

## Kajian Potensi Ekstrak Bilberi sebagai Penunjuk pH untuk Memantau Kesegaran Makanan secara Kromametri (Potential Study of Bilberry Extract as a pH Indicator to Monitor Food Freshness by Chromametry)

NOOR AZIZAH AHMAD, LEE YOON HENG\*, FARIDAH SALAM & SHARINA ABU HANIFAH

### ABSTRAK

*Penunjuk pH sebagai suatu pendekatan untuk memantau kualiti atau kesegaran makanan semasa telah mendapat perhatian industri pembungkusan makanan. Penggunaan sumber semula jadi pigmen tumbuhan terutamanya daripada buah-buahan dan sayur-sayuran menjadi pilihan para pengguna untuk menggantikan pewarna sintetik dalam memastikan keselamatan makanan yang diambil setiap hari. Dalam kajian ini, ekstrak daripada bilberi telah digunakan sebagai pewarna sensitif pH. Perubahan warna sampel dikaji secara terperinci melalui kaedah kromametri dan juga kaedah spektrofotometri ultra-lembahung nampak. Warna merah terang terhasil dalam pH berasid, merah pudar pada neutral dan magenta ke kuning dalam pH beralkali. Keputusan kajian kromametri menunjukkan bahawa ekstrak bilberi berupaya mempamerkan perubahan warna yang jelas terhadap perubahan pH, iaitu terdapat perubahan nilai warna  $a^*$  yang menyumbang kepada perubahan yang bererti dalam perbezaan warna keseluruhan ( $\Delta E^*$ ). Nilai  $\Delta E^*$  juga ditentukan wujud hubungan linear dan kuantitatif terhadap julat pH tertentu. Oleh yang demikian, ekstrak bilberi didapati berpotensi sebagai bahan sensor untuk pH dalam membangunkan satu sensor pH bagi memantau kesegaran makanan terutamanya hasilan laut berbungkus memandangkan tahap kerosakan produk tersebut berkait rapat dengan perubahan pH ke arah alkali.*

*Kata kunci: Antosianin; ekstrak bilberi; pH; serapan maksimum; warna*

### ABSTRACT

*The use of pH indicator as an approach to monitor the quality or freshness of foods has the attention of the food packaging industry. The use of natural resources, especially plant pigments of fruits and vegetables has now become the user's choice to replace synthetic dyes as indicators to ensure the safety of the food-consumed every day. In this study, bilberry extract was used for a pH-sensitive dye. The colour change of the sample was studied in details by chromametric and spectrophotometric methods. The bilberry extract was observed to produce bright red colour under acidic conditions, faded at neutral and changed from magenta to yellow in alkaline conditions. The results of detail chromametric studies showed that bilberry extracts were able to exhibit distinguishable colour changes at different pHs, which led to a change in  $a^*$  value that eventually contributed to significant changes in the total colour difference ( $\Delta E^*$ ). The  $\Delta E^*$  value also demonstrated a linear and quantitative relationships to certain pH ranges. Therefore, bilberry extract has the potential to be used as a sensor material in developing a pH sensor for the purpose of monitoring food freshness, especially packaged fishery products since deterioration level is closely related to alkaline pH changes.*

*Keywords: Anthocyanin; colour; extract; maximum absorbance; pH*

### PENGENALAN

Dalam skop keselamatan makanan, telah dilaporkan bahawa berlaku peningkatan populasi mikrob dan nilai pH semasa tempoh penyimpanan makanan. Ini menunjukkan bahawa ada perkaitan antara nilai pH dan kerosakan makanan. Oleh yang demikian, penunjuk pH boleh dijadikan sebagai pendekatan berguna untuk memantau kualiti atau kesegaran makanan semasa. Penggunaan penunjuk pH berdasarkan perubahan warna berpotensi sebagai penunjuk metabolit pembiakan mikroorganisma (Kerry et al. 2006). Para saintis telah melaporkan keputusan kajian mereka melalui pemantauan pH menggunakan reagen kimia sebagai pewarna sensitif pH seperti metil merah (Kuswandi et al. 2014), bromofenol biru (Shukla et al. 2015), bromokresol biru, merah dan klorofenol merah

(Dong et al. 2008). Namun, penggunaan bahan kimia sintetik adalah sukar untuk diaplikasi dalam makanan kerana berkemungkinan toksik dan boleh mendatangkan bahaya kepada kesihatan manusia. Justeru, penggunaan pewarna semula jadi menjadi pilihan kerana mempunyai kelebihan yang jelas daripada segi ketoksikan rendah, boleh diperbaharui dan bebas daripada pencemaran.

Terdapat laporan dalam kajian sebelum ini mengenai penggunaan pewarna yang diekstrak daripada tisu tumbuhan digunakan sebagai penunjuk pH kolorimetrik (Mohd et al. 2011; Terci & Rossi 2002). Perubahan warna dalam pewarna semula jadi ini adalah disebabkan kehadiran sebatian fenolik atau terkonjugasi seperti antosianin yang mengalami perubahan struktur kimianya apabila berlaku perubahan pH (Shahid & Mohammad

2013). Antosianin adalah daripada kumpulan flavonoid yang berwarna dan mudah dilihat. Ia merupakan pigmen semula jadi yang larut air dan menyebabkan tumbuh-tumbuhan atau produknya berwarna biru, merah, ungu, magenta atau jingga. Sebatian antosianin boleh didapati daripada buah-buahan, bunga, daun, batang, biji dan juga pada tisu akar tumbuh-tumbuhan (Delgado - Vargas et al. 2000).

Menurut Baj et al. (1983), buah bilberi (*Vaccinium myrtillus*) segar mengandungi antosianin hampir empat kali ganda daripada beri biru. Ekstrak bilberi digunakan secara meluas sebagai makanan tambahan dan farmaseutik untuk penjagaan kesihatan mata dan melancarkan peredaran darah (Burdulis et al. 2007). Bilberi mengandungi hampir semua sebatian antosianidin iaitu delphinidin, sianidin, petunidin, peonidin dan malvidin. Lazimnya, gugusan gula yang terikat pada sebatian ini terdiri daripada glukosa, galaktosa dan arabinosa (Ichiyanagi et al. 2004; Lee et al. 2005).

Dalam industri pemrosesan makanan, bilberi digunakan dalam pembuatan jus, jem dan puri. Disebabkan kulit bilberi kaya dengan sumber polifenol terutamanya kandungan antosianin dan flavonoid (Manganaris et al. 2014), terdapat kajian yang dilaporkan tentang penggunaannya dalam produk susu untuk menghasilkan makanan berfungsi yang tinggi dengan kandungan antioksidan (Fidaleo et al. 2015). Memandangkan ekstrak bilberi merupakan pewarna yang boleh dimakan, maka secara tidak langsung penggunaannya dapat mengatasi kebimbangan para pengguna yang prihatin terhadap penglibatan pewarna sintetik yang berasaskan bahan kimia dalam sistem makanan. Namun begitu, kajian secara khusus ke atas potensi ekstrak bilberi sebagai satu penunjuk pH, khususnya dalam pH 1-13 menggunakan kaedah kromametri ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  dan  $\Delta E^*$ ) masih belum dilaporkan setakat ini. Inilah aspek baru kajian ini.

Penemuan kajian awal ini dijangka mempunyai impak ke atas perkembangan satu sensor pH yang berasaskan pengukuran kromametri untuk menentukan kesegaran makanan dan datanya boleh memanfaatkan pemantauan keselamatan makanan. Tujuan utama kajian ini adalah untuk mengenal pasti sama ada ekstrak bilberi boleh dijadikan pewarna semula jadi dalam pembangunan penunjuk pH kolorimetrik bagi penentuan kesegaran produk makanan.

## BAHAN DAN KAEDAH

### BAHAN KIMIA

Bahan kimia yang digunakan dalam kajian ini ialah ekstrak bilberi (20%), asid hidroklorik (SYSTEM), kalium klorida (R&M CHEMICAL), asid sitrik (BDH CHEMICAL), natrium hidrogen fosfat (FLUKA), etanol, natrium karbonat, natrium bikarbonat dan natrium hidroksida (MERCK). Bahan-bahan kimia ini digunakan terus tanpa penulenan lanjut.

### INSTRUMENTASI DAN ALATAN

Spektrofotometer Ultra Lembayung-Nampak Cary 100 Cons (Varian); Kromameter CR 400 (Konica Minolta) dan meter pH (Mettler Toledo).

### EKSTRAK BILBERI

Serbuk ekstrak bilberi (*Vaccinium myrtillus*) yang mengandungi 20% antosianin diperolehi secara komersial daripada pembekal Longze Bioteknologi, Bandar Xi'an, China. Ekstrak ini merupakan gred industri yang digunakan sebagai pewarna dalam makanan dan minuman komersial. Sebanyak 2.5 g serbuk ekstrak bilberi dimasukkan ke dalam kelalang isi padu 50 mL dan seterusnya air suling ditambah sehingga ke tanda senggatan. Penggunaan kepekatan sebanyak 5% ini adalah bagi mematuhi Hukum Beer-Lambert iaitu nilai serapan tidak melebihi daripada 1 unit melalui pengukuran menggunakan Spektrofotometer Ultra-Lembayung Nampak.

### PENYEDIAAN LARUTAN PENIMBAL

Larutan penimbal daripada pH1 hingga pH13 disediakan mengikut kaedah Devarayan dan Kim (2015) pada suhu bilik. Percampuran bahan kimia antara asid hidroklorik dan kalium klorida digunakan untuk menghasilkan larutan penimbal pH1 hingga pH2; asid sitrik dan natrium hidrogen fosfat untuk pH3 hingga pH8; garam karbonat dan bikarbonat bagi pH9 dan pH10. Manakala garam natrium hidroksida dan asid hidroklorik digunakan untuk penyediaan larutan penimbal daripada pH11 hingga pH13. Setiap nilai pH larutan penimbal ini diukur menggunakan meter pH.

### ANALISIS SPEKTROSKOPI

Analisis spektroskopi dilakukan dengan memasukkan 50  $\mu$ L ekstrak bilberi ke dalam setiap 5 mL larutan penimbal daripada pH1 sehingga pH13. Spektrum serapan direkodkan menggunakan Spektrofotometer UL-Nampak pada julat panjang gelombang 380-800 nm.

### PENGUKURAN WARNA

Untuk pengukuran parameter warna, sebanyak 50  $\mu$ L ekstrak bilberi dimasukkan ke dalam setiap 5 mL larutan penimbal daripada pH1 sehingga pH13 dan diukur dengan menggunakan kromameter. Sebanyak lima kali ukuran pada bahagian yang berbeza daripada larutan penimbal telah direkodkan. Nilai-nilai koordinat segi empat tepat ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) telah digunakan untuk mengira keamatan warna ( $C^*$ ) dan perbezaan warna keseluruhan ( $\Delta E^*$ ) dengan menggunakan persamaan berikut (Anshika et al. 2012; CIELAB Colour Space 2008; Schanda 2007):

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

dengan  $\Delta L^*$  ialah perbezaan kecerahan;  $\Delta a^*$  ialah perbezaan warna kemerahan; dan  $\Delta b^*$  ialah perbezaan warna kekuningan.

Nilai  $C^*$  dan  $\Delta E^*$  dinyatakan sebagai purata daripada lima ukuran pada bahagian berbeza yang diulangi sebanyak tiga kali.

## ANALISIS STATISTIK

Data kajian dianalisis menggunakan analisis varians (ANOVA) iaitu nilai purata bagi parameter warna yang diperoleh dibandingkan dengan ujian multi-julat Duncan untuk setiap perubahan larutan pH. Perbezaan antara perlakuan ditentukan dengan ujian perbezaan kurang signifikan (LSD) pada paras  $p < 0.05$  menggunakan sistem analisis statistik (Gomez & Gomez 1984).

## KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

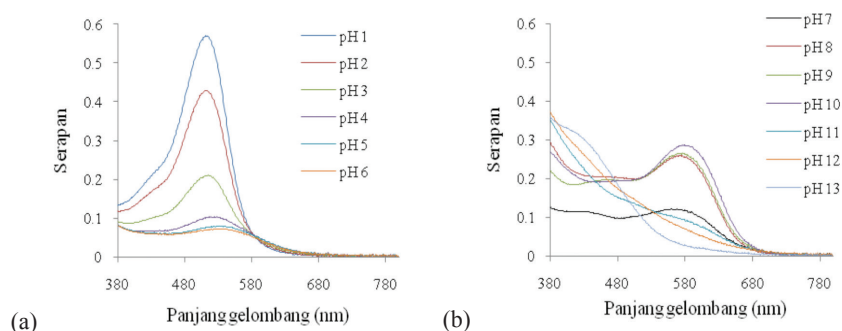
Perubahan warna ekstrak bilberi di dalam larutan penimbal yang berbeza ditunjukkan dalam Rajah 1. Pemerhatian secara mata kasar mendapati perubahan warna ekstrak bilberi dalam larutan penimbal pH1-13 adalah berasaskan warna merah dan kuning. Ekstrak ini mempamerkan warna merah terang pada larutan penimbal pH1 hingga pH4 dan ia semakin pudar pada pH5 hingga pH7. Kebanyakan antosianin menghasilkan warna merah dalam keadaan berasid dengan struktur utamanya adalah dalam bentuk kation flavilium (Bąkowska-Barczak 2005). Pada pH5, keamatan warna larutan menurun kerana struktur kation flavilium semakin berkurangan dan dalam masa yang sama kehadiran bentuk anion quinonoidal (Khoo et al. 2012). Manakala pada pH8 - pH12, ekstrak bilberi menghasilkan warna magenta dan bertukar kepada warna kuning pada pH13. Pada keadaan pH yang semakin meningkat, struktur pseudobasa karbinol dan kalkon yang tidak berwarna terbentuk (Fossen et al. 1998). Secara penglihatan kasar, didapati julat pertukaran warna adalah kecil iaitu melibatkan beberapa unit pH untuk berlakunya perubahan kepada warna lain, namun

masih nampak perbezaan yang ketara antara pH neutral dan alkali. Menurut Marianne et al. (2001), sebatian antosianin daripada sumber famili *Vaccinium* dan kulit anggur hanya mempamerkan perubahan warna pada julat pH1 hingga pH4 sahaja.

Rajah 2 menunjukkan spektrum penyerapan bagi antosianin yang terkandung di dalam ekstrak bilberi pada larutan penimbal berbeza. Penyerapan maksimum berlaku pada panjang gelombang yang terletak antara 512 hingga 576 nm. Menurut Cabrita et al. (2000) dan Fossen et al. (1998), perubahan warna antosianin dinyatakan melalui perbezaan dalam kedudukan panjang gelombang maksimum yang diukur sebagai nilai serapan. Nilai serapan didapati berkurangan dengan peningkatan pH (Jadual 1). Penurunan nilai serapan dikaitkan dengan degradasi sebatian antosianin dan Kirca et al. (2007) melaporkan bahawa kestabilan antosianin dalam lobak hitam menurun dengan ketara pada nilai pH lebih tinggi. Keputusan kajian ini adalah bersamaan dengan penemuan yang dilaporkan oleh Kirca et al. (2007) dengan nilai serapan paling maksimum diukur pada pH1 dengan bacaan 0.5702 dan diikuti pH2 iaitu 0.4286 pada panjang gelombang 512 nm (Jadual 1). Pada pH1 hingga pH6 didapati kesan hipokromik berserta anjakan batokromik berlaku iaitu penurunan keamatan penyerapan dan perpindahan penyerapan tersebut ke arah jarak gelombang yang lebih panjang (512-532 nm), sementara itu, kesan hiperkromik peningkatan keamatan penyerapan pula didapati berlaku dalam larutan beralkali pada pH 8 hingga pH10. Peningkatan pH larutan menyebabkan berlakunya penyahprotonan yang berterusan dan ini akan menghasilkan anjakan batokromik.



RAJAH 1. Ekstrak bilberi di dalam larutan penimbal pH 1-13



RAJAH 2. Spektrum serapan ekstrak bilberi di dalam larutan penimbal: (a) pH 1-6 dan (b) pH 7-13

JADUAL 1. Nilai serapan ekstrak bilberi di dalam larutan penimbal berbeza pH

Larutan penimbal	Panjang gelombang maksima, $\lambda$ (nm)	Nilai serapan
pH 1	512	0.5702
pH 2	512	0.4286
pH 3	515	0.2114
pH 4	528	0.1041
pH 5	531	0.0808
pH 6	532	0.0726
pH 7	560	0.1218
pH 8	573	0.2600
pH 9	576	0.2657
pH 10	576	0.2869

Pengukuran secara kuantitatif dijalankan dengan menggunakan kaedah kromametri pada larutan penimbal yang mengandungi ekstrak bilberi. CIELAB adalah model warna paling lengkap yang digunakan secara konvensional untuk menggambarkan semua warna boleh dilihat oleh mata manusia (Zhang et al. 1998). Pengukurannya adalah meluas iaitu meliputi semua objek sama ada bersifat legap, lut sinar atau lut cahaya. Model ini menggunakan tiga parameter iaitu  $L^*$ ,  $a^*$  dan  $b^*$  dengan nilai  $L^*$  merujuk kepada kecerahan dan kegelapan sesuatu warna,  $a^*$  mewakili warna merah untuk nilai positif dan hijau apabila nilainya negatif. Nilai  $b^*$  positif menunjukkan sesuatu objek itu berada pada kedudukan warna kuning dan  $b^*$  negatif adalah warna biru. Parameter warna (nilai  $L^*$ ,  $a^*$  dan  $b^*$ ) yang ditunjukkan oleh model ini menterjemahkan secara terus warna yang didominasi oleh sesuatu objek yang diukur. Manakala nilai  $C^*$  merujuk kepada keamatan warna dan  $\Delta E^*$  pula merupakan perbezaan warna secara keseluruhan hasil daripada gabungan antara perbezaan nilai  $L^*$ ,  $a^*$  dan  $b^*$ .

Jadual 2 menunjukkan keputusan yang merangkumi semua parameter warna ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  dan  $\Delta E^*$ ) bagi ekstrak bilberi pada pH berbeza. Nilai  $L^*$  didapati menurun dengan peningkatan pH larutan (Rajah 3). Nilai  $L^*$  yang lebih besar diperhatikan pada pH7 dengan bacaan sebanyak  $84.69 \pm 0.44$  yang menunjukkan kecerahan warna paling tinggi berbanding dengan larutan pH lain. Ekstrak bilberi menunjukkan  $a^*$  hadir sebagai nilai positif dalam semua pH larutan penimbal 1 hingga 13 yang menunjukkan pertukaran warna berlaku adalah tertumpu kepada warna merah sahaja. Nilai  $a^*$  ini didapati menurun dengan peningkatan pH larutan penimbal (Rajah 3). Keputusan kajian menunjukkan bahawa terdapat perbezaan bererti ( $p < 0.05$ ) antara nilai  $a^*$  pada pH1 sehingga pH8 (Jadual 1). Ini bermakna berlakunya perbezaan yang ketara antara keadaan berasid, neutral dan alkali terhadap warna merah melalui pengukuran secara kuantitatif.

Manakala untuk nilai  $b^*$  pula didapati tiada perbezaan bererti ( $p > 0.05$ ) antara pH5, 6, 7 dan 8 (Jadual 2). Ini mencadangkan bahawa tiada perubahan ketara terhadap nilai  $b^*$  positif yang merujuk kepada warna kuning dalam larutan bersifat asid lemah, neutral dan alkali

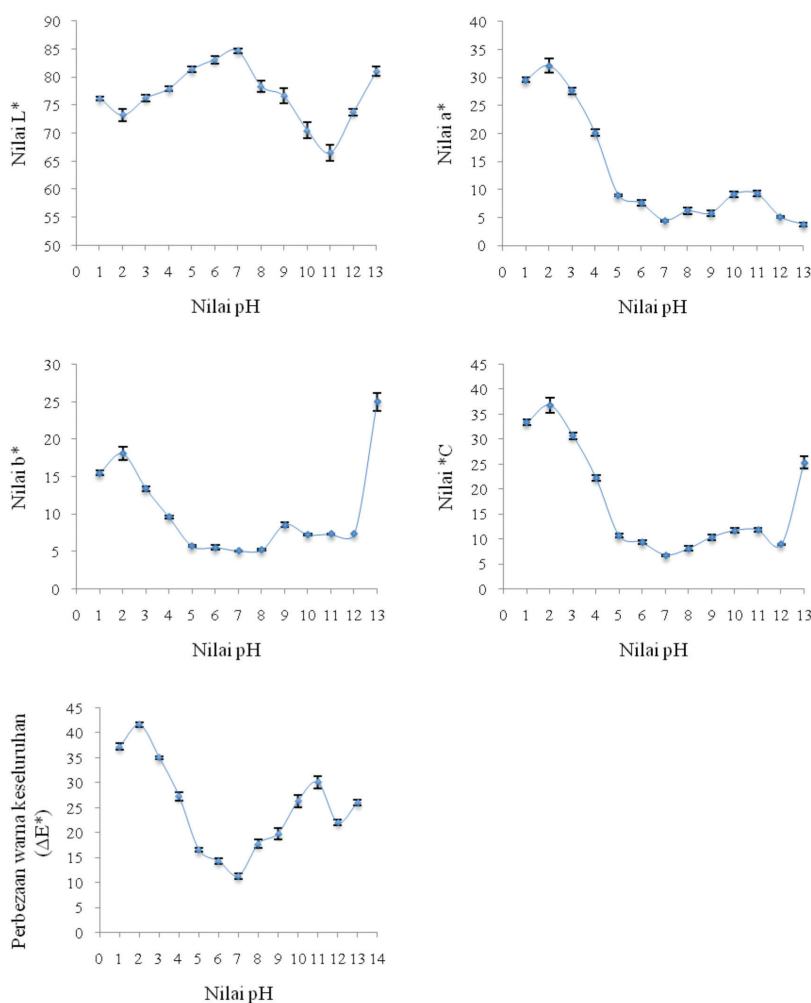
lemah. Nilai  $b^*$  didapati paling tinggi pada pH13 (Rajah 3) iaitu  $25.06 \pm 1.19$  dan ia mempamerkan warna kuning yang jelas pada penglihatan kasar (Rajah 1). Walau bagaimanapun, kajian ini mendapati bahawa perbezaan warna keseluruhan ( $\Delta E^*$ ) yang melibatkan gabungan nilai perbezaan daripada unsur kecerahan, kemerahan dan kekuningan ( $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$   $\Delta b^*$ ) telah menunjukkan perbezaan bererti ( $p < 0.05$ ) untuk setiap pH yang dikaji dalam larutan penimbal pH1 hingga pH9 (Jadual 2). Nilai  $\Delta E^*$  didapati semakin menurun apabila menghampiri pH neutral dan kembali meningkat dalam larutan berkali (Rajah 3). Seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 1, warna merah semakin pudar apabila menghampiri neutral, kemudian bertukar kepada magenta dan seterusnya kuning dalam larutan alkali. Perubahan warna ini menyebabkan berlaku penyusutan dan peningkatan nilai  $a^*$  dan  $b^*$  pada pH neutral dan alkali seperti dirumuskan dalam Jadual 2. Memandangkan  $\Delta E^*$  merupakan gabungan jumlah perbezaan nilai  $L^*$ ,  $a^*$  dan  $b^*$  ( $\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$ ), maka perubahan berlaku adalah berkadar terus. Keputusan kajian ini diperkukuhkan lagi dengan data kuantitatif yang ditampilkan dalam Jadual 3 bahawa terdapat hubung kait yang jelas antara parameter kromametri,  $\Delta E^*$  dan perubahan pH. Parameter  $\Delta E^*$  menunjukkan korelasi yang baik untuk kedua-dua keadaan asid dan alkali pada julat pH yang lebih besar (pH2-7 dan pH7-11) dengan nilai  $R^2 = 0.9560$ ,  $R^2 = 0.9820$ . Berdasarkan perbezaan yang ketara bagi nilai  $\Delta E^*$  dalam larutan berasid, neutral dan alkali ini, maka ekstrak bilberi adalah berpotensi digunakan sebagai pewarna semula jadi dalam pembangunan satu sensor pH kuantitatif melalui konsep kromametri untuk penentuan tahap kesegaran produk makanan, khasnya hasil laut berbungkus memandangkan kesegaran produk sebegini mempunyai hubungan rapat dengan perubahan pH.

Apabila tahap kesegaran hasil perikanan seperti ikan dan makanan laut menurun, ia akan menghasilkan sebatian meruap berasaskan nitrogen yang mengandungi trimetilamina, dimetilamina dan ammonia yang bersifat alkali. Penghasilan sebatian meruap ini dikaitkan dengan aktiviti enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisma dan kepekatan sebatian meruap ini semakin meningkat dengan masa penyimpanan pada ruang udara bungkusan, seterusnya

JADUAL 2. Perubahan nilai warna ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  dan  $\Delta E^*$ ) terhadap ekstrak bilberi di dalam larutan penimbal pH1-13

pH	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$\Delta E^*$
1	76.23±0.34 <sup>E</sup>	29.59±0.43 <sup>B</sup>	15.54±0.31 <sup>C</sup>	33.42±0.52 <sup>B</sup>	37.30±0.69 <sup>B</sup>
2	73.31±1.11 <sup>F</sup>	32.12±1.25 <sup>A</sup>	18.10±0.89 <sup>B</sup>	36.87±1.52 <sup>A</sup>	41.70±0.47 <sup>A</sup>
3	76.29±0.66 <sup>E</sup>	27.65±0.60 <sup>C</sup>	13.43±0.32 <sup>D</sup>	30.74±0.67 <sup>C</sup>	35.09±0.29 <sup>C</sup>
4	77.95±0.48 <sup>D</sup>	20.17±0.53 <sup>D</sup>	9.64±0.17 <sup>E</sup>	22.35±0.56 <sup>E</sup>	27.31±0.82 <sup>E</sup>
5	81.36±0.48 <sup>C</sup>	9.01±0.20 <sup>E</sup>	5.76±0.14 <sup>H</sup>	10.69±0.40 <sup>G</sup>	16.58±0.39 <sup>J</sup>
6	83.16±0.68 <sup>B</sup>	7.61±0.45 <sup>F</sup>	5.55±0.29 <sup>H</sup>	9.41±0.46 <sup>H</sup>	14.30±0.62 <sup>K</sup>
7	84.69±0.44 <sup>A</sup>	4.49±0.17 <sup>I</sup>	5.12±0.06 <sup>H</sup>	6.81±0.15 <sup>J</sup>	11.35±0.53 <sup>L</sup>
8	78.41±1.05 <sup>D</sup>	6.22±0.58 <sup>G</sup>	5.25±0.13 <sup>H</sup>	8.15±0.52 <sup>I</sup>	17.79±0.89 <sup>I</sup>
9	76.66±1.32 <sup>E</sup>	5.83±0.51 <sup>GH</sup>	8.60±0.30 <sup>F</sup>	10.39±0.53 <sup>G</sup>	19.88±1.15 <sup>H</sup>
10	70.56±1.35 <sup>G</sup>	9.18±0.50 <sup>E</sup>	7.26±0.12 <sup>G</sup>	11.70±0.47 <sup>F</sup>	26.36±1.18 <sup>EF</sup>
11	66.53±1.39 <sup>H</sup>	9.28±0.49 <sup>E</sup>	7.35±0.12 <sup>G</sup>	11.83±0.37 <sup>F</sup>	30.15±1.25 <sup>D</sup>
12	73.77±0.55 <sup>F</sup>	5.14±0.13 <sup>HI</sup>	7.40±0.05 <sup>G</sup>	9.01±0.12 <sup>HI</sup>	22.09±0.63 <sup>G</sup>
13	81.07±0.92 <sup>C</sup>	3.77±0.40 <sup>J</sup>	25.06±1.19 <sup>A</sup>	25.34±1.24 <sup>D</sup>	25.99±0.55 <sup>F</sup>

Min dengan superskrip yang sama menunjukkan tiada perbezaan bererti ( $p>0.05$ ) antara pH larutan penimbal



RAJAH 3. Perubahan parameter warna ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  dan  $\Delta E^*$ ) terhadap ekstrak bilberi pada larutan penimbal berbeza



JADUAL 3. Data kuantitatif tentang korelasi linear antara parameter kromametri (L\*, a\*, b\*, C\* dan ΔE\*) dengan pH

Parameter korelasi	Julat pH	Hubungan korelasi linear (n=5)	R <sup>2</sup>
L*	2-7	$y = 2.312x + 69.056$	0.9867
L*	7-11	$y = -4.417x + 115.120$	0.9802
a*	2-7	$y = -5.9866x + 43.778$	0.9489
a*	7-11	$y = 1.254x - 4.286$	0.8627
b*	2-5	$y = -4.081x + 26.016$	0.9976
C*	2-5	$y = -8.693x + 55.588$	0.9800
C*	7-11	$y = 1.359x - 2.455$	0.9357
ΔE*	2-7	$y = -6.4243x + 53.298$	0.9560
ΔE*	7-11	$y = 4.617x - 20.447$	0.9820

menyebabkan peningkatan nilai pH (Zhang 2014). Ekstrak bilberi ini tidak dicadangkan sebagai pewarna pH sensitif untuk memantau kerosakan makanan yang bersifat asid, memandangkan keputusan menunjukkan perubahan hanya sekitar warna merah sahaja. Walaupun perbezaan warna adalah ketara secara pengukuran kuantitatif, tetapi tidak begitu jelas pada penglihatan mata kasar (Rajah 1). Oleh yang demikian, keadaan ini boleh mengelirukan pengguna dan mungkin keputusan tidak tepat dalam menentukan kualiti kesegaran makanan berbungkus di pasaran. Penentuan kualiti kesegaran makanan berbungkus di pasaran bergantung sepenuhnya kepada pengukuran secara kualitatif.

#### KESIMPULAN

Sebatian antosianin dalam bilberi boleh menghasilkan pelbagai warna, keamatan dan kestabilan pada pH yang berbeza. Kajian ini mendapati bahawa perbezaan warna adalah cukup ketara apabila diukur menggunakan kaedah kromametri, iaitu terdapat perubahan nilai warna a\* yang menyumbang kepada cerapan dalam perbezaan warna keseluruhan (ΔE\*). Nilai ΔE\* juga ditentukan wujud hubungan linear dan kuantitatif terhadap julat pH tertentu. Oleh yang demikian, ekstrak bilberi didapati berpotensi sebagai bahan sensor untuk pH dalam membangunkan satu sensor pH bagi memantau kesegaran makanan terutamanya hasil laut berbungkus memandangkan tahap kerosakan produk tersebut berkait rapat dengan perubahan pH ke arah alkali.

#### PENGHARGAAN

Penulis mengucapkan terima kasih atas tajaan biasiswa daripada Institut Penyelidikan Pertanian Malaysia (MARDI) dalam memberi peluang mengikuti pengajian program PhD di Universiti Kebangsaan Malaysia. Penulis juga berterima kasih untuk sokongan kewangan daripada Universiti Kebangsaan Malaysia melalui Dana Kumpulan Penyelidikan DPP-2017-064 (Sensor Kimia dan Biosensor UKM) dan Geran Penyelidikan UP-5179-2017.

#### RUJUKAN

- Anshika, A., Anant, R., Natarajan, T.S. & Chandra, T.S. 2012. Development of universal pH sensing electrospun nanofibers. *Sensor Actuators B: Chemical* 161: 1097-1101.
- Baj, A., Bombardelli, E., Gabetta, B. & Martinelli, E.M. 1983. Qualitative and quantitative evaluation of *Vaccinium myrtillus* anthocyanins by high-resolution gas chromatography and high-performance liquid chromatography. *Journal Chromatography* 279: 365-372.
- Bąkowska-Barczak, A. 2005. Acylated anthocyanins as stable, natural food colorants - A review. *Pol. of Journal Food Nutrition Science* 14/55(2): 107-116.
- Burdulis, D., Ivanauskas, L., Vidamantas, D., Kazlauskas, S. & Razukas, A. 2007. Study of diversity of anthocyanin composition in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruits. *Medicina* 43: 971-977.
- Cabrita, L., Fossen, T. & Andersen, Ø.M. 2000. Colour and stability of the six common anthocyanin 3-glucosides in aqueous solutions. *Food Chemistry* 68: 101-107.
- CIELAB Colour Space. 2008. Application notes, Hunter Lab 8(7).
- Delgado-Vargas, F., Jiménez, A.R. & Paredes-López, O. 2000. Natural pigments: Carotenoids, anthocyanins and betalains-characteristics, biosynthesis, processing and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40(3): 173-289.
- Devarayan, K. & Kim, B.S. 2015. Reversible and universal pH sensing cellulose nanofibers for health monitor. *Sensors and Actuators B: Chemical* 209: 281-286.
- Dong, S., Luo, M., Peng, G. & Cheng, W. 2008. Broad range pH sensor based on sol-gel entrapped indicators on fiber optic. *Sensor Actuators B: Chemical* 129: 94-98.
- Fidaleo, M., Lavecchia, R., Maffei, G. & Zuurro, A. 2015. Phenolic extracts from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues as new functional food ingredients. *International Journal of Applied Engineering Research* 10(16): 36222-36225.
- Fossen, T., Cabrita, L. & Andersen, O.M. 1998. Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region. *Food Chemistry* 63: 435-440.
- Gomez, K.A. & Gomez, A.A. 1984. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. 2nd ed. New York: Wiley. p. 680.
- Ichiyanagi, T., Hatano, Y., Matsugo, S. & Konishi, T. 2004. Structural dependence of HPLC separation pattern of anthocyanins from bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). *Chemistry Pharmaceutical Bulletin* 52: 628-630.

- Kerry, J.P., O'Grady, M.N. & Hogan, S.A. 2006. Past, current and potential utilization of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: A review. *Meat Science* 74(1): 113-130.
- Khoo, H.E., Chew, L.Y. & Ismail, A. 2012. Anthocyanins in purple colored fruits. In *Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources and Health Benefits*, edited by Sun, J., Prasad, K.N., Ismail, A., Yang, B., You, X.R. & Li, L. New York: Nova Science Publisher. pp. 133-152.
- Kirca, A., Ozkan, M. & Cemeroglu, B. 2007. Effect of temperature solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. *Food Chemistry* 101: 212-218.
- Kuswandi, B., Jayus, Oktaviana, R., Abdullah, A. & Heng, L.Y. 2014. A novel on-package sticker sensor based on methyl red for real-time monitoring of broiler chicken cutb freshness. *Packaging Technology and Science* 27: 69-81.
- Lee, J., Durst, R.W. & Wrolstad, R.E. 2005. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal AOAC Int.* 88: 1269-1278.
- Manganaris, G.A., Goulas, V., Vicente, A.R. & Terry, L.A. 2014. Berry antioxidants: Small fruits providing large benefits. *Journal of Science & Food Agricultural* 94: 825-833.
- Marianne, D., Wesergaard, N. & Stapelfeldt, H. 2001. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. *Food Chemistry* 72: 431-437.
- Mohd, P., Khan, A. & Farooqui, M. 2011. Analytical applications of plant extract as natural pH indicator: A review. *Journal of Advanced Scientific Research* 2: 20-27.
- Schanda, J. 2007. *Colorimetry: Understanding the CIE System*. Hoboken: John Wiley & Sons. p. 459.
- Shukla, V., Kandeepan, G. & Vishnuraj, M.R. 2015. Development of on package indicator sensor for real-time monitoring of meat quality. *Veterinary World* EISSN: 2231- 0916.
- Shahid, M. & Mohammad, F. 2013. Recent advancements in natural dye applications: A review. *Journal of Cleaner Production* 53: 310-331.
- Terci, D.B.L. & Rossi, A.V. 2002. Natural pH indicators: Using paper or solution. *Química Nova*. 25(4): 684-688.
- Zhang, J., Sokhansaj, S., Wu, S., Fang, R., Yang, W. & Winter, P. 1998. A transformation technique from RGB signals to the munsell system for colour analysis of tobacco leaves. *Comput. Electron. Agric.* 19: 155-166.
- Zhang, X., Lu, S. & Chen, X. 2014. A visual pH sensing film using natural dyes from *Bauhinia blakeana* Dunn. *Sensors and Actuators B: Chemical* 198: 268-273.
- Noor Azizah Ahmad, Lee Yook Heng\*, Faridah Salam & Sharina Abu Hanifah  
Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan  
Fakulti Sains dan Teknologi  
Universiti Kebangsaan Malaysia  
43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan  
Malaysia
- Noor Azizah Ahmad & Faridah Salam  
Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia  
43400 Serdang, Selangor Darul Ehsan  
Malaysia
- \*Pengarang untuk surat-menyurat; email: leeyookheng@yahoo.co.uk
- Diserahkan: 26 Februari 2018  
Diterima: 2 Julai 2018