

IDENTIFIKASI PIGMEN BETASIANIN DARI KULIT BUAH NAGA MERAH (*HYLOCEREUS POLYRHIZUS*)

Anni Faridah¹, Rahmi Holinesti¹, Daimon Syukri²

¹Fakultas Teknik Universitas Negeri Padang

²Fakultas Teknik Pertanian Universitas Andalas

faridah.anni@gmail.com

ABSTRAK

Betasianin merupakan pigmen berwarna merah-violet terdapat pada kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang banyak dijumpai di daerah Padang dan kota-kota lainnya di Sumatera Barat. Betasianin merupakan pewarna alami yang banyak digunakan pada produk pangan, kaya antioksidan, antimikroba, antiproliferatif dan *radical scavenging*. Penggalian bahan alam alternatif yang berpotensi sebagai zat pewarna, terus dilakukan, diantaranya adalah dari kulit buah naga berwarna merah. Buah naga merah yang akhir-akhir ini banyak diminati masyarakat luas, prosentase kulitnya yang berjumlah 30-35 % dari bobot keseluruhannya seringkali hanya dibuang sebagai sampah. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi komposisi senyawa pigmen yang diduga betasianin dari kulit buah naga merah dengan menggunakan HPLC. Sampel kulit buah naga yang diidentifikasi adalah kulit buah naga yang berwarna merah. Profil HPLC semua sampel yang diamati, puncak pertama muncul pada waktu retensi 3,458 menit, puncak kedua pada waktu retensi 5,64 menit, dan puncak ketiga pada waktu retensi 6,165 menit. Sifat senyawa betasianin yang ada bersifat polar. Puncak kedua mewakili senyawa betasianin yang kedua dari tiga jenis betasianin yang ada, memiliki luas area yang paling besar dengan persentase area sebesar 64,46 %.

Kata kunci : *identifikasi, kulit buah naga merah, betasianin.*

PENDAHULUAN

Betalain merupakan pigmen berwarna merah-violet dan kuning-oranye yang banyak terdapat pada buah, bunga, dan jaringan vegetatif (Strack *et al.*, 2003). Betalain adalah pigmen kelompok alkaloid yang larut air, pigmen bernitrogen, dan merupakan pengganti anthocyanin pada sebagian besar family tanaman ordo Caryophyllales, termasuk Amaranthaceae, dan bersifat mutual eksklusif dengan pigmen antosianin (Cai *et al.*, 2005; Grotewold, 2006). Sifat ini berarti bahwa pigmen betalain dan antosianin tidak pernah dijumpai bersama-sama pada satu tanaman. Oleh karena itu pigmen betalain sangat signifikan dalam penentuan taksonomi tanaman tingkat tinggi.

Betalain merupakan pewarna alami yang banyak digunakan pada produk pangan. Pigmen ini banyak dimanfaatkan karena kegunaannya selain sebagai pewarna juga sebagai antioksidan dan *radical scavenging* sebagai perlindungan terhadap gangguan akibat stres oksidatif. Sumber betalain yang paling banyak adalah akar bit (*Beta vulgaris*). Perkembangan antosianin sebagai pewarna makanan lebih berkembang dibandingkan dengan betalain, karena terbatasnya tanaman yang mengandung betalain (Mareno *et al.*, 2008). Oleh karena itu penelitian pencarian alternatif sumber betalain penting dilakukan, salah satunya adalah dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

Tanaman buah naga yang sering juga dibuat menjadi tanaman hias, dalam setahun bisa berbuah tiga kali, dan produksinya bisa terus meningkat dengan perawatan

yang baik. Setiap tahun, tanaman buah naga meningkat, begitu juga dengan import buah naga ke Indonesia. Berdasarkan catatan dari eksportir buah di Indonesia, buah naga ini masuk ke tanah air mencapai antara 200 - 400 ton/tahun asal Thailand dan Vietnam (Anonim, 2013a). Masyarakat semakin menyukai buah naga karena selain pohon dan buahnya yang indah, buah naga juga mengandung manfaat bagi kesehatan.

Menurut Saati (2011), kulit buah naga berjumlah 30-35 % dari berat buahnya dan seringkali hanya dibuang sebagai sampah. Padahal hasil penelitian menunjukkan kulit buah naga mengandung antioksidan dan juga dapat menurunkan kadar kolesterol (Kanner *et al.*, 2001). Kulit buah naga merah (*H. polyrhizus*) mengandung betalain yang berfungsi sebagai antioksidan dan pewarna alami (Stafford, 1994 dalam Cao *et al.*, 2012, Wybraniec *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2006 ; Khalida, 2010). Kulit buah naga memiliki potensi antioksidan yang lebih besar dibanding buahnya (Darmawi, 2011)

Betasianin telah diketahui mempunyai banyak manfaat dan bernilai taksonomi yang signifikan maka banyak teknik yang telah digunakan untuk mengkarakterisasi senyawa ini. Identifikasi betasianin banyak dilakukan dengan perbandingan spektroskopi, kromatografi, sifat elektroforesis dengan standar otentik atau data sekunder dan menggunakan teknik analisis tradisional dan modern (Stintzing, et al. 2004; Cai, Sun dan Corke. 2001, Schleimann, Cai, et al, 2001) seperti kromatografi kertas, kromatografi *lapis tipis*, elektroforesis kertas, *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*, *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry (LC-MS)*, *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry (LC-MS)*, *Electrospray Ionization tandem Mass Spectrometry (ESI-MS/MS)*, *Nuclear Magnetic Resonance (NMR)*, dan LC-NMR.

Kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*) yang berwarna merah atau merah violet merupakan sumber pigmen betasianin. Buah naga dengan variasi warna daging putih, merah, dan violet mempunyai kulit buah berwarna merah dan daging berwarna kuning berkulit kuning. Buah naga putih dan merah banyak dijumpai di daerah Padang dan daerah sekitarnya seperti Pariaman, Bukit Tinggi, dan Painan. Variasi warna tersebut menunjukkan kandungan kualitatif maupun kuantitatif pigmen yang berbeda. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi profil pigmen pada kulit buah naga yang dijumpai di daerah Padang dan sekitarnya.

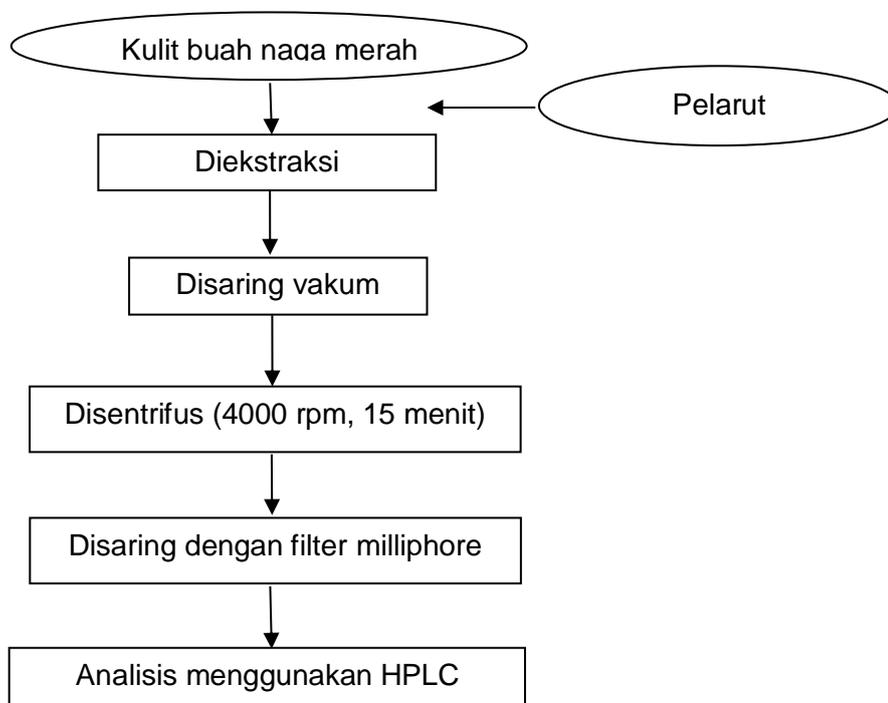
METODOLOGI

Bahan dan Alat

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Teknologi Hasil Pertanian FATETA UNAND. Buah naga merah yang digunakan adalah buah naga yang telah disimpan 5 (lima) hari dan berasal dari Bukit Tinggi, Sumatera Barat. Bahan kimia yang digunakan antara lain: aquades, kalium dihidrofosfat, dikalium hidrophospat, betanin standar,

asetonitril, asam format. Alat yang digunakan yaitu termoshaker, pisau, blender, alat gelas, timbangan analitik, serta HPLC menggunakan Shimadzu UFLC series.

Ekstraksi pigmen



Gambar 1. Proses Ekstraksi Betasianin dari Kulit Buah Naga.

Bahan segar berupa kulit buah naga merah yang telah dicuci, dibersihkan dari sisik, serta bagian ujung dan bagian pangkal. Kulit yang telah bersih dipotong-potong menjadi bagian yang kecil, kemudian diblender hingga halus. Kulit buah naga yang telah diblender kemudian ditimbang, dilarutkan dengan pelarut, dan kemudian dishaker menggunakan termosheker. Selanjutnya kulit buah naga tersebut disaring vakum, disentrifus, dan kemudian disaring dengan filter Milliphore (0.2 m *nylon membrane*). Kulit buah naga ini sekarang siap untuk diidentifikasi menggunakan HPLC (Gambar 1).

Analisis HPLC

Identifikasi pigmen pada kulit buah naga dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian UNAND Padang. Analisis HPLC menggunakan Shimadzu UFLC series. HPLC System dengan *diode array detector* (DAD) yang dioperasikan pada suhu ruang. Data diproses dengan LC solution *Software*. Metode yang digunakan mengacu pada metode yang digunakan untuk mengidentifikasi distribusi betasianin pada beberapa anggota famili *Amaranthaceaea* yang salah satunya adalah *C. argentea var. cristata* [8] dengan sedikit modifikasi. Kondisi untuk *preparative* HPLC adalah : kolom Zorbax SB-C18

(5 μm , 150 x 4.6 mm) dengan *guard coloumn* (5 μm , 15 x 9.4 mm) (Agilent Technologies); gradient linier diamati selama 40 menit dari 20% solvent B (*aqueous* 100% asetonitril) dalam solvent A (2.5% *aqueous formic acid*) ke 40% B dalam A+B dengan kecepatan aliran 1 ml/menit. Esktrak diinjeksikan sebanyak 20 μl dan dideteksi pada panjang gelombang 530 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan segar yang digunakan untuk identifikasi ini adalah kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Tanaman ini dibudidayakan di beberapa daerah di Sumatera Barat yaitu Padang Pariaman, Padang, Bukit Tinggi, dan Painan. Sampel yang digunakan didapatkan di daerah Bukit Tinggi, Sumatera Barat (Gambar 2).



Gambar 2: Buah naga dan kulit buah naga merah

Analisis HPLC

Semua betasianin berada dalam bentuk *glycosylated* dan berasal dari unit struktur dasar utama, yaitu aglycon betanidin dan isobetanidin (C-15 epimer). Betasianin mempunyai empat subklas, yaitu amaranthin, betanin, gomphrenin, dan 2-descarboxy betanin [9]. Betasianin tipe betanin yang merupakan komponen mayor atau minor pada beberapa tanaman penghasil betasianin mempunyai gugus hidroksil yang memungkinkan pembentukan glikosida terutama sebagai 5-O-glucosides.

Pengukuran HPLC-DAD yang dilakukan terhadap ekstrak air dari sampel yang diduga mengandung betasianin diamati pada panjang gelombang deteksi di spektrum sinar tampak dengan rentang panjang gelombang deteksi antara 500 – 550 nm, Pengukuran ini dilakukan karena selain untuk optimasi dari penggunaan diode array detektor yang ada,

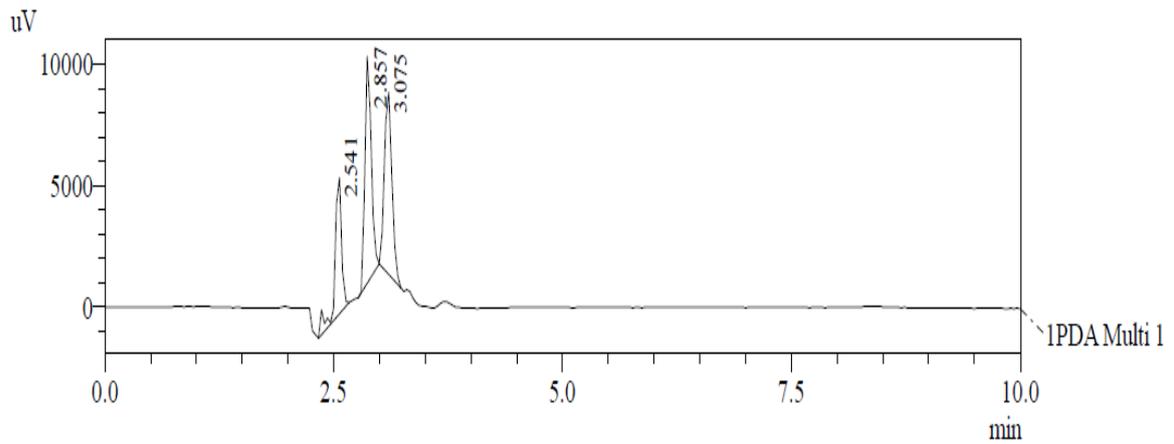
juga dikarenakan panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang dari kelompok senyawa betasianin yang ada.

Pada penelitian ini, profil HPLC pigmen betanin standar berbeda dengan profil HPLC ekstrak air dari sample ekstrak kulit buah naga merah (Gambar 3), namun hal ini diduga akibat golongan dari pigmen betasianin. Profil ini dideteksi dengan deteksi diode array yang mana pada profil HPLC sampel menunjukkan 3 puncak utama yang diduga berasal dari serapan senyawa betasianin (Gambar 4). Berdasarkan pengamatan pada tiga panjang gelombang spektrum cahaya tampak yang berbeda dengan doide array detektor terlihat bahwa ketiga puncak yang muncul memiliki profil yang sama dan memiliki resolusi antar puncak yang cukup besar, sehingga dapat disimpulkan bahwa pemisahan antara tiga puncak yang diduga kelompok betasianin memiliki pola keterpisahan yang baik. Sedangkan profil larutan standar pigmen betanin keterpisahannya kurang baik jika dibandingkan dengan sampel ekstrak kulit buah naga merah.

Pada profil HPLC semua sampel yang diamati, puncak pertama muncul pada waktu retensi 3,458 menit, diikuti puncak kedua pada waktu retensi 5,64 menit dan puncak ketiga pada waktu retensi 6,165 menit (Tabel 2). Berdasarkan pola kromatogram yang ada dapat dilihat dengan kondisi elusi yang di gunakan secara gradient dengan sistem fase terbalik dengan komposisi fase gerak semi polar (ACN) bergerak dari 20 – 40 %. Dapat di simpulkan bahwa sifat senyawa betasianin yang ada bersifat polar, karena dari kromatogram dapat dilihat waktu retensi puncak yang keluar sangat cepat, berkisar pada komposisi fase gerak non polar masih sekitar 20-25 %.

Dari profil puncak yang ada terlihat juga bahwa puncak kedua yang mewakili senyawa betasianin yang kedua dari tiga jenis betasianin yang ada, memiliki luas area yang paling besar dengan persentasi area sebesar 64,46 % (Tabel 2). Besarnya persentase area dari senyawa kedua ini akan memberikan kontribusi utama terhadap sifat bioaktivitas dari ekstrak yang ada, seperti kemampuan bioaktivitas antioksidan.

Untuk identifikasi lebih lanjut supaya didapatkan perkiraan dari struktur betasianin yang ada akan lebih baik dilakukan pengukuran dengan HPLC-MS/MS. Sesuai keterangan di atas, profil puncak dari kromatogram KCKTDAD yang ada sudah memiliki pola keterpisahan yang ditunjukkan dengan nilai resolusi antara masing-masing puncak yang bernilai besar dari 1. Hal ini menunjukan metoda kromatografi yang digunakan sudah cukup baik, sehingga ketika dilakukan fragmentasi ion dengan MS/MS pola fragmentasi setiap molekul senyawa akan dapat dilakukan dengan baik, karena dengan pola keterpisahan yang baik, gangguan dari fragmentasi molekul antar senyawa akan tidak ada.



1 PDA Multi 1 / 530nm 3nm

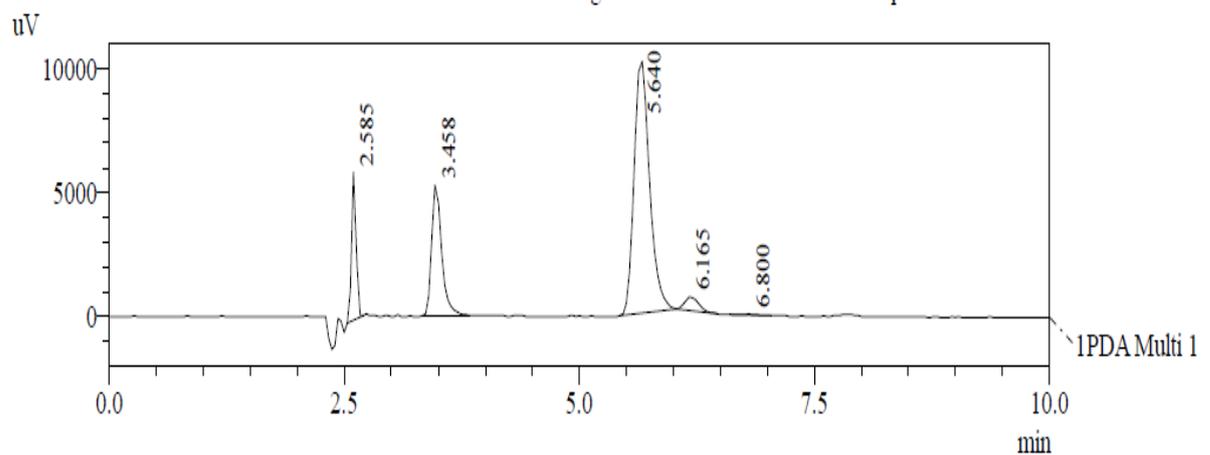
Gambar 3. Profil HPLC larutan standar pigmen betanin

Tabel 1: Waktu retensi dan persentasi luas area pigmen betanin standar

PeakTable

PDA Ch1 530nm 3nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.541	30073	5711	25.469	25.391
2	2.857	46814	9408	39.648	41.825
3	3.075	41188	7374	34.883	32.784
Total		118076	22493	100.000	100.000



1 PDA Multi 1 / 530nm 3nm

Gambar 4. Profil HPLC pigmen sampel dari kulit buah naga merah

Tabel 2: Waktu retensi dan persentasi luas area pigmen sampel dari kulit buah naga merah

PeakTable

PDA Ch1 530nm 3nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.585	19154	6022	10.696	27.255
2	3.458	38320	5286	21.399	23.924
3	5.640	115430	10197	64.460	46.151
4	6.165	5483	530	3.062	2.397
5	6.800	686	60	0.383	0.273
Total		179073	22094	100.000	100.000

KESIMPULAN

Profil HPLC larutan standar betanin berbeda dengan profil HPLC sampel, dan diduga merupakan golongan pigmen betasianin. Profil HPLC semua sampel yang diamati, puncak pertama muncul pada waktu retensi 3,458 menit, puncak kedua pada waktu retensi 5,64 menit, dan puncak ketiga pada waktu retensi 6,165 menit. Sifat senyawa betasianin yang ada bersifat polar, karena waktu retensi puncak yang keluar sangat cepat, berkisar pada komposisi fase gerak non polar masih sekitar 20-25 %. Puncak kedua mewakili senyawa betasianin yang kedua dari tiga jenis betasianin yang ada, memiliki luas area yang paling besar dengan persentasi area sebesar 64,46 %. Besarnya persentase area memberikan kontribusi utama terhadap sifat bioaktivitas dari ekstrak yang ada, seperti kemampuan bioaktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2013b. Potensi tanaman buah naga. http://www.antarasumbar.com/berita_terkini_kab.padang_pariaman.htm. Diakses 25 maret 2013.
- Cai, Y., M. Sun dan H. Corke. 2001. *Identification and distribution of simple acylated betacyanin pigments in the Amaranthaceae*. J. Agric. Food Chem. 49:1971-1978. Strack,
- Cai Y., M. Sun & H. Corke. 2005. *HPLC characterization of betasianins from plants in the Amaranthaceae*, J. Chromatogr. Sci., 43, 454-60.
- Cao S et al., 2012. *The effects of host defence elicitors on betacyanin accumulation in Amaranthus mangostanus seedlings*. Food Chemistry 134 : 1715–1718
- D., T. Vogt dan W. Schleimann. 2003. *Recent advances in betalain research*. Phytochem. 62:247- 269.
- Darmawi A.W. 2011. *Optimasi proses ekstraksi, pengaruh pH dan jenis cahaya pada aktivitas antioksidan dari kulit buah naga (Hylocereus p)*. <http://www.google>.

com/urldspace.library.uph.edu:8080/bitstream/123456789/241/1/capter%20.pdf
diakses Februari 2013

- Grotewold, E. 2006. *The genetics and biochemistry of floral pigments*. Ann. Rev. Plant Biol. 57:761-780. Stintzing, F.C. dan R. Carle. 2007. *Betalains – emerging prospects for food scientists*. Tends Food Sci. Technol. 18 : 514 – 525.
- Kanner, K., Harel, S., and Granit, R. 2001. *Betalains – A new class of dietary cationized antioxidants*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5178–5185.
- Khalida Y, 2010. *A comparative study on the extraction of betacyanin in the peel and flesh of dragon fruit*. Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering Universiti Malasyia Pahang. Malasyia
- Moreno, D.A., C. Garcia-Viguera, J.I. Gil and A. Gil-Izquierdo. 2008. *Betasianins in the era of global agri-food science, technology and nutritional health*. *Phytochem. Rev.* 7(2):261-280.
- Saati. E. 2011. *Identifikasi dan uji kualitas pigmen kulit buah naga merah (Hylocareus costaricensis) pada beberapa umur simpan dengan perbedaan jenis pelarut*. http://research_report.umm.ac.id/research/download/abstract_research_report_176.pdf diakses Maret 2013
- Schleimann, W., Y. Cai., T. Degenkolb, J. Schmidt dan H. Corke. 2001. *Betalains of Celosia argentea*. *Phytochem.* 58:159-165.
- Stintzing, F.C., J. Conrad, I. Klaiber, U. Beifuss, R. Carle. 2004. *Structural investigation on betacyanin pigments by LC NMR and 2D spectroscopy*. *Phytochem.* 65:415-422.
- Strack, D., Vogt, T., and Schliemann, W. 2003. *Recent advances in betalain research*. *Phytochemistry*, 62, 247–269.
- Wu L.C. et al. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry* 95 : 319–327
- Wybraniec, S. et al. 2001. *Betacyanins from vine cactus Hylocereus polyhizus*. *Phytochemistry*, 58, 1209–1212.