

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN HIBAH FUNDAMENTAL
JURUSAN KESEJAHTERAAN KELUARGA UNIVERSITAS NEGERI PADANG
TELAH TERDAFTAR



JUDUL : EKSTRAKSI, KARAKTERISASI, PURIFIKASI
DAN IDENTIFIKASI BETALAIN ...
PENYARANG : Dr. Ir. ANNI FARIDAH, M.Si, dkk.
JENIS : LAPORAN PENELITIAN
NOMOR : 49/UN.35.13/PK/KI/2016
TANGGAL : 14 OKTOBER 2016



EKTRAKSI, KARAKTERISASI, PURIFIKASI, DAN IDENTIFIKASI
BETALAIN DARI KULIT BUAH NAGA MERAH
(*Hylocereus polyrhizus*)
Dr. YUNALDI, M.Si
NIP. 19601114 198602 1 001

Tahun 1 dari Rencana 2 Tahun

Tim Peneliti :

Nama	NIDN	NIP
Dr. Ir. Anni Faridah, M.Si	0030036807	19680330199403 2 003
Dra. Andromeda, M.Si	0018056404	196405181987032001
Rahmi Holinesti, STP, M.Si	0009108004	19891009 200801 2 014

Dibiayai oleh DIPA Universitas Negeri Padang
Sesuai dengan Surat Penugasan Pelaksanaan Penelitian Program Desentralisasi
Skema Fundamental (Proposal Baru) melalui DIPA UNP Tahun Anggaran 2014
Nomor : 244/UN35.2/PG/2014 Tanggal 17 April 2014

JURUSAN KESEJAHTERAAN KELUARGA
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
OKTOBER 2014

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Ekstraksi, karakterisasi, purifikasi, dan identifikasi betalain dari kulit buah naga merah (*hylocereus polyrhizus*)

Peneliti / Pelaksana

Nama Lengkap : Dr. Ir. Anni Faridah, M.Si
NIDN : 0030036807
Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
Program Studi : Tata Boga
Nomor HP : 081363846057
Alamat surel (e-mail) : faridah.anni@gmail.com

Anggota (1)

Nama Lengkap : Dra. Andromeda, M.Si
NIDN : 0018056404
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Padang

Anggota (2)

Nama Lengkap : Rahmi Holinesti STP, M.Si
NIDN : 0009108004
Perguruan Tinggi : Universitas Negeri Padang


Tahun Pelaksanaan : Tahun kel dari rencana 2 tahun

Biaya Tahun Berjalan : Rp.50.000.000,-

Biaya Keseluruhan : Rp. 124.000.000,-

Padang, 31 Oktober 2014

Ketua,



Dr. Ir. Anni Faridah, M.Si
NIP. 196803301994032003

Mengetahui,
Dekan Fakultas Teknik,



Dr. Efrizon, MT
NIP. 196504091990011001
SK No. 4560/UN35.1.2/KP/2014
Tgl. 12-11-2014

Menyetujui

Ketua Lembaga penelitian,



Dr. Alwen Bentri, M.Pd
NIP. 196107221986021002

RINGKASAN

Betalain merupakan pigmen berwarna merah-violet terdapat pada kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Betalain merupakan pewarna alami yang banyak digunakan pada produk pangan, kaya antioksidan, antimikroba, antiproliferatif dan *radical scavenging*. Perkembangan antosianin sebagai pewarna makanan lebih berkembang dibandingkan dengan betalain, karena terbatasnya tanaman yang mengandung betalain. Penelitian pencarian alternatif sumber betalain sangat penting dilakukan, termasuk dari kulit buah naga merah. Kulit buah naga merah masih merupakan bahan buangan yang belum dimanfaatkan. Padahal jumlah kulit buah naga merah di Indonesia semakin lama semakin banyak, karena ketersediaan dan kesukaan masyarakat akan buah ini semakin meningkat. Kandungan betalain pada kulit buah naga merah juga tinggi dibandingkan pada buahnya.

Untuk mendapatkan betalain maka sangat penting untuk mempelajari faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi, purifikasi, karakterisasi dan identifikasi betalain dari kulit buah naga merah sebagai betalain alternatif. Jangka panjang dari hasil penelitian ini adalah membuka peluang kegiatan penelitian dan aplikasi produk baik sebagai bahan tambahan pangan juga sebagai pangan fungsional berbahan baku betalain dari kulit buah naga merah. Disamping itu akan membuka peluang penelitian khusus, yakni topik penelitian yang sangat populer saat ini di negara-negara maju yaitu: pangan sehat atau (*healthy food*).

Penelitian yang diusulkan ini direncanakan selama dua tahun. Tahun pertama yaitu studi faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi betalain dari kulit buah naga baik metode rancangan percobaan dan respon permukaan. Faktor-faktor tersebut antara lain umur simpan kulit buah naga, jenis pelarut, rasio pelarut dengan jumlah kulit, suhu ekstraksi, dan lama ekstraksi. Ekstrak kasar betalain akan diukur stabilitas dan interaksinya terhadap komponen pangan. Pada tahun kedua ekstrak juga akan diuji aktifitas antioksidan dan antimikroba, juga akan dilakukan purifikasi menggunakan kromatografi dan HPLC dan identifikasi menggunakan LC-MS dan NMR.

Hasil penelitian tahap I tahun I yaitu menunjukkan bahwa ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah menyerap cahaya pada panjang gelombang maksimum 530 nm. Kombinasi perlakuan umur simpan hari kelima dengan jenis pelarut aquadest menghasilkan pigmen betasianin kulit buah naga merah dengan kualitas terbaik, dengan nilai absorbansi 0,449; konsentrasi 1243,6 ppm; intensitas warna 3,05. Nilai tertinggi untuk rendemen dan zat padat terlarut yaitu pada umur simpan hari pertama dengan pelarut aquades + asam sitrat yaitu 34,03%; zat padat terlarut 3,457%. Profil HPLC semua sampel yang diamati, puncak pertama muncul pada waktu retensi 3,458 menit, puncak kedua pada waktu retensi 5,64 menit dan puncak ketiga pada waktu retensi 6,165 menit. Sifat senyawa betasianin yang ada bersifat polar. Puncak kedua mewakili senyawa betasianin yang kedua dari tiga jenis betasianin yang ada, memiliki luas area yang paling besar dengan persentasi area sebesar 64,46 %. Hasil optimal ekstraksi pigmen, yaitu pada rasio pelarut : berat kulit (l/g) 4 : 1, suhu ekstraksi 36,11°C dan waktu atau lama ekstraksi 9 jam dengan respon absorbansi 1,417 (nm) dan bersifat kuadrat. Persamaan model regresi $Y_1 = -5,921 + 0,0054 X_1 + 0,3541 X_2 + 0,2549 X_3 - 0,0016 X_1X_2 - 0,0188 X_1X_3 - 0,0017 X_2X_3 + 0,0072 X_1^2 - 0,0046 X_2^2 - 0,045 X_3^2$. Hasil interaksi pigmen dengan

komponen pangan direkomendasikan bahwa pigmen dapat diaplikasikan pada pangan kue-kue Indonesia yang terbuat dari tepung beras, tapioka, tepung beras ketan dan agar. Selain itu juga direkomendasikan pada pembuatan es krim, permen jeli, selai, topping atau menghias kue.

Analisa aktifitas antioksidan dan antimikroba akan dipublikasi pada jurnal nasional dan pada jurnal internasional akan dipublikasikan tentang purifikasi dan identifikasi betalain dari kulit buah naga merah pada tahun kedua. Mengembangkan pemanfaatan aplikasi betalain hasil penelitian untuk produk bahan tambahan pangan dan pangan fungsional, yang selanjutnya akan membuka peluang pengembangan diversifikasi produk pangan sehat (*healthy food*) di masa masa mendatang.

PENGANTAR

Kegiatan penelitian dapat mendukung pengembangan ilmu pengetahuan serta terapannya. Dalam hal ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang berusaha mendorong dosen untuk melakukan penelitian sebagai bagian internal dari kegiatan Tri Dharma Perguruan Tinggi, baik yang secara langsung dibiayai dengan dana Universitas Negeri Padang, BOPTN maupun dari sumber lain yang relevan atau bekerja sama dengan instansi terkait.

Sehubungan dengan itu, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang bekerja sama dengan Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Ditjen Dikti Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan RI telah mendanai skema **Penelitian Fundamental** yang berjudul **EKSTRAKSI, KARAKTERISASI, PURIFIKASI, DAN IDENTIFIKASI BETALAIN DARI KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)** atas nama Dr. Ir. ANNI FARIDAH, M.Si., dibiayai dana BOPTN yang dialokasikan ke dalam DIPA Universitas Negeri Padang sesuai surat penugasan pelaksanaan penelitian desentralisasi Nomor: 244/UN35.2/PG/2014 tanggal 17 April 2014.

Kami menyambut gembira usaha yang dilakukan peneliti untuk menjawab berbagai permasalahan pembangunan, khususnya yang berkaitan dengan permasalahan penelitian tersebut diatas. Dengan selesainya penelitian ini, Lembaga Penelitian Universitas Negeri Padang telah dapat memberikan informasi yang dapat dipakai sebagai bagian upaya penting dalam peningkatan mutu pendidikan pada umumnya. Di samping itu, hasil penelitian ini juga diharapkan memberikan masukan bagi instansi terkait dalam rangka penyusunan kebijakan pembangunan.

Hasil penelitian ini telah ditelaah oleh tim pembahas usul dan laporan hasil penelitian. Mudah-mudahan penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pada umumnya, dan peningkatan mutu staf akademik Universitas Negeri Padang.

Pada kesempatan ini, kami ingin mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang membantu pelaksanaan penelitian ini. Secara khusus, kami menyampaikan terima kasih kepada Direktur Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Ditjen Dikti Kemendikbud yang telah memberikan dana untuk pelaksanaan penelitian tahun 2014. Kami yakin tanpa dedikasi dan kerja sama yang baik dari Ditlitabmas, penelitian ini tidak dapat diselesaikan sebagaimana yang diharapkan. Semoga hal yang demikian akan lebih baik lagi di masa yang akan datang.

Terima kasih.

Padang, November 2014
Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Negeri Padang



Dr. Alwen Bentri, M.Pd.
NIP. 19610722 198602 1 002

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	2
RINGKASAN	3
PENGANTAR	5
DAFTAR ISI	6
DAFTAR TABEL	8
DAFTAR GAMBAR	9
DAFTAR LAMPIRAN	10
BAB I PENDAHULUAN	11
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	13
A. Pewarna	13
B. Buah Naga Merah dan Betalain	14
C. Ekstraksi dan Identifikasi Pigmen	15
D. Stabilitas dan Interaksi Pigmen	16
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	17
A. Tujuan Penelitian	17
B. Manfaat Penelitian	17
BAB IV METODE PENELITIAN	18
A. Tempat, Bahan dan Alat	18
B. Tahapan Penelitian	18
Tahap I	18
Tahap II	19
Tahap III	20
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	22
A. Tahap I	22
B. Tahap II	34
C. Tahap III	40

BAB VI	RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	52
BAB VII	KESIMPULAN DAN SARAN	53
	DAFTAR PUSTAKA	54
	LAMPIRAN	57

DAFTAR TABEL

1. Rancangan penelitian metode respon permukaan dengan tiga variabel	20
2. Data absorbansi ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah, pengaruh umur simpan dan jenis pelarut	24
3. Intensitas warna ekstrak betasianin pengaruh umur simpan dan jenis pelarut	28
4. Waktu retensi dan persentasi luas area pigmen dari kulit buah naga merah	33
5. Rancangan komposit pusat ordo kedua dengan tiga variabel bebas dan tiga respon	34
6. Nilai p dari respon	35
7. Solusi titik optimum terpilih hasil perhitungan disign expert	41

DAFTAR GAMBAR

1. Proses ekstraksi pigmen betalain dari kulit buah naga	19
2. Prosedur interaksi pigmen betalain pada komponen pangan	21
3. Nilai absorbansi ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah, pengaruh umur simpan dan jenis pelarut	23
4. Konsentrasi ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah, pengaruh umur simpan dan jenis pelarut	26
5. Rendemen ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah, pengaruh umur simpan dan jenis pelarut	27
6. Intensitas warna ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah, pengaruh umur simpan dan jenis pelarut	28
7. Zat padat terlarut ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah, pengaruh umur simpan dan jenis pelarut	30
8. Profil HPLC larutan standar pigmen betanin	32
9. Profil HPLC pigmen sampel dari kulit buah naga merah	33
10. Hubungan antara rasio dan suhu terhadap absorbansi	36
11. Hubungan antara rasio dan waktu terhadap absorbansi	37
12. Hubungan antara suhu dan waktu terhadap absorbansi	37
13. Grafik permukaan respon dan kontur titik optimum terhadap interaksi pigmen...	38
14. Interaksi pigmen dengan terigu dan intensitas warnanya	40
15. Interaksi pigmen dengan tapioka dan intensitas warnanya	41
16. Interaksi pigmen dengan kasein dan intensitas warnanya	42
17. Interaksi pigmen dengan tepung beras dan intensitas warnanya	43
18. Interaksi pigmen dengan tepung beras ketan dan intensitas warnanya	44
19. Interaksi pigmen dengan agar dan intensitas warnanya	45
20. Interaksi pigmen dengan shortening dan intensitas warnanya	46
21. Intensitas warna interaksi pigmen dengan tapioka + kasein	47
22. Intensitas warna interaksi pigmen dengan terigu + kasein	48
23. Intensitas warna interaksi pigmen dengan terigu + shortening	49
24. Intensitas warna interaksi pigmen dengan kasein + agar	50
25. Intensitas warna interaksi pigmen dengan kasein + agar	51

DAFTAR LAMPIRAN

1. Analisis data tahap II	57
2. Instrumen penelitian	59
3. Personalia tenaga peneliti beserta kualifikasinya	60
4. Artikel yang sedang diajukan pada jurnal	61
5. Artikel yang telah dipresentasikan	76

BAB I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Betalain merupakan pigmen berwarna merah-violet dan kuning-oranye yang banyak terdapat pada buah, bunga dan jaringan vegetatif (Strack *et al.*, 2003). Betalain adalah pigmen kelompok alkaloid yang larut air, pigmen bernitrogen dan merupakan pengganti anthocyanin pada sebagian besar family tanaman ordo Caryophyllales (Cai *et al.*, 2005). Betalain pewarna alami yang banyak digunakan pada produk pangan. Pigmen ini banyak dimanfaatkan karena kegunaannya selain sebagai pewarna juga sebagai antioksidan dan *radical scavenging* sebagai perlindungan terhadap gangguan akibat stres oksidatif. Sumber betalain yang paling banyak adalah akar bit (*Beta vulgaris*). Perkembangan antosianin sebagai pewarna makanan lebih berkembang dibandingkan dengan betalain, karena terbatasnya tanaman yang mengandung betalain (Mareno *et al.*, 2008). Oleh karena itu penelitian pencarian alternatif sumber betalain penting dilakukan, salah satunya adalah dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

Tanaman buah naga yang sering juga dibuat menjadi tanaman hias, dalam setahun bisa berbuah tiga kali, dan produksinya bisa terus meningkat dengan perawatan yang baik. Setiap tahun, tanaman buah naga meningkat, begitu juga dengan import buah naga ke Indonesia. Berdasarkan catatan dari eksportir buah di Indonesia, buah naga ini masuk ke tanah air mencapai antara 200 - 400 ton/tahun asal Thailand dan Vietnam (Anonim, 2013a). Masyarakat semakin menyukai buah naga karena selain pohon dan buahnya yang indah, buah naga juga mengandung manfaat bagi kesehatan.

Kabupaten Padang Pariaman merupakan salah satu sentra budidaya buah naga di Sumatera Barat. Pada tahun 2010 daerah ini telah membudidayakan buah naga merah dan putih seluas 20 hektar, setiap tahunnya terjadi peningkatan (Anonim, 2013b). Potensi buah naga baik putih, merah dan super merah meningkat setiap tahunnya, bukan hanya di Sumatera Barat juga di pulau Jawa, Sulawesi dan daerah lainnya. Bila buahnya semakin meningkat maka potensi dari kulitnya juga akan meningkat per tahun.

Menurut Saati (2011), kulit buah naga berjumlah 30-35 % dari berat buahnya dan seringkali hanya dibuang sebagai sampah. Padahal hasil penelitian menunjukkan kulit buah naga mengandung antioksidan dan juga dapat menurunkan kadar kolesterol (Kanner *et al.*, 2001). Kulit buah naga merah (*H. polyrhizus*) mengandung betalain yang berfungsi sebagai antioksidan dan pewarna alami (Stafford, 1994 dalam Cao *et al.*, 2012, Wybraniec *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2006 ; Khalida, 2010). Kulit buah naga memiliki potensi antioksidan yang lebih besar dibanding buahnya (Darmawi, 2011)

Wybraniec *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2006 melaporkan bahwa daging dan kulit buah naga merah sama-sama kaya polifenol dan sumber antioksidan yang baik. Bahkan menurut studi yang dilakukannya terhadap kandungan total polifenol, aktivitas antioksidan dan kegiatan antiproliferative, kulit buah naga merah adalah lebih kuat inhibitor pertumbuhan sel-sel kanker daripada dagingnya. Khalida (2010); Tamia (2011) menyebutkan bahwa ekstrak kulit buah naga merah merupakan antimikroba yang dapat menghambat bakteri gram positif, gram negatif dan spora bakteri. Tamia (2011) juga melaporkan bahwa ekstrak buah naga merah menunjukkan hasil antimikroba yang lebih baik 1,1 kali dibandingkan dengan streptomisin dan penisilin.

Banyaknya manfaat betalain dari kulit buah naga merah maka sangat penting untuk mempelajari purifikasi, karakterisasi dan identifikasi betalain dari kulit buah naga merah dan juga sumber betalain alternatif. Masih sangat langkanya penelitian dan kajian terhadap kulit buah naga berwarna merah. Penelitian ini sangat berpeluang untuk mengidentifikasi dengan menggunakan, kromatografi, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) ataupun kolom kromatografi (Spadex), mengetahui karakterisasi betalain dari kulit buah naga merah baik tentang kestabilan, pengaruh pH, suhu, cahaya, asam, interaksi pada komponen pangan (berbasis pati, protein, lemak dan minuman) dan aktivitas antimikrobanya serta aktivitas antioksidannya. Penelitian ini juga akan dilanjutkan dengan mengidentifikasi betalain dari kulit buah naga merah untuk mengetahui berat molekul menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) dan struktur molekulnya menggunakan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR).

Masih sangat langkanya penelitian dan kajian terhadap kulit buah naga berwarna merah ini, maka penelitian ini sangat berpeluang untuk mengkarakterisasi dan identifikasi betalain alternatif dan berpeluang memperoleh Hak Paten. Apalagi ke depan disinyalir akan bermunculan industri pengalengan buah naga merah karena buah naga merah dinilai sangat berkhasiat baik bagi kesehatan juga pada produk pangan sebagai pewarna alami. Dengan demikian diharapkan nantinya mendapatkan sumber betalain alternatif dan dapat meningkatkan daya guna kulit buah naga merah, serta menambah kesadaran masyarakat bahwa kulit buah naga merah sangat menguntungkan.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Pewarna

Kemajuan teknologi memungkinkan zat pewarna dibuat secara sintetis. Pewarna sintetis memberikan warna yang stabil pada produk pangan, namun banyak yang menyalahgunakan sehingga timbul masalah kesehatan. Pewarna sintetis merupakan sumber utama pewarna komersial untuk hampir seluruh industri pangan, karena sifat pewarna sintetis mendasari sifat kelarutannya dalam air.

Zat pewarna alami yang bersifat lebih aman, dapat digunakan dan dikembangkan antara lain dari pigmen karotenoid, kurkumin, antosianin, klorofil, betalain dan pigmen lainnya. Pigmen dapat diekstrak dari jaringan-jaringan tanaman. Pigmen dapat berada pada jaringan buah, bunga, kulit, daun, batang maupun akar dari kelompok tanaman buah, kayu, sayuran maupun bunga (Nollet, 1996). Jenie *et al.*, (1994) melaporkan bahwa penggunaan pewarna sintetis sebagai pewarna pangan dapat berdampak negatif yaitu menyebabkan toksik dan karsiogenik. Untuk itu perlu pengembangan alternatif zat warna yang aman, yaitu dengan meningkatkan pemakaian pewarna alami (Wroldstard, 2004). Oleh karena itu sudah saatnya memasyarakatkan kembali penggunaan senyawa bioaktif, selain sebagai pewarna alami, juga sumber antioksidan dan diteliti cara penggunaannya (Susanto, 2002).

Pewarna alami perlu diketahui stabilitas pigmennya. Pigmen yang diinginkan adalah yang memiliki daya larut baik, menyumbangkan warna alami dengan maksimal, stabil selama proses pengolahan dan penyimpanan bahan tersebut. Menurut Hendry and Houghton (1996), dalam pembuatan dan penggunaan produk

pewarna harus dipertimbangkan beberapa hal, yaitu kelarutan pigmen, bentuk fisik (cairan, pasta atau bubuk), pH makanan dan bahan tambahan lain.

B. Buah Naga Merah dan Betalain

Buah Naga adalah buah dari sejenis pokok kaktus. Ia ditanam secara komersial di Vietnam dan Australia, walaupun ia berasal dari Amerika Selatan. Isi buah naga berwarna putih, merah, ungu dan hitam dengan taburan biji-biji yang berwarna hitam yang boleh dimakan. Warna merah yang terdapat pada buah naga merah mengandung pigmen betalain yang sangat bermanfaat baik sebagai pewarna ataupun sebagai pangan fungsional (Wybraniec, 2001; Khalida, 2010).

Betalain merupakan pigmen atau pewarna alami yang banyak digunakan pada pangan, namun pengembangannya tidak secepat antosianin, karena tanaman yang mengandung betalain tidak sebanyak antosianin (Mareno et al, 2008). Pigmen ini juga dipengaruhi oleh pH, cahaya, udara serta aktivitas air, dengan stabilitas pigmen yang lebih baik pada suhu rendah dengan pH 5,6 (Cai *et al*, 1998)

Betalain mempunyai dua subklas yaitu betacyanin dan betaxanthin yang masing-masing memberikan warna merah-violet dan kuning-oranye pada bunga, buah dan jaringan vegetatif (Strack *et al*, 2003; Grotewold, 2006). Berdasarkan struktur kimianya betacyanin dan betaxanthin lebih lanjut diklasifikasikan menjadi beberapa grup Strack *et al*, 2003. Betacyanin mempunyai empat grup yaitu betanin, amaranthine, gomphrenin dan 2-Descarboxy-betanin sedangkan betaxanthin mempunyai tiga group yaitu konjugat dari asam amino, konjugat dari amine dan struktur semi sintetik

Kulit buah naga selain mengandung pigmen betalain juga kaya dengan vitamin dan mineral yang membantu meningkatkan daya tahan dan metabolisme tubuh. Zat gizi yang terkandung di dalam buah naga ialah serat, kalsium, zat besi, dan fosforus yang cukup bermanfaat untuk merawat penyakit darah tinggi. Fitokimia (betalain) di dalam kulit buah naga juga diketahui dapat menurunkan risiko kanker (Stintzing, Schieber, and Carle, 2002; Ravichandran *et al.*, 2013) .

Akhir-akhir ini masyarakat Indonesia makin mengenal dan menyukai buah naga merah ini, sehingga limbah kulit akan banyak tersedia. Diperkirakan berat kulit buah naga ini adalah 30 - 35% dari buahnya (Saati, 2011). Jika tidak dimanfaatkan

akan terbangun percuma sebagai sampah. Pematangan buah naga ditandai dengan perubahan warna kulit buah dari hijau menjadi merah yang berlangsung lambat selama 25-27 hari setelah anthesis, selanjutnya setelah 30-33 hari perubahan warna kulit sudah optimum/panen (Bellec, Vaillant, and Imbert, 2006).

Karakteristik kulit buah yang cukup tebal menyebabkan buah naga jenis *H. polyrhizus* memiliki sifat toleran terhadap cahaya matahari (Mizrahi and Nerd, 1999). Selain itu, diketahui bahwa daging dan kulit buah naga mengandung senyawa polifenol dan antioksidan yang tinggi serta zat anti kanker (Stintzing, Schieber, and Carle, 2002). Serat pada kulit dan buah naga mampu menurunkan kadar kolesterol, kelenturan pembuluh darah, dan dapat mencegah diabetes serta mencegah obesitas (Cahyono, 2009). Buah naga juga kaya akan antioksidan dan antimikroba.

Menurut Nuliayana *et al.* (2010), dalam 1 mg/ml kulit buah naga dapat menghambat sebanyak $83,48 \pm 1.02$ % radikal bebas, sedangkan untuk 1 mg/ml daging buah naga hanya dapat menghambat radikal bebas sebesar 27.45 ± 5.03 %. Wu *et al.*, (2006) menyatakan bahwa, kulit buah naga memiliki potensi sebagai antioksidan yang lebih tinggi dari dagingnya.

Kapasitasnya sebagai bahan makanan, umumnya yang dikonsumsi daging buah segar baik langsung dikonsumsi atau juga dalam bentuk jus. Namun sekarang sudah mulai digali pemanfaatan kulit buah naga baik sebagai pewarna makanan maupun diolah sebagai menu makan (Faridah dan Kasmita, 2013). Kulit Buah naga merah dapat digunakan sebagai pewarna alami makanan karena menghasilkan warna merah yang dihasilkan oleh pigmen yang bernama anthosianin, betalain seperti cyanidin-3-sophoroside, dan cyanidin-3-glucoside. (Rini Wulandari, 2011).

C. Ekstraksi dan Identifikasi Pigmen

Ekstraksi adalah proses pemisahan sesuatu zat dari campuran bahan padat maupun cair dengan bantuan bahan pelarut. Pemisahan yang diinginkan dapat terjadi karena adanya perbedaan dalam sifat yaitu dapat larutnya antara bahan-bahan campuran dari suatu campuran zat dalam bahan pelarut (Vogel, 1989). Pelarut yang seringkali digunakan untuk mengekstrak pigmen betalain adalah alkohol : etanol (Wybraniec, 2001; Darmawi, 2011; Ravichandran *et al.*, 2013), metanol (Hor *et al.*, 2012; Tenore *et al.*, 2012), amil alkohol (Robinson, 1991), isopropanol (Saati, 2002),

aseton (Wu *et al.*, 2006; Khalida, 2010), atau dengan air/aquades (Nollet, 1996), yang dikombinasi dengan asam, seperti asam klorida (Nollet, 1996), asam sitrat (Amalia, 2010) asam asetat, asam format (Gao *and* Mazza, 1996), atau asam askorbat (Robinson, 1991). Ekstraksi flavonoid menggunakan pelarut etanol menghasilkan daya antioksidatif lebih tinggi, dibandingkan dengan air dan metanol (Jung *et al.*, 2005).

Identifikasi betalain banyak dilakukan dengan perbandingan kromatografi, spektroskopi, sifat elektroforesis, HPLC, LC-MS dan NMR (Cai *et al.*, 2003; Stintzing *et al.*, 2004). Kromatografi adalah proses pemisahan yang didasarkan pada perbedaan distribusi komponen diantara fase gerak dan fase diam (Vogel, 1989). Kromatografi yang digunakan pada pemisahan pigmen betalain yaitu kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis. Identifikasi betalain menggunakan HPLC Cai *et al.*, (2003); kromatografi lapis tipis, Spektrofotometri UV-Vis, HPLC and LC-MS (Guesmi *et al.*, 2012); HPLC dengan kolom kromatografi dalam spadex G-25, UV-Vis, elektropray MS/MS, dan NMR (Wybraniec, 2001).

D. Stabilitas dan Interaksi Pigmen

Faktor-faktor yang mempengaruhi stabilitas dari pigmen adalah pH, temperatur, sinar, oksigen dan faktor lain seperti enzim dan ion logam yang dapat merusak pigmen serta penggabungan dengan flavonoid lain dan tanin. Umumnya betalain lebih stabil dalam kondisi asam, media bebas oksigen, dalam kondisi suhu dingin dan gelap (de Man, 1997; Nollet, 1996; Azeredo, 2006). Umumnya betalain stabil dalam kondisi mendekati netral (sekitar pH 5-6), media bebas oksigen dan dalam kondisi suhu dingin dan gelap (Nollet, 1996; Azeredo, 2006). Pigmen betalain merupakan pigmen yang larut dalam air (Wybraniec *et al.*, 2001).

Holinesti (2007) mengemukakan bahwa interaksi pigmen brazilein pada tapioka secara tunggal maupun kombinasinya dengan shortening menghasilkan warna merah cerah. Semakin tinggi konsentrasi pigmen yang diberikan, semakin tinggi intensitas warna yang dihasilkan. Stabilitas warna kerupuk dipengaruhi oleh proses pembuatan. Hal ini dapat dilihat dari nilai L, a, b dan ΔE yang mengalami perubahan pada tahap pembuatan adonan, pengukusan dan penjemuran.

BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A. Tujuan Penelitian

Berdasarkan permasalahan tersebut di atas, penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengeksplorasi ekstraksi guna mendapatkan ekstrak yang optimum : menggunakan desain faktorial dan hasil terbaik dilanjutkan ekstraksi dengan faktor yang berbeda untuk optimasi ekstraksi menggunakan respon permukaan.
2. Menganalisis kemungkinan jenis pigmen ekstrak kulit buah naga menggunakan HPLC.
3. Interaksi ekstrak betalain pada komponen bahan pangan baik berbasis pati, protien, dan lemak.

Secara keseluruhan hasil penelitian ini diharapkan dapat mengetahui faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi dan identifikasi betalain dari kulit buah naga merah. Pengaruh umur simpan buah naga, jenis pelarut, rasio pelarut, suhu dan lama ekstraksi akan dipelajari untuk mendapatkan ekstrak betalain yang optimum. Optimasi ekstrak betalain diinteraksikan dengan komponen bahan pangan dengan tujuan pada pangan berbasis apa yang paling tepat aplikasi dari pigmen kulit buah naga sebagai pewarna alami, pengawet, ataupun sebagai pangan fungsional.

B. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini memberikan manfaat dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang berkaitan dengan pigmen betalain dari kulit buah naga merah yaitu:

1. Mengetahui cara metode yang tepat dalam melakukan ekstraksinya
2. Mengetahui pengaruh interaksi ekstrak kulit buah naga dengan komponen bahan pangan terhadap warna yang dihasilkan.

Dalam konteks pembangunan, diharapkan akan memberikan sumbangan :

- a) Mengenalkan pada masyarakat bahwa kekayaan hayati kita banyak yang berpotensi digunakan sebagai bahan antioksidan, antimikroba dan zat warna alami.
- b) Meningkatkan kesadaran masyarakat tentang pentingnya perhatian terhadap keamanan pangan, melalui penggunaan bahan aditif alami.
- c) Meningkatkan pendapatan masyarakat dengan peningkatan budidaya buah naga

merah, sebagai penghasil bahan antimikrobia, antioksidan dan pewarna alami dan dapat menyerap lapangan kerja baru.

BAB IV. METODE PENELITIAN

A. Tempat, Bahan dan Alat

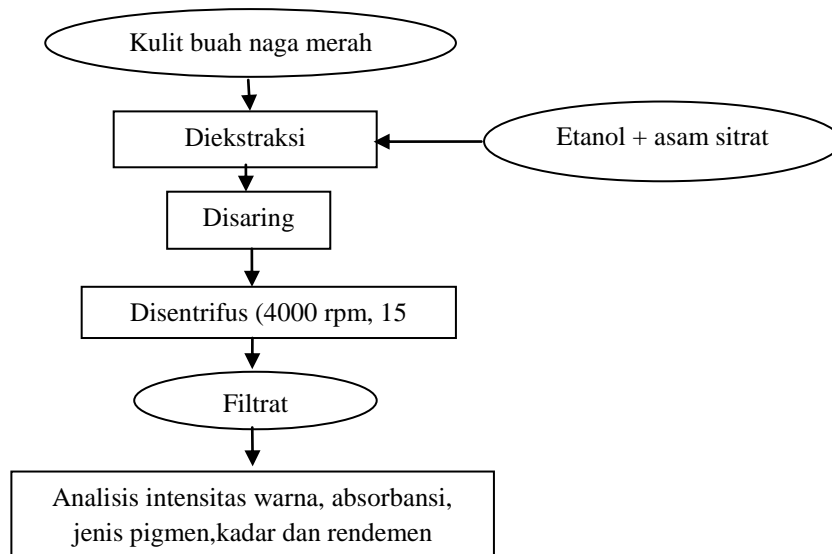
Penelitian ini telah dilaksanakan di laboratorium Kimia di Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Padang dan di laboratorium Teknologi Hasil Pertanian FTP, Universitas Andalas. Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah naga merah, tepung beras, tepung beras ketan, tepung tapioka, tepung terigu, shortening, tepung agar, dan kasein. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain betanin standar, asetonitril, etanol, asam asetat, asam sitrat, natrium hidroksida, natrium karbonat, $MgCl_2$, NaBr, NaCl, KCl, KNO_3 (kalium nitrat), dan kalium dihidrofosfat, dikalium hidrophospat, HCl, aquades.

Peralatan yang digunakan antara lain : blender, timbangan analitik, shaker, termoshaker, sentrifuge, aluminium foil, saringan vakum, kertas saring whatman no. 1, *hot plate*, termometer, UV-vis spektrofotometer, chromameter, filter milliphore cawan petri, serta peralatan gelas (labu ukur, gelas ukur, pipet volum, erlemeyer, beker gelas dan lain-lain).

B. Tahapan Penelitian

Tahap 1.

Ekstraksi faktorial RAL dengan ulangan tiga kali. Faktor pertama yaitu kulit dari buah naga yang baru dipetik, disimpan 1, 2, 3, 4 dan 5 hari dan faktor kedua yaitu jenis pelarut ; etanol, etanol + asam asetat, etanol + asam sitrat, aquades, aquades + asam asetat, aquades + asam sitrat. Proses ekstraksi pertama ini dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. : Proses Ekstraksi Pigmen Betalain dari Kulit Buah Naga

Analisa yang dilakukan meliputi: absorbansi pigmen, intensitas warna, total padatan terlarut, kadar dan rendemen pigmen. Hasil terbaik dari tahap ekstraksi pertama akan digunakan pada tahap ekstraksi kedua dan juga identifikasi pigmen betalain.

Analisa HPLC

Analisis HPLC menggunakan Shimadzu UFLC series. HPLC System dengan *diode array detector* (DAD) yang dioperasikan pada suhu ruang. Data diproses dengan *LC solution Software*. Metode yang digunakan mengacu pada metode yang digunakan untuk mengidentifikasi distribusi betacyanin pada beberapa anggota famili *Amaranthaceaea* yang salah satunya adalah *C. argentea var. cristata* [8] dengan sedikit modifikasi. Kondisi untuk *preparative* HPLC adalah : kolom Zorbax SB-C18 (5 um, 150 x 4.6 mm) dengan *guard coloumn* (5 um, 15 x 9.4 mm) (Agilent Technologies); gradient linier diamati selama 40 menit dari 20% solvent B (*aqueous* 100% asetonitril) dalam solvent A (2.5% *aqueous formic acid*) ke 40% B dalam A+B dengan kecepatan aliran 1 ml/menit. Esktrak diinjeksikan sebanyak 20 l dan dideteksi pada panjang gelombang 530 nm.

Tahap II

Ekstraksi tahap kedua yaitu untuk mendapatkan optimasi absorbansi tertinggi dengan pendekatan metode respon permukaan. Tiga faktor yang dikaji pada tahap ini, adalah rasio pelarut : berat kulit (l/g) dengan batas bawah 4: 1 dan 8 : 1 batas atas, suhu

ekstraksi yaitu 25°C dan 45°C dan lama ekstraksi 3 jam batas bawah, 9 jam batas atas. Pada percobaan ini x_1 adalah faktor rasio pelarut : berat kulit buah naga, x_2 faktor suhu ekstraksi, x_3 merupakan faktor lama ekstraksi dengan respon absorbansi (Tabel 1).

Tabel 1

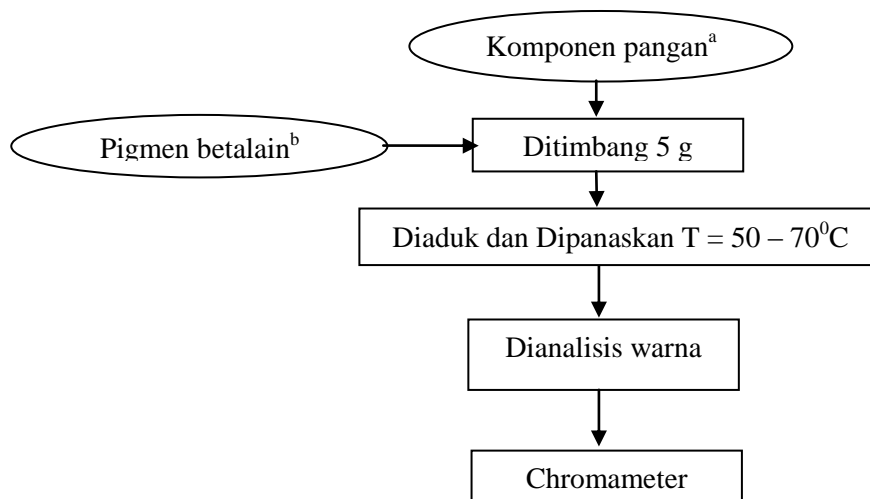
Rancangan Penelitian Metode Respon Permukaan dengan Tiga Variabel

No	Level parameter			Parameter ekstraksi			Respon
	X_1	X_2	X_3	Rasio (ml/g)	Suhu (°C)	Lama (jam)	Absorbansi (nm)
1	0	0	0	6	35	6	
2	0	-1	+1	6	25	9	
3	0	0	0	6	35	6	
4	+1	0	-1	8	35	3	
5	-1	-1	0	4	25	6	
6	-1	0	-1	4	35	3	
7	+1	-1	0	8	25	6	
8	0	-1	-1	6	25	3	
9	0	+1	+1	6	45	9	
10	0	0	0	6	35	6	
11	0	0	0	6	35	6	
12	-1	+1	0	4	45	6	
13	+1	0	+1	8	35	9	
14	0	0	0	6	35	6	
15	0	+1	-1	6	45	3	
16	+1	+1	0	8	45	6	
17	-1	0	+1	4	35	9	

Seluruh perlakuan terdiri dari 17 proses ekstraksi dimana setiap kondisi proses mengikuti rancangan percobaan (Tabel 1). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *software Design expert* versi 7,1. Parameter yang diamati pada ekstrak hasil optimasi yaitu karakterisasi dengan interaksi pigmen betalain (tahap 3). Verifikasi dilakukan sebagai tindakan pengecekan apakah nilai respon optimum yang dihasilkan dari perhitungan *Design Expert 7.1* sesuai dengan nilai yang dihasilkan dalam analisa penelitian. Analisa untuk verifikasi dilakukan sebanyak tiga kali.

Tahap III

Karakterisasi ekstraksi hasil optimasi yaitu 1). interaksi tunggal dan 2). interaksi kombinasi pigmen betalain. Interaksi tunggal ekstrak kasar betalain pada komponen pangan yaitu berbahan dasar pati (tapioka, terigu, tepung beras ketan, tepung beras), protein (kasein), lemak (shortening) dan agar. Interaksi pigmen betalain pada kombinasi dua komponen bahan pangan yaitu : tapioka+kasein, terigu + kasein, terigu + shortening, tepung beras + shortening, dan kasein + agar. Bahan dilarutkan dengan ekstrak kulit buah naga dengan perbandingan 1 : 5, 1 : 6, 1 : 7, 1 : 8 dan diaduk dilakukan proses pemanasan pada suhu 50 – 70⁰C. Intensitas warna diamati menggunakan metode chromameter (Francis, 1998). Diagram alir percobaan dapat dilihat pada Gambar 2



Gambar 2: Prosedur interaksi pigmen betalain pada komponen pangan

Keterangan :

a = tapioka, tepung beras ketan, tepung beras, terigu, kasein, shortening, agar (interaksi tunggal), tapioka+kasein, terigu+kasein, terigu+shortening, t. beras dan tapioka+selulosa (interaksi kombinasi)

b = rasio bahan : pigmen (1:5; 1:6; 1:7; 1:8) dan untuk agar (1:7, 1:8; 1:9; 1:10)

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. TAHAP I

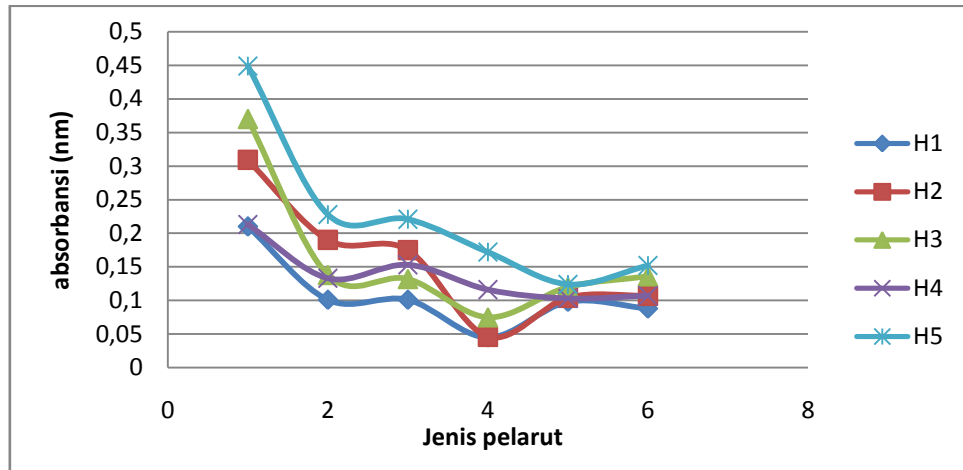
1. Pengaruh Umur Simpan Dan Jenis Pelarut Terhadap Absorbansi Dan Konsentrasi Ekstrak Betasianin

Ekstrak betasianin dari kulit buah naga menggunakan pelarut aquades, aquades + asam asetat 10%, aquades + asam sitrat 10%, etanol 95 %, etanol + asam sitrat 10 % dan etanol + asam asetat 10 % yang menghasilkan filtrat berwarna merah violet seperti warna pada pigmen betasianin. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol dan aquades karena tingkat kepolaran betasianin mendekati tingkat kepolaran etanol, sehingga dapat melarutkan betasianin dan ekstraksi dapat berlangsung secara sempurna. Betasianin mempunyai tingkat kelarutan yang tinggi dalam air. Hal ini sesuai dengan Vogel (1989) yang menyatakan bahwa daya melarutkan yang tinggi berhubungan dengan tingkat kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Sedangkan ekstraksi pada suasana asam bertujuan untuk menjaga pH dari betasianin, karena betasianin merupakan pigmen yang stabil dalam suasana asam. Sifat-sifat dari betasianin sangat dipengaruhi oleh pH, cahaya, udara, serta aktivitas air, dengan stabilitas pigmen yang lebih baik pada suhu rendah yaitu $<14^{\circ}\text{C}$ pada kondisi gelap, dengan kadar udara rendah diatas rentang pH 5-7, tetapi lebih stabil pH 5-6 (Cai, Y.Z. *et al.*,1998). Hasil absorbansi ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa betasianin menyerap cahaya pada panjang gelombang maksimum 530 nm. Hal ini sesuai dengan pendapat Coultate (1996) yang menyatakan bahwa betasianin dengan warna pigmen merah keunguan menyerap cahaya pada panjang gelombang maksimum yang berkisar antara 534- 555 nm; 537,5 – 538 nm (Darmawi, 2011); 538 nm (Cao et al, 2012).

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi dari ekstrak kulit buah naga merah menggunakan spektrofotometer uv-vis dapat dilihat pengaruh umur simpan kulit buah naga merah dan jenis pelarut terhadap absorbansi (Gambar 3). Filtrat dari kulit buah naga menunjukkan puncak pada panjang gelombang 530 nm. Hal ini menunjukkan bahwa pigmen ini menyerap sinar pada daerah hijau (500-550 nm) dengan warna ungu sebagai warna komplementernya sehingga terlihat secara visual

berwarna merah keunguan. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Harborne (1987) yang menyebutkan bahwa spektrum tampak dari betasianin memiliki panjang gelombang berkisar antara 532-554 nm dan 538 nm (Cao et al, 2012).



Jenis pelarut : 1=aquades, 2= aquades+ as. asetat, 3= aquades + as. sitrat, 4= etanol, 5= etanol + as.asetat, 6 = etanol+ sitrat
 Umur simpan : H1 = Hari pertama, H2 = hari kedua, H3 = hari ketiga, H4 = hari keempat, H5 = hari kelima

Gambar 3. Nilai Absorbansi Ekstrak Betasianin dari Kulit Buah Naga Merah Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut

Pada Gambar 3 juga menjelaskan bahwa nilai absorbansi ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah mengalami peningkatan dari hari pertama hingga hari kelima masa simpan buah naga merah. Nilai absorbansi tertinggi dari semua pelarut yang digunakan yaitu absorbansi pada umur simpan hari kelima dengan jenis pelarut aquades. Nilai absorbansi filtrat pigmen dengan pelarut aquades yang mengalami peningkatan maksimal pada umur simpan hari kelima yaitu 0,449 nm sedangkan nilai absorbansi terkecil pada umur simpan hari pertama yaitu menggunakan pelarut etanol yaitu 0,045 nm (Tabel 2). Perbedaan nilai absorbansi yang dihasilkan oleh ekstrak dari kulit buah naga merah menunjukkan pengaruh kombinasi pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya.

Tabel 2.
Data Absorbansi Ekstrak Betasianin dari Kulit Buah Naga Merah Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut

Jenis Pelarut	Umur Simpan				
	H1	H2	H3	H4	H5
Aquades	0,21	0,309	0,37	0,213	0,449
Aquades + asam asetat	0,101	0,19	0,138	0,133	0,228
Aquades + asam sitrat	0,101	0,175	0,132	0,153	0,221
Etanol	0,045	0,046	0,075	0,116	0,172
Etanol + asam asetat	0,098	0,104	0,12	0,103	0,124
Etanol + asam sitrat	0,088	0,107	0,136	0,107	0,152

Dari Gambar 3 menggambarkan absorbansi betasianin berbeda pada setiap perlakuan dengan berbagai jenis kombinasi pelarut. Berbedanya absorbansi yang dihasilkan dari proses ekstraksi kulit buah naga merah dengan menggunakan berbagai jenis pelarut terjadi karena kemampuan dan sifat pelarut dalam melarutkan betasianin berbeda. Perbedaan absorbansi yang dihasilkan untuk setiap jenis asam organik diduga karena adanya perbedaan tetapan disosiasi dari masing-masing jenis asam. Semakin besar tetapan disosiasi semakin kuat suatu asam karena semakin besar jumlah ion hidrogen yang dilepaskan ke dalam larutan. Keadaan yang semakin asam akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen betasianin dalam bentuk betasianin yang berwarna merah ungu dan pengukuran absorbansi akan menunjukkan jumlah betasianin yang semakin besar (Fennema, 1996). Disamping itu keadaan yang semakin asam menyebabkan semakin banyak dinding sel vakuola yang pecah sehingga pigmen betasianin semakin banyak yang terekstrak. Tingginya absorbansi yang dihasilkan oleh pelarut aquades karena betasianin mempunyai daya larut yang tinggi dalam pelarut air yang disebabkan oleh tingkat kepolarannya.

Titik maksimal absorbansi ekstrak kulit buah naga merah terjadi pada umur simpan hari kelima karena buah telah mengalami proses pematangan (*maturation*) dan pemasakan, sehingga dinding sel semakin mudah dipecah dan pigmen semakin banyak terekstrak. Menurut Saati (2011) buah naga mempunyai masa simpan maksimal 4 hari dan akan mengalami penurunan kondisi diikuti dengan kerusakan pada masa penuaan yaitu selama penyimpanan 8 hari. Demikian halnya juga dengan konsentrasi dari ekstrak kulit buah naga merah, konsentrasi dari filtrat ini dapat ditentukan dari nilai absorbansinya menggunakan kurva kalibrasi dan persamaan

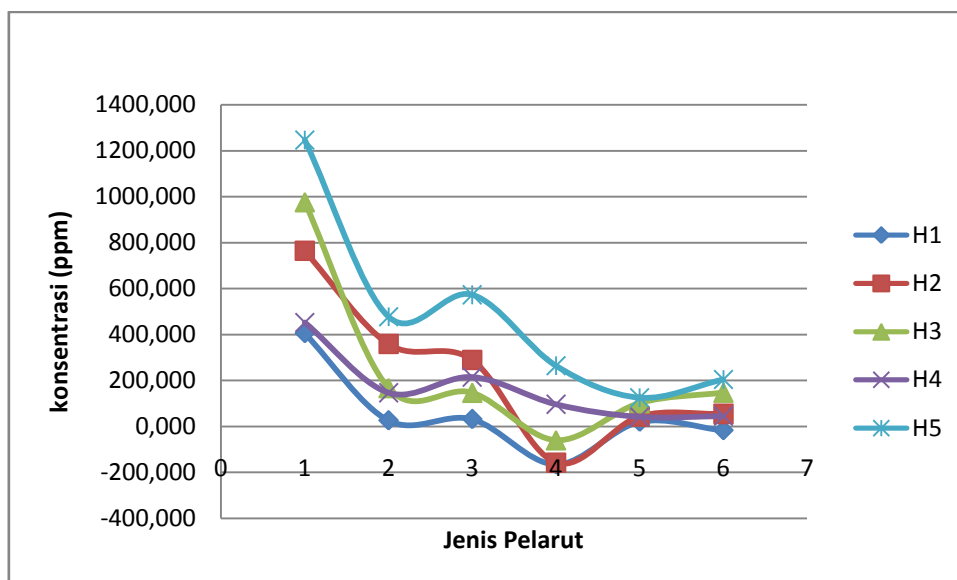
regresi linear. Pada penelitian ini konsentrasi dari filtrat ditentukan menggunakan persamaan regresi, menggunakan rumus:

$$Y = ax + b$$

Dengan x merupakan konsentrasi dari filtrat dalam satuan ppm. Konsentrasi pigmen juga dipengaruhi oleh jenis dan kombinasi pelarut yang digunakan, semakin dekat tingkat kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstrak senyawa organik yang ada dalam tumbuhan maka semakin mudah senyawa tersebut larut dalam pelarut, sehingga konsentrasi dari filtrat semakin besar. Konsentrasi dari filtrat juga dipengaruhi oleh masa umur simpan buah naga, dari kurva dibawah ini dapat dilihat bahwa semakin lama umur simpan buah naga maka semakin tinggi konsentrasi yang akan dihasilkan, ini disebabkan karena buah naga mengalami pematangan sehingga dinding sel semakin mudah dipecah.

Konsentrasi dari ekstrak betasianin juga dipengaruhi oleh tingkat kestabilan dari pigmen tersebut, kestabilan pigmen dipengaruhi oleh cahaya, karena cahaya yang dipaparkan akan menghasilkan energi panas yang akan mendegradasi struktur senyawa dari betasianin karena reaksi fotokimia. Akibatnya semakin terpapar oleh cahaya, maka stabilitas pigmen akan semakin menurun sehingga pigmen betasianin akan mengalami kerusakan.

Gambar 4 menjelaskan bahwa konsentrasi dari filtrat ada yang bernilai minus (negatif) yaitu konsentrasi dengan pelarut etanol yaitu -165,254 pada umur simpan hari pertama dan -157,669 pada umur simpan hari kedua dan etanol + asam sitrat yaitu -17,174 pada umur simpan hari pertama. Ini disebabkan karena kestabilan pigmen betasianin yang mungkin pada saat preperasi sampel untuk pengukuran absorbansi terpapar oleh cahaya dan tidak disadari oleh peneliti. Kemungkinan lain yaitu karena etanol merupakan senyawa yang mudah menguap, sehingga ketika preparasi pengukuran uv-Vis sebagian dari etanol akan menguap atau volatil, sehingga terjadi kesalahan dalam pengukuran absorbansi dengan Uv- Vis. Selain itu mungkin disebabkan oleh suhu ruangan pada saat pengukuran, betasianin stabil pada suhu yang rendah yaitu 14°C, sedangkan pada saat pengukuran suhu ruangan berkisar antara 35- 37 $^{\circ}\text{C}</math>, sehingga kestabilan pigmen ini menurun, struktur pigmen rusak yang menyebabkan konsentrasi pigmen menurun.$



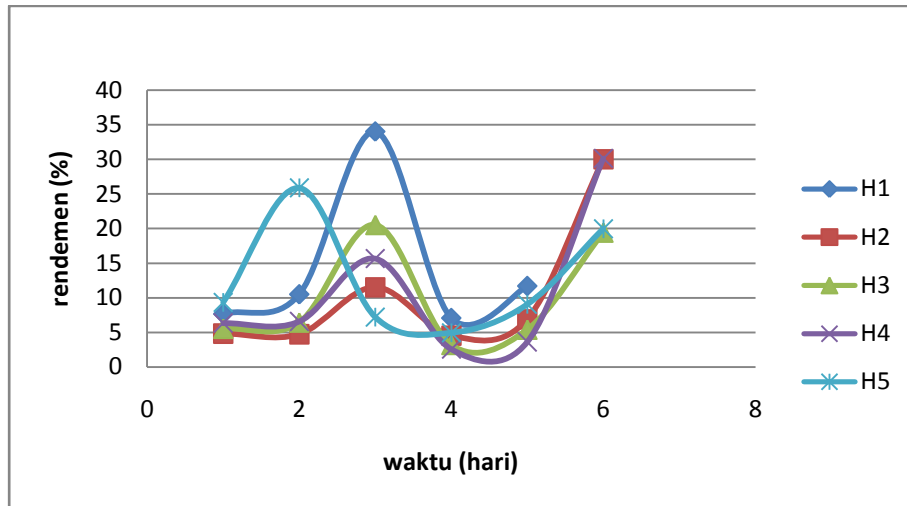
Ket: Jenis pelarut : 1=aquades, 2= aquades + as.asetat, 3= aquades+as.sitrat, 4= etanol, 5= etanol+ as.asetat, 6= etanol+ as.sitrat
 Umur simpan : H1 = Hari pertama, H2 = hari kedua, H3 = hari ketiga, H4 = hari keempat, H5 = hari kelima

Gambar 4. Konsentrasi Ekstrak Betasianin dari Kulit Buah Naga Merah Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut.

2. Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Ekstrak Betasianin.

Rendemen dari ekstrak kulit buah naga dapat dihitung dari zat padat terlarut total sehingga semakin tinggi zat padat total yang terlarut dalam pelarut maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan. Rendemen ini juga dipengaruhi oleh masa simpan kulit buah naga yang akan diekstrak, pelarut yang digunakan untuk mengekstrak betasianin dan pemberian kondisi asam pada pH yang rendah.

Dari Gambar 5 dapat dibaca bahwa rendemen tertinggi menggunakan pelarut aquades + asam sitrat dengan rendemen 34,03 % pada umur simpan hari pertama dan etanol + asam sitrat dengan rendemen tertinggi 33,57 % pada umur simpan hari pertama. Persentase rendemen menurun selama umur simpan dari hari pertama hingga hari kelima penyimpanan. Ini menunjukkan bahwa umur simpan dan penambahan suasana asam pada pelarut berpengaruh terhadap kadar rendemen dari filtrat, ini sesuai dengan pendapat Cai, Y.Z. *et al* (1998) bahwa betasianin stabil pada kondisi gelap dengan suhu yang rendah dan kadar udara rendah diatas rentang pH 5-7, tetapi lebih stabil pH 5-6 .



Jenis pelarut : 1=aquades, 2= aquades+asetat, 3= aquades+sitrat, 4= etanol, 5= etanol+ asetat, 6= etanol+ sitrat
 Umur simpan : H1 = Hari pertama, H2 = hari kedua, H3 = hari ketiga, H4 = hari keempat, H5 = hari kelima

Gambar 5. Rendemen ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah pengaruh umur simpan dan jenis pelarut.

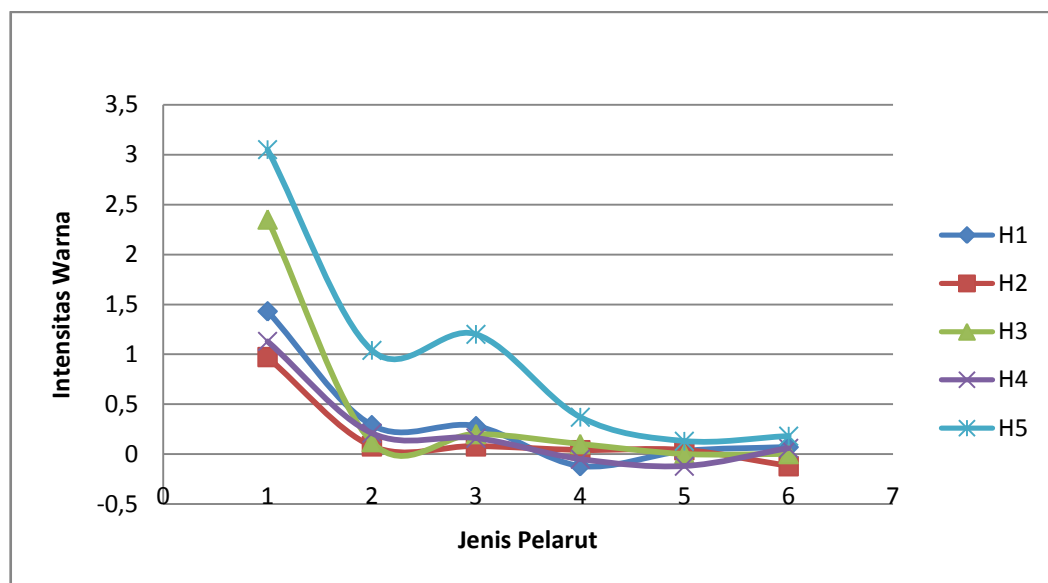
Sedangkan kadar rendemen dengan pelarut aquades meningkat selama masa simpan buah naga. Peningkatan ini diduga bahwa pigmen betasianin yang terdegradasi dan bertambahnya senyawa gula yang larut dalam air. Sehingga selama penyimpanan rendemen terus meningkat yang ditunjang dengan meningkatnya gula yang terlarut. Hal ini menunjukkan bahwa masa simpan buah naga sangat berpengaruh terhadap rendemen dengan menggunakan pelarut aquades. Namun rendemen dengan menggunakan pelarut etanol mengalami penurunan rendemen dari masa simpan 1 hari hingga 5 hari, ini disebabkan karena etanol merupakan senyawa yang bersifat volatil, sehingga sangat sedikit gula yang terlarut dalam pelarut etanol. Akibatnya rendemen yang dihasilkan rendah.

3. Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut Terhadap Intensitas Warna Merah Ekstrak Betalain.

Intensitas warna merah kulit buah naga, diukur menggunakan alat chromameter. Hasil pengukuran intensitas warna ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah pengaruh umur simpan dan jenis pelarut, dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 5.

Tabel 3.
Intensitas Warna Ekstrak Betasianin Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut

NO	PELARUT	Umur Simpan				
		H1	H2	H3	H4	H5
1	Aquades	1,43	0,97	2,35	1,13	3,05
2	Aquades + asam asetat	0,29	0,08	0,12	0,21	1,04
3	Aquades + asam sitrat	0,28	0,08	0,20	0,16	1,20
4	Etanol	-0,12	0,04	0,10	-0,05	0,37
5	Etanol+ asam asetat	0,03	0,04	0,00	-0,12	0,13
6	Etanol+ asam sitrat	0,07	-0,12	0,00	0,06	0,18



Jenis pelarut : 1=aquades, 2= aquades+asetat, 3= aquades+sitrat, 4= etanol, 5= etanol+ asetat, 6= etanol+ sitrat
Umur simpan : H1 = Hari pertama, H2 = hari kedua, H3 = hari ketiga, H4 = hari keempat, H5 = hari kelima

Gambar 6. Intensitas warna ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah pengaruh umur simpan dan jenis pelarut.

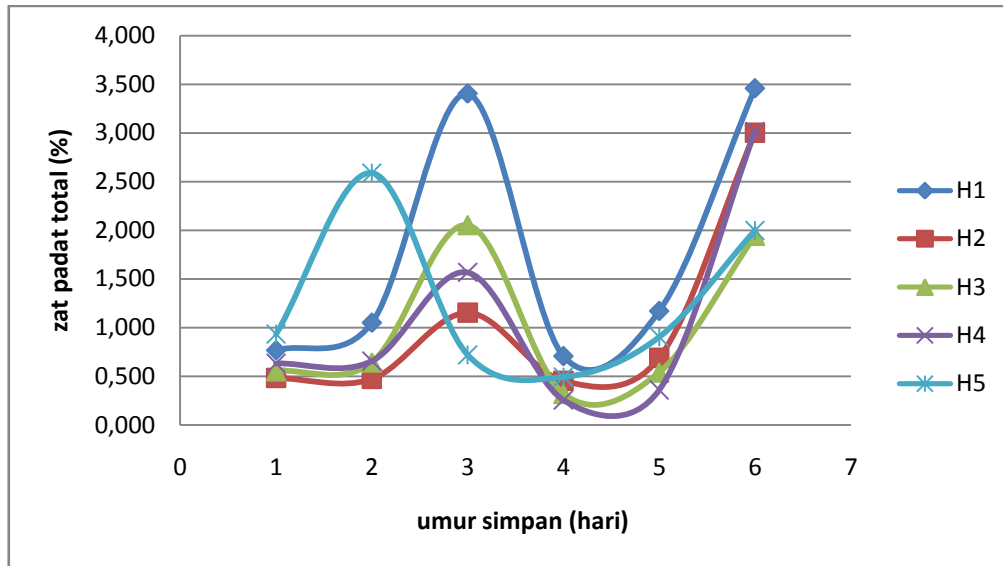
Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 6 dapat diketahui bahwa waktu penyimpanan berpengaruh terhadap intensitas warna merah ekstrak kulit buah naga. Secara umum, selama proses penyimpanan, intensitas warna merah ekstrak kulit buah naga yang dihasilkan dari semua pelarut menunjukkan pola yang sama, mulai dari awal penyimpanan (H1) hingga mengalami peningkatan yang cukup tinggi akhir penyimpanan (H5). Saati (2011) mengemukakan bahwa buah naga memiliki umur simpan maksimal 4 hari, dan akan mengalami penurunan kondisi diikuti dengan kerusakan pada masa penuaan, yaitu selama penyimpanan 8 hari. Hal ini sejalan

dengan data titik maksimal absorbansi ekstrak kulit buah naga merah dengan dengan pelarut aquades, dimana titik maksimal absorbansi terjadi pada masa simpan 5 hari, karena buah telah mengalami proses pematangan dan pemasakan, sehingga dinding sel semakin mudah dipecah dan pigmen semakin banyak terekstrak. Disamping itu, proses penguapan air yang terkandung pada kulit buah naga selama penyimpanan, menyebabkan intensitas pigmen yang terkandung meningkat.

Intensitas warna tertinggi dihasilkan dari kulit buah naga merah yang diekstrak dengan pelarut aquades, sedangkan yang terendah pada pelarut Etanol + asetat. Tingginya intensitas warna merah yang dihasilkan dari pelarut aquades disebabkan karena betasianin mempunyai daya larut yang tinggi dalam pelarut air yang disebabkan oleh tingkat kepolarannya. Lebih lanjut, Casteller *et al* (2006) mengemukakan bahwa pelarut aquades menghasilkan ekstrak dan stabilitas pigmen betasianin yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut etanol.

4. Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut Terhadap Zat Padat Terlarut Ekstrak Kulit Buah Naga Merah.

Dari hasil pengamatan (Gambar 7) dapat diketahui bahwa zat padat terlarut pigmen kulit buah naga merah yang dari penyimpanan hari pertama hingga penyimpanan hari kelima untuk pelarut yang ditambahkan asam sitrat cenderung tinggi. Zat padat terlarut dengan menggunakan pelarut aquades + asam sitrat adalah 3,457 % pada penyimpanan 1 hari dan pelarut etanol + asam sitrat yaitu 3,403 % pada penyimpanan 1 hari. Pigmen betasianin yang diekstrak dengan pelarut menggunakan asam memberikan zat padat terlarut yang relatif banyak. Hal ini sesuai dengan pendapat Cai, Y.Z. *et al* (1998) bahwa pigmen betasianin memiliki stabilitas yang baik pada keadaan asam dengan rentang pH 5- 7 dan akan mengalami kerusakan pada pH dibawah atau diatasnya.



Jenis pelarut : 1=aquades, 2= aquades+asetat, 3= aquades+sitrat, 4= etanol, 5= etanol+ asetat, 6= etanol+ sitrat
 Umur simpan : H1 = Hari pertama, H2 = hari kedua, H3 = hari ketiga, H4 = hari keempat, H5 = hari kelima

Gambar 7. Zat padat terlarut ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah pengaruh umur simpan dan jenis pelarut.

Sedangkan untuk pelarut aquades dari umur simpan hari pertama hingga hari kelima, zat padat terlarut menunjukkan penurunan pada hari kedua penyimpanan dan meningkat kembali dari hari ketiga hingga hari kelima jumlah zat padat sebanyak 0,933 %. Peningkatan zat padat terlarut ini menandakan bahwa semakin tinggi tingkat kematangan buah naga, maka pigmen betasianin yang larut dalam pelarut aquades akan semakin banyak, ini disebabkan karena zat gula yang terlarut dalam pelarut aquades juga semakin tinggi sehingga zat padat terlarut juga semakin banyak. Hal ini sesuai dengan pendapat De Man (1997) bahwa selama penyimpanan, jumlah padatan terlarut meningkat seiring meningkatnya gula yang terlarut. Jadi gula yang terlarut juga sangat berpengaruh terhadap zat padat terlarut.

Namun zat padat terlarut dengan menggunakan pelarut etanol menunjukkan bahwa jumlah yang paling sedikit, pada umur simpan hari empat yaitu sebanyak 0,493 %. Hal ini disebabkan karena etanol merupakan senyawa yang bersifat volatil sehingga ketika preparasi zat ini sangat mudah menguap dan mempengaruhi zat padat terlarutnya.

5. Identifikasi pigmen betalain

Semua betacyanin berada dalam bentuk *glycosylated* dan berasal dari unit struktur dasar utama, yaitu aglycon betanidin dan isobetanidin (C-15 epimer). Betasianin mempunyai empat subklas, yaitu amaranthin, betanin, gomphrenin dan 2-descarboxy betanin. Betasianin tipe betanin yang merupakan komponen mayor atau minor pada beberapa tanaman penghasil betasianin mempunyai gugus hidroksil yang memungkinkan pembentukan glikosida terutama sebagai 5*O*-glucosides.

Pengukuran HPLC-DAD yang dilakukan terhadap ekstrak air dari sample yang di duga mengandung betasianin diamati pada panjang gelombang deteksi di spektrum sinar tampak dengan rentang panjang gelombang deteksi antara 500 – 550 nm, Pengukuran ini dilakukan karena selain untuk optimasi dari penggunaan diode array detektor yang ada, juga dikarenakan panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang dari kelompok senyawa betasianin yang ada.

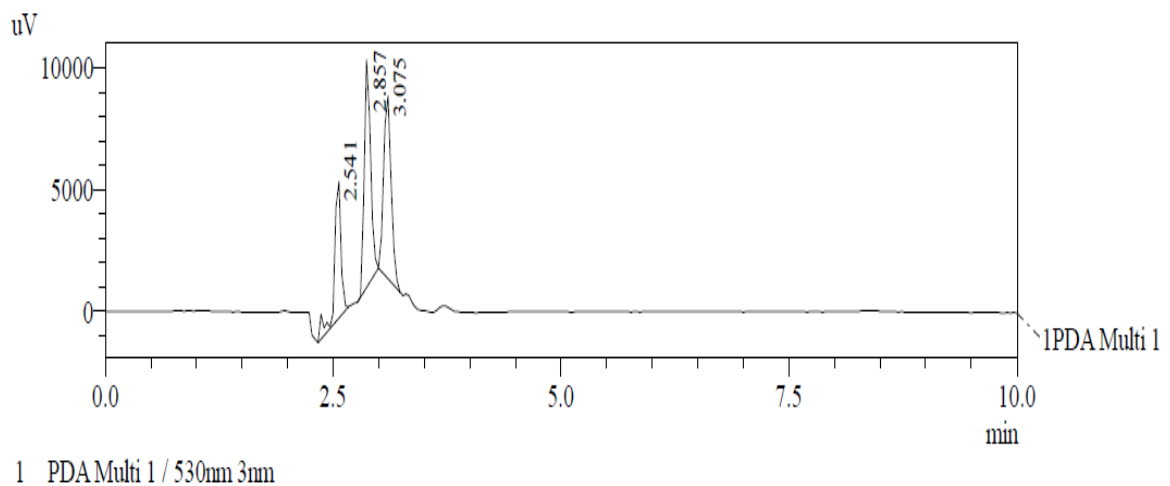
Pada penelitian ini profil HPLC pigmen betanin standar berbeda dengan profil HPLC ekstrak air dari sample ekstrak kulit buah naga merah (Gambar 8), namun hal ini diduga golongan dari pigmen betasianin. Profil ini dideteksi dengan deteksi diode array yang mana pada profil HPLC sampel menunjukkan 3 puncak utama yang di duga berasal dari serapan senyawa betasianin (Gambar 9). Berdasarkan pengamatan pada tiga panjang gelombang spektrum cahaya tampak yang berbeda dengan doide array detektor terlihat bahwa ketiga puncak yang muncul memiliki profil yang sama dan memiliki resolusi antar puncak yang cukup besar sehingga dapat disimpulkan bahwa pemisahan antara tiga puncak yang diduga kelompok betasianin memiliki pola keterpisahan yang baik. Sedangkan profil larutan standar pigmen betanin keterpisahannya kurang baik jika dibandingkan dengan sampel ekstrak kulit buah naga merah.

Pada profil HPLC semua sampel yang diamati, puncak pertama muncul pada waktu retensi 3,458 menit, diikuti puncak kedua pada waktu retensi 5,64 menit dan puncak ketiga pada waktu retensi 6,165 menit (Tabel 4). Berdasarkan pola kromatogram yang ada dapat dilihat dengan kondisi elusi yang di gunakan secara gradient dengan sistem fase terbalik dengan komposisi fase gerak semi polar (ACN) bergerak dari 20 – 40 %. Dapat di simpulkan bahwa sifat senyawa betasianin yang ada bersifat polar, karena dari kromatogram dapat dilihat waktu retensi puncak yang

keluar sangat cepat, berkisar pada komposisi fase gerak non polar masih sekitar 20-25 %.

Dari profil puncak yang ada terlihat juga bahwa puncak kedua yang mewakili senyawa betasianin yang kedua dari tiga jenis betasianin yang ada, memiliki luas area yang paling besar dengan persentasi area sebesar 64,46 % (Tabel 5). Besarnya persentase area dari senyawa kedua ini akan memberikan kontribusi utama terhadap sifat bioaktivitas dari ekstrak yang ada, seperti kemampuan bioaktivitas antioksidan.

Untuk identifikasi lebih lanjut supaya didapatkannya perkiraan dari struktur betasianin yang ada alangkah lebih baik dilakukan pengukuran dengan HPLC-MS/MS. Sesuai keterangan di atas, profil puncak dari kromatogram KCKTDAD yang ada sudah memiliki pola keterpisahan yang ditunjukkan dengan nilai resolusi antara masing-masing puncak yang bernilai besar dari 1, hal ini menunjukan metoda kromatografi yang digunakan sudah cukup baik, sehingga ketika dilakukan fragmentasi ion dengan MS/MS pola fragmentasi setiap molekul senyawa akan dapat dilakukan dengan baik, karena dengan pola keterpisahan yang baik, gangguan dari fragmentasi molekul antar senyawa akan tidak ada.



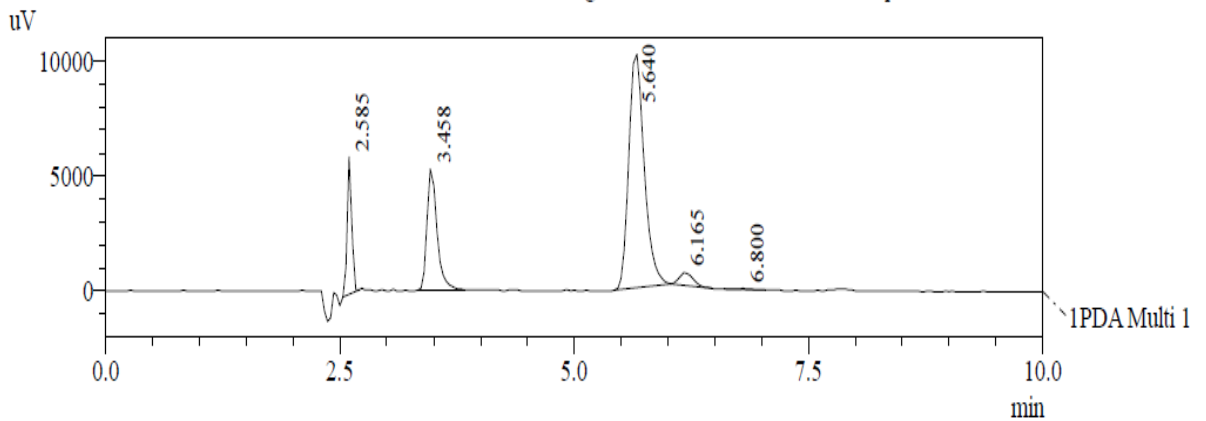
Gambar 8. Profil HPLC larutan standar pigmen betanin

Tabel 4: Waktu retensi dan persentasi luas area pigmen betanin standar

PeakTable

PDA Ch1 530nm 3mm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.541	30073	5711	25.469	25.391
2	2.857	46814	9408	39.648	41.825
3	3.075	41188	7374	34.883	32.784
Total		118076	22493	100.000	100.000



1 PDA Multi 1 / 530nm 3mm

Gambar 9. Profil HPLC pigmen sampel dari kulit buah naga merah

Tabel 4: Waktu retensi dan persentasi luas area pigmen dari kulit buah naga merah

PeakTable

PDA Ch1 530nm 3mm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.585	19154	6022	10.696	27.255
2	3.458	38320	5286	21.399	23.924
3	5.640	115430	10197	64.460	46.151
4	6.165	5483	530	3.062	2.397
5	6.800	686	60	0.383	0.273
Total		179073	22094	100.000	100.000

B. TAHAP II

1. Proses Optimasi Ekstraksi Betalain dari Kulit Buah Naga Merah

Faktor yang dikaji pada proses optimasi ini adalah rasio pelarut : berat kulit (l/g) dengan batas bawah 4: 1 dan 8 : 1 batas atas, suhu ekstraksi yaitu 25°C dan 45°C dan lama ekstraksi 3 jam batas bawah, 9 jam batas atas. Pada percobaan ini x_1 adalah faktor rasio pelarut : berat kulit buah naga, x_2 faktor suhu ekstraksi, x_3 merupakan faktor lama ekstraksi dengan respon absorbansi (Tabel 5).

Tabel 5. Rancangan Komposit Pusat Ordo Kedua dengan Tiga Variabel Bebas dan Tiga Respon

No	Rasio (x1) ml/g	Suhu (x2) Celsius	Waktu (x3) Jam	Absorbansi nm
1	6	35	6	1,027
2	4	35	3	0,995
3	6	35	6	0,982
4	6	45	9	0,647
5	4	25	6	0,647
6	8	35	3	0,908
7	8	35	9	0,9735
8	6	35	6	1,1613
9	4	45	6	1,028
10	6	25	3	0,465
11	8	45	6	0,645
12	6	35	6	1,1607
13	6	45	3	0,743
14	6	35	6	1,2157
15	6	25	9	0,582
16	4	35	9	1,5128
17	8	25	6	0,396

2. Pemilihan Model yang Sesuai

RSM digunakan untuk menentukan model yang sesuai dalam memprediksi respon (Montgomery, 2001). Model yang diperoleh dapat digunakan untuk memprediksi respon absorbansi untuk rasio pelarut : berat kulit, suhu dan lama interaksi. Proses pemilihan model dilakukan berdasarkan uraian jumlah kuadrat dari urutan model (*sequential model sum of square*), uji simpangan model (*lack of fit test*), dan ringkasan model secara statistik (*model summary statistics*) (Montgomery, 2001).

Tabel 6. Nilai p dari Respon

Sumber Keragaman	Nilai p Prob > F
	Absorbansi
Model	0.0019
A-Rasio	0.0056
B-Suhu	0.0188
C-Waktu.	0.1007
AB	0.5777
AC	0.0856
BC	0.3776
A ²	0.6165
B ²	< 0.0001
C ²	0.4822
<i>Lack of Fit</i>	0.3082
<i>Adjusted R²</i>	0,8564
R ²	0,9372

Zhoa *et al.* (2011) menyebutkan bahwa nilai p merupakan alat untuk mengetahui kesesuaian model, semakin kecil nilai p semakin signifikan model tersebut. Nilai p berdasarkan *sequential model sum of square* menunjukkan bahwa model yang signifikan dan disarankan bagi ketiga respon adalah kuadratik, karena nilai p < 0,0001 (Lampiran). Model kuadratik dipilih, karena memiliki nilai p kurang dari 5%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Bradley (2007) dan Sun *et al.* (2011) yang

menyebutkan apabila nilai p kurang dari 0,05 menunjukkan model bersifat signifikan dan berpengaruh lebih besar pada respon daripada model yang lain. Destryana (2010) melaporkan bahwa model yang dipilih berdasarkan *sequential model sum of squares* adalah model kuadratik dengan nilai $p = 0,0013$.

Perhitungan ketidaktepatan model (*lack of fit test*) dari respon $> 0,05$ yaitu 0,3082 (Tabel 7). Berdasarkan *lack of fit tests*, model yang dianjurkan pada respon adalah kuadratik. Model akan dianggap tepat apabila *lack of fit test* dari model bersifat tidak nyata (tidak signifikan) secara statistik pada taraf α tertentu (Mirhosseini and Tan, 2009), untuk kasus ini α yang digunakan adalah 0,05. Ketepatan suatu model juga dinilai berdasarkan *lack of fit test*, 0,5398 (Zhao *et al.*, 2011) dan 0,3578 (Chen *et al.*, 2012) bersifat tidak signifikan yang menunjukkan bahwa persamaan model memadai untuk memprediksi hasil.

Program pemilihan model yang ketiga biasa dilihat dari nilai R^2 . Jika kedua uji (*sequential model sum of squares* dan *lack of fit test*) menunjukkan kemungkinan dua atau lebih model yang sama, maka penentuan pemilihan model dapat dilihat dari R^2 dan *adjusted R²*. Desain terbaik difokuskan pada maksimalisasi nilai R^2 dan *adjusted R²* (Montgomery, 2001), nilai R^2 mendekati 1 mengindikasikan derajat korelasi yang tinggi antara observasi dan nilai prediksi (Zhoa *et al.*, 2011). Hasil analisis parameter R^2 dan *adjusted R²* untuk respon absorbansi 0,9372 dan 0,8564 (Tabel 7). Hal ini berarti variabel rasio pelarut, suhu dan lama ekstraksi berpengaruh terhadap keragaman respon absorbansi sebesar 93,72% sedangkan sisanya sebesar 6,28% dipengaruhi faktor lain yang tidak dijadikan variabel yang diteliti.

Fernandes *et al.* (2011) menuliskan bahwa konsentrasi 1-naphthol signifikan terhadap peningkatan yield (%) dengan nilai $R^2 = 0,970$ dan $R^2_{Adjusted} = 0,945$, sehingga model dapat digunakan untuk menentukan kondisi yang diperlukan untuk mendapatkan respon yang diinginkan. Hal yang sama dilakukan Silva, Rogez and Larondelle, (2007) pada optimasi ekstraksi fenolik dari daun Inga edulis dengan metode permukaan respon mempunyai nilai $R^2 = 0,85$ untuk total fenolik, $R^2 = 0,87$ untuk total flavonoid dan 0,96 untuk total flavonol.

Model dengan nilai PRESS (*prediction error sum of squares*) yang paling kecil pada respon yang diuji adalah model kuadratik (Lampiran). Pemilihan model

juga difokuskan pada nilai PRESS yang paling kecil (Draper *and* Smith, 1998). Dari beberapa kriteria tersebut, maka program *Design Expert 7.1* memilih model kuadrat sebagai model terpilih (*suggested*) pada analisis *model summary of statistics*. Berdasarkan kriteria pemilihan model, maka model yang terpilih untuk menjelaskan hubungan antara variabel X_1 (rasio), X_2 (suhu), dan X_3 (lama ekstraksi) terhadap respon Y (absorbansi) adalah model kuadrat. Hasil analisis ragam dari RSM menunjukkan model kuadrat mempunyai pengaruh yang nyata terhadap respon.

Hasil analisis ragam pada respon absorbansi (Lampiran) menunjukkan bahwa rasio (linier), suhu (linier), dan suhu (kuadrat) berpengaruh nyata terhadap respon. Faktor lain yaitu lama ekstraksi, interaksi rasio dengan suhu, interaksi rasio dengan waktu, yang dikaji tidak mempengaruhi respon.

3. Permukaan Respon

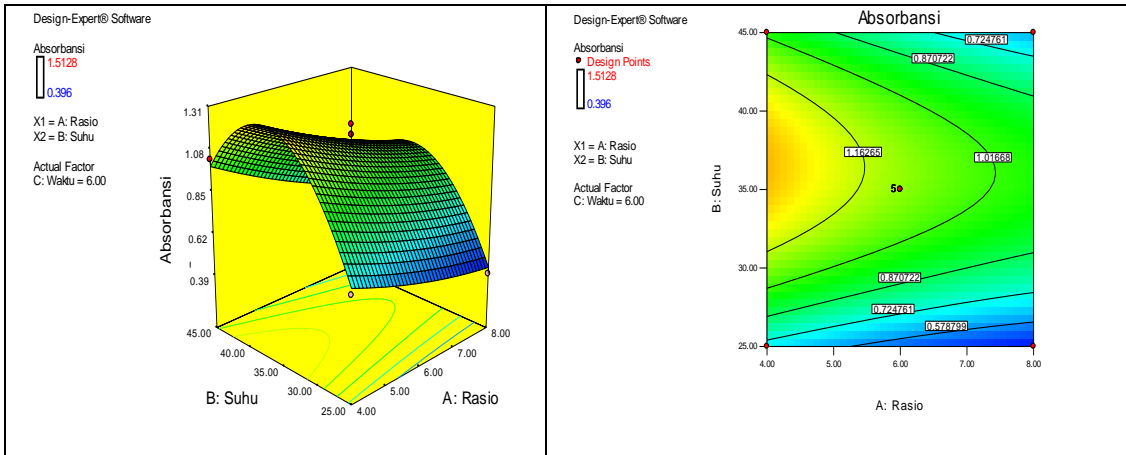
Persamaan model regresi kuadrat terbentuk dari variabel X_1 , X_2 , dan X_3 dalam bentuk persamaan model polinomial ordo kedua berdasarkan pengolahan data menggunakan program *Design Expert 7.1* yaitu:

$$Y_1 = -5,921 + 0,0054 X_1 + 0,3541 X_2 + 0,2549 X_3 - 0,0016 X_1 X_2 - 0,0188 X_1 X_3 - 0,0017 X_2 X_3 + 0,0072 X_1^2 - 0,0046 X_2^2 - 0,045 X_3^2 \dots\dots\dots(1)$$

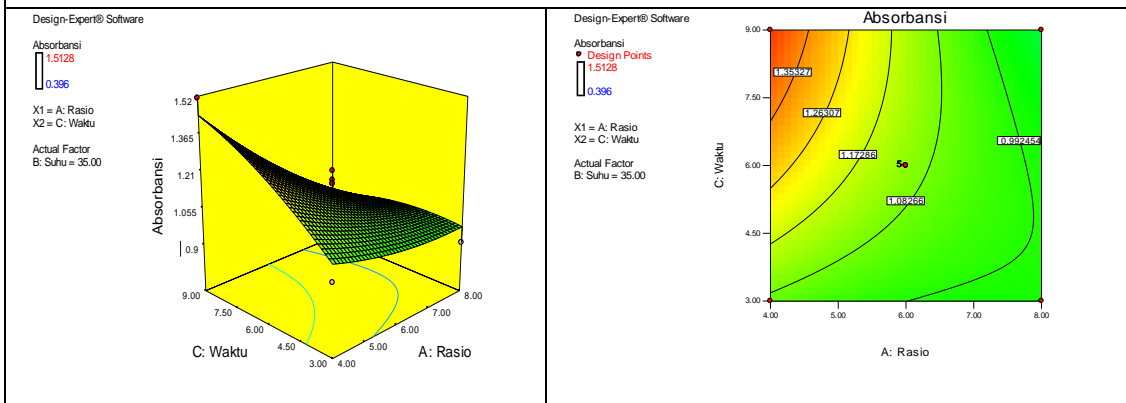
dengan Y_1 = absorbansi, X_1 = rasio, X_2 = suhu ekstraksi, dan X_3 = lama ekstraksi. Persamaan tersebut merupakan persamaan aktual yang diperlukan untuk mengetahui respon absorbansi yang akan didapatkan jika nilai variabel yang diperlakukan berbeda. Pada persamaan di atas, masing-masing koefisien, X_2^2 dan X_3^2 bertanda positif yang menandakan adanya titik stasioner maksimum dari permukaan respon yang didapatkan. Tanda plus (-) dari koefisien variabel kuadrat (X_1^2 , X_2^2 dan X_3^2) menunjukkan bahwa pola kuadrat yang diperoleh adalah maksimum (grafik terbuka ke bawah).

Grafik respon dan kontur yang menggambarkan hubungan antara rasio, suhu, dan lama ekstraksi terhadap respon absorbansi dapat dilihat pada Gambar 10, 11, 12. Gambar 10, kontur memperlihatkan bahwa semakin tinggi suhu maka semakin tinggi absorbansi sampai pada titik puncak sekitar 35°C dan kembali absorbansi rendah jika suhunya ditingkatkan. Sedangkan Gambar 11, kontur dapat diketahui bahwa faktor rasio dan waktu yang paling berpengaruh terhadap respon absorbansi. Hal ini dapat

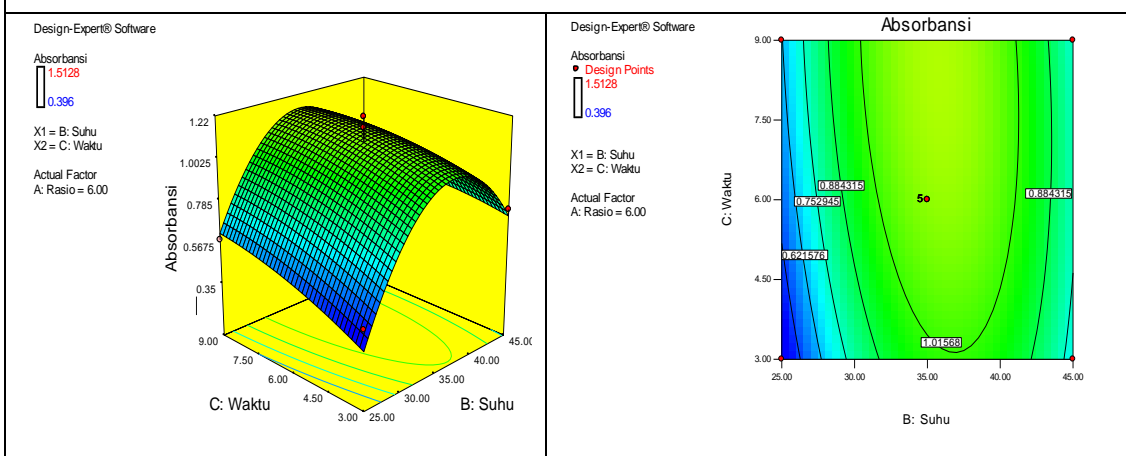
dilihat bahwa semakin rendah rasio dan semakin lama ekstraksi maka respon maksimum semakin terlihat. Gambar 12, kontur memperlihatkan waktu tidak mempengaruhi respon absorbansi.



Gambar 10. Hubungan antara rasio dan suhu terhadap absorbansi



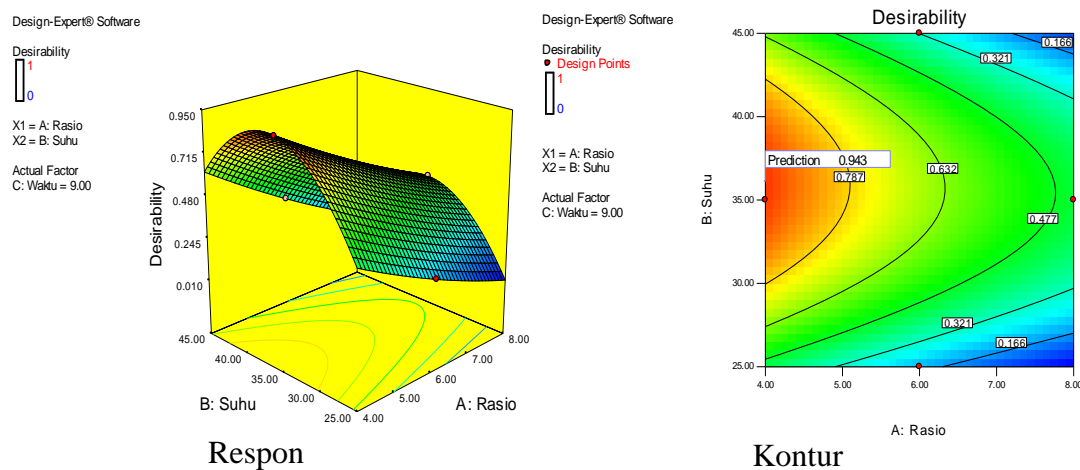
Gambar 11. Hubungan antara rasio dan waktu terhadap absorbansi



Gambar 12. Hubungan antara suhu dan waktu terhadap absorbansi

4. Titik Optimum Respon dan Verifikasi

Gambar 13 menunjukkan kurva RSM dari titik optimum variabel rasio, suhu dan lama ekstraksi terhadap interaksi respon. Pada penelitian ini, hasil yang diinginkan adalah ekstraks dengan daya serap (absorbansi) yang maksimum. Solusi titik optimum yang diperoleh dari hasil komputasi *Design Expert* ditunjukkan pada Tabel 8.



Gambar 13. Grafik Permukaan Respon dan Kontur dari Titik Optimum Variabel terhadap Interaksi Respon

Analisis kanonik terhadap model polinomial kuadratik digunakan untuk menentukan bentuk dan kurva permukaan respon, serta letak titik stasioner atau titik optimum (Wanasundara dan Shahidi, 1999). Nilai sebenarnya untuk titik stasioner yang diperoleh dari hasil analisis kanonik adalah rasio 4 ml/g, suhu ekstraksi 36,11°C dan lama ekstraksi 9 jam. Respon absorbansi pada kondisi optimum ini diprediksi 1,449 nm. Kondisi ini merupakan kondisi terbaik untuk mendapatkan absorbansi tertinggi dalam ekstraks kulit buah naga.

Verifikasi hasil optimum dilakukan untuk membuktikan apakah solusi titik optimum variabel bebas yang diberikan oleh program *Design Expert* benar dapat memberikan hasil respon sesuai dengan respon optimum yang telah ditentukan oleh program dan benar optimal. Verifikasi dilakukan dengan cara membandingkan nilai respon hasil percobaan yang sebenarnya dengan nilai respon hasil perhitungan *software Design Expert*. Perhitungan percobaan yang sebenarnya, didapatkan nilai respon absorbansi sebesar 1,417 nm sedangkan dari perhitungan *Design Expert* sebesar 1,449 nm

Tabel 7. Solusi Titik Optimum Terpilih Hasil Perhitungan *Design Expert*

	Rasio (ml/g)	suhu (°C)	Waktu (jam)	Absorbansi (nm)	<i>Desirability</i>	Ket.
Prediksi	4	36,11	9	1,449	0,943	<i>Selected</i>
Verifikasi	4	36,11	9	1,417	-	-
Selisih				0,032	-	-
Perbedaan nilai (%)				2,2		

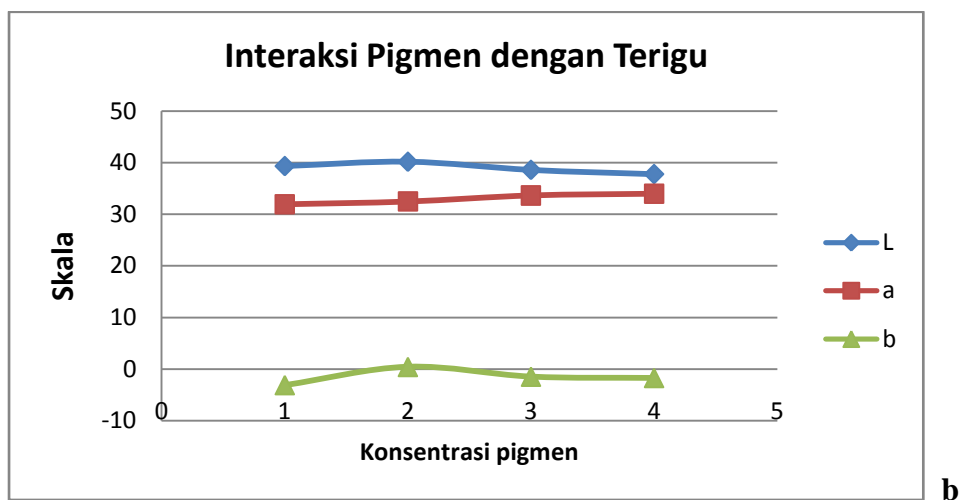
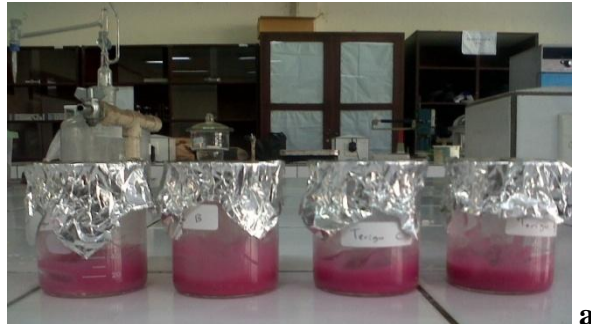
Perbedaan nilai respon absorbansi hasil verifikasi dengan perhitungan *Design Expert* sebesar 2,2%. Persentase perbedaan nilai respon tidak terlalu besar dan nilai hasil verifikasi hampir mendekati perhitungan *Design Expert*, sehingga perbedaan dipertimbangkan tidak terlalu signifikan dan solusi variabel bebas yang diberikan oleh *Design Expert* dapat diterima. Wu *et al.* (2006) berpendapat bahwa perbedaan nilai prediksi dengan nilai penelitian tidak lebih dari 5% mengindikasikan bahwa model tersebut cukup tepat. Perbedaan nilai prediksi dengan nilai aktual pada optimasi hasil ekstraksi marjoram (*Origanum majorana L*) komponen antioksidan yaitu total phenol 4,1% dan asam karnosik 3,5%. (Hossain *et al.*, 2012)

C. TAHAP III

Tahap ke III yaitu interaksi pigmen dengan bahan pangan baik tunggal dan kombinasi. Interaksi yang dilakukan pada bahan pangan tunggal dengan berbagai macam pati (terigu, tepung beras, tapioka, tepung beras ketan), protein (kasein), serat larut air (agar), dan lemak (shortening). Isolat protein dan gluten tidak dilakukan karena pH nya rendah yaitu 4,76; dan 4,25 (Rahmi, 2007). Tahapan ini ingin diketahui intensitas warna kulit buah naga merah yang aplikasikan pada bahan pangan sehingga bisa dapat diketahui model pangan yang akan diaplikasikan. Konsentrasi pigmen yang digunakan pada tahapan ini yaitu perbandingan antara bahan pangan dengan pigmen. Adapun rasio bahan : pigmen yaitu 1:5; 1:6; 1:7; 1:8 dan khusus untuk agar 1:7; 1:8; 1:9; 1:10 disimbolkan dengan 1, 2, 3 dan 4.

1. Interaksi Pigmen dengan Komponen Bahan Pangan Tunggal

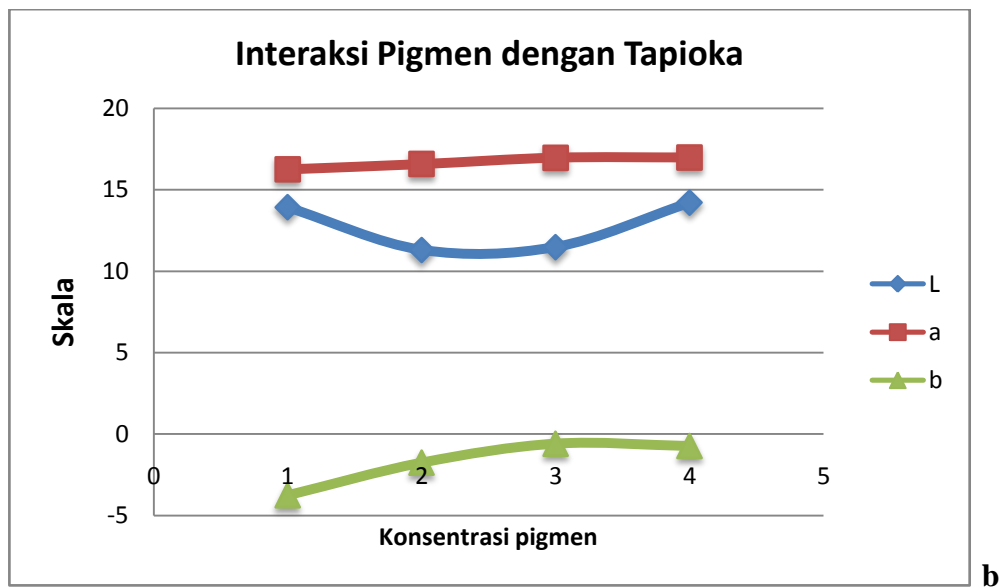
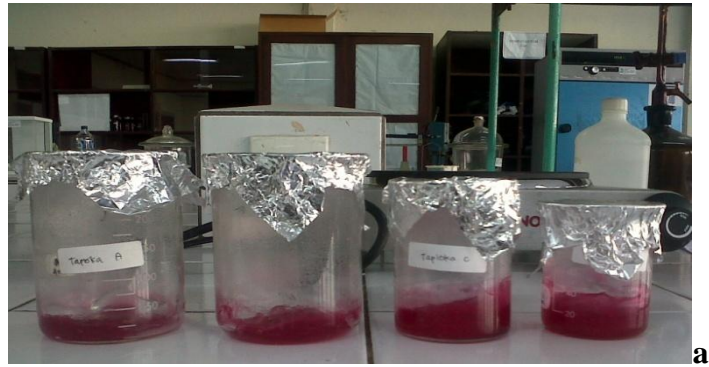
a. Interaksi pigmen dengan terigu.



Gambar 14. Interaksi pigmen dengan terigu (a) dan Intensitas warnanya (b)

Hasil percobaan menunjukkan bahwa konsentrasi pigmen berpengaruh terhadap nilai L, a, b, yang dihasilkan. Pada Gambar 14b dapat dilihat nilai a mengalami peningkatan pada setiap peningkatan konsentrasi pigmen yang diberikan. Sedangkan nilai b mengalami peningkatan yang paling tinggi pada konsentrasi ke 2 demikian juga halnya dengan nilai L, namun pada konsentrasi 3 dan 4 mengalami penurunan. Semakin tinggi konsentrasi pigmen, warna yang dihasilkan menjadi lebih tua. Secara visual, hasil interaksi pigmen kulit buah naga merah dengan terigu dapat dilihat pada Gambar 14a.

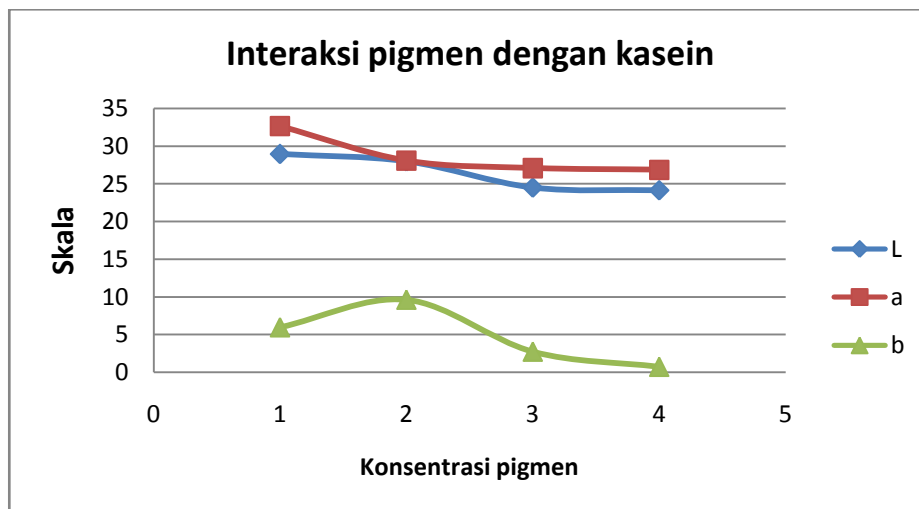
b. Interaksi pigmen dengan tapioka.



Gambar 15. Interaksi pigmen dengan tapioka (a) dan Intensitas warnanya (b)

Dari Gambar 15b menunjukkan bahwa konsentrasi pigmen berpengaruh terhadap nilai L, a, b, yang dihasilkan. Nilai a dan b mengalami peningkatan pada setiap peningkatan konsentrasi pigmen yang diberikan. Sedangkan nilai L mengalami penurunan pada konsentrasi 2 dan 3 dan peningkatan kembali pada konsentrasi ke 4. Semakin tinggi konsentrasi pigmen, warna yang dihasilkan menjadi lebih tua. Secara visual, hasil interaksi pigmen kulit buah naga merah dengan tapioka dapat dilihat pada Gambar 15a

c. Interaksi pigmen dengan kasein.



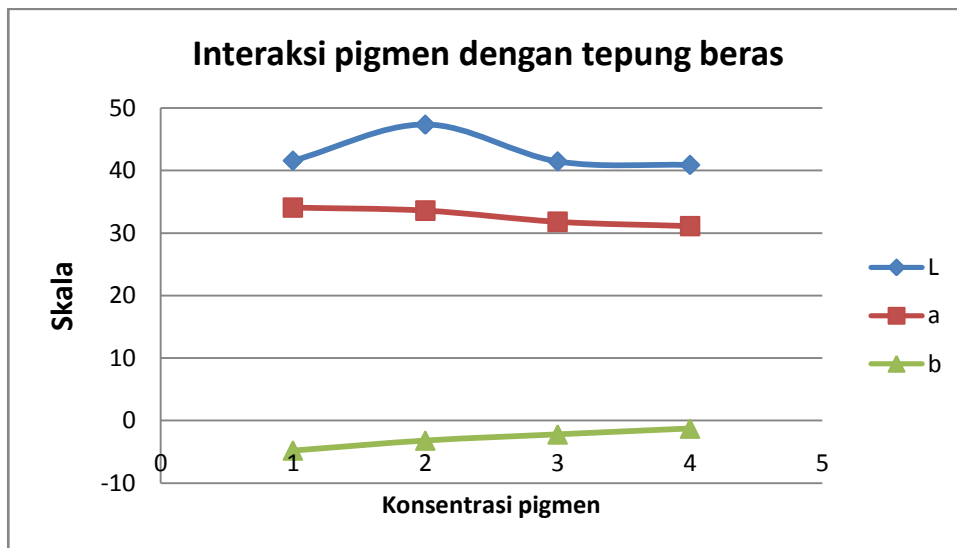
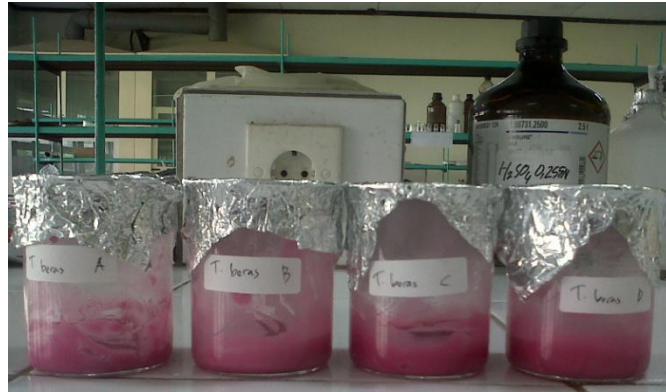
Gambar 16. Interaksi pigmen dengan kasein (a) dan Intensitas warnanya (b)

Secara visual, hasil interaksi pigmen kulit buah naga merah dengan kasein dapat dilihat pada Gambar 16a. Gambar 16b menggambarkan bahwa konsentrasi pigmen berpengaruh terhadap nilai L, a, b, yang dihasilkan. Nilai a dan L mengalami penurunan pada setiap peningkatan konsentrasi pigmen yang diberikan hal ini dikarenakan nilai pH kasein 5,57. Sedangkan nilai b mengalami peningkatan yang paling tinggi pada konsentrasi ke 2 dan kemudian menurun dengan peningkatan konsentrasi.

d. Interaksi pigmen dengan tepung beras.

Gambar 17b menunjukkan bahwa konsentrasi pigmen berpengaruh terhadap nilai L, a, b, yang dihasilkan. Nilai a mengalami penurunan pada setiap peningkatan konsentrasi pigmen yang diberikan. Sedangkan nilai b mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi pigmen. Dan nilai L

mengalami peningkatan yang paling tinggi pada konsentrasi ke 2 dan kemudian menurun. Semakin tinggi konsentrasi pigmen, warna yang dihasilkan tidak terlihat perubahan warna pada tepung beras (Gambar 17a).

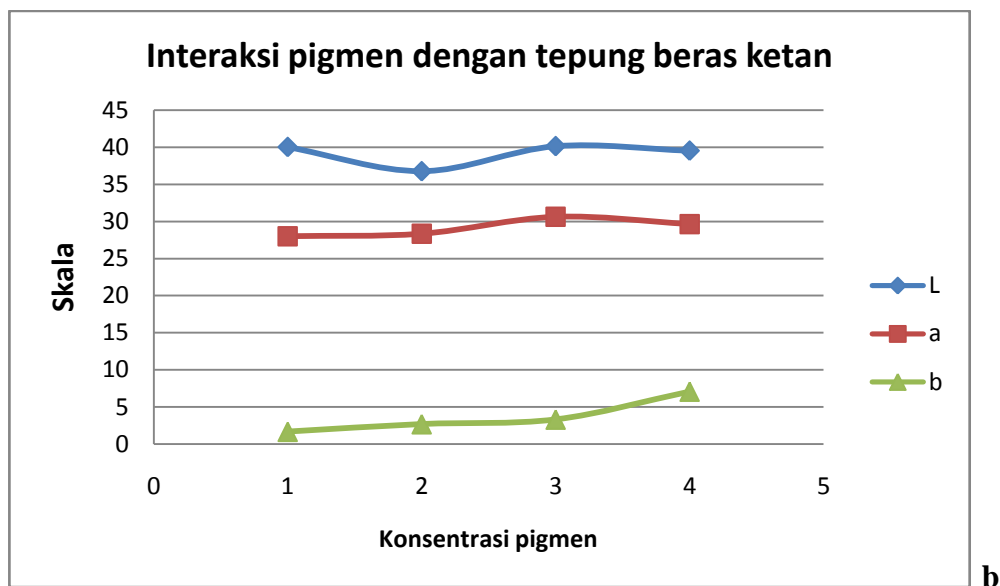


Gambar 17. Interaksi pigmen dengan t. beras (a) dan Intensitas warnanya (b)

e. Interaksi pigmen dengan beras ketan.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa konsentrasi pigmen berpengaruh terhadap nilai L, a, b, yang dihasilkan. Pada Gambar 18b dapat dilihat nilai a mengalami peningkatan pada setiap peningkatan konsentrasi pigmen yang diberikan. Sedangkan nilai L mengalami penurunan pada konsentrasi ke 2 dan kemudian meningkat kembali. Nilai b mengalami peningkatan dengan peningkatan konsentrasi pigmen yang diberikan. Semakin tinggi konsentrasi pigmen, warna yang dihasilkan menjadi lebih tua. Secara visual, hasil interaksi

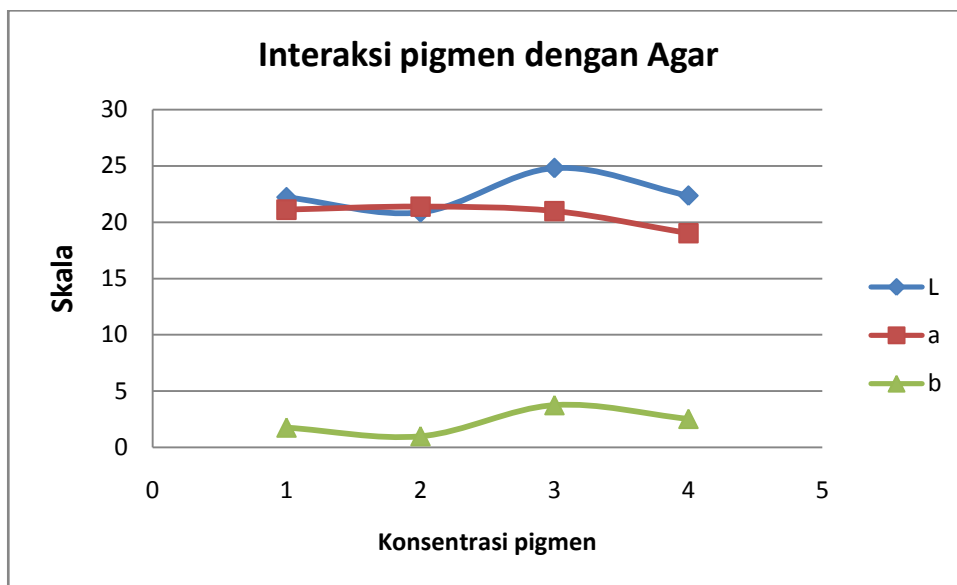
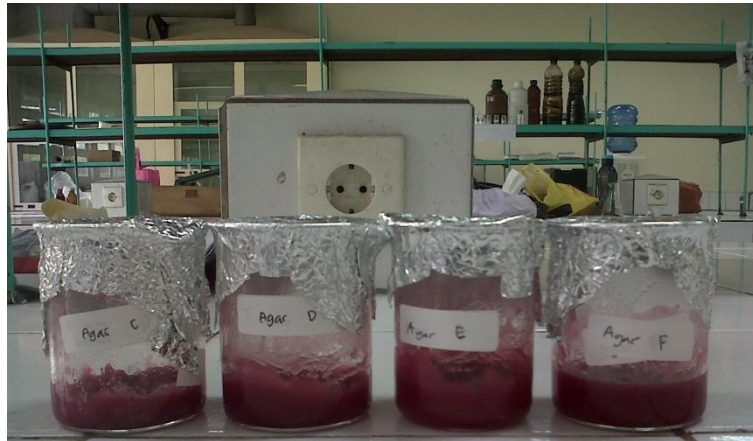
pigmen kulit buah naga merah dengan tepung beras ketan dapat dilihat pada Gambar 14a



Gambar 18. Interaksi pigmen dengan t. beras ketan (a) dan Intensitas warnanya (b)

f. Interaksi pigmen dengan agar.

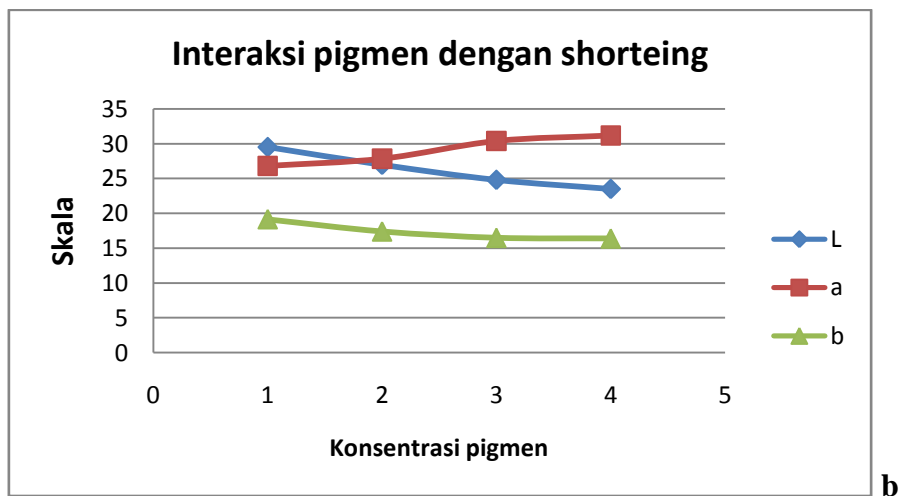
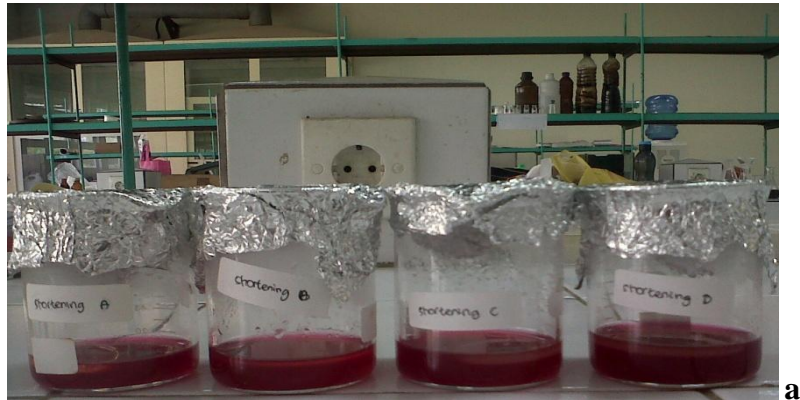
Gambar 19b menunjukkan bahwa konsentrasi pigmen berpengaruh terhadap nilai L, a, b, yang dihasilkan. Nilai L dan b pola meningkatannya sama yaitu konsentrasi 1 dan 2 mempunyai nilai yang hampir sama, dan kemudian terjadi peningkatan intensitas warna dengan peningkatan konsentrasi pigmen. Nilai a mengalami peningkatan yang kecil seiring dengan peningkatan konsentrasi pigmen yang diberikan. Semakin tinggi konsentrasi pigmen, warna yang dihasilkan menjadi lebih tua. Secara visual, hasil interaksi pigmen kulit buah naga merah dengan agar dapat dilihat pada Gambar 19a.



Gambar 19. Interaksi pigmen dengan agar (a) dan Intensitas warnanya (b)

g. Interaksi pigmen dengan shortening.

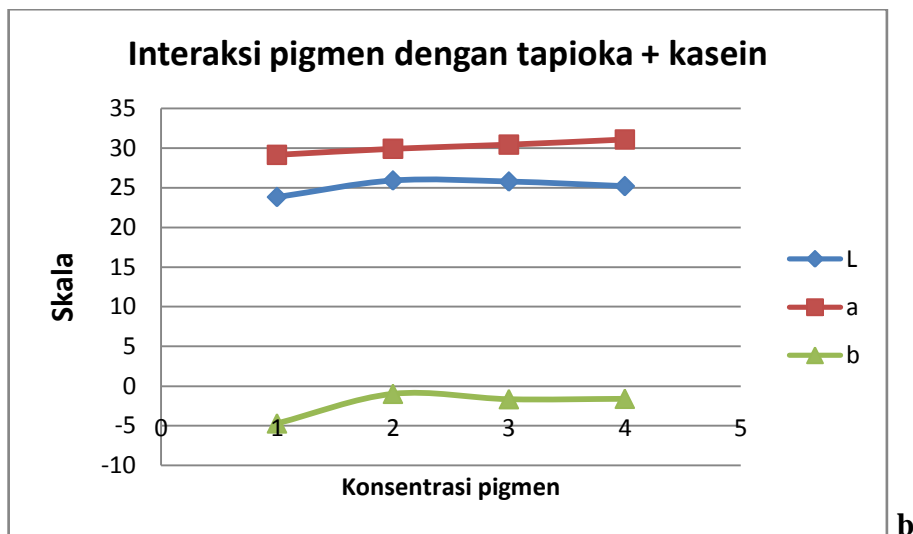
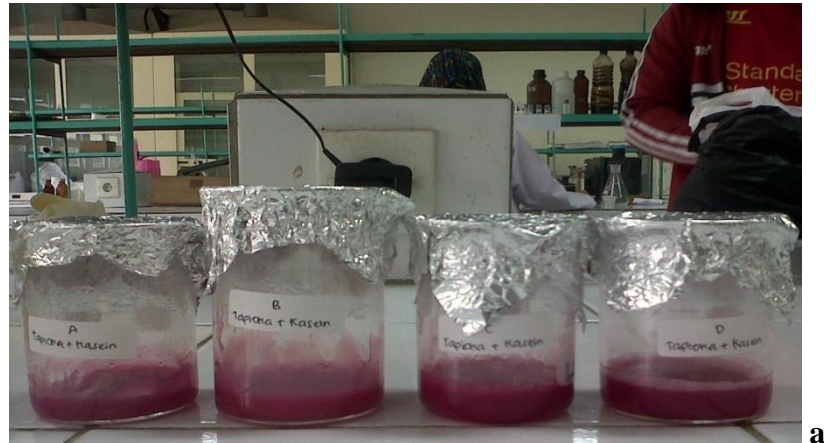
Gambar 20a menunjukkan secara visual interaksi pigmen kulit buah naga merah dengan shortening menghasilkan warna merah cerah. Hal ini sejalan dengan hasil pengukuran intensitas warna pada Gambar 20b dimana nilai a dan L mengalami peningkatan, seiring dengan meningkatnya konsentrasi pigmen yang digunakan, semakin tinggi konsentrasi pigmen, warna yang dihasilkan menjadi lebih tua.



Gambar 20. Intensitas warna interaksi pigmen dengan shortening

2. Interaksi Pigmen dengan Komponen Bahan Pangan Kombinasi
 a. Interaksi pigmen dengan tapioka dan kasein

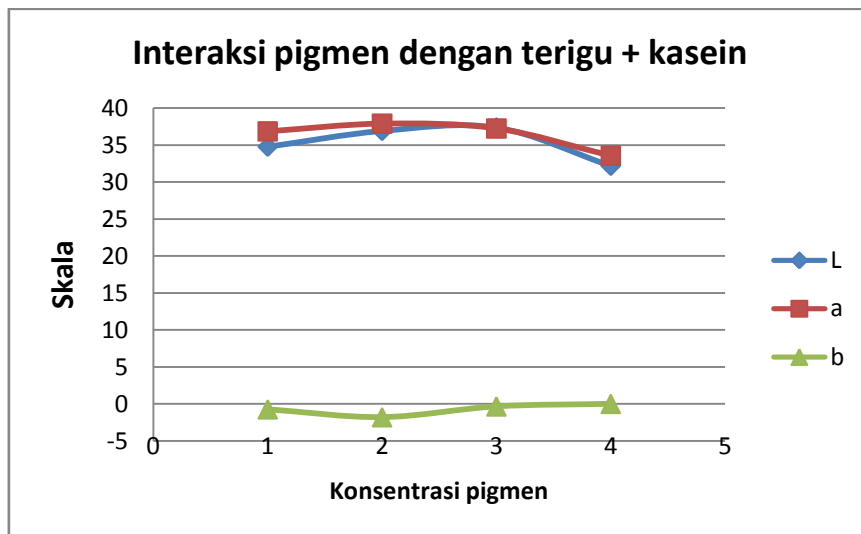
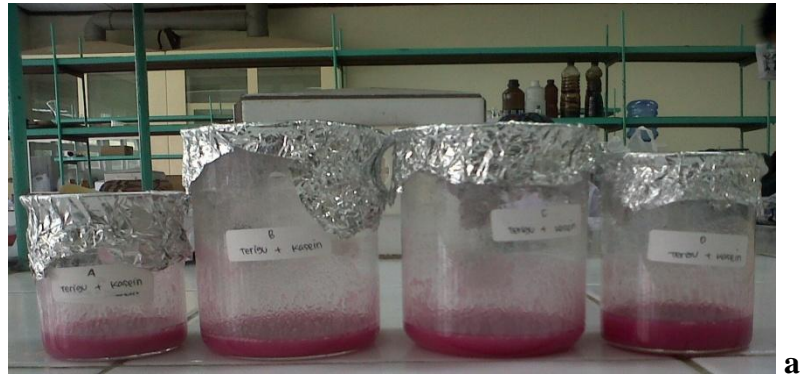
Hasil penelitian pada Gambar 21a, menunjukkan bahwa interaksi pigmen kulit buah naga dengan kombinasi tapioka dan kasein, secara visual menghasilkan warna merah. Gambar 21b menunjukkan nilai a dan L mengalami sedikit peningkatan, seiring dengan peningkatan konsentrasi pigmen yang ditambahkan pada kombinasi tapioka dan kasein. Hal ini menunjukkan bahwa, pigmen kulit buah naga dapat digunakan sebagai pewarna merah alami pada produk pangan berbahan baku tapioka dan kasein.



Gambar 21. Intensitas warna interaksi pigmen dengan tapioka + kasein

b. Interaksi pigmen dengan terigu dan kasein

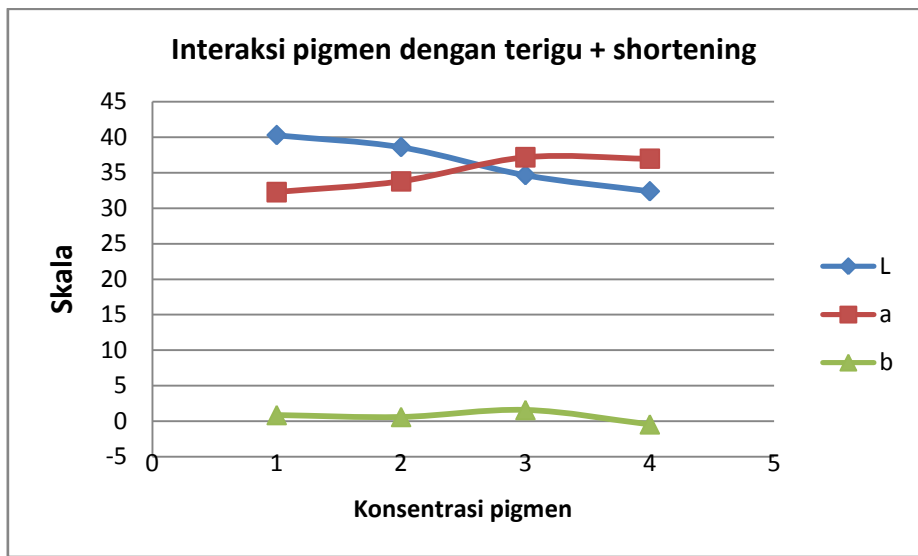
Interaksi pigmen kulit buah naga dengan kombinasi terigu dan kasein, secara visual menghasilkan warna merah cerah, seperti terlihat pada Gambar 21a. Nilai a dan L secara umum mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi pigmen yang ditambahkan pada kombinasi bahan pangan tersebut. Berdasarkan hasil penelitian, pigmen kulit buah naga dapat digunakan sebagai pewarna merah alami pada produk pangan berbahan baku terigu dan kasein.



Gambar 22. Intensitas warna interaksi pigmen dengan terigu + kasein

c. Interaksi pigmen dengan terigu dan shortening

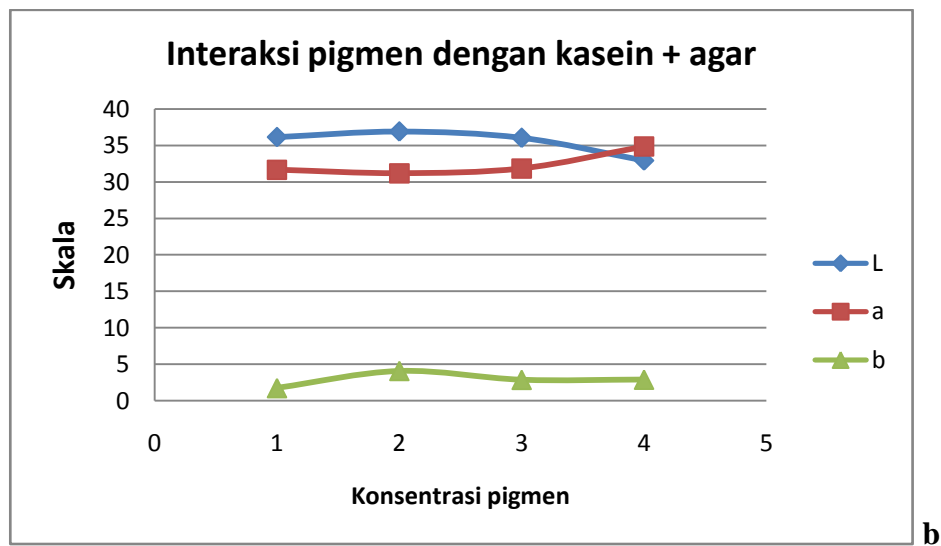
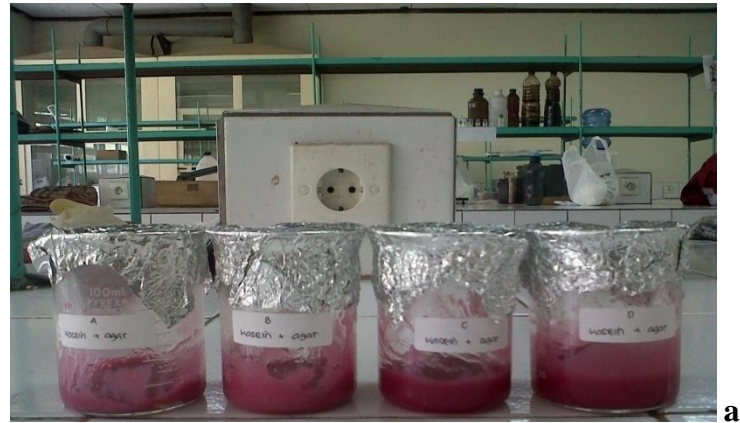
Gambar 22a menunjukkan secara visual interaksi pigmen kulit buah naga merah dengan kombinasi terigu dan shortening menghasilkan warna merah. Nilai a pada Gambar 22b mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya konsentrasi pigmen yang ditambahkan. Sebaliknya, nilai L mengalami penurunan, sehingga tingkat kecerahan warna yang dihasilkan berkurang, hal ini kemungkinan disebabkan oleh sifat terigu yang mengental akibat berinteraksi dengan air, sehingga tingkat kecerahannya menurun.



Gambar 23. Intensitas warna interaksi pigmen dengan terigu + shortening

d. Interaksi pigmen dengan kasein dan agar

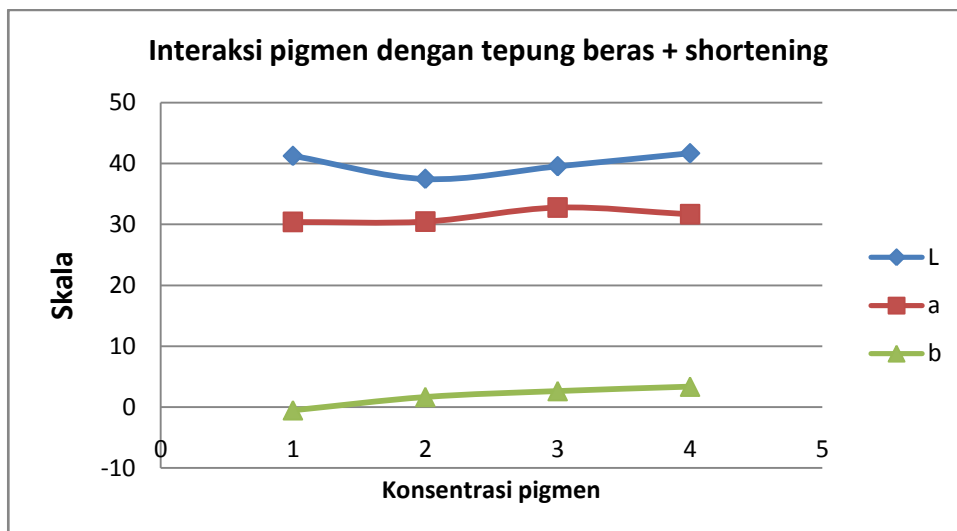
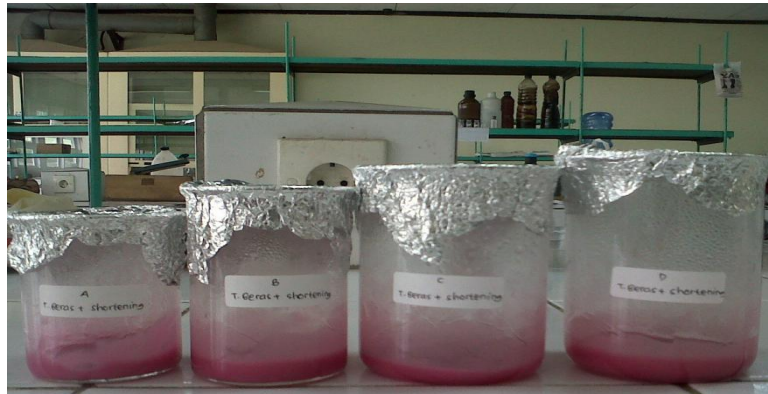
Gambar 22a menunjukkan hasil interaksi pigmen kulit buah naga dengan kombinasi kasein dan agar, secara visual menghasilkan warna merah cerah. Nilai a pada Gambar 22b mengalami peningkatan, seiring dengan meningkatnya konsentrasi pigmen yang digunakan, akan tetapi nilai L mengalami sedikit penurunan, kemungkinan disebabkan oleh sifat agar dan kasein yang membentuk gel apabila berada dalam kondisi yang telah dingin. Secara umum, pigmen kulit buah naga dapat digunakan sebagai pewarna alami pada produk pangan berbahan baku kasein dan agar.



Gambar 24. Intensitas warna interaksi pigmen dengan kasein + agar

e. Interaksi pigmen dengan tepung beras dan shortening

Interaksi pigmen kulit buah naga dengan kombinasi tepung beras dan shortening secara visual menghasilkan warna merah (Gambar 23a). pengukuran intensitas warna menunjukkan bahwa nilai a mengalami sedikit peningkatan, sedangkan nilai L mengalami sedikit penurunan, seiring dengan bertambahnya konsentrasi pigmen yang digunakan. Hal ini kemungkinan dengan sifat tepung beras yang mengental apabila diinteraksikan dengan cairan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, pigmen kulit buah naga dapat digunakan sebagai pewarna merah alami pada produk pangan berbahan baku tepung beras dan shortening.



Gambar 25. Intensitas warna interaksi pigmen dengan kasein + agar

BAB VI. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Penelitian ini belum tuntas antara lain: 1 aktivitas antioksidan, 2. Aktifitas antimikroba 3. Nama pigmen golongan betalain dan 4 metode pengolahan pangan. Untuk mencapai ini direncanakan penelitian dengan tiga tahap yaitu:

Tahap pertama

Analisa aktifitas antioksidan dan analisa aktifitas antimikroba. Aktifitas antioksidan menggunakan metode penangkapan radikal bebas dapat dilakukan dengan metode DPPH (*2,2-Diphrnyl-2-picrylhydrazyl*) (Hatano *et al.*, 1998). Aktifitas antimikroba pigmen betalain akan dilihat daya hambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas*

aeruginosa dan *Salmonella typhimurium* menggunakan metode sumur. Tujuan analisa aktifitas antimikroba yaitu untuk mengetahui konsentrasi ekstrak pigmen betalain yang tepat pada penghambatan terhadap bakteri pathogen.

Tahap kedua

Ekstrak pigmen betalain (hasil tahun pertama) dimurnikan dengan menggunakan HPLC-preparatif (*High Pressure Liquid Chromatography*) atau dapat juga dengan kolom kromatografi sephadex G-25 metode Adams and von Elbe (1977). Pemurnian dimulai dengan melarutkan sephadex dan memasukkannya dalam kolom, kemudian memasukkan sampel lalu kolom dielusi dengan menggunakan buffer fosfat setiap volume tertentu eluen yang ditampung dianalisa. Agar lebih meyakinkan jenis senyawa bioaktif / pigmen yang dikandung akan dilakukan analisa menggunakan HPLC preparatif seperti yang dilakukan Nyman and Kumpulainen (2001). Kemudian pigmen betalain diidentifikasi menggunakan LC-MS untuk mengetahui berat molekul pigmen dan ^1H NMR untuk mengetahui struktur molekulnya.

Tahap tiga

Interaksi pigmen dengan bahan pangan telah diketahui, namun metode pengolahan yang tepat belum bisa direkomendasikan, maka tahap ketiga ini akan dilakukan metode pengolahan pangan. Pengolahan pangan dilakukan dengan berbagai metode yaitu pengolahan dengan termal (pemanggangan, pengukusan); fermentasi; dan pendinginan. Pigmen sangat rentan dengan cahaya, panas dan pH, untuk itu ingin diketahui metode pengolahan pangan yang paling tepat sehingga dihasilkan pangan dengan intensitas tertinggi.

BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian tahap I yaitu menunjukkan bahwa ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah menyerap cahaya pada panjang gelombang maksimum 530 nm. Kombinasi perlakuan umur simpan hari kelima dengan jenis pelarut aquadest menghasilkan pigmen betasianin kulit buah naga merah dengan kualitas terbaik, dengan nilai absorbansi 0,449; konsentrasi 1243,6 ppm; intensitas warna 3,05. Nilai

tertinggi untuk rendemen dan zat padat terlarut yaitu pada umur simpan hari pertama dengan pelarut aquades + asam sitrat yaitu 34,03%; zat padat terlarut 3,457%. Profil HPLC semua sampel yang diamati, puncak pertama muncul pada waktu retensi 3,458 menit, puncak kedua pada waktu retensi 5,64 menit dan puncak ketiga pada waktu retensi 6,165 menit. Sifat senyawa betasianin yang ada bersifat polar. Puncak kedua mewakili senyawa betasianin yang kedua dari tiga jenis betasianin yang ada, memiliki luas area yang paling besar dengan persentasi area sebesar 64,46 %.

Tahap II yaitu hasil optimal ekstraksi pigmen, yaitu pada rasio pelarut : berat kulit (l/g) 4 : 1, suhu ekstraksi 36,11°C dan waktu atau lama ekstraksi 9 jam dengan respon absorbansi 1,417 (nm) dan bersifat kuadrat. Persamaan model rekresi $Y_1 = -5,921 + 0,0054 X_1 + 0,3541 X_2 + 0,2549 X_3 - 0,0016 X_1X_2 - 0,0188 X_1X_3 - 0,0017 X_2X_3 + 0,0072 X_1^2 - 0,0046 X_2^2 - 0,045 X_3^2$.

Tahap III yaitu hasil interaksi pigmen dengan komponen pangan direkomendasikan bahwa pigmen dapat diaplikasikan pada pangan kue-kue Indonesia yang terbuat dari tepung beras, tapioka, tepung beras ketan dan agar. Selain itu juga direkomendasikan pada pembuatan es krim, permen jeli, selai, topping atau menghias kue.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2013a. Peluang bisnis buah naga di Indonesia. <http://www.buahnaga.us/>. Diakses Maret 25 3013
- Anonim. 2013b. Potensi tanaman buah naga. <http://www.antarasumbar.com/berita-terkini-kab-padang-pariaman.htm>. diakses 25 maret 2013.
- Aranda RS, Lopez LAP, Arroyo JL, Garza BAA, Torres NW. 2009. Antimicrobial and antioxidant activities of plants from Northeast of Mexico. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011: 1-6.
- Bellec, F.L, F. Vaillant, and E. Imbert. 2006. Pitahaya (*Hylocereus* spp.) : a new crop, a market with future. *Fruits* 61 : 237-250.
- Bradley, N. 2007. *The Response Surface Methodology*. Thesis of Department of Mathematical Sciences Indiana University of South Bend, Indiana.
- Cai, Y., M. Sun., H. Wu, R. Huang and H. Corke. 1998. Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse *Amaranthus species*. *J. Agric. Food Chem.* 46(6):2063-2069.
- Cai, Y. Z., Sun, M., & Corke, H. 2003. Antioxidant activity of betalains from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 2288–2294.

- Cai Y., M. Sun & H. Corke. 2005. HPLC characterization of betalains from plants in the amaranthaceae, *J. Chromatogr. Sci.*, 43, 454-60.
- Cahyono, B. 2009. Sukses Bertanam Buah Naga. Pustaka Mina. Jakarta.
- Cao S et al., 2012. The effects of host defence elicitors on betacyanin accumulation in *Amaranthus mangostanus* seedlings. *Food Chemistry* 134 : 1715–1718.
- Darmawi A.W. 2011. Optimasi proses ekstraksi, pengaruh pH dan jenis cahaya pada aktivitas antioksidan dari kulit buah naga (*Hylocereus p*). <http://www.google.com/url> [dspace.library.uph.edu:8080/bitstream/123456789/241/1/capter%20.pdf](https://dspace.library.uph.edu/bitstream/123456789/241/1/capter%20.pdf) diakses Februari 2013
- De Man, J.M. 1997. Kimia makanan (terjemahan Kosasih). ITB. Bandung.
- Destryana, R. A. 2010. *Optimasi Kondisi Ekstraksi-Saponifikasi Satu Tahap untuk Mendapatkan Asam Lemak Tak Jenuh Majemuk Kaya Asam Linoleat dan Asam α -Linolenat dari Kedelai Varietas Unggul*, Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya.
- Draper, N. and Smith H. 1998. *Applied Regression Analysis*. John Willey & Sons, Inc. New York. p. 92-96.
- Fardiaz, D. 2002. Teknik analisa sifat fungsional komponen pangan. IPB. Bogor
- Faridah A dan Kasmita. 2013. Buah naga (*Hylocereus Sp*) dan kulit buah naga serta hasil olahannya. Pelatihan di Diskoperindak dan ESDM Kabupaten Padang Pariaman.
- Fernandes, J.P.S., B.S. Carvalho, C.V. Luchez, M.J. Politi and C.A. Brandt. 2011. Optimization of the ultrasound-assisted synthesis of allyl 1-naphthyl ether using response surface methodology, *Ultrasonics Sonochemistry*, 18: 489–493.
- Garcia, J.A.O., Wall, M.M., and Waddell, C.A., 1997. Natural antioxidant of preventing color loos in stored paprika. *J. Food Sci.* 62. 1917-1021.
- Grotewold, E. 2006. The genetics and biochemistry of floral pigments, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57, 761-780.
- Guesmi. A, Ladhari. N, Ben Hamadi. N, and Sakli. F. 2012. Isolation, identification and dyeing studies of betanin on modified acrylic fabrics, *Industrial Crops and Products* 37 : 342– 346
- Henry, G.A.F., and J.D. Houghton. 1996. Natural food colorants. Two Edition. Blackie Academic and Profesional. London.
- Holinesti R, 2007. Studi pemanfaatan pigmen brazilein kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) Sebagai pewarna alami serta stabilitasnya pada model pangan. Tesis. IPB
- Hor. S Y. et al. 2012 Safety assessment of methanol extract of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*): Acute and subchronic toxicity studies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 63 : 106–114
- Hossain, M.B., N.P. Brunton, A. Patras, B. Tiwari, C.P.O. Donnell, A. B.Martin-Diana, C. Barry-Ryan. 2012. Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface methodology, *Ultrasonics Sonochemistry*, 19 : 582–590.
- Jenie, B.S.L., Helianti dan S. Fardiaz. 1994. Pemanfaatan ampas tahu, onggok dan dedak untuk produksi pigmen merah oleh *Monascus purpureus*. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan* (5) : 22 - 29.

- Kanner, K., Harel, S., and Granit, R. 2001. Betalains – A new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5178–5185.
- Khalida Y, 2010. A comparative study on the extraction of betacyanin in the peel and flesh of dragon fruit. Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering Universiti Malaysia Pahang. Malaysia
- Kochar, S.P. dan B. Rossell. 1990. Detection estimation and evaluation of antioxidants in food system. Di dalam : B.J.F. Hudson, editor. *Food Antioxidants*. Elvisier Applied Science. London.
- Mirhosseini, H. and C. P. Tan. 2009. Response surface methodology and multivariate analysis of equilibrium headspace concentration of orange beverage emulsion as function of emulsion composition and structure, *Food Chemistry*, 115: 324–333.
- Mizrahi, Y., and A. Nerd. 1999. Climbing and columnar cacti: New arid land fruit crops, p. 358-366. *In* J. Jack (Ed.). *Perspectives on New Crops and New Uses*. American Society of Horticultural Science. Alexandria
- Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical dyphenylpicrylhydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journals of Science and Technology*. 26:211-219.
- Montgomery, D.C. 2001. *Design and Analysis of Experiment*, 5th edition. John Willey and Sons, Inc: New York.
- Moreno, D.A., C. Garcia-Viguera, J.I. Gil and A. Gil-Izquierdo. 2008. Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochem. Rev.* 7(2):261-280.
- Nollet, L.M.L. 1996. *Hand Book of Food Analysis*. Two Ed. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Ravichandran K et al. 2013. Impact of processing of red beet on betalain content and antioxidant activity. *Food Research International* 50 : 670–675
- Rini Wulandari. 2011. Pengujian zat warna dari kulit buah naga dengan menggunakan spektrofotometer optima sp-300. Semarang ;Universitas Diponegoro
- Saati. E. 2011. Identifikasi dan uji kualitas pigmen kulit buah naga merah (*Hylocareus costaricensis*) pada beberapa umur simpan dengan perbedaan jenis pelarut. http://research-report.umm.ac.id/index.php/research-report/article/view_report_fulltext.pdf diakses Maret 2013
- Stintzing, F.C., A. Schieber, and R. Carle. 2002. Betacyanins in fruit from redpurple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose. *Food Chemistry* 77 : 101-106.
- Strack, D., Vogt, T., and Schliemann, W. 2003. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, 62, 247–269.
- Sun, J., Y. Guoyuo, D. Peng, and C. Lanying. 2011. Optimization of extraction technique of polysaccharides from pumpkin by response surface method, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (11) : 2218-2222.
- Susanto, T. 2002. Peran perguruan tinggi dalam meningkatkan ketangguhan industri pangan di era pasar bebas. Makalah Disampaikan pada Seminar Nasional dan Kongres PATPI di Batu, Malang 30-31 Juli 2002.

- Tamia A. 2011. Potensi ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus p*) sebagai antimikroba. http://www.google.com/url_dspace.library.uph.edu:8080/bitstream/123456789/241/1/capter%20.pdf diakses Februari 2013
- Vogel, A.I. 1989. Textbook of Practical Organic Chemistry. Revised by Furnies, B.S. fifth Edition. New York.
- Wanasundara, U.N. and F. Shahidi. 1999. Concentration of omega-3 polyunsaturated fatty acids of seal bubbler oil by urea complexation: optimization of reactions conditions, *Food Chemistry*, 65: 41-49.
- Wrolstad RE. 2004. Interactions of natural colorants with other ingredients. *J Food Sci* 69 : C419 – C425.
- Wu, J., R.E. Aluko and H. Corke. 2006. Partial least-squares regression study of the effects of wheat flour composition, protein and starch quality characteristics on oil content of steamed-and-fried instant noodles, *Journal of Cereal Science*, 44: 117–126
- Wu L.C. et al. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry* 95 : 319–327
- Wybraniec, S. et al. 2001. Betacyanins from vine cactus *Hylocereus polyhizus*. *Phytochemistry*, 58, 1209–1212.
- Zhao. Q., J.F. Kennedy, X. Wang, X. Yuan, B. Zhao, Y. Peng, Y. Huang. 2011. Optimization of ultrasonic circulating extraction of polysaccharides from *Asparagus officinalis* using response surface methodology, *International Journal of Biological Macromolecules*, 49 : 181–187.

LAMPIRAN I : Analisa Data Tahap II

Tabel 1. Sequential Model Sum of Squares Respon Absorbansi

Sumber keragaman	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Kuadrat tengah	F Hitung	p-value Prob > F	Keterangan
<i>Mean</i>	13,39282	1	13,39282			
Linier	0,362533	3	0,120844	1,47917	0.2662	
2FI	0,066842	3	0,022281	0,223876	0.8776	
<u>Kuadratik</u>	0,905752	3	0,301917	23,62112	0.0005	<u>Suggested</u>
Kubik	0,049826	3	0,016609	1,675725	0.3082	<i>Aliased</i>
Sisa	0,039645	4	0,009911			
Total	14,81742	17	0,871613			

Tabel 2. Lack of Fit Tests Respon Absorbansi

Sumber keragaman	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Kuadrat tengah	F Hitung	p-value Prob > F	Keterangan
Linier	1,02242	9	0,113602	11,46181	0.0158	
2FI	0,955578	6	0,159263	16,06872	0.0090	
<u>Kuadratik</u>	0,049826	3	0,016609	1,675725	0.3082	<u>Suggested</u>
Kubik	0	0				<i>Aliased</i>
Galat Murni	0,039645	4	0,009911			

Tabel 3. Model Summary Statistics Respon Absorbansi

Sumber keragaman	Standar deviasi	R ²	Adjusted R ²	Predicted R ²	PRESS	Keterangan
Linier	0,285828	0,254481	0,082438	-0,36729	1,947839	
2FI	0,315472	0,301401	-0,11776	-1,7858	3,968647	
<u>Kuadratik</u>	0,113056	0,937195	0,856446	0,396907	0,859165	Suggested
Kubik	0,099556	0,972171	0,888683		+	Aliased

Tabel 4. Analisa Ragam (ANOVA) Respon Absorbansi ekstrak kulit buah naga merah

Sumber keragaman	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Kuadrat tengah	F hitung	p-value Prob > F	Keterangan
Model	1,335127	9	0,148347	11,60627	0.0019	Signifikan
A-Rasio	0,198545	1	0,198545	15,53353	0.0056	Signifikan
B-Suhu	0,118341	1	0,118341	9,258659	0.0188	Signifikan
C-Waktu.	0,045647	1	0,045647	3,57131	0.1007	Tidak Signifikan
AB	0,004356	1	0,004356	0,340801	0.5777	Tidak signifikan
AC	0,051144	1	0,051144	4,001341	0.0856	Tidak signifikan
BC	0,011342	1	0,011342	0,887384	0.3776	Tidak signifikan
A ²	0,003509	1	0,003509	0,274516	0.6165	Tidak Signifikan
B ²	0,88788	1	0,88788	69,46511	< 0.0001	Signifikan
C ²	0,007037	1	0,007037	0,550584	0.4822	Tidak Signifikan
Sisa	0,089472	7	0,012782			
<i>Lack of Fit</i>	0,049826	3	0,016609	1,675725	0.3082	Tidak signifikan
Galat Murni	0,039645	4	0,009911			
Total	1,424599	16				

Keterangan:

A = Variabel X₁ (rasio (ml/g))

B = Variabel X₂ (suhu (celsius))

C = Variabel X₃ (lama ekstraksi (jam))

AB, BC, AC, A², B², C² = interaksi antar perlakuan

Lampiran 2. Instrumen Penelitian

No.	Uraian	Jumlah	Kondisi	Keterangan
I.				
1.	Leptop	5 buah	baik	Dimiliki oleh masing-masing anggota peneliti
3.	Ruangan untuk seminar	1 buah	tersedia/baik	
4.	Alat transportasi	1 buah	baik	sewa
5.	Kamera	1 buah	baik	sewa
6.	Jaringan internet		tersedia/cukup	sewa
II. Laboratoium Kimia UNP				
1.	Peralatan gelas untuk analisis	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
2.	Bahan kimia untuk analisis	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
3.	Peralatan ekstraksi	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
3.	Penetapan kadar air	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
4.	Penetapan kadar air kesetimbangan (RH)	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
5.	Penetapan total betalain	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
6.	Penetapan intensitas warna	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
7.	Penetapan aktivitas antioksidan	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
8.	Penetapan stabilitas betalain	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
9.	HPLC	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
10.	Spektroskopi UV-Vis	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
III. Laboratorium THP Fakultas Teknologi Pertanian UNAND				
	Bahan Kimia untuk analisa	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
11.	HPLC	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
12.	Color Rider	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
13.	Thermosheker	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
14.	Spektroskopi Uv Vis	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
15.	Pompa Vakum	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	
16.	Peralatan gelas	Sesuai kebutuhan	Tersedia/baik	

Lampiran 3. Personalia Tenaga Peneliti beserta Kualifikasinya

Pelaksana penelitian yang diusulkan tahun ke I terdiri dari 1 (satu) orang ketua, 2 (satu) orang anggota, 1 (satu) orang dosen pendukung pada tahap I, 3 (tiga) orang mahasiswa Kimia FMIPA UNP (membantu tahap I), 3 (tiga) orang mahasiswa Tata Boga Fakultas Teknik UNP (membantu tahap II dan III). Personil yang terlibat dalam organisasi Tim Peneliti untuk tahun pertama dapat dilihat pada Tabel dibawah ini.

Tabel 5. Organisasi Tim Penelitian

No	a) Nama Lengkap b) Posisi dalam Penelitian	a) Gelar Kesarjanaan b) Pendidikan Terakhir	a) Pria/Wanita b) Alokasi Waktu	a) Unit Kerja b) Lembaga
1	a) Anni Faridah b) Ketua Peneliti	a) Dr. Ir, M.Si b) S3	a) Wanita b) 20 jam/minggu	a) FT b) UNP
2	a) Andromeda b) Anggota Peneliti I	a) Dra. M.Pd b) S2	a) Wanita b) 1 jam/minggu	a) FMIPA b) UNP
3	a) Rahmi Holinesti b) Anggota Peneliti II	a) STP, M.Si b) S2	a) Wanita b) 15 jam/minggu	a) FT b) UNP
4	a) Fitri Amelia b) Prima Yulia c) Desi Aryanti d) Esty Syamurika e) Aprini Elastri f) Tri Sepryadi g) Verawati	a) M.Si b) S-1 c) S-1 d) S-1 e) S-1 f) S-1 g) S-1	Wanita (thp I) 20 jam/minggu Wanita (thp I) 20 jam/minggu Wanita (thp I) 20 jam/minggu Wanita (thp I) 20 jam/minggu Wanita (thp II&III) 20 jam/minggu Wanita (thp II & III) 20 jam/minggu Wanita (thp II & III) 20 jam/minggu	a) FMIPA b) FMIPA c) FMIPA d) FMIPA e) FT f) FT g) FT

Lampiran 4. Artikel yang sedang diajukan pada jurnal

PENGARUH UMUR SIMPAN BUAH NAGA DAN JENIS PELARUT TERHADAP EKSTRAKS BETASIANIN DARI KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)

Anni Faridah*, Andromeda, Rahmi Holinesti*, Fitri Amelia****

*Fakultas Teknik, Univeritas Negeri Padang.

** Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
faridah.anni@gmail.com

ABSTRAK

Betasianin merupakan pigmen berwarna merah-violet terdapat pada kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Betasianin merupakan pewarna alami yang banyak digunakan pada produk pangan, kaya antioksidan, antimikroba, antiproliferatif dan *radical scavenging*. Perkembangan antosianin sebagai pewarna makanan lebih berkembang dibandingkan dengan betasianin, karena terbatasnya tanaman yang mengandung betasianin. Penggalan bahan alam alternatif yang berpotensi dapat digunakan sebagai zat pewarna, terus dilakukan, diantaranya adalah dari kulit buah naga berwarna merah. Karena buah naga merah yang akhir-akhir ini banyak diminati masyarakat luas, kulitnya yang berjumlah 30-35 % seringkali hanya dibuang sebagai sampah saja. Eksplorasi ekstraksi guna mendapatkan ekstrak betasianin dari kulit buah naga merupakan tujuan penelitian. Dengan rancangan acak lengkap, dua faktor (RAL-faktorial) yaitu pengaruh umur simpan (1, 2, 3, 4 dan 5 hari) dan jenis pelarut (aquades, aquades + asam asetat, aquadest + asam sitrat, etanol, etanol + asam asetat, etanol + asam sitrat). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah menyerap cahaya pada panjang gelombang maksimum 530 nm. Kombinasi perlakuan umur simpan hari kelima dengan jenis pelarut aquadest menghasilkan pigmen betasianin kulit buah naga merah dengan kualitas terbaik, dengan nilai absorbansi 0,449; konsentrasi 1243,6 ppm; intensitas warna 3,05. Nilai tertinggi untuk rendemen dan zat padat terlarut yaitu pada umur simpan hari pertama dengan pelarut aquades + asam sitrat yaitu 34,03%; zat padat terlarut 3,457%.

Kata kunci : betasianin, kulit buah naga merah, umur simpan, jenis pelarut

PENDAHULUAN

Betasianin adalah pigmen kelompok alkaloid yang larut air, pigmen bernitrogen dan merupakan pengganti anthocyanin pada sebagian besar family tanaman ordo Caryophyllales (Cai *et al.*, 2005). Pigmen ini banyak dimanfaatkan karena kegunaannya selain sebagai pewarna juga sebagai antioksidan dan *radical scavenging* sebagai perlindungan terhadap gangguan akibat stres oksidatif. Betasianin juga merupakan pigmen atau pewarna alami yang banyak digunakan pada pangan, namun pengembangannya tidak secepat antosianin, karena tanaman yang mengandung betasianin tidak sebanyak antosianin (Mareno *et al.*, 2008). Sumber betasianin yang paling banyak adalah akar bit (*Beta vulgaris*). Betasianin dari sumber lain masih aktif dieksplorasi termasuk pada kulit buah naga.

Warna merah yang terdapat pada buah naga merah mengandung pigmen betasianin yang sangat bermanfaat baik sebagai pewarna ataupun sebagai pangan fungsional (Wybraniec, 2001; Khalida, 2010). Akhir-akhir ini masyarakat Indonesia makin mengenal dan menyukai buah naga, terutama buah naga merah, sehingga limbah kulit akan banyak tersedia. Diperkirakan berat kulit buah naga ini adalah 30 - 35% dari buahnya (Saati, 2011). Jika tidak dimanfaatkan akan terbuang percuma sebagai sampah.

Ekstraksi adalah proses pemisahan sesuatu zat dari campuran bahan padat maupun cair dengan bantuan bahan pelarut. Pemisahan yang diinginkan dapat terjadi karena adanya perbedaan dalam sifat yaitu dapat larutnya antara bahan-bahan campuran dari suatu campuran zat dalam bahan pelarut (Vogel, 1989). Pelarut yang seringkali digunakan untuk mengekstrak pigmen betasianin adalah alkohol : etanol (Wybraniec, 2001; Darmawi, 2011; Ravichandran *et al.*, 2013), metanol (Hor *et al.*, 2012), amil alkohol, isopropanol (Saati, 2002), aseton (Wu *et al.*, 2006; Khalida, 2010), atau dengan air/aquades (Nollet, 1996), yang dikombinasi dengan asam, seperti asam klorida (Nollet, 1996), asam sitrat, asam asetat, (Tamia, 2011).

Betasianin telah diketahui mempunyai banyak manfaat, sehingga banyak teknik yang digunakan untuk mengkarakterisasi dan mengidentifikasi senyawa ini. Spektrofotometri Uv-Vis sudah umum digunakan untuk mengukur konsentrasi suatu zat yang ada dalam suatu sampel. Zat yang ada dalam sel sampel disinari dengan cahaya yang memiliki panjang gelombang tertentu. Saat cahaya mengenai sampel, sebagian akan diserap, sebagian akan dihamburkan dan sebagian lagi akan diteruskan. Konsentrasi larutan yang akan dianalisa sebanding dengan jumlah sinar yang diserap oleh zat yang terdapat dalam larutan tersebut.

Tanaman buah naga yang sering juga dibuat menjadi tanaman hias, dalam setahun bisa berbuah tiga kali, dan produksinya bisa terus meningkat dengan perawatan yang baik. Masyarakat semakin menyukai buah naga karena selain pohon dan buahnya yang indah, buah naga juga mengandung manfaat bagi kesehatan. Kabupaten Padang Pariaman merupakan salah satu sentra budidaya buah naga di Sumatera Barat. Pada tahun 2010 daerah ini telah membudidayakan buah naga merah dan putih seluas 20 hektar, setiap tahunnya terjadi peningkatan (Anonim, 2013b). Potensi buah naga baik putih, merah dan super merah meningkat setiap tahunnya,

bukan hanya di Sumatera Barat juga di pulau Jawa, Sulawesi dan daerah lainnya. Bila buahnya semakin meningkat maka potensi dari kulitnya juga akan meningkat per tahun. Sehingga perlu dilakukan eksplorasi ekstraksi guna mendapatkan ekstrak betasianin yang optimum dari kulit buah naga dengan faktor pengaruh umur simpan dan jenis pelarut.

BAB III. METODE PENELITIAN

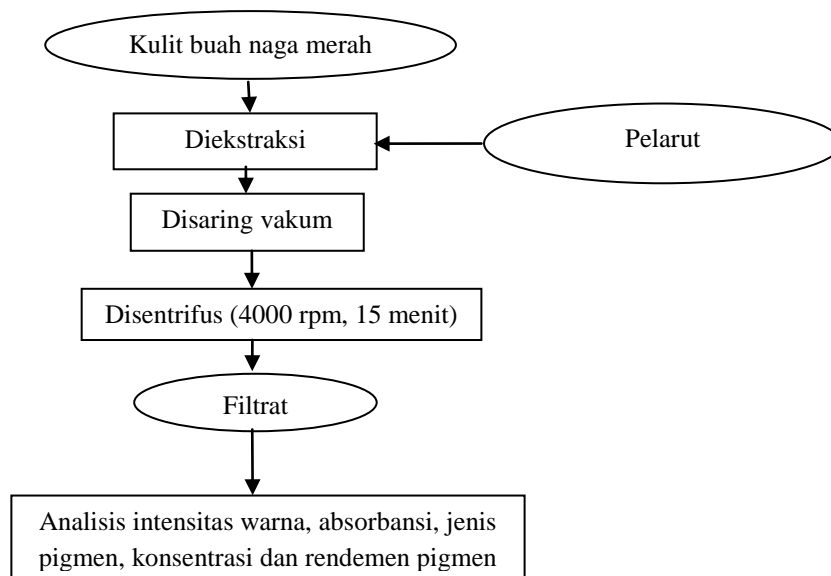
A. Tempat, Bahan dan Alat

Penelitian ini akan dilaksanakan di workshop Tata Boga Jurusan Kesejahteraan Keluarga, Fakultas Teknik, di laboratorium Kimia di Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Padang dan di laboratorium Teknologi Hasil Pertanian FATETA UNAND. Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah naga merah. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain: betasyianin standart, aquadest, etanol, asam sitrat, asam asetat, natrium hidroksida, Kalium dihidrofospat, Dikalium hidrophospat, kalium nitrat, asam klorida.

Peralatan yang digunakan antara lain: *disc mill*, timbangan analitik, *shaker*, sentrifuge, oven, aluminium foil, saringan vakum, kertas saring whatman no. 1, rotavapor, pH meter, *hot plate*, termometer, spektrofotometer UV-vis, chromameter, erlenmeyer, tabung reaksi, pengaduk, kompor, serta peralatan gelas.

B. Metode Penelitian

Tahapan ekstraksi menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) - faktorial (2 faktor), yaitu faktor I umur simpan buah naga; 1, 2, 3, 4, dan 5 hari penyimpanan. Faktor II yaitu jenis pelarut; aquadest, aquades + asam asetat, aquadest + asam sitrat, etanol, etanol + asam asetat, etanol + asam sitrat. Proses ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. : Proses Ekstraksi Betasianin dari Kulit Buah Naga (Petriana, 2011)
 Analisa yang dilakukan meliputi: absorbansi pigmen metode spektrofotometer UV-Vis , konsentrasi pigmen, rendemen, intensitas warna menggunakan kromameter, dan total padatan terlarut.

C. Analisa

1. Analisis absorbansi dan konsentrasi dengan spektrofotometri Uv-Vis

- a. Pembuatan larutan standar betasianin 1000 ppm dan penentuan panjang gelombang maksimum betasianin
 - 1) Ditimbang 0,25 gram padatan betasianin standart, dilarutkan dengan 250 ml aquades, diencerkan dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm dalam labu 100 ml.
 - 2) Gunakan salah satu dari larutan standar untuk menentukan panjang gelombang maksimum. Dipipet 4 ml larutan standar kedalam labu takar 10 ml yang telah dilapisi kertas karbon, tambahkan buffer posfat hingga tanda batas. Ukur serapan maksimum dengan rentang panjang gelombang 500 nm - 550 nm.
 - 3) Encerkan larutan standar lainnya (100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 600 ppm, 800 ppm) dengan larutan buffer posfat dalam labu 10 ml yang telah dilapisi kertas karbon, ukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Setelah absorbansi didapat dari masing-masing konsentrasi, buat kurva kalibrasi dengan memplot antara konsentrasi (sumbu x) dan absorbansi (sumbu y), lalu titik tersebut dihubungkan dengan garis lurus.

b. Pengukuran Absorbansi dan Konsentrasi Betasianin pada Ekstrak Kulit Buah Naga

4 ml filtrat dari ekstrak betasianin kulit buah naga dipipet ke dalam labu ukur 10 ml yang telah dilapisi dengan kertas karbon. Kemudian ditambahkan buffer fosfat hingga tanda batas, dihomogenkan. Diukur absorbansi menggunakan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang maksimum 530 nm (baca nilai absorbansi). Setelah absorbansi dari sampel didapat, maka konsentrasi dari sampel dapat ditentukan menggunakan rumus persamaan regresi:

$$Y = ax + b$$

2. Analisa Zat Padat Terlarut (Tim Biokimia, 2010)

Keringkan gelas kimia 50 ml dalam oven pada suhu 103-105 °C selama 1 jam. Kemudian dinginkan dalam desikator dan timbang berat gelas kimia. Dipipet 10 ml sampel ke dalam gelas kimia 50 ml. Panaskan dalam waterbath sampai sampel kering, dinginkan dalam desikator. Setelah dingin timbang berat gelas kimia. Catat berat, dan ditung berat zat padat terlarut menggunakan rumus :

$$\text{TDS (mg/l)} = \frac{(A-B) \times 1000}{\text{ml Sampel}}$$

Dengan : A = Berat gelas kimia + residu (mg)

B = Berat gelas kimia awal

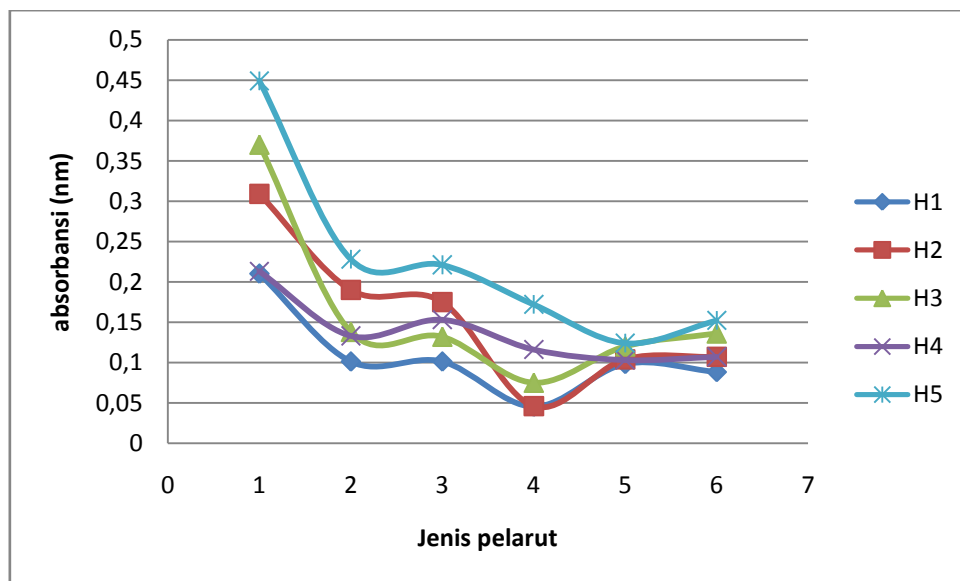
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pengaruh Umur Simpan Dan Jenis Pelarut Terhadap Absorbansi Dan Konsentrasi Ekstrak Betasianin

Ekstrak betasianin dari kulit buah naga menggunakan pelarut aquades, aquades + asam asetat 10%, aquades + asam sitrat 10%, etanol 95 %, etanol + asam sitrat 10 % dan etanol + asam asetat 10 % yang menghasilkan filtrat berwarna merah violet seperti warna pada pigmen betasianin. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol dan aquades karena tingkat kepolaran betasianin mendekati tingkat kepolaran etanol, sehingga dapat melarutkan betasianin dan ekstraksi dapat berlangsung secara sempurna. Betasianin mempunyai tingkat kelarutan yang tinggi dalam air. Hal ini

sesuai dengan Vogel (1989) yang menyatakan bahwa daya melarutkan yang tinggi berhubungan dengan tingkat kepolaran pelarut dan kepolaran senyawa yang diekstraksi. Sedangkan ekstraksi pada suasana asam bertujuan untuk menjaga pH dari betasianin, karena betasianin merupakan pigmen yang stabil dalam suasana asam. Sifat-sifat dari betasianin sangat dipengaruhi oleh pH, cahaya, udara, serta aktivitas air, dengan stabilitas pigmen yang lebih baik pada suhu rendah yaitu $<14^{\circ}\text{C}$ pada kondisi gelap, dengan kadar udara rendah diatas rentang pH 5-7, tetapi lebih stabil pH 5-6 (Cai, Y.Z. *et al.*,1998). Hasil absorbansi ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah dapat dilihat pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan bahwa betasianin menyerap cahaya pada panjang gelombang maksimum 530 nm. Hal ini sesuai dengan pendapat Coultate (1996) yang menyatakan bahwa betasianin dengan warna pigmen merah keunguan menyerap cahaya pada panjang gelombang maksimum yang berkisar antara 534- 555 nm; 537,5 – 538 nm (Darmawi, 2011); 538 nm (Cao et al, 2012).



Jenis pelarut : 1=aquades, 2= aquades+ as. asetat, 3= aquades + as. sitrat, 4= etanol, 5= etanol + as.asetat, 6= etanol+ sitrat
 Umur simpan : H1 = Hari pertama, H2 = hari kedua, H3 = hari ketiga, H4 = hari keempat, H5 = hari kelima

Gambar 2. Nilai Absorbansi Ekstrak Betasianin dari Kulit Buah Naga Merah Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi dari ekstrak kulit buah naga merah menggunakan spektrofotometer uv-vis dapat dilihat pengaruh umur simpan kulit buah naga merah dan jenis pelarut terhadap absorbansi (Gambar 2). Filtrat dari kulit

buah naga menunjukkan puncak pada panjang gelombang 530 nm. Hal ini menunjukkan bahwa pigmen ini menyerap sinar pada daerah hijau (500-550 nm) dengan warna ungu sebagai warna komplementernya sehingga terlihat secara visual berwarna merah keunguan. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Harborne (1987) yang menyebutkan bahwa spektrum tampak dari betasianin memiliki panjang gelombang berkisar antara 532-554 nm dan 538 nm (Cao et al, 2012).

Pada Gambar 2 juga menjelaskan bahwa nilai absorbansi ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah mengalami peningkatan dari hari pertama hingga hari kelima masa simpan buah naga merah. Nilai absorbansi tertinggi dari semua pelarut yang digunakan yaitu absorbansi pada umur simpan hari kelima dengan jenis pelarut aquades. Nilai absorbansi filtrat pigmen dengan pelarut aquades yang mengalami peningkatan maksimal pada umur simpan hari kelima yaitu 0,449 nm sedangkan nilai absorbansi terkecil pada umur simpan hari pertama yaitu menggunakan pelarut etanol yaitu 0,045 nm (Tabel 1). Perbedaan nilai absorbansi yang dihasilkan oleh ekstrak dari kulit buah naga merah menunjukkan pengaruh kombinasi pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya.

Tabel 1. Data Absorbansi Ekstrak Betasianin dari Kulit Buah Naga Merah Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut

Jenis Pelarut	Umur Simpan				
	H1	H2	H3	H4	H5
Aquades	0,21	0,309	0,37	0,213	0,449
Aquades + asam asetat	0,101	0,19	0,138	0,133	0,228
Aquades + asam sitrat	0,101	0,175	0,132	0,153	0,221
Etanol	0,045	0,046	0,075	0,116	0,172
Etanol + asam asetat	0,098	0,104	0,12	0,103	0,124
Etanol + asam sitrat	0,088	0,107	0,136	0,107	0,152

Dari Gambar 2 menggambarkan absorbansi betasianin berbeda pada setiap perlakuan dengan berbagai jenis kombinasi pelarut. Berbedanya absorbansi yang dihasilkan dari proses ekstraksi kulit buah naga merah dengan menggunakan berbagai jenis pelarut terjadi karena kemampuan dan sifat pelarut dalam melarutkan betasianin berbeda. Perbedaan absorbansi yang dihasilkan untuk setiap jenis asam organik diduga karena adanya perbedaan tetapan disosiasi dari masing-masing jenis

asam. Semakin besar tetapan disosiasi semakin kuat suatu asam karena semakin besar jumlah ion hidrogen yang dilepaskan ke dalam larutan. Keadaan yang semakin asam akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen betasianin dalam bentuk betasianin yang berwarna merah ungu dan pengukuran absorbansi akan menunjukkan jumlah betasianin yang semakin besar (Fennema, 1996). Disamping itu keadaan yang semakin asam menyebabkan semakin banyak dinding sel vakuola yang pecah sehingga pigmen betasianin semakin banyak yang terekstrak. Tingginya absorbansi yang dihasilkan oleh pelarut aquades karena betasianin mempunyai daya larut yang tinggi dalam pelarut air yang disebabkan oleh tingkat kepolarannya.

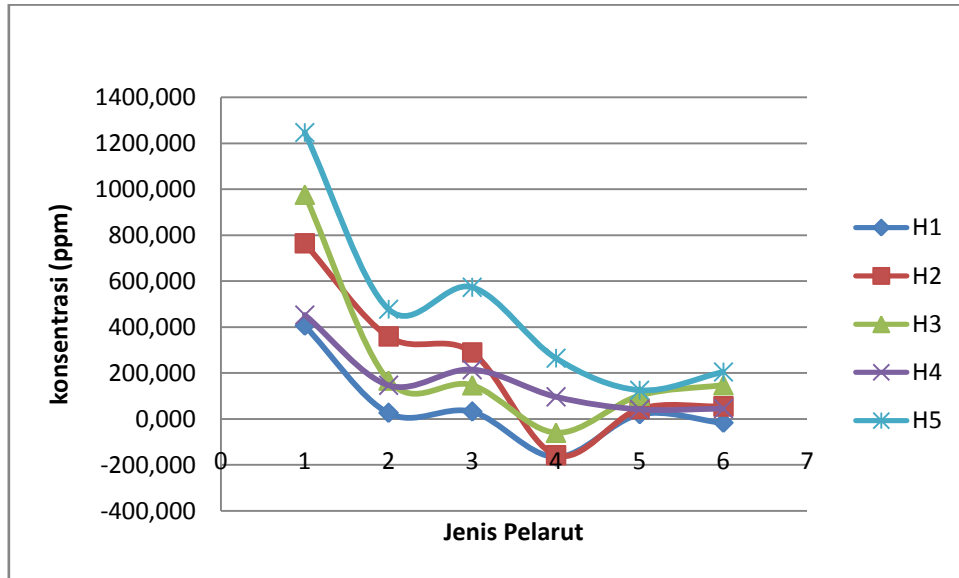
Titik maksimal absorbansi ekstrak kulit buah naga merah terjadi pada umur simpan hari kelima karena buah telah mengalami proses pematangan (*maturation*) dan pemasakan, sehingga dinding sel semakin mudah dipecah dan pigmen semakin banyak terekstrak. Menurut Saati (2011) buah naga mempunyai masa simpan maksimal 4 hari dan akan mengalami penurunan kondisi diikuti dengan kerusakan pada masa penuaan yaitu selama penyimpanan 8 hari. Demikian halnya juga dengan konsentrasi dari ekstrak kulit buah naga merah, konsentrasi dari filtrat ini dapat ditentukan dari nilai absorbansinya menggunakan kurva kalibrasi dan persamaan regresi linear. Pada penelitian ini konsentrasi dari filtrat ditentukan menggunakan persamaan regresi, menggunakan rumus:

$$Y = ax + b$$

Dengan x merupakan konsentrasi dari filtrat dalam satuan ppm. Konsentrasi pigmen juga dipengaruhi oleh jenis dan kombinasi pelarut yang digunakan, semakin dekat tingkat kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstrak senyawa organik yang ada dalam tumbuhan maka semakin mudah senyawa tersebut larut dalam pelarut, sehingga konsentrasi dari filtrat semakin besar. Konsentrasi dari filtrat juga dipengaruhi oleh masa umur simpan buah naga, dari kurva dibawah ini dapat dilihat bahwa semakin lama umur simpan buah naga maka semakin tinggi konsentrasi yang akan dihasilkan, ini disebabkan karena buah naga mengalami pematangan sehingga dinding sel semakin mudah dipecah.

Konsentrasi dari ekstrak betasianin juga dipengaruhi oleh tingkat kestabilan dari pigmen tersebut, kestabilan pigmen dipengaruhi oleh cahaya, karena cahaya yang dipaparkan akan menghasilkan energi panas yang akan mendegradasi struktur

senyawa dari betasianin karena reaksi fotokimia. Akibatnya semakin terpapar oleh cahaya, maka stabilitas pigmen akan semakin menurun sehingga pigmen betasianin akan mengalami kerusakan.



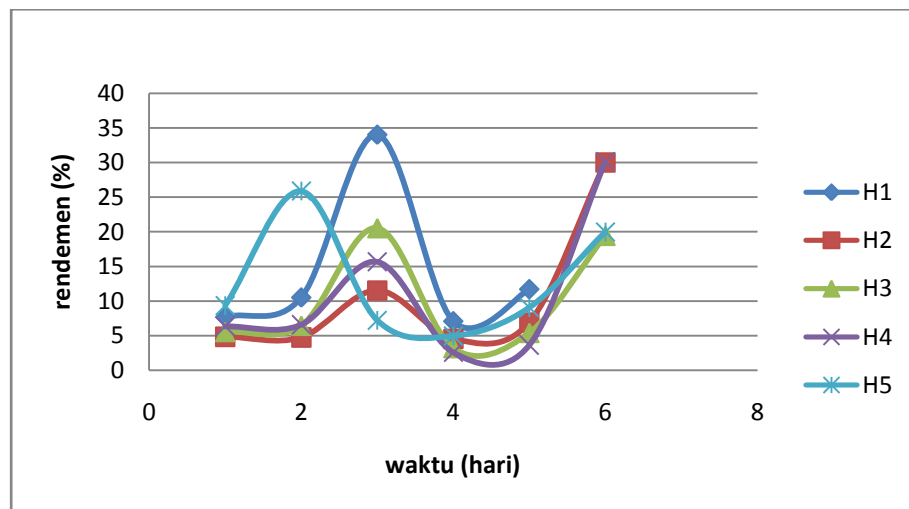
Ket: Jenis pelarut : 1=aquades, 2= aquades + as.asetat, 3= aquades+as.sitrat, 4= etanol, 5= etanol+ as.asetat, 6= etanol+ as.sitrat
Umur simpan : H1 = Hari pertama, H2 = hari kedua, H3 = hari ketiga, H4 = hari keempat, H5 = hari kelima

Gambar 3. Konsentrasi Ekstrak Betasianin dari Kulit Buah Naga Merah Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut.

Gambar 3 menjelaskan bahwa konsentrasi dari filtrat ada yang bernilai minus (negatif) yaitu konsentrasi dengan pelarut etanol yaitu -165,254 pada umur simpan hari pertama dan -157,669 pada umur simpan hari kedua dan etanol + asam sitrat yaitu -17,174 pada umur simpan hari pertama. Ini disebabkan karena kestabilan pigmen betasianin yang mungkin pada saat preperasi sampel untuk pengukuran absorbansi terpapar oleh cahaya dan tidak disadari oleh peneliti. Kemungkinan lain yaitu karena etanol merupakan senyawa yang mudah menguap, sehingga ketika preparasi pengukuran uv-Vis sebagian dari etanol akan menguap atau volatil, sehingga terjadi kesalahan dalam pengukuran absorbansi dengan Uv- Vis. Selain itu mungkin disebabkan oleh suhu ruangan pada saat pengukuran, betasianin stabil pada suhu yang rendah yaitu $<14^{\circ}\text{C}$, sedangkan pada saat pengukuran suhu ruangan berkisar antara $35-37^{\circ}\text{C}$, sehingga kestabilan pigmen ini menurun, struktur pigmen rusak yang menyebabkan konsentrasi pigmen menurun.

B. Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Ekstrak Betasianin

Rendemen dari ekstrak kulit buah naga dapat dihitung dari zat padat terlarut total sehingga semakin tinggi zat padat total yang terlarut dalam pelarut maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan. Rendemen ini juga dipengaruhi oleh masa simpan kulit buah naga yang akan diekstrak, pelarut yang digunakan untuk mengekstrak betasianin dan pemberian kondisi asam pada pH yang rendah.



Jenis pelarut : 1=aquades, 2= aquades+asetat, 3= aquades+sitrat, 4= etanol, 5= etanol+ asetat, 6= etanol+ sitrat
Umur simpan : H1 = Hari pertama, H2 = hari kedua, H3 = hari ketiga, H4 = hari keempat, H5 = hari kelima

Gambar 4. Rendemen ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah pengaruh umur simpan dan jenis pelarut.

Dari Gambar 4 dapat dibaca bahwa rendemen tertinggi menggunakan pelarut aquades + asam sitrat dengan rendemen 34,03 % pada umur simpan hari pertama dan etanol + asam sitrat dengan rendemen tertinggi 33,57 % pada umur simpan hari pertama. Persentase rendemen menurun selama umur simpan dari hari pertama hingga hari kelima penyimpanan. Ini menunjukkan bahwa umur simpan dan penambahan suasana asam pada pelarut berpengaruh terhadap kadar rendemen dari filtrat, ini sesuai dengan pendapat Cai, Y.Z. *et al* (1998) bahwa betasianin stabil pada kondisi gelap dengan suhu yang rendah dan kadar udara rendah diatas rentang pH 5-7, tetapi lebih stabil pH 5-6 .

Sedangkan kadar rendemen dengan pelarut aquades meningkat selama masa simpan buah naga. Peningkatan ini diduga bahwa pigmen betasianin yang terdegradasi dan bertambahnya senyawa gula yang larut dalam air. Sehingga selama

penyimpanan rendemen terus meningkat yang ditunjang dengan meningkatnya gula yang terlarut. Hal ini menunjukkan bahwa masa simpan buah naga sangat berpengaruh terhadap rendemen dengan menggunakan pelarut aquades. Namun rendemen dengan menggunakan pelarut etanol mengalami penurunan rendemen dari masa simpan 1 hari hingga 5 hari, ini disebabkan karena etanol merupakan senyawa yang bersifat volatil, sehingga sangat sedikit gula yang terlarut dalam pelarut etanol. Akibatnya rendemen yang dihasilkan rendah.

C. Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut Terhadap Intensitas Warna Merah Ekstrak Betalain.

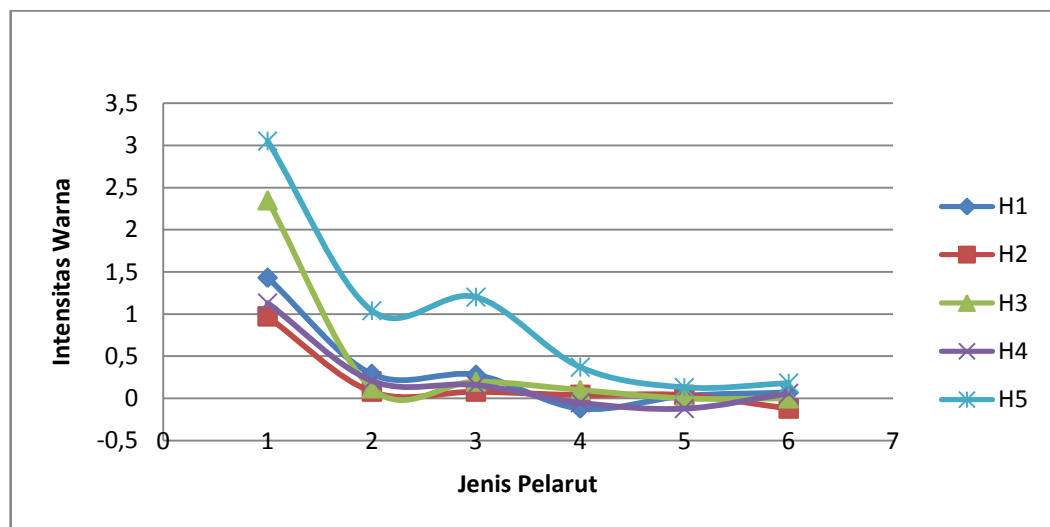
Intensitas warna merah kulit buah naga, diukur menggunakan alat chromameter. Hasil pengukuran intensitas warna ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah pengaruh umur simpan dan jenis pelarut, dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 5.

Tabel 2. Intensitas Warna Ekstrak Betasianin Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut

NO	PELARUT	Umur Simpan				
		H1	H2	H3	H4	H5
1	Aquades	1,43	0,97	2,35	1,13	3,05
2	Aquades + asam asetat	0,29	0,08	0,12	0,21	1,04
3	Aquades + asam sitrat	0,28	0,08	0,20	0,16	1,20
4	Etanol	-0,12	0,04	0,10	-0,05	0,37
5	Etanol+ asam asetat	0,03	0,04	0,00	-0,12	0,13
6	Etanol+ asam sitrat	0,07	-0,12	0,00	0,06	0,18

Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 5 dapat diketahui bahwa waktu penyimpanan berpengaruh terhadap intensitas warna merah ekstrak kulit buah naga. Secara umum, selama proses penyimpanan, intensitas warna merah ekstrak kulit buah naga yang dihasilkan dari semua pelarut menunjukkan pola yang sama, mulai dari awal penyimpanan (H1) hingga mengalami peningkatan yang cukup tinggi akhir penyimpanan (H5). Saati (2011) mengemukakan bahwa buah naga memiliki umur simpan maksimal 4 hari, dan akan mengalami penurunan kondisi diikuti dengan kerusakan pada masa penuaan, yaitu selama penyimpanan 8 hari. Hal ini sejalan

dengan data titik maksimal absorbansi ekstrak kulit buah naga merah dengan dengan pelarut aquades, dimana titik maksimal absorbansi terjadi pada masa simpan 5 hari, karena buah telah mengalami proses pematangan dan pemasakan, sehingga dinding sel semakin mudah dipecah dan pigmen semakin banyak terekstrak. Disamping itu, proses penguapan air yang terkandung pada kulit buah naga selama penyimpanan, menyebabkan intensitas pigmen yang terkandung meningkat.



Jenis pelarut : 1=aquades, 2= aquades+asetat, 3= aquades+sitrat, 4= etanol, 5= etanol+ asetat, 6= etanol+ sitrat
 Umur simpan : H1 = Hari pertama, H2 = hari kedua, H3 = hari ketiga, H4 = hari keempat, H5 = hari kelima

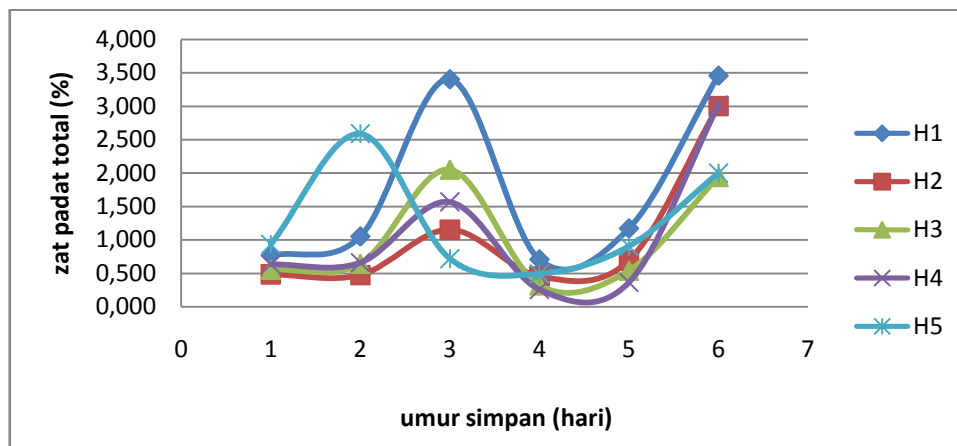
Gambar 5. Intensitas warna ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah pengaruh umur simpan dan jenis pelarut.

Intensitas warna tertinggi dihasilkan dari kulit buah naga merah yang diekstrak dengan pelarut aquades, sedangkan yang terendah pada pelarut Etanol + asetat. Tingginya intensitas warna merah yang dihasilkan dari pelarut aquades disebabkan karena betasianin mempunyai daya larut yang tinggi dalam pelarut air yang disebabkan oleh tingkat kepolarannya. Lebih lanjut, Casteller *et al* (2006) mengemukakan bahwa pelarut aquades menghasilkan ekstrak dan stabilitas pigmen betasianin yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut etanol.

D. Pengaruh Umur Simpan dan Jenis Pelarut Terhadap Zat Padat Terlarut Ekstrak Kulit Buah Naga Merah.

Dari hasil pengamatan (Gambar 6) dapat diketahui bahwa zat padat terlarut pigmen kulit buah naga merah yang dari penyimpanan hari pertama

hingga penyimpanan hari kelima untuk pelarut yang ditambahkan asam sitrat cenderung tinggi. Zat padat terlarut dengan menggunakan pelarut aquades + asam sitrat adalah 3,457 % pada penyimpanan 1 hari dan pelarut etanol + asam sitrat yaitu 3,403 % pada penyimpanan 1 hari. Pigmen betasianin yang diekstrak dengan pelarut menggunakan asam memberikan zat padat terlarut yang relatif banyak. Hal ini sesuai dengan pendapat Cai, Y.Z. *et al* (1998) bahwa pigmen betasianin memiliki stabilitas yang baik pada keadaan asam dengan rentang pH 5- 7 dan akan mengalami kerusakan pada pH dibawah atau diatasnya.



Jenis pelarut : 1=aquades, 2= aquades+asetat, 3= aquades+sitrat, 4= etanol, 5= etanol+ asetat, 6= etanol+ sitrat
Umur simpan : H1 = Hari pertama, H2 = hari kedua, H3 = hari ketiga, H4 = hari keempat, H5 = hari kelima

Gambar 6. Zat padat terlarut ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah pengaruh umur simpan dan jenis pelarut.

Sedangkan untuk pelarut aquades dari umur simpan hari pertama hingga hari kelima, zat padat terlarut menunjukkan penurunan pada hari kedua penyimpanan dan meningkat kembali dari hari ketiga hingga hari kelima jumlah zat padat sebanyak 0,933 %. Peningkatan zat padat terlarut ini menandakan bahwa semakin tinggi tingkat kematangan buah naga, maka pigmen betasianin yang larut dalam pelarut aquades akan semakin banyak, ini disebabkan karena zat gula yang terlarut dalam pelarut aquades juga semakin tinggi sehingga zat padat terlarut juga semakin banyak. Hal ini sesuai dengan pendapat De Man (1997) bahwa selama penyimpanan, jumlah padatan terlarut meningkat seiring meningkatnya gula yang terlarut. Jadi gula yang terlarut juga sangat berpengaruh terhadap zat padat terlarut.

Namun zat padat terlarut dengan menggunakan pelarut etanol menunjukkan bahwa jumlah yang paling sedikit, pada umur simpan hari empat yaitu sebanyak 0,493 %. Hal ini disebabkan karena etanol merupakan senyawa yang bersifat volatil sehingga ketika preparasi zat ini sangat mudah menguap dan mempengaruhi zat padat terlarutnya.

KESIMPULAN

Ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah menyerap cahaya pada panjang gelombang maksimum 530 nm. Nilai absorbansi tertinggi dari semua pelarut yang digunakan yaitu absorbansi pada umur simpan hari kelima dengan jenis pelarut aquades. Kombinasi perlakuan umur simpan hari kelima dengan jenis pelarut aquadest menghasilkan pigmen betasianin kulit buah naga merah dengan kualitas terbaik, dengan nilai absorbansi 0,449; konsentrasi 1243,6 ppm; intensitas warna 3,05. Nilai tertinggi untuk rendemen dan zat padat terlarut yaitu pada umur simpan hari pertama dengan pelarut aquades + asam sitrat yaitu 34,03%; zat padat terlarut 3,457%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Tim peneliti mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya pada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui dana penelitian hibah fundamental.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2013b. Potensi tanaman buah naga. <http://www.antarasumbar.com/berita-terkini-kab.padang-pariaman.htm>. diakses 25 maret 2013.
- Cai, Y., M. Sun., H. Wu, R. Huang and H. Corke. 1998. Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse *Amaranthus species*. *J. Agric. Food Chem.* 46(6):2063-2069.
- Cai, Y. Z., Sun, M., & Corke, H. 2003. Antioxidant activity of betasianins from plants of the Amaranthaceae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 2288–2294.
- Cai Y., M. Sun & H. Corke. 2005. HPLC characterization of betasianins from plants in the amaranthaceae, *J. Chromatogr. Sci.*, 43, 454-60.
- Coulter, T.P. 1996. Food The Chemistry of Its Component. 3rd edition. The Company. Cambridge

- Darmawi A.W. 2011. Optimasi proses ekstraksi, pengaruh pH dan jenis cahaya pada aktivitas antioksidan dari kulit buah naga (*Hylocereus p*). <http://www.google.com/urldspace.library.uph.edu:8080/bitstream/123456789/241/1/capter%20.-pdf> diakses Februari 2013
- De Man, J.M. 1997. Kimia makanan (terjemahan Kosasih). ITB. Bandung.
- Fennema, O.R.1996. Food Chemistry. Marcell Dekker Inc. New York.
- Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modren Menganalisis Tumbuhan. Penerbit ITB: Bandung
- Hor. S Y. et al. 2012 Safety assessment of methanol extract of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*): Acute and subchronic toxicity studies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 63 : 106–114
- Khalida Y, 2010. A comparative study on the extraction of betacyanin in the peel and flesh of dragon fruit. Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering Universiti Malaysia Pahang. Malaysia
- Moreno, D.A., C. Garcia-Viguera, J.I. Gil and A. Gil-Izquierdo. 2008. Betasianins in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochem. Rev.* 7(2):261-280.
- Nollet, L.M.L. 1996. Hand Book of Food Analysis. Two Ed. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Petrianan, Giwang. Lydia Ninan Lestario. Yohanes Lestario. 2011. *Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Degradasi Warna Yang Diwarnai Umbi Bit Merah*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Ravichandran K et al. 2013. Impact of processing of red beet on betasianin content and antioxidant activity. *Food Research International* 50 : 670–675
- Saati. E. 2011. Identifikasi dan uji kualitas pigmen kulit buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) pada beberapa umur simpan dengan perbedaan jenis pelarut. http://research-report.umm.ac.id/research/download/abstract_research_report_176.pdf diakses Maret 2013
- Tamia A. 2011. Potensi ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus p*) sebagai antimikroba. http://www.google.com/url_dspace.library.uph.edu:8080/-bitstream/123456789/241/1/capter%20.pdf diakses Februari 2013
- Tim Biokimia. 2010. Penuntun Praktikum Biokimia. Padang. Universitas Negeri Padang
- Vogel, A.I. 1989. Textbook of Practical Organic Chemistry. Revised by Furnies, B.S. fifth Edition. New York.
- Wu L.C. et al. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry* 95 : 319–327
- Wybraniec, S. et al. 2001. Betacyanins from vine cactus *Hylocereus polyrhizus*. *Phytochemistry*, 58, 1209–1212.

Lampiran 5.

Artikel yang telah dipresentasikan pada seminar nasional di Universitas Terbuka di Pondok Cabe Jakarta.

IDENTIFIKASI PIGMEN BETASIANIN DARI KULIT BUAH NAGA MERAH (*HYLOCEREUS POLYRHIZUS*) MENGGUNAKAN HPLC

Anni Faridah¹, Rahmi Holinesti¹, Daimon Syukri²
¹Fakultas Teknik Universitas Negeri Padang
²Fakultas Teknik Pertanian Universitas Andalas
faridah.anni@gmail.com

ABSTRAK

Betasianin merupakan pigmen berwarna merah-violet terdapat pada kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang banyak dijumpai di daerah Padang dan kota-kota lainnya di Sumatera Barat. Betasianin merupakan pewarna alami yang banyak digunakan pada produk pangan, kaya antioksidan, antimikroba, antiproliferatif dan *radical scavenging*. Penggalan bahan alam alternatif yang berpotensi sebagai zat pewarna, terus dilakukan, diantaranya adalah dari kulit buah naga berwarna merah. Karena buah naga merah yang akhir-akhir ini banyak diminati masyarakat luas, kulitnya yang berjumlah 30-35 % seringkali hanya dibuang sebagai sampah. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi komposisi senyawa pigmen yang diduga betasianin dari kulit buah naga merah dengan menggunakan HPLC. Sampel kulit buah naga yang diidentifikasi berwarna merah. Profil HPLC semua sampel yang diamati, puncak pertama muncul pada waktu retensi 3,458 menit, puncak kedua pada waktu retensi 5,64 menit dan puncak ketiga pada waktu retensi 6,165 menit. Sifat senyawa betasianin yang ada bersifat polar. Puncak kedua mewakili senyawa betasianin yang kedua dari tiga jenis betasianin yang ada, memiliki luas area yang paling besar dengan persentase area sebesar 64,46 %.

Kata kunci : identifikasi, kulit buah naga merah, betasianidin.

PENDAHULUAN

Betalain merupakan pigmen berwarna merah-violet dan kuning-oranye yang banyak terdapat pada buah, bunga dan jaringan vegetatif (Strack *et al.*, 2003). Betalain adalah pigmen kelompok alkaloid yang larut air, pigmen bernitrogen dan merupakan pengganti anthocyanin pada sebagian besar family tanaman ordo Caryophyllales, termasuk Amaranthaceae, dan bersifat mutual eksklusif dengan pigmen antosianin (Cai *et al.*, 2005; Grotewold, 2006). Sifat ini berarti bahwa pigmen betalain dan antosianin tidak pernah dijumpai bersama-sama pada satu tanaman. Oleh karena itu pigmen betalain sangat signifikan dalam penentuan taksonomi tanaman tingkat tinggi.

Betalain merupakan pewarna alami yang banyak digunakan pada produk pangan. Pigmen ini banyak dimanfaatkan karena kegunaannya selain sebagai pewarna juga sebagai antioksidan dan *radical scavenging* sebagai perlindungan terhadap gangguan akibat stres oksidatif. Sumber betalain yang paling banyak adalah akar bit (*Beta vulgaris*). Perkembangan antosianin sebagai pewarna makanan lebih berkembang dibandingkan dengan betalain, karena terbatasnya tanaman yang

mengandung betalain (Mareno *et al.*, 2008). Oleh karena itu penelitian pencarian alternatif sumber betalain penting dilakukan, salah satunya adalah dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*).

Tanaman buah naga yang sering juga dibuat menjadi tanaman hias, dalam setahun bisa berbuah tiga kali, dan produksinya bisa terus meningkat dengan perawatan yang baik. Setiap tahun, tanaman buah naga meningkat, begitu juga dengan import buah naga ke Indonesia. Berdasarkan catatan dari eksportir buah di Indonesia, buah naga ini masuk ke tanah air mencapai antara 200 - 400 ton/tahun asal Thailand dan Vietnam (Anonim, 2013a). Masyarakat semakin menyukai buah naga karena selain pohon dan buahnya yang indah, buah naga juga mengandung manfaat bagi kesehatan.

Menurut Saati (2011), kulit buah naga berjumlah 30-35 % dari berat buahnya dan seringkali hanya dibuang sebagai sampah. Padahal hasil penelitian menunjukkan kulit buah naga mengandung antioksidan dan juga dapat menurunkan kadar kolesterol (Kanner *et al.*, 2001). Kulit buah naga merah (*H. polyrhizus*) mengandung betalain yang berfungsi sebagai antioksidan dan pewarna alami (Stafford, 1994 dalam Cao *et al.*, 2012, Wybraniec *et al.*, 2001; Wu *et al.*, 2006 ; Khalida, 2010). Kulit buah naga memiliki potensi antioksidan yang lebih besar dibanding buahnya (Darmawi, 2011)

Betasianin telah diketahui mempunyai banyak manfaat dan bernilai taksonomi yang signifikan maka banyak teknik yang telah digunakan untuk mengkarakterisasi senyawa ini. Identifikasi betasianin banyak dilakukan dengan perbandingan spektroskopi, kromatografi, sifat elektroforesis dengan standar otentik atau data sekunder dan menggunakan teknik analisis tradisional dan modern (Stintzing, et al. 2004; Cai, Sun dan Corke. 2001, Schleimann, Cai, et al, 2001) seperti kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, elektroforesis kertas, *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*, *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry (LC-MS)*, *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS)*, *Electrospray Ionization tandem Mass Spectrometry (ESI-MS/MS)*, *Nuclear Magnetic Resonance (NMR)*, and LC-NMR.

Kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus* yang berwarna merah atau merah violet merupakan sumber pigmen betasianin. Buah naga dengan variasi warna daging

putih, merah, violet mempunyai kulit buah berwarna merah dan daging berwarna kuning berkulit kuning. Buah naga putih dan merah banyak dijumpai di daerah Padang dan daerah sekitarnya seperti Pariaman, Bukit Tinggi, Painan. Variasi warna tersebut menunjukkan kandungan kualitatif maupun kuantitatif pigmen yang berbeda. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi profil pigmen pada kulit buah naga yang dijumpai di daerah Padang dan sekitarnya.

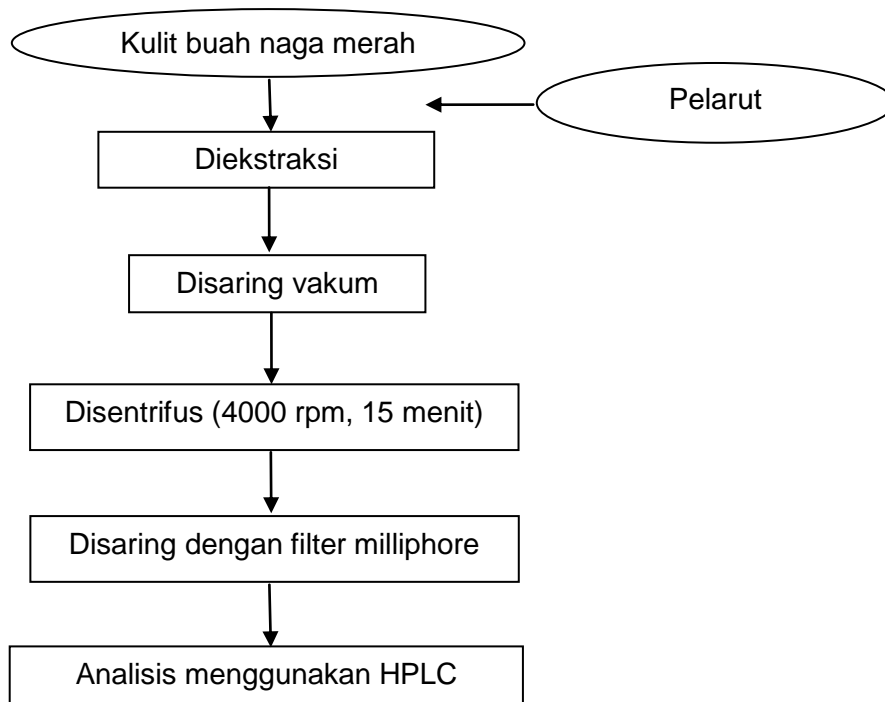
METODOLOGI

Bahan dan Alat

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Teknologi Hasil Pertanian FATETA UNAND. Buah naga merah yang telah disimpan 5 hari dan berasal dari Bukit Tinggi Sumatera Barat. Bahan kimia yang digunakan antara lain : aquades, kalium dihidrofosfat, dikalium hidrophospat, betanin standar, asetonitril, asam format. Alat yang digunakan yaitu termoshaker, pisau, blender, alat gelas, timbangan analitik, HPLC menggunakan Shimadzu UFLC series.

Ekstraksi pigmen

Bahan segar berupa kulit buah naga merah yang telah dicuci, dibersihkan dari sisik, bagian ujung dan bagian pangkal. Kulit yang telah bersih dipotong-potong menjadi bagian yang kecil, kemudian diblender hingga halus. Kulit buah naga yang telah diblender ditimbang, dilarutkan dengan pelarut dan kemudian dishaker menggunakan termosheker. Selanjutnya disaring vakum, disentrifus dan kemudian disaring dengan filter Milliphore (0.2 m *nylon membrane*) dan siap untuk diidentifikasi menggunakan HPLC (Gambar 1).



Gambar 1. : Proses Ekstraksi Betasianin dari Kulit Buah Naga.

Analisis HPLC

Identifikasi pigmen pada kulit buah naga dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian UNAND Padang. Analisis HPLC menggunakan Shimadzu UFLC series. HPLC System dengan *diode array detector* (DAD) yang dioperasikan pada suhu ruang. Data diproses dengan LC solution *Software*. Metode yang digunakan mengacu pada metode yang digunakan untuk mengidentifikasi distribusi betacyanin pada beberapa anggota famili Amaranthaceaea yang salah satunya adalah *C. argentea* var. *cristata* [8] dengan sedikit modifikasi. Kondisi untuk *preparative* HPLC adalah : kolom Zorbax SB-C18 (5 um, 150 x 4.6 mm) dengan *guard coloumn* (5 um, 15 x 9.4 mm) (Agilent Technologies); gradient linier diamati selama 40 menit dari 20% solvent B (*aqueous* 100% asetonitril) dalam solvent A (2.5% *aqueous formic acid*) ke 40% B dalam A+B dengan kecepatan aliran 1 ml/menit. Esktrak diinjeksikan sebanyak 20 l dan dideteksi pada panjang gelombang 530 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bahan segar yang digunakan untuk identifikasi ini adalah kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Tanaman ini dibudidayakan di beberapa daerah di Sumatera Barat yaitu di Padang Pariaman, Padang, Bukit Tinggi dan Painan. Sampel yang digunakan didapatkan di daerah Bukit Tinggi, Sumatera Barat (Gambar 2).



Gambar 2: Buah naga dan kulit buah naga merah

Analisis HPLC

Semua betacyanin berada dalam bentuk *glycosylated* dan berasal dari unit struktur dasar utama, yaitu aglycon betanidin dan isobetanidin (C-15 epimer). Betasianin mempunyai empat subklas, yaitu amaranthin, betanin, gomphrenin dan 2-descarboxy betanin [9]. Betasianin tipe betanin yang merupakan komponen mayor atau minor pada beberapa tanaman penghasil betasianin mempunyai gugus hidroksil yang memungkinkan pembentukan glikosida terutama sebagai 5*O*-glucosides.

Pengukuran HPLC-DAD yang dilakukan terhadap ekstrak air dari sample yang di duga mengandung betasianin diamati pada panjang gelombang deteksi di spektrum sinar tampak dengan rentang panjang gelombang deteksi antara 500 – 550 nm, Pengukuran ini dilakukan karena selain untuk optimasi dari penggunaan diode array detektor yang ada, juga dikarenakan panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang dari kelompok senyawa betasianin yang ada.

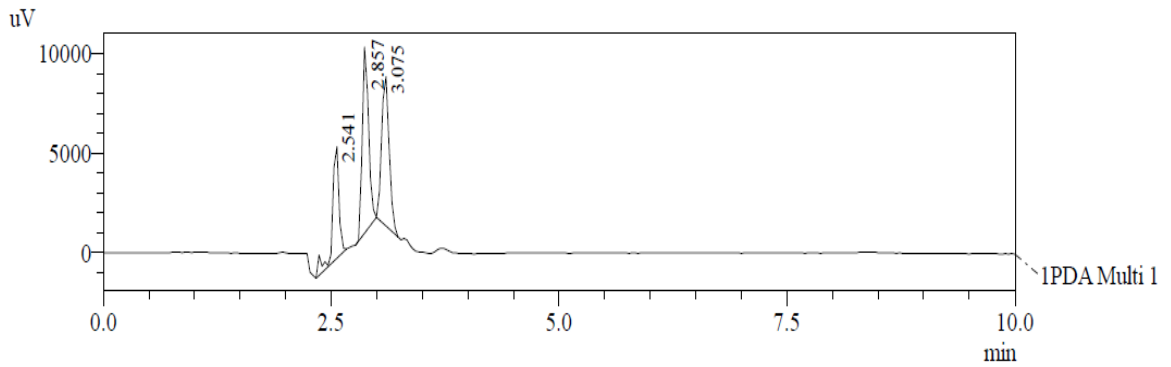
Pada penelitian ini profil HPLC pigmen betanin standar berbeda dengan profil HPLC ekstrak air dari sample ekstrak kulit buah naga merah (Gambar 3), namun hal ini diduga golongan dari pigmen betasianin. Profil ini dideteksi dengan

deteksi diode array yang mana pada profil HPLC sampel menunjukkan 3 puncak utama yang di duga berasal dari serapan senyawa betasianin (Gambar 4). Berdasarkan pengamatan pada tiga panjang gelombang spektrum cahaya tampak yang berbeda dengan doide array detektor terlihat bahwa ketiga puncak yang muncul memiliki profil yang sama dan memiliki resolusi antar puncak yang cukup besar sehingga dapat disimpulkan bahwa pemisahan antara tiga puncak yang diduga kelompok betasianin memiliki pola keterpisahan yang baik. Sedangkan profil larutan standar pigmen betanin keterpisahannya kurang baik jika dibandingkan dengan sampel ekstrak kulit buah naga merah.

Pada profil HPLC semua sampel yang diamati, puncak pertama muncul pada waktu retensi 3,458 menit, diikuti puncak kedua pada waktu retensi 5,64 menit dan puncak ketiga pada waktu retensi 6,165 menit (Tabel 2). Berdasarkan pola kromatogram yang ada dapat dilihat dengan kondisi elusi yang di gunakan secara gradient dengan sistem fase terbalik dengan komposisi fase gerak semi polar (ACN) bergerak dari 20 – 40 %. Dapat di simpulkan bahwa sifat senyawa betasianin yang ada bersifat polar, karena dari kromatogram dapat dilihat waktu retensi puncak yang keluar sangat cepat, berkisar pada komposisi fase gerak non polar masih sekitar 20-25 %.

Dari profil puncak yang ada terlihat juga bahwa puncak kedua yang mewakili senyawa betasianin yang kedua dari tiga jenis betasianin yang ada, memiliki luas area yang paling besar dengan persentasi area sebesar 64,46 % (Tabel 2). Besarnya persentase area dari senyawa kedua ini akan memberikan kontribusi utama terhadap sifat bioaktivitas dari ekstrak yang ada, seperti kemampuan bioaktivitas antioksidan.

Untuk identifikasi lebih lanjut supaya didapatkannya perkiraan dari struktur betasianin yang ada alangkah lebih baik dilakukan pengukuran dengan HPLC-MS/MS. Sesuai keterangan di atas, profil puncak dari kromatogram KCKTDAD yang ada sudah memiliki pola keterpisahan yang ditunjukkan dengan nilai resolusi antara masing-masing puncak yang bernilai besar dari 1, hal ini menunjukan metoda kromatografi yang digunakan sudah cukup baik, sehingga ketika dilakukan fragmentasi ion dengan MS/MS pola fragmentasi setiap molekul senyawa akan dapat dilakukan dengan baik, karena dengan pola keterpisahan yang baik, gangguan dari fragmentasi molekul antar senyawa akan tidak ada.



1 PDA Multi 1 / 530nm 3mm

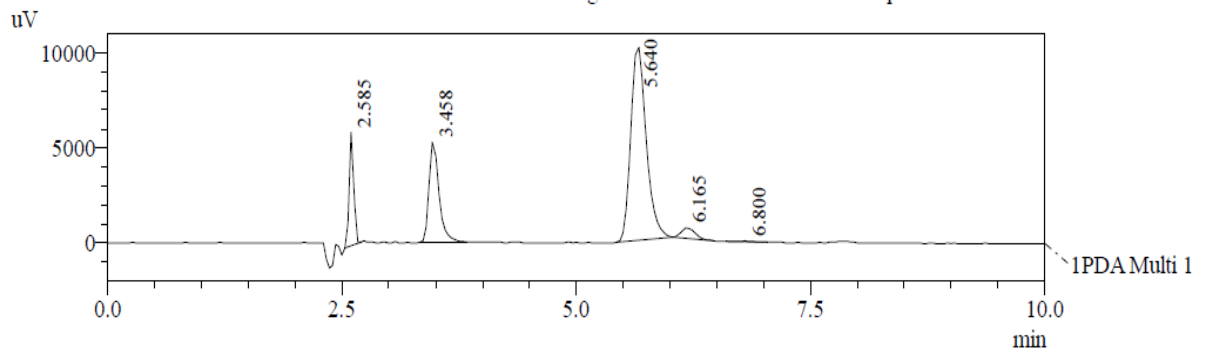
Gambar 3. Profil HPLC larutan standar pigmen betanin

Tabel 1: Waktu retensi dan persentasi luas area pigmen betanin standar

PeakTable

PDA Ch1 530nm 3mm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.541	30073	5711	25.469	25.391
2	2.857	46814	9408	39.648	41.825
3	3.075	41188	7374	34.883	32.784
Total		118076	22493	100.000	100.000



1 PDA Multi 1 / 530nm 3mm

Gambar 4. Profil HPLC pigmen sampel dari kulit buah naga merah

Tabel 1: Waktu retensi dan persentasi luas area pigmen dari kulit buah naga merah

PeakTable

PDA Ch1 530nm 3mm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.585	19154	6022	10.696	27.255
2	3.458	38320	5286	21.399	23.924
3	5.640	115430	10197	64.460	46.151
4	6.165	5483	530	3.062	2.397
5	6.800	686	60	0.383	0.273
Total		179073	22094	100.000	100.000

KESIMPULAN

Profil HPLC larutan standar betanin berbeda dengan profil HPLC sampel, dan diduga merupakan golongan pigmen betasianin. Profil HPLC semua sampel yang diamati, puncak pertama muncul pada waktu retensi 3,458 menit, puncak kedua pada waktu retensi 5,64 menit dan puncak ketiga pada waktu retensi 6,165 menit. Sifat senyawa betasianin yang ada bersifat polar, karena waktu retensi puncak yang keluar sangat cepat, berkisar pada komposisi fase gerak non polar masih sekitar 20-25 %. Puncak kedua mewakili senyawa betasianin yang kedua dari tiga jenis betasianin yang ada, memiliki luas area yang paling besar dengan persentasi area sebesar 64,46 %. Besarnya persentase area memberikan kontribusi utama terhadap sifat bioaktivitas dari ekstrak yang ada, seperti kemampuan bioaktivitas antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya pada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui dana penelitian hibah fundamental.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2013b. Potensi tanaman buah naga. http://www.antarasumbar.com/berita_terkini_kab.padang_pariaman.htm. diakses 25 maret 2013.
- Cai, Y., M. Sun dan H. Corke. 2001. Identification and distribution of simple acylated betacyanin pigments in the Amaranthaceae. *J. Agric. Food Chem.* 49:1971-1978. Strack,
- Cai Y., M. Sun & H. Corke. 2005. HPLC characterization of betasianins from plants in the amaranthaceae, *J. Chromatogr. Sci.*, 43, 454-60.
- Cao S et al., 2012. The effects of host defence elicitors on betacyanin accumulation in *Amaranthus mangostanus* seedlings. *Food Chemistry* 134 : 1715–1718

- D., T. Vogt dan W. Schleimann. 2003. Recent advances in betalain research. *Phytochem.* 62:247- 269.
- Darmawi A.W. 2011. Optimasi proses ekstraksi, pengaruh pH dan jenis cahaya pada aktivitas antioksidan dari kulit buah naga (*Hylocereus p.*). <http://www.google.com/url?space.library.uph.edu:8080/bitstream/123456789/241/1/capter%20.pdf> diakses Februari 2013
- Grotewold, E. 2006. The genetics and biochemistry of floral pigments. *Ann. Rev. Plant Biol.* 57:761-780. Stintzing, F.C. dan R. Carle. 2007. Betalains – emerging prospects for food scientists. *Trends Food Sci. Technol.* 18 : 514 – 525.
- Kanner, K., Harel, S., and Granit, R. 2001. Betalains – A new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5178–5185.
- Khalida Y, 2010. A comparative study on the extraction of betacyanin in the peel and flesh of dragon fruit. Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering Universiti Malaysia Pahang. Malaysia
- Moreno, D.A., C. Garcia-Viguera, J.I. Gil and A. Gil-Izquierdo. 2008. Betasianins in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochem. Rev.* 7(2):261-280.
- Saati. E. 2011. Identifikasi dan uji kualitas pigmen kulit buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) pada beberapa umur simpan dengan perbedaan jenis pelarut. http://researchreport.umm.ac.id/research/download/abstract_research_report_176.pdf diakses Maret 2013
- Schleimann, W., Y. Cai., T. Degenkolb, J. Schmidt dan H. Corke. 2001. Betalains of *Celosia argentea*. *Phytochem.* 58:159-165.
- Stintzing, F.C., J. Conrad, I. Klaiber, U. Beifuss, R. Carle. 2004. Structural investigation on betacyanin pigments by LC NMR and 2D spectroscopy. *Phytochem.* 65:415-422.
- Strack, D., Vogt, T., and Schliemann, W. 2003. Recent advances in betalain research. *Phytochemistry*, 62, 247–269.
- Wu L.C. et al. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry* 95 : 319–327
- Wybraniec, S. et al. 2001. Betacyanins from vine cactus *Hylocereus polyhizus*. *Phytochemistry*, 58, 1209–1212.