

## **PENGARUH PENAMBAHAN ASAM TERHADAP TOTAL ANTOSIANIN DARI BUAH BIT (*BETA VULGARIS*)**

**DINI HARIYATI ADAM**

Program Studi Pendidikan Biologi STKIP Labuhan Batu, Jalan SM Raja No 126 A, Aek Tapa, Rantauprapat  
\*Email : dini\_adam89@yahoo.com

*Diterima April 2017 dan Disetujui Juni 2017*

### **ABSTRAK**

Buah bit merupakan tanaman salah satu family dari *Beta vulgaris*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas pelarut dalam mengekstraksi pigmen antosianin. Pelarut yang digunakan terdiri dari 3 variasi yaitu 1) akuades, 2) akuades yang diasamkan dengan HCl dan 3) akuades yang diasamkan dengan asam asetat. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dalam keadaan gelap ( $\pm 30^{\circ}\text{C}$ ). Dari hasil penelitian diperoleh total antosianin terbesar menggunakan pelarut akuades yang diasamkan dengan HCl sebesar 137,76 mg/L pada panjang gelombang maksimum 530 nm dan harga Rf sebesar 0,38 yang menunjukkan adanya pigmen antosianin berjenis betalain.

**Kata Kunci : buah bit, antosianin, betalain**

### **PENDAHULUAN**

Penggunaan pewarna sintetik yang marak digunakan membuat resah masyarakat terutama para ibu karena memberikan dampak terhadap kesehatan. Pewarna sintetik bersifat karsinogen yang dapat menyebabkan kanker. Oleh karena itu perlu dicari sumber pewarna makanan yang lebih aman untuk dikonsumsi.

Penggunaan pewarna sintetik dapat diganti dengan pewarna alami yang berasal dari tumbuhan. Salah satunya pewarna alami yang berasal dari buah bit.

Buah bit merupakan tanaman umbi-umbian yang memiliki banyak manfaat untuk kesehatan karena mengandung antioksidan yaitu antosianin.

Antosianin merupakan senyawa kimia yang tersebar luas di alam sebagai zat warna dalam tumbuhan. Pigmen antosianin larut dalam air dan memiliki warna merah muda, merah, ungu, biru, dan kuning (Harborne 1987).

Secara kimiawi antosianin dapat dikelompokkan ke dalam flavonoid.

Antosianin dapat ditemukan diberbagai tanaman di alam (Nazulis, *et al.*, 2002). Antosianin telah banyak digunakan sebagai pewarna khususnya minuman. Menurut JEFCA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*) menyatakan bahwa ekstrak yang mengandung antosianin mempunyai efek toksisitas yang rendah, dapat mengurangi resiko penyakit jantung koroner, resiko stroke, aktivitas antikarsinogen, efek anti-inflamatory, memperbaiki ketajaman mata dan memperbaiki perilaku kognitif (Ariviani, 2010) dan dapat diabsorpsi dalam bentuk molekul dalam lambung (santoni, *et al.*, 2013).

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan adalah plat KLT, spektrofotometer UV-Vis (UV-1700 Series) Shimadzu, kertas saring Whatman No 1, termometer, neraca analitik, serangkaian alat vakum, aluminium foil, serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah bit segar, dan

bahan-bahan kimia berupa pelarut organik seperti etanol, akuades, CH<sub>3</sub>COOH pekat, HCl pekat.

### Ekstraksi

Ekstraksi dimulai dengan cara menimbang 150 gram buah bit kemudian dicincang halus. Potongan buah bit dimasukkan ke dalam botol gelap lalu ditambahkan pelarut. Variabel yang digunakan pada penelitian adalah jenis pelarut : 1) akuades, 2) akuades : HCl, 3) akuades : CH<sub>3</sub>COOH. Selanjutnya dilakukan proses maserasi pada temperatur kamar ( $\pm$  30 °C) dalam keadaan gelap selama 24 jam. Setelah proses maserasi selesai dilakukan penyaringan sehingga diperoleh filtrat. Hasil ekstraksi diuji menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar total monomer antosianin dan kadar total antosianin dalam sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$A' = (A_{536} - A_{700})_{pH\ 1,0} - (A_{536} - A_{700})_{pH\ 5,0}$$

Konsentrasi monomer antosianin (mg/L) =

$$\frac{A' \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Dimana :  $A' = (A_{536} - A_{700})_{pH\ 1,0}$

Keterangan :

$\epsilon$  = absorpsivitas molar sianidin-3 glukosida 26900 L/mol.cm

$l$  = lebar cuvet (1 cm)

MW = berat molekul sianidin-3-glukosida 449,2 g/mol

DF = faktor pengenceran

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi merupakan suatu metode untuk mengeluarkan komponen tertentu dari zat padat atau zat cair dengan pelarutan. Ekstraksi buah bit dilakukan dengan metode maserasi yang bertujuan untuk menarik

semua komponen kimia yang terdapat dalam sampel.

Proses ekstraksi dilakukan dalam keadaan gelap karena antosianin tidak stabil terhadap yang mampu mendegradasi pigmen antosianin membentuk senyawa kalkon dan terjadi reaksi fitokimia sehingga cincin antosianin terbuka. Paparan cahaya lebih lanjut menyebabkan terjadinya degradasi lanjutan dan terbentuk senyawa turunan seperti 2,4,6-trihidroksibenzaldehida dan asam benzoat tersubsitisi. Selanjutnya sampel dipotong kecil-kecil agar luas permukaan semakin besar sehingga pigmen antosianin semakin banyak yang terekstrak.

Jenis pelarut dapat mempengaruhi warna dan total antosianin yang dihasilkan. Sifat antosianin yang hidrofobik menyebabkan antosianin sering diekstraksi menggunakan pelarut air dan alkohol. Penggunaan tiga variasi pelarut yaitu akuades, akuades yang diasamkan dengan asam klorida, akuades yang diasamkan dengan asam asetat. Pengasaman bertujuan untuk menurunkan pH agar antosianin tidak mengalami degradasi menjadi senyawa lain (kwartiningsih, et al; 2016).

Pada penelitian ini pelarut diasamkan hingga mencapai pH 5 hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan antosianin jenis betasianin stabil pada pH 5 sehingga pH pelarut dikondisikan pada pH optimum. Dari tabel 1 diperoleh pelarut air yang diasamkan dengan asam klorida menghasilkan total antosianin yang lebih banyak hal ini disebabkan karena asam klorida merupakan asam kuat yang mampu memecah dinding sel buah bit. Selain kemampuan mengekstraksi lebih banyak asam klorida juga memiliki tetapan disosiasi yang lebih besar dibandingkan dengan asam asetat. Tetapan disosiasi untuk HCl  $10^7$  dan CH<sub>3</sub>COOH  $1,8 \times 10^5$ . Semakin besar tetapan disosiasi semakin kuat suatu asam karena semakin besar jumlah ion hidrogen yang dilepaskan ke dalam larutan.

**Tabel 1.** Konsentrasi Monomer dan Total Antosianin Buah Bit berdasarkan pengaruh Asam

Jenis asam	Konsentrasi Monomer Antosianin (mg/l)	Total Antosianin (mg/l)
Akuades	17,35	78,14
Akuades + CH <sub>3</sub> COOH (9:1)	31,62	113,96
Akuades + HCl 0,1 M	45,70	137,76

Keadaan yang semakin asam akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavilium yang berwarna hal ini disebabkan karena terjadinya denaturasi membran sel tanaman yang kemudian melarutkan pigmen antosianin dan dapat keluar dari sel sehingga pengukuran absorbansi akan meningkat.

Antosianin memiliki nilai  $\lambda_{maks}$  yaitu 270-290 nm untuk daerah UV dan untuk di daerah

tampak yaitu 465-560 nm. Dari hasil penelitian didapatkan nilai  $\lambda$  maksimum yaitu pada panjang gelombang 530 nm yang merupakan senyawa antosianin berjenis betalain.<sup>8,9</sup>

Dari hasil KLT awal, diketahui bahwa pada eluen n-heksan 100% dan n-heksan (8 : 2) tidak ada noda yang terelusi. Noda mulai naik pada eluen n-heksan : etil asetat (6 : 4). Hasil dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji KLT dengan berbagai komposisi eluen

Eluen	Noda yang muncul		Rf dengan I <sub>2</sub>
	Dengan NH <sub>3</sub>	Dengan I <sub>2</sub>	
n-Heksan 100 %	Tidak ada noda	Tidak ada noda	-
n-Heksan : etil asetat (8 : 2)	Tidak ada noda	Tidak ada noda	-
n-Heksan : etil asetat (6 : 4)	1 noda tailing	1 noda tailing	0,02
n-Heksan : etil asetat (4 : 6)	1 noda tailing	1 noda tailing	0,04
n-Heksan : etil asetat (2 : 8)	1 noda tailing	1 noda tailing	0,06
Etil asetat 100 %	2 noda tailing	2 noda tailing	0,08; 0,06
Etil asetat : etanol (8 : 2)	1 noda tailing	2 noda tailing	0,10; 0,06
Etil asetat : etanol (6 : 4)	1 noda tailing	1 noda naik 1 noda tailing	0,17; 0,06
Etil asetat : etanol (4 : 6)	1 noda naik 1 noda tailing	1 noda naik 2 noda tailing	0,40 0,35; 0,06
Etil asetat : etanol (2 : 8)	2 noda naik	2 noda naik 1 noda tailing	0,45; 0,34 0,06
Etanol 100%	2 noda naik	3 noda naik	0,47; 0,38 0,06

Noda yang muncul dilihat dengan menggunakan 2 reagen penampak noda yaitu  $\text{NH}_3$  dan  $\text{I}_2$ , penggunaan kedua reagen ini memberikan hasil yang berbeda, pada reagen  $\text{NH}_3$  hanya senyawa yang memberikan fluoresensi yang dapat dilihat di bawah lampu UV sedangkan senyawa yang tidak memberikan noda yang berfluoresensi dapat dilihat menggunakan  $\text{I}_2$ , karena senyawa yang tidak memiliki noda yang berfluoresensi diduga bukan golongan antosianin, karena tidak memiliki ikatan rangkap yang berkonjugasi sehingga tidak dapat dilihat di bawah lampu UV. Pelarut yang sesuai yaitu etil asetat : etanol (8 : 2). Berdasarkan literatur Rf untuk golongan antosianin yaitu 0,36 – 0,38. Dari hasil KLT yang diperoleh didapatkan 1 noda naik dengan harga Rf 0,38 yang menunjukkan adanya antosianin pada buah bit.

#### **KESIMPULAN**

Dari hasil penelitian diperoleh nilai  $\lambda$  maksimum yaitu 530 nm. Panjang gelombang ini merupakan antosianin dengan jenis betalain dengan total antosianin yang diperoleh 137,76 mg/L menggunakan pelarut akuades : HCl. Dari hasil KLT diperoleh 1 noda dengan harga Rf 0,38 yang menunjukkan adanya antosianin pada buah bit.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Ariviani, Setyaningrum. 2010. Kapasitas Anti Radikal Ekstrak Antosianin Buah Salam (*Syzygium Polyanthum*) Segar dengan Variasi Proporsi Pelarut. Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan UNS.
- J.B, Harborne. J.B., 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB Bandung.
- Kwartiningsih, Endang, Agatha Prastika K, Dian Lellis Triana. 2016. *Ekstraksi dan Uji Stabilitas Antosianin dari Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis*)*. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan" Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. Yogyakarta.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerjemah : Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung.
- Santoni, A, Djaswir Darwis, Sukmaning Syahri. 2013. *Isolasi Antosianin dari Buah Pucuk Merah (*syzygium campanulatum korth.*) Serta Pengujian Antioksidan dan Aplikasi sebagai Pewarna Alami*. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung.
- Qin, Cuanguang. 2010. *Analysis and Characterisation of Anthocyanins in Mulberry Fruit*. Vol 28. No.2, 117-126.
- Z, Nazulis, dkk. 2002. *Kimia Bahan Alam*. Reviewer : Nurhasnah Aliunir. Penerbit UNP. Padang.