

Pengaruh Pelarut, Suhu dan pH Terhadap Pigmen Antosianin dari Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*)

Effect of Solvent, Temperature and pH on Anthocyanin Pigments from Red Dragon Fruit Peel Extract (*Hylocereus Polyrhizus*)

Gusti Alamsyah Abdil Almajid, Rolan Rusli*, Mukti Priastomo

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian "Farmaka Tropis",
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email korespondensi: rolan@farmasi.unmul.ac.id

Abstrak

Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) merupakan limbah hasil pertanian yang mengandung pigmen alami antosianin yang cukup tinggi. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui bagaimana pengaruh pelarut, suhu dan pH terhadap kadar total dan stabilitas antosianin dari ekstrak cair kulit buah naga merah. Ekstraksi antosianin dari kulit buah naga merah menggunakan metode maserasi dengan pelarut aquades, aquades:asam asetat 10% (1:6), dan aquades:asam sitrat 10% (1:6) serta dilakukan pengujian berupa uji stabilitas antosianin terhadap pH 1, 2, 3, 4, 5 dan suhu 0°C, 10°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa penggunaan pelarut aquades:asam sitrat 10% (1:6) menghasilkan kadar total antosianin tertinggi dengan 18,034 mg/200 mg dan hasil uji stabilitas antosianin yang menunjukkan stabil pada pH 1, 2, 3 dan pada suhu 10°C, 20°C, 30°C.

Kata Kunci: Kulit Buah Naga Merah, Antosianin, Pelarut, Suhu, pH

Abstract

Red dragon fruit peel (*Hylocereus polyrhizus*) is an agricultural waste that contains quite high natural anthocyanin pigments. The purpose of this study was to determine how the effect of solvent, temperature and pH on the total content and stability of anthocyanins from liquid extract of red dragon fruit peel. Extraction of anthocyanins from red dragon fruit peel using maceration method with solvent distilled water, distilled water: acetic acid 10% (1:6), and distilled water: citric acid 10% (1:6) and testing was carried out in the form of anthocyanin stability tests at pH 1, 2, 3, 4, 5 and temperatures 0°C, 10°C, 20°C, 30°C, 40°C, 50°C. The results obtained showed that the use of distilled water: citric acid 10% (1:6) as a solvent resulted in the highest total anthocyanin content with 18.034

mg/200 mg and the results of the anthocyanin stability test showed that it was stable at pH 1, 2, 3 and at temperatures of 10°C, 20°C, 30°C.

Keywords: Red Dragon Fruit peel, Anthocyanin, Solvent, Temperature, pH

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v14i1.557>

1 Pendahuluan

Zat warna terbagi dua kelompok besar yakni zat warna alami dan zat warna sintesis. Kebanyakan zat warna sintetis dapat menimbulkan berbagai efek samping jika penggunaannya melebihi ambang batas, penggunaan zat warna sintetis dalam jangka panjang berbahaya bagi manusia karena bersifat karsinogenik. Selain itu zat warna sintetis berdampak buruk bagi lingkungan karena menyebabkan pencemaran air dan tanah [6]. Adanya batasan-batasan terhadap penggunaan zat warna sintetis menyebabkan meningkatnya minat terhadap penelitian zat warna alami. Zat warna alami aman digunakan dalam jangka panjang alami lebih aman bagi kesehatan tubuh serta ramah lingkungan sebagai pengganti zat warna sintetis. Zat pewarna alami yang berpotensi untuk diekstrak diantaranya adalah antosianin.

Antosianin merupakan pigmen berwarna merah, ungu dan biru yang biasa terdapat pada tanaman. Antosianin tergolong pigmen yang disebut flavonoid. Senyawa golongan flavonoid termasuk senyawa polar dan dapat diekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar pula. Kondisi asam akan mempengaruhi hasil ekstraksi. Keadaan yang semakin asam apalagi mendekati pH 1 akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen antosianin yang terekstrak, hal ini disebabkan semakin banyak dinding sel vakuola yang pecah sehingga pigmen antosianin semakin banyak yang terekstrak [3]. Antosianin dapat menggantikan penggunaan zat warna sintetis *rhodamin B*, *carmoisins*, dan *amaranth* sebagai pewarna merah pada produk pangan. JEFCA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) telah menyatakan bahwa ekstrak yang mengandung antosianin memiliki efek toksisitas yang rendah. Selain berperan

sebagai pewarna makanan, antosianin juga dipercaya berperan dalam sistem biologis, termasuk kemampuannya sebagai pengikat radikal bebas dan kemampuan untuk menghambat tahap inisiasi reaksi kimiawi yang menyebabkan karsinogenesis [1].

Penelitian kali ini menggunakan sampel kulit buah naga daging merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai sumber Antosianinnya. Pemanfaatan kulit buah naga merah dikatakan belum maksimal dikarenakan sebagian besar orang mengkonsumsi buah naga hanya bagian buahnya saja lalu membuang kulitnya. Penampilan kulit buah naga merah yang berwarna ungu kemerahan menunjukkan ada pewarna alami yang terkandung didalamnya. Salah satu senyawa flavonoid yang terkandung dalam kulit buah naga merah adalah antosianin, untuk itu perlu diteliti kandungan antosianin total dalam kulit buah naga merah untuk memperoleh sumber zat warna alami.

Berdasarkan hal diatas maka dilakukanlah penelitian mengenai antosianin yang terkandung di dalam kulit buah naga merah dengan cara mengekstraksi antosianin tersebut menggunakan pelarut yang berbeda agar didapatkan kadar total antosianin tertinggi dan menguji stabilitas antosianin tersebut dari terhadap suhu dan pH yang berbeda-beda pada berbagai kondisi.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan bahan

Alat yang digunakan yaitu batang pengaduk, botol coklat, blender, corong kaca, gelas kimia, gelas ukur, *hot plate*, kaca arloji, kertas perkamen, kuvet, labu ukur, lemari asam, pH meter, pipet tetes, pipet ukur, pisau, propipet, rak tabung, sendok tanduk, sentrifuge,

spatel logam, spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi, tabung sentrifuge, termometer, timbangan analitik, dan toples kaca.

Bahan yang digunakan yaitu aluminium foil, asam asetat glasial (CH_3COOH), asam klorida (HCl), asam sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), aquades, kalium hidroksida (KCl), kertas saring, kulit buah naga merah, natrium asetat (CH_3COONa) dan natrium hidroksida (NaOH).

2.2 Penyiapan Sampel Kulit Buah Naga Merah

Sampel buah naga merah dicuci terlebih dahulu kemudian dikupas dan dibersihkan untuk memisahkan daging buah dengan kulitnya dan dilakukan sortasi basah dengan memisahkan bagian kulit buah yang berwarna hijau dan sisa daging buahnya yang terdapat pada kulit dalam buah naga. Selanjutnya kulit buah dipotong kecil-kecil dan diblender sampai menjadi halus untuk memperluas luas permukaan dari sampel tersebut.

2.3 Ekstraksi Antosianin dari Kulit Buah Naga Merah

Sampel kulit buah naga merah yang telah halus ditimbang masing-masing 200 g lalu diekstraksi dengan teknik maserasi yang dilakukan selama 3x24 jam menggunakan variasi pelarut yang digunakan yaitu aquadest, aquadest:asam asetat 10% (1:6), aquadest:asam sitrat 10% (1:6) dengan perbandingan pelarut:bahan (2:1). Hasil maserasi selama 3x24 jam (maserat) yang diperoleh dilakukan penyaringan menggunakan saringan dan kertas saring, selanjutnya sampel tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 10 menit. Hasil supernatan yang diperoleh dari hasil sentrifuge hingga di hasilkan ekstrak cair antosianin bebas endapan. Ekstrak cair antosianin disimpan dalam botol coklat.

2.4 Uji Fitokimia

Dilakukan uji fitokimia antosianin menurut Harborne [5] yaitu 3 mL ekstrak cair antosianin ditambahkan 3-5 tetes HCl 2 M kemudian dipanaskan 100°C selama 5 menit. Selain itu, dapat dilakukan juga 3 mL ekstrak cair antosianin ditambahkan NaOH 2M tetes

demis setetes ditunggu hingga 1 menit sambil diamati perubahan warna yang terjadi.

2.5 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Diambil 1 mL dari masing-masing ekstrak cair hasil maserasi dilarutkan dalam pelarut yang digunakan saat maserasi hingga menjadi 5 mL, selanjutnya absorbansi diukur pada panjang gelombang 400-700 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

2.6 Penentuan Kadar Total Antosianin Dengan Metode Perbedaan pH

Perhitungan kadar total antosianin dilakukan menurut Giusti dan Wrolstad [4] dengan menggunakan metode perbedaan pH. Masing-masing sampel diambil 1 mL dan dilarutkan ke dalam larutan dapar pH 1 dan larutan dapar pH 4,5 hingga 10 mL, sehingga didapatkan sampel dengan faktor pengenceran 10x. Sampel yang dilarutkan menggunakan larutan dapar pH 1 dibiarkan selama 15 menit sebelum diukur, sedangkan untuk sampel yang dilarutkan dengan larutan dapar pH 4,5 siap diukur setelah dibiarkan bercampur selama 5 menit. Absorbansi dari setiap larutan pada panjang gelombang 510 dan 700 nm diukur dengan larutan dapar pH 1 dan pH 4,5 sebagai blankonya. Panjang gelombang 510 nm adalah panjang gelombang maksimum untuk sianidin-3-glukosida sedangkan panjang gelombang 700 nm untuk mengoreksi endapan yang masih terdapat pada sampel. Absorbansi dari sampel yang telah dilarutkan (A) ditentukan dengan persamaan 1. Sedangkan kadar total antosianin pada sampel dihitung dengan persamaan 2.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

Persamaan 1

$$\text{Total Antosianin (mg/200g)} = \frac{A \times \text{BM} \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times b}$$

Persamaan 2

Keterangan :

BM = berat molekul Sianidin-3-glukosida (449,2 g/mol)

DF = faktor pengenceran

ϵ = absorptivitas molar sianidin-3-glukosida (26.900 L/(mol.cm))

b = tebal kuvet (1 cm)

2.7 Uji Stabilitas Antosianin Terhadap Pengaruh Suhu

Dibuat suasana dengan suhu 10°C, 20°C, 30°C, 40°C, dan 50°C lalu diamati dengan mengukur suhu menggunakan termometer, lalu diambil 2 mL ekstrak cair yang memiliki kadar antosianin tertinggi yang telah dilarutkan hingga 10 mL dengan pelarut yang digunakan, lalu larutan tersebut di masukkan dalam tabung reaksi dan diberi perlakuan terhadap masing-masing suhu tersebut selama 30 menit. Setelah 30 menit perlakuan dilihat absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan.

2.8 Uji Stabilitas Antosianin Terhadap Pengaruh pH

Diukur masing-masing larutan dapar yang telah dibuat dengan mengukur pH yang tercipta menggunakan alat pH meter, lalu diambil 2 mL ekstrak cair yang memiliki kadar antosianin tertinggi dilarutkan hingga 10 mL dengan masing-masing larutan dapar pH 1, 2, 3, 4, dan 5, lalu masukkan dalam tabung reaksi dan didiamkan selama 30 menit. Setelah 30 menit perlakuan dilihat absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan.

3 Hasil dan Pembahasan

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa antosianin berupa uji warna yang menggunakan pereaksi NaOH 2M dan HCl 2M. Hasil dari uji fitokimia antosianin pada ekstrak cair kulit buah naga merah dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil yang diperoleh dari uji fitokimia antosianin pada ekstrak cair kulit buah naga merah sama dengan literatur yang digunakan yaitu menurut Harborne [5] jika sampel positif antosianin ditandai apabila ditetesi HCl 2M dan dipanaskan 100°C selama 5 menit maka warna tetap atau tidak pudar dan apabila sampel ditetesi dengan NaOH 2M tetes demi tetes maka terjadi perubahan warna awal yang menjadi hijau kebiruan, sehingga pada sampel ekstrak cair kulit buah naga merah dengan perbedaan pelarut yang digunakan positif menandakan adanya senyawa antosianin.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Antosianin Ekstrak Kulit Buah Naga Merah

Uji	Hasil				Keterangan
	Aquades	Aquades:Asam Asetat 10% (1:6)	Aquades:Asam Sitrat 10% (1:6)		
Ditetesi 3-5 tetes HCl 2M dan dipanaskan 100°C selama 5 menit)	Warna tetap atau tidak pudar	Warna tetap atau pudar	Warna tetap tidak pudar	Warna tetap tidak pudar	Positif
Ditetesi NaOH 2M tetes demi tetes (didiamkan 1 menit).	Warna berubah menjadi hijau kebiruan	Warna berubah menjadi kebiruan	Warna berubah menjadi hijau kebiruan	Warna berubah menjadi kebiruan	Positif

Hasil pengukuran penentuan Panjang gelombang maksimum menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 400-700 nm dapat dilihat dari Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{max})

λ (nm)	Jenis Pelarut		
	Aquades	Aquades:Asam Asetat 10% (1:6)	Aquades:Asam Sitrat 10% (1:6)
400	0,344	0,198	0,288
515	0,451	0,259	0,487
517	0,461	0,265	0,492
519	0,471	0,272	0,498
521	0,481	0,279	0,503
523	0,491	0,286	0,508
525	0,501	0,293	0,511
527	0,509	0,301	0,515
529	0,517	0,306	0,517
531	0,484	0,247	0,493
533	0,487	0,245	0,492
535	0,489	0,244	0,489
537	0,490	0,241	0,486
539	0,491	0,238	0,481
700	-0,003	-0,046	0,038

Dari Tabel 2 dapat dilihat panjang gelombang maksimum (λ_{max}) antosianin dari kulit buah naga merah yaitu 529 nm. Hasil panjang gelombang maksimum (λ_{max}) penelitian yang didapat ini masih berada di sekitar λ_{max} dari literatur yang digunakan bahwa karakteristik panjang gelombang maksimum antosianin memiliki range daerah spektrum sinar tampak pada 505-535 nm [5]. Hasil penentuan kadar total Antosianin menunjukkan bahwa penggunaan pelarut

aquades:asam sitrat 10% (1:6) menghasilkan kadar total antosianin tertinggi dibandingkan dengan pelarut aquades dan aquades:asam asetat 10% (1:6). Data hasil penentuan kadar total antosianin dapat dilihat pada Tabel 3.

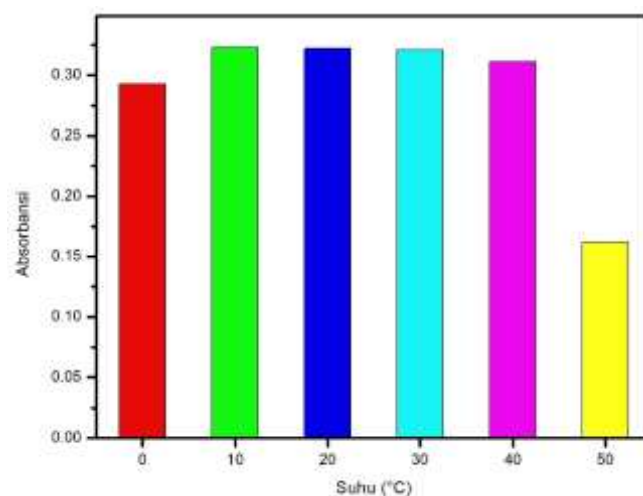
Tabel 3. Hasil Kadar Total Antosianin Ekstrak Kulit Buah Naga Merah

Pelarut	Kadar Total Antosianin (mg/200 mg)
Aquades	17,366
Aquades : Asam Asetat 10% (1:6)	12,69
Aquades : Asam Sitrat 10% (1:6)	18,034

Perbedaan total antosianin yang dihasilkan untuk setiap pelarut dengan penambahan jenis asam organik diduga berkaitan erat dengan perbedaan tetapan disosiasi dari masing-masing jenis asam. Asam sitrat memiliki tetapan disosiasi yang lebih besar dibandingkan dengan asam asetat. Tetapan disosiasi untuk asam sitrat dan asam asetat berturut-turut adalah $7,21 \times 10^{-4}$ dan $1,75 \times 10^{-5}$ [11]. Semakin besar tetapan disosiasi semakin kuat suatu asam karena semakin besar jumlah ion hidrogen yang dilepaskan ke dalam larutan. Keadaan yang semakin asam apalagi mendekati pH 1 akan menyebabkan menyebabkan pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavilium atau oxonium yang berwarna dan pengukuran absorbansi akan menunjukkan jumlah antosianin yang semakin besar dan menyebabkan dinding sel vakuola yang pecah sehingga semakin banyak antosianin yang terekstrak [3]. Pada pelarut aquades mendapatkan kadar total tertinggi pada urutan kedua, hal ini mungkin disebabkan karena pigmen antosianin memiliki kepolaran yang relatif sama dengan aquades yaitu sama-sama larutan polar. Antosianin dalam sel tumbuhan terletak dalam vakuola sebagai larutan seperti air (*aqueous solution*), sehingga kemungkinan besar antosianin bersifat polar [2].

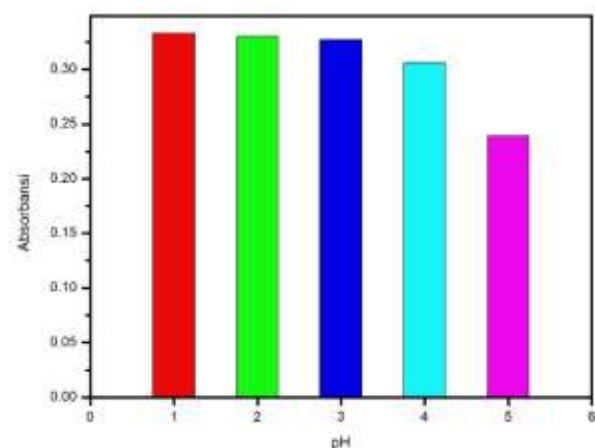
Hasil pengujian uji stabilitas antosianin terhadap suhu selama 30 menit dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan pada Gambar 1 menunjukkan absorbansi antosianin yang diukur pada panjang gelombang 529 nm stabil pada suhu 10°C, 20°C, dan 30°C. Pada suhu 0°C dan 40°C terjadi penurunan absorbansi, akan

tetapi penurunan absorbansi tersebut secara visual tidak mempengaruhi terjadinya perubahan pigmen warna pada ekstrak. Pada suhu 50°C terjadi penurunan absorbansi yang signifikan dan secara visual warna pada ekstrak terjadi pemucatan. Berdasarkan hal ini dapat dilihat bahwa semakin tinggi suhu maka semakin menurun hasil absorbansi yang dihasilkan yang menandakan antosianin tidak stabil pada suhu yang semakin tinggi. Hal ini mungkin disebabkan karena pada suhu yang tinggi, antosianin mengalami dekomposisi sehingga semakin banyak warna yang terdegradasi maka nilai absorbansi akan semakin rendah. Hal ini diperkuat dengan Markakis [7] yang menyatakan bahwa menurunnya stabilitas warna karena suhu yang tinggi disebabkan karena terjadinya dekomposisi antosianin dari bentuk aglikon menjadi kalkon (tidak berwarna). Antosianin stabil jika disimpan pada suhu 4-25°C dalam kondisi minim cahaya [10].



Gambar 1. Hasil Uji Stabilitas Antosianin Terhadap Suhu

Hasil pengujian uji stabilitas antosianin terhadap pH selama 30 menit dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Uji Stabilitas Antosianin Terhadap pH

Berdasarkan pada Gambar 2 menunjukkan absorbansi antosianin yang diukur pada panjang gelombang 529 nm stabil pada pH 1, 2 dan 3, walaupun pada pH 2 dan pH 3 mengalami penurunan absorbansi tetapi tidak terlalu signifikan. Namun pada pH 4 dan pH 5 nilai absorbansi mengalami perubahan secara tajam yang menandakan bahwa semakin tinggi pH yang diberikan semakin tidak stabil kadar antosianinnya atau semakin tinggi degradasi antosianin dari kulit buah naga merah. Hal ini terjadi juga pada penelitian Sampebarra [8] dimana terjadi perubahan nilai absorbansi dari ekstrak pada pH 2 dan pH 3 kurang signifikan namun pada pH 4 nilai absorbansi mengalami perubahan secara tajam. Pada pH rendah antosianin berubah menjadi kation flavinium yang berwarna merah. Semakin tinggi pH maka warna dari pigmen antosianin akan berubah menjadi senyawa kalkon yang tidak berwarna [9].

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa didalam ekstrak cair kulit buah naga merah terdapat senyawa antosianin dengan penggunaan pelarut aquades:asam sitrat 10% (1:6) menghasilkan kadar total antosianin tertinggi dengan kadar total 18,034/200 mg. Uji stabilitas antosianin dari kulit buah naga merah terhadap pengaruh suhu dan pH menghasilkan bahwa antosianin stabil pada suhu 10°C, 20°C, 30°C dan pada pH 1, 2, dan 3.

5 Kontribusi Penulis

Gusti Alamsyah Abdil Almajid berkontribusi dalam merancang metode, melaksanakan penelitian, menganalisis data hasil penelitian dan menyiapkan draft manuskrip. Rolan Rusli dan Mukti Priastomo berkontribusi dalam pengarah, pembimbing, serta penyelaras akhir manuskrip.

6 Konflik Kepentingan

Seluruh penulis menyatakan tidak ada konflik dari penelitian, penyusunan, dan publikasi artikel ilmiah ini.

7 Daftar Pustaka

- [1] Arivani, S. 2010. Total Antosianin Ekstrak Buah Salam dan Korelasinya dengan Kapasitas Anti Peroksidasi pada Sistem Linoleat. *Agrointek*, 4 (2): 121-127.
- [2] Brouillard, R. 1982. *Chemical Structure of Anthocyanins. di dalam Anthocyanins as Food Colors*. New York: Academic Press: New York.
- [3] Fennema, O. R. 1996. *Food Chemistry thrid edition*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- [4] Giusti, M. Mónica dan Wrolstad, Ronald E. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*.
- [5] Harbone, J. B. 1996. *Metode Fitokimia : Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan Terbitan Kedua*. Bandung: Penerbit ITB
- [6] Kwartiningsih, E., Evtasari, R.T., Hasanah, M., Nandini, P., dan Muzayanha, S.U. 2013. Ekstraksi dan Uji Stabilitas Antosianin dari Bunga Pukul Empat (*Mirabilis jalapa L.*). *Simposium Nasional RAPI XII FT UMS*.
- [7] Markakis, P. 1982. *Anthocyanin as food colors*. New york : Academic Press.
- [8] Sampebarra, A.L. 2018. Karakteristik Zat Warna Antosianin Dari Biji Kakao Non Fermentasi Sebagai Sumber Zat Warna Alam. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 13(1), 63.
- [9] Tensiska., Sukarminah, E., Natalia, D. 2007. Ekstraksi Pewarna Alami Dari Buah Arben (*Rubus Idaeus* Linn.) dan Aplikasinya Pada Sistem Pangan. *Jurnal Teknol, dan Industri Pangan*, Vol. XVIII No. 1.
- [10] Vargas, M.L., Cortez, J.A.T., Duch, E.S., Lizama1, A.P. dan Méndez, C.H.H. 2013. Extraction and Stability of Anthocyanins Present in the Skin of the Dragon Fruit (*Hylocereus undatus*). *Food and Nutrition Sciences*, Volume 4. 1221-1228.

- [11] Vogel, A. I. 1985. *Buku Teks Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro, Edisi ke-5, Bagian II*. Jakarta: PT. Kalman Media Pusaka.