

EFEKTIVITAS PENGGUNAAN JENIS PELARUT DAN ASAM DALAM PROSES EKSTRAKSI PIGMEN ANTOSIANIN KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L)

EFFECTIVENESS OF THE USAGE OF VARIOUS SOLVENTS AND ACIDS IN EXTRACTION PROCESS OF ANTHOCYANIN PIGMENTS FROM ROSELLA FLOWER PETALS (*Hibiscus sabdariffa* L)

Ryan Moulana^{1*)}, Juanda¹⁾, Syarifah Rohaya¹⁾ dan Ria Rosika¹⁾

¹⁾ Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Darussalam, Banda Aceh - 23111, Indonesia

^{*)}email: ryanmoulana@gmail.com

ABSTRACT

Anthocyanin is pigments are red, purple and blue that commonly found in plants and can be used as a natural dye. One kind of plant that can be extracted as a source of natural dyes and contain anthocyanin is rosella petals flower. The use of solvents and acids are the factors that determine the quality and quantity of anthocyanin that extracted from rosella petals flower. Therefore in this study will be assessed the influence of the use of appropriate solvents and acids in the process of extraction of anthocyanin from rosella petals flower. Types used are varieties rosella sabdariffa. This research was conducted using Randomized Block Design Factorial consisting of 2 factors that is the type of solvent (J) consisting of ethanol and methanol, as well as the second factor which is the type of acid (P) consisting of tartaric acid, citric acid, and acid acetate. Based on the analysis it was found that the anthocyanin pigment (in red) in rosella petals flower is more stable in the acidic conditions (low pH). Type of acid (P) gives a very significant influence ($P \leq 0.01$) toward pH values and significant influence ($P \leq 0.05$) toward the intensity of the color. Type of solvent (J) that used gives a very significant influence ($P \leq 0.01$) toward the intensity of the color, as well as a significant influence ($P \leq 0.05$) on yield and levels of anthocyanin

Keywords: anthocyanin, solvents, acids, rosella

PENDAHULUAN

Warna merupakan faktor kualitas yang penting bagi makanan. Warna bersamaan dengan bau, rasa, dan tekstur memegang peranan penting dalam penerimaan makanan (Man, 1997). Menyadari pentingnya warna, maka produsen makanan seringkali menambahkan pewarna pada produk makanannya baik berupa pewarna alami (pigmen) ataupun pewarna sintetik. Sejak ditemukannya pewarna sintetik, penggunaan pigmen semakin menurun, meskipun tidak hilang sama sekali. Pewarna sintetik lebih disukai karena lebih ekonomis, praktis dan sifat pewarnaannya yang stabil dan seragam. Beberapa kelemahan yang dimiliki oleh pewarna sintetik diantaranya adalah sifatnya yang karsinogenik dan beracun (Winarno, 1997). Kekhawatiran akan keamanan penggunaan pewarna sintetik mendorong pengembangan pewarna alami sebagai bahan pewarna makanan.

Salah satu pigmen alami yang sering digunakan dalam makanan adalah antosianin. Antosianin merupakan pigmen berwarna merah, ungu dan biru yang biasa terdapat pada jenis tanaman. Antosianin dapat menggantikan penggunaan pewarna sintetik rhodamin B, carmoisin, dan amaranth sebagai pewarna merah pada produk pangan. Antosianin dapat digunakan sebagai pewarna dalam minuman penyegar,

kembang gula, produk susu, roti dan kue, produk sayuran, produk ikan, lemak dan minyak, selai, jelly, manisan, produk awetan dan sirup buah (Burdock, 1997).

Beberapa bahan yang dapat diekstrak sebagai sumber pewarna alami yang mengandung antosianin yaitu kelopak bunga rosella, kubis merah, elderberry, blueberry, ubi jalar ungu, bunga kana, buah duwet, strawberry, daun bayam merah, kulit rambutan, kulit buah anggur dan kulit manggis (Endang *et al.*, 2009). Umumnya cara mengekstrak antosianin menggunakan pelarut dan asam. Fungsi pelarut untuk ekstrak antosianin merupakan faktor yang menentukan kualitas dari suatu ekstraksi, dan memiliki daya yang besar untuk melarutkan. Sedangkan penambahan asam berfungsi untuk lebih mengoptimalkan ekstraksi antosianin. Dalam penelitian yang dilakukan Sari dan Saati (2003), diketahui pelarut dan asam yang terbaik yaitu etanol 96% dengan asam asetat pada proses ekstraksi antosianin dari bunga kana.

Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dikaji pengaruh penggunaan pelarut dan asam yang tepat dalam proses ekstraksi antosianin dari kelopak bunga rosella. Kelopak bunga rosella ini mudah dan murah dibudidayakan, umur panennya singkat, tetapi tingkat konsumsi relatif kurang. Selama ini bunga rosella telah

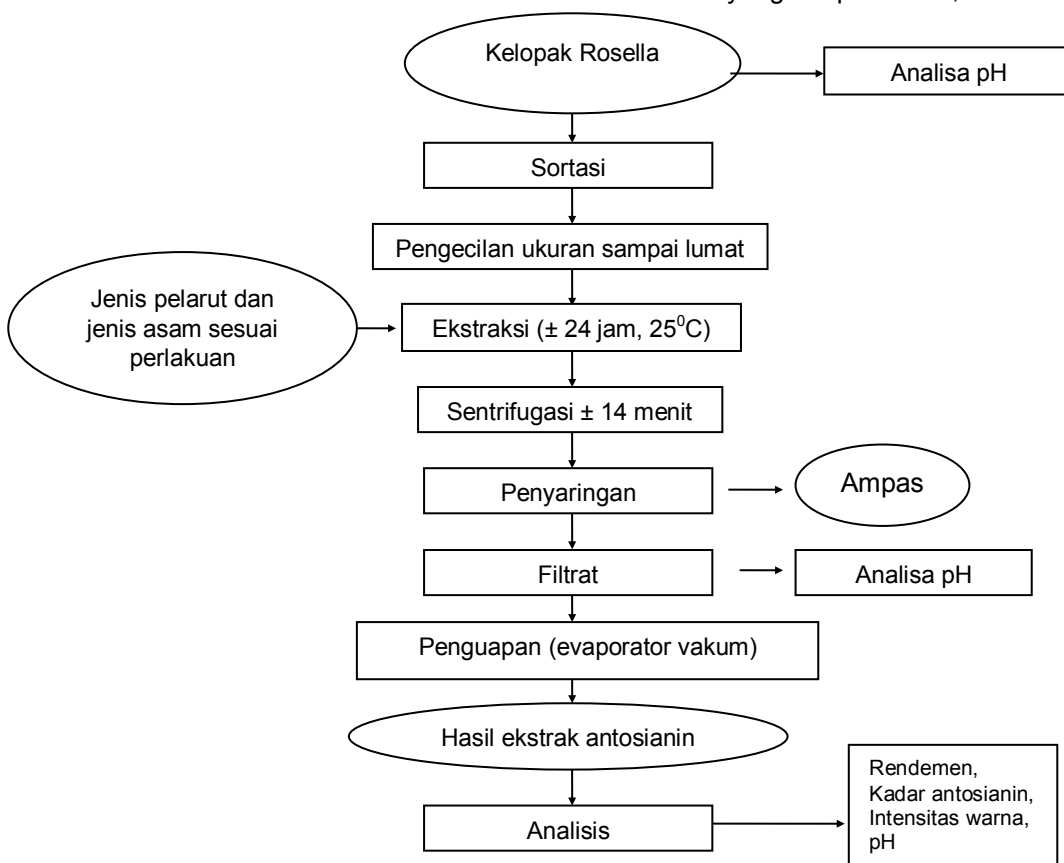
banyak dimanfaatkan sebagai minuman kesehatan, namun jarang diambil ekstrak antosianinnya yang digunakan sebagai pewarna makanan. Bagian bunga rosella yang digunakan sebagai pewarna adalah kelopaknya dan antosianin diekstrak dari kelopak rosella segar dikarenakan kadar antosianin yang terdapat pada kelopak rosella segar lebih tinggi dibandingkan dengan rosella kering (Mardiah, 2010).

METODOLOGI

A. Rancangan Percobaan

Jenis rosella yang digunakan adalah varietas *sabdariffa* dalam kondisi segar. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial yang terdiri dari 2 faktor. Faktor pertama adalah jenis pelarut (J) yang terdiri atas 2 taraf yaitu J1: etanol 96% dan J2: metanol masing – masing sekitar 500 ml. Faktor kedua adalah jenis asam (P) yang terdiri atas 3 taraf yaitu: P1: asam tartarat P2: asam sitrat, P3: asam asetat dengan masing – masing konsentrasi sekitar 0,75%. Kombinasi dari perlakuan ini adalah $2 \times 3 = 6$, dengan menggunakan 4 kali ulangan sehingga terdapat 24 satuan percobaan. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan analisis sidik ragam ANOVA (*Analysis of Variants*).

B. Prosedur Penelitian



Gambar 1. Prosedur Penelitian - Diagram alir ekstraksi antosianin dari rosella

C. Analisis Produk

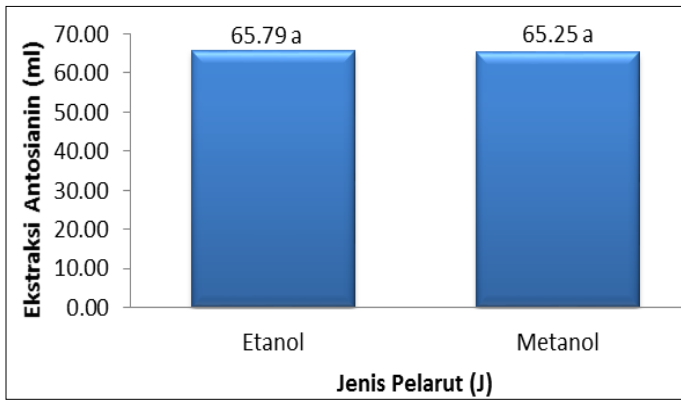
Analisis yang dilakukan meliputi rendemen, kadar antosianin, derajat keasaman / pH dan intensitas warna.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Rendemen Ekstrak Larutan Antosianin

Data analisis menunjukkan bahwa larutan ekstrak antosianin pada berbagai perlakuan berkisar antara 55,01 ml – 75,7 ml dengan rata-rata 65,52 ml. Berdasarkan hasil analisis sidik ragam larutan ekstraksi antosianin menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut (J) berpengaruh nyata ($P \leq 0,05$) terhadap rendemen ekstrak antosianin yang dihasilkan. Pengaruh jenis pelarut terhadap rendemen ekstrak antosianin yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil uji $BNT_{0,05}$ menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut etanol menghasilkan rendemen ekstrak antosianin 65,79 ml yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan jenis pelarut metanol (65,25 ml). Pada perlakuan jenis pelarut tersebut rendemen ekstraksi yang dihasilkan tidak berbeda nyata. Hal ini diduga karena kedua pelarut bersifat polar sehingga mudah diserap oleh membran sel, dimana fungsi pelarut pada ekstraksi dapat memecah membran yang terdapat pada permukaan partikel-partikel jaringan pada kelopak rosella, karena semakin banyak jaringan kelopak rosella yang dipecahkan, maka kadar antosianin yang

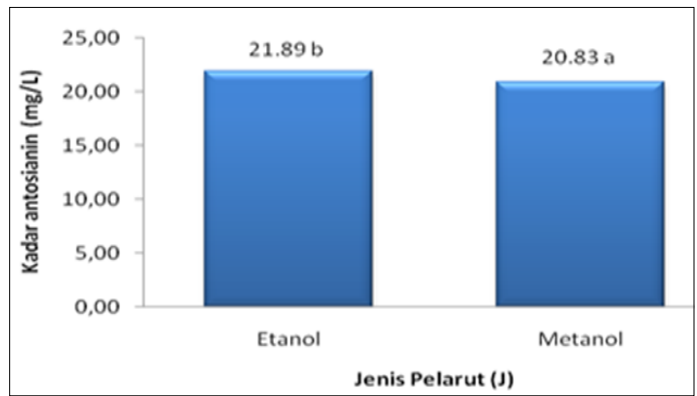


Gambar 2. Pengaruh jenis pelarut (J) terhadap rendemen ekstrak antosianin (Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata, $BNT_{0,05} = 4,23, KK = 7,4178\%$).

dihasilkan akan semakin banyak (Markakis, 1982). Namun menurut Widyastuti (1995), semakin lama waktu ekstraksi dengan suhu $60 - 70^{\circ}C$ semakin banyak antosianin terekstrak namun, dapat menyebabkan kerusakan pada antosianin yang dihasilkan.

B. Kadar Antosianin

Hasil analisis kadar antosianin pada pewarna alami rosella pada berbagai perlakuan berkisar antara 18,21% - 23,71% dengan rata-rata sebesar 21,36%. Berdasarkan hasil sidik ragam kadar antosianin menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut (J) berpengaruh nyata ($P \leq 0,05$) terhadap kadar antosianin yang terdapat dalam pewarna alami rosella. Pengaruh jenis pelarut terhadap kadar antosianin pewarna alami yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil Uji BNT 0,05 menunjukkan bahwa kadar antosianin yang terendah diperoleh pada perlakuan pelarut metanol dengan nilai 20,83%, yang berbeda nyata dengan perlakuan pelarut etanol (21,89%). Hal ini diduga disebabkan karena pigmen antosianin memiliki kepolaran yang relatif sama dengan etanol dan methanol yaitu sama-sama bersifat polar. Tingkat kepolaran etanol maupun methanol sama hanya saja dibedakan dari nilai konstanta dielektriknya. Polaritas sering diartikan sebagai adanya pemisahan kutub muatan positif dan negatif dari suatu molekul sebagai akibat terbentuknya konfigurasi tertentu dari atom-atom penyusunnya. Keadaan ini menyebabkan molekul tersebut dapat tertarik oleh molekul lain yang juga mempunyai polaritas yang sama baik kadar antosianin maupun jenis pelarut. Besarnya polaritas dari suatu zat pelarut mempunyai hubungan tegak lurus dengan besarnya konstanta dielektriknya (ϵ). Nilai konstanta



Gambar 3. Pengaruh jenis pelarut (J) terhadap kadar antosianin (Nilai yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata, $BNT_{0,05} = 1,04, K = 5,5827\%$).

dielektrik etanol adalah 33 dan methanol 30 (Adnan 1997).

Pada penelitian Tensiska dan Een Sukarminah (2007), proses ekstraksi pigmen alami pada buah arben dengan menggunakan etanol dan etil asetat menghasilkan total antosianin yang sangat kecil yakni 7,3 dan 2,4 mg/100 g. Hal ini mungkin disebabkan pelarut etanol dan etil asetat tidak memiliki tingkat kepolaran yang sama dengan polaritas pigmen antosianin buah arben. Namun, pada penelitian ini, penggunaan etanol menghasilkan total antosianin yang lebih tinggi, dimana pelarut etanol memiliki tingkat kepolaran yang relatif sama dengan polaritas pigmen antosianin kelopak rosella.

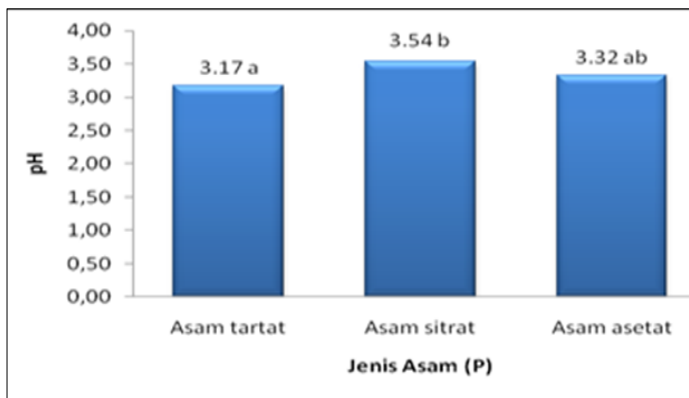
Goodwin dan Mercer (1972) didalam Brouillard (1982), menyatakan antosianin dalam sel tumbuhan terletak dalam vakuola (*aqueous solution*), sehingga kemungkinan besar antosianin bersifat polar. Kelarutan antosianin bunga rosella yang lebih besar dalam etanol juga dapat dipengaruhi oleh terikatnya gula dengan pigmen antosianin akibat adanya glikosilasi pada struktur antosianin dapat meningkatkan stabilitas antosianin (Rein, 2005). Reaksi glikosilasi memberikan kelarutan dan kestabilan terhadap pigmen antosianin. Beberapa jenis gula dapat terglikosilasi misalnya jenis monosakarida hingga disakarida. Glikosilasi struktur antosianidin dengan disakarida relatif lebih stabil dibandingkan dengan monosakarida. Jumlah gugus gula yang terikat juga mempengaruhi stabilitas warna antosianin (Garcia-Viguera dan Bridle, 1999).

C. Nilai pH

Hasil analisis nilai pH pada pewarna alami rosella pada berbagai perlakuan berkisar antara 2,77 –

3,85 dengan rata-rata sebesar 3,35. Nilai pH awal pada kelopak rosella adalah 3,27.

Berdasarkan hasil sidik ragam kadar pH menunjukkan bahwa perlakuan jenis asam (P) berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap kadar pH yang terdapat dalam pewarna alami rosella. Pengaruh jenis asam (P) terhadap pH pewarna alami yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengaruh jenis asam (P) terhadap nilai pH (Nilai yang diikuti huruf yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata, $BNT_{0,01} = 0,35$, $KK = 7,1765\%$).

Hasil uji $BNT_{0,01}$ menunjukkan bahwa nilai pH yang terendah diperoleh pada perlakuan penambahan jenis asam tartarat dengan nilai 3,17, yang berbeda nyata dengan perlakuan penambahan jenis asam sitrat 3,54, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan asam asetat (3,32). Nilai pH sangat berhubungan dengan kadar intensitas warna dan kadar antosianin. Perubahan warna atau terjadinya degradasi warna disebabkan karena perubahan pH. Nilai pH tinggi menyebabkan terjadinya perubahan warna antosianinnya yaitu biru (pH 8), hijau (pH 12), dan kuning (pH 13) yang menunjukkan tingkat perubahan warna antosianin yang dihasilkan pada proses ekstraksi (Sediadi dan Esti, 2000).

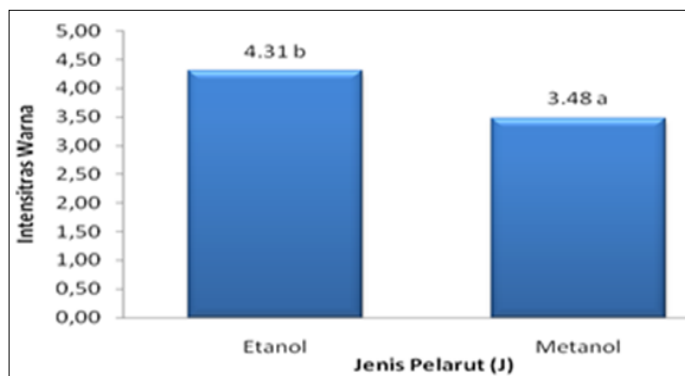
Dalam keadaan asam, struktur dominan antosianin berada dalam bentuk inti kation flavium (aglikon antosianidin) terprotonisasi dan kekurangan elektron (Jackman dan Smith, 1996). Peningkatan nilai pH menyebabkan kation flavium (antosianidin) menjadi tidak stabil dan mudah mengalami transformasi struktural menjadi senyawa tidak berwarna (kalkon). Apabila semakin rendah nilai pH maka warna konsentrat makin merah dan stabil atau jika pH semakin mendekati angka 1 (satu) maka warna semakin stabil. Hal ini disebabkan bentuk pigmen antosianin pada kondisi asam adalah kation flavium dan inti kation flavium, dimana jumlah elektron pada inti kation flavium sedikit

sehingga sangat reaktif. Oleh karena itu, penggunaan ekstrak pigmen bunga rosella pada produk pangan diterapkan untuk produk yang memiliki pH rendah (Markakis, 1982).

D. Intensitas Warna

Intensitas warna yaitu suatu karakteristik cahaya yang dapat diukur panjang gelombangnya. Suatu zat akan berwarna jika zat tersebut melakukan absorpsi selektif sinar yang masuk dan meneruskan sebagian sinar yang tidak diadsorpsi atau sinatr yang lewat. Ekstrak dengan total antosianin yang paling besar akan memiliki intensitas warna yang besar pula. Pada penelitian Tensiska dan Een Sukarminah, (2007), intensitas warna pada buah arben berkisar 0,37 – 2,98 yang relatif lebih rendah dibandingkan intensitas warna pada kelopak rosella yang berkisar antara 2,24 – 5,36. Total antosianin berkorelasi positif dengan intensitas warna. Hasil analisis intensitas warna pada pewarna alami rosella pada berbagai perlakuan berkisar antara 2,24 – 5,36 dengan rata-rata sebesar 3,89. Berdasarkan hasil sidik ragam intensitas warna menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut (J) berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap intensitas warna yang terdapat dalam pewarna alami rosella.

Pengaruh jenis pelarut terhadap intensitas warna pewarna alami yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 5



Gambar 5. Pengaruh jenis pelarut (J) terhadap intensitas warna (Nilai yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata, $BNT_{0,01} = 0,67$, $KK = 11,6687\%$).

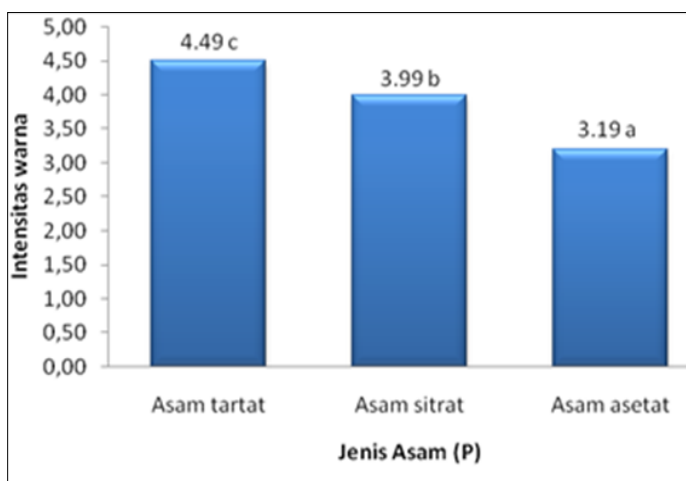
Hasil uji $BNT_{0,01}$ menunjukkan bahwa intensitas warna yang terendah diperoleh pada perlakuan pelarut metanol dengan nilai 3,48, yang berbeda sangat nyata dengan perlakuan pelarut etanol (4,31). Hal ini diduga karena kadar antosianin berkorelasi positif dengan intensitas warna, dimana pelarut pengestrak etanol memiliki intensitas warna yang lebih besar daripada metanol. Ekstrak pekat pigmen bunga rosella dengan

intensitas warna tertinggi berwarna merah. Warna dari ekstrak ini tergantung dari jenis antosianin yang terkandung dalam bunga rosella karena warna khusus yang ditunjukkan dari setiap buah, sayuran maupun bunga secara normal tidak hanya diproduksi oleh pigmen tunggal tetapi lebih disebabkan oleh kombinasi dari beberapa pigmen (Newsome, 1990).

Menurut (Nurmasyitah, (2006), bahwa antosianin yang ditampakkan oleh adanya absorbansi maksimal suatu senyawa pada λ antara 490-525 nm. Jenis antosianin pada kelopak rosella yaitu delphinidin 3 sambusioside dan sianidin 3 sambusioside, dengan panjang gelombangnya 520 nm

Dari keterangan ini diperoleh bahwa sianidin dan delphinidin merupakan jenis antosianidin yang paling dominan terkandung dalam pigmen antosianin kelopak rosella. Beberapa sumber yaitu Jackman dan Smith (1996) serta Savidge (1976) menyatakan bahwa sianidin dan delphinidin berperan dalam warna oranye merah, merah tua, merah keunguan, hingga merah kebiruan. Oleh karena itu, kombinasi dari antosianin inilah yang mungkin berperan pada warna merah dari ekstrak pekat pigmen alami kelopak rosella. Pengaruh jenis asam (P) terhadap intensitas warna pewarna alami yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 6.

Hasil uji $BNT_{0,05}$ menunjukkan bahwa intensitas warna yang tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan jenis asam tartarat dengan nilai 4,49, yang berbeda nyata dengan perlakuan penambahan jenis asam sitrat 3,99, serta dengan perlakuan penambahan asam asetat (3,19). Perbedaan jenis asam yang ditambahkan juga berpengaruh terhadap intensitas warna yang dihasilkan. Hal ini diduga karena



Gambar 6. Pengaruh jenis asam (P) terhadap intensitas warna (Nilai yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan nyata, $BNT_{0,05} = 0,39$, $KK = 11,6687\%$).

penambahan jenis asam dapat berpengaruh terhadap lingkungan pH rendah yang dapat merubah pewarna semakin baik dan pH yang tinggi akan membuat pewarna semakin tidak baik (Lemmens dan Wulijarni-Soetjipto, 1999).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ekstraksi antosianin terhadap parameter yang diamati, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Penggunaan jenis pelarut dan asam merupakan faktor yang menentukan dalam proses ekstraksi antosianin dari kelopak rosella.
2. Pigmen antosianin pada kelopak rosella lebih stabil (berwarna merah) dalam keadaan asam yaitu pH rendah.
3. Jenis asam (P) yang ditambahkan pada ekstraksi antosianin memberikan pengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap nilai pH dan berpengaruh nyata ($P \leq 0,05$) terhadap intensitas warna.
4. Jenis pelarut (J) yang digunakan berpengaruh sangat nyata ($P \leq 0,01$) terhadap intensitas warna, serta berpengaruh nyata ($P \leq 0,05$) terhadap rendemen ekstrak larutan antosianin dan kadar antosianin

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M. 1997. Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Burdock, G.A. 1997. Encyclopedia of Food and Color Additives. CRC Press, Inc. New York.
- Brouillard, R. 1982. Chemical Structure of Anthocyanins. di dalam Anthocyanins as Food Colors. Academic Press. New York.
- Endang, K., Dwi. A. S, Agus. W dan Adi. T. 2009. Zat Pewarna Tekstil Dari Kulit Buah Manggis. Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Surakarta, Surakarta.
- Garcia-Vieguera C., and Bridle, P., 1999. Influence of Structure on Colour Stability of Anthocyanins and Flavylum Salts with Ascorbic Acid. Food Chemistry 64: 21-26

- Jackman, R.L. and J.L. Smith. 1996. Anthocyanins and Betalainins. Di dalam *Natural Food Colorants*. Hendry, G.A..F. dan J.D. Houghton (ed.). Blackie Academic & Professional, London.
- Lemmens RHMJ and Wulijarni-Soetjpto, N. 1999. *Plants Resource of south- east Asia. Bibliography 3 : Dye and Tannin- Producing Plants*, Bogor.
- Mardiah, S. 2010. *Budidaya dan Pengolahan Rosella si Merah Segudang Manfaat*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Man, J.M. de. 1997. *Kimia Makanan*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Markakis, P. 1982. Anthocyanins as Food Additives. Di dalam *Anthocyanins as Food Colors*. Markakis, P. (ed.). Academic Press, New York.
- Newsome, R.L. 1990. Natural and Synthetic Coloring Agents. Di dalam *Food Additives*. Braner, A.L., P.M. Davidson and S. Salminen (eds.). Marcel Dekker, Inc, New York.
- Nurmasyitah. 2006. *Pengaruh Konsentrasi Pupuk TGH terhadap Rosella Varietas Althissma dan Sabdariffa*. Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala Banda Aceh.
- Rein, Maarit,. 2005. *Copigmentation Reactions And Color Stability Of Berry Anthocyanins*. Academic dissertation. To be presented, with the permission of the Faculty of Agriculture and Forestry of The University of Helsinki. Helsinki
- Sari, Diah Permata & Saati, Elfi Anis,. 2003. *Pengujian Efektivitas Penggunaan Jenis Pelarut dan Asam dalam Ekstraksi Pigmen Antosianin Bunga Kanan*. Skripsi. Jurusan THP, Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Savidge, J.P. 1976. *The Angiosperm Flower and Related Structures*. Di dalam *Plant Structure, Function and Adaptation*. M.A. Hall (ed.). The Macmillan Pres Ltd. London and Basingstoke.
- Sediadi, A., dan Esti. 2000. *Keripik Antosianin Ubi Jalar*. [http: //bebas.vslm.org](http://bebas.vslm.org) [06 Oktober 2010]
- Tensiska dan Een Sukarminah, 2007. *Ekstraksi Pewarna Alami dari Buah Arben dan Aplikasinya Pada Sistem Pangan*. Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian UNPAD, Bandung.
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Widyastuti. 1995. *Mempelajari Pengaruh perbandingan Serbuk Kunyit (Curcuma domestica Val) Dengan Pelarut dan Lama Ekstraksi terhadap Produksi Kurkumin*, Skripsi Fakultas Pertanian , Institut Pertanian Bogor, Bogor.