., Y. Tu, and G. Yen. 1999. *Antioxidant Activity of Water Extract of Harnng Iyur (Chrysanthemum morifolium Ramat)*. Lebensm Wiss U Technol 32: 269-1105
- Departemen Perindustrian. 1977. *Teknologi Sederhana Pembuatan Minuman Asal Buah-buahan*. Surabaya.
- Departemen Perindustrian. 1979. *Standar Industri Indonesia*. Jakarta.
- Desroisier, N.W. 1969. *The Technology of Food Preservation*. Westport Connecticut: The Avi Publishing Co.Inc.
- Fachruddin, 2002. *Membuat Aneka Sari Buah*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Fatimah, T. 1993. *Pengolahan Hasil Tanaman Perkebunan (Teh)*. Politeknik Pertanian. Jember: Universitas Jember
- Fennema, O.R., 1996. *Food Chemistry*. Third edition. Madison Avenue, New york: Marcel Dekker Inc.
- Fessenden, F. 1997. *Dasar-dasar Kimia Organik*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Francis, F.J. 1985. *Analysis of Anthosianins di dalam Anthosianins as Food Color*. Markakis, P (Ed). New York: Academic Press.
- Gadow, A., E. Jourbet, and C.F Hansman. 1997. *Comparison of The Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Plant Phenols of Rooibos Tea (Aspalatus linearis)*. J. Agric. Food Chem., 45: 832-638.

- Gaman, P.M & K.B. Sherington. 1992. *Ilmu Pangan*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Hidayat, A. 2006. *Pengembangan Metode Ekstraksi dan Stabilitas Antosianin Buah Buni (Antidesma Bunius)*. Jember. FTP-UNEJ
- Howard, L.A., 1999.  *$\beta$ -karoten and Ascorbic Acid Retention in Fresh and Processed Vegetables*. Institute of Food Technologists, Journal of Food Science 64 (5) 929-936.
- Kim, O.S. 2005. *Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of the E Vitamer Fraction in Rice bran*. J. Food Sci. 70(3): 208-213
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI Press
- Khomsan, A. 2001. *Makanan dan Minuman Kemasan Amankah?*.  
<http://www.chem.is.try.org/?sec:artikel&ext:19>. (10 September 2007)
- Klose, R.E & M. Glickman. 1972. *Handbook of Food Additive*. Second edition. Volume 1. Ohio: CRC Press Inc.
- Klose, R.E & M. Glickman. 1972. *Gums*. Ohio: CRC Press Inc.
- Lidya, S. W., S. B Widjanarko, T. Susanto. 2001. *Ekstraksi dan Karakterisasi Pigmen dan Kulit Buah Rambutan (Nephelium lappaceum) variasi Binjai. Biosanin 1:2*
- Madhavi, D. L, S. S despande dan D. K Solunkhe. 1996. *Food Antioxidants, Technological Toxicological and Health Perspective*. Marcel Dekker, New York.
- Markakis, P. 1982. *Anthocyanin and Food Additives*. Didalam Anthocianin food Colors Markakis, P. (ed) Academic Press, New York.
- Musa. 2006. *Pewarna Alami Cair Dari Buah Duwet (Syzyium cuminii) Kajian Produksi Dan Stabilitas Selama Penyimpanan*. Skripsi. FTP UNEJ: Jember
- Medikasari, 2000. *Bahan Tambahan Makanan: Fungsi dan Penggunaannya dalam Makanan*. <http://www.Indomedia.com/Intisari/1997.Juni/Antioksidan.htm> (9 Juli 2007)

- Nawasari, I. P. S, Nuri A. W, Hanifah N. L. 2000. *Formulasi, Karakterisasi Kimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Produk Minuman Fungsional Tradisional dari campuran Sari Asam Jawa dan Sari Kunyit*. Bogor: FTP, IPB
- Nishiyama, I. 2004. *Varietal Difference in Vitamin C Content in The Fruit of Kiwifruit and Other Actinidia Species*. American Chemical Society, J. Agric. Food Chem. 52 (17) 5472-5475.
- Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories Analytical Progress. Vol. 19 No. 2, Minnesota
- Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G., and Mainland, C. M. 1998. *Antioxidant Capacity as Influenced by Total Phenolic and Anthocyanin Content, Maturity, and Variety of Vaccinium Species*. Journal Agriculture Food Chemistry. 46:2686-2693.
- Stephen, M.A. 1995. *Food Polysaccharides and Their Applications*. New York: Marcel Dekker. Inc.
- Sudarmadji, S.B. Haryono dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Hasil Pertanian*. Yogyakarta : Liberty.
- Suryawan. 1987. *Teknologi Minuman Ringan*. Jakarta: Departemen Perindustrian
- Suradikusumah, E. 1989. *Kimia Tumbuhan*. Depdikbud Dirjen Dikti. PAU Ilmu Hayati. IPB Bogor.
- Subiyanto. 1986. *Industri Ubi Kayu*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama
- Soares, J.R., T.C.P. dins, A.P. Cunha, and L.M. Ameida. 1997. *Antioxidant Activity of Some Extract of Thymus zygis Free Rad. Res.* 26. 469-478
- Somogyi, L.P., Ramaswamy, H.S., & Hui, Y.H. 1996. *Science and Technology*. Volume 1. Lancaster-Basel: Technology Publishing Co., Inc.
- Suter, K.. 1981. *Pembuatan Sari Buah Jeruk Nipis (Citrus sinensis OBS) dalam: Sari dan Sirup Buah*. [http://www.ipteknet.co.id/ind/about/about\\_php](http://www.ipteknet.co.id/ind/about/about_php). (1 Juli 2007)
- Tranggono.1990. *Bahan Tambahan pangan. PAU Pangan dan Gizi*. Yogyakarta : UGM.



- Trilaksani, W. 2003. *Antioksidan: Jenis, Sumber, Mekanisme Kerja dan Peranan Terhadap Kesehatan*.  
[http://rudycr.tripot.com/sem2\\_023/wini\\_trilaksani.htm](http://rudycr.tripot.com/sem2_023/wini_trilaksani.htm). (23 Agustus 2007)
- Verheij E.W.M., Coronel R.E. 1997. *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2, Buah-buahan Yang Dapat Dimakan*. Prosea: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Wahyuni, Sri. 2003. *Identifikasi Pengaruh Suhu dan Lama Penyeduhan terhadap Kandungan Total Polifenol, Aktivitas Antioksidan dan Sifat Organoleptik Teh Hitam*. Skripsi. THP. FTP. Jember: Universitas Jember
- Winarno, F. G. 1993. *Pangan: Gizi, Teknologi, dan Konsumen*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Xu, J and Q. Hu. 2004. *Effect of Follar Application of Selenium on the Antioxidant Activity of Aqueous and Ethanolics Extract of Selenium-enriched Rice*. J. Agric. Food Chem. 52: 1759-1763