

PENAMBAHAN GULA DAPAT MENINGKATKAN STABILITAS WARNA EKSTRAK ANTOSIANIN BUAH MURBEI HITAM YANG TERPAPAR CAHAYA FLUORESENS

[Sugar Addition can Increase Color Stability of Anthocyanin Extract of Black Mulberry Fruit towards Fluorescent Light]

Erlie Giovanni Soeroso, Lydia Ninan Lestario*, dan Yohanes Martono

Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga

Diterima 06 Maret 2017 / Disetujui 16 Juni 2017

ABSTRACT

*Anthocyanins are red to purple pigments and one of potent safe and natural food colorants which possess superior antioxidant activity. However, the stability of anthocyanins depends on various factors, including structure and concentrations, pH, temperatures, light, co-pigment, ascorbic acid, enzymes, metal ions, sugars, protein, sulfur dioxide. The aims of this research were to evaluate the effects of sugar addition on the stability of anthocyanin of black mulberry under different fluorescent light intensities and to determine the appropriate concentration of sugar that could increase black mulberry (*Morus nigra* L.) anthocyanin stability. Fluorescent lamp at 3370, 4210, and 8820 lux (18, 23, and 32 watt, respectively) were used to illuminate black mulberry fruit extract (10.09 g/L) following 20, 40, 60% (w/v) of sugar addition. Determination of anthocyanin color stability in extract of black mulberry fruit was performed using degradation kinetics modeling to obtain the appropriate order. The concentration rate (k) and half life ($t_{1/2}$) were then calculated based on subsequent order. The results showed that 20% sugar addition enhance the stability of black mulberry anthocyanin extract as compared to that of control (without sugar addition) as indicated by half life increment from 170.826 to 183.733 h. On the other hand, anthocyanin stability decreased to 166.618 and 146.235 h half life with further sugar addition to 40 and 60%, respectively. Therefore, 20% sugar addition to black mulberry extract could improve its anthocyanin stability.*

Keywords: anthocyanins, black mulberry, color stability, fluorescent light, sugar addition

ABSTRAK

Antosianin merupakan pigmen bewarna merah hingga ungu yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi dan berpotensi sebagai pewarna alami makanan yang aman. Namun, stabilitas antosianin dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti struktur dan konsentrasi, pH, suhu, cahaya, ko-pigmen, oksigen, asam askorbat, enzim, ion logam, gula, protein dan sulfur dioksida. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji pengaruh penambahan gula terhadap stabilitas warna antosianin murbei hitam yang disinari dengan berbagai intensitas cahaya dan menentukan konsentrasi gula yang dapat meningkatkan stabilitas warna antosianin murbei hitam (*Morus nigra* L.). Konsentrasi gula yang digunakan yaitu: 20, 40, dan 60% (b/v); intensitas cahaya yang digunakan yaitu: 3370 (18 watt), 4210 (23 watt) and 8820 lux (32 watt) dengan sumber cahaya lampu fluoresens selama 60 jam terhadap ekstrak buah murbei hitam (10,09 g/L). Uji stabilitas warna antosianin ekstrak buah murbei hitam dilakukan menggunakan metode pemodelan kinetika degradasi untuk memperoleh orde yang sesuai. Kemudian nilai konstanta laju degradasi (k) dan nilai waktu paruh ($t_{1/2}$) dihitung berdasarkan orde yang sesuai. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan gula dengan konsentrasi 20% dapat meningkatkan stabilitas warna antosianin ekstrak murbei hitam dibandingkan kontrol (tanpa penambahan gula), terlihat dari meningkatnya waktu paruh dari 170,826 menjadi 183,733 jam; namun bila konsentrasi gula ditingkatkan menjadi 40 dan 60%, stabilitas warnanya menurun, dengan waktu paruh yaitu 166,618 dan 146,235 jam. Oleh sebab itu, penambahan gula dengan konsentrasi 20% adalah konsentrasi terbaik untuk meningkatkan stabilitas antosianin murbei hitam.

Kata kunci: antosianin, cahaya lampu fluoresens, murbei hitam, penambahan gula, stabilitas warna

*Penulis Korespondensi:
E-mail: nlestario@gmail.com ; erliengiovani95@gmail.com

PENDAHULUAN

Warna merupakan parameter penting untuk menentukan kualitas makanan dan berpengaruh pada penerimaan konsumen (Conteraz-Lopes *et al.*, 2014). Secara umum, pewarna makanan digolongkan menjadi dua yaitu pewarna alami dan pewarna sintesis. Pewarna sintesis banyak digunakan karena harganya relatif murah dan menghasilkan warna yang menarik, namun penggunaannya pada makanan dapat berbahaya bagi kesehatan (Amin *et al.*, 2010). Sedangkan, pewarna alami lebih aman digunakan pada makanan dan memiliki beragam manfaat bagi kesehatan, namun pewarna alami bersifat kurang stabil. Melihat semakin maraknya penggunaan pewarna sintesis pada makanan yang berbahaya bagi kesehatan maka perlu dicari sumber alternatif untuk pewarna alami makanan. Salah satu sumber alternatif untuk pewarna alami makanan adalah antosianin. Antosianin merupakan pigmen berwarna merah, biru, ungu yang dapat larut dalam air dan banyak terdapat dalam buah dan sayuran (Stefănut *et al.*, 2011). Antosianin diketahui dapat berfungsi sebagai antioksidan dan anti-inflamasi (Jiao *et al.*, 2012; Lohachoompol *et al.*, 2008)

Buah murbei (*Morus nigra* L.) merupakan salah satu buah yang banyak mengandung antosianin. Menurut Issa dan Aljabar (2013) kandungan flavonoid dan antosianin dalam ekstrak murbei memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi. Antosianin utama yang terdapat dalam buah murbei adalah sianidin 3-glukosida (64,13%), sianidin 3-rutinosida (35,21%), dan pelargonidin 3-glukosida (0,66%) (Stefănut *et al.*, 2011). Selain berpotensi sebagai pangan fungsional, buah murbei juga memiliki citarasa manis dan segar sehingga cocok untuk diolah menjadi jus ataupun sirup buah murbei yang memiliki warna yang menarik. Sebagai pigmen, stabilitas antosianin dipengaruhi oleh struktur dan konsentrasi, pH, suhu, cahaya, ko-pigmen, oksigen, asam askorbat, enzim, ion logam, gula, protein dan sulfur dioksida (Lestario *et al.*, 2009). Beberapa penelitian sebelumnya menyebutkan salah satu cara untuk meningkatkan stabilitas antosianin adalah dengan menambahkan gula (Nikkah *et al.*, 2007; Arslan, 2015). Nikkah *et al.* (2007) menyebutkan bahwa penambahan sukrosa (20%) pada jus stroberi dan murbei pada ruang gelap dan suhu dingin dapat meningkatkan stabilitas antosianin. Selanjutnya Arslan (2015) menemukan bahwa sukrosa (25%) merupakan agen yang paling efektif untuk mencegah degradasi antosianin ekstrak pekat buah ceri yang disimpan pada suhu penyimpanan (4, 24, dan 45°C), dibandingkan asam galat dan asam askorbat. Namun penelitian tentang pengaruh gula terhadap stabilitas antosianin yang diberi cahaya dengan intensitas yang berbeda-beda belum pernah dilakukan, terlebih terhadap antosianin buah murbei,

masih sangat terbatas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan berbagai konsentrasi gula terhadap stabilitas warna ekstrak antosianin buah murbei hitam yang diberi cahaya lampu fluoresens dengan berbagai intensitas yang berbeda, dan untuk menentukan konsentrasi gula yang dapat meningkatkan stabilitas ekstrak antosianin buah murbei hitam.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah buah murbei hitam yang dipetik dari pohon yang tumbuh di kebun di daerah Salatiga, Jawa Tengah pada tanggal 20 Oktober 2016. Sedangkan, bahan lain yang digunakan adalah sukrosa (gula pasir, Gulaku, Indonesia).

Preparasi sampel

Buah murbei matang yang telah dibekukan, dikeringkan menggunakan pengering beku (Powerday LL 1500, Thermoscientific, Republik Ceko). Kemudian sampel yang sudah kering dihaluskan menggunakan sebuah penggiling (Philips, Belanda) hingga menjadi serbuk.

Ekstraksi dan penentuan kadar antosianin total buah murbei hitam

Ekstraksi dilakukan berdasarkan metode Lestario *et al.* (2014) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 0,5000 g serbuk buah murbei kering (kadar air 14,40%) dimaserasi dengan 30 mL metanol-HCl 1% (Merck, Jerman) selama semalam pada suhu dingin. Filtrat ditampung dalam labu ukur 100 mL kemudian residu dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama (25 mL) sebanyak dua kali dan (20 mL) sebanyak satu kali, masing-masing selama 30 menit. Ekstraksi dilakukan sampai warna filtrat menjadi bening yang menandakan antosianin telah terekstrak seluruhnya. Kemudian, penentuan kadar antosianin total ekstrak buah murbei diukur berdasarkan metode perbedaan pH. Ekstrak antosianin dimasukkan kedalam dua tabung, lalu tiap tabung ditambahkan buffer KCl-HCl (pH 1) (Merck, Jerman) dan buffer NaOAc (pH 4,5) (Merck, Jerman) dengan perbandingan ekstrak terhadap buffer 1:4 (v/v). Masing-masing tabung diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS (UV mini 1240, Shimadzu, Jepang) pada panjang gelombang 510 dan 700 nm. Ekstraksi dan penentuan kadar antosianin dilakukan sebanyak tiga kali ulangan dan pengamatan dilakukan triplo. Absorbansi dari sampel yang telah dilarutkan (A) ditentukan dengan rumus:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1} - (A_{510} - A_{700})_{pH4,5}$$

Konsentrasi antosianin diukur dengan rumus $A = \epsilon \cdot L \cdot C$. A adalah absorbansi suatu spesi (se-

nyawa) pada panjang gelombang tertentu. ϵ adalah koefisien absorptivitas molekuler ($L \cdot cm^{-1} \cdot mol^{-1}$). L adalah ketebalan sel (cm) dan C adalah konsentrasi analit ($mol \cdot L^{-1}$). Konsentrasi antosianin dihitung sebagai sianidin 3-glukosida menggunakan koefisien ekstingsi molar sebesar $29,600 L \cdot cm^{-1} \cdot mol^{-1}$ dan berat molekul sebesar $448,8 g/mol$.

Optimasi pelarut asam tartarat

Optimasi pelarut asam tartarat mengacu pada penelitian Tensiska *et al.* (2007) dengan sedikit modifikasi. Seberat $1,00 g$ sampel dimaserasi dengan $30 mL$ asam tartarat $0,5; 1; 2; 3; 4$ dan 5% (Merck, Jerman) selama semalam pada suhu dingin. Residu dimaserasi kembali selama 30 menit dengan pelarut yang sama ($25 mL$) sebanyak dua kali dan ($20 mL$) sebanyak satu kali. Filtrat ditampung dan digenapkan dalam labu ukur $100 mL$. Selanjutnya kadar antosianin terekstrak di ukur menggunakan metode perbedaan pH (Lestario *et al.*, 2014) Pengamatan dilakukan triplo.

Penambahan gula pada ekstrak antosianin murbei

Penambahan gula pada ekstrak antosianin murbei mengacu pada penelitian Nikkah *et al.* (2007). Sebelum dicampurkan dengan larutan gula, pH ekstrak antosianin murbei diukur terlebih dahulu. Kemudian, ekstrak dibagi menjadi tiga bagian untuk tiap perlakuan intensitas cahaya. Kemudian tiap ekstrak ditambahkan larutan gula dengan perbandingan ekstrak antosianin dan larutan gula adalah $1:1 (v/v)$ sehingga konsentrasi gula didalam campuran menjadi $10, 20$ dan 30% . Campuran tersebut dihomogenkan dengan vortex (Scilogex MX-S, Amerika Serikat) lalu diinkubasi selama 15 menit. Setelah itu digunakan untuk pengukuran kinetika degradasi antosianin.

Pemindaian panjang gelombang maksimum campuran ekstrak murbei dengan gula

Pemindaian panjang gelombang maksimum dilakukan dengan cara memindai panjang gelombang ekstrak antosianin buah murbei yang diberi gula dengan berbagai konsentrasi pada daerah $200-700 nm$. Blanko yang digunakan adalah asam tartarat 2% (Lestario *et al.*, 2014).

Stabilitas antosianin ekstrak murbei dengan penambahan gula terhadap cahaya lampu neon

Pengukuran stabilitas antosianin ekstrak buah murbei menggunakan metode Lestario (2014) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak $6 mL$ sampel ekstrak antosianin yang diberi gula dengan berbagai konsentrasi dan juga kontrol dituang kedalam masing-masing botol vial lalu ditutup rapat. Setelah itu, sampel tersebut dikelompokkan menjadi tiga bagian untuk disinari dengan intensitas cahaya

lampu neon yang berbeda ($18, 23$ dan $32 watt$) selama 60 jam. Sampel yang sudah dikelompokkan kemudian ditempatkan dalam tiap kotak kayu berdimensi $40 \times 30 \times 55 cm$ yang masing-masing telah diberi lampu neon berbagai intensitas. Intensitas cahaya diukur terlebih dahulu menggunakan Luxmeter (LX 102 Digital, Lutron, Taiwan). Setiap 12 jam, kontrol dan sampel dengan penambahan berbagai konsentrasi gula dari masing-masing intensitas cahaya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS (UV mini 1240) pada panjang gelombang maksimum hasil pemindaian yang telah ditentukan sebelumnya. Nilai absorbansi tiap sampel digunakan untuk menentukan kurva kinetika degradasi antosianin ekstrak buah murbei hitam terhadap waktu (jam). Percobaan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan dan pengukuran dilakukan triplo.

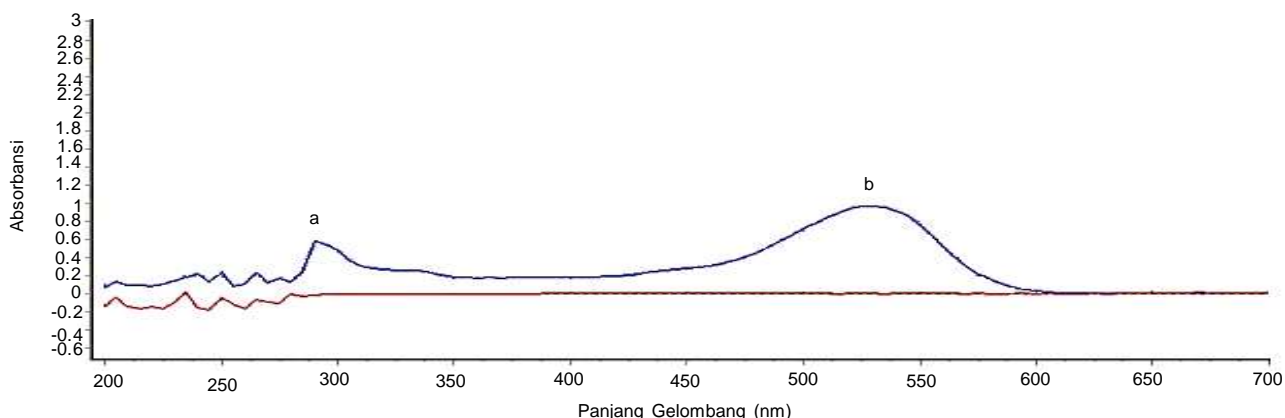
Analisis data

Data pada setiap pengamatan yang diperoleh dianalisis menggunakan Microsoft Excel untuk memperoleh nilai rata-rata dan *Standard Error of Mean* (SEM). Sedangkan, stabilitas warna ditentukan melalui % retensi warna yang dihitung menggunakan rumus: $B/A \times 100\%$, dimana A adalah nilai absorbansi sebelum perlakuan dan B adalah nilai absorbansi setelah perlakuan. Degradasi warna diukur pada λ maksimum ($512514 nm$) dan setiap percobaan diulang sebanyak 3 kali dan triplo. Selanjutnya dibuat kurva (diplotkan) retensi warna terhadap waktu penyinaran (jam) untuk orde reaksi $0 (x), 1 (\ln x),$ dan $2 (1/x)$. Kemudian ditentukan orde reaksi yang paling sesuai berdasarkan regresi linear (nilai R^2 yang terbesar). Dan dari orde yang paling sesuai dapat ditentukan nilai konstanta laju degradasi (k) dan nilai waktu paruh ($t_{1/2}$) berdasarkan perhitungan persamaan waktu paruh.

HASIL DAN PEMBAHASAN

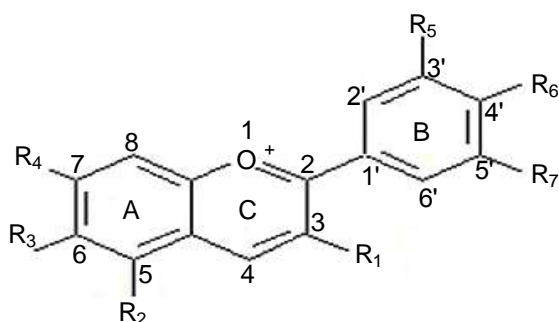
Panjang gelombang maksimum antosianin buah murbei

Hasil pemindaian panjang gelombang ($200-700 nm$) dapat dilihat pada Gambar 1. yang menunjukkan bahwa terdapat dua puncak serapan maksimum, puncak pertama muncul pada panjang gelombang $295 nm$ (daerah UV) dan puncak kedua muncul pada $530 nm$ (daerah sinar tampak). Hasil ini sesuai dengan pustaka yang menyatakan bahwa antosianin merupakan golongan flavonoid yang memiliki sistem aromatik terkonjugasi sehingga memiliki dua pita serapan yang berbeda yaitu pada panjang gelombang ultraviolet dan sinar tampak. Spektrum tampak antosianin dalam pelarut metanol-HCl 1% berada pada panjang gelombang $475-550 nm$ (Suzery *et al.*, 2010).



Gambar 1. Hasil pemindaian ekstrak buah murbei (λ 200-700 nm) dalam pelarut metanol-HCl 1%. (a) Puncak I berada pada λ 295 nm (daerah UV) dengan absorbansi=1,350 yang menunjukkan cincin B pada struktur aglikon molekul antosianin. (b) Puncak II berada pada λ 530 nm (daerah sinar tampak) dengan absorbansi=2,538 yang menunjukkan struktur aglikon molekul antosianin

Puncak serapan pada 530 nm disebabkan oleh struktur aglikon pada antosianin (kation flavilium) yang mengandung ikatan rangkap terkonjugasi sehingga dapat diserap pada daerah panjang gelombang 500 nm (Hayati *et al.*, 2012). Sedangkan puncak serapan pada 295 nm disebabkan oleh cincin B pada struktur aglikon molekul antosianin (Gambar 2).

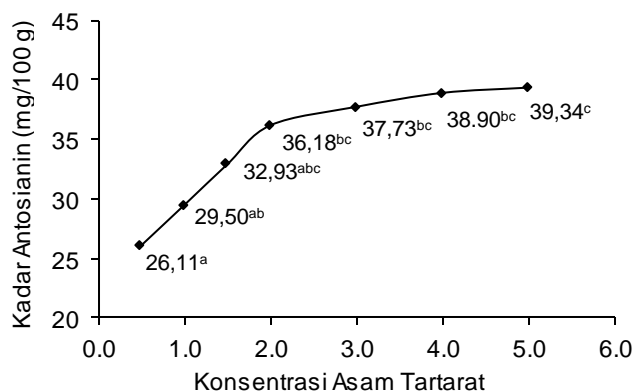


Gambar 2. Struktur umum kimia molekul aglikon antosianin

Antosianin total dan antosianin terekstrak dalam asam tartarat

Antosianin total buah murbei hasil penelitian ini sebesar $4,3468 \pm 0,0675$ mg/g (berat segar) atau $31,7741 \pm 0,4959$ mg/g (berat kering), jauh lebih besar dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yaitu $0,3080$ – $0,8300$ mg/g (berat basah) (Ozgen *et al.*, 2009) dan $2,2330$ mg/g (berat basah) (Kara dan Ercelebi, 2013). Perbedaan ini dapat disebabkan karena perbedaan varietas murbei yang digunakan (Ozgen *et al.*, 2009). Selain itu lokasi penanaman dan iklim saat penanaman juga dapat menjadi faktor penyebab. Selanjutnya kandungan antosianin terekstrak dalam asam tartarat dapat dilihat pada Gambar 3. yang menunjukkan bahwa makin besar konsentrasi asam tartarat yang digunakan untuk

mengekstrak antosianin, makin banyak antosianin yang terekstrak. Secara statistik, hasil penelitian menunjukkan jumlah antosianin yang optimal pada saat konsentrasi pelarut asam tartarat 1,5%, karena tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 2-5%. Namun jika dilihat, selisih kadar antosianin terekstrak antara asam tartarat 1 dan 2% yang masih cukup besar sekitar $325,61$ mg/100 g. Sedangkan pada konsentrasi asam tartarat 3-5%, kenaikan jumlah antosianin terekstrak hanya sedikit sehingga konsentrasi asam tartarat yang dipilih adalah konsentrasi 2% (pH=2,3).



Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda grafik menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada taraf uji $P=0,05$

Gambar 3. Rata-rata kadar antosianin terekstrak (berat kering, rata-rata, $n = 3$) dalam asam tartarat berbagai konsentrasi

Peningkatan jumlah antosianin terekstrak ini disebabkan semakin besar konsentrasi asam tartarat maka semakin banyak ion hidrogen yang dilepaskan dalam larutan tersebut sehingga menurunkan pH

larutan sampai mendekati pH 1 dimana pH tersebut merupakan pH optimal untuk mengekstrak antosianin (Tensiska *et al.*, 2007). Selain itu, semakin asam larutan menyebabkan semakin banyak dinding sel vakuola yang pecah sehingga antosianin yang terekstrak juga semakin banyak. Pada konsentrasi asam tartarat 2–5%, peningkatan jumlah antosianin yang terekstrak tidak terlalu tajam, hal ini disebabkan karena peningkatan jumlah ion hidrogen yang dilepaskan tidak mampu lagi meningkatkan jumlah antosianin terekstrak sebab sebagian besar antosianin dalam sampel sudah terekstrak pada asam tartarat 2%. Kandungan antosianin total yang diekstrak dengan pelarut metanol-HCl 1% lebih kecil daripada antosianin yang diekstrak dengan asam tartarat 1,5; 2; 3; 4; 5 % (b/v). Hal ini dapat terjadi karena asam tartarat memiliki kemampuan untuk mengkelat antosianin sehingga akan terjadi interaksi tarik-menarik antara asam tartarat dengan antosianin yang menyebabkan antosianin terekstrak semakin banyak. Sedangkan asam klorida (HCl) tidak memiliki kemampuan untuk mengkelat, HCl hanya membantu untuk menghidrolisis dinding sel dalam proses ekstraksi dan menciptakan suasana asam (Tensiska *et al.*, 2007; Hosseini *et al.*, 2016). Hasil ini berbeda dengan penelitian Lestario *et al.* (2011) dimana kandungan antosianin total dengan metanol-HCl 1% lebih besar dari antosianin terekstrak dengan asam tartarat.

Pemindaian panjang gelombang maksimum antosianin buah murbei hitam yang diberi berbagai konsentrasi gula

Hasil pemindaian panjang gelombang ekstrak buah murbei yang diberi berbagai konsentrasi gula dan kontrol dapat dilihat pada Tabel 1 yang menunjukkan bahwa tidak terjadi pergeseran bathokromik (pergeseran puncak absorpsi ke arah panjang gelombang yang lebih besar) maupun pergeseran hipsokromik (pergeseran puncak absorpsi ke arah panjang gelombang yang lebih kecil). Panjang gelombang ekstrak murbei dengan penambahan gula 10% hanya bergeser menjadi 512 nm sedangkan penambahan gula 20 dan 30% bergeser menjadi 514 nm, dari yang awalnya 510 nm (kontrol). Pergeseran bathokromik maupun hipsokromik yang tidak terjadi menunjukkan bahwa penambahan gula tidak mengubah struktur molekul antosianin ekstrak buah murbei hitam tersebut atau tidak terjadi ikatan antara molekul gula dengan molekul antosianin ekstrak buah murbei hitam. Kenaikan panjang gelombang maksimum sebesar 2 dan 4 nm belum dapat dikatakan sebagai terjadi pergeseran bathokromik, karena kriteria terjadi pergeseran bathokromik adalah kenaikan panjang gelombang maksimum sebesar 30 nm (Harborne, 1986).

Tabel 1. Pergeseran panjang gelombang maksimum antosianin ekstrak murbei tanpa gula dan yang dengan diberi penambahan gula pada berbagai konsentrasi

Perlakuan	Panjang Gelombang Maksimum λ Maks (nm)
Kontrol (tanpa gula)	510
Gula 10%	512
Gula 20%	514
Gula 30%	514

Stabilitas warna antosianin ekstrak buah murbei hitam yang diberi gula terhadap cahaya lampu fluoresens

Penentuan orde reaksi degradasi warna antosianin ekstrak buah murbei hitam dapat dilihat pada Tabel 2. yang menunjukkan bahwa kinetika degradasi antosianin ekstrak buah murbei hitam yang diberi gula dengan berbagai konsentrasi terhadap intensitas cahaya fluoresens mengikuti orde 0. Pada umumnya, penentuan orde reaksi didasarkan dengan membandingkan nilai koefisien korelasi (R^2) antar orde, dan dipilih yang nilainya tertinggi. Selain itu, persentase rata-rata error (E%) harus kurang dari 3% (Naiara *et al.*, 2016). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Suh *et al.* (2003) yang menemukan stabilitas antosianin ekstrak buah murbei terhadap suhu dan pH mengikuti orde 0. Disisi lain, penelitian Boranbayeva *et al.* (2014) menemukan bahwa degradasi antosianin monomerik jus buah dan ekstrak pekat murbei mengikuti orde 1. Hal yang menentukan orde suatu reaksi adalah perbedaan komposisi antosianin dalam buah murbei dari varietas yang berbeda dan juga perbedaan faktor perlakuan yang digunakan dalam proses degradasi antosianin (Cao *et al.*, 2009).

Parameter kinetika degradasi antosianin ekstrak buah murbei hitam yang diberi berbagai konsentrasi gula pada cahaya lampu fluoresens yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 3 yang menunjukkan persamaan reaksi, nilai konstanta reaksi dan nilai koefisien korelasi (R^2) mengikuti orde reaksi 0. Semakin kecil nilai k menunjukkan bahwa laju degradasi warna semakin lambat. Berdasarkan nilai konstanta reaksi pada Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai konstanta reaksi pada penambahan gula 10% paling rendah, yang artinya gula 10% adalah konsentrasi optimal untuk menstabilkan antosianin ekstrak buah murbei pada semua intensitas cahaya (3370, 4210, dan 8820 lux). Sedangkan, pada konsentrasi gula 20 dan 30% nilai konstanta reaksi degradasi antosianin semakin meningkat dibandingkan kontrol disetiap intensitas cahaya. Pada konsentrasi gula yang sama, penyinaran dengan intensitas cahaya yang semakin besar menyebabkan nilai konstanta reaksi juga semakin meningkat.

Tabel 2. Koefisien korelasi (R^2) dan rata-rata error degradasi antosianin ekstrak murbei terhadap cahaya lampu fluoresens dan dengan penambahan gula pada berbagai konsentrasi untuk tiap orde reaksi (kontrol=tanpa gula)

Perlakuan		Orde 0		Orde 1		Orde 2	
		R^2	Rata-rata Error (%)	R^2	Rata-rata Error (%)	R^2	Rata-rata Error (%)
Intensitas lampu 18 watt	Kontrol	0,98	0,79	0,97	0,89	0,96	1,03
	Gula 10%	0,99	0,25	0,99	0,42	0,99	0,49
	Gula 20%	0,99	0,55	0,98	0,56	0,98	0,68
	Gula 30%	0,99	0,54	0,99	0,57	0,98	0,74
Intensitas lampu 23 watt	Kontrol	0,97	0,75	0,96	1,19	0,95	1,42
	Gula 10%	0,99	0,50	0,99	0,36	0,99	0,50
	Gula 20%	0,99	0,47	0,99	0,49	0,99	0,67
	Gula 30%	0,99	1,18	0,99	0,48	0,99	0,61
Intensitas lampu 32 watt	Kontrol	0,99	1,26	0,98	2,01	0,96	2,75
	Gula 10%	0,99	0,60	0,99	0,64	0,99	1,17
	Gula 20%	0,99	0,36	0,99	1,22	0,97	2,09
	Gula 30%	0,99	1,09	0,99	0,52	0,99	1,25

Tabel 3. Parameter kinetika degradasi warna antosianin ekstrak buah murbei hitam dengan berbagai konsentrasi gula pada intensitas cahaya yang berbeda mengikuti orde reaksi 0 (rata-rata \pm SEM, $n=3$)

Perlakuan	Intensitas Cahaya (lux)	Suhu Penyimpanan ($^{\circ}$ C)	Persamaan Reaksi ($y = -ax+b$)	Konstanta Reaksi (fraksi $^{-1}$.jam $^{-1}$) ($\bar{X} \pm SE$)	R^2
Kontrol (tanpa gula)	3370	26-31	$y = -0,00292x + 1,011$	$(2,92 \pm 0,18) \times 10^{-3}$	0,98
	4210	26-33	$y = -0,00321x + 1,013$	$(3,21 \pm 0,30) \times 10^{-3}$	0,97
	8820	27-35	$y = -0,00609x + 1,019$	$(6,09 \pm 0,58) \times 10^{-3}$	0,99
Antosianin + gula 10%	3370	26-31	$y = -0,00273x + 1,004$	$(2,73 \pm 0,18) \times 10^{-3}$	0,99
	4210	26-33	$y = -0,00287x + 1,001$	$(2,87 \pm 0,20) \times 10^{-3}$	0,99
	8820	27-35	$y = -0,00545x + 0,998$	$(5,45 \pm 0,38) \times 10^{-3}$	0,99
Antosianin + gula 20%	3370	26-31	$y = -0,00300x + 1,007$	$(3,00 \pm 1,90) \times 10^{-3}$	0,99
	4210	26-33	$y = -0,00346x + 1,005$	$(3,46 \pm 0,24) \times 10^{-3}$	0,99
	8820	27-35	$y = -0,00605x + 1,004$	$(6,05 \pm 0,46) \times 10^{-3}$	0,99
Antosianin + gula 30%	3370	26-31	$y = -0,00340x + 1,006$	$(3,40 \pm 0,21) \times 10^{-3}$	0,99
	4210	26-33	$y = -0,00376x + 1,004$	$(3,76 \pm 0,22) \times 10^{-3}$	0,99
	8820	27-35	$y = -0,00632x + 0,992$	$(6,32 \pm 0,25) \times 10^{-3}$	0,99

Selanjutnya, pengaruh penambahan gula dan intensitas cahaya terhadap waktu paruh dapat dilihat pada Tabel 4 yang menunjukkan bahwa pada intensitas 3370 dan 4210 lux, konsentrasi gula sebesar 30% dalam ekstrak buah murbei hitam dapat menurunkan waktu paruh secara signifikan dan konsentrasi gula 20% menurunkan waktu paruh antosianin namun tidak terlalu signifikan dibandingkan dengan kontrol. Selanjutnya, pada intensitas cahaya 3370 dan 4210 lux penambahan gula 10% dapat meningkatkan waktu paruh antosianin namun tidak signifikan dibandingkan dengan kontrol. Disisi lain, pada intensitas 8820 watt, penambahan berbagai konsentrasi gula tidak berpengaruh signifikan terhadap waktu paruh antosianin. Ini berarti konsentrasi gula yang optimal untuk memperlama masa

simpan atau menstabilkan antosianin adalah konsentrasi gula 10% pada intensitas cahaya 3370 dan 4210 lux. Sedangkan, konsentrasi gula 20 dan 30% dapat mempercepat masa simpan ekstrak antosianin atau membuat stabilitas antosianinya menurun.

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Nikkah *et al.* (2007) yang meneliti bahwa penambahan sukrosa pada konsentrasi rendah (20%) pada jus stroberi dan murbei yang disimpan pada ruang tanpa cahaya dan suhu dingin dapat meningkatkan stabilitas warna antosianinnya. Selanjutnya Arslan (2015) juga menemukan bahwa sukrosa (25%) merupakan agen yang paling efektif untuk mencegah degradasi antosianin ekstrak pekat buah ceri yang disimpan pada suhu (4, 24, dan

45°C) dibandingkan asam galat dan asam askorbat. Penambahan sukrosa dengan konsentrasi rendah diketahui mampu berfungsi untuk menghambat enzim polifenoloksidase yang bertanggung jawab terhadap proses degradasi antosianin.

Tabel 4. Rata-rata \pm SE waktu paruh ekstrak antosianin buah murbei dengan penambahan gula 10, 20, 30% pada intensitas cahaya lampu neon 18, 23, dan 32 watt ($n=3$)

Perlakuan	Waktu Paruh (jam)		
	Intensitas Lampu 18 Watt	Intensitas Lampu 23 Watt	Intensitas Lampu 32 Watt
Kontrol (tanpa gula)	170,826 ^{bc}	163,619 ^{bc}	85,601 ^a
Gula 10%	183,733 ^c	179,606 ^c	94,200 ^a
Gula 20%	166,618 ^d	148,314 ^d	85,182 ^a
Gula 30%	146,235 ^a	135,888 ^a	79,709 ^a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang tidak sama antar baris atau lajur yang sama menunjukkan antar perlakuan berbeda nyata pada taraf uji 5%

Selain itu, sukrosa juga mampu menghalangi terjadinya reaksi enzimatik atau mencegah reaksi kondensasi yang menghasilkan pigmen-pigmen polimerik penyebab degradasi warna. Enzim-enzim tersebut antara lain seperti enzim polifenoloksidase, peroksidase dan glikosidase (Zozio *et al.*, 2011). Sedangkan, penambahan sukrosa dengan konsentrasi tinggi sebesar 40 dan 60% mengakibatkan penurunan stabilitas antosianin terlihat dari nilai konstanta reaksi yang semakin besar dan waktu paruh reaksi yang semakin cepat dari 170,826 (kontrol) menjadi 166,618 dan 146,235 jam. Hal ini dapat terjadi karena terbentuknya furfural dan 5-(hidroksimetil)furan-2-karb-aldehida (HMF) yang merupakan senyawa turunan gula terbentuk dari hidrolisis sukrosa (Cao *et al.*, 2009). Menurut Soleha *et al.* (2016), furfural dan HMF dapat terbentuk dari reaksi hidrolisis gula dengan asam organik (pada kondisi asam) pada suhu sekitar 35 hingga 100°C. Kondisi tersebut sesuai dengan perlakuan pada penelitian ini dimana ekstrak antosianin memiliki pH yang asam (pH=2,3) dan suhu kotak kayu yang diberi intensitas cahaya 3370 dan 4210 lux berkisar antara 26 hingga 33°C sehingga dimungkinkan sukrosa dengan konsentrasi 20 dan 30% telah berubah menjadi furfural yang merupakan senyawa utama penyebab terjadinya degradasi warna antosianin.

Pada intensitas cahaya 8820 lux, penambahan berbagai konsentrasi gula tidak mampu lagi memberikan pengaruh untuk menstabilkan antosianin. Selanjutnya, pada konsentrasi gula yang sama,

intensitas cahaya yang paling berpengaruh untuk mempercepat waktu paruh reaksi degradasi adalah intensitas cahaya terbesar yaitu 8820 lux. Hal ini disebabkan karena intensitas cahaya lampu neon dapat memancarkan energi dan sebagian energinya diserap oleh antosianin dan menyebabkan reaksi fotokimia, reaksi ini menyebabkan pembukaan cincin aglikon pada antosianin, yang diawali dengan pembukaan cincin karbon kedua sehingga membentuk senyawa yang tidak berwarna seperti kalkon dan selanjutnya membentuk alfa diketon yang berwarna coklat (Markakis, 1982; Lestario *et al.*, 2014). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian He *et al.* (2015) yang menemukan bahwa penyinaran lampu neon dapat menyebabkan degradasi warna ekstrak yang terlihat dari penurunan absorbansi ekstrak ubi jalar ungu.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa penambahan gula sebesar 10% dapat meningkatkan stabilitas warna ekstrak antosianin buah murbei yang diberi beberapa intensitas cahaya fluoresens dibandingkan dengan kontrol (tanpa penambahan gula), terlihat dari meningkatnya waktu paruh dari 170,826 menjadi 183,733 jam. Namun bila konsentrasi gula ditingkatkan menjadi 20 dan 30%, stabilitas warnanya menurun, terlihat dari menurunnya waktu paruh menjadi 166,618 dan 146,235 jam. Hasil penelitian ini dapat diaplikasikan dalam bidang industri pangan maupun penggunaan sehari-hari untuk pembuatan jus atau sirup buah murbei sebaiknya menggunakan konsentrasi gula 20% dan meminimalkan intensitas cahaya (kurang dari 32 watt) untuk menstabilkan antosianin serta memperlama masa simpannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin KA, II AH, Elsttar AHA. 2010. Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters relates to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food Chem Toxicol* 48: 2994-2999. DOI: 10.1016/j.fct.2010.07.039.
- Arslan D. 2015. Effects of degradation preventive agents on storage stability of anthocyanins in sour cherry concentrate. *Agro Res* 13: 892-899.
- Boranbayeva T, Karadeniz F, Yilmaz E. 2014. Effect of storage on anthocyanin degradation in black mulberry juice and concentrates. *Food Bioprocess* 7: 1894-1902. DOI: 10.1007/s1194 7-014-1296-8.

- Cao S, Liu L, Lu Q, Xu Y, Pan S, Wang K. 2009. Integrated effects of ascorbic acid, flavonoids and sugars on thermal degradation of anthocyanins in blood orange juice. *Eur Food Res Technol* 228: 975-983. DOI: 10.1007/s00217-009-1015-2.
- Conteraz-Lopez E, Castaneda-Ovando A, Gonzalez-Olivares LG, Anorve-Morga J, Jaimez-Ord J. 2014. Effect of light on stability of anthocyanins in ethanolic extracts of *Rubus fruticosus*. *Food Nutr Sci* 5: 488-494. DOI: 10.4236/fns.2014.56058.
- Hayati EK, Budi US, Hermawan R. 2012. Konsentrasi total senyawa antosianin ekstrak kelopak bunga rosella (*hibiscus sabdariffa* L.): pengaruh temperatur dan pH. *J Kimia* 6: 138-147.
- He XL, Li X, Lv Y, He Q. 2015. Composition and color stability of anthocyanin-based extract from purple sweet potato. *Food Sci Technol* 35: 468-473. DOI: 10.1590/1678-457X.6687.
- Harborne JB. 1986. *The Flavanoids Advances in Research*. 86. CRC Press, New York.
- Hosseini S, Gharachorloo M, Ghiassi-Tarzi B, Ghavami M. 2016. Evaluation of the organic acids ability for extraction of anthocyanins and phenolic compounds from different sources and their degradation kinetics during cold storage. *Pol J Food Nutr Sci* 66: 261-269. DOI: 10.1515/pjfn-2015-0057.
- Issa NK, Abd-Aljabar DR. 2013. Evaluation of antioxidant properties of *Morus nigra* L. fruit extracts [2]. *Jord J Biol Sci* 6: 258-265. DOI: 10.12816/0001623.
- Jiao Y, Jiang Y, Zhai W, Yang Z. 2012. Studies on antioxidant capacity of anthocyanin extract from purple sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). *Afr J Biotechnol* 11: 7046-7054. DOI: 10.5897/AJB11.3859.
- Kara S, Ercelibi EA. 2013. Thermal degradation kinetics of anthocyanins and visual colour of Urmu mulberry (*Morus nigra* L.). *J Food Eng* 116: 541-547. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2012.12.030.
- Lestario LN, Lukito D, Timotius KH. 2009. Kandungan antosianin dan antosianidin dari jantung pisang klutuk (*Musa brachycarpa* Back) dan pisang ambon (*Musa acuminata* Colla). *J Teknol Industri Pangan* 20: 143-148.
- Lestario LN, Rahayuni E, Timotius KH. 2011. Kandungan antosianin dan identifikasi antosianidin dari kulit buah jenitri (*Eleocharis angustifolia*). *AGRITTECH* 31: 93-101. DOI: 10.22146/agritech.9731.
- Lestario LN, Yoga MKWC, Kristijanto AI. 2014. Stabilitas antosianin jantung pisang kepok (*Musa paradisiaca* L.) terhadap cahaya sebagai pewarna agar-agar. *AGRITTECH* 34: 374-381. DOI: 10.22146/agritech.9431.
- Lohachoompol V, Mulholland M, Szrednicki G, Craske J. 2008. Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. *Food Chem* 111: 249-254. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.03.067.
- Markakis P. 1982. Anthocyanins as Food Additives. 169-170. dalam P. Markakis, (ed) *Anthocyanins as Food Color*. Academic Press, New York.
- Naiara LS, Jacylli MS, Crispim, Ronierik PV. 2016. Kinetic and thermodynamic analysis of anthocyanin thermal degradation in acreola (*Malpighia emarginata* D.C.) pulp. *J Food Process Pres* DOI: 10.1111/jfpp.13053.
- Nikkah E, Khayamy M, Heidari, Jamee R. 2007. Effect of sugar treatment on stability of anthocyanin pigments in berries. *J Bio Sci* 7: 1412-1417. DOI: 10.3923/JBS.2007.1412.1417.
- Ozgen M, Serce S, Kaya C. 2009. Photochemical and antioxidant properties of anthocyanins-rich *Morus nigra* and *Morus rubra* fruits. *Scientia Hort* 119: 275-279. DOI: 10.1016/j.scientia.2008.08.007.
- Soleha RM, Noor A, Ahmad A. 2016. Pengaruh Suhu Pemanasan dan Lama Penyimpanan Terhadap Kualitas Madu Asal Desa Terasa Berdasarkan Kandungan 5-(Hidroksimetil)furan-2-karbalehida (HMF) [Skripsi]. Makassar: Fakultas MIPA, Universitas Hassanudin.
- Stefănut MN, Cata A, Pop R, Mosoarca C, Zamfir AD. 2011. Anthocyanins HPLC-DAD and MS characterization, total phenolics, and antioxidant activity of some berries extracts. *Anal Let* 44: 2843-2855. DOI: 10.1080/00032719.2011.582550.
- Suh HJ, Noh DO, Kang CS, Kim JM, Lee SW. 2003. Thermal kinetics of color degradation of mulberry fruit extract. *Mol Nutr Food Res* 47: 132-135. DOI: 10.1002/food.200390024.
- Suzery M, Lestari S, Cahyono M. 2010. Penentuan total antosianin dari kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) dengan metode maserasi dan soksheltasi. *J Sains Mat* 18: 1-6.
- Tensiska, Sukarminah E, Natalia D. 2007. Ekstraksi pewarna alami dari buah arben (*Rubus idaeus* Linn) dan aplikasinya pada sistem pangan. *J Teknol Industri Pangan* 18: 25-31.
- Zozio S, Pallet D, Dornier M. 2011. Evaluation of anthocyanin stability during storage of a coloured drink made from extracts of the Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.), açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and black carrot (*Daucus carota* L.). *Fruits* 66: 203-215. DOI: 10.1051/fruits/2011030.

