

**PENGEKSTRAKAN PIGMEN KAROTENOID DARIPADA KULIT
OREN DAN KESESUAIAN SEBAGAI
AGEN PEWARNA
MAKANAN**

ANG SIOH THENG

**LATIHAN ILMIAH YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI
SEBAHAGIAN SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA
MUDA SAINS MAKANAN DENGAN KEPUJIAN DALAM BIDANG
TEKNOLOGI MAKANAN DAN BIOPROSES**

**PROGRAM TEKNOLOGI MAKANAN DAN BIOPROSES
SEKOLAH SAINS MAKANAN DAN PEMAKANAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH
2005**



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS

JUDUL: Pengekstrakan pigmen Karotenoid daripada kulit Oren dan Kesesuaian sebagai agen pewarna makanan.

IJAZAH: Sarjana Muda Sains Makanan dan Pemakanan

SESI PENGAJIAN: 2002

Saya Ang Sion Theng

(HURUF BESAR)

mengaku membenarkan tesis (LPS/ Sarjana/ Doktor Falsafah) ini di simpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institusi pengajian tinggi.
4. ** Sila tandakan (/)

☐

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

☐

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

☒

TIDAK TERHAD

Disahkan oleh

Theng

(TANDATANGAN PENULIS)

[Signature]

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

mat Tetap: 163-A, Jalan 9,

Taman Sentosa, 34000 Taiping,

Perak

En. Mansoor

Nama Penyelia

Tarikh: 28-3-05

Tarikh: 28-3-05

CATATAN: * Potong yang tidak berkenaan.

* Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampiran surat daripada pihak berkuasa/organsasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

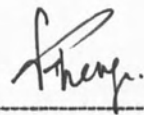
* Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM)



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

Karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan, ringkasan dan rujukan yang tiap-tiap satunya telah saya jelaskan sumbernya.



ANG SIOH THENG

HN 2002-4785

26 FEBRUARI 2005



PENGAKUAN PEMERIKSA

Diperakukan oleh

Tandatangan

1) PENYELIA

(EN. MANSOOR B. ABDUL HAMID)



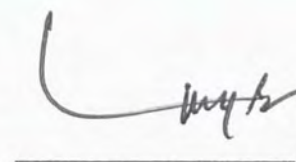
2) PEMERIKSA-1

(EN. OTHMAN HASSAN)



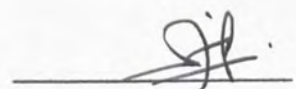
3) PEMERIKSA-2

(DR. CHYE FOOK YEE)



4) DEKAN

(PROF. MADYA. DR. MOHD. ISMAIL ABDULLAH)



PENGHARGAAN

Terlebih dahulu, saya ingin mengucapkan setinggi-tinggi penghargaan kepada penyelia saya iaitu Encik Mansoor B. Abdul Hamid kerana beliau sentiasa memberi bimbingan, nasihat dan sokongan kepada saya di sepanjang menjalankan penyelidikan ini. Jasa beliau tidak akan saya lupa.

Saya berasa sangat gembira setelah berjaya menyiapkan kajian ini. Saya amat berterima kasih kepada keluarga saya yang sentiasa memberi sokongan, semangat dan juga sumbangan kewangan yang amat bernilai kepada saya di sepanjang kajian ini dijalankan.

Selain itu, setinggi-tinggi penghargaan dan ucapan terima kasih saya diucapkan ke atas pertolongan para pensyarah Sekolah Sains Makanan dan Pemakanan, pihak-pihak makmal, para panel dan lain-lain lagi yang telah membantu saya menyempurnakan penyelidikan ini.

Di samping itu, saya juga ingin berterima kasih kepada kawan-kawan saya yang menemani saya di sepanjang kajian ini dijalankan. Mereka telah memberi bimbingan dan sokongan kepada saya apabila menghadapi masalah.

Dorongan, kasih sayang dan bantuan anda telah menjadi inspirasi saya untuk menyempurnakan penyelidikan ini dan akan saya menghargainya selama-lamanya. Sekian terima kasih.

Ikhlās dari,
ANG SIOH THENG
HN2002/4785



ABSTRAK

Penyelidikan ini dijalankan untuk mengkaji penyesuaian pigmen karotenoid daripada kulit oren sebagai agen pewarna makanan. Kaedah pengekstrakan pigmen karotenoid yang terbaik berasaskan peratusan perolehan telah dilakukan iaitu dengan menggunakan pelarut aseton dan metanol. Selain itu, analisis ke atas kestabilan pigmen karotenoid yang diekstrakkan terhadap kesan pH, suhu dan kesan simpanan dari segi cahaya dan suhu dijalankan. Seterusnya, tahap penerimaan pigmen karotenoid sebagai agen pewarna makanan diujikan. Keputusan menunjukkan bahawa jumlah purata peratusan perolehan yang diekstrakkan oleh pelarut metanol adalah sebanyak $45.12 \pm 0.05\%$ manakala pelarut aseton hanya sebanyak $17.92 \pm 0.05\%$. Di samping itu, melalui penyelidikan ini didapati bahawa pigmen karotenoid adalah lebih stabil pada keadaan neutral serta medium beralkali, kurang stabil terhadap suhu yang tinggi seperti $100 \pm 3^{\circ}\text{C}$ daripada suhu yang rendah seperti $0 \pm 3^{\circ}\text{C}$ serta lebih sesuai disimpan pada tempat yang dilindungi daripada pendedahan cahaya atau tempat gelap daripada tempat bercahaya dan tempat yang sejuk ($0 \pm 3^{\circ}\text{C}$) daripada tempat yang bersuhu bilik ($30 \pm 3^{\circ}\text{C}$). Selain itu, pigmen karotenoid yang diekstrakkan daripada kulit oren yang sebagai agen pewarna mendapati kebanyakan panel menyukai warna dan aroma sampel agar – agar yang mengandungi pigmen karotenoid daripada pewarna sintetik. Dari segi warna, didapati produk yang mempunyai sebanyak 0.01% sampel karotenoid adalah paling disukai oleh kebanyakan panel manakala dari segi aroma sampel, didapati produk yang mengandungi 0.10% pigmen karotenoid adalah paling disukai oleh para panel. Secara keseluruhan, produk yang mengandungi 0.10% pigmen karotenoid adalah paling diterima oleh kebanyakan panel.



ABSTRACT

EXTRACTION OF PIGMENT CAROTENOIDS FROM ORANGE PEEL AND SUITABILITY AS A FOOD COLOURING AGENT

This study was carried out to evaluate the suitability of pigment carotenoids from orange peel as a food colouring agent. The best method of extraction the pigment carotenoids from orange peel through comparing the percentage of recovery was done by using the acetone and methanol method. Besides that, analyses of the stabilities of pigment carotenoids that had been extracted to pH, temperature and storage test was carried out. Moreover, acceptance level of pigment carotenoids as a food colouring agent was carried out using sensory tests. The results showed that extraction of pigment carotenoids by the methanol method has a higher recovery of $45.12 \pm 0.05\%$ compared to the acetone method of $17.91 \pm 0.05\%$. Besides that, the results also showed that pigment carotenoids were stable to neutral and alkaline pH, but less stable to high temperature ($100 \pm 3^{\circ}\text{C}$) than the low temperature such as $0 \pm 3^{\circ}\text{C}$ and more suitable to be kept in places less exposed to light and places with low temperature ($0 \pm 3^{\circ}\text{C}$) than places with room temperature ($30 \pm 3^{\circ}\text{C}$). Furthermore, the carotenoids pigment that had been extracted from orange peel and used as a food colouring agent showed that most of the panel prefer its colour and the aroma over synthetic colourant. For the attribute of colour, sample that contained 0.01% of pigment carotenoids had the highest mean score whereas for the attribute of aroma, sample containing 0.10% pigment carotenoids had the highest mean score. Overall, the product which contained 0.10% of pigment carotenoids was most accepted by the panels.



KANDUNGAN

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGAKUAN	ii
PENGAKUAN PEMERIKSA	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KANDUNGAN	vii
SENARAI SIMBOL / SINGKATAN	x
SENARAI JADUAL	xi
SENARAI RAJAH	xii
SENARAI PERSAMAAN	xiii
SENARAI LAMPIRAN	xiv
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif	5
 BAB 2 ULASAN KEPUSTAKAAN	 6
2.1 <i>Citrus</i>	6
2.1.1 Botani	7
2.1.2 Ekologi dan Fisiologi	8
2.1.3 Taksonomi	9
2.1.4 Spesies	11
2.1.4.1 Oren Manis (<i>Citrus sinensis osbeck</i>)	11
2.1.4.2 Oren Masam (<i>Citrus aurantium</i>)	16
2.1.4.3 Tangerin (<i>Citrus reticulata blanco</i>)	17
2.1.4.4 Mandarin (<i>Citrus reticulata var. nobilis</i>)	19
2.1.5 Komposisi Buah Oren	20
2.1.5.1 Kandungan Air	21
2.1.5.2 Kandungan Gula	21
2.1.5.3 Asid Amino	22
2.1.5.4 Asid Organik	22
2.1.5.5 Vitamin	23



2.1.5.6	Karotenoid	23
2.1.5.7	<i>Flavonoid</i>	24
2.2	Bahan Pewarna	24
2.2.1	Karotenoid	25
2.2.1.1	Sifat-sifat Umum dan Kestabilan	26
2.2.1.2	Struktur	27
2.2.1.3	Taburan	28
2.2.1.4	Tindak Balas Kimia	28
2.2.2	Beta – karoten	29
2.2.3	<i>Cryptoxanthin</i>	30
2.2.4	Likopena	31
2.2.5	<i>Violaxanthin</i>	31
2.2.6	<i>Xanthophylls</i>	32
2.2.7	<i>Zeaxanthin</i>	32
2.3	Pengekstrakan	33
2.4	Kromatografi Lapisan Nipis	34
BAB 3	BAHAN DAN KAEDAH	36
3.1	Bahan	36
3.1.1	Sampel	36
3.2.1	Pengekstrakan Pigmen Karotenoid dengan Pelarut Aseton	36
3.2.2	Pengekstrakan Pigmen Karotenoid dengan Pelarut Metanol	39
3.3	Penentuan Peratusan Perolehan Karotenoid	39
3.4	Pengesahan dan Pemisahan oleh Kromatografi Lapisan Nipis	39
3.5	Analisis Kestabilan Pigmen	41
3.5.1	Kesan pH	41
3.5.2	Kesan Suhu	42
3.5.3	Kesan Simpanan terhadap Kestabilan Pigmen Karotenoid	42
3.5.3.1	Kesan Cahaya	42
3.5.3.2	Kesan Suhu	43
3.6	Kesesuaian Pigmen Karotenoid dalam Agar-agar	44
3.7	Pengujian Sensori	45
3.7.1	Ujian Skala Hedonik	45



BAB 4 HASIL DAN PERBINCANGAN	46
4.1 Perbandingan Peratusan Perolehan Pigmen Karotenoid yang Diekstrak Menggunakan Aseton dan Metanol	46
4.2 Pengesahan dan Pemisahan oleh Kromatografi Lapisan Nipis	49
4.3 Kesan pH Terhadap Kestabilan Pigmen Karotenoid	51
4.4 Kesan Suhu Terhadap Kestabilan Pigmen Karotenoid	53
4.5 Kesan Simpanan dari Segi Kesan Cahaya Terhadap Kestabilan Pigmen Karotenoid	55
4.6 Kesan Simpanan dari Segi Kesan Suhu Terhadap Kestabilan Pigmen Karotenoid	57
4.7 Analisis Ujian Penilaian Deria Bagi Produk Agar-agar Dengan Agen Pewarna Makanan	58
BAB 5 KESIMPULAN DAN CADANGAN	62
5.1 Kesimpulan	62
5.2 Cadangan	63
RUJUKAN	65
LAMPIRAN	69



SENARAI SIMBOL / SINGKATAN

nm	nanometer
m	meter
cm	sentimeter
mm	millimeter
mg	miligram
kg	kilogram
g	gram
mg/ml	milligram per mililiter
°C	Celsius
β	beta
α	alfa
%	peratus
rpm	round per minit
ml	milliliter
N	Normaliti
TLC	Thin Layer Chromatography
UMS	Universiti Malaysia Sabah
SSMP	Sekolah Sains Makanan dan Pemakanan
SPSS	<i>Statistical Package Social Science</i>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Halaman
2.1 Nama-nama Botanikal, Inggeris dan Tempatan bagi Buah Oren Berspesies <i>Eucitrus</i>	10
2.2 Contoh-contoh Epifasa serta Hipofasa Karotenoid	29
3.1 Formulasi Sampel Agar-agar	44
4.1 Keputusan Peratusan Perolehan Pigmen Karotenoid Dalam Setiap 10g Sampel	46
4.2 Perbandingan Nilai-nilai R_f Sampel Dengan Nilai-nilai Piawai Pigmen Karotenoid Dengan Menggunakan Campuran Pelarut 5% Metanol Dalam Toluena	49
4.3 Keputusan Kepekatan Awal dan Kepekatan Akhir Sampel Analisis Terhadap Kesan pH	51
4.4 Keputusan Kepekatan Awal dan Kepekatan Akhir Sampel Analisis Terhadap Kesan Suhu	54
4.5 Perbezaan Kepekatan Awal Sampel dan Kepekatan Akhir Terhadap Kesan Cahaya Dalam Masa Sebulan	56
4.6 Perbezaan Kepekatan Awal Sampel dan Kepekatan Akhir Terhadap Kesan Cahaya Dalam Masa Sebulan	57
4.7 Ringkasan Keputusan Ujian Analisis Penilaian Sensori	59



SENARAI RAJAH

No. Rajah	Halaman
2.1 Ringkasan Taksonomi Tanaman <i>Citrus</i>	10
2.2 Gambarfoto <i>Citrus sinensis</i>	11
2.3 Gambarfoto <i>Navel Orange</i>	14
2.4 Gambarfoto <i>Citrus aurantium</i>	16
2.5 Gambarfoto <i>Citrus reticulata Blanco</i>	17
2.6 Gambarfoto <i>Citrus reticulata var. nobilis</i>	19
3.1 Carta Alir Pengekstrakan Pigmen Karotanoid dengan Pelbagai Pelarut Organik	38
3.2 Gambarfoto Pengekstrakan Pigmen Karotenoid Oleh Pelarut	38
3.3 Gambarfoto Mesin UV/VIS Spektrofotometer	41
3.4 Gambarfoto Ujian Dijalankan pada Tempat Gelap	43
3.5 Carta Alir Penghasilan Agar-agar Bercampuran Agen Pewarna	44
4.1 Gambarfoto Perubahan Warna pada Pigmen Karotenoid Mengikut pH	52
4.2 Gambarfoto Perubahan Warna pada Pigmen Karotenoid Mengikut Suhu	55



SENARAI PERSAMAAN

No. Persamaan	Halaman
3.1 Penentuan Peratusan Perolehan Karotenoid	39
3.2 Pengiraan Nilai R_f Komponen	40



SENARAI LAMPIRAN

No. Lampiran	Halaman
A : Borang Ujian Hedonik	69
B1 : Gambarfoto Pigmen Karotenoid yang Diekstrakkan	70
B2 : Gambarfoto Pemisahan Campuran Dietil Ether yang Mengandungi Karotenoid dengan Larutang Berair	70
C1 : Gambarfoto Mesin Penyejat Gerak Putar	71
C2 : Gambarfoto Kromatografi Lapisan Nipis	71
D1 : Rajah Struktur Kimia Beta-Karoten	72
D2 : Rajah Struktur Kimia Beta-Karoten Bertukar Kepada Vitamin A	72
D3 : Rajah Struktur Kimia <i>Cryptoxanthin</i>	72
E1 : Rajah Struktur Kimia Likopena	73
E2 : Rajah Struktur Kimia <i>Violaxanthin</i>	73
E3 : Rajah Struktur Kimia <i>Zeaxanthin</i>	73
F1 : Graf Piawai Karotenoid	74
G1 : Graf Keputusan Analisis Kepekatan Awal Dan Kepekatan Akhir Sampel Terhadap Kesan pH	75
G2 : Graf Keputusan Analisis Kepekatan Awal Dan Kepekatan Akhir Sampel Terhadap Kesan Suhu	75
H1 : Graf Perbezaan Kepekatan Awal Sampel Dan Kepekatan Akhir Sampel Terhadap Kesan Cahaya Dalam Masa Empat Minggu	76
H2 : Graf Perbezaan Kepekatan Awal Sampel Dan Kepekatan Akhir Sampel Terhadap Kesan Suhu Dalam Masa Empat Minggu	76
I : Keputusan Analisis Ujian Hedonik	77



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Pengenalan

Warna merupakan satu sifat yang dapat dilihat pada sesuatu objek. Dari segi fizik, ia terhasil daripada pancaran cahaya dengan jarak gelombang di antara 400 – 800nm yang dipantulkan oleh benda-benda tertentu. Dari segi biologi pula, warna boleh didefinisikan sebagai satu persepsi yang dikumpulkan oleh perasaan seseorang. Perasaan ini pula dihasilkan daripada aktiviti retina pada mata seseorang (Murano, 2003).

Warna merupakan salah satu faktor yang sangat penting dalam menentukan kebolehterimaan sesuatu produk oleh para pengguna, terutamanya makanan. Ini adalah kerana kebanyakan ahli sains makanan akan mengukur, menganalisis serta mentafsir tindak balas manusia terhadap ciri-ciri makanan dan minuman dengan menggunakan persepsi yang ditafsirkan oleh kelima-lima deria iaitu mata, telinga, hidung, lidah dan tangan. Tanpa warna pada sesuatu hasil makanan, ia akan mempengaruhi penilaian perisa seseorang pengguna terhadap produk makanan tertentu. Oleh itu, warna merupakan satu faktor yang penting dalam menentukan mutu makanan. Dalam perkataan lain, warna merupakan salah satu sifat mutu deria yang paling penting bagi sesuatu makanan.



Bahan pewarna memainkan peranan yang sangat penting untuk menghasilkan persepsi yang menarik dari segi warna pada setiap makanan. Menurut Akta Makanan 1985, bahan pewarna didefinisikan sebagai apa-apa bahan yang apabila ditambah pada makanan, boleh memberi warna pada makanan tersebut.

Dalam proses pemprosesan dan penghasilan makanan, kebanyakan warna asli pada bahan mentah tersebut akan hilang. Kejadian ini akan menyebabkan produk makanan yang dihasilkan kurang menarik. Bahan pewarna lalu ditambahkan ke dalam proses pemprosesan makanan tersebut. Dengan itu, nilai penerimaan oleh para pengguna terhadap makanan tersebut akan meningkat.

Selain itu, pewarna makanan adalah penting untuk mengekalkan keseragaman warna yang disebabkan perbezaan semulajadi dalam intensiti warna untuk memastikan kebolehterimaan makanan tertentu. Ini adalah kerana di tempat atau budaya serta musim yang berlainan, sesetengah bahan mentah akan wujud pada warna yang berlainan. Oleh itu, demi meningkatkan nilai penerimaan pengguna pada tempat tertentu, bahan pewarna ditambahkan pada makanan untuk digemari oleh orang ramai.

Di samping itu, tujuan sesetengah bahan pewarna ditambahkan pada makanan oleh pengusaha adalah kerana sesetengah bahan pewarna dapat menstabilkan beberapa jenis vitamin serta perisa makanan yang sensitif terhadap cahaya. Di sini, bahan pewarna akan berfungsi sebagai bahan penghalang untuk mengelakkan pendedahan vitamin dan perisa kepada cahaya seperti klorofil (Lim, 1987).



Sementara itu, bahan pewarna juga dapat mewarnakan sesetengah produk makanan yang asalnya memang tidak mempunyai warna yang menarik. Contohnya, bahan pewarna dalam pemprosesan ais-kerim, gula-gula dan lain-lain lagi. Dengan ini, bahan pewarna dapat meningkatkan kepuasan pengguna terhadap menikmati makanan tersebut. Contohnya, Annatto dan Saffron yang sentiasa digunakan dalam mewarnakan gula dan ais-kerim (Lim, 1987).

Di samping itu, pewarna makanan ditambahkan pada makanan untuk memperkuat lagi warna yang wujud pada makanan tertentu. Tujuannya adalah untuk menyakinkan penilaian pengguna terhadap hasil makanan tersebut. Ini adalah kerana kebanyakan pengguna suka memastikan rasa makanan tertentu dengan melihat warna pada makanan tersebut (Mat & Lim, 1984).

Sememangnya tidak dapat dinafikan bahawa bahan pewarna sintetik di pasaran adalah banyak serta lebih digemari untuk digunakan dalam makanan. Penggunaan pewarna ini bukan sahaja diguna oleh pengusaha, pengeluar bahkan suri rumah juga. Ini adalah kerana bahan pewarna sintetik lebih mudah digunakan, lebih mudah diperolehi, mempunyai kestabilan serta daya tahan yang tinggi berbanding dengan pewarna semulajadi. Namun begitu, ada kajian telah membuktikan penggunaan pewarna sintetik memberi kesan sampingan. Selain itu, didapati banyak pengusaha ataupun pengeluar masih menggunakan bahan pewarna yang tidak diluluskan dalam pemprosesan makanan demi keuntungannya. Di Malaysia, penggunaan bahan pewarna yang tidak diluluskan untuk makanan adalah merupakan satu kesalahan yang boleh didakwa di bawah Peraturan Makanan 1985. Dengan itu, demi kesihatan pengguna, banyak kajian tentang pengekstrakan pigmen daripada tumbuhan lalu menyesuaikannya sebagai bahan pewarna dijalankan.



Selain daripada memenuhi permintaan pengguna dari segi kualiti yang tinggi serta keaslian makanan, kajian tentang penghasilan pewarna semulajadi juga penting untuk membangunkan lagi kecanggihan teknik-teknik serta peralatan penghasilan pewarna di samping dapat mengurangkan masalah-masalah persekitaran. Peranan ini dapat dilakukan dengan mencari atau mengkaji cara yang paling berkesan untuk mendapatkan bahan pewarna di samping dapat mengurangkan masalah persekitaran. Salah satu contoh yang paling berkesan adalah dengan mengekstrakan sisa-sisa buangan lalu mempergunakannya untuk tujuan yang berfaedah.

Di samping itu, kajian penghasilan pewarna semulajadi dapat menghasilkan bahan pewarna yang lebih sihat berbanding dengan bahan-bahan pewarna sintetik yang semakin meningkat di pasaran. Sebagai contohnya, dalam kajian ini, pigmen karotenoid daripada kulit buah oren telah dipilih untuk diekstrak lalu dijadikannya sebagai bahan pewarna dalam makanan. Sebab utama buah oren dipilih adalah kerana buah ini mengandungi pigmen karotenoid yang banyak. Pigmen karotenoid adalah sangat berfaedah kepada seseorang pengguna kerana bertindak sebagai pelopor vitamin A, membantu dalam penglihatan manusia serta ciri-ciri yang tidak beracun.

Selain itu, menurut statistik tahunan (1999-2003) yang diperolehi daripada Jabatan Perangkaan Malaysia Cawangan Sabah, didapati bilangan buah oren yang diimport pada setiap tahun adalah semakin meningkat. Ini menunjukkan bahawa buah oren adalah sangat digemari oleh penduduk tempatan dan sekali juga kulit atau sisa dari buah ini akan meningkat. Dengan itu, kulit buah oren telah dipilih dalam kajian ini.



1.2 Objektif

Objektif utama kajian ini adalah seperti berikut:

1. Menentukan kaedah pengekstrakan pigmen karotenoid terbaik berasaskan peratusan perolehan.
2. Menentukan kestabilan pigmen karotenoid terhadap kesan pH, suhu dan kesan simpanan dari segi suhu dan cahaya.
3. Mengkaji kesesuaian pigmen karotenoid daripada kulit oren sebagai agen pewarna dalam agar-agar.



BAB 2

ULASAN KEPUSTAKAAN

2.1. *Citrus*

Citrus adalah digolongkan dalam famili *Rutaceae* yang meliputi banyak genera. Tetapi, bagi *citrus* yang sebenarnya itu hanya meliputi enam genera, iaitu, *Citrus*, *Microcitrus*, *Fortunella*, *Poncitrus*, *Cymenia* dan *Eremocitrus* (Sunarjono, 1994).

Buah-buahan yang bergenus *citrus* adalah agak unik kerana seluruh bahagian buah ini dipenuhi dengan tisu-tisu putih yang lembut serta menganjal dimana ia dipanggilkan sebagai albedo. Selain itu, ia juga terdiri dari satu lapisan warna yang dinamakan sebagai flavedo. Lapisan flavedo ini mengandungi banyak jenis kelenjar minyak. Walaupun pada kulit buah bergenus *citrus* disaluti oleh satu lapisan lilin yang nipis, ia masih terdapat banyak ruang terbuka padanya, iaitu stomata. Pelbagai lapisan inilah akhirnya membentuk kulit buah-buahan bergenus *citrus* (Sunarjono, 1994).

Buah-buahan bergenus *citrus* adalah tidak bermusim dan ia tidak mengalami proses kemasakan. Apabila buahnya bermatang pada pokoknya, isi buahnya akan mengandungi banyak jus serta mempunyai rasa manis. Di negara tropikal, buah-buah oren yang ditanamkan adalah berwarna hijau walaupun telah matang. Ini terjadi adalah atas sebab faktor iklim yang tidak cukup sejuk di tempat-tempat tropikal. Dengan itu, ia biasanya dipasarkan dalam warna hijau. Bagi negara-negara yang cukup sejuk iaitu mempunyai suhu yang rendah daripada 13°C, hasilan buah yang



berasal daripada famili ini adalah dalam warna jingga – kekuningan. Atas sebab suhu yang rendah, buah-buahan ini akan mengalami suatu ketegangan lemah lalu menyebabkan peningkatkan penghasilan etilena. Kejadian ini akan menyebabkan kemusnahan klorofil manakala kandungan karotenoid akan meningkat pada kulitnya. Dengan itu, warna kulit buah akan dijadikan jingga – kekuningan (Jacqueline, 1989; Sunarjono, 1994).

Spesies *citrus* yang dikenali umum ialah oren manis (*C. sinensis Osbeck*), oren masam (*C. aurantium*), mandarin dan tangerin (*C. reticulata*), pomelo (*C. grandis*), lemon (*C. limon*), grapefruit (*C. paradisi*), lime (*C. aurantifolia*), dan medicinal lime (*C. hystrix*) (Samson, 1986).

2.1.1. Botani

Pokok *citrus* biasanya bersaiz dalam lingkungan pokok renik hingga ke pokok pomelo dengan ketinggian 2.5m. Bagi pokok yang bersaiz lebih besar pula, ketinggiannya adalah lebih kurang 5 – 15m, dengan batang yang berdiameter 10 – 30cm. Batangnya berkulit tebal dan berwarna perang – kekuningan.

Daunnya pula adalah besar, bujur, berduri dan berwarna hijau dalam sesetengah pokok pomelo. Biasanya panjang daun bagi pokok renik berdiameter 4 – 7cm dan lebarnya berdiameter 2 – 4cm. Bagi pokok yang lebih besar seperti pomelo, panjang daunnya adalah berdiameter 5 – 20cm dan lebarnya adalah berdiameter 2 – 12cm. Kesemua daun ini akan memberikan bau yang kuat apabila dihancurkan. Bunga bergenus *citrus* adalah kecil, tunggal di hujung daun yang kebiasanya mempunyai 3 – 5 bunga rasem. Bunganya akan memberikan aroma yang manis manakala warnanya akan berubah daripada putih – kekuningan kepada hijau – kekuningan (Othman & Suranant, 1995).



Bagi buah pula, saiznya adalah sangat berbeza antara spesies – spesies yang lain. Sebagai contohnya, shaddock mempunyai buah yang paling besar manakala *lime* mempunyai buah yang paling kecil. Permukaan buah bagi oren masam adalah lebih kasar manakala permukaannya adalah lebih licin bagi oren manis. Selain itu, kulit buah bagi mandarin adalah senang dikupas berbanding dengan buah yang berspesies lain atas sebab kulitnya melekat kuat pada isinya. Secara keseluruhan, kulit serta isi buah oren adalah tebal. Bentuk buah adalah agak bulat tetapi dengan dasarnya sedikit leper. Walau bagaimanapun, aroma yang dihasilkan daripada buah oren adalah berlainan berdasarkan spesies - spesies buahnya. Dalam buah oren, terdapat juga biji pada isinya, biji ini adalah kecil, bujur dan berwarna putih - kekuningan dalam bilangan yang sedikit (Othman & Suranant, 1995; Samson, 1986).

2.1.2. Ekologi Dan Fisiologi

Tanaman *citrus* tersebar luas di dataran rendah sampai ke pergunungan. Tanahnya haruslah subur dan mengandungi bahan organik yang tinggi. Tanah yang paling sesuai digunakan mempunyai daya ikatan air yang kuat. Dengan itu, kurang air atau lambatnya air akan diresap keluar tanah. Sifat ini adalah penting untuk tanaman *citrus*. Bagi kecerunan tanah pula, ia biasanya ditanam pada tanah yang mempunyai kecerunan dalam lingkungan 18° (Sunarjono, 1994).

Bagi pH tanah pula, ia adalah lebih bersesuaian di antara 5 – 6. Pada pH tanah yang dibawah 5, banyak unsur seperti tembaga akan terlarut sehingga beracun bagi tanaman ini. Sebaliknya, pada pH tanah di atas 6, unsur- unsur seperti zink dan besi akan menjadi terikat sehingga menimbulkan gejala kekurangan unsur tersebut (Sunarjono, 1994).



Suhu optimum untuk pertumbuhan tanaman *citrus* adalah antara 25 – 35°C. Walau bagaimanapun, tanaman ini berupaya hidup pada suhu yang sangat tinggi sampai 50°C serta suhu rendah di bawah 0°C. Tetapi, pada waktu malam yang bersuhu tinggi, pernafasan tanaman akan menjadi tinggi dan ini akan menjadikan keadaan ketidakseimbangan dengan kadar fotosintesis yang telah rendah pada waktu itu. Keadaan ini adalah bahaya terhadap tanaman *citrus*. Di samping itu, suhu pada waktu malam yang tinggi akan menyebabkan buah *citrus* sukar menjadi merah atas sebab kegagalan dalam proses pembentukan pigmen (Sunarjono, 1994).

Bagi pembentukan bunga pula, iklim yang agak kering selama 3 – 4 bulan adalah diperlukan, manakala untuk perkembangan bunga dan buah, hujan selama 6 – 8 minggu diperlukan supaya keadaan tanahnya lembap. Walau bagaimanapun, iklim yang dikehendaki oleh tanaman *citrus* adalah sangat bervariasi (Sunarjono, 1994).

2.1.3. Taksonomi

Terdapat dua jenis sistem yang umum dalam klasifikasi tanaman *citrus*, iaitu "Swingle's" dan "Tanaka's". Dalam sistem "Tanaka", terdapat lebih daripada 160 spesies telah diklasifikasikan di bawah tanaman *citrus*. Bagi sistem "Swingle" pula, tanaman *citrus* hanya diklasifikasikan kepada 16 spesies. Dalam sistem "Swingle", Swingle telah membahagikan genera *citrus* kepada dua sub-genera, iaitu *Papeda* dan *Eucitrus*. Buah daripada subgenus *Papeda* adalah tidak enak dimakan. Ini adalah kerana terdapat banyak minyak acrid dalam jusnya. Tangkainya adalah panjang dan melebar seperti bersayap. Bagi *Eucitrus* pula, ia terdiri daripada 10 spesies dan 8 daripada 10 spesies ini mempunyai cita rasa yang bagus dan halus (Samson, 1986). Secara ringkas, taksonomi tanaman *citrus* ditunjukkan pada rajah 2.1.



RUJUKAN

- Anon. 2004. "Orange (Fruit)" dalam [http://www.en.wikipedia.org/wiki/orange\(fruit\)](http://www.en.wikipedia.org/wiki/orange(fruit)).
- Akta Makanan 1983 & Peraturan – peraturan Makanan 1985. 2004. Kuala Lumpur : MDC Publishers Sdn. Bhd.
- Anna, L. S. 1990. *A Colour Atlas of Post-harvest Diseases & disorders of Fruits & Vegetables, Volume 1*. General Introduction & Fruits. Wolfe Scientific Ltd.
- Anocha, K. T., Gwyn, P. J., Wahlqvist, M. L. W. & Briggs, D. R. 1998. Evaluation of Extraction Method for the Analysis of Carotenoids in Fruits and Vegetables. *Journal of Food Chemistry*. **63(4)** : 577-584.
- Baker, R. & Gunther, C. 2004. The Role of Carotenoids in Consumer Choice and the Likely Benefits from Their Inclusion into Products for Human Consumption. *Trends in Food Science & Technology*. **15** : 484-488.
- Bell, J. A. 1993. *Chemical Exploration*. London : Health & Company.
- Braithwaite, A. & Smith, F. J. 1996. *Chromatographic Methods*. 5th Edition. New York: Chapman & Hall.
- Breithaupt, D. E. 2004. Analytical, nutritional and clinical methods : Simultaneous HPLC Determination of Carotenoids Used as Food Coloring Additives: Applicability of Accelerated Solvent Extraction. *Journal of Food Chemistry*. **86(3)** : 449-456.
- Brown, T. L., LeMay, H. E. & Bursten, B. E. 2000. *Chemistry: The Central Science*. (8th edition). New Jersey : Prentice-Hall, Inc.
- Choi, M. H., Kim, G. H. & Lee, H. S. 2002. Effects of Ascorbic Acid Retention on Juice Color and Pigment Stability in Blood Orange (*Citrus sinensis*) Juice During Refrigerated Storage. *Journal of Food Research International*. **35(8)** : 753-759.
- Cinar, I. 2003. Carotenoid, Pigment Loss of Freeze-dried Plant Samples Under Different Storage Conditions. *Journal of Food Science and Technology*.
- Duke, J. A. 1979. Ecosystematic Data on Economic Plants. *Quart J. Crude Drug Res*. **12(3-4)** : 91-110.



- Egan, H., Kisk, R. S. & Sawyer, R. 1981. *Pearson's Chemical Analysis of Food*. Harlow : Longman Scientific & Technical.
- Erik, J. M. & Harry, H. S. 1997. Evaluation & Validation of an LC Method for the Analysis of Carotenoids in Vegetables and Fruit. *Journal of Food Chemistry*. **59(4)** : 599-603.
- Eskin, N. A. M. 1979. *The Chemistry and Biochemistry of Selected Compound, Plant Pigments, Flavours and Textures*. New York : Academy Press.
- Fennema, O. R. 1993. *Kimia Makanan Jilid II*. Kuala Lumpur : Dewan Bahasa dan Pustaka.
- Greenway, G. M., Kometa, N & Macrea, R. 1992. The Determination of Food Colours by HPLC with On-line Dialysis Sample Preparation. *Journal of Food Chemistry*. **43(1)** : 137-180.
- Heerden, I. V., Cronje, C., Swart, S. H. & Kotze, J. M. 2002. Microbial, Chemical and Physical Aspects of Citrus Waste Composting. *Journal of Bioresource Technology*. **81(1)** : 71-76.
- Hendry, G.A.F. & Houghton, J. D. 1996. *Natural Food Colorants*. 2nd. New York : Chapman & Hall.
- Jackson, D. 1986. *Temperature & Subtropical Fruit Production*. New Zealand: Wright & Carman Ltd.
- Jakson, E. B. 1990. *Sugar Confectionery Manufacture*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Jacqueline, M. P. 1989. *Fruits of South-East Asia, Facts & Folklore*. Oxford University Press.
- Jurd, L. 1972. *Some Advances in the Chemistry of Plant Pigments*. New York : Academy Press.
- Karen, P. & Martha, D. 1985. *A Guide to Market Fruits of Southeast Asia*. Hong Kong: South China Morning Post Ltd.
- Karrer, P. & Jucker, E. 1980. *Carotenoids*. London: Elsevier Publishing Company, Inc.
- Kate, W. 1999. *The New Guide to Fruit*. London: Anness Publishing Limited.



- Kimura, M., Rodriguez-Amaya, D.B. & Godoy, H.T. 1990. Assessment of the Saponification Step in the Quantitative Determination of Carotenoids and Provitamins A. *Journal of Food Chemistry*. **35** : 187-195.
- Lim Bon Tong. 1987. Food Colours. *Maklumat Teknologi Makanan*.
- Mat Isa Bin Awang & Lim Bon Tong. 1984. Pewarna makanan. *Teknologi Makanan*, jil. 3, Bil. 1.
- Moore, G. A. 2001. Orange and Lemons: Clues to the Taxonomy of Citrus from Molecular Markers. *Journal of Trends in Genetics*. **17(2)** : 536-540.
- Morten, M., Gail, V. C. & Carr, B. T. 1999. *Sensory Evaluation Techniques*. 3rd edition. New York : CRC Press LLC.
- Murano, P. S. 2003. *Understanding Food Science and Technology*. Wadsworth/Thomson Learning, Inc.
- Newsome, R. L. 1990. *Natural and Synthetic Coloring Agents*. New York : Marcel Dekker.
- Ofelia, C. Z., Federico, G. J. & Ricardo, M. G. 2004. Comparative Study of Carotenoid Composition in Three Mexican Varieties of Capsicum Annuum L. *Journal of Food Chemistry*. **32** : 208-218.
- Othman Yaacob & Suranant Subhadrabhandhu. 1995. *The Production of Economic Fruits in South-East Asia*. Oxford University Press.
- Peodijino Nitisewojo. 1996. *Instrumentasi Dalam Analisis Makanan*. Kuala Lumpur : Universiti Kebangsaan Malaysia.
- Perry, I. M. 1980. *Medicinal Plants of East and Southeast Asia*. Cambridge : MIT Press.
- Pomeranz, Y. & Melon, C. E. 1994. *Food Analysis : Theory and Practice*. New York : Champman & Hall.
- Pracaya, I. 1992. *Jeruk manis*. Jakarta : Penerbar Swadaya.
- Ranggana, S. 1977. *Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products*. Tata McGrawHill Publishing Company Limited.



- Rodriguez-Amaya, D. B. 1999. *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. Washington: ILSI Press.
- Rohana Ahmad & Amir Hassan Kadhum. 1992. *Kimia Analisis : Kaedah Pemisahan*. Kuala Lumpur : Dewan Bahasa dan Pustaka.
- Samson, J. A. 1986. *Tropical Fruits 2nd edition* . Singapore: Longman Singapore Publishers Pte Ltd.
- Selma, P. & Payne, W. J. A. 1997. *Cooking with Exotic Fruit*. London: B.T. Batsford Ltd.
- Sewell, P. A. & Clarke, B. 1991. *Chromatographic Separations*. Singapore: John Wiley & Sons Pte Ltd.
- Sunarjono, D. H. 1994. *Ilmu Produksi Tanaman buah-buahan*. Jakarta: Penerbit Sinar baru Bandung.
- Taylor, R. F. 1983. Chromatography of Carotenoids and Retinoids. *Journal of Advance Chromatography* **22** : 157-213.
- Watt, L. M & Breyer-Brandwijk, M.G. 1962. *The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa. 2nd edition*. E&S Livingstone Ltd.
- Yang, C. S. T. & Yang, P. 1987. Effect of pH, Certain Chemicals and Holding Time on Color of Lowbush Blueberry Puree. *Journal of Food Science*. **52** : 345-346.

