



Comparative Test of Color Stability between Betalain Pigments of Red Dragon Fruits and Anthocyanin Pigments from Tamarillo Fruit at Various pH

Yelfira Sari ^{a*}, Adlis Santoni ^b, Elisabet ^b

a Universitas Islam Riau, Jl. Kaharuddin Nasution No. 113, Pekanbaru, Riau, Indonesia

b Universitas Andalas, Padang, Indonesia

* Corresponding author: yelfirasari@edu.uir.ac.id

<https://doi.org/10.14710/jksa.21.3.107-112>

Article Info

Article history:

Received: 15 May 2018

Revised: 16 July 2018

Accepted: 16 July 2018

Online: 26 July 2018

Keywords:

betalain, betacyanin, anthocyanin, dragon fruit, tamarillo

Kata Kunci:

betalain, betasianin, antosianin, buah naga merah, terung belanda

Abstract

Betalains and anthocyanins are classes of natural and water soluble pigments. Now days, these pigments have been developed as a replacement colouring agents. One of betalain resource is dragon fruit and anthocyanin resource is tamarillo. These pigments are relative unstable in some condition, one of them is pH. This research aim is to determine stability of betalain and anthocyanin pigments by pH parameter. These pigments can be isolated by macerated methods, technically processed by chopping the fruit and than soaking in ethanol for \pm 24 h. These extracts were condensed by rotary evaporator. These extracts were analysed by ultraviolet-visible spectrophotometer at wavelength (λ) 200–800 nm. The absorption spectrum showed two major absorption peaks at 269 nm and 536 nm for betalain and 531 nm for anthocyanins. The result showed the optimal pH for betalain stability was at pH 5 and pH 3 for anthocyanin

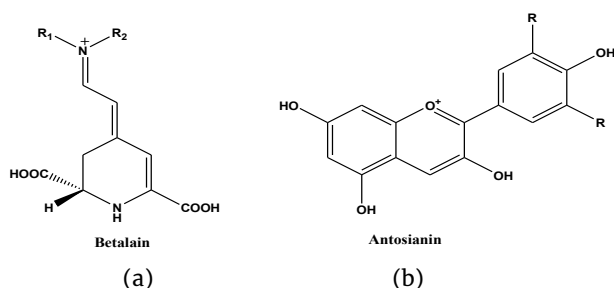
Abstrak

Pigmen betalain dan antosianin merupakan pigmen alami yang larut dalam air. Dewasa ini, penggunaan pigmen-pigmen tersebut telah banyak dikembangkan untuk menggantikan pewarna sintetik yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Salah satu penghasil pigmen betalain adalah buah naga merah, sementara penghasil antosianin adalah terung belanda. Pigmen-pigmen ini relatif tidak stabil terhadap beberapa faktor, salah satunya adalah pH. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kestabilan dari pigmen betalain dan pigmen antosianin berdasarkan parameter pH. Pigmen tersebut dapat diisolasi dengan metoda maserasi, yang secara teknis dapat dilakukan dengan memotong serat buah sumber pigmen kemudian merendam buah tersebut di dalam etanol selama \pm 24 jam dan dilanjutkan pemekatan menggunakan vakum penguap. Ekstrak etanol yang diperoleh dianalisis menggunakan spektrofotometer ultraviolet-visible (UV-Vis) pada panjang gelombang (λ) 200–800 nm. Dari ekstrak buah naga merah didapatkan dua puncak absorban, yaitu pada λ 269 nm dan 536 nm sedangkan dari ekstrak terung belanda didapatkan puncak absorban pada λ 531 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa struktur molekul pigmen betalain stabil pada pH 5, sementara struktur molekul pigmen antosianin stabil pada pH 3.

1. Pendahuluan

Betalain dan antosianin merupakan pigmen alami yang terdapat di dalam tumbuh-tumbuhan. Pigmen-pigmen ini larut di dalam air [1, 2] sehingga bisa diekstraksi dengan alkohol [3]. Betalain merupakan pigmen yang mengandung atom nitrogen dan terdiri dari campuran betasantin kuning dan betasianin merah [4] dan merupakan salah satu pewarna alami yang banyak digunakan di industri makanan [5] serta termasuk pewarna alami yang pertama dikembangkan [6]. Antosianin merupakan pigmen yang termasuk ke dalam kelompok flavonoid dari senyawa polifenol [7, 8]. Selain digunakan sebagai pewarna makanan, antosianin juga memiliki banyak manfaat bagi kesehatan manusia seperti mengurangi resiko penyakit kanker, jantung, diabetes, dan obesitas [9-11].

Pigmen betalain dan antosianin memiliki kesamaan warna dalam spektrum sinar tampak [12]. Namun demikian, kedua pigmen ini memiliki beberapa perbedaan pada struktur kimianya, seperti yang ditampilkan pada Gambar 1 [4, 13]. Terlihat pada Gambar 1, pigmen betalain memiliki ikatan nitrogen, sedangkan pigmen antosianin tidak memiliki ikatan nitrogen. Jika suatu tanaman mengandung betalain, maka tanaman tersebut tidak akan menghasilkan antosianin. Hal ini disebabkan karena pada tanaman yang menghasilkan betalain kekurangan enzim antosianidin sintase yang berperan dalam tahapan akhir pada jalur biosintesis antosianin [14].



Gambar 1. Struktur molekul (a) pigmen betalain dan (b) pigmen antosianin

Betalain mempunyai dua subkelas yaitu betasianin dan betasantin. Betasianin menunjukkan kandungan pigmen merah-ungu dan terbentuk dari hasil kondensasi dari asam betalamat dengan siklo-DOPA sedangkan betasantin menunjukkan pigmen kuning-jingga dan terbentuk dari konjugasi antara asam betalamat dengan amina atau dengan asam amino [15].

Antosianin merupakan glikosida dari turunan polihidroksi dan polimetoksi dari kation 2-fenilbenzopirilium atau kation flavilium [8]. Baik pigmen betalain maupun antosianin relatif tidak stabil terhadap beberapa faktor, diantaranya terhadap panas, pH, cahaya, dan oksigen [16, 17]

Moldovan dan David [7] pada tahun 2014 telah melakukan penelitian mengenai kestabilan pigmen antosianin terhadap temperatur, dimana sampel diberikan perlakuan pada tiga temperatur yang berbeda, yaitu pada temperatur 2°C, 25°C, dan 75°C. Dari hasil

penelitian ini didapatkan bahwa pada suhu 75°C, pigmen antosianin mengalami degradasi terbesar dengan kecepatan rata-rata $82,76 \times 10^{-3}/h$.

Woo dkk. [16]. pada tahun 2011 juga telah melakukan penelitian mengenai kestabilan pigmen betalain terhadap temperatur. Sampel yang digunakan adalah buah naga merah, dimana sampel diberi tiga perlakuan temperatur yang berbeda, yaitu pada temperatur 25°C, 50°C, dan 85°C. Dari hasil penelitian diketahui bahwa sampel mengalami degradasi warna hingga 30% di awal penyimpanan pada temperatur 80°C.

Dari dua penelitian di atas, dapat disimpulkan bahwa baik pigmen antosianin maupun pigmen betalain tidak stabil pada temperatur yang tinggi. Pigmen-pigmen ini akan mengalami degradasi warna setelah melalui proses pemanasan. Selain terhadap pemanasan, pigmen-pigmen ini juga tidak stabil pada pH yang bersifat basa. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pada pH berapa pigmen antosianin dan pigmen betalain memiliki degradasi warna paling kecil.

2. Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Alat: Seperangkat alat distilasi, seperangkat alat vakum penguap (rotary evaporator, Buchi, Swetzerland), spektrofotometer UV/Vis (UV-1700 series Shimadzu, Jepang), pH meter (Eutech pH 5+), kertas saring, aluminium foil, serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

Bahan: Daging buah naga merah, daging buah terung belanda, etanol 96 % (teknis), HCl (p.a, Merck), asam asetat glasial (p.a, Merck), ammonium asetat (p.a, Merck), amonia (p.a, Merck), ammonium klorida (p.a, Merck), asam sitrat (teknis), dinatrium hidrogen pospat, dan akuades.

2.2 Ekstraksi dan analisis betalain

Ekstraksi betalain dari buah naga merah maupun antosianin dari terung belanda yang diperoleh dari Padang, Sumatera Barat dapat dilakukan sebagai berikut, daging buah naga merah dan terung belanda sebanyak 100 gram dipotong dadu kecil (1 x 1 cm) kemudian masing-masing dihomogenkan dengan 200 mL etanol. Bubur buah yang diperoleh dimaserasi selama ± 24 jam, setelah itu disaring dengan kain kasa dan dilanjutkan dengan penyaringan vakum. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan vakum (rotary evaporator, Buchi, Swetzerland) hingga didapatkan ekstrak buah. Ekstrak buah ini kemudian dianalisis lebih lanjut menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm.

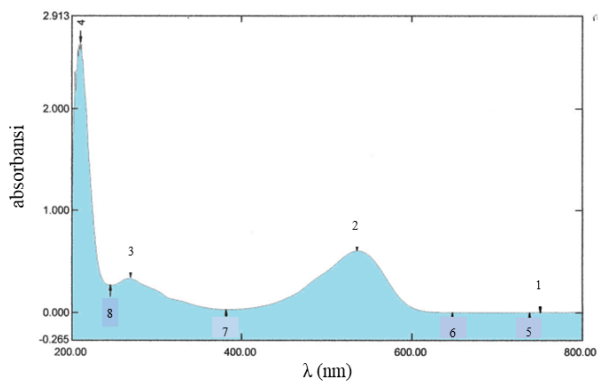
2.3 Uji kestabilan struktur molekul terhadap perubahan pH larutan

Ekstrak buah sebanyak 10 mL dilarutkan ke dalam larutan buffer pH 1, 3, 5, 7, dan 9 hingga volume mencapai 50 mL. Masing-masing larutan kemudian diukur absorbansinya terhadap sinar ultraviolet-visible (UV-vis) menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Analisis absorbansi UV-Vis

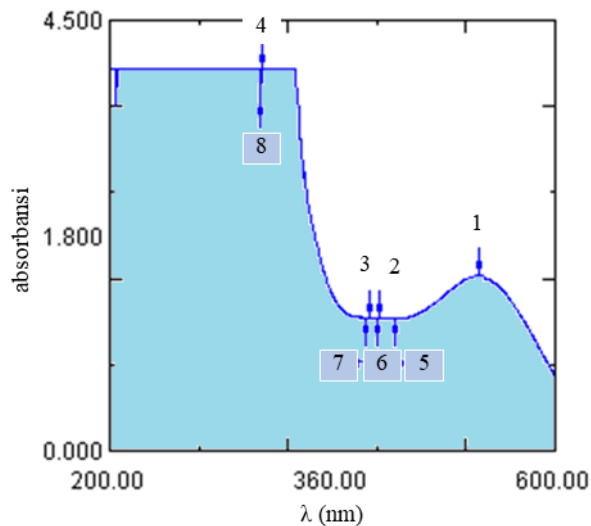
Analisis absorbansi UV-Vis ekstrak buah naga merah memberikan hasil dua puncak absorbansi maksimum pada panjang gelombang 269 nm dan 536 nm seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2. Panjang gelombang 269 dan 536 nm ini merupakan panjang gelombang karakteristik untuk betalain merah-ungu atau disebut juga dengan betasianin [15].



Gambar 2. Spektrum UV-Vis pigmen betalain pada kondisi awal (pH 5)

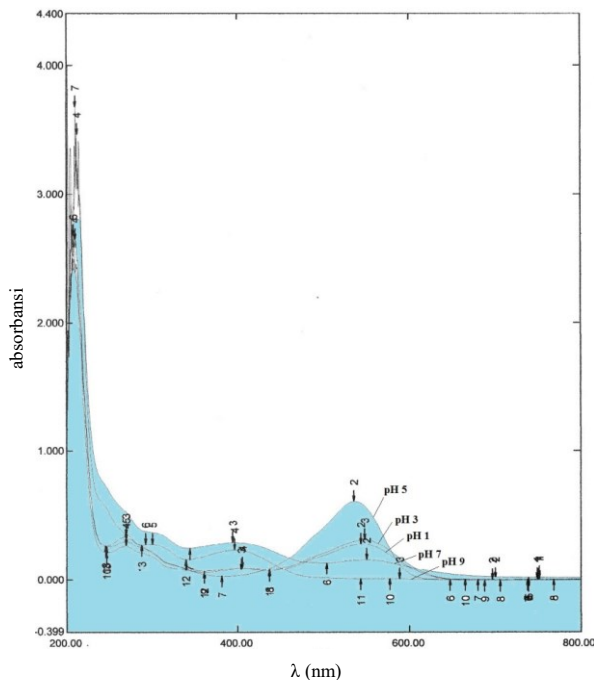
Azeredo [15] menyebutkan bahwa betalain terdiri dari dua subklas yaitu betasianin dan betasantnin. Betasianin merupakan subklas betalain yang memiliki warna merah-ungu dan memiliki absorbansi maksimum pada panjang gelombang 270-280 nm untuk daerah sinar ultraviolet dan panjang gelombang 535-540 nm untuk daerah sinar tampak. Sedangkan betasantnin merupakan subklas betalain yang memiliki warna kuning-jingga dan memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 470-486 nm. Jadi, berdasarkan hasil yang diperoleh dari Gambar 2 dapat disimpulkan bahwa pigmen yang terkandung di dalam buah naga merah adalah pigmen betalain berupa senyawa betasianin.

Di pihak lain, ekstrak buah terung belanda memberikan hasil absorbansi maksimum pada panjang gelombang 534 nm seperti yang terlihat pada Gambar 3. Menurut Giusti dan Wrolstad [18], senyawa antosianin mempunyai panjang gelombang spesifik pada 490-550 nm pada daerah sinar tampak, sehingga dapat disimpulkan bahwa pigmen yang terkandung dalam buah terung belanda ini adalah pigmen antosianin jenis peonidin-3-galaktosida.



Gambar 3. Spektrum UV-Vis pigmen antosianin pada kondisi awal (pH 3)

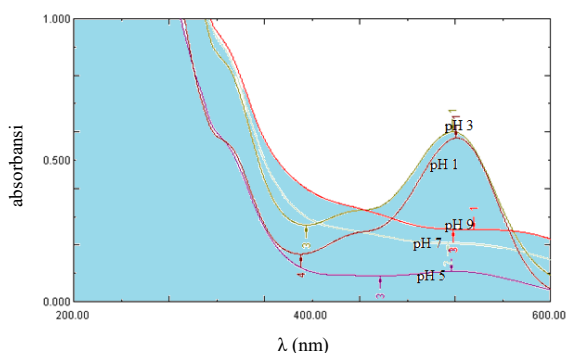
3.2 Uji kestabilan struktur molekul terhadap perubahan pH larutan



Gambar 4. Spektrum UV-Vis pigmen betalain berbagai variasi pH

Spektrum UV-Vis pigmen betalain pada berbagai variasi pH (Gambar 4) menunjukkan bahwa pada pH 1 dan pH 3 terjadi pergeseran absorbansi pada panjang gelombang maksimum pada daerah tampak dari 536 nm menjadi 548 nm untuk pH 1 dan 544 nm untuk pH 3. Di sisi lain, pada pH 5 tidak terjadi pergeseran panjang gelombang maksimum. Sedangkan pada pH 7 dan pH 9 tidak tampak adanya puncak betalain. Hal ini menunjukkan bahwa pigmen betalain stabil pada pH 5 dan mengalami kerusakan pada pH 7 dan pH 9. Sedangkan pada pH 1 dan pH 3, pigmen betalain tersebut tidak terlalu stabil.

Selanjutnya, spektrum UV-Vis antosianin pada berbagai variasi nilai pH ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektrum UV-Vis pigmen antosianin pada berbagai variasi pH

Terlihat pada Gambar 5 bahwa absorbansi UV-Vis antosianin pada pH 3 lebih besar dibanding pada pH 5 (6: 1) meskipun terletak pada panjang gelombang yang sama, yaitu 517 nm. Hal ini dapat dilihat dari nilai absorbansi antosianin pada pH 3 yaitu sebesar 0,600 sedangkan absorbansi antosianin pada pH 5 hanya sebesar 0,100. Absorbansi UV-Vis antosianin pada pH 7 dan pH 9 mengalami pergeseran pada panjang gelombang 270,5 nm untuk pH 7 dan 535,5 nm untuk pH 9.

Struktur molekul pigmen betalain relatif lebih stabil terhadap pH dibandingkan dengan antosianin. Hal ini ditunjukkan oleh range pH untuk betalain yang lebar yaitu antara 3 hingga 7, struktur molekul betalain tidak berubah [15]. Sementara itu, struktur molekul antosianin tidak berubah pada pH kurang dari 4.

3.3 Perubahan warna pigmen betalain dan antosianin pada berbagai variasi nilai pH dan hubungannya dengan perubahan struktur molekulnya



a.

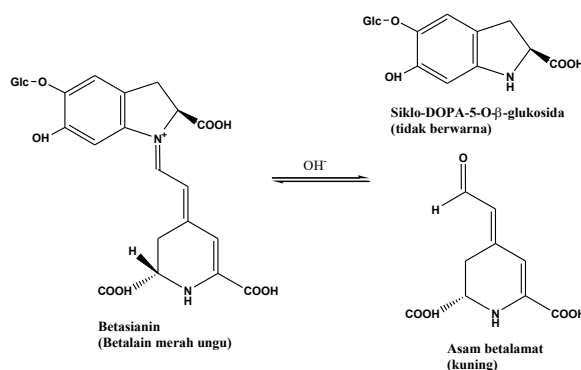


b.

Gambar 6. Perubahan warna (a) pigmen betalain dan (b) pigmen antosianin pada berbagai variasi nilai pH

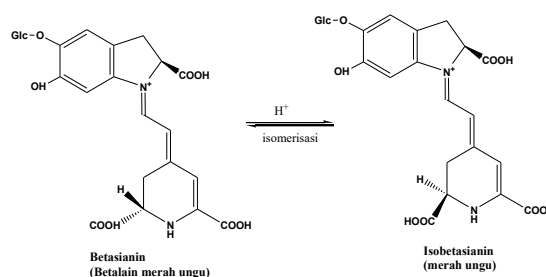
Perubahan warna pigmen betalain dan antosianin pada berbagai variasi nilai pH dapat dilihat pada Gambar 6. Terlihat pada Gambar 6a bahwa warna ekstrak buah naga pada pH 5 hampir tidak berubah dari warna awal sedangkan pada pH 7 dan pH 9 terjadi perubahan warna yang sangat jelas, dimana semakin basa larutan tersebut, maka warnanya berubah menjadi kuning. Sedangkan pada pH 3 dan pH 5, warna larutan hampir tidak berubah dari warna awal (warna larutan tanpa pengaturan pH). Sementara itu pada Gambar 6b terlihat bahwa untuk pigmen antosianin, semakin asam pH suatu larutan maka warna yang dihasilkan pigmen ini semakin cerah. Sebaliknya semakin basa larutan, maka warna yang ditimbulkan semakin pucat/tak berwarna. Pada pH 1 dan pH 3, larutan berwarna merah cerah sedangkan pada pH 5 dan pH 7 warna larutan berubah menjadi lembayung dan pada akhirnya menjadi tidak berwarna (bening) pada pH 9.

Menurut Azeredo [15], perubahan warna pigmen betalain yang terjadi pada pH 7 dan 9 disebabkan oleh hidrolisis ikatan aldimin, dimana akan menyebabkan terjadinya pengurangan warna merah menjadi merah pucat ataupun berubah menjadi kuning terang, yang menghasilkan senyawa tidak berwarna siklo-DOPA-5-O-β-glukosida dan asam betalamat berwarna kuning cerah. Reaksi pemutusan ikatan ini dapat dilihat pada Gambar 7.



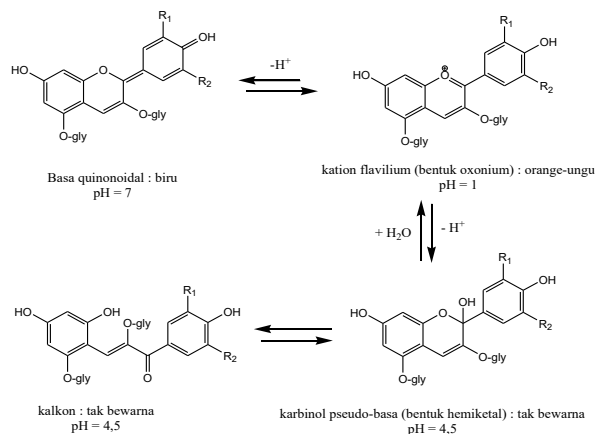
Gambar 7. Reaksi pemutusan ikatan senyawa betasianin pada pH > 7 [15]

Sedangkan pada kondisi asam terjadi reaksi isomerisasi sehingga menghasilkan senyawa isobetalain seperti yang ditampilkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Reaksi isomerisasi senyawa betasianin pada pH < 3 [15]

Sedangkan untuk perubahan warna pigmen antosianin, menurut Giusti dan Wrolstad [18], terjadi karena pada pH yang berbeda struktur molekul antosianin mengalami perubahan menjadi basa quinonoidol berwarna biru pada pH 7 dan kation flavilium berwarna orange-ungu pada pH 1, seperti yang terlihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Perubahan struktur antosianin pada pH yang berbeda [18]

4. Kesimpulan

Warna maupun struktur molekul pigmen betalain relatif lebih stabil terhadap perubahan nilai pH larutan dibandingkan dengan antosianin. Secara spesifik, warna maupun struktur molekul pigmen betalain lebih stabil pada pH 5 sedangkan antosianin lebih stabil pada pH 3.

5. Ucapan Terima Kasih

Terima kasih penulis ucapkan kepada semua pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini hingga selesai, terutama teman-teman dan analis pada Laboratorium Kimia Bahan Alam, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Andalas Padang.

6. Daftar Pustaka

- [1] Lydia Ninan Lestario, Hartati Soetjipto, Agustine Evinginyun, Identifikasi antosianin dan antosianidin dari daun iler (*Coleus scutellarioides* L. Benth) Var. *Crispa* dan Var. *Parfivolius*, Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains 4, Salatiga, (2009).
- [2] Ai Mahmudatuss'adah, Dedi Fardiaz, Nuri Andarwulan, Feri Kusnandar, Karakteristik Warna dan Aktivitas Antioksidan Antosianin Ubi Jalar Ungu, *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 25, 2, (2014) 176-184
<http://dx.doi.org/10.6066/jtip.2014.25.2.176>
- [3] Fathinatullabibah Fathinatullabibah, Lia Umi Khasanah, Kawiji Kawiji, Stabilitas Antosianin Ekstrak Daun Jati (*Tectona Grandis*) terhadap Perlakuan pH dan Suhu, *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 3, 2, (2014) 60-63
- [4] Ashwini Gengatharan, Gary A. Dykes, Wee Sim Choo, Betalains: Natural plant pigments with potential application in functional foods, *LWT - Food Science and Technology*, 64, 2, (2015) 645-649
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.052>

- [5] Kwan K. Woo, F. N. Fanny Wong, H. S. Catherine Chua, P. Y. Tang, Stability of the Spray-Dried Pigment of Red Dragon Fruit [*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton and Rose] as a Function of Organic Acid Additives and Storage Conditions, *The Philippine Agricultural Scientist*, 94, 3, (2011) 264-269
- [6] Y. Cai, M. Sun, H. Corke, Antioxidant activity of betalains from plants of the amaranthaceae, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 8, (2003) 2288-2294
<http://dx.doi.org/10.1021/jf030045u>
- [7] Bianca Moldovan, Luminița David, Influence of Temperature and Preserving Agents on the Stability of Cornelian Cherries Anthocyanins, *Molecules*, 19, 6, (2014) 8177
- [8] Puspita Sari, Christofora Hanny Wijaya, Dondin Sajuthi, Unang Supratman, Identifikasi Antosianin Buah Duwet (*Syzygium cumini*) Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi - Diode Array Detection *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 20, 2, (2009) 102-108
- [9] Robert Byamukama, Jane Namukobe, Bernard Kiremire, Anthocyanins from leaf stalks of cassava (*Manihot esculenta* Crantz), *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 3, 2, (2009) 20-25
- [10] Craig S. Charron, Anne C. Kurilich, Beverly A. Clevidence, Philipp W. Simon, Dawn J. Harrison, Steven J. Britz, David J. Baer, Janet A. Novotny, Bioavailability of Anthocyanins from Purple Carrot Juice: Effects of Acylation and Plant Matrix, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 4, (2009) 1226-1230
<http://dx.doi.org/10.1021/jf802988s>
- [11] Ping Yang, Chunlong Yuan, Hua Wang, Fuliang Han, Yangjie Liu, Lin Wang, Yang Liu, Stability of Anthocyanins and Their Degradation Products from Cabernet Sauvignon Red Wine under Gastrointestinal pH and Temperature Conditions, *Molecules*, 23, 2, (2018) 354
- [12] Raja Ramamoorthy, Natarajan Radha, Govindaraj Maheswari, Sambandam Anandan, Subbaiah Manoharan, Rayar Victor Williams, Betalain and anthocyanin dye-sensitized solar cells, *Journal of Applied Electrochemistry*, 46, 9, (2016) 929-941
<http://dx.doi.org/10.1007/s10800-016-0974-9>
- [13] Tariq Pervaiz, Jiu Songtao, Faezeh Faghihi, Muhammad Salman Haider, Jinggui Fang, Naturally Occurring Anthocyanin, Structure, Functions and Biosynthetic Pathway in Fruit Plants, *Journal of Plant Biochemistry & Physiology*, 5, 2, (2017)
<http://dx.doi.org/10.4172/2329-9029.1000187>
- [14] Vasil Georgiev, Mladenka Ilieva, Thomas Bley, Atanas Pavlov, Betalain production in plant in vitro systems, *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 5, (2008) 581-593
<http://dx.doi.org/10.1007/s11738-008-0170-6>
- [15] Henriette M.C. Azeredo, Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review, *International Journal of Food Science & Technology*, 44, 12, (2009) 2365-2376
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01668.x>
- [16] K.K. Woo, F.H. Ngou, L.S. Ngo, W.K. Soong, P.Y. Tang, Stability of Betalain Pigment from Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*), *American Journal of Food Technology*, 6, (2011) 140-148
<http://dx.doi.org/10.3923/ajft.2011.140.148>

- [17] Simona Oancea, Olga Drăghici, pH and Thermal Stability of Anthocyanin-based Optimised Extracts of Romanian Red Onion Cultivars, *Czech Journal of Food Science*, 31, 3, (2013) 283-291
- [18] M.Mónica Giusti, Ronald E. Wrolstad, Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00, 1, (2001) F1.2.1-F1.2.13
doi:10.1002/0471142913.faf0102s00