

Antosianin dalam Produksi Fermentasi dan Perannya sebagai Antioksidan
Herman Joseph Bimo Kunnaryo dan Prima Retno Wikandari*

Departement of Chemistry, Faculty of Matematics and Natural Sciences
Universitas Negeri Surabaya

Jl. Ketintang Surabaya (60231), telp 031-8298761

*Corresponding author, email : primaretno@unesa.ac.id

Abstrak. *Antosianin merupakan senyawa flavonoid larut dalam air, berada dalam bentuk aglikon sebagai antosianidin. Antosianin banyak terdapat di alam baik terkandung di dalam buah, daun ataupun bunga. Antosianin memiliki manfaat biologis salah satunya sebagai antioksidan. Faktor yang mempengaruhi kestabilan senyawa ini ialah pH, suhu dan enzim polifenol oksidase (PPO), sehingga aktivitas antioksidannya juga dipengaruhi oleh faktor yang mempengaruhi kestabilan antosianin. Beberapa penelitian proses fermentasi bakteri asam laktat (BAL) terbukti menurunkan pH serta menghambat aktivitas enzim PPO sehingga meningkatkan kestabilan antosianin serta meningkatkan aktivitas antioksidan. Artikel review ini membahas tentang struktur, stabilitas antosianin, aktivitas antioksidan antosianin, dan pengaruh fermentasi terhadap kestabilan antosianin.*

Kata Kunci: Antosianin, Antioksidan, Bakteri Asam Laktat

Abstract. *Anthocyanin is derivative compound of flavonoid which is soluble in water, its the form of aglycone as anthocyanidin.. Anthocyanins are abundant in nature both contained in fruit, leaves or flowers. Anthocyanin has biological benefits, one of which is an antioxidant. However, the stability of anthocyanin compounds is depend by several factors such as pH, temperature, and the enzyme polyphenol oxidase (PPO), so that its antioxidant activity is also depend by factors that increase the stability of anthocyanin. Several studies have shown that the fermentation process by lactic acid bacteria can reduce pH and inhibit the activity of PPO enzymes, thereby increasing the stability of anthocyanin and increasing antioxidant activity. This article discusses the structure, stability, antioxidant activity of anthocyanin, and the effect of fermentation on the stability of anthocyanin.*

Keywords: Anthocyanins, Antioxidant, Lactic Acid Bacteria

PENDAHULUAN

Antosianin adalah salah satu senyawa pigmen yang dapat larut di dalam air. Pada umumnya, antosianin berbentuk aglikon yang biasa disebut antosianidin. [1]. Antosianin ini banyak ditemukan sebagai pigmen pada berbagai jenis tanaman. Kegunaan antosianin sebagai pewarna disebabkan oleh sifatnya yang larut dalam air [2]. Senyawa antosianin dapat ditemukan pada tanaman di dalam bunga maupun buah dengan menampilkan berbagai macam warna seperti oranye, merah, biru, dan ungu.

Antosianin dapat berperan sebagai antioksidan sehingga dapat mencegah berbagai penyakit kardiovaskular, kanker dan diabetes [3] serta antosianin juga memiliki berbagai aktivitas biologis antara lain sebagai antioksidan, mencegah kanker usus, antihiperqlikemia [4]. Antosianin juga diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella thypi* dan *Escheria coli* [5]. Antosinin dapat berada pada

produk fermentasi yang berasal dari tumbuhan yang tentunya mengandung antosianin. Akan tetapi, senyawa antosianin merupakan senyawa yang tidak stabil sehingga dapat menurunkan manfaatnya sebagai antioksidan. Kestabilan antosianin dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti suhu, pH, cahaya, serta keberadaan enzim [6]. Antosianin akan lebih stabil pada suhu kurang dari 40°C dan berada pada pH 2 [7]. Salah satu cara yang untuk mempertahankan kestabilan antosianin adalah dengan fermentasi BAL. Proses fermentasi oleh BAL akan menurunkan pH sehingga dapat meningkatkan kestabilan antosianin dimana antosianin akan lebih stabil berada pada pH rendah dalam bentuk flavilium yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi [8]. Proses fermentasi terbukti dapat meningkatkan aktivitas antioksidan pada kubis merah dari 154,87 ppm menjadi 43,56 ppm

dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) [9]

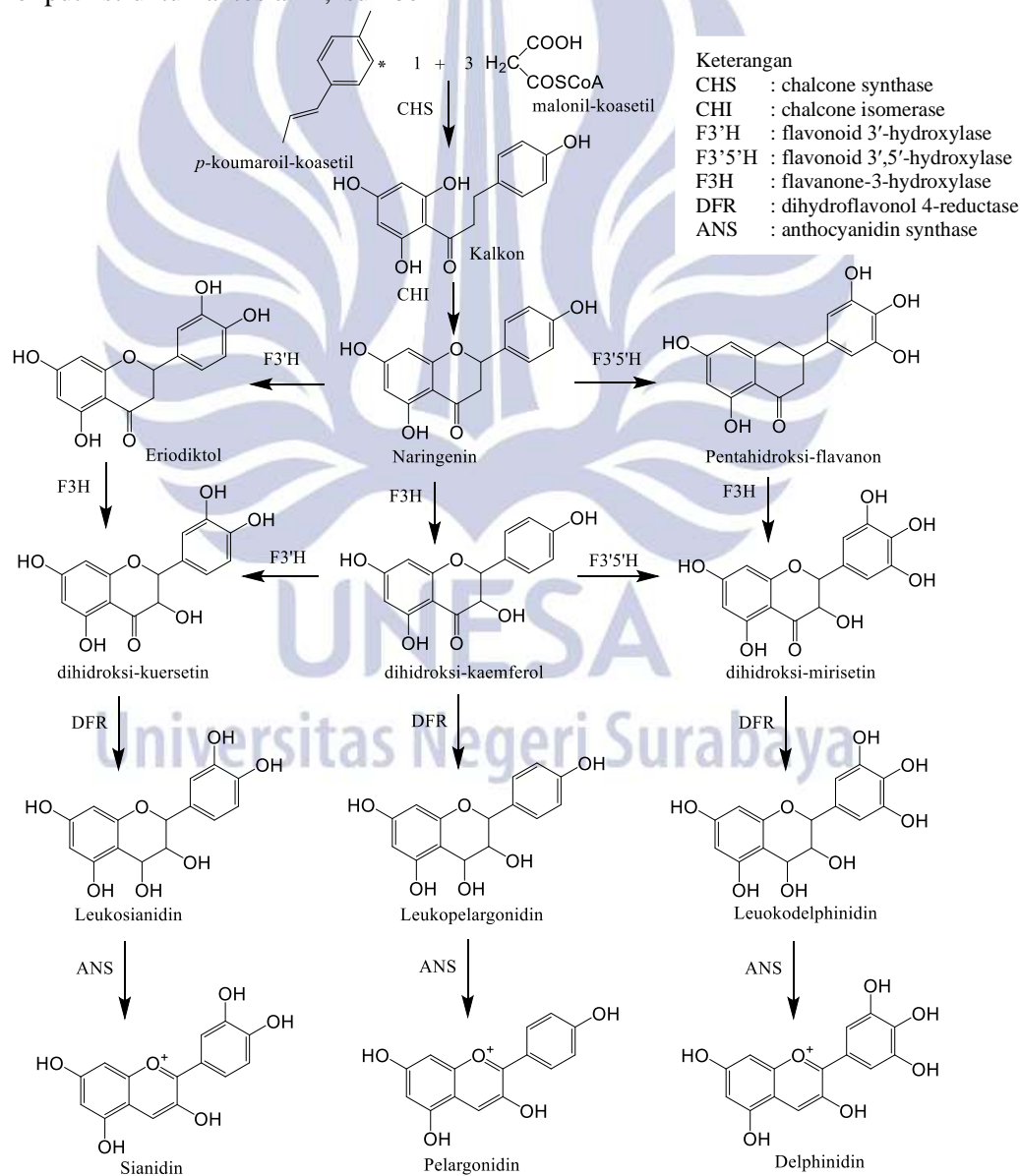
Kajian mengenai fermentasi oleh BAL untuk mempertahankan kandungan antosianin sebagai antioksidan belum pernah dilakukan sebelumnya. Kajian ini penting untuk diketahui karena dalam mempertahankan kandungan antosianin dapat dilakukan dengan cara proses fermentasi BAL, dimana proses tersebut merupakan cara yang cukup efektif dalam menurunkan pH dan menghambat aktivitas enzim PPO, serta dengan penambahan BAL dapat meningkatkan fungsi probiotik dalam produk pangan tersebut.

Review ini akan difokuskan pada pengaruh fermentasi pada kestabilan senyawa antosianin sebagai antioksidan. Pembahasan artikel ini meliputi struktur antosianin, sumber

antosianin, berbagai faktor yang mempengaruhi kestabilan senyawa antosianin, serta pengaruh proses fermentasi terhadap kestabilan antosianin sebagai antioksidan.

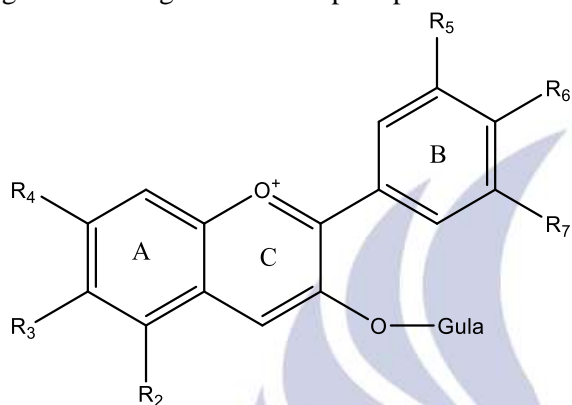
Struktur dan Sumber Antosianin

Antosianin adalah turunan dari polihidroksi glikon atau polimetoksi glikon dari 2-fenilbenzopirilium [10]. Antosianin pada tanaman dapat terbentuk karena proses biosintesis dari 4-kumaroil-koasetil dan 3-malonil-koasetil dengan bantuan enzim flavanon-3-hidroksilase membentuk dihidroflavonol lalu dilanjutkan oleh enzim flavonoid-3-O-glukositransferase membentuk antosianin [11]. Proses biosintesis antosianin pada tumbuhan ditunjukkan pada Gambar 1. [12]



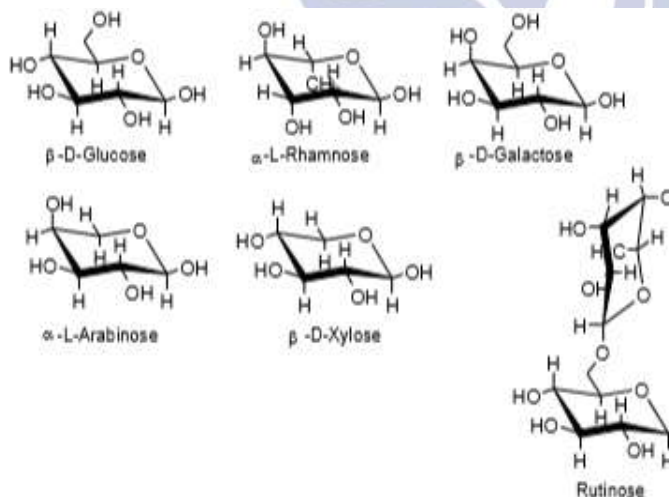
Gambar 1. Biosintesis Antosianin pada Tumbuhan [12]

Pada umumnya antosianin memiliki berat molekul antara 400 hingga 1200 dengan mengandung dua cincin benzil (A dan B). Antosianin pada umumnya mengandung glikosida tunggal, meskipun juga ditemukan struktur yang mempunyai lebih dari 1 glikosida yang melekat pada berbagai posisi [13] Antosianin merupakan senyawa golongan flavonoid yang ditemukan dalam bentuk glikosida dengan struktur seperti pada Gambar 2-



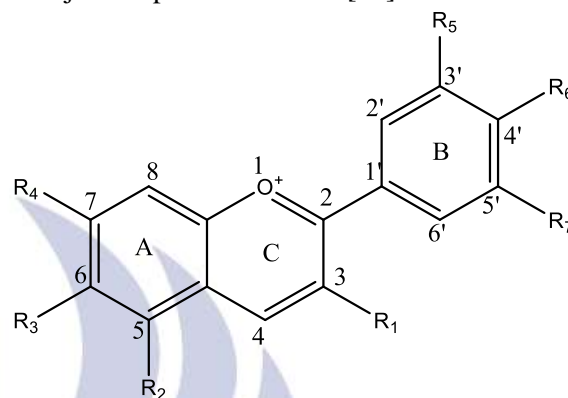
Gambar 2. Struktur kimia antosianin [14]

Beberapa karbohidrat yang mungkin terdapat dalam antosianin ditunjukkan pada Gambar 3 [15].



Gambar 3. Jenis karbohidrat yang banyak terdapat pada antosianin [15]

Antosianin yang terlepas dari ikatan glikosidanya disebut antosianidin [16]. Antosianidin memiliki berbagai jenis tergantung pada jenis substituen pada cincin B, jenis dan jumlah gula terkonjugasi dan ada atau tidaknya gugus asil [16]. Struktur utama antosianidin ditunjukkan pada Gambar 4. [17]



Gambar 4. Struktur umum antosianidin [17]

Jenis-jenis senyawa antosianidin ditentukan berdasarkan masing-masing gugus R sehingga didapatkan beberapa jenis antosianidin yang ditunjukkan pada Tabel 1 [17].

Tabel 1. Jenis Antosianidin

R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	Nama	Warna
-OH	-OH	-H	-OH	-H	-OH	-H	Pelargonidin	Belum diketahui
-OH	-OH	-H	-OH	-OMe	-OH	-H	Peonidin	Oranye - Merah
-OH	-OH	-H	-OH	-OMe	-OH	-OH	Petunidin	Biru - merah
-OH	-OMe	-H	-OH	-OH	-OH	-OH	Pulchellidin	Biru - merah
-H	-OH	-H	-OH	-H	-OH	-H	Apigeninidin	Belum diketahui
-H	-H	-OH	-OH	-H	-OH	-OMe	Arrabidin	Belum diketahui
-OH	-OH	-OH	-OH	-H	-OH	-H	Aurantininidin	Belum diketahui
-OH	-OH	-H	-OMe	-OMe	-OH	-H	Rosinidin	Merah
-OH	-OMe	-H	-OH	-OMe	-OH	-OMe	Capensinidin	Biru - merah
-H	-H	-OH	-OH	-H	-OMe	-OMe	Carajurin	Belum diketahui
-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-H	Cyanidin	Oranye-Merah
-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-H	Luteolin	Belum diketahui
-OH	-OH	-H	-OH	-OMe	-OH	-OMe	Malvidin	Biru - merah
-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-OH	Delphinidin	Biru - merah
-OH	-OMe	-H	-OH	-OMe	-OH	-OH	Europinidin	Biru - merah
-OH	-OH	-H	-OMe	-OMe	-OH	-OMe	Hirsutidin	Biru - merah
-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-OH	Tricetinidin	Merah

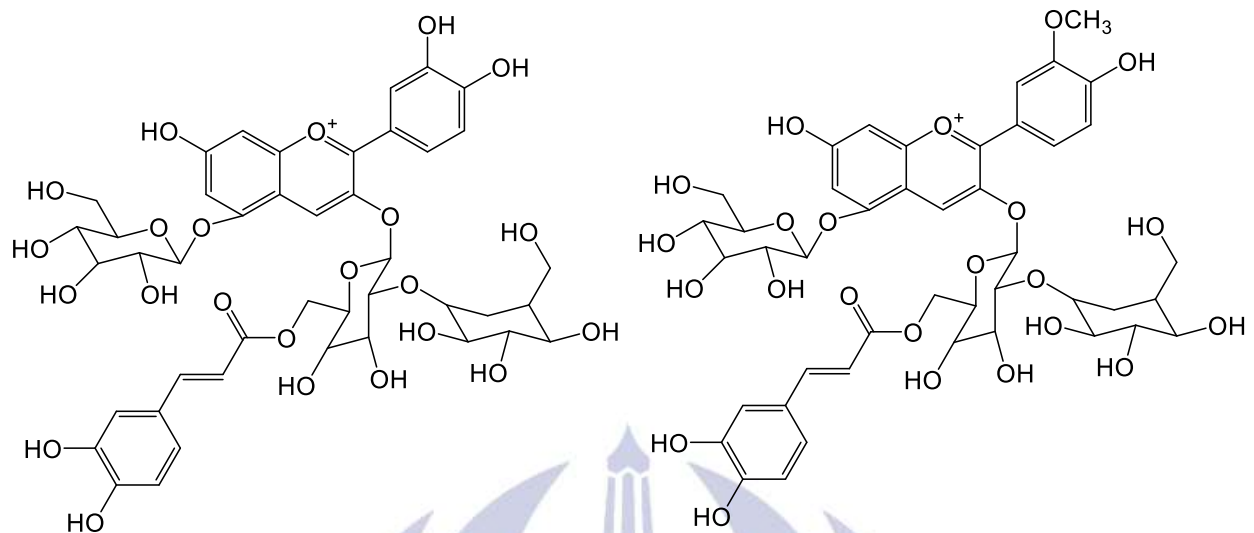
Antosianin banyak sekali ditemukan pada bahan alam antara lain seperti mawar, kana merah [18], bunga kupu-kupu [2], ubi jalar ungu [19], anggur, buah naga, bayam merah [20]. Warna merah pada bunga mawar dan kana merah disebabkan adanya pigmen antosianin [21]. Senyawa antosianin yang ditemukan pada kana merah diperoleh dari hasil isolasi berupa senyawa sianidin-glukopiranosida, dan sianidin-galaktopiranosida,

Kandungan total antosianin pada buah anggur merah (*Vitis vinifera* L.) sebesar 186,02 mg/ 100 gram berat basah [22]. Beberapa jenis antosianin pada buah anggur adalah delphinidin-3-glukosida, sianidin-3-glukosida, petunidin-3-glukosida, pelargonidin-3-glukosida, peonidin-3-glukosida, malvidin-3-glukosida yang diekstrak dengan metode *Pressurised Fluid Extraction* (PFE) dan diuji dengan HPLC [23].

Bunga kupu-kupu (*Oxalis triangularis*) merupakan salah satu tanaman hias dari family *Oxalis*. Tanaman ini banyak digunakan sebagai

tanaman hias karena mengandung pigmen antosianin sehingga menghasilkan warna yang menarik. Oleh karena warnanya yang menarik bunga kupu-kupu ini juga dapat dimanfaatkan sebagai pewarna pada makanan karena mengandung antosianin sebesar 195 mg/100 gram daun segar atau sebesar 2,42 gram/100 gram daun kering [24]. Isolat antosianin didapatkan dalam bentuk antosianin malvidin-glukopiranosida dengan gugus R yang berbeda-beda. Senyawa-senyawa tersebut telah diisolasi dari daun bunga kupu-kupu berwarna ungu [25].

Penelitian terkait dengan antosianin pada ubi jalar ungu telah dilakukan, dan diperoleh kandungan senyawa antosianin sebesar 519 mg/100 gram dari berat basah dan merupakan salah satu antioksidan [26,27]. Jenis antosianin pada ubi jalar ungu adalah sianidin dan peonidin seperti tercantum pada Gambar 5. Senyawa-senyawa tersebut telah diuji dan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi [28,29].

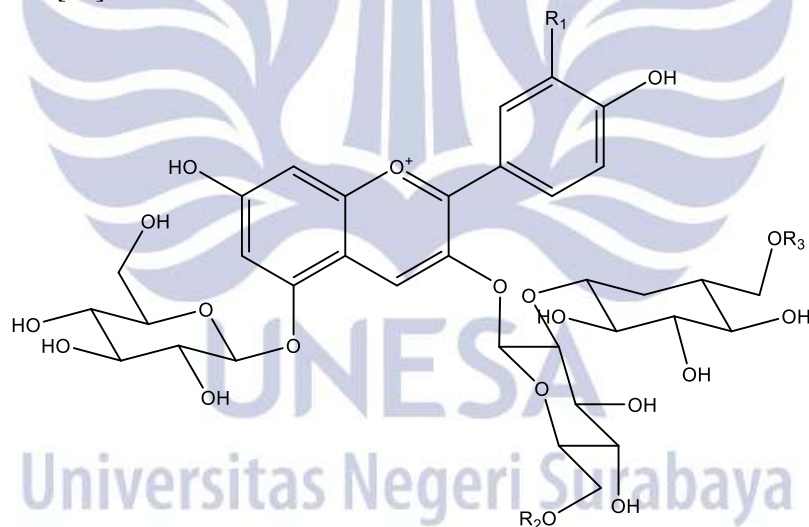


(a). sianidin 3-O-(2-O-(6-O-(E)-kaffeol- β -d-glukopiranosil)- β -d-glukopiranosida)-5-O- β -d-glukopiranosida)

(b).peonidin3-O-(2-O-(6-O-(E)-kaffeol- β -d-glukopiranosil)- β -d-glukopiranosida)-5-O- β -d-glukopiranosida

Gambar 5. Struktur antosianin pada ubi jalar ungu [29]

Terdapat 9 jenis senyawa antosianin yang ditemukan di ubi jalar ungu yang memiliki struktur utama seperti pada Gambar 6 [30].



Gambar 6. Struktur utama antosianin ubi jalar ungu [30]

Struktur antosianin ubi jalar ungu yang dibedakan berdasarkan gugus R_1 , R_2 , dan R_3 seperti tercantum pada Tabel 2. [30]

Tabel 2. Jenis antosianin pada ubi jalar ungu [30]

Nama	R ₁	R ₂	R ₃
cy-3-sophorisida-5- glukosida	OH	H	H
peo-3-sophorisida-5- glukosida	OCH ₃	H	H
cy-3-(6'',6'''-dikaffeolsophorisida)-5-glc	OH	kaff	kaff
cy-3-(6''-kaffeol-6'''-p-hydroxybenzoylsophorisida)-5-glukosida	OH	kaff	phb
cy-3-(6''- kaffeolsophorisida)-5- glukosida	OH	kaff	H
cy-3-(6''-kaffeol-6'''-feruloylsophorisida)-5- glukosida	OH	kaff	fer
peo-3-(6'',6'''-di kaffeolsophorisida)-5- glukosida	OCH ₃	kaff	kaff
peo-3-(6''- kaffeolsophorisida)-5- glukosida	OCH ₃	kaff	H
peo-3-(6''- kaffeol -6'''-p-hydroxybenzoylsoph)-5- glukosida	OCH ₃	kaff	phb
peo-3-(6''- kaffeol -6'''-feruloylsoph)-5- glukosida	OCH ₃	kaff	fer

Keterangan:

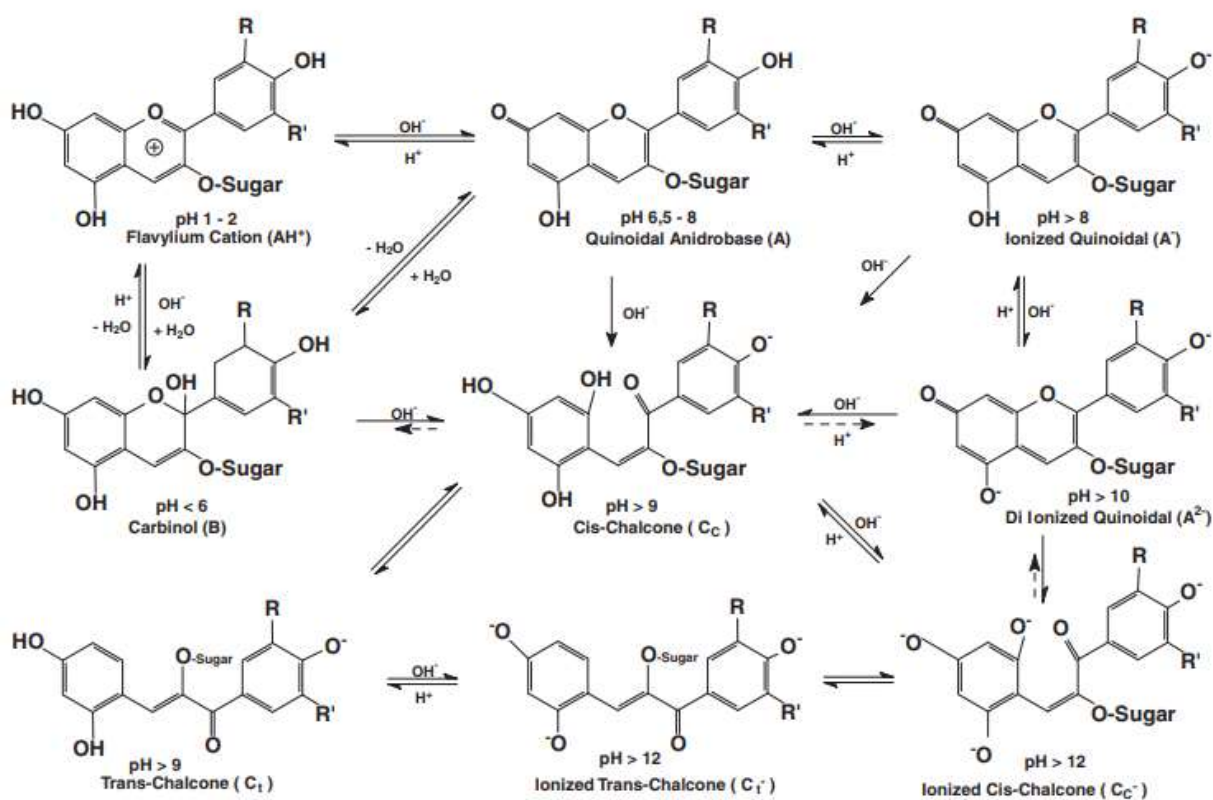
cy= cyanidin; peo= peonidin

kaff= kaffeol; fer= feruloyl; phb= p-hidroksibenzol

Stabilitas Antosianin

Antosianin merupakan senyawa bioaktif yang dapat berfungsi sebagai penangkal radikal bebas alami atau biasa disebut dengan senyawa antioksidan alami [18]. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi kestabilan antosianin sehingga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidannya antara lain pH, suhu dan enzim [6]. Struktur antosianin dipengaruhi pH dimana akan lebih stabil berada dalam suasana asam dibandingkan suasana basa [31]. Perubahan

struktur antosianin pada berbagai pH disajikan pada Gambar 7. Antosianin akan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi saat berada pada pH 1-2 karena berada pada struktur kation flavilium [32]. Struktur antosianin pada pH 6,5-8 akan berada pada struktur quinoidal yang memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah. Hal ini dikarenakan jumlah gugus hidroksil pada kation flavilium lebih banyak dibandingkan dengan struktur quinoidal sehingga mampu meredam radikal bebas lebih banyak [32].



Gambar 7. Perubahan struktur antosianin pada berbagai pH [32]

pH asam sekitar 1-4 akan membuat antosianin bersifat lebih stabil dengan

menampilkan warna oranye, merah muda, merah, dan ungu. Ketika pH 1 antosianin

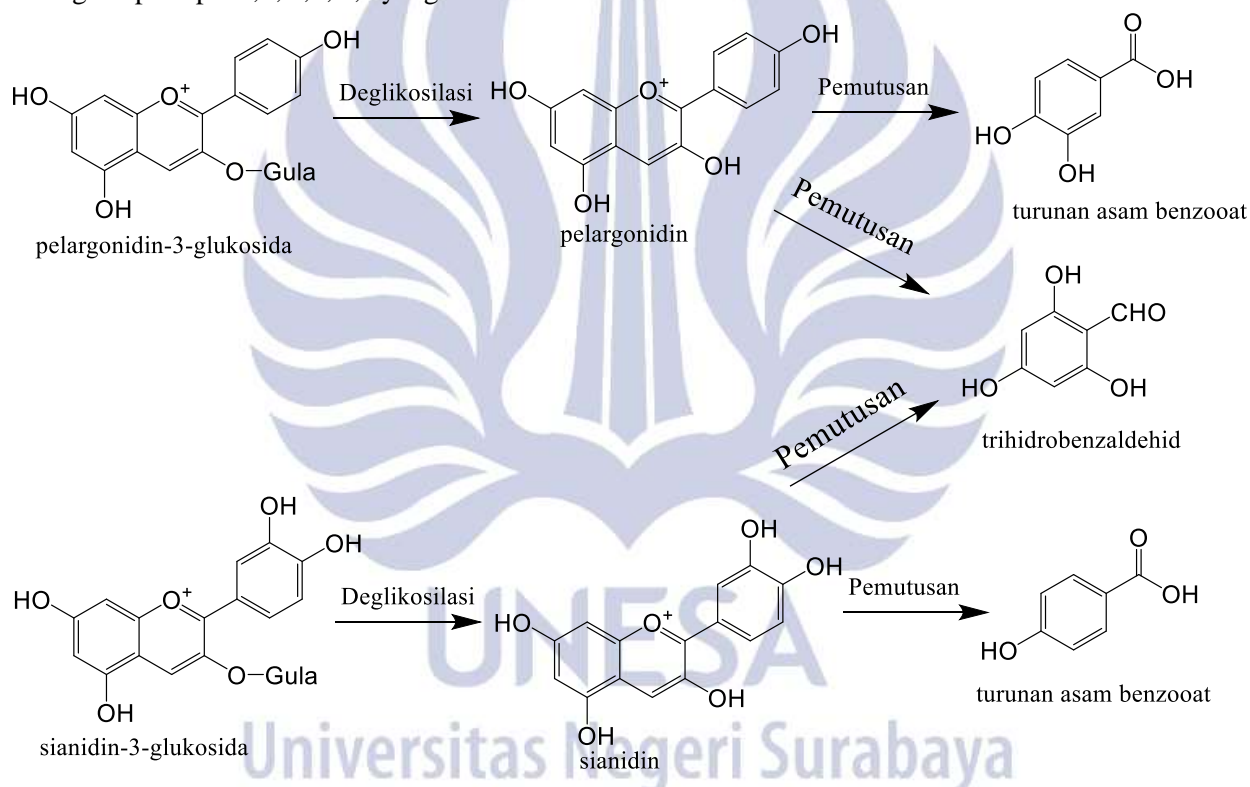
berbentuk kation flavilium yang berwarna merah, pH 2-4 memiliki bentuk kation flavilium dan karbinol sedangkan pH 5-6 terdapat dalam bentuk kuinoidal dan kalkon [9]. Warna pigmen dari senyawa antosianin yang diekstrak dari bunga rosela dapat dipertahankan pada pH 1. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan antosianin dapat dipertahankan pada pH 1 [33].

Ekstrak antosianin dari buah samarinda (*Carissa carandas*) pada pH 1 memiliki absorbansi yang lebih tinggi dibandingkan pada pH 4,5. Hal ini membuktikan bahwa komponen antosianin akan stabil pada pH 1 [34]. Perubahan struktur antosianin menjadi kuinoidal dan kalkon akan menurunkan aktivitas antioksidannya [35]. Total antosianin pada bawang merah dapat dipertahankan selama 10 hari dalam larutan pH 1, sedangkan pada pH 4,5; 7,4; 9,0 yang dalam masa

penyimpanan mengalami penurunan total antosianin [36]. Penurunan total antosianin ini akan menurunkan aktivitas antioksidan pula.

Struktur kimia antosianin juga dapat dipengaruhi oleh suhu. Suhu optimum untuk menjaga struktur antosianin adalah 30°C [37]. Pemanasan dapat menyebabkan antosianin mengalami 2 mekanisme degradasi yaitu hidrolisis ikatan 3-glikosida menjadi monomer aglikon dan cincin pyrilium akan membukakan untuk membentuk kalkon yang kemudian akan membentuk senyawa polifenol yang berwarna coklat [37].

Pada Gambar 8. menunjukkan contoh perubahan struktur kimia antosianin yang mengalami degradasi oleh proses pemanasan [34].



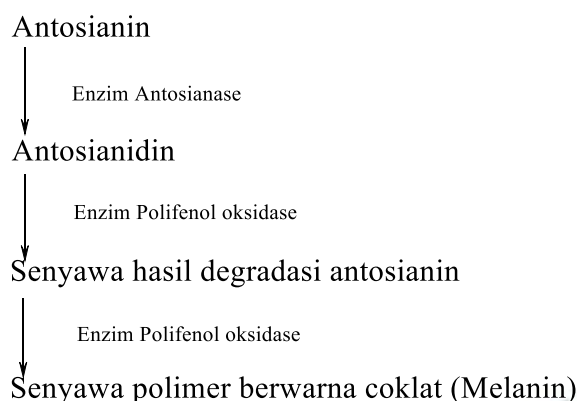
Gambar 8. Perubahan struktur antosianin akibat pemanasan [37]

Berdasarkan Gambar 8, suhu yang tinggi dapat menyebabkan degradasi senyawa antosianin yang dapat menghasilkan turunan asam benzoat yaitu asam-*p*-hidroksibenzoat dan asam-3,4-dihidroksibenzoat serta dihasilkan senyawa trihidrobenzaldehid [38]. Semakin tinggi suhu, maka kecepatan degradasi senyawa antosianin menjadi senyawa benzaldehid akan semakin cepat [39]. Antosianin dari ekstrak etanol bawang merah stabil pada suhu 30°C tetapi akan mengalami proses degradasi dimulai pada suhu 44,64°C pada pH 9, sedangkan jika pada pH

4,5 antosianin akan mulai terdegradasi pada suhu 51,74°C [36]. Aktivitas enzim yang mengganggu kestabilan antosianin dapat dihambat dengan proses pemanasan [40]. Akan tetapi hal ini tidak terlalu efektif mengingat senyawa antosianin juga tidak stabil terhadap suhu.

Antosianin dapat terdegradasi oleh enzim yang ditemukan pada tanaman seperti glikosidase dan polifenol oksidase (PPO). Glikosidase akan menghidrolisis senyawa antosianin menjadi gula dan antosianidin sedangkan polifenoloksidase akan mendegradasi menjadi senyawa turunan

yang tidak berwarna membentuk pigmen coklat melanin yang ditunjukkan sebagai berikut. [41].



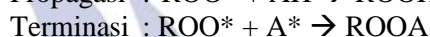
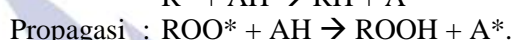
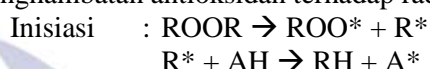
Keberadaan enzim fenolase atau polifenol oksidase akan dengan mudah mendegradasi struktur antosianin. Hal ini disebut dengan pencoklatan enzimatis [42]. Pada ubi jalar ungu kandungan antosianin dapat berkurang akibat dari aktivitas enzim polifenol oksidase (PPO) yang terdapat pada tanaman ubi jalar ungu. Ekstrak aseton sebesar $3,2g \pm 0,12$ dari 100 gram ubi jalar ungu memiliki aktivitas enzim PPO sebesar 558000 EU/g. Aktivitas enzim PPO dapat dipengaruhi oleh pH dan memiliki aktivitas maksimum pada pH 7 [43].

Fermentasi BAL mempertahankan total antosianin pada buah duwet [44]. Proses fermentasi ini diduga dapat menurunkan pH sehingga mampu menghambat aktivitas enzim

polifenol oksidase dimana enzim ini akan bekerja maksimum pada pH 6-8 [43].

Antosianin sebagai Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu meredam radikal bebas dengan cara menyumbangkan satu atau lebih atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga menghambat reaksi berantai pada proses oksidasi [45]. Senyawa antioksidan diperlukan oleh tubuh untuk menangkal radikal bebas serta melindungi sel normal, protein dan lemak dari kerusakan sel akibat radikal bebas. Berikut merupakan reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal [46]:

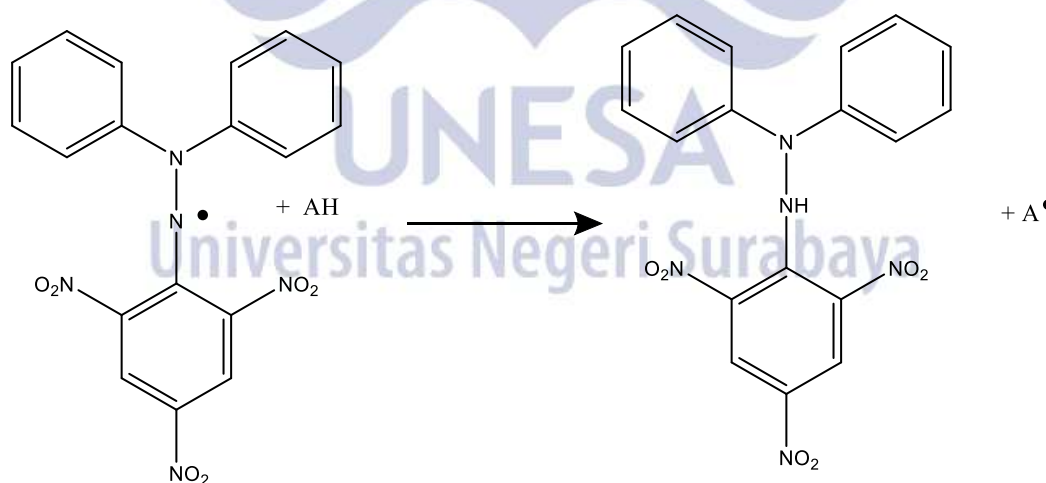


R^* dan ROO^* = radikal

AH = antioksidan

A^* = radikal antioksidan

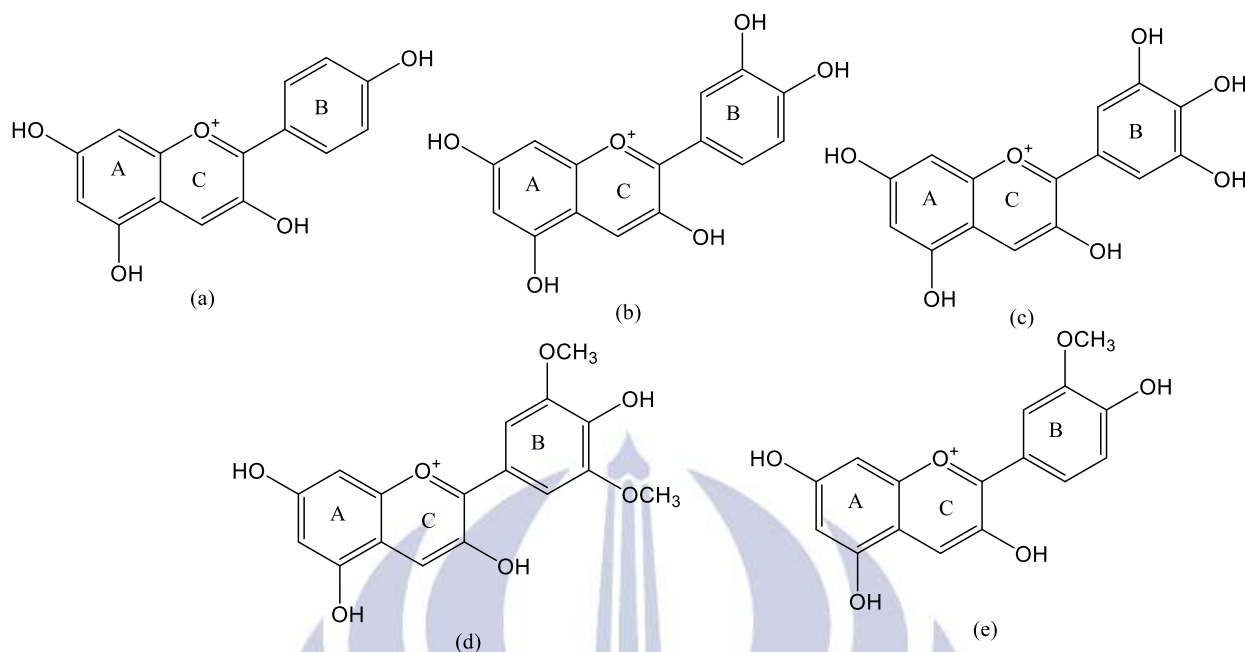
Sifat antioksidan antosianin disebabkan oleh kemampuannya dalam menyumbangkan atom hidrogen ke radikal bebas karena adanya gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik.[18]. Aktivitas antioksidan dapat diukur salah satunya dengan metode DPPH yang dinyatakan dengan IC-50 yaitu konsentrasi suatu zat yang mampu meredam atau menghambat 50% radikal bebas DPPH. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas DPPH yang ditunjukkan pada Gambar 9 [20].



Gambar 9. Reaksi DPPH dengan antioksidan [16]

Struktur dan stabilitas antosianin dipengaruhi beberapa faktor seperti pH, suhu, dan enzim sehingga akan mengakibatkan fungsi bioaktif antosianin juga dipengaruhi oleh faktor-faktor tersebut Selain itu, banyaknya gugus OH

pada cincin B mempengaruhi aktivitas antioksidan antosianin. Aktivitas antioksidan dari pelargonidin, malvidin dan peonidin termasuk rendah dibandingkan dengan cyanidin dan delphidin ditunjukkan pada Gambar 10. [18].



Gambar 10. Struktur kimia pelargonidin (a); cyanidin (b); delphinidin (c); malvidin (d); peonidin (e)

Senyawa antosianin pada bunga mawar telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan adanya penurunan kadar SGOT pada tikus yang diberi isolat antosianin dari 117,542 U/l menjadi 18,267 U/l [47]. Aktivitas antioksidan antosianin juga didapatkan dari kana merah telah diuji memiliki aktivitas antioksidan dimana aktivitas antioksidan terbesar dimiliki oleh senyawa sianidin-3-O-(6-O- α -ramnopiranosil)-b-glukopiranosida yang mampu meredam radikal DPPH sebesar 47,89% [19].

Kandungan total antosianin pada buah anggur merah sebesar 186,02 mg/100 gram berat basah dan memiliki aktivitas antioksidan tinggi yang dipengaruhi oleh jenis antosianin malvidin-3-O-glukosida dengan IC_{50} sebesar 54,55 ppm [18].

Pengaruh Proses Fermentasi BAL Terhadap Kestabilan Antosianin

Fermentasi merupakan perubahan kimia yang dilakukan oleh mikroorganisme terhadap substrat [46]. Proses fermentasi dalam bidang pangan pada umumnya adalah dalam bentuk fermentasi BAL. Proses metabolisme BAL menghasilkan asam laktat dan senyawa asam lemak rantai pendek yang akan menurunkan pH. Proses fermentasi oleh bakteri *Lactobacillus plantarum* MTCC 1407 pada media ubi ungu terbukti menghasilkan produk pickle dengan pH 2,6 dengan lama fermentasi selama 7 hari dengan konsentrasi garam 2% dimana pH awalnya

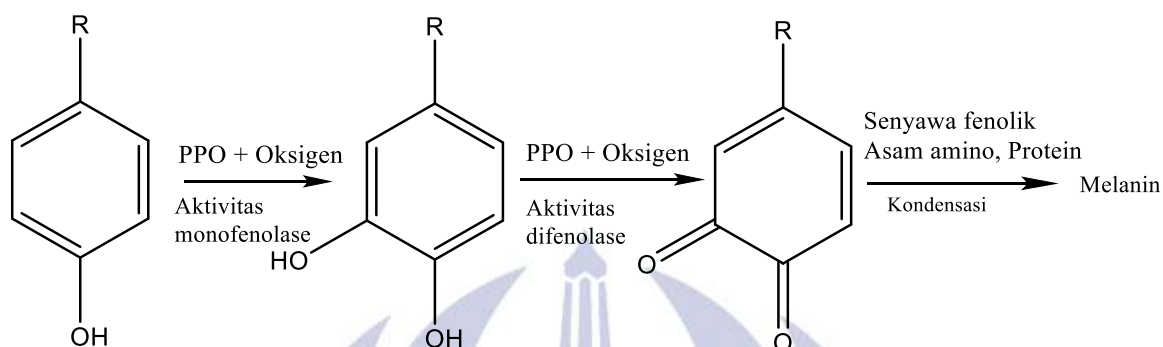
sebesar 5,5 [48]. Pada penelitian lain juga terbukti bahwa proses fermentasi menggunakan BAL pada susu juga mampu menurunkan pH dari 5,8 menjadi 2,8 dengan konsentrasi kultur starter sebesar 3% [49].

Antosianin merupakan senyawa pigmen yang dapat larut dalam air, jika dalam bentuk aglikonnya disebut sebagai antosianidin. Antosianin memiliki gula yang diikat melalui ikatan glikosida dan bersifat sangat tidak stabil pada pH >5. Antosianin akan stabil pada pH asam sekitar 1-4, berwarna oranye hingga biru, berwarna merah pada pH 1 sebagai kation flavilium dan tidak berwarna pada pH 2-4 sebagai Bercampuran kation flavilium dan quinoidal [33]. Antosianin berada pada bentuk ckarbinol pseudobasa dan kalkon yang tidak berwarna pada pH 5-6 [10]. Bentuk antosianin pada kation flavilium memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi sehingga pada pH 1-2 antosianin akan memiliki aktivitas antioksidannya yang paling tinggi [36].

Proses fermentasi dari bahan pangan nabati yang mengandung antosianin sangat menguntungkan untuk menstabilkan antosianin sehingga dapat mempertahankan aktivitas antioksidannya karena terjadi penurunan harga pH. Penurunan pH ini akan menyebabkan komponen antosianin secara langsung akan berada dalam struktur flavilium yang stabil. Pada struktur flavilium senyawa antosianin memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi karena gugus

hidroksil yang terdapat pada bentuk tersebut lebih banyak dibandingkan pada struktur pseudobasa dan kalkon pada pH 5-6 [36]. Antosianin juga dapat mengalami perubahan struktur akibat adanya aktivitas enzim polifenol oksidase. Menurut [43], enzim polifenoloksidase akan

mengoksidasi antosianin menjadi kuinon lalu mengalami kondensasi membentuk pigmen coklat (*melanin formation*). Secara umum reaksi oksidasi oleh enzim polifenol oksidase ditunjukkan pada Gambar 11. [50].



Gambar 11. Reaksi oksidasi oleh enzim PPO [46]

Proses fermentasi pada kubis merah mampu mempertahankan kandungan antosianin didalamnya dibandingkan jika direbus. Fermentasi selama 7 hari dapat meredam radikal bebas sebesar 43,6 $\mu\text{mol Trolox/g dm}$ sedangkan kubis yang direbus selama 60 menit hanya mampu meredam radikal bebas sebesar 32,6 $\mu\text{mol Trolox/g dm}$ serta menurunkan pH dari 6,2 menjadi 3,7 [51]. Penelitian lain membuktikan bahwa proses fermentasi selama 7 hari oleh *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 pada kubis merah juga mampu menurunkan pH dari 6,1 menjadi 3,8 sehingga aktivitas antioksidan dari kubis merah meningkat dari 154,87 ppm menjadi 43,56 ppm [9]. Aktivitas antioksidan pada kubis merah juga terbukti meningkat dimana proses fermentasi selama 7 hari mampu menghambat radikal bebas DPPH sebesar 24% sedangkan dengan lama fermentasi 4 hari hanya 20%. Adanya penurunan pH pada proses fermentasi tersebut mampu menghambat aktivitas enzim PPO serta berpengaruh pada kestabilan antosianin dalam bentuk flavilium. Antosianin memiliki aktivitas antioksidan tertinggi pada struktur flavilium. Kandungan antosianin pada beras ketan hitam dapat dipertahankan dengan proses fermentasi menggunakan *P.pentosaceus* N11.16 [52]. Proses fermentasi selama 24 jam mampu menangkal radikal bebas sebanyak 70% dengan konsentrasi ekstrak beras ketan hitam sebesar 25 ppm. Proses fermentasi tersebut akan menurunkan pH sehingga akan mempertahankan struktur antosianin pada bentuk flavilium sehingga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

Pada penelitian lain, proses fermentasi dengan BAL terbukti mampu meningkatkan aktivitas antioksidan dimana kekuatan antioksidan antosianidin lebih tinggi dibandingkan antosianin [18]. Total antosianin pada fermentasi dedak beras hitam mengalami penurunan yang diukur sebagai sianidin-3-glukosida sedangkan kandungan antosianidin mengalami peningkatan yang diukur sebagai sianidin. Hal ini diduga berkaitan selama proses fermentasi terjadi pemutusan ikatan glikosida oleh enzim glukosidase yang dihasilkan pada proses fermentasi. Selama proses fermentasi, terjadi penurunan pH yang berpengaruh terhadap jumlah struktur antosianidin. Fermentasi pada dedak beras hitam telah diketahui mampu meningkatkan aktivitas antioksidan dibuktikan dengan penurunan IC_{50} dimana sebelum fermentasi memiliki nilai sebesar 183,75 $\mu\text{g/FRB}$ (*fermented rice bran*) sedangkan setelah proses fermentasi selama 24 jam menjadi 175,72 $\mu\text{g/FRB}$ dengan metode ABTS [53]. Oleh karena itu, salah satu cara dalam mempertahankan kandungan antosianin dan aktivitasnya sebagai antioksidan pada bahan pangan dapat dilakukan dengan proses fermentasi oleh BAL.

KESIMPULAN

Antosianin merupakan senyawa antioksidan yang kestabilannya dipengaruhi oleh pH, suhu dan enzim PPO. Antosianin akan stabil pada pH 1-4, suhu optimum sebesar 30°C, dan inaktivasi enzim PPO. Oleh karena itu, antosianin dapat dipertahankan dengan cara proses fermentasi oleh BAL yang akan menurunkan pH

dan inaktivasi enzim PPO sehingga akan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Priska, N., Peni, M., Carvallo, L., Ngapa. Y. D. 2018. Antosianin dan Pemanfaatannya (Review). *Journal of Applied Chemistry*. Vol. 8. No. 2. 112-127
- Duran-Pazmino, E., Giusti, M. M., Ronald, E., Beatriz, A., and Gloria. 2011. Anthocyanin from *Oxalis triangularis* as potential food colorants. *Journal of FoodChem*. Vol 75. 211-216.
- Konchzak, I., Zhang, W. 2014. Anthocyanins-more than Natures Ccolours . *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. Vol 5, No. 2. 239-250.
- Kong, J., Chia, L, Chia, T. F., and Brouillard, R. 2013. Analysis Biological Activities of Anthocyanin. *Journal of Phytochemistry*. Vol 64. No.5, 923-933.
- Saati, E, A., Pusparini, A. D., Wachid, M., and Winarsih, S. 2018. The Anthocyanin Pigmen Extract of Red Rose as Antibacterial Agent. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Science*. Vol 1. No. 4. 184-187.
- Rein, M. 2005. *Copigmentation Reaction and Color Stability of Berry Anthocyanin*. Helsinki: University of Helsinki.
- Loypimai, P., Moongngarm, A., Chottanom, P. 2015. Thermal and pH Degradation Kinetics of Anthocyanins in Natural Food Colorant Prepared from Black Rice Bran. *Journal Food Science Technology*. Vol. 2. No. 12. 34-44
- Natania., Susanto, M., Cahyana A. H. 2019. Pengaruh Fermentasi Bakteri Asam Laktat terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Antosianin Buah Duwet (*Syzygium cumini*). *Jurnal Sains dan Teknologi*. Vol 3. No 2. 56-67.
- Hunaefi, D., Akumo, D. N., Smetanska. I. 2013. Effect of Fermentation on Antioxidant Properties of Red Cabbages. *Journal of Food Technology*. Vol. 11. No.27. 66-85.
- He, Juan., Giusti, M, M. 2010. Anthocyanin: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. *Journal of Food Science and Tech*. Vol. 1. No.1. 163-187.
- Liu, Y, Tikunov, Y., Schouten, R. E., Marcelis, L. F. M., Visser, R. G. F., Bovy, A. 2018. Anthocyanin Biosynthesis and Degradation Mechanism in *Solanaceous* Vegetable. *Frontier in Chemistry*. Vol 6. No. 52. 1-17
- He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., Reeves, M. J., Duan, C. Q. 2010. Biosynthesis of Anthocyanins and Their Regulation in Colored Grapes. *Journal Molecules*. Vol. 15. No. 1. 9057-9091.
- Pina. F., Melo, N., Laia. C. S. R, Parola, A. J., and Lima, J. C. 2012. Applications of Flavylum Compounds. *Chem Soc Rev*. Vol. 41 No.2. 869-908.
- Sylva, V.O., Freytas, A. A., Macanita, A. L., and Quina, F. H. 2016. Chemistry and Photochemistry of Natural Plant Pigments: The Anthocyanin. *Journal of Physican Organic Chemistry*, Vol. 29. No.11. 594-599.
- Martin, J., Kuskoski, E. M., Navas, M. J., and Asuero, A. G. 2018. *Flavonoid-From Biosynthesis to Human Health: Antioxidant Capacity of Anthocyanin Pigments*. Croatia: INTECH
- Miguel, M. G. 2012. Anthocyanins: Antioxidant and/or Anti-inflammatory Activities. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol. 6. 07-15.
- Tsuda, Takanori. 2012. Anthocyanin as Functional Food Factors. *Journal of Food Science Technology*. Vol. 18. No.3. 315-324.
- Castaneda-O, A., de Lourdes, M., Paez-Hernandez. M. P., Rodriguez, J. A. 2009. Chemical Studies of Anthocyanins (Review). *Journal of Food Chemistry*. Vol. 1. No.113. 869-881.
- Srivatava, J., Vankar, P. S. 2012. *Canna indica Flower: New Source Anthocyanin*. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*. Vol 48. No. 2. 1015-1019.
- El Husna, M., Novita, M., Rohaya., Syarifah, R. 2013. Kandungan Antosianin dan Aktivitas Antioksidan Ubi Jalar Ungu Segar dan Produk Olahannya. *Journal of Agritech*. Vol. 33. No 3. 454-469
- Saati, E. A. 2015. Eksplorasi Pigmen Antosianin Bahan Hayati Lokal Pengganti Rhodamin B dan Uji Efektivitasnya pada Beberapa Produk Industri/Pangan. *JURNAL GAMMA*. Vol 9. No.2. 109-117
- Kallithraka, S., Aliaj, L., Makris, D. P., and Kefalas, P. 2009. Anthocyanin profiles of major red grape (*Vitis vinifera* L.) Varieties Cultivated in Greece and Their Relationship with *in vitro* Antioxidant Characteristics. *International Journal Food Science and Technology*. 44. 2385-2393.

23. Honova, B., Stavkova, L., and Karasek, P. 2010. Determination of Anthocyanins in Red Grape Skin by Pressurised Fluid Extraction and HPLC. *Czech Journal Food and Science*. Vol. 26. S39-S42.
24. Nielsen, D. L., Simons, A.M. 2011. Photosynthesis in Two Differently coloured varieties of *Oxalis triangularis* The effect of Anthocyanin Content. *Journal of Photosynthetic*. Vol. 49. No.3. 346-352.
25. Fossern, T., Rayan, S., Holmberg, M. H., Nateland, H. S., Andersen, M. O. 2010. Acylated Anthocyanin from *Oxalis triangularis*. *Journal of Phytochemistry*. 66. 1133-1140.
26. Winarti S, Sarofa U, Anggrahini D. 2013. Ekstraksi dan stabilitas warna ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas*) sebagai pewarna alami. *J Teknik Kimia*. Vol. 3. No.1. 113-123.
27. Hardoko., Hendarto, L., Siregar, T. M. 2010. Pemanfaatan Ubi Jalar Ungu sebagai Pengganti Sebagian Tepung Terigu dan Sumber Antioksidan Roti Tawar. *Jurnal Teknologi dan Pangan*. Vol 11. No.1. 231-243
28. Ho-Lee, J., Velmurgan, P., Park, Jung-Hee., Chang, Woo-Suk., Park, Yool-Jin., Oh, Byung-Taek. 2018. Photo-fermentation of purple sweet potato (*Ipomoea batatas*) using Probiotic Bacteria and LED lights to Yield Functionalized Bioactive Compounds. *Journal of Biotech*. Vol 8. No.2. 3402-3412
29. Aoran, Li., Xiao, R., He, S., An, Xiaoyu., Wang, Chengtao., Yin, Sheng., Wang, Bin., Shi, Xuwei., He. J. 2019. Research Advances of Purple Sweet Potato Anthocyanins: Extraction, Identification, Stability, Bioactivity, Application, and Biotransformation. *Journal of MDPI*. Vol. 24. No. 3861. 1-21
30. Cuevas, E., Hillebrand, S. 2011. Anthocyanins Purple Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.) Varieties. *Journal of Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*. Vol 5. No. 2. 19-24.
31. Lev, R., Okyun, Z., and Shpygelman, A. 2019. The Influence Chemical Structure and Its Presence of Ascorbic Acid on Anthocyanins Stability and Spectral Properties in Purified Model System. *Journal Foods*. Vol. 8. No.1. 207-215.
32. Marco, P. H., Poppy, R. J., Scarrminio, I. S., Tauler. R. 2011. Investigation the pH Radiation on Kinetic Degradation of Anthocyanin Mixtures Extracted from *Hibiscus acetosella*. *Journal of Food Chemistry*. Vol. 1. No. 125: 1020-1027.
33. Sipahli, Shivon., Mohanlall, Viersh., Mellem, John Jason. 2017. Stability and Degradation Kinetics of Crude Anthocyanin Extract from *H. sabdariffa*. *Journal Food Science and Technology*. Vol. 37. No.2. 209-215
34. Tien Le, X., Huyn, N. T., Phan, T. N., Than, V. T., Toan, T. Q., Bach, L. G., Trung, N. Q. 2019. Optimization of Total Anthocyanin Content, Stability and Antioxidant Evaluation of the Anthocyanin Extract from Vietnamese *Carissa carandas* L. Fruits. *Journal of MDPL*. Vol 7. No 468.
35. Wahyuningsih, S., Wulandari, L., Hartono, M. W., Munawaroh, H., Ramlan, A. H. 2016. The Effect pH and Color Stability of Anthocyanin as Food Colorant. *International Conference of Food Science and Engineering 2016*. Vol.2. No.1. 12-20
36. Oancea, Simona and Dragichi, Olga. 2013. pH and Thermal Stability of Anthocyanin-based Optimised Extracts of Romanian Red Onion Cultivars. *Czech Journal Food Science*. Vol 31. No 3. 283-291.
37. Mirela, K., Pilizota, V., Subaric, D., and Babic, J. 2010. Prevention Thermal Degradation of Red Currant Juice Anthocyanins by Phenolic Compound Addition. *Journal Food Science and Tech*. Vol. 1. No. 1. 24-30.
38. Patras, S., Brunton, N. P., O'Donnel, C., Tiwari, B.K. 2010. Effect of Therman Proscressing on Anthocyanin Stability in Foods. *Journal of Food Science and Technology*. Vol. 1. No. 21. 3-11.
39. Laleh, G. H., Frydonfar. H., Heidary. R., Jameei. R., Zare. S. 2006. The Effect of Light, Temperature, pH, and Species on Stability of Anthocyanin Pigments in Four *Berberis* Species. *Pakistan Journal of Nutrition*. Vol 5. No.1. 90-92.
40. Francis, F. J., Markakis, P. C. 1989. Food colorants: Anthocyanins. *Reviews in Food Science and Nutrition*. Vol 28. No.4. 273-314.
41. Lotfi, K. L., Kalbasi-Ahtari, A., Hamedi, N., and Ghorbani, F. 2015. Effect of Enzymatic Extracion Anthocyanins Yield of Saffron Tepals (*Crocus sativus*) with its Color Properties and Structural Stability. *Journal of Food and Drug Analysis*. Vol 1. No. 9. 1-9
42. Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka.
43. Manohan, Deepaa., and Wai., Wong Chen. 2012. Characterization of Polyphenol Oxidase

- in Sweet Potato (*Ipomoea batatas*). *Journal for the Advancement of Science & Arts*. Vol. 3, No.1. 14-31.
44. Natania., Susanto, M., Cahyana A. H. 2019. Pengaruh Fermentasi Bakteri Asam Laktat terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Antosianin Buah Duwet (*Syzygium cumini*). *Jurnal Sains dan Teknologi*. Vol 3. No 2. 17-26.
45. deMan, M John. 1997. *Kimia Pangan*. Bandung : ITB.
46. Murray R.K., Granner D.K., Rodwell V.W., 2009. *Biokimia Harper*, (Andri Hartono). Edisi 27. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
47. Saati, E. A. 2016. Antioxidant Power of Rose Anthocyanin Pigment. *Journal of Engineering and Applied Science*. Vo.11, No.17. 10202-10204
48. Panda, S. H., Ray, R.C. 2011. Lactic Acid in Fermentation of Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) into Pickles, *Journal of Food Processing and Preservation*. Vol. 2. No.31. 81-101.
49. Prakasita., Radiati, Lilik Eka., Rosyidi, Djalal. 2014. *Effect of Addition of Various Concentration on pH, Acidity Levels, Viscosity and Syneresis Set Yoghurt*. Faculty of Animal Husbandry. Brawijaya University.
50. Taranto, F., Pasqualone, A., Mangini, G., Tripodi, P., Miazzi, M. M., Pavan, S., Montemurro, C. 2017. Polyphenol Oxidases in Crops: Biochemical, Physiological and Genetical Aspects. *International Journal of Molecular Science*. Vol 2. No.18. 377-389.
51. Wiczowski, W., Szawara-Nowak, D., Topolska, J. 2015. Changes in The Content and Composition of Anthocyanin in Red Cabbage and Its Antioxidant Capacity during Fermentation, Storage and Stewing. *Journal of Food Chemistry*. Vol. 167. No 23.115-123.
52. Suhartatik, N., Mustofa, A., Mursito, P. 2019. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Black Glutinous Rice Anthocyanin during Fermentation by *Pediococcus pentosaceus* N11.16. *Journal of Agritech*. Vol. 39. No.1. 30-35.
53. Chaiyasut, C., Pangkumsri, N., Sirilun, S., Peerajan, S., Khongtan, S., Sivamaruthi, B. S. 2017. Assesment of Changes in The Content of Anthocyanins, Phenolic Acids, and Antioxidant Property of *Saccharomyces cerevisiae* Mediated Fermented Black Rice Bran. *AMB Express*. Vol. 7. No. 4. 114-125.

