

EKSTRAKSI DAN STABILITAS BETASIANIN DAUN DARAH (*Alternanthera dentata*) (KAJIAN PERBANDINGAN PELARUT AIR:ETANOL DAN SUHU EKSTRAKSI)

Extraction and Stability of Betacyanin from Blood Leaf (Study on Water to Ethanol Ratio and Extraction Temperature)

Ahmad Dhiaul Khuluq, Simon Bambang Widjanarko, Erni Sofia Murtini

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian,
Universitas Brawijaya Jl. Veteran - Malang

ABSTRACT

The aim of this research was to know the temperature's influence and the solvent comparison (water:ethanol) on the betacyanin extract properties from blood leaf. The research was also aimed to know the stability of betacyanin extract toward temperature, pH, oxidant, and light of the best treatment. This research was conducted in two factorial randomized block design. The first factor was extraction temperature (4°C, 30°C and 60°C) and the second factor was water to ethanol ratio (8:2, 5:5, and 2:8 (v/v)). Each treatment combination was conducted in triplication. The result of this research was analyzed using ANOVA, followed by 5% LSD test. If it had interaction, it would be continued by DMRT 5% test. The best treatment was tested using De Garmo effectiveness index. The best characteristic of extract was obtained from the water to ethanol ratio of 5:5 and extraction temperature of 30°C. Extract had physic-chemical properties as follows: betacyanin content of 45,81 mg/100 g, yield of 81,05%, ethanol residue of 0,099%, pH of 6,68, and color intensity L of 24,4; a* of 4,7; and b* of 7,9. The stability of extract decreased as well as the increasing of heating temperature, oxidant concentration (H₂O₂), and duration of lamp rays radiation, and the extract stability increased at pH 5*

Keywords: Betacyanin, solvent, temperature, stability

PENDAHULUAN

Bahan pewarna makanan bisa didapatkan dari pewarna sintetik dan pewarna alami. Dalam perkembangan industri pangan, terdapat kecenderungan menggantikan pewarna sintetik dengan pewarna alami, seperti warna merah betasianin dari bit yang telah disetujui untuk digunakan sebagai bahan tambahan makanan di Amerika Serikat (No. 1600) dan di Eropa (E-162). Disamping itu juga dibebaskan dari prosedur sertifikasi dan secara luas digunakan di belahan dunia (Castellar *et al.*, 2003). Dengan semakin diakuinya keberadaan pewarna alami dalam pemenuhan bahan pewarna industri pangan

maka dibutuhkan eksplorasi sumber pewarna alami seperti betasianin dari beberapa tanaman selain dari tanaman bit.

Betasianin adalah pigmen alami yang ditemukan dari suku Centrospermae termasuk famili Amaranaceae. Salah satu jenis dari famili Amaranaceae adalah daun darah (*Alternanthera dentata*) yang dapat digunakan sebagai salah satu komoditas pewarna alami prospektif dalam pemenuhan kebutuhan pewarna makanan dengan ketersediaan cukup banyak dan perawatan cukup mudah. Betasianin dapat digunakan sebagai pewarna alami dalam bentuk ekstrat, akan tetapi penggunaan pelarut air dalam proses pemekatan dengan panas dapat mengakibatkan

kerusakan karena titik didih air cukup tinggi (100°C) sedangkan stabilitas betasianin semakin menurun pada pemanasan suhu 70 dan 80°C (Havlikova *et al.*, 1983).

Penelitian tentang pelarut air:etanol dan suhu ekstraksi masih belum banyak dilakukan dalam mengurangi kerusakan ekstrak pada proses ekstraksi sehingga perlu dilakukan penelitian tentang penggunaan pelarut air:etanol dan suhu yang tepat untuk mendapatkan kadar betasianin yang tinggi. Pelarut metanol 80% sesuai digunakan dalam ekstraksi pewarna antosianin maupun betasianin akan tetapi berbahaya dalam aplikasi pangan. Diharapkan penggunaan air dan etanol yang memiliki titik didih rendah serta efektif dalam melarutkan betasianin dapat berinteraksi positif dalam menghasilkan ekstrak betasianin dengan kualitas terbaik.

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbandingan pelarut air:etanol dan suhu ekstraksi terhadap karakteristik ekstrak betasianin. Sedangkan tujuan khusus adalah menentukan perbandingan pelarut air:etanol (v/v) dan suhu ekstraksi yang tepat untuk menghasilkan ekstrak betasianin dengan kadar betasianin tertinggi serta mengetahui stabilitas ekstrak betasianin terhadap suhu, oksidator dan cahaya.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun darah (4 pasang daun dari pucuk daun darah umur ± 3 bulan) yang diperoleh dari taman kota Malang. Etanol 95% dan akuades dengan kemurnian teknis serta metanol 80% (p.a.) diperoleh dari PT. Panadia Malang dengan merk Malincroth.

Bahan yang digunakan untuk analisa dengan kemurnian p.a. adalah $C_6H_8O_6 \cdot 1H_2O$, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, KCr_2O_7 , K_2CO_3 yang diperoleh dari PT. Panadia Malang dengan merk Malincroth. Larutan buffer asetat pH 4 dan 7 serta akuades

diperoleh dari Laboratorium Biokimia dan Nutrisi Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.

Bahan yang digunakan untuk uji stabilitas adalah akuades, HCl pekat, NaOH, H_2O_2 diperoleh dari PT. Panadia Malang dengan merk Malincroth.

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi adalah evaporator vakum (Buchi Rotavator R-200), pompa vakum (Buchi Vac V-500), termometer digital (Barigo Thermo Chip 905), blender (Phillips), timbangan digital (Denver Instrument M-310), gelas ukur, beaker glass, pipet tetes, pipet volume, erlenmeyer, spatula, kertas saring, pisau, baskom, kantong plastik.

Alat-alat gelas yang digunakan untuk analisis adalah timbangan digital (Denver Instrument M-310), pH-meter (Rex pHs-3C), *color reader* (Minolta CR-10), spektrofotometer (UV-2100).

Alat yang digunakan untuk uji stabilitas adalah alat-alat gelas, penangas air (Buchi Heating Bath B-490), pengering kabinet, pH-meter (Rex pHs-3C), lampu 20 Watt (Ekonomat Surya).

Metode Penelitian

Rancangan percobaan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), yang disusun secara faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama terdiri dari 3 level yaitu suhu ekstraksi 4°C, 30°C dan 60°C. Faktor kedua adalah perbandingan pelarut air:etanol yang terdiri dari 3 level yaitu 8:2, 5:5, dan 2:8 (v/v).

Pelaksanaan Penelitian

Persiapan Sampel

Daun dicuci dengan air sampai bersih untuk menghilangkan kotoran kemudian ditiriskan. Daun yang telah dikeringanginkan kemudian ditimbang sebanyak 50 g.

Proses Ekstraksi Betasianin

Sebanyak 50 g daun yang siap diekstrak dimasukkan ke dalam blender dengan menambahkan 250 ml pelarut air:etanol sesuai perlakuan (8:2; 5:5; 2:8) selanjutnya diblender untuk memperkecil

ukuran selama 5 menit. Dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilakukan proses ekstraksi dengan suhu sesuai perlakuan (4°C; 30°C; 60°C) selama 50 menit. Ekstrak disaring dengan menggunakan penyaring vakum untuk memisahkan ekstrak. Dipekatkan dengan evaporator vakum suhu 70°C dan tekanan 220 mbar selama 20 menit untuk memisahkan etanol dan sebagian air.

Analisis

Analisis yang dilakukan pada bahan baku adalah total betasianin (Eder, 1996), intensitas warna (Yuwono dan Susanto, 1998) dan pH (Apriyantono, 1989). Ekstrak yang dihasilkan dari proses ekstraksi dilakukan analisa total betasianin (Eder, 1996), intensitas warna (Yuwono dan Susanto, 1998), pH (Apriyantono, 1989), residu etanol (Suyitno, 1987) dan rendemen (Hanum, 2000). Perlakuan terbaik dari ekstrak betasianin dilakukan uji stabilitas terhadap pengaruh suhu pemanasan, pH dan oksidator (Wang *et al.*, 2006) serta pengaruh cahaya sinar lampu (Wijaya, 2001).

Analisis betasianin dilakukan dengan mengambil sampel 1 ml, diencerkan dengan buffer sitrat-pospat pH 5 dan diukur absorbansi pada λ_{537} dan λ_{500} . Nilai absorbansi dihitung dengan $A = 1,095 (\lambda_{537} - \lambda_{500})$. Penentuan total betasianin dengan

$$\frac{AxFPxBMx 1000}{\epsilon l}$$

(A: absorbansi, *FP* : faktor pengenceran, *BM* : 550g/mol, ϵ : 60000 L/mol cm, *l* : tebal kuvet 1 cm)

Analisa data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) dengan Rancangan Acak Kelompok. Apabila dari hasil uji menunjukkan ada pengaruh maka dilanjutkan dengan uji lanjut menggunakan BNT 5%. Jika ada interaksi antara kedua faktor, maka akan diuji dengan menggunakan uji DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan selang kepercayaan 5% selanjutnya

dilakukan pemilihan perlakuan terbaik dengan metode "Indeks Efektifitas" (DeGarmo *et al.*, 1984).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Bahan Baku

Berikut ini adalah analisa bahan baku daun darah yang digunakan pada ekstraksi betasianin.

Tabel 1. Hasil analisa daun darah

Parameter	Nilai
Kadar Betasianin (mg/100g)	56,52
pH	6,12
Tingkat Kecerahan (L*)	24,0
Intensitas Warna Merah (a*)	6,1
Intensitas Warna Kuning (b*)	8,3

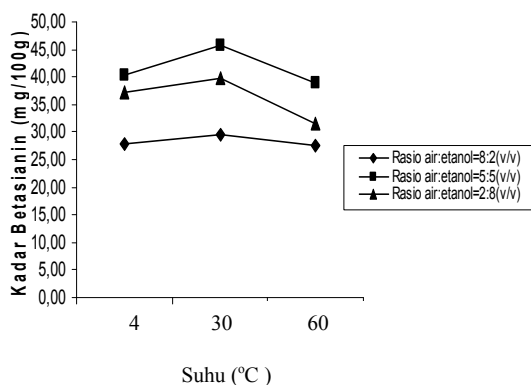
Tabel 1 menunjukkan kadar betasianin daun darah adalah sebesar 56,52 mg/100g dengan intensitas warna merah 6,1. Penggunaan pelarut metanol 80% dalam ekstraksi daun darah sebagai analisa bahan baku didasarkan pada penelitian sebelumnya yaitu ekstraksi betasianin pada suku Amarantaceae, sedangkan daun darah merupakan golongan suku Amarantaceae, sehingga dalam pemilihan metanol 80% sebagai pelarut dalam ekstraksi betasianin daun darah untuk analisa bahan baku adalah tepat. Penelitian Cai *et al.* (2001) menggunakan metanol 80% sebagai pelarut dalam ekstraksi betasianin dari suku Amarantaceae dan dihasilkan kisaran kadar betasianin antara 8-136 mg/100g. Herbach *et al.* (2006) menyatakan bahwa kenaikan dan penurunan intensitas warna merah ekstrak dipengaruhi oleh besar kecilnya kadar betasianin pada bahan.

Kadar Betasianin dan Rendemen

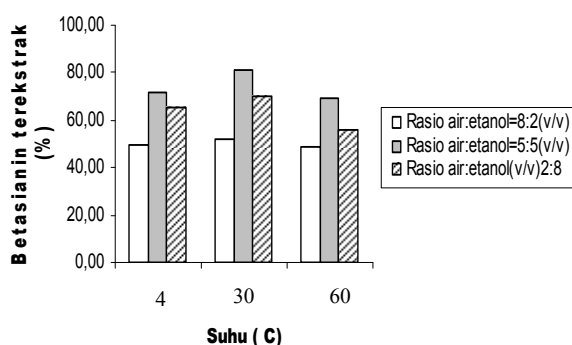
Kadar betasianin dan rendemen memiliki kecenderungan meningkat pada suhu 30°C sedangkan kadar betasianin tertinggi diperoleh dari pelarut air:etanol perbandingan 5:5 (Gambar 1 dan 2). Hal ini diduga karena kombinasi pelarut air:etanol 5:5 memberikan tingkat kepolaran yang

mendekati tingkat kepolaran betasianin pada daun darah sehingga meningkatkan kemampuan untuk melarutkan betasianin dan ekstraksi dapat terjadi secara maksimal. Vogel (1978) menyatakan bahwa daya melarutkan yang tinggi ini berhubungan dengan kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Menurut Eder (1996) betasianin memiliki kelarutan tinggi dalam air sehingga ekstraksi biasanya dilakukan dengan pelarut air atau menggunakan campuran pelarut air:etanol (1:1).

Rerata kadar betasianin antara 27,43–45,81 mg/100g dan rendemen sebesar 48,52–81,05%.



Gambar 1. Pengaruh suhu ekstraksi dan rasio pelarut air:etanol terhadap kadar betasianin



Gambar 2. Pengaruh suhu ekstraksi dan pelarut air:etanol terhadap rendemen

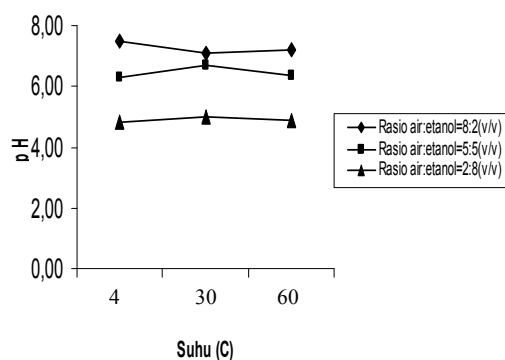
Pada suhu ekstraksi 30°C diperoleh rerata kadar betasianin dan rendemen

paling tinggi. Diduga suhu 30°C memberikan mobilitas pelarut yang cukup baik pada ekstraksi betasianin dan tidak menurunkan stabilitas betasianin pada proses ekstraksi. Semakin tinggi suhu maka semakin meningkatkan energi kinetik dari suatu senyawa yang mengakibatkan mobilitasnya meningkat dan apabila kondisi tersebut dipertahankan maka semakin banyak pula jumlah antosianin yang dapat diekstrak (Fennema, 1996). Penggunaan suhu 40°C menghasilkan kadar antosianin paling tinggi jika dibandingkan dengan penggunaan suhu 20°C dan 60°C (Cacace and Mazza, 2002). Betasianin memiliki kesamaan dengan antosianin sebagai pewarna alami dimanana stabilitasnya dipengaruhi suhu.

Nilai pH

pH memiliki peranan penting dalam ekstraksi betasianin karena memberikan pengaruh pada kestabilan betasianin. Castellar *et al.* (2003) mendapatkan absorbansi maksimum betasianin dengan nilai 535 nm pada nilai pH 5 sehingga dinyatakan bahwa betasianin memiliki tingkat kestabilan yang tinggi pada pH 5. Sedangkan menurut Reid *et al.* (1980) kerusakan betasianin meningkat tajam dibawah pH 4 dan Coultate (1996) menambahkan bahwa pada nilai pH netral menyebabkan kerusakan betasianin dan berubah menjadi berwarna coklat.

Rerata pengamatan nilai pH ekstrak dari ekstraksi betasianin daun darah berkisar antara 4,90–7,49.

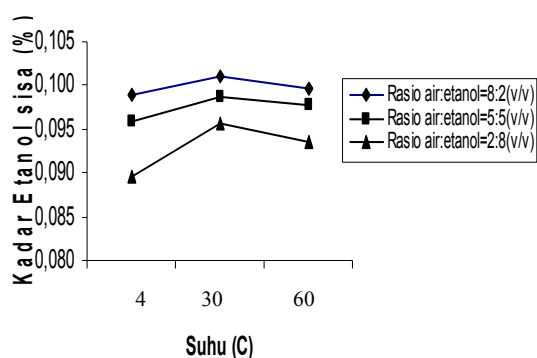


Gambar 3. Pengaruh suhu ekstraksi dan pelarut air:etanol terhadap pH

Gambar 3 menunjukkan bahwa pH ekstrak betasianin mempunyai kecenderungan menurun dengan semakin tingginya konsentrasi air dalam pelarut. Hal ini dikarenakan pada proses evaporasi mengakibatkan pengaruh terhadap etanol dalam memberikan kondisi pH yang semakin menurun sehingga pada rasio dengan jumlah air lebih banyak memberikan pengaruh ekstrak betasianin cenderung lebih bersifat basa. Wiesenborn *et al.* (1993) menyatakan bahwa banyaknya air dalam ekstraksi biji bunga matahari akan mempengaruhi nilai pH.

Residu Etanol

Kadar residu etanol cenderung meningkat pada suhu 30°C dan terjadi penurunan kembali pada suhu 60°C (Gambar 4). Hal ini diduga pada suhu rendah air memiliki kecenderungan untuk mendekati titik beku sehingga terjadi penurunan mobilitas pelarut dan dalam proses interaksi air dengan etanol dalam berikatan (pembentukan ikatan hidrogen) semakin kecil dengan tetap mempertahankan ikatan hidrogen dalam air atau etanol sendiri dan mengakibatkan etanol mudah terlepas pada proses pemekatan dengan evaporasi.



Gambar 4. Pengaruh suhu ekstraksi dan pelarut air:etanol terhadap residu etanol

Residu etanol pada suhu 60°C menurun diduga karena pengaruh energi kinetik yang disebabkan oleh panas mengakibatkan gerakan molekul air atau etanol lebih bebas sehingga semakin

membuka peluang pemutusan ikatan hidrogen. Hal ini diperkuat oleh Fennema (1996) yang menyatakan bahwa semakin tinggi suhu maka meningkatkan energi kinetik dari suatu senyawa yang mengakibatkan peningkatan mobilitasnya.

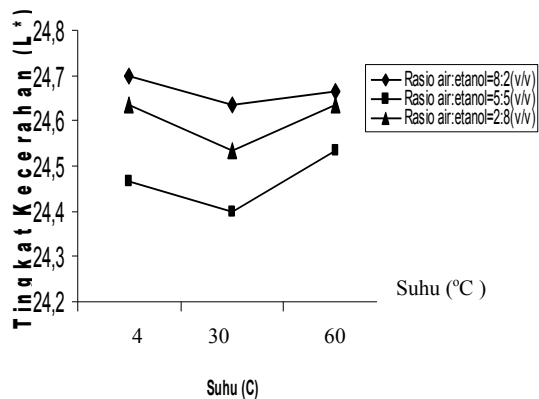
Pengaruh pelarut air:etanol didapatkan kadar residu etanol terbesar pada perbandingan air:etanol 8:2 sedangkan kadar residu etanol terkecil diperoleh dari pelarut air:etanol 2:8. Hal ini diduga karena pada kombinasi pelarut dengan konsentrasi air tinggi menyebabkan etanol terikat kuat oleh air dengan membentuk ikatan hidrogen sehingga pada proses evaporasi atau pemisahan pelarut dari zat terlarutnya menggunakan evaporator vakum sebagian etanol yang terikat kuat oleh air tidak mudah lepas dan masih tertinggal dalam ekstrak. Winarno (1997) menyebutkan kelompok kecil molekul air bergabung dengan suatu pola tertentu, kelompok tersebut bergerak bebas dan menyebabkan terjadinya pertukaran ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen ini tidak hanya mengikat molekul air satu sama lain, tetapi dapat juga menyebabkan pembentukan hidrat antara air dengan senyawa lain.

Tingkat Kecerahan (L*)

Tingkat kecerahan ekstrak betasianin semakin menurun pada pelarut air:etanol perbandingan 5:5 dan pada suhu ekstraksi 30°C (Gambar 5). Hal ini diduga karena pada pelarut air:etanol (5:5) dihasilkan kadar betasianin yang tinggi sehingga intensitas warna merah bertambah dan mengakibatkan kenampakan ekstrak semakin gelap. Pada penggunaan pelarut air:etanol dengan perbandingan 8:2 dan 2:8 diperoleh tingkat kecerahan ekstrak betasianin yang tinggi. Diduga hasil ekstraksi dengan konsentrasi betasianin yang lebih rendah menyebabkan intensitas warna merah rendah sehingga warna ekstrak tidak terlalu gelap. Selain itu diduga terjadi kerusakan betasianin akibat dekomposisi struktur pigmen oleh panas pada proses evaporasi pemisahan pelarut sehingga terjadi pemucatan dan menyebabkan warna semakin terang.

Herbach *et al.* (2006) meneliti tentang perubahan warna dari jus pitaya selama proses produksi dengan menggunakan pemantauan nilai $L^*C^*h^*$. Peningkatan nilai L^* menunjukkan bahwa betasianin mengalami kerusakan.

Rerata tingkat kecerahan ekstrak betasianin adalah berkisar antara 24,4-24,7.

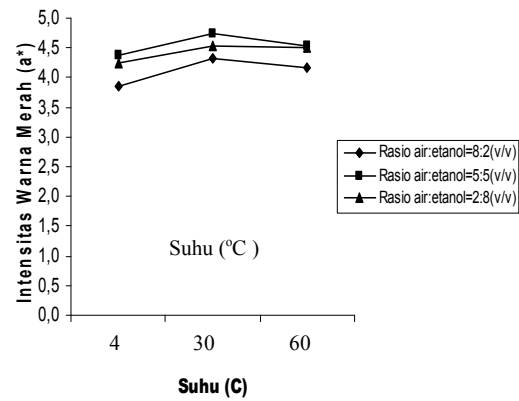


Gambar 5. Pengaruh suhu ekstraksi dan pelarut air:etanol terhadap tingkat kecerahan

Intensitas Warna Merah (a*)

Intensitas warna merah ekstrak betasianin cenderung meningkat pada perlakuan suhu 30°C dan terjadi penurunan kembali pada perlakuan suhu 60°C (gambar 6). Hal ini terjadi karena pada perlakuan suhu 4°C, betasianin tidak terekstrak dengan sempurna sedangkan pada Suhu 60°C betasianin mengalami penurunan stabilitas selama proses ekstraksi. Akibatnya terjadi kerusakan dan menurunkan kadar betasianin terekstrak sehingga terjadi penurunan intensitas warna merah. Pada suhu 30°C didapatkan kadar betasianin tertinggi dibandingkan perlakuan suhu ekstraksi yang lain sehingga semakin tinggi konsentrasi betasianin dalam ekstrak memberikan kontribusi warna merah yang lebih tinggi. Herbach *et al.*, (2006) menyatakan bahwa kenaikan dan penurunan intensitas warna merah ekstrak dipengaruhi oleh besar kecilnya kadar betasianin pada bahan.

Hasil analisa rerata warna merah (a*) pada ekstrak betasianin adalah berkisar antara 3,9 – 4,7.



Gambar 6. Pengaruh suhu ekstraksi dan pelarut air:etanol terhadap intensitas warna merah

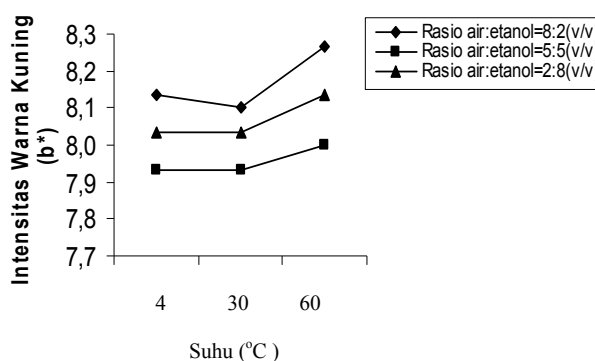
Intensitas warna merah ekstrak betasianin paling rendah diperoleh dari pelarut air:etanol perbandingan 8:2, sedangkan intensitas warna merah tertinggi diperoleh dari pelarut air:etanol perbandingan 5:5. Hal ini terjadi karena pelarut air:etanol perbandingan 5:5 merupakan perlakuan terbaik sehingga dalam ekstrak terdapat kadar betasianin yang tinggi yang berkontribusi warna merah yang lebih baik dibandingkan kadar betasianin rendah. Gross (1991) berpendapat β -karoten merupakan pigmen alami berwarna kuning atau orange. Oleh karena itu semakin banyak β -karoten yang terekstrak maka kepekatannya semakin meningkat, hal ini menyebabkan intensitas warna merah (a*) ekstrak β -karoten meningkat.

Intensitas Warna Kuning (b*)

Intensitas warna kuning cenderung naik pada perlakuan suhu ekstraksi 60°C. Intensitas warna kuning betasianin tertinggi adalah pada perlakuan suhu ekstraksi 60°C dengan pelarut air:etanol perbandingan 2:8 (v/v). Tingkat intensitas warna kuning terendah diperoleh dari ekstraksi pelarut air:etanol perbandingan

5:5 dengan suhu 30°C dan 4°C (Gambar 7). Peningkatan intensitas warna kuning (b^*) menunjukkan penurunan konsentrasi betasianin karena betasianin memberikan pengaruh warna merah yang lebih besar dibandingkan warna kuning ekstrak selain menunjukkan peningkatan kerusakan betasianin. Coultate (1996) menyatakan bahwa betalain dibagi menjadi dua kelompok yaitu betasianin dengan warna pigmen merah keunguan (λ_{max} 534-555 nm) dan betaxantin dengan warna pigmen kuning (λ_{max} 480 nm). Pada pemanasan jus pitaya, nilai h^o hanya meningkat sedikit (336-338). Peningkatan intensitas warna ini terjadi disertai dengan degradasi betasianin yang berkaitan dengan formasi warna kuning pada kerusakan produk (Herbach *et al.*, 2006).

Hasil analisa rerata intensitas warna kuning (b^*) ekstrak betasianin adalah pada kisaran 7,9-8,3.



Gambar 7. Pengaruh suhu ekstraksi dan pelarut air:etanol terhadap intensitas warna kuning

Uji Stabilitas Ekstrak Betasianin

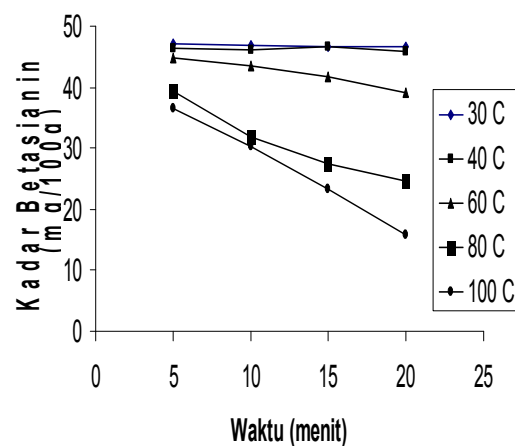
Uji stabilitas yang dilakukan meliputi stabilitas terhadap pengaruh suhu pemanasan, pH dan oksidator serta pengaruh cahaya sinar lampu.

Stabilitas terhadap Suhu Pemanasan

Pengaruh suhu pemanasan dilakukan pada suhu 30, 40, 60, 80 dan 100°C selama 5, 10, 15 dan 20 menit.

Penurunan kadar betasianin terjadi pada pemanasan suhu 60°C, 80°C dan 100°C selama 5-20 menit sedangkan pada

suhu 40°C dalam waktu 5-20 menit memiliki kecenderungan kurva seperti kontrol (suhu 30°C) (Gambar 8). Peningkatan suhu pemanasan mengakibatkan penurunan kadar betasianin ekstrak. Hal ini diduga karena peningkatan suhu pemanasan dapat menurunkan stabilitas betasianin pada ekstrak yang selanjutnya mengakibatkan kerusakan betasianin. Pernyataan ini didukung oleh pendapat Havlikova *et al.* (1983) yang menyatakan bahwa stabilitas betasianin semakin menurun pada pemanasan suhu 70 dan 80°C.

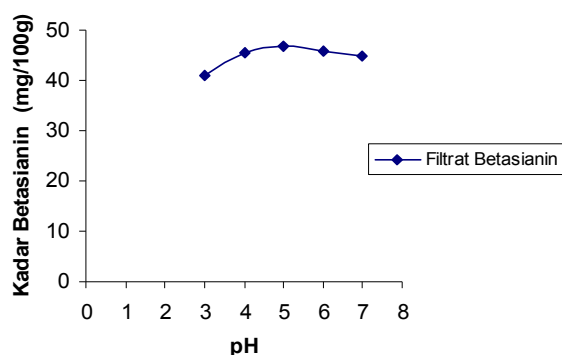


Gambar 8. Pengaruh suhu terhadap kadar betasianin ekstrak

Nilai penurunan kadar betasianin ini semakin besar dengan semakin tinggi suhu. Hal ini disebabkan pemanasan mengakibatkan kerusakan struktur senyawa betasianin sehingga kadar betasianin pada ekstrak mengalami penurunan. Sutrisno (1987) menyatakan bahwa suhu dan lama pemanasan menyebabkan terjadinya dekomposisi dan perubahan struktur pigmen sehingga terjadi pemucatan. Ekstrak betasianin menurun dengan meningkatnya suhu dan lama pemanasan. Dekomposisi betasianin sangat rendah dibawah suhu 40°C yang ditunjukkan oleh absorbansi betasianin mendekati kontrol. Ketika suhu melebihi 80°C, betasianin hampir sepenuhnya terdekomposisi setelah 20 menit (Wang *et al.*, 2006).

Stabilitas terhadap pH

Uji stabilitas betasianin terhadap pH dilakukan pada kisaran pH 3, 4, 5, 6 dan 7. Konsentrasi betasianin naik sampai pH 5 kemudian terjadi penurunan nilai kembali (Gambar 9). Hal ini diduga pH 5 memberikan stabilitas yang tinggi pada betasianin sehingga tingkat kerusakan betasianin pada ekstrak relatif kecil dibandingkan kerusakan pada pH asam dan basa tinggi. pH merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi stabilitas betasianin.



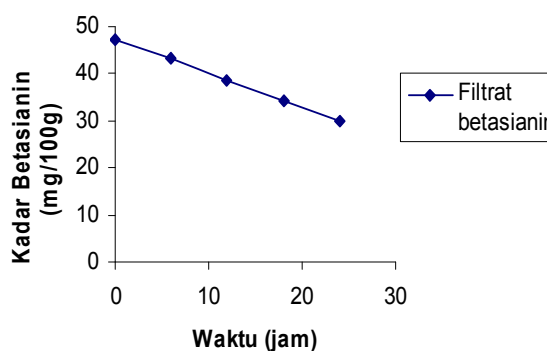
Gambar 9. Pengaruh pH terhadap kadar betasianin ekstrak

Castellar *et al.* (2003) menyatakan bahwa betasianin memiliki tingkat kestabilan yang tinggi pada pH 5. Dalam penelitian Reid *et al.* (1980) dinyatakan bahwa kerusakan betasianin meningkat tajam dibawah pH 4 dengan bahan pengasam HCl dan Ethepon. Pada pH terendah (pH 2,2) semua pigmen secara keseluruhan menghilang pada kedua perlakuan bahan pengasam (HCl dan Ethepon). Coultate (1996) menambahkan bahwa pada nilai pH netral terjadi kerusakan betasianin dan berubah menjadi berwarna coklat.

Stabilitas terhadap Sinar Lampu

Uji stabilitas betasianin terhadap cahaya dilakukan dengan penyinaran lampu 20 watt selama 24 jam. Penyinaran lampu selama 24 jam mengakibatkan terjadi penurunan kadar betasianin ekstrak (Gambar 10). Salah satu faktor yang mempengaruhi stabilitas betasianin adalah

cahaya. Diduga cahaya lampu yang dipancarkan dan diterima oleh ekstrak menghasilkan energi panas dan cahaya yang dapat mendegradasi struktur senyawa betasianin karena reaksi fotokimia. Akibatnya dengan semakin lama penyinaran, stabilitas betasianin semakin menurun dan selanjutnya meningkatkan kerusakan betasianin.



Gambar 10. Pengaruh sinar lampu terhadap kadar betasianin ekstrak

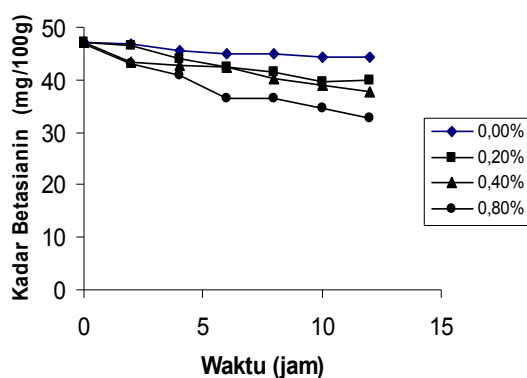
Smith (1975) menyatakan bahwa lampu adalah sumber sinar yang memancarkan energi dan sebagian energi ini diubah menjadi sinar tampak. Hal ini diperkuat oleh pendapat Prabowo (1998) bahwa kadar antosianin cenderung semakin menurun akibat perlakuan penyinaran karena adanya sinar yang memancarkan energi pada spektrum tampak berupa proton dan diabsorpsi oleh molekul antosianin sehingga mendorong reaksi fotokimia yang merusak struktur antosianin dan terjadi degradasi (kehilangan warna).

Proses penyinaran cahaya lampu selama 24 jam mengakibatkan penurunan kadar betasianin sebesar 29,75 mg/100g. Energi yang diberikan oleh cahaya berupa sinar tampak dari lampu dapat menurunkan kadar betasianin ekstrak sehingga semakin lama penyinaran dengan cahaya maka tingkat kerusakan betasianin juga semakin besar. Menurut Bilyk *et al.* (1981) pengaruh kondisi terang pada stabilitas pigmen merah beet dapat menghasilkan kehilangan warna mencapai 50-60%. Jackman and Smith (1996) menyatakan

bahwa kepekaan betalain terhadap pengaruh degradasi oleh cahaya disebabkan karena absorpsi cahaya UV dan sinar tampak yang mendorong eksitasi elektron dari *chromophore* betalain lebih aktif, sehingga menyebabkan peningkatan reaktifitas molekul.

Stabilitas terhadap Oksidator

Uji stabilitas betasianin terhadap oksidator dilakukan dengan pemberian H₂O₂ dengan konsentrasi 0% (kontrol), 0,2 %, 0,4 % dan 0,8 % selama 12 jam. Penurunan kadar betasianin terjadi pada penambahan H₂O₂ untuk semua konsentrasi selama 12 jam (Gambar 11).



Gambar 11. Pengaruh oksidator terhadap kadar betasianin ekstrak

Hal ini diduga terjadi oksidasi pada ekstrak betasianin oleh H₂O₂ yang mengakibatkan terjadinya kerusakan struktur betasianin yang kemudian menurunkan kadar betasianin pada ekstrak. Menurut pendapat Wang *et al.* (2006) yang menyebutkan bahwa penambahan H₂O₂ mengakibatkan dekomposisi betasianin baik pada penambahan sedikit H₂O₂ atau dengan konsentrasi yang signifikan, dimana H₂O₂ merupakan senyawa yang mudah untuk mengoksidasi betasianin. Dan menurut Jenie dkk. (1997) adanya penambahan oksidator menyebabkan penurunan serapan atau berkurangnya kadar pewarna akibat terjadinya penyerangan pada gugus reaktif pewarna oleh oksidator, sehingga gugus reaktif

yang bersifat memberi warna berubah menjadi tidak memberikan warna.

KESIMPULAN

Perbandingan pelarut air:etanol berpengaruh sangat nyata ($\alpha=1\%$) terhadap kadar betasianin, rendemen, pH, residu etanol dan intensitas warna merah (a*) dan tingkat kecerahan (L*). Suhu ekstraksi berpengaruh sangat nyata ($\alpha=1\%$) pada intensitas warna merah (a*) dan berpengaruh nyata ($\alpha=5\%$) terhadap kadar betasianin, rendemen dan residu etanol.

Ekstrak dengan perlakuan suhu ekstraksi 30°C dan pelarut air:etanol perbandingan 5:5 (v/v) menghasilkan karakteristik terbaik dengan kadar betasianin 45,81 mg/100g, rendemen 81,05%, residu etanol 0,099%, pH 6,68, Tingkat kecerahan 24,4, intensitas warna merah 4,7 dan intensitas warna kuning 7,9.

Uji stabilitas pada ekstrak betasianin menunjukkan bahwa: (1) Ekstrak betasianin cukup stabil pada perlakuan pemanasan suhu 40°C dan stabilitasnya semakin menurun pada peningkatan suhu pemanasan (60°C, 80°C, 100°C). (2) Ekstrak betasianin lebih stabil pada pH 5 dan terjadi penurunan stabilitas pada pH 3, 4, 6 dan 7. (3) Ekstrak betasianin tidak stabil pada penyinaran cahaya lampu. (4) Ekstrak betasianin tidak stabil terhadap oksidator.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono, A. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan. PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Bylik, A., M.A. Kolodij and E.M. Sapurs. 1981. Stabilization of red beet pigments with isoascorbic acid. *J. Food Sci.* 46: 1616-1617.
- Cacace, J.C. and G. Mazza. 2002. Extraction of anthocyanin and other phenolich from blackcurrants with sulfured water. *J. Agric. and Food Chem.* 50: 5939-5946.
- Cai, Y., M. Sun and H. Corke. 2001. Identification and distribution of

- simple and acylated betacyanins in the Amarantaceae. *J. Agric. Food Chem.* 49: 1971-1978.
- Castellar, R., J.M. Obon, M. Alacid and J.A.F. Lopes. 2003. Color properties and stability of betacyanin from *Opuntia* fruits. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2772-2776.
- Coulter, T.P. 1996. *Food The Chemistry of Its Components*. 3rd edition. The Royal Society and Chemistry Company. Cambridge.
- De Garmo, E.P., W.G. Sullivan and J.R. Canada. 1984. *Engineering Economy*. Seventh Edition. Macmillan Pub. Co. New York.
- Eder, R. 1996. *Handbook of Food Analysis*, Vol. I. Marcel Dekker Inc. New York.
- Fennema, O.R. 1996. *Food Chemistry*. Marcell Dekker Inc. New York.
- Gross, J. 1991. *Pigment in Vegetable Chlorophylls and Carotenoids*. Van Nostrand. New York.
- Hanum, T. 2000. Ekstraksi dan stabilitas zat pewarna alami dari katul beras ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*). *Buletin Teknologi dan Industri Pangan*, XI(1): 17-23.
- Havlikova, L, K. Mikova and Kyzlink. 1983. Heat Stability of Betacyanins. *LebensmUnters Forsch* 177: 247-50.
- Herbach, K.M., F.C. Stinizing and R. Carle. 2006. Betalain stability and degradation structural and chromatic aspects. *J. Sci. of food*. Vol. 71.Nr.4.
- Jackman, R.L. and J.L. Smith. 1996. *Anthocyanins and Betalains in Natural Food Colorants*. Blackie Academic and Professional. London.
- Jenie, B.S.L., Helianti dan S. Fardiaz. 1997. Pemanfaatan ampas tahu, onggok dan dedak untuk produksi pigmen merah oleh *Monascus purpureus*. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan* 5: 22-29.
- Purnomo, H. 1995. *Aktifitas Air dan Peranannya dalam Pengawetan Pangan*. UI press. Jakarta.
- Reid, M., S. Jack., L. Paul and R.E. Young. 1980. Effects of pH and ethephon on betacyanin leakage from beet root discs. *Plant Physiol* 66: 1015-1016.
- Smith, H. 1975. *Phytochrome and Photo Morphogenesis*. Mc-Graw Hill Book Publishing Co. London.
- Sutrisno, A.D. 1987. *Pembuatan dan Peningkatan Kualitas Zat Warna Merah Alami yang dihasilkan oleh Monascus purpureus*. PAU Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- Suyitno. 1989. *Petunjuk Laboratorium Rekayasa Pangan Proyek Pengembangan*. Pusat Fasilitas Bersama Antar Universitas (Bank Dunia XVII). PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Vogel, A.C. 1987. *Textbook of Practical Organic Chemistry*. Fourth Edition. Pp.130-136.
- Wang, C.Q., J. Zhao, C. Min and B.S.Wang. 2006. Identification of betacyanin and effects of environmental factor on its accumulation in halophyle *Suaeda salsa*. *J. of Plant Physiology and Molekuler Biology* 32(2): 195-201.
- Wijaya, L.S. 2001. *Ekstraksi dan Karakterisasi Pigmen Serupa Antosianin dari Kulit Buah Rambutan Var. Binjai*. (Tesis). Jurusan Teknologi Pangan. Brawijaya. Malang. New York.
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Yuwono, S.S. dan T. Susanto. 1998. *Pengujian Fisik Pangan*. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya.