

JURNAL

VOLUME XVI NOMOR 2 TAHUN 2005

ISSN 0216-2318

Terakreditasi A

NOMOR : 23a/DIKTI/Kep/2004

TEKNOLOGI & INDUSTRI

PANGAN



Pohon dan Buah Kecombrang

PUBLIKASI RESMI
PERHIMPUNAN AHLI TEKNOLOGI PANGAN INDONESIA
(PATPI)

bekerjasama dengan

DEPARTEMEN TEKNOLOGI PANGAN DAN GIZI
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR



PDF Editor

ISI

Hasil Penelitian

- 103 **Mekanisme dan Kinetika Kuensing Kuersetin terhadap Efek Fotosensitisasi Pewarna Makanan Sintetik Eritrosin dalam Oksidasi Minyak Sawit** [Mechanisms and Kinetics Quenching of Quercetin on the Photosensitizing Effect of Synthetic Food Colorant Erythrosine Palm Oil Oxidation]
Posman Sibuea, Sri Raharjo, Umar Santoso dan Zuheid Noor
- 113 **Bahan Penyerap KMnO₄ dan Asam L-Askorbat dalam Pengemasan Aktif (*Active Packaging*) untuk Memperpanjang Masa Simpan dan Mempertahankan Mutu Buah Duku (*Lansium domesticum* Corr.)** [Adsorbers for KMnO₄ and L-Ascorbic Acid in the Active Packaging Prolong the Shelf-Life and Maintain the Quality of Lanzone (*Lansium domesticum* Corr.) Fruits]
Soesiladi E. Widodo
- 119 **Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Kecombrang terhadap Bakteri Patogen dan Perusa Pangan** [Antibacterial Activity *Kecombrang Flower* Extract Toward Pathogenis and Foo Spoilage Bacteria]
Ridfa Naufalin, Betty Sri Laksmi Jenie, Feri Kusnandar, Mirnawati Sudarwanto dan Herastuti Rukmini
- 126 **Pengaruh Asam Askorbat terhadap Pembentukan Gel Miofibril Ikan Mata Besar (*Sela cruimenophtahlmus*)** [Effect of Ascorbic Acid on Gel Formation of Myofibril from Bigeye Sca Fish (*Selar crumenophthalmus*)]
Achmad Subagio, Wiwik Siti Windrati, Muhammad Fauzi, dan Yuli Witono
- 33 **Pengaruh Pengeringan dengan *Far Infrared Dryer*, Oven Vakum dan *Freeze Dryer* terhadap Warna, Kadar Total Karoten, Beta Karoten, dan Vitamin C pada Daun Bayan (*Amaranthus tricolor* L.)** [Effect of Drying with Far Infrared Dryer, Oven Vacuum, and Freeze Dryer on the Color, Total Carotene, Beta-Carotene, and Vitamin C of Spinach Leave (*Amaranthus tricolor* L.)]
Asep Sopian, Ridwan Thahir, dan Tien R. Mughtadi
- 42 **Ekstraksi dan Stabilitas Antosianin dari Kulit Buah Duwet (*Syzygium cumini*)** [Extraction and Stability of Anthocyanins from Jambolan (*Syzygium cumini*) Skins]
Puspitasari, Fitriyah Agustin, Mukhamad Komar, Unus, Mukhamad Fauzi, dan Trianc Lindriati

PENGARUH ASAM ASKORBAT TERHADAP PEMBENTUKAN GEL MIOFIBRIL IKAN MATA BESAR (*Selar crumenophthalmus*)

[Effect of ascorbic acid on gel formation of myofibril from Bigeye Scad Fish (*Selar crumenophthalmus*)]

Achmad Subagio, Wiwik Siti Windrati, Mukhammad Fauzi dan Yuli Witono

Lab. Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
Jl. Kalimantan I JEMBER 68121
e-mail: a_subagio@telkom.net

Diterima 15 Maret 2005 / Disetujui. 18 Agustus 2005

ABSTRACT

Effects of ascorbic acid on gel formation of myofibrillar protein extracted from Bigeye Scad Fish (*Selar crumenophthalmus*) were studied for its development as food ingredient. Myofibril was gelled by the addition of various concentrations of ascorbic acid (0, 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4%), and the gels were then characterized for its cooking loss, water holding capacity (WHC), and texture. Addition of ascorbic acid at the level below 0.3% gave no significant effect on the cooking loss of the gel, but at 0.4% the cooking loss of the gel increased significantly. Accordingly, the WHC of the gel changed insignificantly with the ascorbic acid addition below 0.3%, and increased sharply in the addition of 0.4%. Gel textures were affected by the addition of ascorbic acid at all levels, namely 29.9 ± 1.9 , 30.0 ± 0.3 , 35.4 ± 0.4 , 46.7 ± 1.5 , and 115.7 ± 3.2 g/7 mm for 0, 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4%, respectively. Sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) showed that addition of ascorbic acid drove formation of disulphide bond in the heavy chain (MHC) and other myofibrillar proteins, resulting in the development of a strong three dimensions structure in myofibril gel as shown by microscopic structure.

Keywords : Ascorbic acid, Bigeye Scad Fish (*Selar crumenophthalmus*), gel formation myofibril

PENDAHULUAN

Karena kandungan protein 17-24 % dari tubuhnya, ikan merupakan sumber protein hewani yang potensial (Fardiaz, 1995). Kandungan protein yang tinggi menyebabkan ikan menjadi bahan pangan yang sangat dianjurkan, apalagi dengan kandungan asam lemak omega-3-nya yang memberikan efek positif bagi kesehatan (Shahidi, 1998). Produksi ikan di Indonesia sangat tinggi dan menunjukkan kecenderungan peningkatan setiap tahun. Di Jawa Timur, produksinya mencapai 321.315, 346.748 dan 379.409 ton untuk tahun 1992, 1995 dan 1997 (Anonim, 1998). Namun demikian potensi yang sangat tinggi ini belum dapat dimanfaatkan secara optimal, terbukti dengan banyaknya ikan inferior yang terbuang akibat tidak tertangani secara baik saat panen raya.

Ikan Mata Besar (*S. crumenophthalmus*) termasuk ikan pelagik yang berukuran maksimum 60 cm, dengan makanan berupa udang kecil, zooplankton dan ikan kecil (Anonim, 2003a). Di Indonesia ikan Mata Besar sering tidak ditangani dengan baik terutama saat panen raya, sehingga menjadi ikan yang bermutu rendah

(ikan inferior). Pada saat panen raya, banyak nelayan mengalami kesulitan dalam memasarkan hasil ikan ini, bahkan walaupun bisa terjual biasanya harganya relatif murah dan kadang-kadang terbuang. Untuk itu diperlukan usaha pemanfaatan ikan mata besar secara optimal, salah satunya adalah dengan memanfaatkannya menjadi bahan baku produk berbasis gel, seperti sosis, bakso dan nugget.

Protein otot ikan terdiri dari tiga kelompok utama yakni sarkoplasma, miofibril dan stroma. Protein miofibril merupakan bagian terbesar dan merupakan jenis protein yang larut dalam garam. Protein ini terdiri dari miosin, aktin, tropomiosin dan aktomiosin yang merupakan gabungan aktin dan miosin. Protein miofibril sangat berperan dalam pembentukan gel dan proses koagulasi, terutama dari aktomiosin. Gel ikan merupakan bentuk gel dari pasta daging ikan mentah (surimi) yang mengalami hasil pemanasan. Mutu gel ikan sangat dipengaruhi oleh kandungan aktin, miosin yang terdapat dalam protein miofibril ikan tersebut. Protein miofibril sangat berperan dalam proses pembentukan gel daging ikan (Anonim, 2003b).

Hasil penelitian sebelumnya (Subagio, et al., 2004) menunjukkan bahwa fraksi terbesar pada ikan mata besar adalah miofibril (42 - 43%), diikuti oleh fraksi protein sarkoplasma (37 - 40 %) dan stroma (16 - 21 %). Sebagai ikan pelagik, mata besar mempunyai protein miofibril dengan kemampuan membentuk agregat yang lebih rendah dibandingkan ikan demersal, akibatnya protein miofibrilnya membentuk gel dengan tekstur yang tidak terlalu kokoh. Dengan demikian, pemanfaatan miofibril dari ikan mata besar pada produk berbasis gel memerlukan cara untuk meningkatkan konsistensinya.

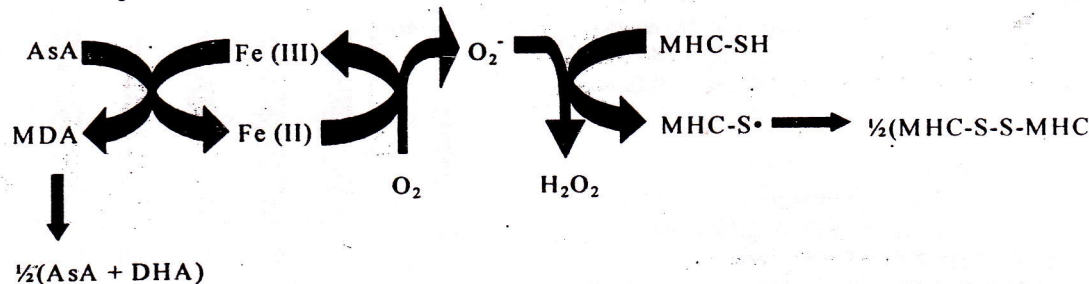
Pada penelitian sebelumnya (Nishimura, et al., 1996), dilaporkan bahwa penambahan asam askorbat terhadap pasta daging ikan dapat meningkatkan kekuatan gel pada gel miofibril ikan mentah. Penambahan asam askorbat dapat meningkatkan agregasi MHC, di mana mekanismenya melibatkan oksidasi-reduksi ion logam seperti Fe^{3+} atau Cu^{2+} , yang mendorong perubahan oksigen menjadi *singlet oxygen* yang reaktif. Senyawa ini akan mendorong terbentuknya radikal bebas dari MHC yang banyak mengandung gugus thiol. Selanjutnya radikal bebas gugus thiol dari MHC ini akan bergabung dengan sesama radikal bebas MHC untuk membentuk ikatan disulfida (Gambar 1). Pembentukan ikatan disulfida antar MHC ini menciptakan banyak ikatan silang antar rantai protein tersebut,

sehingga terbentuk agregat dan gel yang kokoh (Nishimura, et al., 1996).

Selama perjalanan dari TPI menuju laboratorium, ikan dimasukkan dalam *ice box* untuk mempertahankan kesegarannya. Asam askorbat dan bahan kimia lainnya yang digunakan adalah bahan kimia berkualitas analisis dari Merck (Jerman).

Ekstraksi protein miofibril pada ikan mata besar (Subagio, et al., 2004)

Protein miofibril dari sampel ikan disiapkan dengan memisahkan daging dari tulang dan kulit ikan. Daging bersih selanjutnya dimixer dengan larutan NaCl 0,5% dalam buffer fosfat 0,1 M pH 7 (suhu 4 - 6 °C) dengan volume 3 kali berat daging selama 3 menit. Hasilnya disentrifugasi pada kecepatan 8000 rpm, suhu 4°C selama 10 menit. Filtrat didekantasi dan endapan dimixer kembali dan diperlakukan sama seperti langkah di atas. Selanjutnya endapan dilewatkan pada kain saring rangkap empat untuk memisahkan duri maupun protein stroma yang lainnya. Endapan yang melewati kain saring selanjutnya dimixer dengan buffer yang sama dengan pencucian pertama dan kedua, dan disentrifugasi ulang. Endapan yang dihasilkan adalah protein miofibril, dan disimpan dalam freezer (-20°C) sampai dibutuhkan untuk dianalisis.



Gambar 1. Mekanisme peranan asam askorbat dalam pembentukan ikatan disulfide pada protein (Nishimura et al.,1996)

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh penambahan asam askorbat terhadap kualitas gel miofibril ikan mata besar. Hasil penelitian ini diharapkan berguna untuk pengembangan dan pemanfaatan lebih lanjut dari ikan mata besar dan ikan inferior lainnya sebagai sumber protein pangan.

METODOLOGI

Bahan

Bahan utama yang digunakan Ikan Mata Besar (*S. crumenophthalmus*) dari Samudra Indonesia yang diperoleh di tempat pelelangan ikan (TPI) Pantai Puger, Kabupaten Jember Propinsi Jawa Timur.

Aplikasi asam askorbat pada gel miofibril ikan mata besar

Miofibril hasil dari pencairan diambil sebanyak 10 gram yang dimasukkan ke dalam wadah film, dan kemudian ditambahkan 3 ml larutan asam askorbat pada berbagai konsentrasi (0%, 0.1%, 0.2%, 0.35 dan 0.4%). Pencampuran bahan dengan asam askorbat dilakukan dengan spatula dalam waktu 30 menit. Setelah bahan tercampur homogen, wadah film dimasukkan ke dalam waterbath dengan suhu 40°C selama 20 menit. Kemudian dilanjutkan pemanasan dengan suhu 90°C selama 20 menit (Anonim, 2003b). Gel didinginkan dan disimpan dalam lemari pendingin (4-6 °C) selama satu hari sebelum dianalisis.

Susut masak dan daya ikat air

Susut masak gel dianalisis berdasarkan persentase pengurangan berat setelah dipanaskan. Sedangkan daya ikat air (WHC) dihitung berdasarkan kadar air gel yang dianalisis menggunakan metode oven (Sudarmadji, et al., 1984).

Tekstur gel

Pengukuran tekstur gel dilakukan dengan Rheotex (Ogawa Seiki Co., LTD, Tokyo Japan). Gel ikan yang telah ditiriskan diukur teksturnya berdasarkan besarnya gaya yang diperlukan untuk menekan gel dengan jarum Rheotex standar sedalam 7 mm. Pengukuran diulangi sebanyak 3 (tiga) kali pada tempat yang berbeda, diperoleh nilai reratanya.

Perubahan berat molekul protein dengan elektroforesis

Analisis perubahan berat molekul (BM) protein dilakukan dengan SDS-PAGE pada konsentrasi akrilamid 12% yang dilakukan pada Mini-Protean II Electrophoresis System (Bio-Rad, Richmond, CA, USA). Gel diwarnai dengan Coomassie blue R-250. Sampel diambil dari bahan yang telah dilarutkan dalam larutan urea (8 M) dalam SDS 1%. Berat molekul protein dihitung berdasarkan perbandingan Rf sample dengan marker protein yang berasal dari Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo), yaitu kit penciri protein ber BM rendah yang terdiri atas: serum albumin (66,0 kD), ovalbumin (45,0 kD), Carbanic anhidrase (29,0 kD), dan lysozime (14,2 kD).

Struktur mikroskopis

Gel yang telah dikeringkan dengan *frozen dryer* dicelupkan ke dalam paraffin sampai meresap seluruhnya ke dalam bahan. Setelah kering, bahan yang telah dilapisi oleh paraffin diiris tipis-tipis dan ditetesi larutan coomassie blue secara berlebihan. Bahan kemudian diamati struktur mikroskopisnya dengan menggunakan mikroskop binokuler bermerk Jeulin dengan model XTX dengan perbesaran 20 kali. Struktur mikroskopis yang dihasilkan didokumentasikan dengan menggunakan kamera digital.

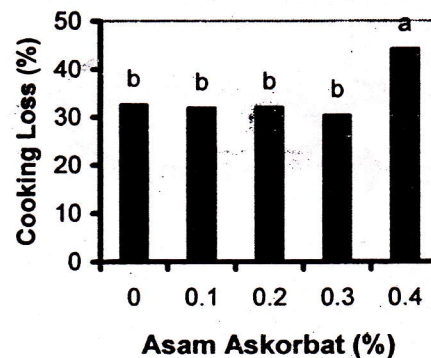
HASIL DAN PEMBAHASAN

Susut masak gel

Susut masak digunakan untuk mengetahui besarnya kehilangan berat dari gel miofibril ikan mata besar selama proses pemanasan. Selama proses pemanasan terjadi peristiwa antara lain, pengeluaran air dalam sistem gel miofibril ikan sebagai akibat dari pengerutan sistem gelnya, dan selanjutnya air tersebut

hilang menguap akibat proses pemanasan atau penirisan setelah pencairan gel.

Hasil analisis menunjukkan bahwa pada penambahan asam askorbat dengan konsentrasi 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3% dan 0,4%, susut masak-nya adalah $32,6 \pm 2,5\%$, $31,9 \pm 3,9\%$, $32,2 \pm 5,1\%$, $29,6 \pm 1,1\%$ dan $40,0 \pm 9,1\%$ (Gambar 2). Ini berarti bahwa pada penambahan asam askorbat sampai dengan 0,3% tidak terjadi perubahan yang nyata pada susut masak gel. Namun setelah penambahan asam askorbat 0,4% terjadi peningkatan susut masak yang mencolok. Pembentukan ikatan disulfida antara MHC-MHC dalam gel miofibril ikan mata besar menyebabkan pembentukan struktur tiga dimensi menjadi kokoh. Namun bila pembentukan ikatan disulfida antara MHC-MHC sangat besar, maka akan diikuti dengan pengerutan matriks gel, sehingga apabila pengerutan ini terjadi secara berlebihan maka banyak air yang terperangkap dalam gel miofibril ikan tersebut keluar dari permukaan gel dan hilang menguap atau tertiriskan sewaktu pencairan gel. Hal ini menyebabkan nilai susut masak pada gel miofibril ikan tersebut semakin tinggi. Gejala ini didukung oleh adanya perubahan WHC, tekstur dan BM protein miofibril



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi asam askorbat terhadap cooking loss dari gel miofibril ikan mata besar

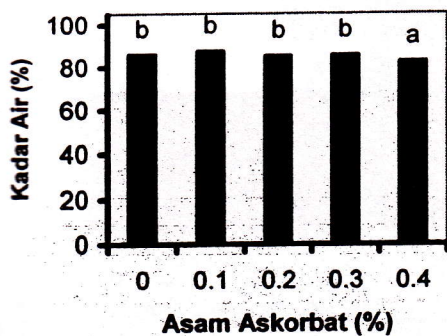
Daya ikat air atau WHC

Penambahan asam askorbat pada gel miofibril ikan Mata Besar dapat mempengaruhi WHC yang ditentukan berdasarkan kadar air. Hasil analisa menunjukkan bahwa pada penambahan asam askorbat pada konsentrasi 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3 % dan 0,4% menunjukkan kadar air sebesar $86,1 \pm 0,4\%$, $87,7 \pm 4,70\%$, $85,5 \pm 0,5\%$, $85,7 \pm 0,6\%$, dan $82,7 \pm 2,1\%$ seperti pada Gambar 3. Dari hasil tersebut terlihat bahwa penambahan asam askorbat sampai dengan 0,3% tidak terjadi perubahan yang nyata pada WHC gel. Namun WHC gel menurun secara nyata dengan penambahan 0,4% asam askorbat.

atau penirisan

bahwa pada konsentrasi 0%, masak-nya adalah $9,6 \pm 1,1\%$ dan bahwa pada dengan 0,3% tidak susut masak gel, bat 0,4% terjadi Pembentukan gel miofibril ikan struktur tiga bentukan ikatan ar, maka akan sehingga apabila maka banyak air l ikan tersebut menguap atau ni menyebabkan l ikan tersebut oleh adanya miofibril

Gejala ini sesuai dengan data susut masak efek pemberian asam askorbat menjadi berlebihan jika ditambahkan lebih dari 0,4%. Pada konsentrasi ini, pembentukan ikatan disulfida antara MHC-MHC akibat pengaruh asam askorbat menjadi sangat besar, sehingga akan diikuti dengan pengerutan matriks gel. Pengerutan ini akan diikuti dengan terdesaknya air dalam matriks untuk keluar, hingga WHC gel menjadi turun.



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi asam askorbat terhadap WHC yang diekspresikan dengan kadar air dari gel miofibril ikan mata besar



0.3 0.4
at (%)

askorbat terhadap
ikan mata besar

pada gel miofibril aruhi WHC yang r. Hasil analisa an asam askorbat 0,3 % dan 0,4% $1 \pm 0,4\%$, $87,7 \pm$ dan $82,7 \pm 2,1\%$ ebut terlihat bahwa dengan 0,3% tidak WHC gel. Namun gan penambahan

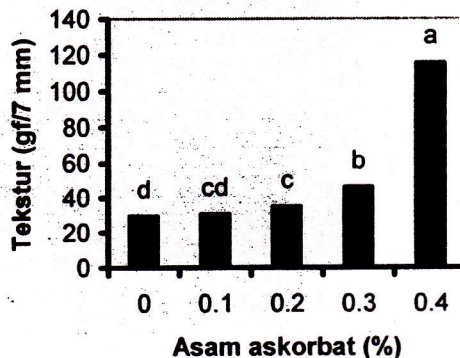
Tekstur

Parameter tekstur gel biasanya dipaparkan dalam istilah keempukan dan kekerasannya. Perhitungan nilai keempukan atau kekerasan gel miofibril ikan mata besar ini dilakukan dengan menggunakan alat Rheotex yang dinyatakan dengan gram force per 7 mm, sehingga semakin besar nilainya berarti gel daging ikan tersebut semakin keras.

Tekstur gel miofibril ikan mata besar setelah ditambah dengan asam askorbat, yaitu pada penambahan 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3% dan 0,4% masing-masing sebesar $29,9 \pm 1,9$ gf/7 mm, $31 \pm 0,3$ gf/7 mm, $35,4 \pm 0,4$ gf/7 mm, $46,7 \pm 1,5$ gf/7 mm, dan $115,7 \pm 3,2$ gf/7 mm seperti yang terlihat pada Gambar 4. Dari gambar tersebut terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi asam askorbat yang digunakan, maka kekerasan gel miofibril ikan semakin tinggi. Hal ini disebabkan oleh adanya aktivitas asam askorbat dalam miofibril ikan tersebut. Dalam hal ini asam askorbat dalam gel miofibril ikan berperan sebagai reduktor dalam pembentukan jaringan disulfida. Jaringan disulfida dalam gel miofibril yang semula berantai MHC-SH direduksi oleh asam askorbat menjadi radikal MHC-S. Hal ini menyebabkan terbentuknya jaringan disulfida baru menjadi $1/2(\text{MHC-S-S-MHC})$ (Nishimura, et al., 1996). Dengan semakin meningkatnya konsentrasi asam askorbat, diduga semakin banyak

pula jaringan disulfide baru yang terbentuk. Akibatnya tekstur yang dihasilkan oleh gel miofibril ikan menjadi semakin mengeras.

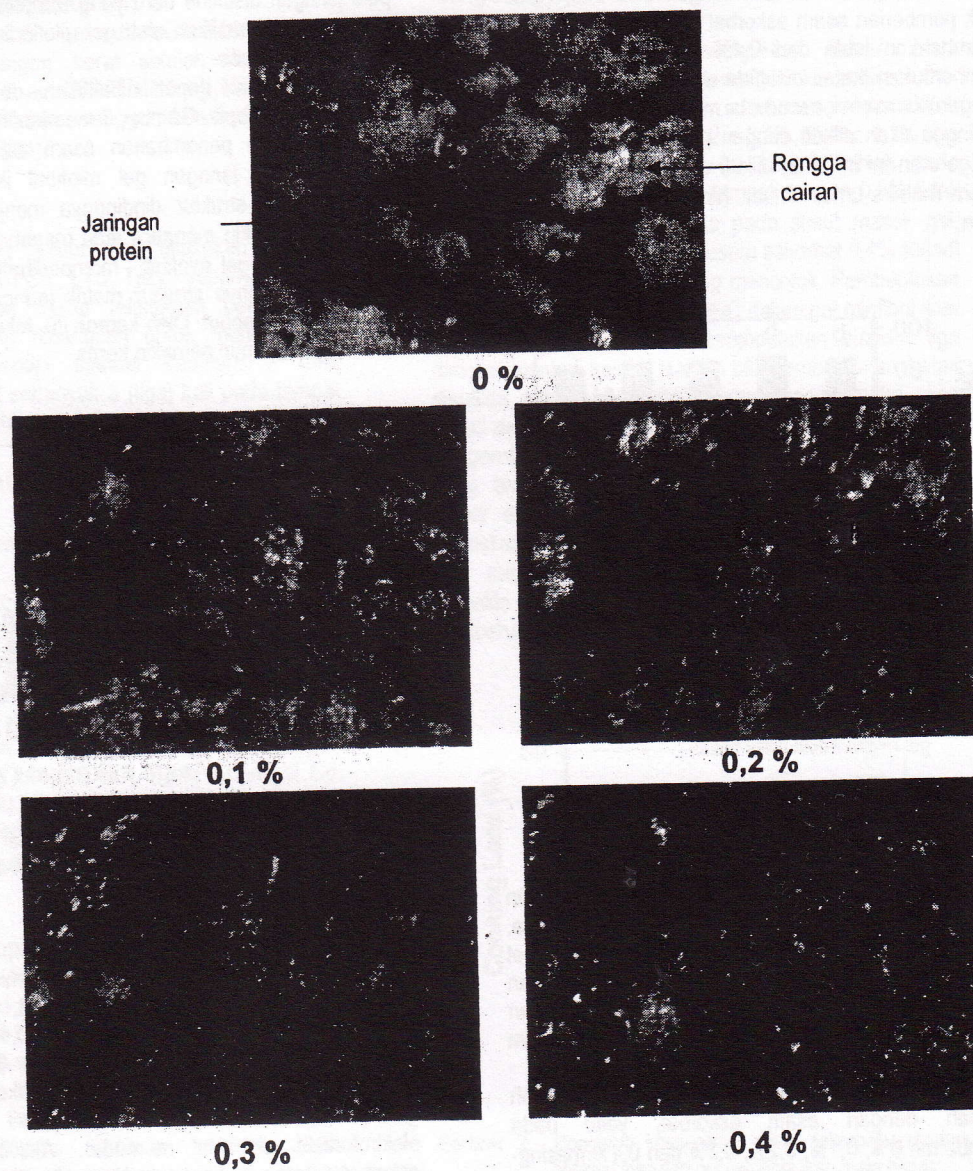
Hal ini dapat dibuktikan dalam analisis struktur mikroskopis. Gambar 5 memperlihatkan bahwa sejalan dengan penambahan asam askorbat, maka struktur matrik jaringan gel miofibril ikan semakin mengecil atau struktur dindingnya menjadi semakin menebal. Semakin mengecil atau menebalnya struktur matrik jaringan gel miofibril memperlihatkan semakin kuat dan kokohnya struktur matrik jaringan pada gel miofibril ikan tersebut. Oleh karena itu, tekstur gel yang dihasilkan juga pun semakin keras.



Gambar 4. Pengaruh konsentrasi asam askorbat terhadap tekstur dari gel miofibril ikan mata besar.

Perubahan berat molekul protein

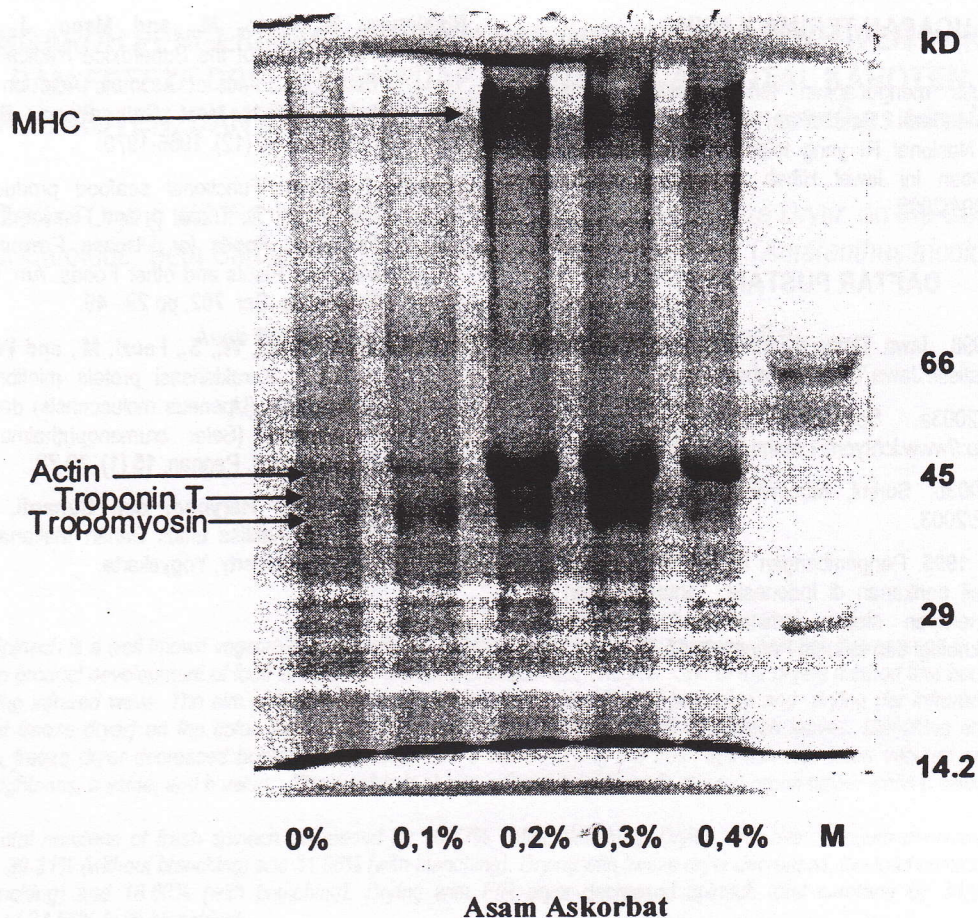
Hasil elektroforesis pada gel miofibril ikan setelah ditambah dengan asam askorbat, yaitu pada penambahan 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3% dan 0,4% masing-masing seperti yang terlihat pada Gambar 6. Semakin besar penambahan konsentrasi asam askorbat pada gel miofibril ikan, maka bentuk band hasil visualisasi elektroforesis semakin memudar. Aktivitas asam askorbat dalam membentuk jaringan disulfida pada gel miofibril ikan terlihat jelas pada MHC (Myosin Heavy Chain) hasil elektroforesis. Dalam hal ini asam askorbat dalam gel miofibril ikan berperan sebagai reduktor dalam pembentukan jaringan disulfida. Jaringan disulfida dalam gel miofibril yang semula berantai MHC-SH direduksi oleh asam askorbat menjadi MHC-S. Hal ini menyebabkan terbentuknya jaringan disulfida baru menjadi $1/2(\text{MHC-S-S-MHC})$ yang menyebabkan terjadinya perubahan protein pada gel miofibril ikan. Bentuk, protein miofibrilar yang terdiri dari aktin dan miosin menjadi jaringan baru dengan ikatan $1/2(\text{MHC-S-S-MHC})$, yang merupakan hasil polimerisasi miofibril ikan. Kondisi ini akan meningkatkan nilai BM miofibril ikan (Nishimura, et al., 1996).



Gambar 5. Struktur mikroskopis dari gel miofibril ikan Mata Besar pada berbagai konsentrasi asam askorbat (perbesaran 20X).



wondershare



Gambar 6. SDS-PAGE dari fraksi protein miofibril protein dari gel miofibril ikan Mata Besar. MHC: Myosin Heavy Chain; M: Marker

Gambar 6 menunjukkan pada konsentrasi 0%, 0,1% dan 0,2%, pita-pita protein miofibril (MHC) masih terlihat dengan jelas; sedangkan pada konsentrasi 0,3% dan 0,4% pita-pita protein (MHC) tersebut mulai memudar. Pudarnya pita-pita tersebut disebabkan oleh peningkatan nilai BM pada miofibril ikan. Semakin bertambahnya asam askorbat pada gel tersebut maka pembentukan jaringan 1/2(MHC-S-S-MHC) semakin meningkat, sehingga nilai BM miofibril ikan tersebut semakin bertambah. Dalam hal ini fungsi elektroforesis adalah memvisualisasikan protein dengan nilai BM pada kisaran di bawah 200 kD. Bila BM telah melebihi kisaran nilai kemampuan gel elektroforesis, maka pita MHC-S-S-MHC tidak dapat terdeteksi pada hasil elektroforesis.

KESIMPULAN

Penambahan asam askorbat pada gel miofibril ikan Mata Besar menyebabkan terbentuknya jaringan disulfida baru antar MHC (MHC-S-S-MHC) yang terlihat

dari hasil SDS-PAGE di mana pita MHC pada elektroforesis menjadi semakin memudar seiring dengan penambahan konsentrasi asam askorbat. Kejadian ini menyebabkan terbentuknya struktur tiga dimensi dengan ikatan MHC-S-S-MHC yang lebih kokoh dan kuat yang diandai dengan struktur matrik jaringan semakin mengecil dengan dinding matrik jaringan yang menebal.

Perubahan ini menyebabkan peningkatan kekerasan gel yaitu pada penambahan asam askorbat 0%, 0,1%, 0,2%, 0,3% dan 0,4% dengan nilai tekstur gel masing-masing sebesar $29,9 \pm 1,0$ gf/7 mm, $31 \pm 0,3$ gf/7 mm, $35,4 \pm 0,4$ gf/7 mm, $46,7 \pm 1,5$ gf/7 mm, dan $115,7 \pm 3,2$ gf/7 mm berturut-turut. Namun demikian, penambahan asam askorbat yang berlebihan, yaitu pada konsentrasi 0,4% menyebabkan pembentukan ikatan disulfida antara MHC-MHC menjadi sangat besar, sehingga akan diikuti dengan pengerutan matriks gel. Pengerutan ini menyebabkan peningkatan susut masak dan penurunan daya ikat air dari gel miofibril.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional RI yang telah memberikan dana pada penelitian ini lewat Hibah Bersaing XI tahun anggaran 2004/2005.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1998. Jawa Timur dalam Angka, Biro Pusat Statistik Jawa Timur, Surabaya.
- Anonim, 2003a. Species Summary of Fish, <http://www.ichthyonb1.mnhn.fr>, 7/2/2003.
- Anonim, 2003b. Surimi, <http://www.agrolink.moa.my/>, 7/2/2003.
- Fardiaz, S., 1995. Pengembangan industri pengolahan hasil perikanan di Indonesia: Tantangan dan penerapan sistem jaminan mutu. *Bulletin Teknologi dan Industri Pangan*. 6: 65-73.
- Nishimura, K., Goto, M., and Mano, J., 1996. Participation of the Superoxide Radical in the Beneficial Effect of Ascorbic Acid on Heat-induced Fish Meat Gel., *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60 (12), 1966-1970.
- Shahidi, F., 1998. Functional seafood products. In Shibamoto, T.; Terao, J. and Osawa, T. eds., *Functional Foods for Disease Prevention II Medicinal Plants and other Foods*. Am. Chem. Soc. Symp. Ser. 702, pp 29 - 49.
- Subagio, A., Windrati, W., S., Fauzi, M., and Witono, Y., 2004. Karakterisasi protein miofibril dari ikan kuniran (*Upeneus moluccensis*) dan ikan mata besar (*Selar crumenophthalmus*). *J. Teknol. Indust. Pangan*, 15 (1), 70-78.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi, 1984. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.



wondershare

EKSTRAKSI DAN STABILITAS ANTOSIANIN DARI KULIT BUAH DUWET (*Syzygium cumini*)

[Extraction and Stability of Anthocyanins From Jambolan (*Syzygium cumini*) Skins]

Puspita Sari¹⁾, Fitriyah Agustina²⁾, Mukhamad Komar²⁾, Unus¹⁾, Mukhamad Fauzi¹⁾,
dan Triana Lindriati¹⁾

¹⁾ Staf Pengajar Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP – Universitas Jember

²⁾ Alumni Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP – Universitas Jember

Diterima 18 Januari 2005 / Disetujui 18 Juli 2005

ABSTRACT

Anthocyanins were extracted from jambolan skins using neutral solvents e.i water, ethanol, isopropanol, water : ethanol (1 : 1), water : isopropanol (1 : 1), ethanol : isopropanol (1 : 1), and water : ethanol : isopropanol (1 : 1 : 1) at 5 and 27°C. The stability of the anthocyanins was as affected by pH, heat, oxidator, and light was investigated. The extraction using combination of water and isopropanol at 27°C showed the highest total yield, i.e. 71.54 % (db). Furthermore, the highest anthocyanin concentration and yield were obtained in the extracts using combination of water and ethanol at 27°C i.e. 10 007.03 mg/L (db) and 2.78 % (db), respectively. At low pH, the pigment extracts showed high stability; and gradually decreased and lost colour when the pH was increased. The greatest colour intensity (red) was obtained at pHs values less than 3.5. The anthocyanins were relatively stable during heating at temperature of 40 dan 60°C in which more than 80% of pigment could be maintained for 4 hours of heating. Heating at high temperatures (80 and 100°C) decreased the colour stability of more than 80%. Presence of oxidator H₂O₂ reduced the stability up to 73.52%. The UV and fluoresecent light exposure for 7 days also reduced the stability by 11.47% and 10.62%, respectively.

Key words: Anthocyanin, jambolan skin, extraction, pigment stability

PENDAHULUAN

Buah duwet (*Syzygium cumini*) merupakan salah satu buah yang berpotensi sebagai sumber bahan pewarna alami untuk produk pangan. Kenampakan kulit buah duwet masak berwarna ungu kehitaman menunjukkan adanya kandungan antosianin. Menurut Bridle dan Timberlake (1997); Elbe dan Schwartz (1996); Francis (1989), antosianin dapat memberikan warna merah, violet, ungu, dan biru pada daun, bunga, buah, dan sayur. Lebih lanjut disebutkan dalam Anonim (2001), buah duwet mengandung antosianin yaitu sianidin, petunidin, dan malvidin ramno-glikosida.

Untuk keperluan pewarnaan produk pangan maka ekstraksi antosianin pada kulit buah duwet harus dilakukan dengan metode ekstraksi yang sesuai sehingga dapat dihasilkan rendemen yang tinggi. Metode ekstraksi antosianin telah banyak dikembangkan, antara lain dengan perlakuan asam menggunakan asam organik atau anorganik.

Pada penelitian ini dipilih pelarut netral yang tidak toksik dengan tujuan: a) tidak menimbulkan efek negatif bagi kesehatan bila nantinya diaplikasikan pada produk pangan, b) memudahkan dalam produksi dan aplikasi bahan pewarna alami, serta c) mencegah terjadinya hidrolisis (parsial atau total) pada antosianin

yang terasilasi. Pemilihan pelarut netral didasarkan pada penelitian Revilla et al., (1998) yang membandingkan beberapa prosedur ekstraksi antosianin pada anggur merah dengan menggunakan pelarut yang diasamkan dan netral. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa penggunaan pelarut yang mengandung 1 % HCl 12 N untuk ekstraksi antosianin anggur merah menghasilkan hidrolisis parsial dari malvidin 3-O-asetilglukosida sehingga hal ini dapat mengubah kandungan antosianin dalam ekstrak. Penggunaan pelarut netral cukup efisien digunakan untuk mengekstrak antosianin anggur merah.

Untuk penggunaan ekstrak antosianin kulit buah duwet dalam pada pangan, maka perlu diketahui stabilitasnya selama pengolahan dan penyimpanan. Stabilitas antosianin terutama dipengaruhi oleh pH, suhu, cahaya, oksigen, asam askorbat, enzim, ion logam, gula, dan kopigmentasi. Umumnya antosianin lebih stabil dalam kondisi asam, media bebas oksigen, di dalam kondisi suhu dingin dan gelap (Nollet, 1996; Francis, 1989; Elbe dan Schwartz, 1996)

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan metode ekstraksi yang menghasilkan rendemen antosianin tinggi dan mengetahui stabilitas antosianin yang diekstrak dari kulit buah duwet.

JAH DUWET

Skins]

Fauzi¹⁾,

anol, water : ethanol (1 :
and 27°C. The stability of
combination of water and
concentration and yield
2.78 % (db), respectively.
pH was increased. The
stable during heating at
heating. Heating at high
reduced the stability up to
%, respectively.

ut netral didasarkan
al. (1998) yang
prosedur ekstraksi
dengan menggunakan
ral. Hasil penelitiannya
naan pelarut yang
uk ekstraksi antosianin
hidrolisis parsial dari
ehingga hal ini dapat
ianin dalam ekstrak.
kup efisien digunakan
ggur merah.

ekstrak antosianin kulit
a, maka perlu diketahui
an dan penyimpanan.
dipengaruhi oleh pH,
askorbat, enzim, ion
l. Umumnya antosianin
media bebas oksigen,
an gelap (Nollet, 1996;
tz, 1996)

ini adalah untuk
si yang menghasilkan
n mengetahui stabilitas
kulit buah duwet.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan utama adalah buah duwet yang dipetik dari pohon yang tumbuh di hutan Bondowoso, Jawa Timur. Bahan kimia yang digunakan yaitu etanol, isopropanol, potasium klorida, sodium asetat, HCl, dan H₂O₂ (berspesifikasi pro analysis dari Merck, Jerman). Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, neraca, waring blender, pengering beku, stirer, sentrifuse, penyaring vakum, rotary vakum evaporator, vortek, water bath, pH-meter, lampu UV, lampu neon, termometer, mikropipet, dan spektrofotometer.

Ekstraksi antosianin

Buah duwet segar diambil kulitnya dengan cara dikupas menggunakan pisau stainless steel. Kulit buah duwet (kadar air 85,08 %) diblansir selama 2 menit untuk menginaktivkan enzim polifenol oksidase. Kulit buah duwet dikecilkan ukurannya dengan cara diblender kemudian dikeringkan dengan pengering beku (*freeze drier*). Sampel kering (kadar air 10,47 %) sebanyak 9 gram diekstrak menggunakan pelarut (100 ml) selama 60 menit dengan cara diaduk (*stirer*). Adapun perlakuan ekstraksi terdiri dari jenis pelarut dan suhu. Pelarut yang digunakan meliputi air, etanol, isopropanol, air : etanol (1 : 1), air : isopropanol (1 : 1), etanol : isopropanol (1 : 1), dan air : etanol : isopropanol (1 : 1 : 1), sedangkan suhu ekstraksi dilakukan pada suhu dingin (5°C) dan suhu kamar (27°C). Setelah ekstraksi selesai, kemudian ekstrak disentrifuse untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat dituang ke dalam erlenmeyer dan residu diekstrak kembali dengan cara yang sama. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali sampai diperoleh warna filtrat bening yang menandakan antosianin sudah terekstrak semua. Filtrat yang dihasilkan dari 3 kali ekstraksi digabung dan disaring dengan penyaring vakum. Filtrat dievaporasi dengan vakum rotary evaporator pada suhu 40°C sampai volume filtrat sekitar 25 ml, kemudian dikeringkan dengan pengering beku. Ekstrak kering dianalisa total rendemen, konsentrasi antosianin, dan rendemen antosianin. Ekstraksi yang menghasilkan rendemen antosianin tertinggi dipilih untuk pengujian kestabilan antosianin kulit buah duwet yang meliputi stabilitas terhadap pH, suhu, oksidator, dan sinar.

Analisis

Total rendemen

Total rendemen dihitung dalam persen sebagai berat ekstrak kering dibagi berat kulit buah duwet kering.

Konsentrasi antosianin

Konsentrasi antosianin diukur berdasarkan metode *pH-differential* (Prior et al., 1998; Giusti dan

Wrolstad, 2000). Ekstrak kering dilarutkan dalam pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan ditera sampai volume 25 ml. Sebanyak masing-masing 0,05 ml sampel dimasukkan ke dalam 2 buah tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambah larutan buffer potasium klorida (0,025 M) pH 1 sebanyak 4,95 ml dan tabung reaksi kedua ditambahkan larutan buffer sodium asetat (0,4 M) pH 4,5 sebanyak 4,95 ml. Pengaturan pH dalam pembuatan buffer potasium klorida dan sodium asetat menggunakan HCl pekat. Absorbansi dari kedua perlakuan pH diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm setelah didiamkan selama 15 menit. Nilai absorbansi dihitung dengan rumus : $A = [(A_{520} - A_{700})_{pH 1} - (A_{520} - A_{700})_{pH 4.5}]$. Konsentrasi antosianin dihitung sebagai sianidin-3-glikosida menggunakan koefisien ekstingsi molar sebesar 29 600 L cm⁻¹ dan berat molekul sebesar 448,8. Konsentrasi antosianin (mg/L) = $(A \times BM \times FP \times 1000) / (\epsilon \times l)$, dimana A adalah absorbansi, BM adalah berat molekul (448,8), FP adalah faktor pengenceran (5 ml / 0,05 ml), dan ϵ adalah koefisien ekstingsi molar (29 600 L cm⁻¹).

Rendemen antosianin

Rendemen antosianin dihitung dalam persen sebagai konsentrasi antosianin dibagi dengan konsentrasi kulit buah duwet kering (Metriwa, 1995).

Stabilitas terhadap pH

Untuk menguji stabilitas terhadap pH (0,5-5) digunakan larutan buffer potasium klorida (0,025 M) dan buffer sodium asetat (0,4 M). Pengaturan pH menggunakan HCl pekat. Ekstrak pekat antosianin kulit buah duwet sebanyak 15 μ l ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi larutan buffer dari pH 0,5 sampai pH 5 sebanyak masing-masing 5 ml dan didiamkan selama 15 menit. Perubahan nilai absorbansi akibat perlakuan pH diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum (λ_{max}) pigmen antosianin kulit buah duwet.

Stabilitas terhadap suhu

Ekstrak pekat antosianin kulit buah duwet sebanyak 250 μ l ditambahkan kedalam erlenmeyer yang berisi 40 ml larutan buffer potasium klorida (0,025 M) pH 1 kemudian diaduk dengan stirer hingga homogen. Campuran larutan dimasukkan ke dalam botol gelap dan diinkubasi pada suhu 40, 60, 80, dan 100°C selama 4 jam dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm setiap interval waktu 30 menit.

Stabilitas terhadap oksidator

Ekstrak pekat antosianin kulit buah duwet sebanyak 200 μ l dan 0,25 ml H₂O₂ 1 % berturut-turut ditambahkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 30 ml

larutan buffer potasium klorida (0.025 M) pH 1, kemudian diaduk dengan stirer hingga homogen. Campuran larutan dimasukkan ke dalam botol gelap dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm pada setiap waktu kontak 0, 3, 6, 9, dan 12 jam.

Stabilitas terhadap sinar

Ekstrak pekat antosianin kulit buah duwet sebanyak 200 µl ditambahkan dalam erlenmeyer yang berisi 30 ml larutan buffer potasium klorida (0.025 M) pH 1. Campuran larutan dimasukkan dalam botol bening dan disinari dengan sinar UV dan lampu neon (11 watt) dalam kotak gelap selama 7 hari. Pengukuran absorbansi dilakukan setiap hari dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm.

Penentuan stabilitas pigmen antosianin

Stabilitas pigmen antosianin dinyatakan sebagai % etensi warna yang dihitung menggunakan rumus : $B/A \times 100\%$, dimana A adalah nilai absorbansi sebelum perlakuan dan B adalah nilai absorbansi setelah perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi antosianin

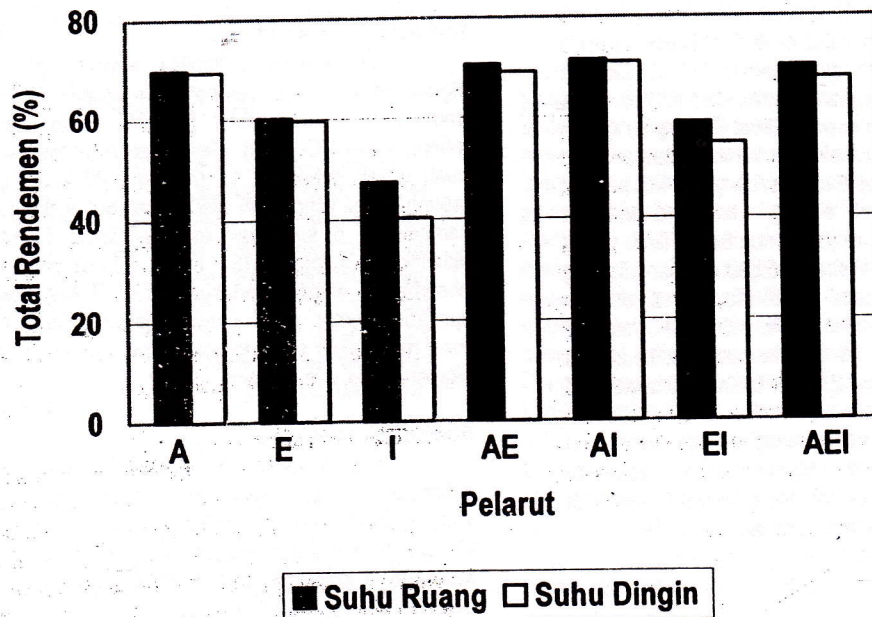
Total rendemen

Total rendemen menunjukkan kandungan dari semua zat-zat yang terkandung dalam kulit buah duwet yang mampu terekstrak oleh pelarut seperti lemak, protein, karbohidrat, serat, abu, vitamin, fenol, tanin, dan zat-zat lainnya termasuk juga antosianin.

Hasil penelitian diperoleh nilai total rendemen tertinggi sebesar 71.54 % pada ekstraksi dengan menggunakan pelarut kombinasi air dan isopropanol pada suhu ruang, sedangkan total rendemen terendah diperoleh pada ekstraksi dengan menggunakan pelarut isopropanol pada suhu dingin sebesar 40.25 %. Pada ekstraksi menggunakan pelarut air, air : etanol, air : isopropanol, dan air : etanol : isopropanol menunjukkan nilai total rendemen yang hampir sama pada kisaran nilai 69 – 71 % (Gambar 1).

Konsentrasi antosianin

Konsentrasi antosianin dalam kulit buah duwet pada berbagai jenis pelarut dan suhu ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 2.



Keterangan:

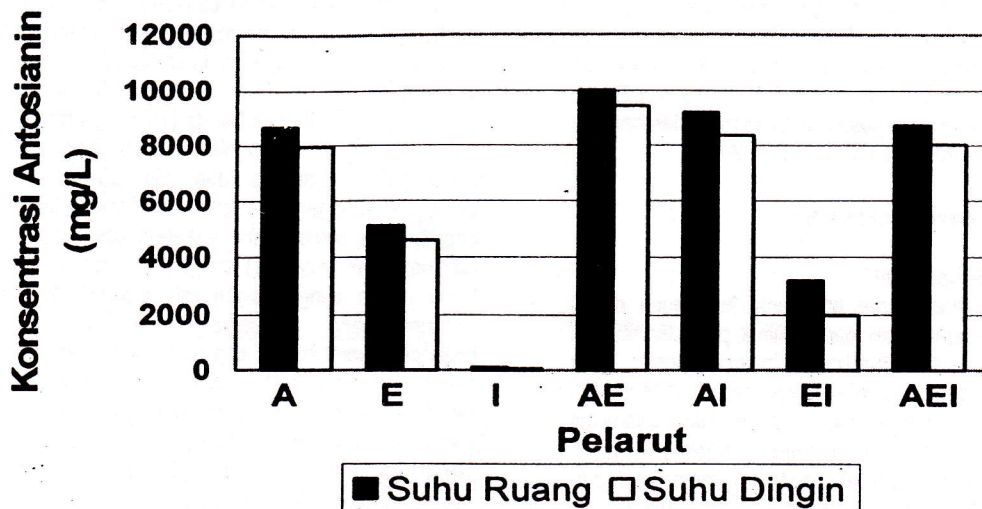
A = air, E = etanol, I = isopropanol, AE = air:etanol, AI = air:isopropanol, EI = etanol:isopropanol, AEI = air:etanol:isopropanol

Gambar 1. Pengaruh jenis pelarut dan kondisi suhu selama ekstraksi terhadap total rendemen

BAHASAN

...jukkan kandungan dari dalam kulit buah duwet pelarut seperti lemak, vitamin, fenol, tanin, dan antosianin. ...leah nilai total rendemen pada ekstraksi dengan pelarut air dan isopropanol total rendemen terendah ... menggunakan pelarut sebesar 40.25 %. Pada ... air, air : etanol, air : isopropanol menunjukkan ... hampir sama pada kisaran

...in dalam kulit buah pelarut dan suhu ekstraksi



Gambar 2. Pengaruh jenis pelarut dan kondisi suhu selama ekstraksi terhadap konsentrasi antosianin

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi antosianin tertinggi terdapat pada ekstraksi dengan menggunakan pelarut kombinasi air dan etanol pada suhu ruang yaitu sebesar 10 007.03 mg/L, diikuti dengan pelarut kombinasi air : isopropanol, air : etanol : isopropanol, dan air. Penelitian Saati et al., (2002) juga mendapatkan hasil yang sama, dimana ekstraksi antosianin pada bunga pacar air (*Impatiens balsamina Linn*) dengan menggunakan pelarut etanol (95 %) yang ditambah aquades dan HCl 1 N (5 : 4 : 1) menunjukkan kadar antosianin tertinggi (5.35 mg/100 ml), diikuti dengan ekstraksi menggunakan pelarut campuran isopropanol dan air yang diasamkan dengan HCl 1 N (5.08 mg/100 ml). Kadar antosianin terendah pada bunga pacar air didapatkan pada diekstraksi dengan menggunakan pelarut ah aquades dan HCl 1 N (4.27 mg/100 ml).

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa ekstraksi menggunakan pelarut air dan pelarut yang dikombinasikan dengan air menunjukkan konsentrasi antosianin yang lebih tinggi dibandingkan ekstraksi dengan pelarut etanol, isopropanol, dan kombinasi etanol-isopropanol. Hal ini dikarenakan dengan adanya kombinasi dengan pelarut air dapat meningkatkan polaritas. Sifat kepolaran pelarut berpengaruh pada konsentrasi antosianin yang terekstrak. Semakin polar pelarut maka konsentrasi antosianin semakin tinggi dan sebaliknya. Menurut Bridle dan Timberlake (1997), antosianin merupakan pewarna alami yang berasal dari famili flavonoid yang larut dalam air (*water soluble*). Di dalam tumbuhan, antosianin selalu terdapat sebagai glikosida (Robinson, 1991). Sebagai glikosida, antosianin larut dalam air, tetapi setelah mengalami

hidrolisis maka bentuk non glikosidanya (antosianidin) kurang larut dalam air (Wijaya et al., 2001). Pada ekstraksi menggunakan pelarut isopropanol diperoleh konsentrasi antosianin terendah, karena isopropanol termasuk dalam pelarut agak non polar sehingga isopropanol kurang mampu melarutkan antosianin.

Untuk mengetahui pengaruh suhu selama ekstraksi terhadap konsentrasi antosianin maka dilakukan ekstraksi pada suhu dingin (5°C) dan ruang (27°C). Perbedaan suhu ekstraksi dapat mengakibatkan perbedaan kecepatan kelarutan komponen dalam kulit buah duwet dan kemudahan antosianin teroksidasi. Pada Gambar 1 dan 2 terlihat bahwa ekstraksi pada suhu ruang menghasilkan total rendemen dan konsentrasi antosianin lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi pada suhu dingin. Hal ini disebabkan pada suhu dingin kecepatan terlarutnya komponen-komponen dalam kulit buah duwet termasuk antosianin tidak secepat pada suhu kamar. Menurut Geankoplis (1983), semakin tinggi suhu ekstraksi maka kecepatan perpindahan massa dari solut ke solven akan semakin tinggi karena suhu mempengaruhi nilai koefisien transfer massa dari suatu komponen.

Rendemen antosianin

Nilai rendemen antosianin kulit buah duwet sangat kecil bila dibandingkan dengan total rendemen. Pada Gambar 3 dapat dilihat bahwa rendemen antosianin tertinggi sebesar 2.78 % pada ekstraksi menggunakan pelarut kombinasi air dan etanol pada suhu ruang, sedangkan rendemen antosianin terendah ditunjukkan pada ekstraksi dengan menggunakan pelarut isopropanol pada suhu dingin sebesar 0.02 %.

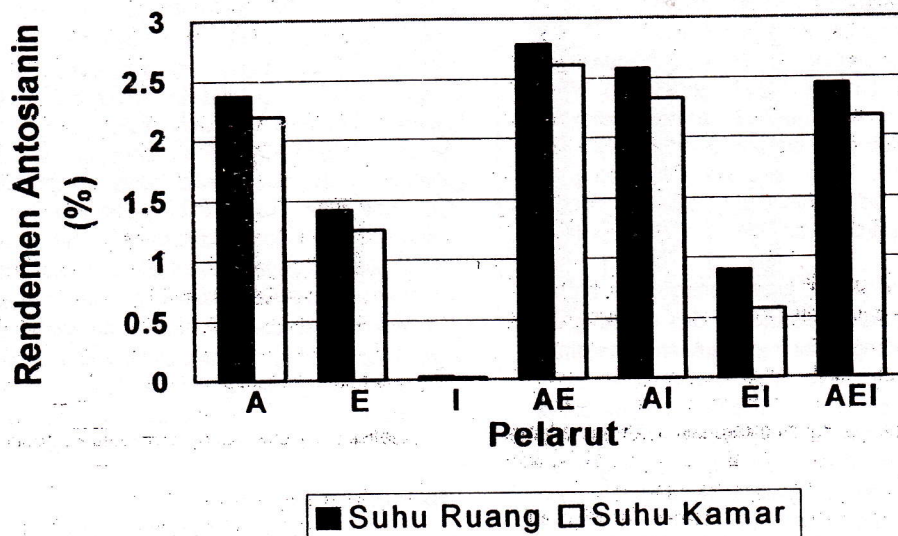
Nilai rendemen antosianin hasil penelitian ini sangat jauh berbeda dengan rendemen antosianin pada bunga pacar air dan kulit buah rambutan. Kisaran rata-rata rendemen antosianin pada bunga pacar air diperoleh sebesar 17.07 – 25.43 % (Saati, 2002) dan rendemen antosianin pada kulit buah rambutan berkisar antara 6.41 – 13.67 % (Wijaya et al., 2001).

Stabilitas warna antosianin

Stabilitas terhadap pH

Stabilitas warna antosianin kulit buah duwet terhadap pengaruh pH dapat dilihat pada Gambar 4. Pada Gambar 4 terlihat bahwa intensitas warna yang ditunjukkan oleh nilai absorbansi sangat dipengaruhi oleh nilai pH, semakin tinggi nilai pH maka intensitas warna merah semakin menurun. Nilai absorbansi mengalami penurunan secara tajam sampai pH 3.5, kemudian nilai absorbansi cenderung stabil sampai pH 5. Pada pH 3.5 – 5 terlihat nilai absorbansi sangat kecil yang menunjukkan warna merah antosianin semakin menghilang. Perubahan warna akibat pengaruh pH terjadi karena adanya degradasi warna dari antosianin yang disebabkan oleh kation flavilium yang berwarna merah menjadi basa karbinol dan akhirnya menjadi kalkon yang tidak berwarna. Pada pH rendah sebagian besar antosianin terdapat dalam bentuk kation flavilium

yang berwarna merah, sedangkan senyawa basa karbinol dan kalkon yang tidak berwarna relatif kecil jumlahnya. Semakin meningkatnya pH akan semakin banyak terbentuk senyawa basa karbinol dan kalkon yang menyebabkan tidak berwarna. Menurut Nollet (1996) dan Elbe dan Schwartz (1996), dalam medium cair, antosianin mengalami perubahan struktur (*reversible*) tergantung dari pH. Empat struktur antosianin yang terdapat dalam kondisi kesetimbangan adalah basa quinodal (biru), kation flavilium (merah), karbinol (tidak berwarna), dan kalkon (tidak berwarna). Pada media sangat asam (pH dibawah 2), kation flavilium yang berwarna merah mendominasi, sedangkan pada kondisi tingkat keasaman yang lemah, netral, dan basa maka karbinol dan basa quinodal mendominasi kation flavilium sehingga warna menjadi memudar (tidak berwarna) dan warna berubah dari merah ke biru. Shi dan Francis (1992) juga mengemukakan bahwa warna antosianin sangat sensitif kestabilannya terhadap beberapa faktor salah satunya dipengaruhi oleh kondisi pH. Di dalam larutan dengan pH rendah antara 1-4 (asam) pigmen antosianin akan berwarna merah atau semakin mendekati satu maka pigmen semakin stabil, sedangkan pada pH yang tinggi lebih dari 4 maka akan mulai terjadi perubahan warna sehingga antosianin menjadi tidak berwarna.

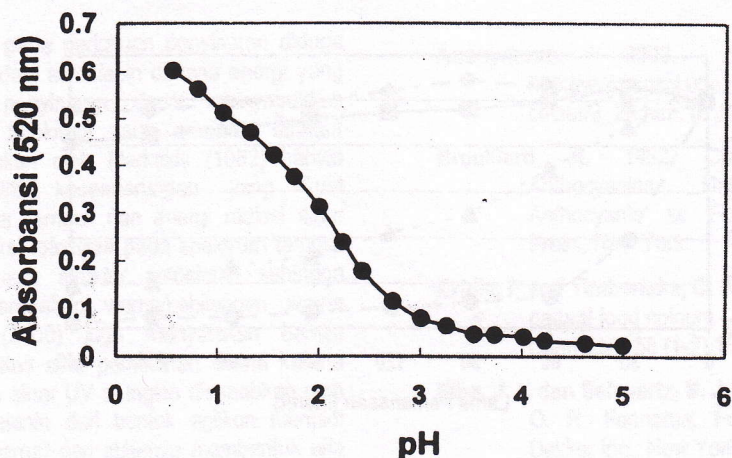


Keterangan:

A = air, E = etanol, I = isopropanol, AE = air:etanol, AI = air:isopropanol, EI = etanol:isopropanol, AEI = air:etanol:isopropanol

Gambar 3. Pengaruh jenis pelarut dan kondisi suhu selama ekstraksi terhadap rendemen antosianin

an senyawa basa
 berwarna relatif kecil
 pH akan semakin
 karbinol dan kalkon
 ma. Menurut Nollet
 (1996), dalam medium
 perubahan struktur
 H. Empat struktur
 ndisi kesetimbangan
 an flavilium (merah),
 ion (tidak berwarna),
 dibawah 2), kation
 arah mendominasi,
 asam yang lemah,
 dan basa quinodal
 hingga warna menjadi
 warna berubah dari
 Francis (1992) juga
 antosianin sangat
 beberapa faktor salah
 pH. Di dalam larutan
 4 (asam) pigmen
 merah atau semakin
 an semakin stabil,
 lebih dari 4 maka akan
 sehingga antosianin



Gambar 4. Stabilitas warna antosianin kulit buah duwet terhadap pengaruh pH

Hasil yang sama juga ditunjukkan dari penelitian yang dilakukan Francis (1977) dalam Elbe dan Schwartz (1996) pada antosianin cranberry, dimana perubahan nilai pH dapat menyebabkan perubahan warna. Pada sekitar pH 1, antosianin cranberry menunjukkan intensitas warna paling bagus sedangkan pada pH 4.5, antosianin cranberry mendekati tidak berwarna (sedikit biru). Penelitian dari Wijaya et al., (2001) juga menyebutkan bahwa intensitas warna dari ekstrak pigmen kulit buah rambutan sangat dipengaruhi oleh nilai pH. Pada pH 3 dan 4 masih menampakkan peak maksimum, sedangkan pada pH 5 tidak terdapat peak maksimumnya yang menunjukkan hilangnya warna merah antosianin.

Stabilitas terhadap suhu

Untuk melihat stabilitas warna antosianin kulit buah duwet terhadap pengaruh suhu maka dilakukan pemanasan ekstrak antosianin pada suhu 40, 60, 80, dan 100°C selama 4 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara keseluruhan antosianin mengalami penurunan dengan semakin meningkatnya suhu dan bertambahnya waktu pemanasan. Hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan nilai retensi warna (%) (Gambar 5). Pada pemanasan suhu 40 dan 60°C (suhu medium), penurunan nilai retensi warna tidak terlalu besar dibandingkan pada pemanasan suhu 80 dan 100°C (suhu tinggi). Pada perlakuan pemanasan suhu 100°C mengalami penurunan nilai retensi warna yang paling tinggi hingga dibawah 20 % pada interval waktu 0-20 menit.

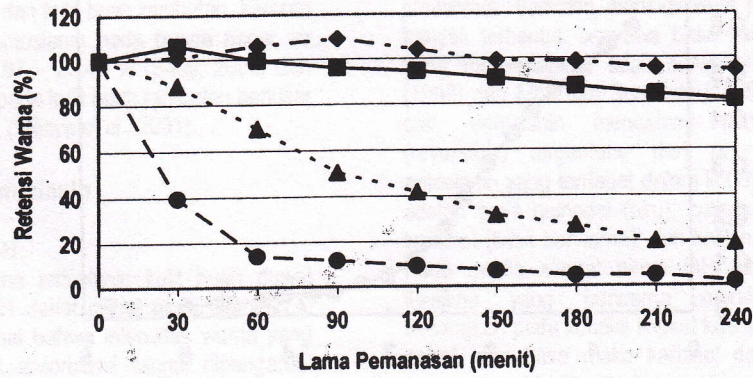
Hasil penelitian Hanum (2000) juga menunjukkan bahwa pemanasan pada suhu 100°C selama 8 jam secara terus menerus dapat menurunkan stabilitas antosianin dari katul beras ketan hitam.

Wijaya et al., (2001) juga melaporkan terjadinya penurunan nilai peak absorbansi dengan makin meningkatnya suhu yang digunakan. Hal ini menunjukkan stabilitas yang semakin menurun dengan semakin meningkatnya suhu pemanasan.

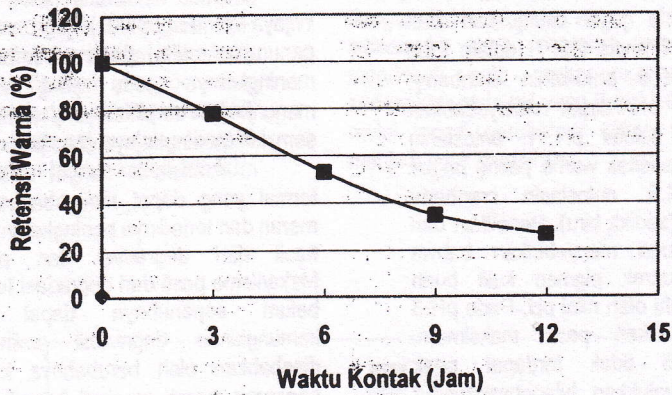
Antosianin sangat sensitif terhadap proses termal yang dapat menyebabkan kehilangan warna merah dan terjadinya peningkatan warna coklat sebagai hasil dari degradasi dan polimerisasi pigmen. Mekanisme pasti dari degradasi termal pada antosianin belum sepenuhnya dapat dijelaskan, tetapi kemungkinan degradasi warna dari antosianin disebabkan oleh berubahnya kation flavilium yang berwarna merah menjadi basa karbinol dan akhirnya menjadi kalkon yang tidak berwarna dan berakhir pada produk degradasi berwarna coklat. Menurut Elbe dan Schwartz (1996), panas mengubah kesetimbangan terhadap kalkon yang tidak berwarna. Brouillard (1982) juga mengemukakan bahwa temperatur tinggi mengubah kation flavilium ke formasi kalkon. Setelah cincin terbuka, degradasi berlanjut ke produk berwarna coklat. Penelitian dari Hrazdina (1971) dalam Francis (1989) menyebutkan bahwa kaumarin merupakan produk degradasi dari pigmen antosianin anggur. Lebih lanjut dijelaskan oleh Elbe dan Schwartz (1996), kaumarin adalah produk degradasi umum untuk antosianin dimana mekanismenya adalah kation flavilium pertama kali ditransformasikan ke basa quinodal kemudian ke beberapa struktur intermediet dan akhirnya ke derivatif kaumarin.



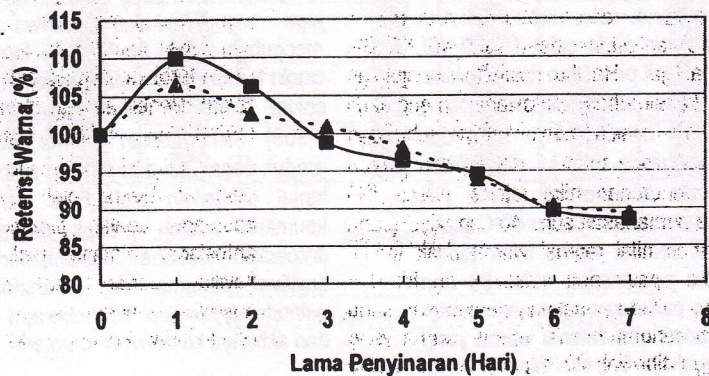
antosianin



Gambar 5. Stabilitas warna antosianin kulit buah duwet terhadap pengaruh suhu dan lama pemanasan.
 ● = suhu 100°C, ▲ = suhu 80°C, ■ = suhu 60°C, ◆ = suhu 40°C

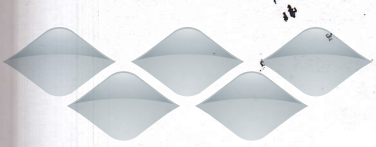


Gambar 6. Stabilitas warna antosianin kulit buah duwet terhadap oksidator



Keterangan :
 ▲ = sinar lampu neon, ■ = sinar UV

Gambar 7. Stabilitas warna antosianin kulit buah duwet terhadap penyinaran



wondershare

Penurunan warna pada perlakuan penyinaran diduga telah terjadi degradasi antosianin dimana energi yang dihasilkan dari penyinaran dapat menyebabkan terjadinya reaksi fotokimia yang merusak struktur antosianin. Dijelaskan oleh Markakis (1982) bahwa antosianin memiliki kecenderungan yang kuat mengabsorpsi sinar tampak dan energi radiasi sinar menyebabkan reaksi fotokimia pada spektrum tampak yang dapat merusak struktur antosianin sehingga mengakibatkan perubahan warna/kehilangan warna merah. Hanum (2000) juga menyatakan bahwa menurunnya stabilitas atau pemucatan warna karena sinar matahari dan sinar UV mungkin disebabkan oleh dekomposisi antosianin dari bentuk aglikon menjadi kaiton (tidak berwarna) dan akhirnya membentuk alfa diketon yang berwarna coklat.

KESIMPULAN

Ekstraksi menggunakan pelarut kombinasi air dan isopropanol pada suhu ruang menghasilkan total rendemen tertinggi sebesar 71.54 % (bk). Konsentrasi dan rendemen antosianin tertinggi diperoleh pada ekstraksi menggunakan pelarut kombinasi air dan etanol pada suhu ruang berturut-turut sebesar 10 007.03 mg/L (bk) dan 2.78 % (bk).

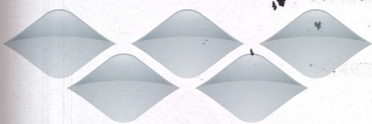
Stabilitas antosianin sangat dipengaruhi oleh pH, suhu, oksidator, dan sinar. Pada kondisi tingkat keasaman tinggi, antosianin kulit buah duwet menunjukkan stabilitas yang tinggi dan sebaliknya pada tingkat keasaman rendah stabilitas menjadi menurun. Pada pemanasan suhu medium (40 dan 60°C) antosianin masih mampu mempertahankan stabilitas warna di atas 80 %, sedangkan pada suhu tinggi (80 dan 100°C) stabilitas warna menurun tajam hingga dibawah 20 % selama 4 jam pemanasan. Senyawa oksidator juga mampu menurunkan stabilitas warna sebesar 73.51 % selama 12 jam, sedangkan sinar mampu menurunkan stabilitas warna sebesar 9.97 % untuk sinar lampu neon dan 14.45 % untuk sinar UV selama penyinaran 7 hari.

Kondisi ekstraksi terbaik yang menghasilkan rendemen antosianin tertinggi (2.78%) yaitu ekstraksi dengan menggunakan pelarut kombinasi air dan etanol pada suhu ruang. Pada kondisi pH asam (< 3.5), suhu medium (< 40°C), tanpa adanya sinar ataupun senyawa oksidator merupakan kondisi terbaik untuk dapat mempertahankan stabilitas antosianin kulit buah duwet.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2001. Empat Sekawan Usir Diabetes. Trubus, No 34.
- Anonymous. 2003. Food Colourants. http://www.agsci.ubc.ca/fnh/courses/food410/colour/3_24.htm. (3 Januari 2003).
- Brouillard, R. 1982. Chemical Structure of Anthocyanins. Dalam P. Markakis. Anthocyanin as Food Colors. Academic Press, New York.
- Bridle, P and Timberlake, C. F. 1997. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. Food Chemistry, 58 (1-2):103–109.
- Elbe, J. H dan Schwartz, S. J. 1996. Colorants. Dalam O. R. Fennema. Food Chemistry. Marcel Dekker Inc., New York.
- Francis, F. J. 1989. Food colorants : anthocyanins. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 28:273 – 314.
- Geankoplis, C. J. 1983. Transport Processes and Unit Operation. Allyn and Dalcon Inc., Boston.
- Giusti, M. M. dan Wrolstad, R. E. 2000. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. John Wiley and Sons, Inc. <http://www.does.org/masterii/facsample.htm>. (2 November 2002).
- Hanum, T. 2000. Ekstraksi dan stabilitas zat pewarna alami dari katul beras ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*). Bul. Teknol. Dan Industri Pangan, Vol. XI (1):17 – 23.
- Markakis, P. 1982. Anthocyanin as Food Additives. Dalam P. Markakis. Anthocyanin as Food Colors. Academic Press, New York.
- Metriva, M. 1995. Mempelajari Ekstraksi Antosianin dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L*) Menggunakan Pelarut Metanol yang Diasamkan. Skripsi Fateta IPB, Bogor.
- Nollet, L. M. L. 1996. Handbook of Food Analysis. Marcel Dekker Inc., New York.
- 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*. J. Agric. Food Chem., 46:2686-2693.
- Robinson, T. 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan. ITB, Bandung.
- Revilla, E., Ryan, J., and Martin-Ortega, G. 1998. Comparison of several procedures used for

- the extraction of anthocyanins from red grapes. *J. Agric. Food Chem.*, 46:4592-4597.
- Sutrisno, A. D. 1987. Pembuatan dan Peningkatan Kualitas Pigmen Merah Alami yang Dihasilkan oleh *Monascus purpureus*. Dalam Risalah Seminar Bahan Tambahan Kimiawi. PAU Pangan dan Gizi IPB, Bogor.
- Shi, Z., Lin, M., dan Francis, F. J. 1992. Stability of anthocyanins from *Tradescantia pallida*. *J. Food Sci.*, 57 (3):758 - 760.
- Saati, E. A., Susanto, T., dan Yuniarta. 2002. Ekstraksi dan identifikasi pigmen antosianin bunga pacar air (*Impatiens Balsanina* Linn.). Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia, Malang.
- Wijaya, L. S., Widjanarko, S. B., dan Susanto, T. 2001. Ekstraksi dan karakterisasi pigmen dari kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum*) var. binjai. *Biosain*, Vol. 1 No. 2:42 - 53.



wondershare