

EKSTRAKSI ZAT WARNA DARI KLUWEK (*Pangium edule* Reinw) MENGUNAKAN BERBAGAI PELARUT

Siti Warnasih dan Uswatun Hasanah

Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Pakuan, Bogor

e-mail: siti.warnasih@unpak.ac.id

ABSTRACT

Natural brown color of kluwek is fermented from picung seeds that can be isolated to replace synthetic brown dyes. Natural brown color is come from the Tannin, in which can be obtained by the solvent extraction process. This study aims to determine the best solvent in extracting natural brown color from kluwek using the maceration method based on the maximum absorption of the extract produced. This research consisted of making of simplicia, measurement water content from fresh kluwek and dry simplicia, extraction using 4 types of solvents (water, ethanol, acetone, and hexane), phytochemical extraction, and identification using UV-Vis Spectrophotometer. The results showed that the yield of kluwek extract with water solvent was 19.42%, ethanol 19.68%, acetone 40,51%, and hexane 45,42% with the color of extract consecutively dark brown, brown, dark yellow, and light yellow. Positive results containing tannins and flavonoid are shown from extraction with water and ethanol, while acetone and hexane extracts were negative. All extracts produce absorption of maximum wavelength at 200-400 nm which containing tannin-rich compounds (proanthocyanidins tannin) or condensed tannins are tannin flavonoids.

Key words: kluwek, maceration, tannin, dyes

PENDAHULUAN

Dewasa ini penggunaan zat warna sudah semakin luas terutama dalam makanan dan minuman, karena warna makanan memberikan daya tarik bagi konsumen. Berkembangnya industri pengolahan pangan dan terbatasnya jumlah serta kualitas zat pewarna alami menyebabkan pemakaian zat warna sintesis meningkat. Pewarna sintesis azo pada makanan tidak aman dikonsumsi karena berpengaruh pada kesehatan, penelitian Elbanna *et al.* (2017) membuktikan bahwa tikus yang diberi berbagai perlakuan pewarna makanan yaitu *tartrazine*, *sunset yellow*, *carmoisine*, dan *ponceau 4R* menunjukkan bahwa terjadi kerusakan pada berbagai jaringan tubuhnya seperti jaringan hati, ginjal, usus halus, dan lain-lain. Berdasarkan hal tersebut maka perlu ditingkatkannya pencarian terhadap sumber zat pewarna alami.

Salah satu keanekaragaman hayati Indonesia yang dapat dimanfaatkan menjadi pewarna alami adalah *Pangium edule* Reinw atau yang biasa disebut masyarakat dengan nama kluwek, kluwak, picung, atau kepayang (Heyne, 1987). Kluwek merupakan rempah yang digunakan dalam berbagai masakan diantaranya rawon, sayur brongkos dan sup konro. Selain berfungsi sebagai penyedap, kluwek juga memberikan warna coklat kehitaman pada makanan. Zat warna coklat dari kluwek dapat digunakan sebagai alternatif pengganti zat pewarna sintesis seperti *Chocolate Brown* FH dan *Chocolate Brown* HT.

Kluwek mengandung berbagai macam zat diantaranya betakaroten, asam sianida, asam hidnokarpat, asam khaulmograt, asam glorat dan tanin (Hilditch dan Williams, 1964; Mangunwardoyo *et al.*, 2008). Selain sebagai pewarna, tanin juga merupakan

Ekstraksi Zat Warna Dari Kluwek (*Pangium edule* Reinw).....(Siti Warnasih)

antioksidan yang berfungsi sebagai antibakteri (Heruwati, 2007). Hal ini menyebabkan zat warna kluwek sangat baik bila diaplikasikan dalam makanan karena dapat berfungsi sebagai pengawet. Pengambilan tanin dari suatu senyawa dapat dilakukan dengan cara ekstraksi. Salah satu faktor yang berpengaruh pada proses ekstraksi zat warna adalah jenis pelarut. Menurut Artati dan Fadilah (2007), tanin merupakan golongan senyawa polifenol yang sifatnya polar, dapat larut dalam gliserol, alkohol dan hidroalkoholik, air dan aseton. Tanin tidak larut dalam kloroform, petroleum eter dan benzene.

Menurut penelitian yang dilakukan Fachryl *et al.* (2012), ekstraksi tanin dari daun jambu biji dengan menggunakan pelarut etanol 96% pada temperatur 50°C selama waktu ekstraksi 150 menit menghasilkan tanin seberat 1,42 gram atau 14,24%.. Sementara Sibuea (2015) mengekstrak tanin dari kluwek dengan metode sokletasi menunjukkan bahwa aquades merupakan pelarut yang paling baik dibandingkan etanol 96% yang menghasilkan rendemen sebesar 15,53% dan kadar tanin sebesar 8,735817 ppm.

Berdasarkan latar belakang yang dikaji maka tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan pelarut terbaik dalam mengekstrak atau mengisolasi zat warna atau senyawa tanin yang terkandung dalam kluwek menggunakan pelarut air, etanol, aseton, dan heksan dengan metode maserasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan antara lain kluwek, akuades, etanol 70%, aseton, n-heksan, serbuk Mg, HCl 3%, etanol 96%, amil alkohol, FeCl₃ 10%, gelatin 1%, pereaksi Mayer, Dragendorf, Wagner, dan Liebermen-Buchard, eter, kloroform, amonia pekat, dan H₂SO₄ 2M.

Peralatan yang dipakai antara lain oven, cawan timbang, desikator, timbangan analitik, Erlenmeyer, corong, rotary

evaporator, tabung reaksi, pipet tetes, gelas ukur, pipet serologi, dan Spektrofotometer UV-Vis.

Pembuatan Simplisia

Kluwek dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel (sortasi basah), dicuci dengan air mengalir, sampai bersih, kemudian ditiriskan. Kluwek yang telah bersih dan bebas dari sisa air cucian dipisahkan dari tempurungnya dengan cara ditumbuk, lalu dagingnya dipisahkan, dan dirajang kecil-kecil lalu dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 50-60⁰C sampai kering. Pengeringan yang dilakukan agar daging kluwek menjadi lebih tahan lama dan tidak mudah berjamur. Setelah kering dilakukan lagi pengecekan simplisia dengan cara memilih simplisia yang benar-benar kering dan membuang benda asing yang tidak diinginkan (sortasi kering), lalu disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat (Depkes, 1985).

Penentuan Kadar Air Kluwek Segar dan Simplisia

Penetapan kadar air kluwek segar dan simplisia dilakukan dengan cara dikeringkan cawan porselein kosong dalam oven pada suhu 105⁰C selama 1 jam dan didinginkan dalam desikator selama 30 menit lalu cawan kosong ditimbang. Sebanyak 2,5 gram sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam cawan porselein tersebut. Cawan dimasukkan ke dalam oven bersuhu 100-105 ⁰C selama 3 jam. Cawan didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang sampai bobot tetap (Depkes, 1977).

Ekstraksi Kluwek

Proses ekstraksi terhadap kluwek kering dilakukan dengan metode maserasi menggunakan 4 jenis pelarut yaitu air, etanol, aseton, dan n-heksan. Kluwek kering sebanyak 20 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan direndam menggunakan pelarut masing-masing

Ekstraksi Zat Warna Dari Kluwek (*Pangium edule* Reinw).....(Siti Warnasih)

sebanyak 60 mL (1:3). Maserasi dilakukan selama 24 jam pada suhu kamar, lalu disaring. Maserasi ulang dilakukan selama 2x24 jam, disaring dan diambil filtratnya. Filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator vacum* dengan suhu pemanasan 59-60°C.

Uji Fitokimia Ekstrak Kluwek

Uji kualitatif kandungan senyawa kimia ekstrak kluwek meliputi pemeriksaan kandungan senyawa kimia flavonoid dan tanin.

A. Uji Senyawa Flavonoid

Ekstrak sebanyak ±0,1 g dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditepatkan sampai tanda batas dengan akuades, kemudian dipanaskan selama 5 menit lalu disaring. Sebanyak 10 ml filtrat ditambahkan 0,5 g serbuk magnesium, 2 ml alkohol klorhidrat (campuran asam klorida 3% dan etanol 96% dengan perbandingan 1:1) dan 20 ml amil alkohol kemudian dikocok kuat. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Harbone, 1987).

B. Uji Senyawa Tanin

Ekstrak sebanyak ±0,1 g diencerkan dengan air dan larutan tersebut ditambahkan pereaksi ferri klorida 10%. Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya golongan tanin (DepKes RI, 1977). Penentuan golongan juga dapat dilakukan dengan menambahkan larutan gelatin 1% (1:1) ke dalam ekstrak, hasil positif yaitu terbentuknya endapan putih (Harbone, 1987).

C. Uji Senyawa Alkaloid

Sebanyak ±0,3 g ekstrak dilarutkan dalam 10 mL kloroform-amonia lalu disaring. Filtrat hasil penyaringan ditambahkan beberapa tetes H₂SO₄ 2 M, kemudian dikocok sehingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan

asam (tidak berwarna) dipipet ke tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi Mayer, Dragendorf, dan Wagner. Jika terdapat endapan putih dengan pereaksi Mayer, endapan merah jingga dengan pereaksi Dragendorf dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner, maka terdapat alkaloid pada ekstrak tersebut.

D. Uji Senyawa Triterpenoid-steroid

Sebanyak ±0,3 g ekstrak ditambahkan 25 mL dietil eter dan dikocok. Lapisan dietil eter dipisahkan dan ditambahkan pereaksi Liebermen-Buchard. Adanya triterpenoid/steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau-biru.

E. Uji Senyawa Saponin

Residu yang tidak larut dalam dietil eter pada uji triterpenoid-steroid dilarutkan dalam 5 mL air dan dipanaskan selama 5 menit, lalu didinginkan dan dikocok kuat-kuat. Terbentuknya busa yang mantap selama 15 menit menunjukkan adanya saponin.

Identifikasi Zat Warna dengan Spektrofotometer UV-Vis

Larutan zat warna hasil ekstraksi diukur absorbansinya dengan Spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-700 nm, kemudian ditentukan panjang gelombang maksimumnya.

Tabel 1. Kadar air kluwek basah dan kering

No.	Sampel	Kadar Air (%)
1.	Kluwek segar	43,84
2.	Kluwek kering (simplisia)	4,95

Berdasarkan data di atas, kadar air pada sampel kluwek segar cukup tinggi yaitu sebesar 43,84%. Hal ini tidak memungkinkan sampel kluwek dalam bentuk segar disimpan pada waktu yang lama, karena akan mengakibatkan

Ekstraksi Zat Warna Dari Kluwek (*Pangium edule* Reinw).....(Siti Warnasih)

tumbuhnya jamur. Berdasarkan hal tersebut maka sampel kluwek dibuat dalam bentuk simplisia dengan cara pengeringan. Kadar air yang didapat setelah proses pengeringan yaitu berupa simplisia kering sebesar 4,95%. Nilai kadar air tersebut sesuai dengan yang dipersyaratkan untuk mutu simplisia yaitu kurang dari 10% (Depkes, 2000).

Rendemen dan Warna Ekstrak Kluwek

Metode ekstraksi yang dilakukan adalah maserasi dengan 4 jenis pelarut yaitu air, etanol, aseton, dan heksan. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang mengalir ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan larut sesuai dengan kelarutannya (Lenny, 2006). Rendemen dan warna hasil ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rendemen dan warna ekstrak kluwek pada berbagai pelarut

No.	Pelarut	Rendemen (%)	Warna Ekstrak
1.	Air	19,42	Coklat tua
2.	Etanol	19,68	Coklat
3.	Aseton	40,51	Kuning tua
4.	Heksan	45,42	Kuning muda

Nilai rendemen diperoleh dari perbandingan antara hasil akhir dengan bahan awal dikalikan 100%. Berdasarkan Tabel 2 didapatkan rendemen keempat

ekstrak berbeda, pelarut yang semakin non polar menghasilkan rendemen yang semakin tinggi, sedangkan pelarut polar menghasilkan rendemen yang rendah. Hal ini berbanding terbalik dengan warna ekstrak yang dihasilkan yaitu pelarut yang semakin non polar menghasilkan warna ekstrak yang semakin pudar, sedangkan pelarut polar menghasilkan warna ekstrak yang semakin pekat.

Rendemen yang dihasilkan dari ekstraksi menggunakan keempat pelarut termasuk tinggi, hal ini dikarenakan proses ekstraksi (maserasi) yang dilakukan cukup lama yaitu selama 3x24 jam. Semakin lama waktu yang digunakan dalam proses ekstraksi maka jumlah ekstrak yang dihasilkan akan semakin banyak. Pelarut heksan menghasilkan rendemen tertinggi yaitu 45,42%, tetapi warna ekstrak yang dihasilkan yaitu kuning muda yang berupa minyak, hal ini disebabkan oleh kandungan lemak/minyak dalam biji picung (kluwek) cukup tinggi yaitu mencapai 16% (Heruwati *et. al.*, 2007). Warna ekstrak yang diharapkan adalah coklat karena menurut Robinson (1995), senyawa tanin larut dalam pelarut polar dan berwarna coklat. Pelarut yang menghasilkan ekstrak berwarna coklat adalah air dan etanol. Hal ini sesuai dengan penelitian Hayati *et al.* (2010) yang mengekstraksi tanin dari daun belimbing wuluh menggunakan campuran pelarut air-aseton menghasilkan ekstrak berwarna coklat kehijauan.

Pelarut pengekstrak akan menentukan zat warna yang terekstraksi. Hal ini ditunjukkan dari adanya perbedaan warna ekstrak dimana pelarut air menghasilkan warna coklat tua, tetapi pelarut etanol menghasilkan warna coklat, aseton menghasilkan warna kuning tua, sedangkan pelarut heksana menghasilkan warna ekstrak kuning. Hal ini menunjukkan bahwa kepolaran pelarut pengekstrak menentukan jenis pigmen zat warna yang terekstrak (Kristianti, 2008).

Uji Fitokimia Ekstrak Kluwek

Uji fitokimia merupakan uji pendahuluan untuk menentukan senyawa yang terdapat dalam ekstrak. Uji fitokimia yang dilakukan yaitu flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid/steroid, dan saponin. Hasil uji fitokimia ditampilkan pada Tabel 3.

Uji fitokimia senyawa tanin dengan menggunakan FeCl₃ digunakan untuk menentukan adanya gugus fenol yang ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan FeCl₃ (Harborne, 1987). Hasil uji fitokimia ekstrak air dan etanol kluwek dengan FeCl₃ menghasilkan warna hijau kehitaman, karena reaksi antara tanin dan FeCl₃ membentuk senyawa kompleks. Berdasarkan hal tersebut dapat diduga di dalam ekstrak air dan etanol mengandung senyawa polifenol

yang diduga adalah senyawa tanin. Terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan FeCl₃ karena adanya ion Fe³⁺ sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya.

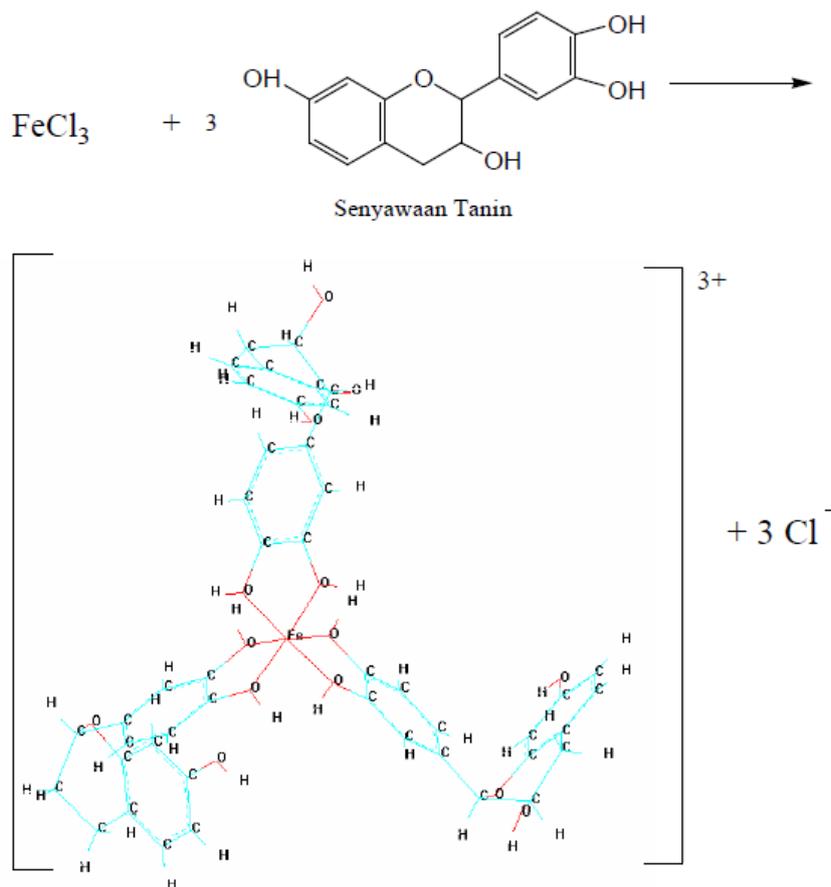
Data hasil uji fitokimia untuk masing-masing ekstrak menunjukkan bahwa senyawa flavonoid, tanin, dan saponin terdapat pada ekstrak pelarut air dan etanol. Senyawa alkaloid terdapat pada semua ekstrak, sedangkan senyawa triterpenoid/steroid tidak terkandung pada semua ekstrak. Berdasarkan Robinson (1995), tanin merupakan senyawa polar karena banyak mengandung gugus fenol, oleh karena itu tanin akan larut dalam pelarut polar seperti air dan etanol.

Tabel 3. Hasil uji fitokimia Ekstrak Kluwek

No.	Uji Fitokimia	Pelarut				Pengamatan
		Air	Etanol	Aseton	Heksan	
1.	Flavonoid	+	+	-	-	Terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol
2.	Tanin	+	+	-	-	Terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman
3.	Alkaloid	+	+	+	+	Terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer, endapan merah jingga dengan pereaksi Dragendorf, endapan coklat dengan pereaksi Wagner
4.	Triterpenoid/steroid	-	-	-	-	Terbentuk warna hijau-biru
5.	Saponin	+	+	-	-	Terbentuk busa yang mantap selama 15'

Keterangan : (+) positif uji, (-) negatif uji

Ekstraksi Zat Warna Dari Kluwek (*Pangium edule* Reinw).....(Siti Warnasih)



Gambar 1. Reaksi antara senyawaan tanin dan FeCl_3

Identifikasi Serapan Maksimum dengan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu metode identifikasi struktur dari suatu senyawa. Spektrofotometer UV-Vis juga memberikan informasi adanya kromofor dari senyawa organik dan membedakan senyawa aromatik atau senyawa ikatan rangkap yang terkonjugasi dan senyawa alifatik rantai jenuh.

Spektrum serapan UV-Vis dari ekstrak kluwek dengan pelarut air memberikan dua pita serapan yaitu pada panjang gelombang 200 nm dan 210 nm. Serapan maksimum ditunjukkan pada panjang gelombang 200 nm dengan absorbansi 0,704, sedangkan serapan yang landai diberikan pada panjang gelombang 210 nm dengan absorbansi sebesar 0,425. Spektrum serapan UV-Vis dari ekstrak kluwek dengan pelarut etanol memberikan

dua pita serapan yaitu pada panjang gelombang 220 nm dan 320 nm. Serapan maksimum ditunjukkan pada panjang gelombang 220 nm dengan absorbansi 0,738, sedangkan serapan yang landai diberikan pada panjang gelombang 320 nm dengan absorbansi sebesar 0,433 (Tabel 4). Spektrum serapan UV-Vis dari ekstrak kluwek dengan pelarut aseton memberikan satu pita serapan tertinggi pada panjang gelombang 320 nm dengan absorbansi 0,844. Spektrum serapan UV-Vis dari ekstrak kluwek dengan pelarut heksan memberikan dua pita serapan yaitu pada panjang gelombang 230 nm dan 240 nm. Serapan maksimum ditunjukkan pada panjang gelombang 230 nm dengan absorbansi 0,720, sedangkan serapan yang landai diberikan pada panjang gelombang 240 nm dengan absorbansi sebesar 0,576 (Tabel 4).

Tabel 4. Absorbansi ekstrak kluwek pada berbagai pelarut

No.	Panjang gelombang (nm)	Absorbansi ekstrak kluwek pada pelarut			
		Air	Etanol	Aseton	Heksan
1.	200	0,704	0,402	0,001	0,087
2.	210	0,425	0,192	0,124	0,201
3.	220	0,233	0,738	0,279	0,157
4.	230	0,121	0,217	0,208	0,720
5.	240	0,056	0,001	0,001	0,576
6.	250	0,062	0,001	0,001	0,144
7.	260	0,088	0,001	0,255	0,032
8.	270	0,098	0,001	0,001	0,028
9.	280	0,100	0,001	0,077	0,060
10.	290	0,094	0,001	0,363	0,074
11.	300	0,086	0,001	0,389	0,073
12.	310	0,079	0,303	0,034	0,068
13.	320	0,068	0,433	0,844	0,062
14.	330	0,059	0,392	0,126	0,059
15.	340	0,051	0,337	0,043	0,056
16.	350	0,045	0,287	0,031	0,052
17.	360	0,042	0,248	0,028	0,050
18.	370	0,038	0,218	0,029	0,047
19.	380	0,035	0,189	0,027	0,043
20.	390	0,031	0,168	0,024	0,042
21.	400-490	0,020	0,112	0,020	0,040
22.	500-590	0,008	0,038	0,017	0,032
23.	600-700	0,001	0,006	0,011	0,024

Berdasarkan hasil identifikasi semua ekstrak mempunyai serapan pada panjang gelombang 200-400 nm, diduga pada ekstrak tersebut terkandung tanin kental (*proanthocyanidins tannin*) atau tanin terkondensasi yaitu *flavonoid tannin*, karena senyawa golongan flavonoid kecenderungannya menyerap sinar ultra violet visibel optimum pada daerah panjang gelombang 200-300 nm dan panjang gelombang maksimum senyawa tanin terdapat satu pita yang mempunyai panjang gelombang 300-550 nm yang diperkirakan adanya ikatan $\pi-\pi^*$, seperti ikatan C=C terkonjugasi dan ikatan $n-\pi^*$ berupa kromofor tunggal seperti ikatan C=O (Silverstein *et al.*, 1991; Sastrohamidjojo, 1991).

Menurut Hayati *et al.* (2010), tanin yang diisolasi dari daun belimbing wuluh mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 331 nm sedangkan tanin dari tanaman mimosa mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 318 nm. Pada hasil penelitian ini, ekstrak yang mempunyai serapan pada panjang gelombang 320 adalah ekstrak etanol dan aseton, sedangkan ekstrak air dan heksan tidak mempunyai serapan pada panjang gelombang tersebut tetapi terdapat serapan pada panjang gelombang di bawah 300 nm, hal ini bisa disebabkan karena efek dari jenis pelarut. Pergeseran serapan ke arah panjang gelombang yang lebih pendek disebut pergeseran hipsokromik, yang diakibatkan karena substitusi atau pengaruh pelarut (Sastrohamidjojo, 1991).

Ekstraksi Zat Warna Dari Kluwek (*Pangium edule* Reinw).....(Siti Warnasih)

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dengan judul ” Ekstraksi Zat Warna dari Kluwek (*Pangium edule* Reinw) Menggunakan Berbagai Pelarut” didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Rendemen ekstrak kluwek dengan pelarut air sebesar 19,42%, etanol 19,68%, aseton 40,51%, dan heksan 45,42% dengan warna ekstrak berturut-turut coklat tua, coklat, kuning tua, dan kuning muda.
2. Ekstrak kluwek dengan pelarut air dan etanol menunjukkan positif mengandung senyawa tanin dan flavonoid, sedangkan ekstrak aseton dan heksan menunjukkan hasil negatif.
3. Semua hasil ekstrak menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 200-400 nm yang diduga semua ekstrak mengandung senyawa tanin kental (*proanthocyanidins tannin*) atau tanin terkondensasi yaitu *flavonoid tannin*.

Saran

Perlu dilakukan analisis kuantitatif untuk menentukan secara pasti kandungan tanin dari semua ekstrak tersebut. Dan perlu juga dilakukan identifikasi senyawa tanin dengan metode lain seperti Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) untuk menentukan gugus fungsi yang terkandung dalam ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

Artati, Enny Kriswiyanti, dan Fadilah. 2007. Pengaruh kecepatan putar pengadukan dan suhu operasi pada ekstraksi tanin dari jambu mete dengan pelarut aseton. *Ekuilibrum* 6(1): 33-38.

Departemen Kesehatan Indonesia. 1977. *Materi Medika Indonesia Jilid I*. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.

Departemen Kesehatan Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.

Departemen Kesehatan Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.

Elbanna, K., Sarhan, O.M., Khider, M., Elmogy, M., Abulreesh, H.H., Shaaban, M.R. 2017. Microbiological, histological, and biochemical evidence for the adverse effects of food azo dyes on rats. *Journal of Food and Drug Analysis* 25(3): 667-680 .

Fachryl, A.R., Sastrawan, R.M.A., Svingkoe, G.. 2012. Kondisi optimal proses ekstraksi tanin dari daun jambu biji menggunakan pelarut etanol. *Prosiding SNTK TOPI. ISSN 1907-0500*. 69-73.

Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Mengalisa Tumbuhan*. Diterjemahkan: K. Padmawinata dan I. Soediro, Terbitan Kedua. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

Hayati, E.K., Fasyah, A.G., Sa'adah, L. 2010. Fraksinasi dan identifikasi senyawa tanin pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia*. 4 (2) : 193-200.

Heruwati, E.S., Widyasari, H.E., Haluan, J. 2007. Pengawetan ikan segar menggunakan biji picung (*Pangium edule* Reinw). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 2(1): 9-18

Heyne. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia III*. Yayasan Sarana Wanajaya. Jakarta.

Hilditch, T.P., William, P.N. 1964. *The Chemical Constituent of Natural Fats*. Chapman and Hall. London.

- Kristianti, A.N. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida*. MIPA Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Mangunwardoyo, W., Ismaini, L., Heruwati, E.S. 2008. Analisis senyawa bioaktif ekstrak biji picung (*Pangium edule*) segar. *Berita Biologi* 9 (3): 259-264.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi Kedua. ITB. Bandung
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi*. Liberty. Yogyakarta.
- Sibuea, F.S.Y. 2015. *Ekstraksi tanin dari kluwak (*Pangium edule* R.) menggunakan pelarut etanol dan aquades dan aplikasinya sebagai pewarna makanan*. Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Silverstein, R.M., Clayton, B.G., Terence, C.M. 1991. *Specrometric Identification of Organic Compounds*. John Wiley & Sons, Inc. New York.