



EKSTRAKSI DAN UJI STABILITAS BETASIANIN DALAM EKSTRAK BUAH KAKTUS (*Opuntia elatior* Mill.)

[Extraction and Stability Test of Betacyanin in Cactus (*Opuntia elatior* Mill.) Extract]

Patrisia Marcevin Rengku¹, Ahmad Ridhay^{1*}, Prismawiryanti¹

¹ Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Tadulako
Jl. Soekarno Hatta Km.9, Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Telp. 0451- 422611

Diterima 2 April 2017, Disetujui 19 Juni 2017

ABSTRACT

Research on extraction and stability test of betacyanin in cactus (*Opuntia elatior* Mill.) extract has been done. This study aimed is to determined the effect of solvent ratio (ethanol, a mixture of ethanol : water and water) on levels betacyanin cactus fruit extract. The extraction was done by maceration method for 72 hours on all variation solvent. The best results from treatment and betacyanin stability test to light and pH. Betacyanin stability against of light testing is done with the exposure betacyanin cactus fruit extract under direct sunlight for 5 hours with a variety of storage containers, namely bottles brown and clear bottles. Betacyanin content analysis was done every 1 hour . Betacyanin stability against pH testing is was done by sample storage for 72 hours at various pH 3, 4, 5, 6, 7, and 8. The highest levels of betacyanin using solvent water is 15.42 mg/100g . Betacyanin unstable on exposure to sunlight which betacyanin levels decreased by 47.35 % on a brown bottle and 66.93 % in clear bottles after 5 hours of storage . Betacyanin stable at pH 4, 5 and 6 with reduced levels of betacyanin by 15.82 %, 14.25 % and 15.71 % respectively.

Keywords : Cactus (*Opuntia elatior* Mill.), Extraction, Betacyanin Stability

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang ekstraksi dan uji stabilitas ekstrak buah kaktus (*Opuntia elatior* Mill.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi pelarut (etanol; campuran etanol : air; dan air) terhadap kadar betasianin dalam ekstrak buah kaktus. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi selama 72 jam pada semua variasi pelarut. Hasil terbaik dari perlakuan di atas kemudian dilakukan pengujian stabilitas betasianin terhadap cahaya dan pH. Pengujian stabilitas terhadap cahaya dilakukan dengan pemaparan betasianin ekstrak buah kaktus dibawah sinar matahari langsung selama 5 jam dengan variasi wadah penyimpanan, yaitu botol cokelat dan botol bening. Analisis kadar betasianin dilakukan setiap 1 jam. Pengujian stabilitas betasianin terhadap pH dilakukan dengan cara penyimpanan sampel selama 72 jam dengan variasi pH 3, 4, 5, 6, 7 dan 8. Kadar betasianin tertinggi diperoleh menggunakan pelarut air yaitu sebesar 15,42 mg/100g. Betasianin tidak stabil terhadap paparan cahaya matahari dimana kadar betasianin berkurang sebanyak 47,35% pada botol cokelat dan 66,93% pada botol bening setelah 5 jam penyimpanan. Betasianin stabil pada kondisi pH 4, 5 dan 6 dengan penurunan kadar betasianin masing-masing sebesar 15,82%, 14,25% dan 15,71%.

Kata Kunci : Buah Kaktus (*Opuntia elatior* Mill.), Ekstraksi, Stabilitas Betasianin

*) Corresponding author: ahmadridhay@yahoo.co.id

LATAR BELAKANG

Buah Kaktus (*Opuntia elatior* Mill.) diketahui mengandung betasianin sebesar 47,10 mg/100 ml (Chauhan *et al.*, 2013). Betasianin adalah zat warna alami yang berwarna merah. Zat warna betasianin ini bersifat polar sehingga larut dalam pelarut polar (Soewandi dalam Khuluk *et al.*, 2007). Ekstrak betasianin dimanfaatkan sebagai pewarna alami. Betasianin dapat diekstraksi menggunakan pelarut air, etanol, dan metanol, tetapi penggunaan pelarut air dalam proses pemekatan perlu diperhatikan karena penggunaan panas dapat mengakibatkan kerusakan senyawa betasianin sebab titik didih air cukup tinggi (100°C). Betasianin sangat tidak stabil pada pemanasan suhu 70⁰ dan 80°C (Havlikova dalam Khuluk *et al.*, 2007). (Azeredo, 2006).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kestabilan betasianin adalah pH, suhu, cahaya matahari, sinar lampu dan oksidator. Sutrisno dalam Khuluk *et al.*, (2007), menyatakan bahwa suhu tinggi dan waktu pemanasan yang lama dapat menyebabkan terjadinya dekomposisi dan perubahan struktur pigmen betasianin sehingga terjadi pemucatan. Berdasarkan hal tersebut, maka diharapkan penentuan kondisi pH betasianin yang tepat dapat mengurangi tingkat kerusakan betasianin selama masa penyimpanan serta pengaruh paparan cahaya terhadap pengurangan kadar betasianin.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah kaktus (*Opuntia elatior* Mill.), akuades, etanol 95%, HCl, NaOH, dan kertas saring.

Peralatan yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-Vis (Parkin Elmer) dan alat gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun dengan variasi pelarut (etanol; campuran etanol : air (1 : 1); dan air). Hasil terbaik kemudian dilakukan uji lanjutan dengan pengujian kestabilan betasianin terhadap paparan cahaya matahari dan pH.

Prosedur Penelitian

Proses Ekstraksi Betasianin dari Buah Kaktus (Modifikasi metode Khuluk et al., 2007)

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi yaitu sebanyak 100 g jus buah kaktus (*Opuntia elatior* Mill.) dimasukan ke dalam bejana maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol, campuran etanol : air (1 : 1) dan pelarut air masing-masing sebanyak 250 ml kemudian dilakukan perendaman selama 72 jam yang diletakan dalam wadah tertutup pada suhu ruang. Setelah 72 jam masing-masing sampel kemudian disaring menggunakan penyaring vakum. Filtrat

yang diperoleh dipekatkan menggunakan rotari vakum evaporator untuk memisahkan pelarut dari ekstrak.

Uji Kualitatif Betasianin dalam Ekstrak Buah Kaktus

Betasianin ditambahkan dengan NaOH 2 M tetes demi tetes dan diamati perubahan warna. Uji positif ditandai dengan adanya perubahan warna larutan menjadi warna kuning. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali. Kemudian dilanjutkan dengan analisis menggunakan spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) untuk mengidentifikasi senyawa betasianin dalam ekstrak buah kaktus (*Opuntia elatior* Mill.).

Uji Kuantitatif Betasianin dalam Ekstrak Buah Kaktus

Satu ml betasianin ekstrak buah kaktus dilarutkan dalam pelarut buffer fosfat pH 5 hingga volume 100 ml kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yakni pada panjang gelombang 531 nm. Selanjutnya dilakukan penentuan kadar betasianin menggunakan persamaan (Lim *et al.*, 2011) :

$$\text{Kadar betasianin (mg/100g)} = \frac{A \times MW \times V \times Df}{\epsilon \times L \times W} \times 100$$

Keterangan :

- A = Absorbansi
- MW = Berat molekul betanin (550 g/mol)
- Df = Faktor pengenceran (100)
- ϵ = koefisien eksistensi molar (6×10^4 L/mol cm)
- L = Tebal kuvet (1 cm)
- W = Berat sampel (100g)
- V = Volume ekstrak (27 ml)

Uji Stabilitas Betasianin (Modifikasi metode Reshmi *et al.*, 2012)

a. Pengaruh paparan cahaya matahari.

Pada perlakuan ini betasianin ekstrak buah kaktus yang digunakan merupakan hasil ekstrak menggunakan pelarut air. Betasianin ekstrak buah kaktus dimasukkan dalam botol I (botol kaca bening) dan dalam botol II (Botol kaca berwarna coklat) masing-masing 6 ml. Kedua sampel diletakan pada luar ruangan yang terpapar sinar matahari secara langsung. Paparan terhadap cahaya matahari berlangsung selama 5 jam. Setiap 1 jam dilakukan analisis sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis sampai 5 jam. Perlakuan dilakukan sebanyak 2 kali.

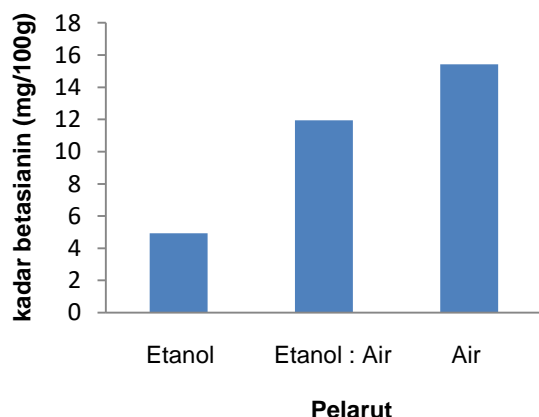
b. Pengaruh pH selama penyimpanan.

Ekstrak betasianin dibuat dalam kondisi pH yang berbeda-beda yakni pH 3,4,5,6,7 dan 8 dengan menambahkan HCl 0,1 M dan NaOH 0,1 M kemudian ditambahkan larutan buffer sitrat - fosfat. Sampel disimpan dalam botol kedap udara serta kedap cahaya dengan waktu penyimpanan selama 72 jam pada suhu ruang, pH sampel diukur menggunakan pH meter sebelum dan sesudah masa penyimpanan untuk memastikan tidak adanya perubahan pH pada sampel. Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar betasianin dalam Ekstrak Buah Kaktus (*Opuntia elatior* Mill.)

Kadar betasianin dalam ekstrak buah kaktus disajikan pada gambar berikut ini :



Gambar 1. Pengaruh jenis pelarut terhadap kadar betasianin

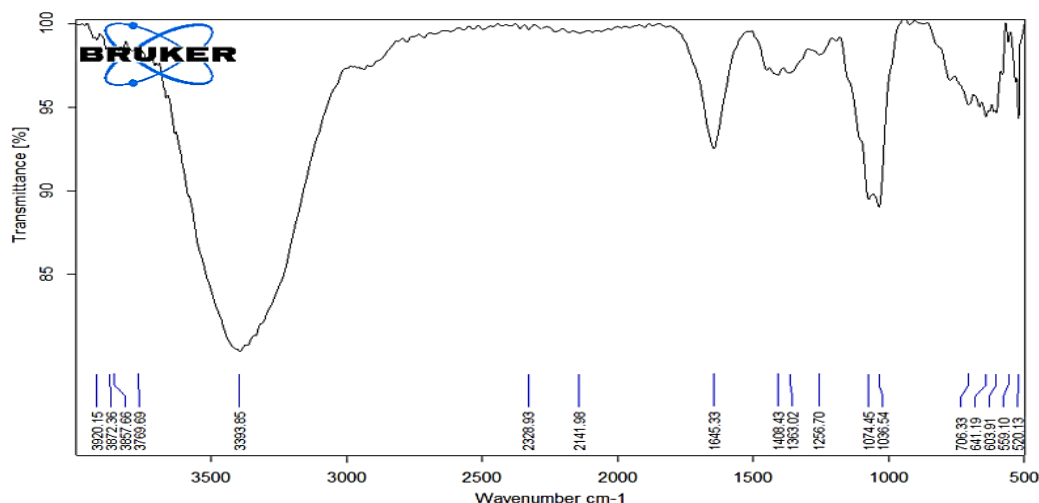
Ekstrak yang diperoleh menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kadar total betasianin yang menggunakan pelarut air, etanol serta pelarut campuran etanol : air. Kadar betasianin tertinggi diperoleh menggunakan pelarut air sebesar 15,43 mg/100g (Gamba 1). Hal ini sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa betasianin merupakan zat warna yang bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar (Soewand dalam Khuluk *et al.*, 2007). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Chauhan *et al.*, (2013) menyatakan bahwa buah kaktus (*Opuntia elatior* Mill.) mengandung betasianin sebanyak 47,10 mg/100 ml. Kadar betasianin total yang

diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan kadar total betasianin dalam buah kaktus (*Opuntia elatior* Mill.) sebesar 15,43 mg/100g. Hasil yang diperoleh sedikit berbeda. Hal ini dapat terjadi karena kadar betasianin dalam suatu tumbuhan dipengaruhi oleh beberapa faktor. Menurut Rukmana dan Yunarsih (1998) mencatat bahwa kadar betasianin dalam suatu tanaman dapat dipengaruhi beberapa faktor diantaranya suhu (temperatur), kelembapan udara, curah hujan, sinar matahari dan angin.

Hasil Uji Kualitatif Betasianin

Ekstrak buah kaktus (*Opuntia elatior* Mill.) positif mengandung betasianin yang ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi warna kuning dengan penambahan NaOH 2 M. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa penambahan basa (NaOH) pada betasianin menyebabkan perubahan warna menjadi warna kuning (Harborne, 1987). Menurut Vargas *et al.*, (2010) penurunan pH akan menyebabkan perubahan pigmen merah menjadi warna ungu, sedangkan kenaikan pH menyebabkan perubahan menjadi kuning kecokelatan.

Hasil analisis menggunakan spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) disajikan dalam gambar berikut ini :



Gambar 2. Spektrum FTIR senyawa betasianin dalam ekstrak buah kaktus

Menurut hasil identifikasi menggunakan spektroskopi FTIR (Gambar 2) menunjukkan adanya interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada panjang gelombang 4000 – 500 cm^{-1} . Pada daerah frekuensi 3393 cm^{-1} merupakan gugus OH dengan vibrasi ulur. Pada daerah ini biasanya juga terdapat gugus NH. Karena menurut Hargis (1988), pada daerah bilangan gelombang 3700-2700 cm^{-1} merupakan daerah serapan hydrogen. Field *et al.*, (2008) menyatakan bahwa nilai serapan O-H berada pada bilangan gelombang antara 3600-3200 cm^{-1} . Ikatan hydrogen menyebabkan puncak melebar dan terjadi pergeseran ke arah bilangan gelombang yang lebih pendek. Pada bilangan gelombang 1408,43 cm^{-1} merupakan daerah serapan C-H alifatik, 1645 cm^{-1} merupakan C=O dengan vibrasi ulur dari asam karboksilat, 1363,02 cm^{-1} merupakan C=N vibrasi ulur, 1074 cm^{-1}

merupakan ikatan C-O-C dengan vibrasi ulur simetri, 1036 cm^{-1} merupakan ikatan C-O-C dengan vibrasi ulur asimetri, 706,33 cm^{-1} merupakan C-H yang terdapat dalam cincin benzen. Hal ini sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa daerah serapan C-H cincin benzen berada pada bilangan gelombang antara 870-675 cm^{-1} . Berdasarkan hasil indentifikasi spectrum tersebut dapat diasumsikan bahwa dalam ekstrak buah kaktus (*Opuntia elatior* Mill.) mengandung betasianin.

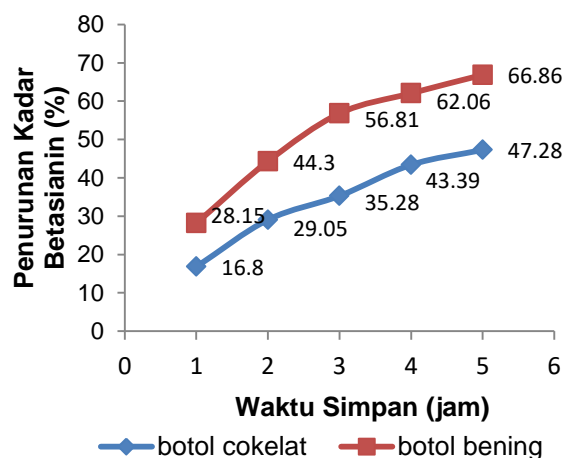
Hasil Uji Kuantitatif Betasianin

Uji kuantitatif ekstrak buah kaktus dilakukan dengan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis diperoleh nilai serapan maksimum pada panjang gelombang 531 nm. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Chauhan *et al.*, (2013), betasianin yang berasal dari tanaman yang sama memiliki nilai serapan maksimum pada panjang gelombang 538

nm. Selain itu, Cai *et al.*, (1998) mencatat bahwa nilai serapan maksimum ekstrak betasianin yang berasal dari tanaman bit (*Beta vulgaris* L.) memiliki nilai serapan maksimum pada panjang gelombang 537 nm. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa senyawa betalain menyerap cahaya dengan kuat pada panjang gelombang antara 532-554 nm (Harborne, 1987) yang merupakan serapan warna hijau sehingga warna yang tampak adalah ungu kemerahan (warna komplementer) (Tiley dalam Moss, 2002). Kadar betasianin yang diperoleh dengan menggunakan pelarut etanol, campuran etanol : air dan pelarut air masing-masing sebesar 4,94 mg/100g; 11,95 mg/100g; dan 15,42 mg/100g.

Hasil Uji Stabilitas Betasianin Terhadap Paparan Cahaya Matahari

Perubahan kadar betasianin selama masa penyimpanan ditunjukkan dalam gambar berikut ini :



Gambar 3. Grafik Penurunan kadar betasianin selama penyimpanan

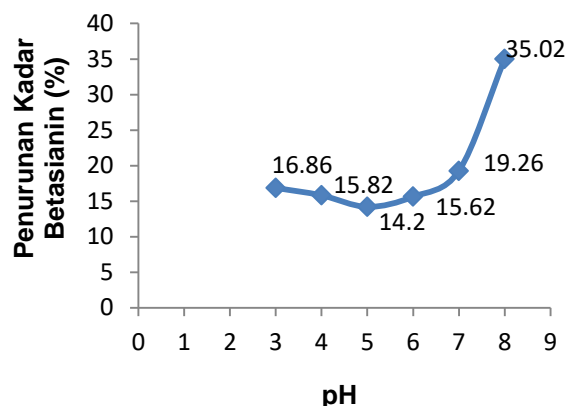
Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya pengaruh pada kadar betasianin terhadap penyinaran cahaya matahari selama 5 jam pemaparan (Gambar 3). Hasil analisis yang dilakukan pada setiap 1jam, 2 jam, 3 jam, 4 jam dan 5 jam waktu paparan menunjukkan adanya penurunan kadar betasianin pada botol kaca berwarna cokelat yaitu masing – masing sebesar 16,92%; 29,09%; 35,31%; 43,47%; dan 47,35%. Sedangkan penurunan kadar betasianin pada botol bening masing – masing sebesar 28,23%; 44,37%; 56,85%; 62,09%; dan 66,93%.

Berdasarkan data tersebut dapat dilihat bahwa sampel yang disimpan dalam botol kaca berwarna cokelat mengalami penurunan kadar betasianin lebih sedikit dibandingkan sampel yang di simpan dalam botol kaca bening (transparan) selama 5 jam pemaparan. Hal ini disebabkan oleh botol kaca yang berwarna cokelat cenderung menghalangi sinar ultraviolet yang berinteraksi dengan betasianin. Sehingga tingkat kerusakan betasianin berkurang di bandingkan pada botol kaca yang bening. Sehingga dapat disimpulkan bahwa betasianin tidak stabil terhadap paparan cahaya matahari. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa sinar UV maupun sinar tampak mampu mengeksitasi electron π dari gugus kromofor ke tingkat energi yang lebih tinggi (π^*) karena adanya energi yang

dipancarkan oleh sinar tersebut (Azeredo, 2006). Selain itu, Attoe dan von Elbe (1981) mengatakan bahwa oksigen berperan penting sebagai fotokatalis dalam merusak pigmen betalain. Dengan demikian energi yang dipancarkan oleh cahaya matahari dapat merusak struktur betalain (dalam hal ini betanin) dan terurai menjadi asam betalimat dan siklo DOPA.

Hasil Uji Stabilitas Betasianin Terhadap pH Selama Penyimpanan

Hasil yang diperoleh setelah 3 hari penyimpanan menunjukkan adanya penurunan kadar betasianin pada masing-masing pH. Penurunan kadar betasianin disajikan dalam grafik berikut ini :



Gambar 4. Grafik penurunan kadar betasianin selama penyimpanan

Data tersebut menunjukkan adanya penurunan kadar betasianin terhadap pH sampel selama masa penyimpanan. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan kadar ekstrak betasianin yang berbeda-beda pada masing-masing pH. Penurunan kadar betasianin pada setiap sampel yang disimpan pada kondisi pH 3, 4, 5, 6, 7 dan 8

yaitu masing – masing sebesar 16,95%; 15,82%; 14,255; 15,71%; 19,27%; dan 35,11% (Gambar 4). Jackman dan Smith (1996) mencatat bahwa betalain relatif stabil diatas pH antara 3 sampai 7 dengan mempertimbangkan pemanfaatannya terhadap tingkat keasaman makanan. Dari hasil yang diperoleh dapat dikatakan bahwa betasianin cenderung stabil pada kondisi pH 4,5 dan 6. Pada kondisi pH tersebut penurunan kadar betasianin relative sedikit. Adanya penurunan kadar betasianin ini terjadi akibat rusaknya molekul betasianin.

Von Elbe dalam Vargas *et al.*, (2010) menyatakan bahwa pH terlalu rendah atau terlalu tinggi akan menimbulkan ketidakstabilan struktur gugus kromofor, sehingga mempengaruhi intensitas warna merah pada senyawa betalain. Penurunan pH akan menyebabkan perubahan pigmen merah menjadi warna ungu, sedangkan kenaikan pH menyebabkan perubahan menjadi kuning kecokelatan. Selain itu kondisi penyimpanan yang tidak vakum serta suhu yang tidak konstan juga dapat mempengaruhi kadar betasianin. Dimana menurut Herbach *et al.*, (2006) peningkatan pH, intensitas cahaya, oksigen dan ion logam dapat mempengaruhi kestabilan betasianin.

KESIMPULAN

Kadar betasianin tertinggi terdapat dalam ekstrak buah kaktus (*Opuntia elatior* mill.) diperoleh menggunakan pelarut air.

Kadar betasianin sangat dipengaruhi oleh paparan cahaya matahari selama penyimpanan. Kadar betasianin berkurang sebesar 66,86% pada botol bening dan 47,28% pada botol coklat selama 5 jam penyimpanan. Betasianin cenderung stabil pada kondisi pH 4,5 dan 6 selama 3 hari penyimpanan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Secara khusus peneliti mengucapkan terima kasih kepada Laboran Kimia FMIPA Universitas Tadulako.

DAFTAR PUSTAKA

Attoe, E.L. dan von Elbe, J.H. 1981, Photocemical degradation of Betanine and Selected Anthocyanins. *Journal of Food Science*, 46. 1934-1937.

Azeredo, H.M.C., 2006, Betalains: Properties, Source, Applications, and Stability – a Review, *International Journal Food Science and Technology*. 44:2365-2376.

Cai Y., Sun M., Corke H. 1998. Colourant Properties and Stability of Amaranthus betacyanin piments, *Journal of Food Agllicultural and Food Chemistry*. 46: 4491-4495.

Chauhan S.P., Sheth N.R., Rathod I.S., Suhagia B.N., Maradia R.B. 2013. Phytochemical Screening of Fruits of Opuntia elatior Mill. *American Journal of Pharmatech Research*, 3(2): 2249-3387.

Field L.D., Strenhel S., Kalman J.R. 2008. *Organic Structures From Spectra*, Fourth edition. England: John Wiley and Sons LTD.

Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Edisi II, diterjemahkan oleh Padmawinata K., Sudiro I., Bandung: ITB.

Hargis L.G. 1988. *Analytical Chemistry: Principles And Technigues*. New Jersey: Prentice Hall Inc.

Herbach K.M., Stinizing F.C., Carle R. 2006. Betalain stability and Degradation Structural and Chromatic Aspect, *Journal of Food Sience*. 71: 41-50.

Jackman R.L., Smith, J.L. 1996. *Anthocyanin and Betalains, in Natural food colourants*, pp 244-309, London: Blackie Academic and Professional.

Khuluk A.D., Widjarmoko S.B., Murtini E.S. 2007. Ekstraksi dan Stabilitas Betasianin Daun Darah (*Althernathera dentate*) Kajian Pelarut Etanol : Air dan Suhu Ekstraksi, *Jurnal Teknologi Pertanian*. 8(3).

Lim S.D., Yusof Y.A., Chin N.L., Talib R.A., Edjan J., Azis M.G. 2011. Effect of Extraction Parameters on the Yield of Betacianins from Pitaya Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) Pulps. *Food, Agriculture and Environment*. 9(2): 158-162.

Moss B.W. 2002. *Improving Quality, dalam Macdougall, D.B. (Ed) Color in Food*. 145-175. New York: CRC Press LLC.

Reshmi S.K., Aravindhana K.M., Suganya P. 2012. Then Effect of Light, Temperature, pH, on Stability of Betacyanin Pigments in Basella alba Fruit. *Asian Journal of Pharmaceutical dan Clinical Research*. 5(4): 107-110.

Rukmana R., Yuniarsih Y.O. 1998. *Tanaman Hias Kaktus*, Bandung: Kanisius.

Vargas F.D., Jimenez A.R., Lopez O.P. 2010. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains - Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3):173-289.