

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Penggunaan pewarna makanan yang bersumber dari bahan alami sudah sejak lama digunakan, namun dengan ditemukannya pewarna sintetis yang relatif mudah diproduksi dan memiliki stabilitas lebih baik, pewarna makanan alami mulai ditinggalkan. Namun ternyata penggunaan pewarna sintetis pada makanan maupun minuman berdampak negatif bagi kesehatan manusia yaitu dapat menyebabkan keracunan dan bersifat karsinogenik (Jenie *et al.*, 1994). Oleh karena itu, upaya untuk mendapatkan sumber zat pewarna yang aman seperti pewarna alami perlu dilanjutkan. Sudah banyak penelitian yang dilakukan untuk mencari sumber bahan alam yang berpotensi sebagai pewarna alami, antara lain adalah ekstrak antosianin dari katul beras ketan hitam (Hanum, 2000), ekstrak bunga rosella (Khusna, 2009) dan kulit terung ungu (Diniyah *et al.*, 2010). Semua potensi sumber antosianin tersebut masih dalam tahap penelitian, yang meliputi perubahan stabilitas antosianin karena pengaruh faktor internal dan faktor eksternal.

Salah satu sumber antosianin yang berpotensi untuk dikembangkan adalah Terung Belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn) yang daging buahnya sudah dimanfaatkan untuk dimakan sebagai buah segar, bumbu masak, sayuran dan

minuman, sedangkan kulit buah dan biji berupa limbah pengolahan belum dimanfaatkan. Terung Belanda dilaporkan banyak mengandung antosianin yang memberikan warna merah keunguan pada kulit dan daging buah. Antosianin kulit terung Belanda tergolong ke dalam bentuk sianidin-3-rutinosida yang menunjukkan selang warna mulai dari merah, biru dan ungu (Wrolstad dan Heatherbell, 1974; Diniyah *et al.*, 2010). Potensi antosianin hasil ekstrak dari beberapa jenis terung sebagai pewarna alami sudah diteliti, baik sebagai pewarna makanan (Diniyah *et al.*, 2010) maupun sebagai pewarna non pangan (Subodro dan Sunaryo, 2013).

Antosianin merupakan hasil glikosilasi polihidroksi dan atau turunan polimetoksi dari garam 2-benzopirilium atau dikenal dengan struktur flavilium (antosianidin) (Brouillard, 1982). Struktur antosianidin berupa kation flavilium yang reaktif tersebut menyebabkan antosianin menjadi tidak stabil selama pengolahan dan penyimpanan (Rein, 2005; Kopjar dan Pilizota, 2009). Oleh karena itu, upaya untuk menstabilkan molekul antosianin yang diharapkan dapat berdampak pada stabilitas warna antosianin sangat penting untuk mempertahankan kualitas warna yang diharapkan.

Rein (2005) dan Kopjar dan Pilizota (2009) melaporkan bahwa stabilitas antosianin dapat ditingkatkan dengan cara kopigmentasi. Kopigmentasi adalah reaksi langsung antara molekul antosianin dengan senyawa lain (disebut kopigmen) atau melalui suatu interaksi lemah (hidrofobik atau ikatan hidrogen) membentuk kompleks intermolekuler antara kopigmen dengan antosianin menghasilkan warna yang lebih kuat, lebih terang dan lebih stabil (Tallcot *et al.*, 2003). Senyawa kopigmen antara lain berasal dari golongan flavonoid, yaitu

monomer flavanol (katekin dan epikatekin), oligomer (proantosianidin), polimer (tanin), fenolik (katekol dan metil katekol), golongan asam organik (kafeat, ferulat, klorogenat, tannat, dan asam galat), logam dan molekul antosianin itu sendiri (Mazza dan Brouillard, 1990; Bakowska *et.al.*, 2003; Kopjar dan Pilizota, 2009).

Beberapa penelitian menemukan bahwa efektivitas kopigmentasi dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi kopigmen yang ditambahkan pada ekstrak antosianin. Struktur antosianidin juga dilaporkan berpengaruh nyata terhadap efektivitas kopigmentasi intramolekular ekstrak antosianin (Mazzaracchio *et al.*, 2004 dalam Kopjar dan Pilizota, 2009). Schwarz *et al.* (2005) melaporkan bahwa penambahan senyawa flavanol (*rutin*) pada anggur merah terfermentasi mampu meningkatkan absorbansi warna pada  $\lambda$ 520 nm dan pH 3,5 (hiperkromik), tetapi sebaliknya penambahan asam kumarat dan asam kafeat menunjukkan pengaruh terhadap penurunan warna (hipokromik). Eiro dan Heinonen (2002), Brenes *et al.* (2005), dan Talcott *et al.* (2007) melaporkan bahwa penambahan ekstrak polifenol dari *rosemary* dan *thyme* sebagai kopigmen ke dalam jus buah anggur dapat meningkatkan stabilitas antosianin selama 15 hari sampai 19 hari penyimpanan.

Efek kopigmentasi akan teramati dan efektif jika konsentrasi antosianin lebih besar dari 35  $\mu$ M dan konsentrasi kopigmen lebih besar dibandingkan konsentrasi antosianin (Asen *et.al.*, 1972; Scheffeldt dan Hrazdina 1978). Boulton (2001) menunjukkan bahwa pada rasio molar antosianin terhadap kopigmen K=1 menghasilkan peningkatan warna yang rendah karena kopigmen yang digunakan terlalu terbatas sehingga kopigmentasi tidak efektif. Pada rasio molar lebih tinggi

K=10 sampai K=100 menghasilkan respon yang kuat terhadap kopigmentasi. Sedangkan pada rasio mol tinggi K=1000 selain penggunaan kopigmen yang tidak efisien juga menghasilkan respon yang lemah terhadap kopigmentasi. Hasil penelitian kopigmentasi ekstrak antosianin pada *red currant juice* menunjukkan bahwa jenis kopigmen dan rasio molar kopigmen terhadap antosianin 50:1 dan 100:1 selama 15 dan 30 hari penyimpanan pada suhu 4°C berpengaruh terhadap stabilitas antosianin (Kopjar dan Pilizota, 2009).

Penelitian kopigmentasi umumnya menggunakan senyawa kimia sintetis yang penggunaannya dalam produk makanan atau minuman kurang aplikatif dan masih perlu diteliti lebih lanjut (Castaneda *et al.*, 2009). Penelitian kopigmentasi dengan senyawa sintetis dilakukan untuk mencari senyawa yang berpotensi sebagai kopigmen dan pada penerapannya nanti, dicari ekstrak alami yang banyak mengandung senyawa tersebut. Katekol dan tanin merupakan senyawa yang berpotensi sebagai kopigmen karena banyak ditemukan di alam, seperti pada kulit kayu dan kulit buah-buahan yang merupakan limbah pengolahan pangan dan berpotensi untuk dimanfaatkan. Oleh karena itu, penelitian ini akan mempelajari pengaruh jenis kopigmen (katekol dan tanin) dan rasio molar kopigmen terhadap antosianin pada reaksi kopigmentasi terhadap stabilitas warna ekstrak antosianin kulit terung Belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn) selama penyimpanan.

## **B. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Menentukan rasio molar kopigmen (katekol atau tanin) terhadap antosianin terbaik, yang dapat menstabilkan warna ekstrak antosianin kulit terung Belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn) selama penyimpanan.
2. Menentukan jenis kopigmen (katekol atau tanin) pada rasio molar terbaik, yang dapat menstabilkan warna ekstrak antosianin kulit terung Belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn) selama penyimpanan.

## **C. Kerangka Pemikiran**

Masalah utama dari antosianin sebagai pewarna adalah struktur kimia antosianin yang memiliki kestabilan rendah. Antosianin tidak stabil dan reaktif karena adanya gugus hidroksil dan inti kation flavilium yang reaktif sehingga mudah dipengaruhi oleh kondisi lingkungan (Jackman dan Smith, 1996). Ikatan rangkap konjugasi yang terdapat pada cincin aromatik antosianidin menyerap warna pada panjang gelombang 505-535 nm dan memberikan warna merah. Selain itu ikatan rangkap juga menyebabkan antosianin reaktif akibat kekurangan elektron yang menyebabkan antosianin mudah terdegradasi oleh pengaruh faktor internal maupun eksternal (Markham, 1988). Sifat reaktif antosianin mengakibatkan terjadinya reaksi degradasi yang mempengaruhi stabilitas warna antosianin

Molekul antosianin, baik dalam bentuk ekstrak maupun dalam bentuk jus buah dapat bereaksi dengan molekul lain dalam bentuk senyawa kopigmen (isolat murni atau dalam bentuk ekstrak tanaman yang mengandung senyawa antosianin

dan atau kopigmen). Reaksi yang terjadi dapat membentuk ikatan maupun melalui interaksi lemah menghasilkan warna yang lebih kuat dan stabil (Rein, 2005). Schwarz *et al.* (2005) dan Kopjar dan Pilizota (2009) melaporkan bahwa reaksi kopigmentasi dengan senyawa kopigmen atau antosianin sendiri dapat melalui ikatan intermolekul, antarmolekul atau ikatan dengan kofaktor logam. Kopigmentasi ini mampu menstabilkan molekul antosianin dan memperkuat warna antosianin. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan kopigmentasi pada antosianin antara lain struktur dan konsentrasi antosianin, jenis kopigmen yang sesuai serta rasio molar kopigmen terhadap molar antosianinnya (Boulton, 2001). Oleh karena itu, banyak penelitian yang mengkombinasikan pengaruh jenis kopigmen dengan rasio molar kopigmen terhadap antosianinnya.

Jenis kopigmen yang sesuai dengan struktur kimia antosianin akan mampu membentuk ikatan atau kompleks kopigmentasi antara inti kation flavilium yang kekurangan elektron dengan elektron bebas dari kopigmen, sehingga terjadi kesetimbangan elektron yang menghambat laju degradasi antosianin (Castaneda *et al.*, 2009). Senyawa kopigmen katekol dan tanin memiliki gugus hidroksil yang kelebihan elektron sehingga cenderung menyumbangkan elektronnya pada kation flavilium yang kekurangan elektron pada molekul antosianin, membentuk ikatan antosianin terkopigmentasi. Oleh karena itu, kopigmentasi antosianin ekstrak kulit terung Belanda dengan katekol atau tanin tergolong ke dalam kopigmentasi intermolekul.

Rasio molar kopigmen terhadap antosianin merupakan salah satu faktor penting pada reaksi kopigmentasi. Penambahan senyawa kopigmen dengan rasio yang

berbeda mempengaruhi konsentrasi antosianin dan retensi warna (Kopjar dan Pilizota, 2009). Rasio yang terlalu rendah menyebabkan pembentukan ikatan yang sangat lemah sehingga kompleks kopigmen dengan antosianin tidak stabil, Sebaliknya rasio yang terlalu besar selain membentuk kompleks kopigmen dengan antosianin yang tidak stabil karena berada dalam lingkungan yang kelebihan elektron bebas, juga tidak efisien. Oleh karena itu, pada penelitian ini diharapkan akan diperoleh kondisi optimal kopigmentasi antosianin kulit terung Belanda, baik jenis kopigmen maupun ratio molar kopigmen terhadap antosianin yang mampu menstabilkan warna antosianin selama penyimpanan pada suhu kamar dan terpapar pada cahaya.

#### **D. Hipotesis**

1. Terdapat rasio molar kopigmen terhadap antosianin terbaik untuk setiap jenis kopigmen (katekol atau tanin), yang dapat menstabilkan warna ekstrak antosianin kulit terung Belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn) selama penyimpanan.
2. Terdapat jenis kopigmen (katekol atau tanin) dengan rasio molar kopigmen terhadap antosianin terbaik, yang menstabilkan warna ekstrak antosianin kulit terung Belanda (*Cyphomandra betacea* Sendtn) selama penyimpanan.