

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Metode Penyesuaian dengan Kajian Artikel

Kajian adalah uraian tentang teori, temuan, dan bahan penelitian lainnya yang diperoleh dari bahan acuan untuk dijadikan landasan kegiatan penelitian untuk menyusun kerangka pemikiran yang jelas dari perumusan masalah yang ingin diteliti. Di sumber yang lain mengatakan, kajian artikel adalah analisa berupa kritik (membangun maupun menjatuhkan) dari penelitian yang sedang dilakukan terhadap topik khusus atau pertanyaan terhadap suatu bagian dari keilmuan. Kajian artikel merupakan cerita ilmiah terhadap suatu permasalahan tertentu. Kajian artikel berisi ulasan, rangkuman, dan pemikiran penulis tentang beberapa sumber pustaka (artikel, buku, slide, informasi dari internet, dll) tentang topik yang dibahas. Review jurnal yang baik harus bersifat relevan, mutakhir, dan memadai. (Ari, *et al.*, 2007)

Langkah – langkah dalam melakukan kajian artikel menurut Listyaningsih 2007 adalah sebagai berikut :

1. Formulasikan Permasalahan, pilihlah topik yang sesuai isu dan minat dan permasalahan harus ditulis secara lengkap dan tepat.
2. Cari artikel, cari artikel yang relevan dengan penelitian, dapatkan gambaran (*overview*) topik penelitian, sumber - sumber penelitian sangat membantu bila didukung pengetahuan topik yang dikaji.
3. Evaluasi Data, lihatlah kontribusi apa saja terhadap topik yang dibahas, cari dan temukan sumber data yang tepat sesuai kebutuhan guna mendukung penelitian, data bisa berupa data kualitatif, data kuantitatif maupun data yang berasal dari kombinasi keduanya.
4. Analisis dan Interpretasikan, diskusikan dan temukan serta ringkas artikel.

B. Informasi Jumlah dan Jenis Artikel

Penelitian ini menggunakan pendekatan metode kajian artikel dengan melakukan studi literatur dari penelitian – penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya. Pencarian artikel melalui situs *google scholar*, jurnal internasional terdaftar di *scimago* dan artikel nasional terdapat di *sinta*. Untuk dapat tersusunya penelitian ini maka menggunakan beberapa artikel nasional dan internasional. 1 artikel nasional terakreditasi SINTA, 4 artikel nasional pendukung yang ber- ISSN dan 2 jurnal internasional yang terdaftar di *scimago*. Semua artikel merupakan hasil dari penelitian (jurnal original) dengan menggunakan metode eksperimental.

C. Isi Jurnal

1. Jurnal Pertama

Judul jurnal	:	Identifikasi Betasianin dan Uji Antioksidan Ekstrak Buah Bit Merah (<i>Beta vulgaris L</i>)
Nama jurnal	:	Indonesian Journal of Chemical Science
Penerbit	:	Jurusan FMIPA Universitas Negeri Semarang
Volume (No) & halaman	:	5 (3) ; 217 – 220
Tahun terbit	:	2016
Penulis jurnal	:	Stephanie Mutiara Novatama
Isi jurnal		

- Tujuan penelitian : Untuk mengetahui kadar betasianin di dalam buah bit merah dan mengetahui aktivitasnya sebagai antioksidan

Metode penelitian

- Desain : Jurnal ini menggunakan metode eksperimental dengan pendekatan kuantitatif, identifikasi senyawa betasianin dan aktivitas antioksidannya dianalisis dengan metode KCKT dan Spektrofotometri UV_Vis.
- Populasi dan sampel : Penelitian ini menggunakan 1 sampel ekstrak buah bit merah (*Beta vulgaris L*).
- Instrument : Alat-alat gelas, *rotary evaporator*, labu alas bulat, kondensor, labu destilasi untuk sampel, air pendingin masuk dan keluar, *thermometer*, kompor spiritus, seperangkat alat KCKT dan Spektrofotometer UV_Vis.
- Metode analisis :

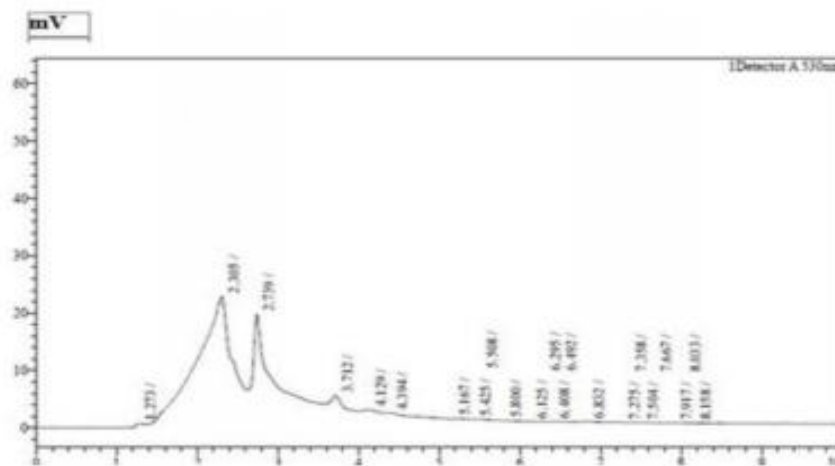
Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi menggunakan pelarut n-heksan *pro analyst* yang telah didestilasi

dan etanol 70% yang telah didestilasi. Hasil maserasi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* kemudian ekstrak diidentifikasi senyawa betasianinnya dengan KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) dan Spektrofotometri UV_Vis untuk mengidentifikasi aktivitas antioksidannya. Metode analisis KCKT yang digunakan dengan kondisi sebagai berikut kolom *RP18 Hibar C18 (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m)*, yang dioperasikan pada suhu 25°C dengan kecepatan alir sebesar 1 mL/min, fase gerak yang digunakan yaitu *Gradient acetonitrile : 2,5% formic acid*. Ekstrak diinjeksikan sebanyak 20 μ L dan dideteksi pada panjang gelombang 530 nm dan Spektrofotometri UV_Vis pada panjang gelombang 517 nm dan nilai aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *IC50 (Inhibitory Concentration)*.

Hasil penelitian :

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, karena prosesnya yang mudah dan aman untuk bahan alam tidak tahan terhadap panas. Kemudian hasil ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* selanjutnya hasil yang diperoleh digunakan untuk analisis KCKT dan UV_Vis. Hasil profil analisis KCKT pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 3.1. Pada puncak pertama muncul pada waktu 2,305 menit, puncak kedua muncul pada waktu retensi 2,739 menit, dan puncak keempat muncul pada waktu retensi 3,172 menit. Hasil analisis KCKT menunjukkan bahwa ekstrak buah bit merah mengandung betasianin, hal ini ditunjukkan pada waktu retensi 2,739 menit dengan persen area terbesar yaitu 16,45%. Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Anni, *et al* pada tahun 2014 hasil identifikasi

betasianin pada sampel ekstrak etanol buah bit merah tidak berbeda jauh atau hamper mirip. Pigmen standar betasianin muncul pada waktu retensi 2,857 menit dengan persen area 41,82%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel sampel ekstrak etanol buat bit merah mengandung senyawa betasianin yang muncul pada waktu retensi 2,739 menit dengan persen area sebesar 16,45%. Sedangkan hasil uji aktivitas antioksidan dari buah bit merah menunjukkan bahwa buah bit merah memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 79,73 bpj.



Gambar 3. 1 Profil KCKT Ekstrak Buah Bit Merah
(Sumber : Novatama, 2016)

Kesimpulan dan saran : Ekstrak Buah Bit Merah terdapat senyawa betasianin dan berpotensi sebagai antioksidan yang kuat.

2. Jurnal Kedua

Judul jurnal : Pengaruh Umur Simpan Buah Naga dan Jenis Pelarut Terhadap Ekstrak Betasianin dan Jenis Pelarut Terhadap Ekstrak Betasianin dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Nama jurnal : Jurnal Rekapangan

Penerbit : Fakultas Pariwisata dan Perhotelan, Univeritas Negeri Padang

Volume (No) & halaman : 11 (2) ; 1 – 11

Tahun terbit : 2016

Penulis jurnal : Anni Faridah

Isi jurnal

- Tujuan penelitian : Untuk mendapatkan ekstrak betasianin yang maksimal dengan pengaruh umur simpan ekstrak buah naga merah dan jenis pelarut yang digunakan.

Metode penelitian

- Desain : Jurnal ini menggunakan metode eksperimental dengan pendekatan kuantitatif, rancangan penelitian dengan RAL (Rancangan Acak Lengkap) 2 faktorial yaitu pengaruh perbandingan kombinasi umur simpan dan pelarut.
- Populasi dan sampel : Penelitian ini menggunakan 1 sampel kulit buah naga merah yang di dapat dari sentra budidaya buah naga di Sumatra Barat Kabupaten Padang Pariaman. Sampel kulit buah naga yang digunakan untuk analisis diekstraksi.
- Instrument : *Diss mill*, timbangan analitik, *shaker*, *sentrifuge*, oven, alumunium foil, saringan vakum, kertas saring whatman no.1, *rotary evaporator*, pH meter, *hot plate*, *thermometer*, spektrofotometer UV_Vis, *chromameter*, erlenmayer, tabung

reaksi, pengaduk, kompor, serta peralatan gelas.

- Metode analisis :

Metode ekstraksi dilakukan pada suhu kamar yaitu 25°C, dimana 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; aquades + aquades, aquades + asam asetat, aquades + asam sitrat, etanol + asam asetat, etanol + asam sitrat. Proses ekstraksinya adalah kulit buah naga diekstraksi dengan pelarut kemudian disaring vakum dan disentrifus (4000 rpm, 15 menit), filtrate yang didapat merupakan ekstrak kental pigmen betasianin. Analisis senyawa betasianin pada ekstrak kulit buah naga dengan cara mengambil 4 mL filtrate dari ekstrak betasianin kulit buah naga dipipet kedalam labu ukur 10 mL yang telah dilapisi dengan kertas karbon. Kemudian ditambahkan buffer posfat pH 6,5 hingga tanda batas, dihomogenkan. Absorban diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 530 nm. Setelah absorbansi dari sampel didapat, maka konsentrasi sampel dapat ditentukan dengan menggunakan rumus persamaan regresi ; $Y = ax + b$.

Hasil penelitian :

Ekstraksi senyawa betasianin kulit buah naga menggunakan berbagai macam perbandingan pelarut. Perbandingan pelarut yang digunakan akuades + asam asetat 10%, akuades + asam sitrat 10%, etanol 95%, etanol + asam sitrat 10%, etanol 95%, etanol + asam sitrat 10% dan etanol + asam sitrat 10% yang menghasilkan filtrate berwarna merah violet seperti warna pada pigmen betasianin. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol dan akuades tingkat

kepolarannya mendekati tingkat kepolaran betasianin sehingga dapat melarutkan betasianin dan ekstraksi dapat berlangsung secara sempurna dalam pelarut. 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). Ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah ditampakkan pada panjang gelombang maksimum 530 nm, nilai absorbansi tertinggi dari semua pelarut yang digunakan yaitu absorbansi pada umur simpan hari kelima dengan jenis pelarut akuades. Kombinasi perlakuan umur simpan hari kelima dengan jenis pelarut akuades menghasilkan pigmen kulit buah betasianin dengan kualitas terbaik, dengan nilai absorbansi 0,499, konsentrasi 1243,6 ppm, intensitas warna 3,05. Nilai tertinggi untuk rendemen dan zat padat terlarut yaitu pada umur simpan hari pertama dengan pelarut akuades + asam sitrat yaitu 34,03% zat padat terlarut 3,457%.

Kesimpulan dan saran : Ekstrak betasianin dari kulit buah naga merah diidentifikasi dengan spektrofotometer UV_Vis pada panjang gelombang maksimum 530 nm.

3. Jurnal Ketiga

- Judul jurnal : Hydrophilic Interaction Chromatography as an Alternative to Reversed-Phase HPLC in Determining Anthocyanins and Betacyanins
- Nama jurnal : Journal of Analytical Chemistry
- Penerbit : Pleiades Publishing
- Volume (No) & halaman : 71 (3) ; 297 - 301
- Tahun terbit : 2016
- Penulis jurnal : Deineka, I.I. Saenko, L.A. et al
- Isi jurnal
- Tujuan penelitian : Untuk mengembangkan prosedur identifikasi senyawa antosianin dan betasianin dengan metode KCKT dibawah kondisi HILIC (*Hydrophilic Interaction Chromatography*) serta menentukan pola retensinya.
- Metode penelitian
- Desain : Jurnal ini menggunakan metode eksperimental dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif.
 - Populasi dan sampel : Penelitian ini menggunakan 2 sampel tumbuhan yaitu tanaman

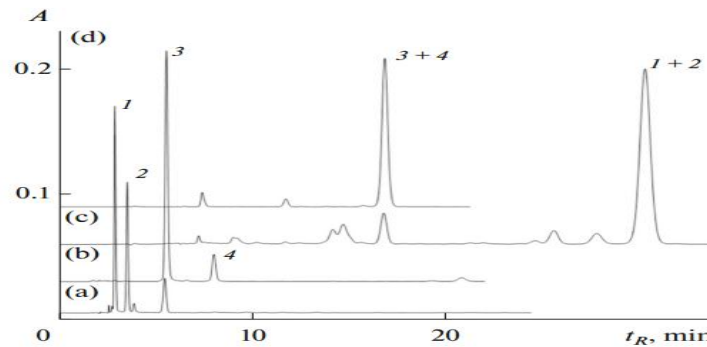
akar bit merah dan daun merah amaranth yang dianalisis melalui proses ekstraksi.

- Instrument : Kromatografi agilent 1260 sistem infinity dengan detector diode array, kolom kromasil 60-5DIOL (250x4,6 mm) dengan fase gerak asam format/fosfat ; asetonitril ; air. Dengan pembanding kolom kromatografi fase terbalik konvensional (250x4,6 mm ; 5 m), kolom C18-AQ (5µm) untuk betasianin isokratik. Suhu oven yang digunakan adalah 40°C dan 30°C.

- Metode analisis : Percobaan pertama dengan KCKT, ekstrak dibuat maserasi dengan pelarut HCL 0,01 M kemudian fase padat dicuci dengan HCL 0,01 M sebanyak 2 mL (untuk ekstraksi betasianin dan antosianin). Kemudian untuk metode HILIC elusi yang digunakan adalah 50% asetonitril ; air dan penambahan 10% asam format atau 0,5% asam ortofosfat sampai berubah warna lapisan adsorben. Kemudian ekstrak yang didapatkan diencerkan sebanyak 3 kali lipat dengan campuran anhidrat. Analisis RP KCKT, antosianin dielusi dengan campuran (asam asetonitril 30; asam format 30; air40) ditambahkan oleh pengenceran 3 kali lipat dengan air.

Sedangkan untuk betasianin diencerkan dengan campuran (asetonitril 28; asam format 8 ; air asam 8) ditambahkan dengan pengenceran 4 kali lipat air.

Hasil penelitian :



**Gambar 3. 2 Pemisahan Ekstrak Betasianin dari Beberapa Tanaman
(Sumber : Deineka *et al.*, 2016)**

Dari gambar peak yang dihasilkan dapat dilihat pemisahan betasianin dari ekstrak (a dan c) adalah daun bayam, (b dan d) adalah akar bit. Sedangkan peak nomor (1) tanaman amaranth, (2) tanaman isoamaranthi, (3) betanin, (4) iso betanin. (a dan c) kolom yang digunakan adalah Resorosil-Pur AQ-C18 (250 x 4,6 mm, 5 μ m), fase gerak CH₃CN – HCOOH – air (6:2:92), kecepatan alir 1 mL/menit dengan panjang gelombang 538 nm. (b dan d) menggunakan kolom kromasil 60-5 DIOL (250 x 4,6 mm), dengan fase gerak CH₃CN – H₃PO₄ – H₂O (85:0,5:14,5) menggunakan kecepatan alir 1 mL/menit dan panjang gelombang 538 nm. Betanin dan isobetanin memiliki waktu retensi yang lebih rendah dari pada amaranth dan iso amaranthi karena betanin dan iso betanin mempunyai gugus OH yang lebih banyak. Sehingga analisis senyawa betasianin tidak memerlukan alternative HILIC.

Kesimpulan dan saran : Identifikasi dengan metode HILIC sebagai alternative dari metode KCKT terlihat sangat efisien untuk klasifikasi awal senyawa antosinin berdasarkan jenis glikosilasi. Sedangkan untuk senyawa betasiani masih dapat menggunakan metode KCKT tanpa harus menggunakan alternative HILIC.

4. Jurnal Keempat

Judul jurnal : Influence of Conventional and Ultrasonic-Assisted Extraction on Phenolic Content, Brtacyanin Content, and Antioxidant Capacity of Red Drago Fruit (*Hylocererus polyrhizus*)

Nama jurnal : The scientific world jurnal

Penerbit : Hindawi publishing corporation

Volume (No)& halaman : 2014 ; 1 – 7

Tahun terbit : 2014

Penulis jurnal : Nurul Shazini Ramli *et al*

Isi jurnal

- Tujuan penelitian : Untuk mengidentifikasi pengaruh metode ekstraksi terhadap total

fenolik, betasianin dan aktivitasnya sebagai antioksidan pada ekstrak kulit dan daging buah naga merah

Metode penelitian

- Desain : Jurnal ini menggunakan metode eksperimental dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif.
- Populasi dan sampel : Daging dan kulit buah naga, kedua sampel dibersihkan dan dipotong menjadi kubus kecil kemudian di freezer dengan suhu - 80°C, sampel dikeringkan kemudian diekstraksi.
- Instrument : Seperangkat alat untuk ekstraksi secara konvensional dan ultrasonic serta seperangkat alat UV_Vis untuk analisis total betasianin, total fenol, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan.

Metode analisis :

Ekstraksi dilakukan dengan 2 metode yaitu metode konvensional dan ultrasonic. Identifikasi betasianin dilakukan dengan masing – masing

sampel yang akan diekstraksi dihomogenkan dengan 25 mL aquades untuk dagingnya dan 50 mL untuk kulitnya, selama beberapa menit. Untuk metode ekstraksi konvensional campuran diaduk dengan pengocok incubator pada 200 rpm selama 120 menit pada suhu 50°C. mucilage yang dihasilkan disaring dengan kertas saring Whatman No.1 kemudian filtrate diekstraksi kembali menggunakan air. Selanjutnya campuran tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit, supernatant yang dihasilkan disimpan. Untuk metode ekstraksi ultrasonik prosesnya sama hanya pengaduknya saja yang berbeda. hasil ekstrak yang dihasilkan diliofilisasi dalam pengering beku kemudian ekstrak kering beku ditimbang. Senyawa betasianin dihitung dengan metode *Wybraniec* dan *Mizrahi* dengan sedikit modifikasi dimana absorptivitas molar rata – rata ditetapkan pada 65000 untuk betanin. Senyawa betasianin dari ekstrak kering ditentukan dengan metode trofometrik dan dinyatakan sebagai ekuivalen betanin (mg/100 g ekstrak kering) berdasarkan rumus :

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi Betasianin (mg/ 100 g ekstrak kering)} \\ = 538 \text{ (MW) (DF) } \times 100 \end{aligned}$$

Dimana 538 adalah absorbansi pada 538 nm, MW adalah berat molekuler = 550, DF adalah faktor dilusi. Pada jurnal ke-4 ini banyak perbedaan dari jurnal sebelumnya, dari metode ekstraksinya sampai dengan metode analisisnya. Metode ekstraksi menggunakan pelarut air, dapat dikatakan relevan mengingat sifat betasinin adalah polar. Sedangkan untuk metode analisis senyawa betasianin menggunakan metode spektrofotometer, metode analisis menggunakan spektrofotometer tidak efisien untuk mengidentifikasi senyawa sehingga identifikasi lebih relevan

menggunakan metode KCKT. Sedangkan pada jurnal ke-5 penelitian yang dilakukan oleh Lydia Ninan Lestario *et al* pada tahun 2011 berjudul Kandungan antosianin dan Identifikasi Antosinin dari Kulit Buah Jeruk Jenitri (*Elaeocarpus angustifolius* Blume) analisis metode menggunakan KCKT dengan kondisi fase diam : Euroshape RP C18, 5 μ m, 150 x 4,6 mm. fase gerak : 10% asam format (dalam air) ; asetonitril (85;15 v/v). kecepatan alir ; 1,2 mL/menit dengan volume injeksi 20 μ L yang dideteksi pada panjang gelombang 530 nm. Setelah itu dilakukan analisis statistic untuk mengetahui nilai signifikan dari 3 identifikasi senyawa yang telah dilakukan, analisis statistic menggunakan SPSS-Independent T-test dengan nilai signifikasi P = 0,05.

Hasil penelitian :

Ekstrak kering dari kulit dan daging buah naga di ekstraksi menggunakan metode ultrasonic dan konvensional. Namun hasil ekstraksi tertinggi diperoleh dari kulit buah naga merah menggunakan metode konvensional sebesar 95,25% sedangkan hasil ekstrak daging buah naga merah sebesar 90,08% menggunakan metode ultrasonik. Hasil analisis senyawa betasianin pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstraksi dengan metode konvensional lebih efektif untuk mengekstraksi betasianin dari kulit dan daging buah naga merah. Senyawa betasianin sangat sensitive terhadap suhu tinggi. Hampir 90% retensi pigmen berkurang dengan meningkatnya suhu dari 25°C sampai 75°C, namun ekstraksi dengan metode konvensional tidak menurunkan total senyawa betasianin dalam penelitian ini. Hasil total senyawa betasianin pada penelitian ini terdeteksi secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya

yang dilakukan oleh Tang dan Norziah pada tahun 2007 menggunakan suhu kamar 25°C. Total senyawa betasianin yang dihasilkan ekstrak kulit dan buah naga merah masing – masing sebesar $10,1 \pm 0,6$ mg / 100 g berat kering dan $6,7 \pm 0,2$ mg / 100 g. Metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan sangat mempengaruhi hasil analisis senyawa betasianin.

Kesimpulan dan Saran : Metode ekstraksi sangat berpengaruh terhadap hasil yang didapat dari identifikasi total fenolik, betasianin dan aktivitas antioksidannya

5. Jurnal Kelima

Judul jurnal : Kandungan Antosianin dan Identifikasi Antosinin dari Kulit Buah Jeruk Jenitri (*Elaeocarpus angustifolius* Blume)

Nama jurnal : Agritech

Penerbit : Universitas Kriste Satya Wacana

Volume (No) & halaman : 21 (2) ; 93 - 100

Tahun terbit : 2011

Penulis jurnal : Lydia Ninan Lestario *et al*

Isi jurnal

- Tujuan penelitian : Untuk menentukan kandungan antosianin total dari Kulit Buah Jeruk Jenitri (*Elaeocarpus angustifolius* Blume) dan

mengidentifikasi jenis antosianidin dan antosianinnya (sehingga dapat mengetahui perbedaan antosianin dan betasianin).

Metode penelitian

- Desain : Jurnal ini menggunakan metode eksperimental dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif, identifikasi senyawa diukur dengan perbedaan pH sedangkan untuk menentukan jenis senyawa ditentukan dengan KLT, spektrofotometer UV_Vis, dan KCKT.
- Populasi dan sampel : Penelitian ini menggunakan 1 sampel kulit buah jenitri (*Elaeocarpus angustifolia Blume*) yang didapat langsung dari daerah Salatiga.
- Instrument : Alat gelas, *waterbath*, corong pisah, kolom kromatografi (diameter = 1,5 cm ; panjang = 20 cm), *rotary evaporator*, neraca analitik ketelitian 0,0001 g,

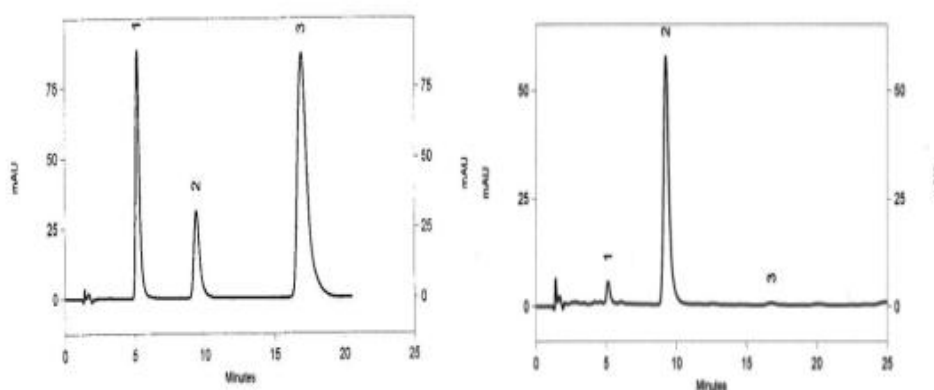
spektrofotometri UV_Vis, dan KCKT dengan detektor UV, kolom fase terbalik (dimensi = 150 x 4,6 mm ; ukuran partikel 5 μ m).

- Metode analisis :

Identifikasi antosinini ekstrak kulit buah jenitri dilakukan dengan 3 metode yaitu metode KLT. Metode KLT dilakukan dengan menotolkan ekstrak pada pelat selulosa kemudian dikeringkan dengan uap gas N₂ selanjutnya dilakukan pengembangan satu arah dengan fase gerak BAA (n-butanol;asam asetat;H₂O = 4;1;5 v/v lapisan atas) dan HCL 1% (H₂O;HCL pekat = 97;3 v/v) kemudian diamati dibawah sinar UV dan masing-masing nilai R_f tiap spot dicocokkan dengan tabel referensi antosianin. Identifikasi antosianin dengan metode spektrofotometri dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang maksimum dari setiap spot terpisah, penambahan AlCl₃ dilakukan untuk melihat ada atau tidaknya pergeseran batokromik yang menandakan ada atau tidaknya gugus ortohidroksi. Identifikasi dengan metode KCKT dilakukan dengan menginjeksikan ekstrak antosianin yang telah dimurnikan dengan Sep-Pak Cartridge C18 menggunakan fase diam : eurosphere RP C18 (150 x 4,6 mm, 5 μ m) dan fase gerak : (10% asam format dalam air ; asetonitril = 85 ; 15 v/v), kecepatan alir 1,2 mL/menit, volume injeksi 20 μ L dan detektor UV (I 530 nm). Identifikasi antosianin dilakukan berulang sampai diperoleh pemisahan yang baik, sedangkan pengukuran kandungan antosianin total dengan 5 kali reparasi.

Hasil penelitian :

Hasil identifikasi senyawa antosianidin dan antosianin dengan analisis metode KLT, spektrofotometri UV_Vis, dan KCKT. Penelitian ini dipilih sebagai review artikel untuk membandingkan metode identifikasi senyawa yang paling efektif. Karena senyawa tersebut merupakan golongan flavonoid, satu golongan dengan betasianin yang mempunyai tingkat kepolaran yang tinggi terhadap akuades. Hasil penelitian ini menjelaskan bahwa analisis metode dengan KLT dan spektrofotometri UV_Vis hanya menunjukkan satu jenis senyawa antosianidin namun ketika diidentifikasi dengan metode KCKT terdapat 2 jenis senyawa antosianin. Hal ini membuktikan bahwa metode KCKT sangat efektif untuk mengidentifikasi suatu senyawa.

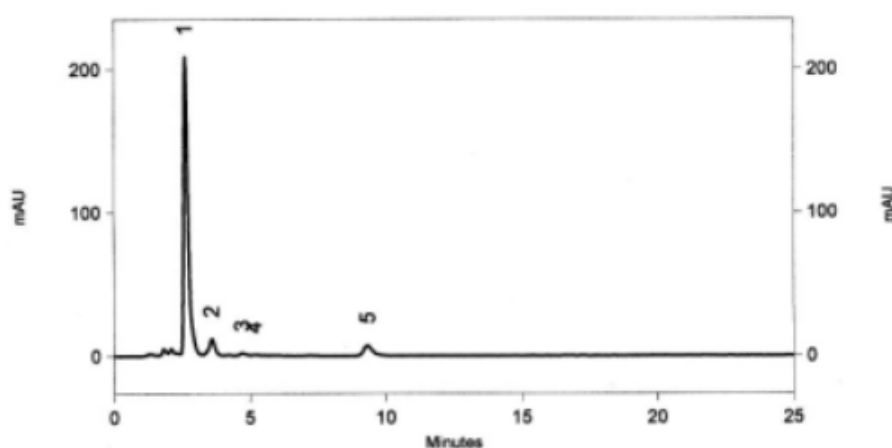


Gambar 3. 3 Profil KCKT Senyawa Antosianidin Ekstrak Kulit Buah Jenitri (Sumber : Lestario, *et al.*, 2011)

Keterangan : (a) Puncak 1 : delphinidin (tr = 5,167 menit), puncak 2 = sianidin (tr = 9,383 menit), puncak 3 : pelargonidin (tr = 16,9 menit) ; (b) Puncak 1 : delphinidin (tr = 5,117 menit), puncak 2 : sianidin (tr = 9,233 menit), puncak 3 : pelargonidin (tr = 16,75 menit).

Hasil pemisahan KCKT diatas menunjukkan bahwa kulit buah jenitri mempunyai satu antosianidin yang dominan, yaitu sianidin dan yang kedua yaitu delphinidin yang kurang dominan. Sedangkan pelargonidin tidak terdeteksi. Spot yang nampak pada identifikasi dengan metode KLT hanya

satu yaitu sianidin sedangkan spot yang lain tidak begitu jelas karena Rfnya kurang sesuai (lebih rendah dari seharusnya) mungkin disebabkan karena pelarut yang kurang sesuai dan faktor lainnya. sehingga penggunaan metode KCKT sangat sesuai untuk mendeteksi adanya senyawa yang lebih akurat yang menunjukkan bahwa dalam sampel terdapat dua jenis antosianidin.



Gambar 3. 4 Profil KCKT Senyawa Antosianin Ekstrak Kulit Buah Jenitri
(Sumber : Lestario, *et al.*, 2011)

Keterangan : Puncak 1 (tr = 2,633 menit), puncak 2 (tr = 3,583 menit), puncak 3 (tr = 4,7 menit), puncak 4 (tr = 5,133 menit), puncak 5 (tr = 9,317 menit).

Puncak 3 dan 4 sebenarnya berada pada konsentrasi yang sangat kecil sehingga dapat diabaikan sedangkan pada puncak 2 dan 5 apabila melihat data sebelumnya dapat dimungkinkan delphinidin mengacu pada identifikasi antosianidin. Jenis antosianin yang diukur dengan metode KLT, Spektrofotometri UV_Vis dan KCKT menunjukkan bahwa antosianin yang paling dominan pada kulit buah jenitri adalah sianidin-3-rutinosida, sedangkan 2 jenis yang lainnya adalah delphinidin-3-rutinosida, dan delphinidin-3-glikosid. Dalam jurnal dijelaskan bahwa senyawa betasianin tidak dapat diidentifikasi dengan metode KLT dan Spektrofotometri

UV_Vis karena senyawa betasianin lebih kompleks dari pada antosianin sehingga membutuhkan metode analisis yang lebih akurat yaitu KCKT.

Kesimpulan dan saran : Kandungan antosianin total dari kulit buah jenitri adalah sebesar $23,87 \pm 4,11$ mg/100 g berat kering.

6. Jurnal Keenam

Judul jurnal : Ekstraksi dan Uji Stabilitas Betasianin dalam Ekstrak Buah Kaktus (*Opuntia elatior Mill*)

Nama jurnal : Jurnal Riset Kimia

Penerbit : Kovalen

Volume (No) & Halaman : 3 (2) ; 142 - 149

Tahun terbit : 2017

Penulis jurnal : Patrisia, *et al*

Isi jurnal

- Tujuan penelitian : Menentukan kondisi pH betasianin yang optimal guna mengurangi tingkat kerusakan betasianin selama masa penyimpanan serta pengaruh paparan cahaya terhadap pengurangan kadar betasianin.

Metode penelitian

- Desain : Jurnal ini menggunakan metode eksperimental dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif.
- Populasi dan sampel : Penelitian ini menggunakan 1 sampel buah kaktus (*Opuntia elatior Mill*) yang diekstraksi dengan akuades dan etanol 95%.
- Instrument : Rotary evaporator digunakan untuk memisahkan pelarut dari ekstrak, Seperangkat alat spektrofotometer UV_Vis dengan panjang gelombang 531 nm digunakan untuk uji kuantitatif seperti pengaruh stabilitas, pH dan suhu senyawa betasianin. Seperangkat alat spektrofotometer FTIR dan alat gelas dalam laboratorium digunakan untuk uji kualitatif senyawa betasianin.
- Metode analisis : Penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap), ekstraksi dilakukan metode maserasi dengan berbagai variasi pelarut, sebanyak 100 g jus buah kaktus kemudian ditambahkan pelarut etanol, campuran etanol

: akuades (1:1), dan pelarut akuades masing – masing sebanyak 250 mL selanjutnya dilakukan perendaman selama 3 hari, untuk memisahkan ekstrak dari pelarutnya menggunakan evaporator. Uji kualitatif betasianin dalam ekstrak buah kaktus dengan cara ekstrak ditambahkan dengan NaOH 2M dan diamati perubahan warna. Uji positif ditandai dengan adanya perubahan warna larutan menjadi warna kuning. Kemudian dilanjutkan dengan analisis FTIR untuk mengidentifikasi senyawa betasianin dalam ekstrak buah kaktus (*Opuntia elatior Mill.*). Sedangkan uji kuantitatif senyawa betasianin dalam ekstrak buah kaktus dilarutkan dengan buffer fosfat pH 5 sebanyak 100 mL kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV_Vis pada panjang gelombang 531 nm dan selanjutnya dilakukan penentuan kadar senyawa betasianin menggunakan persamaan (Lim, *et al.*, 2011) :

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

Keterangan : A= Absorbansi, MW= Berat molekul betasianin (550 g/mol), Df= Faktor pengenceran (100), ϵ =Koefisien ekstraksi molar (6×10^4 L/mol cm), L= Tebal kuvet (1 cm), W= Berat sampel (100 g), V= Volume ekstrak (27 mL).

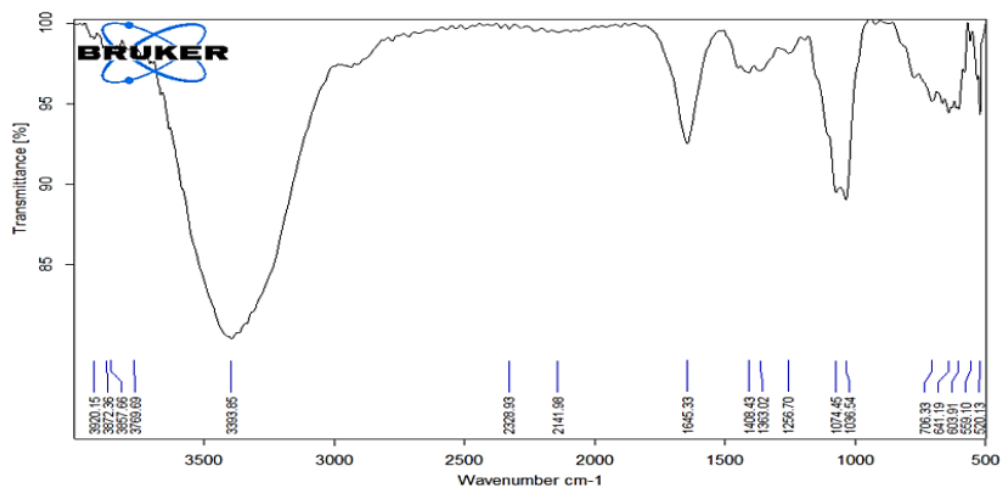
Selanjutnya ekstrak buah kaktus diuji stabilitas senyawa betasianinnya dengan berbagai terapan, diantaranya pengaruh paparan cahaya matahari dan pengaruh pH selama penyimpanan. Pengaruh paparan cahaya matahari dengan cara memasukan ekstrak ke dalam botol kaca bening dan botol kaca berwarna coklat sebanyak 6 mL kemudian kedua sampel diletakkan pada luar ruangan yang terpapar sinar matahari secara langsung selama 5 jam. Setiap 1 jam sampel dianalisis menggunakan spektrofotometer

UV_Vis. untuk perlakuan pengaruh pH selama penyimpanan ekstrak dibuat dalam kondisi pH 3,4,5,6,7 dan 8 dengan menambahkan HCL 0,1 M dan NaOH 0,1 M kemudian ditambahkan HCL 0,1 M dan NaOH 0,1 M kemudian ditambahkan larutan buffer sitrat fosfat. Sampel disimpan dalam botol kedap udara serta kedap cahaya selama 3 hari dilanjutkan dengan pengukuran pH sebelum dan sesudah penyimpanan dan dilakukan analisis menggunakan spektrofotometri UV_Vis. Uji kualitatif betasianin dalam ekstrak buah kaktus ditambahkan dengan larutan basa (NaOH) kemudian dianalisis dengan spektroskopi FTIR. Sedangkan uji kuantitatif betasianin dalam ekstrak buah kaktus dilakukan dengan menambahkan buffer fosfat pH 5 dan diukur dengan spektrofotometri UV_Vis pada panjang gelombang 531 nm selanjutnya dilakukan uji pengaruh paparan sinar matahari, pH selama penyimpanan dan stabilitasnya.

Hasil penelitian :

Kadar betasianin tertinggi diperoleh dengan pelarut akuades yaitu sebesar 15,42 mg/100g. Kadar betasianin sangat dipengaruhi oleh paparan cahaya matahari selama penyimpanan. ekstraksi menggunakan pelarut akuades memperoleh kadar betasianin tertinggi yaitu 15,43 mg/100 g, hasil ini sama dengan pemaparan jurnal sebelumnya dan sesuai teori yang mengatakan bahwa betasianin merupakan zat warna yang bersifat polar sehingga dapat larut dalam pelarut polar. Namun pada dasarnya kadar betasianin dengan pelarut dan perlakuan yang sama tidak menutup kemungkinan jika hasilnya lebih rendah. Menurut Rukmana dan Yunarsi tahun 1998 mencatat bahwa kadar betasianin dalam suatu tanaman dapat dipengaruhi beberapa faktor diantaranya suhu (temperature), kelembapan,

udara, curah hujan, sinar matahari dan angin. Hasil uji kualitatif betasianin dengan penambahan NaOH 2M positif ditandai dengan perubahan warna kuning. Sedangkan analisis menggunakan spektroskopi FTIR disajikan dalam gambar berikut :



Gambar 3. 5 Spektrum FTIR senyawa betasianin dalam ekstrak buah kaktus
(Sumber : Patricia, *et al.*, 2017)

Hasil identifikasi spektroskopi FTIR menunjukkan adanya interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada panjang gelombang 4000 – 500 cm^{-1} . Pada daerah frekuensi 3393 cm^{-1} merupakan gugus OH dengan vibrasi ulur dan terdapat gugus NH. Ikatan hydrogen menyebabkan puncak melebar dan terjadi pergeseran ke arah bilangan gelombang yang lebih pendek. Pada bilangan gelombang 1408,43 cm^{-1} merupakan daerah serapan C-H alifatik, 1645 cm^{-1} merupakan C=O dengan vibrasi ulur dari asam karboksilat, 1363,02 cm^{-1} merupakan C=N vibrasi ulur, 1074 cm^{-1} merupakan ikatan C-O-C dengan vibrasi ulur simetri, 1036 cm^{-1} merupakan ikatan C-O-C dengan vibrasi ulur asimetri, 706,33 cm^{-1} merupakan C-H yang terdapat dalam cincin benzen.

Kesimpulan dan saran : Kadar betasianin berkurang sebesar 66,86% pada botol bening dan 47,28% pada botol coklat selama 5 jam penyimpanan. Betasianin cenderung stabil pada kondisi pH 4,5 dan 6 selama 3 hari penyimpanan.

7. Jurnal Ketujuh

Judul jurnal : Studi Fisikokimia Betasianin dan Aktivitas Antioksidan dari Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris L*)

Nama jurnal : Journal of Pharmauceutical and Sciences (JPS)

Penerbit : STIFARM dan STIFI Padang

Volume (No) & Halaman : 3 (1) ; 14 -21

Tahun terbit : 2020

Penulis jurnal : Ridho Asra *et al*

Isi jurnal

- Tujuan penelitian : Mengetahui sifat fisikokimia senyawa betasianin dan aktivitasnya sebagai antioksidan yang terdapat dalam ekstrak

Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris* L).

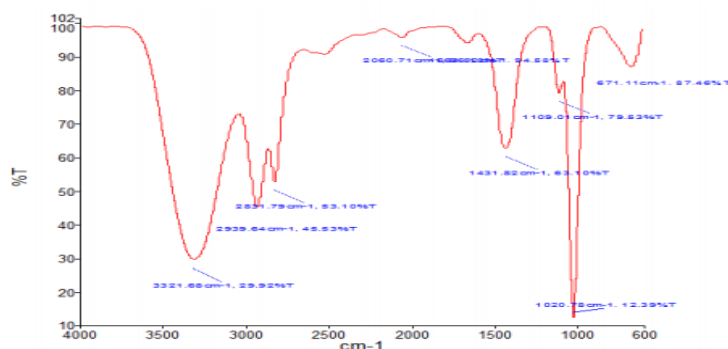
Metode penelitian

- Desain : Jurnal ini menggunakan metode eksperimental dengan pendekatan kualitatif dan kuantitatif.
- Populasi dan sampel : Penelitian ini menggunakan 1 sampel umbi bit merah segar sebanyak 4,5 kg yang diekstraksi dengan pelarut akuades.
- Instrument : Ultrasonik digunakan untuk ekstraksi sampel, seperangkat alat untuk uji dengan KLT, Spektrofotometri UV-Vis dan spektrofotometer FTIR untuk mengetahui gugus fungsi.
- Metode analisis :
Metode ekstraksi menggunakan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) dengan kecepatan 30 kHz selama 30 menit pada suhu kamar. Uji KLT, ekstrak dipisahkan dengan plat silica G 60 F 245 10 x 10 cm (KLT preventif) dengan eluen methanol : asam asetat (9:6). Kemudian ditotolkan sepanjang plat dengan jarak 2 cm atas dan bawah. Selanjutnya dielusi dengan fase gerak. RF dihitung dengan memeriksa dibawah sinar UV 254 dan 366 nm dibandingkan dengan betasianin standar. Analisis gugus fungsi diukur menggunakan spektrofotometer FTIR diukur pada bilangan

gelombang 600-4000 cm^{-1} . Penetapan kadar betasianin dilakukan dengan konsentrasi 2500 $\mu\text{g/mL}$ kemudian diukur dengan spektrofotometer UV_Vis pada panjang gelombang 528,50 nm. Uji stabilitas dilakukan dengan perbandingan berbagai suhu selanjutnya adalah uji aktivitas antioksidan dengan penambahan reagen DPPH.

Hasil penelitian :

Betasianin dalam ekstrak umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) mempunyai nilai R_f 0,7166 dengan panjang gelombang maksimum 535 nm dengan absorban 0,676. Hasil identifikasi spektrum inframerah menunjukkan gugus OH, N-H, C-H, C-H₂, C-N dan C=CH. Ekstrak umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat ($\text{IC}_{50} < 50$) karena nilai IC_{50} 21,8878 $\mu\text{g/mL}$. analisis gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FTIR menghasilkan gambar berikut :



Gambar 3. 6 Spektrum FTIR betasianin dalam ekstrak umbi bit merah (Sumber : Ridho, *et al.*, 2020)

Spektrum betasianin diukur pada bilangan gelombang 600-4000 cm^{-1} . Bilangan gelombang 3321 cm^{-1} menunjukkan spektrum ikatan O-H dan N-H. bilangan gelombang 2831,79 cm^{-1} adalah spektrum ikatan C-H dan CH₂. Pada bilangan gelombang 671,11 cm^{-1} adalah spektrum ikatan C-CH. Hasil yang demikian terdapat perbedaan pada bilangan gelombang, karena

ekstrak yang digunakan berbeda namun mengandung senyawa betasianin dengan kadar yang berbeda.

Kesimpulan dan Saran : Persentase kadar total betasianin dalam ekstrak kering umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.) adalah 98,6474 % \pm 0,584080.