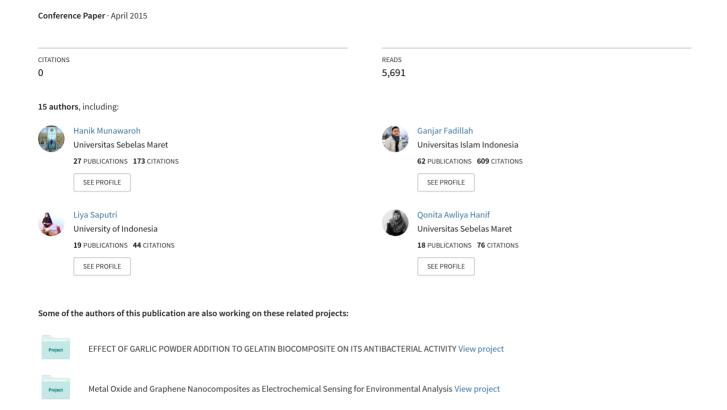
KOPIGMENTASI DAN UJI STABILITAS WARNA ANTOSIANIN DARI ISOLASI KULIT MANGGIS (Garcinia mangostana L.)



KOPIGMENTASI DAN UJI STABILITAS WARNA ANTOSIANIN DARI ISOLASI KULIT MANGGIS (Garcinia mangostana L.)

Hanik Munawaroh, Ganjar Fadillah, Liya Nikmatul Maula Zulfa Saputri, Qonita Awliya Hanif, Rahmat Hidayat, Sayekti Wahyuningsih*

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret *email: sayekti@mipa.uns.ac.id

ABSTRAK. Telah dilakukan uji stabilitas warna antosianin dari isolasi kulit buah manggis (Garcinia mangostana L.) menggunakan metode kopigmentasi. Kopigmentasi dilakukan dengan kopigmen asam askorbat yang divariasikan terhadap suhu. Kopigmentasi dilakukan untuk meningkatkan stabilitas warna dari antosianin dengan pembentukan ikatan stabil dengan antosianin. Antosianin dari kulit buah manggis diisolasi dengan tahapan tahapan : maserasi, ekstraksi, dan kromatografi lapis tipis (KLT). Ekstrak yang telah diperoleh dari tahapan awal maserasi kemudian dipisah menjadi beberapa fraksi dengan metode kromatografi untuk mengisolasikan fraksi yang berwarna merah pekat. Identifikasi senyawa kimia dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) ini mampu membedakan fraksi antosianin yang dihasilkan. Analisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang dilakukan menghasilkan nilai absorbansi yang menggambarkan intensitas warna antosianin yang berbeda untuk pH yang berbeda. Kopigmentasi yang dilakukan dengan penambahan asam askorbat pada 1:1; 1:2 dan 1:3 dengan uji stabilitas warna pada suhu 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C menunjukkan peningkatan stabilitas yang signifikan. Kopigmentasi menggunakan asam askorbat dapat meningkatkan % retensi warna dari antosianin jika dibandingkan dengan antosianin tunggal (kontrol). Dengan demikian penambahan asam askorbat sebagai senyawa kopigmen dapat membantu mempertahankan retensi warna antosianin kulit manggis terhadap peningkatan suhu pemanasan.

Kata Kunci: antosianin, Garcinia Mangostana, kopigmentasi, stabilitas warna

1. PENDAHULUAN

Antosianin merupakan pigmen alami yang banyak ditemui pada tanaman yang berwarna merah dan ungu. Antosianin dapat diperoleh dari kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana* L.) sebagai pigmen atau pewarna merah alami. Pigmen antosianin memberikan warna merah yang kuat dan tajam dan banyak diaplikasikan dalam berbagai industri seperti pewarna makanan maupun minuman bahkan hingga pewarna di dalam DSSC (*Dye Sensitized Solar Cell*). Namun, antosianin memiliki kelemahan, terutama dalam hal kestabilan warna. Warna merah dari antosianin sangat mudah terdegradasi salah satunya oleh peningkatan suhu maupun cahaya.

Perlakuan panas dapat menyebabkan kesetimbangan antosianin cenderung menuju bentuk yang tidak berwarna, yaitu basa karbinol dan kalkon. Kerusakan akibat pemanasan ini dapat terjadi melalui dua tahap. Pertama hidrolisis terjadi pada ikatan glikosidik antosianin sehingga menghasilkan aglikon – aglikon yang tidak stabil. Kedua cincin aglikon terbuka membentuk gugus karbinol dan kalkon. Degradasi ini dapat terjadi lebih lanjut jika terdapat oksidator sehingga terbentuk senyawa yang berwarna coklat.

Upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kestabilan warna merah dari antosianin adalah dengan kopigmentasi. Kopigmentasi merupakan interaksi antara struktur antosianin dengan molekul lain seperti logam (Al³+, Fe³+, Sn²+, Cu²+) dan molekul organik lain seperti senyawa falvanoid (flavon, flavonon, flavonol), dan sebagainya. Adanya kopigmentasi antara antosianin dengan logam molekul organik lain cenderung meningkatkan stabilitas warna antosianin dan menghasilkan warna yang lebih terang dan terlindung dari oksidasi (Boulton, 2001). Hal ini terjadi karena adanya interaksi antara struktur antosianin dengan molekul lain yang disebut dengan senyawa kopigmen, yaitu flavonoid (flavon dan flavonol) dan polifenol lain (asam fenolik), alkaloid (kafein), asam amino, asam organik, nukleotida, polisakarida, logam (Al³+, Fe³+, Sn²+, Cu²+), dan bahkan antosianin itu sendiri. Interaksi komponen komponen tersebut dapat terjadi melalui *intermolecular copigmentation*, *intramolecular copigmentation*, *metal complexation*, atau *self association*.

Dalam penelitian ini kopigmentasi dilakukan dengan kombinasi antosianin dari ekstrak kulit manggis dengan asam askorbat terhadap variasi suhu. Asam askorbat digunakan karena mudah didapat, harga yang murah dan mudah menempel dengan antosianin membentuk kompleks antosianin. Pada penelitian ini telah dilakukan identifikasi jenis senyawa antosianin yang telah diisolasi dari kulit buah manggis, melakukan pengukuran karakter absorbsi pada berbagai pH, selanjutnya mengkaji pengaruh proses kopigmentasi dengan mengukur intensitas dan panjang gelombang antosianin setelah penambahan kombinasi kopigmen asam askorbat dengan variasi suhu. Sample pembanding sebagai kontrol digunakan variabel ekstrak antosianin tak terkopigmentasi.

2. METODOLOGI

2.1 Metode Isolasi

Preparasi dan ekstraksi sampel

Kulit buah manggis segar dikeringkan dengan dijemur dibawah sinar matahari. Kemudian bahan yang sudah kering kering dibuat serbuk. Serbuk kering kulit buah manggis dimaserasi dengan pelarut etanol teknis 96% dan HCl 1 M dengan perbandingan 4:1 selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan penyaring buchner untuk memisahkan ekstrak etanol dengan residu. Filtrat hasil penyaringan (ekstrak encer) dievaporasi dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak kemudian dilakukan karakterisasi menggunakan spektrum UV-Vis dan kromatografi lapis tipis (KLT).

2.2 Metode kopigmentasi

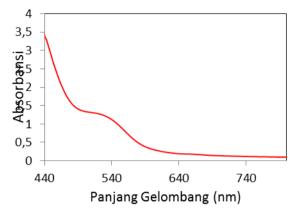
Pada tahap ini antosianin dari kulit buah manggis yang telah diperoleh dilarutkan menggunakan ethanol teknis. Kemudian ditambahkan kopigmen asam askorbat dengan perbandingan konsentrasi 1:0; 1:1; 1:2 dan 1:3 (w/w) dalam pelarut etanol. Kemudian pada setiap perbandingan dilakukan variasi suhu yaitu pada 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C. Selanjutnya dilakukan uji pengaruh suhu terhadap stabilitas warna antosianin menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 520 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Menurut Harbone (1987), ekstraksi adalah proses penarikan komponen/zat aktif suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar. Ekstraksi antosianin biasanya dilakukan dengan menggunakan air, air yang mengandung SO₂, dan alkohol yang diasamkan (Markakis, 1982). Ekstraksi antosianin dari kulit buah manggis pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pelarut ethanol teknis 96% dan HCl dengan perbandingan 4:1. Menurut Timberlake dan Bridle (1966), antosianin merupakan komponen yang bersifat polar sehingga akan lebih mudah larut dalam pelarut yang bersifat polar juga. Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan proses maserasi sehingga diperoleh filtrat (ekstrak cair antosianin).

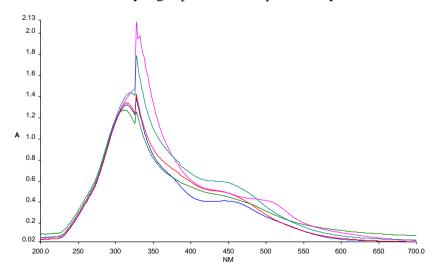
Setelah diperoleh ekstrak antosianin dari kulit manggis, selanjutnya dilakukan karakterisasi terhadap ekstrak antosianin yang diperoleh, yaitu pengukuran spektrum elektronik

dari ekstrak hasil maserasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada daerah visible 400 – 900 nm. Dari hasil pengujian diperoleh spektrum antosianin hasil isolasi kulit manggis pada gambar 1.



Gambar 1. Spektrum antosianin hasil isolasi dari kulit manggis

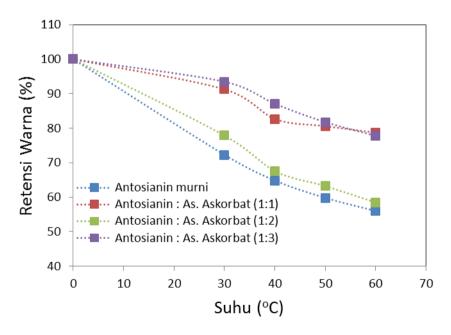
Spektrum elektronik antosianin pada gambar 1 menunjukkan puncak serapan antosianin pada 520 nm. Puncak pada daerah panjang gelombang 320 nm, 340 nm dan 450 - 520 nm menunjukkan ciri dari senyawa antosianin. Pengaruh pH pada ekstak antosianin ditunjukkan pada Gambar 2 yang merupakan Spektra UV Vis yang diukur pada rentang pH asam sampai basa. Kencenderungan serapan adalah semakin pH meningkat, serapan antosianin memiliki puncak puncak serapan yang bergeser ke arah panjang gelombang lebih besar. Menurut Wiwin (2010) pengukuran spektrum pada panjang gelombang 200 - 600 nm juga dihasilkan puncak pada panjang gelombang 279 nm, 317 nm dan 525 nm. Sehingga dapat disimpulkan dari hasil uji spektrum elektronik ekstrak yang diperoleh merupakan senyawa antosianin.



Gambar 2. Spektrum standart dari antosianin pada pH 1, pH 3, pH 5, Ph 7, dan pH 9.

Selain uji spektrum elektronik juga dilakukan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk mengetahui pola pemisahan dan kemurnian senyawa dalam ekstrak yang diperoleh. Eluen yang digunakan adalah Butanol: Asam asetat: Air dengan perbandingan 4:1:5. Hasil pengujian diperoleh nilai Rf 0,255. Menurut Harborn (1987), nilai Rf dari antosianin sekitar 0,1 – 0,4. Sehingga dari pengujian ini nilai Rf mendekati Rf antosianin standar.

Antosianin dilihat dari penampakan berwarna merah, merah senduduk, ungu dan biru mempunyai panjang gelombang maksimum 515-545 nm (Harborne, 1996). Namun, warna merah dari antosianin sangat mudah terdegradasi, baik oleh peningkatan pH, peningkatan suhu, maupun cahaya. Oleh karena itu dilakukan pengujian stabilitas warna antosianin, salah satunya dengan penambahan kopigmen asam askorbat yang divariasikan terhadap suhu. Uji stabilitas warna antosianin kulit manggis dilakukan dengan penambahan kopigmen asam askorbat dengan perbandingan massa antosianin:asam askorbat 1:1, 1:2 dan 1:3 dengan variasi suhu pemanasan 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C. Gambar 3 menunjukkan hasil uji stabilitas warna antosianin terkopigmentasi terhadap pengaruh suhu pemanasan.



Gambar 3. Hasil uji stabilitas warna antosianin terkopigmentasi terhadap pengaruh suhu pemanasan

Peningkatan absorbansi pada ekstrak kopigmentasi antosianin-*asam askorbat* terjadi seiring dengan peningkatan perbandingan massa asam askorbat yang ditambahkan. Pada ekstrak dengan kopigmentasi antosianin-*asam askorbat* 1:3 mempunyai nilai absorbansi yang paling besar dibandingkan eksktrak dengan kopigmentasi antosianin-asam askorbat 1:1 dan 1:2. Namun pada penelitian ini terdapat penyimpangan yaitu pada perbandingan 1:2 diperoleh grafik yang menyimpang. Hal ini mungkin dikarenakan terjadinya degradasi antosianin dengan cepat karena pengaruh suhu pemanasan sehingga hasilnya tidak sesuai. Suhu pemanasan yang relatif tinggi dapat merusak struktur antosianin yang berpengaruh terhadap warna ekstrak antosianin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan suhu pemanasan menyebabkan penurunan nilai retensi warna pada ekstrak yang diperoleh.

Nilai retensi warna ekstrak antosianin semakin menurun seiring dengan semakin meningkatnya suhu pemanasan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi suhu pemanasan, laju degradasi antosianin kulit manggis akibat proses pemanasan akan berlangsung semakin cepat, yang berakibat pada penurunan stabilitas warna ekstrak antosianin. Berdasarkan kurva retensi warna ekstrak antosianin di atas (Gambar 3) dapat dilihat bahwa, semakin tinggi suhu pemanasan, maka kurva retensi warna yang terbentuk akan semakin curam. Semakin curam kurva yang terbentuk, maka stabilitas warna ekstrak antosianin terhadap degradasi akibat proses pemanasan semakin rendah.

Markakis (1982) mengemukakan bahwa penurunan stabilitas warna akibat peningkatan suhu ini disebabkan oleh dekomposisi antosianin dari bentuk aglikon menjadi kalkon yang tidak berwarna dan akhirnya membentuk alfa diketon yang berwarna coklat. Selain itu, menurut Elbe dan Schwartz (1996), panas mampu mengubah kesetimbangan antosianin terhadap kalkon yang tidak berwarna (Gambar 4). Brouillard (1982) juga menyatakan bahwa temperatur yang tinggi dapat mengubah kation flavilium menjadi kalkon. Setelah cincin pirilium terbuka, degradasi akan berlanjut menghasilkan alfa diketon yang berwarna coklat.

Gambar 4. Bentuk kesetimbangan antosianin

Perlakuan panas dapat menyebabkan kesetimbangan antosianin cenderung menuju bentuk yang tidak berwarna, yaitu basa karbinol dan kalkon. Kerusakan akibat pemanasan ini dapat terjadi melalui dua tahap. Pertama hidrolisis terjadi pada ikatan glikosidik antosianin sehingga menghasilkan aglikon – aglikon yang stabil. Kedua, cincin aglikon terbuka membentuk gugus karbinol dan kalkon. Degradasi ini dapat terjadi lebih lanjut jika terdapat oksidator sehingga terbentuk senyawa yang berwarna coklat. Pemanasan dapat menstimulasi pembentukan senyawa hasil degradasi antosianin seperti karbinol dan turunannya yang tidak berwarna sehingga menyebabkan terjadinya penurunan nilai retensi warna selama perlakuan pemanasan. Menurut Mazza dan Brouillard (1990), peningkatan suhu menyebabkan penguraian (disosiasi) dari molekul antosianin yang menghasilkan struktur monomer yang menyebabkan senyawa tidak berwarna. Gambar 5 menunjukkan perubahan molekul antosianin yang sudah terdegradasi oleh proses pemanasan.

Gambar 5. Degradasi antosianin monoglukosida pada pH 3,5 oleh panas (Rein, 2005).

Peningkatan suhu pemanasan dapat mengganggu proses kopigmentasi sehingga mengakibatkan degradasi kompleks antosianin-kopigmen menghasilkan senyawa seperti kalkon dan turunannya yang tidak berwarna (Cai *et al.*, 1990, Wilska-Jezka dan Korzuchowska, 1996, Satyatama, 2008). Lebih lanjut Dangles dan Brouillard (1992) menyatakan bahwa interaksi antara antosianin dan kopigmen bersifat eksotermal dan peningkatan temperatur menyebabkan degradasi kompleks kopigmentasi memberikan komponen tidak berwarna, sehingga menyebabkan kehilangan warna pada kompleks antosianin kopigmen.

4. KESIMPULAN

Stabilitas warna antosianin dapat ditingkatkan dengan adanya kopigmentasi menggunakan asam askorbat dengan perbandingan massa 1:3 sehingga diperoleh retensi warna yang maksimum. Suhu pemanasan dapat menurunkan retensi warna antosianin. Semakin tinggi suhu pemanasan maka semakin kecil stabilitas warna yang dihasilkan. Degradasi antosianin dipercepat oleh faktor suhu pemanasan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Direktorat Jenderal Pendidikan tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah mendanai Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) tahun 2015.

DAFTAR PUSTAKA

Boulton R. (2001). The Copigmentation of Anthocyanins and Its Role In The Color Of Red Wine: A Critical Review. *American Journal of Enology and Viticulture* 52(2):67-8.

- Brouillard, R. (1982). *Chemical Structure of Anthocyanins*. Academic Press. New York. Hal. 1-40.
- Catrien. (2009). Pengaruh Kopigmentasi Pewarna Alami Antosianin dari Rosela (Hibiscus sabdariffa L.) dengan Rosmarinic Acid terhadap Stabilitas Warna pada Model Minuman Ringan. Bandung: Fakultas Teknologi Pertanian, IPB
- Dangles, O., Wigand, M. C., dan Brouillard, R.. (1992). Polyphenols in plant pigmentation: the copigmentation case. Journal of Agricultural and Food. Chemistry
- Elbe, J.H. von dan S.J. Schwarstz. (1996). Colorants. Dalam *Food Chemistry*. Fennema, O.R. (Ed) 1996. Marcel and Dekker, Inc. New York.
- Francis, F. (2002). Pigment and Other Colorants. New York: Marcel Dekker Inc
- Harborne, J. B. (1987). Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.

 Bandung: Penerbit ITB
- Harborne, J.B.(1996). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Padmawiyata, K. dan Soediro, I. Bandung: ITB.
- Markakis, P. (1982). Anthocyanin as Food Colors. New York: Academic Press.
- Mazza, G., dan R. Brouillard.(1990). The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Journal of Phytochemistry*. 29: 1097–1102
- Rein, M.(2005). *Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanin*. University of Helsinki. Finland.
- Satyatama, D. I.(2008). Pengaruh Kopigmentasi Terhadap Stabilitas Warna Antosianin Buah Duwet (Syzygium cumini). Tesis: Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor
- Supiyanti, Wiwin, E. Dwi Wulansari dan L. Kusmita.(2010). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kandungan Antosianin Total Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L). *Jurnal Majalah Obat Tradisional Vol 15.* Semarang : Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi
- Timberlake, C.F. dan Bridle, P.(1980). *Anthocyanins. Dalam Development In Food Colours 1*. Walford, J (Ed). 1980. Applied Science Published Ltd, New York.