

**EKSTRAKSI ANTOSIANIN DARI UBIJALAR UNGU
(*Ipomoea batatas* cv. AYAMURASAKI)
DENGAN TEKNIK EKSTRAKSI *SUBCRITICAL WATER***

KUKUK YUDIONO

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Katolik Widya Karya Malang

ABSTRAK

Prinsip dasar ekstraksi dengan teknik *subcritical water* adalah untuk menurunkan polaritas *solvent* air sehingga mendekati polaritas *solut* antosianin, dilain pihak juga menyebabkan penurunan tegangan permukaan air sehingga meningkatkan difusitasnya. Dalam kondisi demikian sifat kelarutan *solut* oleh *solvent* menjadi meningkat disamping itu molekul-molekul air akan bergerak bebas ke/dari jaringan tanaman yang diekstrak dan transport *solut* antosianin keluar sel menjadi lebih cepat.

Tujuan dari penelitian ini adalah 1) Mengetahui *performance* penggunaan suhu *subcritical dan non subcritical water* untuk ekstraksi antosianin ubijalar Ayamurasaki, 2) Mendapatkan pH optimal untuk ekstraksi antosianin, 3) Mendapatkan pengaruh simultan suhu, pH, dan waktu ekstraksi dengan metode *subcritical water* terhadap ekstraksi antosianin, 4) Mengetahui *performance* metoda ekstraksi *subcritical water* untuk antosianin pada *scale up*, dan 5) Mendapatkan stabilitas ekstrak antosianin pada berbagai pH pelarut

Hasil penelitian dengan RAL Pola Tersarang bahwa dalam perlakuan berbagai suhu ekstraksi, pada suhu 115°C didapat total antosianin tertinggi (0,474 mg/g) dengan viskositas 3,07 mPas. Perlakuan berbagai pH pelarut pada pH 2 (suhu 115°C) didapat viskositas terendah (2,86 mPas) dengan total antosianin tertinggi (0,475 mg/g). Hasil optimasi suhu, waktu, dan pH dengan *Response Surface Methodology* didapat (115°C, 20 mnt, dan 2) didapat total antosianin sebesar 0,59 mg/g. Uji *t-test* didapat total antosianin dan aktifitas antioksidan skala besar (20 L) dengan skala laboratorium (200 ml) tidak ada perbedaan. Uji stabilitas antosianin dengan Rancangan Faktorial selama 15 hari pada pH 2 paling stabil .

Latar Belakang

Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L. var. *Ayamurasaki*) merupakan salah satu jenis ubi jalar yang semua bagian umbinya berwarna ungu dan pertama kali

dikembangkan di Jepang. Varietas introduksi tersebut mempunyai banyak kelebihan dibandingkan ubi jalar lokal seperti *Gunung Kawi* dan *Samarinda* baik dari aspek produktivitas (varietas introduksi

20-25 ton/ha, sedang varietas lokal 15-20 ton/ha), maupun warna ungunya yang lebih pekat dan merata keseluruh bagian umbinya mulai dari kulit sampai dagingnya. Dengan demikian ubi jalar Ayamurasaki sangat potensial untuk dijadikan bahan baku antosianin.

Berkembangnya industri pengolahan pangan akan memacu penggunaan pewarna sintesis yang tidak aman untuk konsumsi karena mengandung logam berat (timah, besi dan aluminium) yang berbahaya bagi kesehatan. Untuk itu diperlukan pencarian alternatif pewarna alami seperti antosianin (Hanum, 2000). Antosianin merupakan pewarna alami yang tersebar luas dalam tumbuhan (bunga, buah-buahan, sayuran, dan ubi-ubian). Antosianin sebagai pewarna alami dapat diaplikasikan pada minuman ringan, permen, dan produk berbasis susu seperti yogurt, dan keju (Anonymous, 2004). Menurut Maga and Tu (1994) antosianin cocok untuk mewarnai makanan dengan pH asam, hal ini terkait dengan kestabilan antosianin dalam kondisi asam.

Antosianin adalah bagian senyawa fenol yang tergolong flavonoid. Menurut Durst dan Wrolstad (2005) bahwa antosianin jumlahnya sekitar 90 – 96 % dari

total senyawa fenol. Pigmen ini berperan terhadap timbulnya warna merah hingga biru pada beberapa bunga, buah, dan daun. Antosianin bersifat polar sehingga dapat dilarutkan pada pelarut polar seperti etanol, acetone, dan air. Dalam penelitian ini untuk ekstraksi digunakan pelarut air karena lebih aman, murah, dan ketersediaannya melimpah. Namun bila dilihat tingkat polaritasnya antara antosianin sebagai zat terlarut dan air sebagai pelarut tidak seimbang. Menurut Richter *et al.*, (2006) tingkat polaritas antosianin digolongkan semipolar (dielektrik konstan 30-40) sedang air adalah sangat polar (dielektrik konstan 80). Karena itu untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi antosianin polaritas air sebagai pelarut harus diturunkan sampai mendekati polaritas antosianin. Menurut King (2009) peningkatan suhu akan menurunkan polaritas air.

Metode konvensional untuk ekstraksi antioksidan alami (antosianin) dari tanaman umumnya dilakukan dengan pelarut organik (metanol, aseton, etanol). Namun penggunaan pelarut ini kemungkinan akan menyebabkan masalah residu dan mempunyai pengaruh yang merusak/buruk terhadap unsur pokok dalam pangan

dan lingkungan. Dengan alasan tersebut, maka upaya penggunaan metode *subcritical water* untuk ekstraksi senyawa bioaktif (antosianin) dari bahan tanaman mempunyai potensi yang sangat menjanjikan.

Metode ekstraksi *Subcritical water* adalah penggunaan air sebagai pelarut dengan temperatur diantara titik didih (10°C) dan temperatur kritis air (37°C) dengan tekanan di atas 1 atm (Anonymous, 2009). Metode ini relatif paling baru dan beberapa penelitian telah dilakukan untuk ekstraksi senyawa bioaktif buah dan sayuran, sedang aplikasi untuk komoditi ubi-ubian seperti ubi jalar belum banyak diungkapkan. Karena aplikasi ekstraksi antosianin dalam suhu tinggi untuk produk berpati tinggi harus dipertimbangkan kemungkinan terjadi gelatinisasi pati sehingga viskositas larutan tinggi dan hal ini dapat menghambat keluarnya senyawa antosianin, serta kemungkinan kerusakan antosianin.

Tingkat keasaman dapat menyebabkan hidrolisis komponen pati seperti amilosa dan amilopektin. Hidrolisis amilosa terjadi pada ikatan 1,4- α -glikosidik sedang pada amilopektin terjadi pada ikatan 1,4 dan 1,6- α - glikosidik. Akibat hidrolisis komponen pati proses

gelatinisasi dan gelasi dapat diperkecil sehingga viskositas larutan rendah. Rendahnya viskositas larutan mengakibatkan kecepatan difusi pelarut ke dalam jaringan tanaman dan kecepatan osmosis hasil pelarutan keluar jaringan lebih cepat. Untuk itu perlu dicari pH optimal dalam ekstraksi antosianin ubi jalar Ayamurasaki pada suhu tinggi. Silva *et al.*, (2007) dalam Chan, Lee, Yap, Wan Aida, and Ho., (2009) menyatakan temperatur, waktu ekstraksi, dan pH mempengaruhi efisiensi ekstraksi. Antosianin merupakan senyawa turunan dari *flavillium cation* dan intinya kekurangan elektron sehingga sangat reaktif terhadap perubahan lingkungan termasuk perubahan pH dan suhu (Stanciu *et al.*, 2010).

Penelitian ini terkait efisiensi proses ekstraksi dalam mengekstrak antosianin dari bahan baku ubi jalar ungu varietas *Ayamurasaki*. Penggunaan metode *subcritical water* dengan alasan rekayasa air sebagai pelarut tidak menimbulkan efek negatif bagi kesehatan, limbah ramah bagi lingkungan, proses ekstraksi cepat, murah, dan hasil ekstraksi (antosianin) sangat cocok untuk diaplikasikan pada bahan pangan yang berlabel *food grade* dan untuk industri farmasi. Dari sisi

peralatan yang digunakan penyesuaian dengan *autocalve* sangat aplikatif dari aspek teknologi industri pertanian, karena tidak memerlukan rekayasa alat mesin yang baru.

Rumusan Masalah

- 1) Bagaimana *performance* penggunaan metode *subcritical water* dan konvensional untuk ekstraksi antosianin pada ubi jalar Ayamurasaki?
- 2) Apakah pH pelarut dapat menurunkan viskositas larutan akibat gelatinisasi pati pada suhu *subcritical*?
- 3) Bagaimana optimasi suhu, waktu, dan pH dengan metode *subcritical water* secara simultan berpengaruh terhadap ekstraksi antosianin?
- 4) Bagaimana *performance* metode ekstraksi *subcritical water* pada skala ganda?
- 5) Bagaimana stabilitas ekstrak antosianin selama penyimpanan pada berbagai pH larutan?

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan penelitian adalah ubi jalar varietas *Ayamurasaki* yang diperoleh dari Kebun Percobaan Balai Penelitian Tanaman Kacang-

Kacangan dan Ubi-ubian (BALITKABI) Malang di Kabupaten Pasuruan. Ubi Jalar yang dipilih adalah yang baru dipanen (umur 4 bulan) dengan berat umbi sekitar 250 gram, sehat, kerusakan mekanis minimal. Bahan lain adalah bahan kimia untuk ekstraksi dan analisis variabel pengamatan seperti : asam tartarat 0,1 M, KCl 0,025 M, asam asetat 0,4 M, HCl 0,1%.

Metode Penelitian

Percobaan I: Performansi Metode *Subcritical* dan *non Subcritical Water* dalam Ekstraksi Antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki pada Berbagai Suhu

Percobaan pada penelitian ini adalah untuk mengkaji perbedaan pengaruh perlakuan suhu ekstraksi terhadap jumlah antosianin terekstrak dengan pelarut air. Perlakuan suhu *non-subcritical* (75 °C, 85 °C, 95 °C) menggunakan *Waterbath* dan *subcritical* (105 °C, 115°C, dan 125 °C) menggunakan *Autoclave*, S/F= 5:1, dan waktu ekstraksi 20 menit. Data yang diperoleh dianalisis dengan Rancangan Acak Lengkap Pola Tersarang (*Nested Design*).

Variabel yang diamati adalah total antosianin dan viskositas larutan.

Karakterisasi Antosianin

a) Analisis Total Antosianin dengan Spektrofotometer

Disiapkan 2 sampel filtrat (*setelah disentrifuge*) yang satu diencerkan dengan KCl 0,025 M pada pH 1 dan yang lain dengan Na-asetat 0,4 M pada pH 4,5. Kemudian filtrat yang telah diencerkan *disentrifuge* dengan kecepatan 5500 rpm selama 10 menit untuk mengendapkan pengotor (bahan organik) yang masih terikut sehingga diperoleh *supernatant*.

Selanjutnya *supernatant* dilakukan analisis total/kadar antosianin terekstrak. Analisis total antosianin dilakukan dengan mengukur absorbansi sample (didiamkan dulu 15 menit) menggunakan spektrofotometer, pada λ maks (530 nm) dan λ 700 nm.

b) Analisis Kualitatif dengan HPLC/High Performance Liquid Chromatography

HPLC yang digunakan adalah merk Konikrom B-500, dengan spesifikasi kolom C₁₈ (3,5 μ m x 4,6 x 250 mm), detektor model UV-200. Eluen sebagai fase gerak adalah eluen A= Aquabides dan eluen B=Metanol : Air (75 %), dengan kecepatan alir 1 ml/menit secara sistem gradien yaitu 100% (A) pada

5 menit kemudian 75% (B) pada 20 menit. Sampel yang diinjeksikan sebesar 20 μ l. Pengamatan kromatogram dengan detektor pada panjang gelombang (λ) =500- 530 nM.

Percobaan II: Pengaruh pH Pelarut Terhadap Viskositas Larutan dan Total Antosianin Terekstrak

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Percobaan pada penelitian ini adalah untuk mengkaji perbedaan pengaruh perlakuan pH pelarut terhadap jumlah antosianin terekstrak dengan pelarut air. Perlakuan pH terdiri dari 5 level, yaitu pH: 2, 3, 4, 5, dan 6. Ekstraksi dilakukan pada suhu 115°C, tekanan (P_{abs}) 24,7 Lb/in², dan perbandingan pelarut dengan sampel (S/F) 5:1. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali. pH larutan diatur dengan buffer tartarat 0,1M. Menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan faktor pH dengan respon total antosianin dan viskositas larutan.

Percobaan III: Optimasi Suhu, Waktu, dan pH Ekstraksi Dengan Teknik *Subcritical Water*
Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Percobaan pada penelitian ini adalah untuk optimasi kondisi ekstraksi (variabel bebas) terhadap jumlah antosianin terekstrak. Variabel bebas (X) terdiri dari 3 variabel yaitu Suhu, Waktu, dan pH ekstraksi dengan titik minimum dan maksimum berdasar dari percobaan I dan II. Percobaan menggunakan Metode Permukaan Respon dengan Rancangan Komposit Pusat (*Central Composit Design*) dan dalam penelitian ini dilakukan untuk optimasi variabel bebas (X).

Percobaan IV : Analisis Kuantitas dan Kualitas Antosianin pada Pembesaran Skala

Dalam penelitian ini digunakan alat ekstraksi berupa *autoclave* dengan dua ukuran kapasitas yaitu: 1) untuk percobaan skala Laboratorium berkapasitas 5 liter, 2) untuk percobaan pembesaran skala berkapasitas 25 liter. Variabel pengamatan adalah kandungan antosianin dan aktifitas antioksidan yang selanjutnya dibandingkan dengan hasil pengamatan skala laboratorium dengan menggunakan uji t.

Percobaan V : Stabilitas Antosianin dalam Berbagai pH Larutan

Stabilitas antosianin sangat dipengaruhi oleh kondisi larutan dan kondisi tempat penyimpanan, dalam percobaan ini uji stabilitas antosianin selama waktu simpan dilakukan dengan mengatur pH pelarut (pH 2, 3, 4, 5, dan 6), pengamatan dilakukan hari ke 1, 5, 10, dan ke-15.

Pelaksanaan dan Pengujian

A) Kecepatan degradasi antosianin pada berbagai pH pelarut

$$k = \left[\frac{\text{Absorbansi (t)} - \text{Absorbansi (t}_0\text{)}}{t(1/2)} \right] = \ln 2/k.$$

B) Jumlah antosianin terdegradasi dan jumlah antosianin yang tersisa pada berbagai pH pelarut

$$\text{Degradation (\%)} = \frac{(A_0 - A_t)}{A_0} \times 100\%$$

A_0 adalah absorbansi awal
 A_t adalah absorbansi pada waktu t

$$\text{Retention (\%)} = \frac{A_t}{A_0} \times 100\%$$

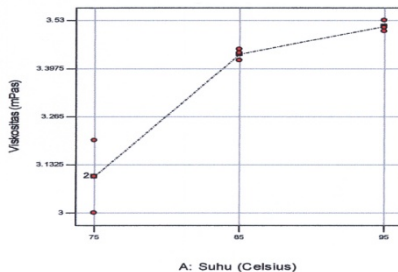
A_0 adalah absorbansi awal, A_t adalah absorbansi pada waktu t

HASIL DAN PEMBAHASAN

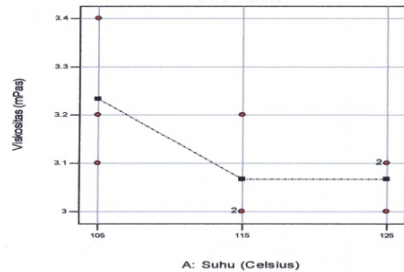
Percobaan I : Performansi Metode *non Subcritical* dan *Subcritical Water* dalam Ekstraksi Antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki pada Berbagai Suhu

Viskositas Larutan

Viskositas merupakan implikasi dari terjadinya gelatinisasi pati terutama pada produk berpati tinggi akibat perlakuan pada suhu tinggi. Dalam penelitian ini tingginya viskositas akan berdampak negatif terhadap jumlah antosianin terekstrak.



Gambar 1. Grafik rata-rata viskositas larutan (mPas) terekstrak dari ekstraksi ubi jalar Ayamurasaki pada berbagai suhu ($^{\circ}$ C) ekstraksi *non-subcritical water*



Gambar 2. Grafik rata-rata viskositas larutan (mPas) terekstrak dari ekstraksi ubi jalar Ayamurasaki pada berbagai suhu ($^{\circ}$ C) ekstraksi *subcritical water*

Pada Gambar 18a dengan metode *non-subcritical water* terlihat bahwa viskositas meningkat dengan meningkatnya suhu ekstraksi dan viskositas larutan tertinggi terjadi pada suhu 95° C, viskositas implikasi dari proses gelatinisasi. Pada kondisi ini sebagian besar granula pati membengkak mencapai maksimal dan sebagian kecil granula pati pecah sehingga amilosa keluar dari granula (*leaching out*). Amilosa dan amilopektin di dalam granula pati dihubungkan dengan ikatan hidrogen. Apabila granula pati dipanaskan di dalam air, maka energi panas akan menyebabkan ikatan hidrogen terputus, dan air masuk ke dalam granula pati. Air yang masuk selanjutnya membentuk

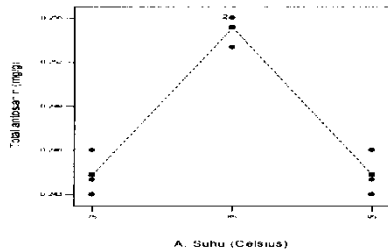
ikatan hidrogen dengan amilosa dan amilopektin. Meresapnya air ke dalam granula menyebabkan terjadinya pembengkakan granula pati. Proses gelatinisasi pati menyebabkan perubahan viskositas larutan pati.

Pada Gambar 18b dengan metode *subcritical water* terlihat viskositas larutan mengalami penurunan dengan meningkatnya suhu. Hal ini disebabkan setelah pembengkakan maksimum, dan granula pati pecah, kemudian pemanasan tetap dilanjutkan, maka akan terjadi penurunan viskositas akibat proses degradasi molekul pati (amilosa dan amilopektin) dalam kondisi demikian kemampuan mengikat air juga melemah.

Semakin sedikit jumlah gugus hidrosil dari molekul pati semakin kecil kemampuannya menyerap air, oleh karena itu absorpsi air sangat berpengaruh terhadap viskositasnya (Tester and Karkalas, 1996).

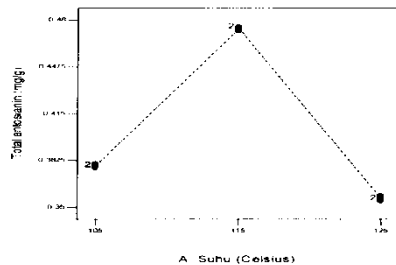
Total Antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki

Penggunaan suhu tinggi dalam proses ekstraksi antosianin dimaksudkan untuk menurunkan polaritas air.



Gambar 3. Grafik rata-rata total antosianin (mg/g) terekstrak pada berbagai suhu ($^{\circ}$ C) ekstraksi *non-subcritical*

Pada Gambar 3 terlihat bahwa peningkatan efisiensi ekstraksi antosianin terjadi pada suhu di atas 85°C dan selanjutnya pada suhu 95°C efisiensi ekstraksi antosianin mengalami penurunan.



Gambar 4. Grafik rata-rata total antosianin (mg/g) terekstrak pada berbagai suhu ($^{\circ}$ C) ekstraksi *subcritical*

Pada Gambar 4 terlihat bahwa peningkatan efisiensi ekstraksi antosianin terjadi pada suhu di atas

115°C dan selanjutnya pada suhu 125°C efisiensi ekstraksi antosianin mengalami penurunan.

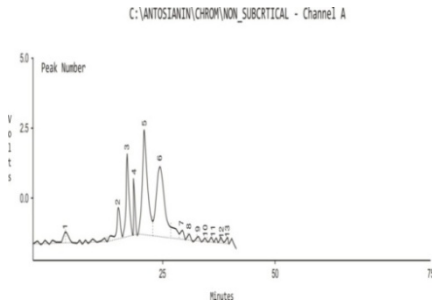
Meningkatnya efisiensi ekstraksi antosianin secara tajam terutama pada suhu 115°C disebabkan rendahnya viskositas larutan (Gambar 4). Viskositas berpengaruh negatif terhadap efisiensi ekstraksi antosianin artinya menurunnya viskositas menyebabkan meningkatnya antosianin terekstrak. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa gelatinisasi pati akan menghambat proses ekstraksi antosianin. Sebaliknya menurunnya efisiensi ekstraksi antosianin pada suhu 95°C akibat meningkatnya viskositas larutan akibat gelatinisasi yang terkait dengan Gambar 18a, sedang untuk suhu 125°C diduga karena kerusakan antosianin pada suhu 125°C. Menurut Chan *et al.*, (2009) proses pengekstrasian komponen kimia dalam sel tanaman yaitu, pelarut yang telah ditentukan akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif (misal antosianin). Zat aktif ini akan larut dalam pelarut karena kesamaan polaritas dan hal ini akan menyebabkan larutannya menjadi pekat (konsentrasi meningkat).

Namun pada suhu yang terlalu tinggi (125°C) efisiensi ekstraksi

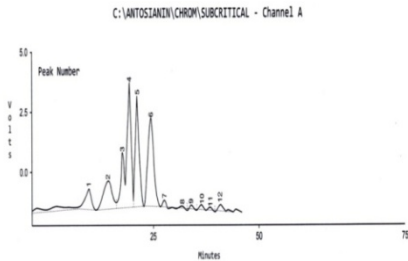
antosianin menurun karena pada suhu tersebut diduga kerusakan antosianin paling tinggi. Tantituvanont *et al.*, (2008) menyatakan bahwa suhu semakin tinggi akan mendorong terlepasnya bagian glikosil pada antosianin dengan menghidrolisis ikatan glikosidik sehingga terbentuk aglikon tidak stabil dan selanjutnya antosianin kehilangan warna.

Karakterisasi antosianin dengan HPLC dan Kromatografi Kertas

Analisis antosianin dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dalam penelitian ini untuk mengetahui baik secara kualitatif maupun kuantitatif penyusun antosianin akibat perlakuan suhu *subcritical*. Hasil analisis kualitatif antosianin ditunjukkan dengan jumlah peak yang tampak dalam kromatogram yang juga menunjukkan jumlah komponen penyusunnya.



Gambar 5. Kromatogram HPLC Antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dalam suhu 75°C (*non-Subcritical*) dan pH 3

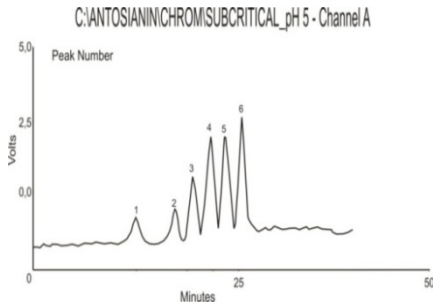


Gambar 6. Kromatogram HPLC Antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dalam Suhu 115 °C (*Subcritical*) dan pH 3

Hasil kromatogram dari HPLC (Gambar 5) terlihat untuk ekstraksi antosianin dengan pelarut air pada suhu 75°C diperoleh *peak* yang dominan pada *retention time* (Rt) antara 20,82 menit sampai dengan 24,34 menit, sedang pada suhu *subcritical* (115°C) pada (Gambar 6)

diperoleh *peak* yang dominan pada *retention time* (Rt) antara 20,81 menit sampai dengan 24,57 menit, artinya perlakuan *subcritical* (115°C) tidak menyebabkan perubahan struktur komponen penyusun antosianin karena dilakukan dalam waktu ekstraksi yang cepat. Bila dilihat dari tingginya *peak* pada perlakuan *subcritical* lebih tinggi dibanding perlakuan suhu 85°C. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan *subcritical* jumlah antosianin terekstrak lebih banyak.

Durst and Worlstad (2001) menyatakan bahwa identifikasi antosianidin (komponen antosianin) dapat dilakukan berdasarkan urutan elusi antosianidin yang diprediksi berdasar jumlah fenolik hidrofilik dan gugus metoksil hidrofobik dengan urutan elusi *peak* sebagai berikut : 1) delphinidin, 2) cyanidin, 3) petunidin, 4) pelargonidin, 5) peonidin, dan 5) malvidin

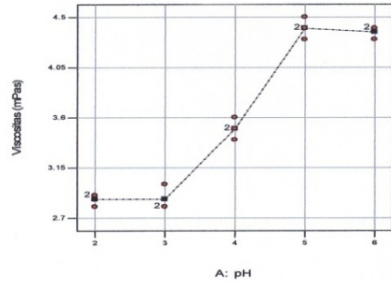


Gambar 7. Kromatogram HPLC Antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dalam Suhu 115 °C (*Subcritical*) dan pH 5

Pada Gambar 7 disajikan kromatogram sampel ekstrak antosianin hasil ekstraksi subcritical (115°C) pada pH pelarut 5, bila dibandingkan dengan Gambar 6 yaitu suhu ekstraksi yang sama tapi pada pH 3 terlihat *retention time* (Rt) relatif tetap, demikian juga dengan jumlah *peak* yang muncul. Namun pada *peak* ke 4 dan 5 yang diperkirakan adalah pelargonidin dan peonidin mengalami penurunan, hal ini terlihat lebih pendeknya *peak*. Pelargonidin dan peonidin serta cyanidin menyebabkan warna merah pada pigmen antosianin.

Percobaan II: Pengaruh pH Pelarut terhadap Viskositas Larutan dan Total Antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki

Pengaruh pH terhadap Viskositas Larutan Hasil Ekstraksi

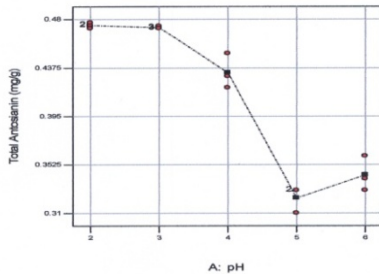


Gambar 8. Grafik rata-rata viskositas (mPas) larutan hasil ekstraksi pada berbagai pH pelarut ekstraksi.

Gambar 8 terlihat bahwa pada perlakuan pH 5 sampai 6 menghasilkan viskositas larutan paling tinggi, sedang pada pH rendah yaitu pada pH 2 dan 3 menghasilkan viskositas terendah. Hal ini menunjukkan bahwa dalam kondisi semakin asam akan menyebabkan hidrolisis komponen pati seperti amilosa semakin intensif, sehingga terbentuknya gel dalam larutan dapat dihambat (viskositas rendah). Sebaliknya pada kondisi pH sekitar netral amilosa/amilopektin yang telah keluar dari granula tidak mengalami hidrolisis dan gugus-gugus hidroksilnya mempunyai kemampuan untuk mengikat air sehingga mendorong proses

pembentukan gel dan viskositas larutan meningkat.

Pengaruh pH Pelarut terhadap Total Antosianin



Gambar 9. Grafik rata-rata total antosianin (mg/g) pada berbagai pH pelarut ekstraksi.

Pada Gambar 9 terlihat bahwa pada perlakuan pH 5 menghasilkan total antosianin paling rendah, sedang pada pH 2 dan 3 menghasilkan total antosianin tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa dalam kondisi sangat asam maka amilosa dan amilopektin yang telah keluar dari granula pati akibat ekstraksi pada suhu *subcritical* akan terhidrolisis oleh asam sehingga tidak terbentuk gel, hal tersebut membuat viskositas larutan diluar sel rendah (encer).

Di samping itu semakin asam suatu pelarut menyebabkan semakin banyak dinding sel jaringan tanaman rusak, sehingga pigmen antosianin yang berada di dalam rongga/ruang

sel akan mudah keluar, sehingga semakin banyak antosianin terekstrak. Dinding sel tanaman tersusun dari polimer karbohidrat yaitu: pektin, selulosa, hemiselulosa, dan lignin (Winarno, 1997). Polimer ini terdiri dari berbagai monosakarida yang terikat satu dengan yang lain melalui ikatan glikosidik. Ikatan glikosidik mudah diputus oleh suatu katalis asam (Sun dan Cheng, 2005).

Percobaan III: Optimasi Suhu, Waktu, dan pH Ekstraksi Dengan Teknik *Subcritical Water*

Pengaruh simultan faktor-faktor (X_1 =suhu ekstraksi, X_2 =waktu ekstraksi, dan X_3 =pH) disusun dengan menggunakan Rancangan Komposit Pusat (*Central Composite Design*). Dalam percobaan ini perbandingan pelarut dengan bahan (S/F) sebagai faktor konstan yaitu S/F 5:1.

Berdasarkan estimasi koefisien regresi pada model polynomial dan analisis varian untuk percobaan orde II, maka didiapat hubungan antara uji variabel bebas dan variabel respon seperti ditunjukkan dalam model persamaan regresi kwadratik (model optimasi):

$$Y = 0,169X_1 + 0,026X_2 + 0,159X_3 + 1,43E-004 X_1X_2 + 4,72E-004 X_1X_3 - 8,56E-004X_2X_3 - 7,69E-004X_1^2 - 9,88E-003X_2^2 + 0,01E-003X_3^2 - 8,99 \dots\dots$$

persamaan ordo 2
dengan: X_1 = suhu ekstraksi, X_2 = waktu ekstraksi, X_3 = pH

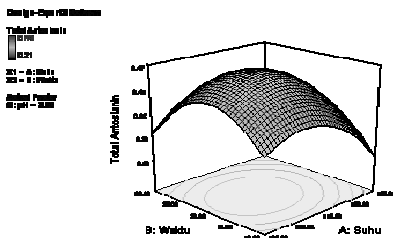
Y = total antosianin Analisis Bidang Permukaan Respon

Dari data hasil percobaan ordo II (Tabel 11) dan model persamaan ordo II yang diperoleh dibuat grafik bidang permukaan respon seperti terlihat pada Gambar dibawah ini. Bidang permukaan respon digambarkan dalam tiga dimensi dengan menyatakan respon sebagai fungsi dua faktor dan faktor yang lain dijaga konstan pada level tengah. Adapun Gambar bidang permukaan respon hubungan antara suhu ekstraksi dan waktu ekstraksi terhadap total antosianin ubi jalar Ayamursaki disajikan pada Gambar 10.

Gambar 10. Grafik Bidang Permukaan Respon Hubungan Antara Suhu (°C) Ekstraksi dan Waktu Ekstraksi (mnt.) Terhadap Total Antosianin (mg/g) Ubi Jalar Ayamursaki

Pada Gambar 10 terlihat bahwa kedua faktor suhu dan waktu ekstraksi mempunyai pengaruh positif terhadap total antosianin. Pada suhu ekstraksi antara 110°C sampai 115°C dan waktu ekstraksi antara 20 menit sampai 25 menit mengarah pada total antosianin yang maksimum.

Pada suhu 115°C dan waktu ekstraksi 20 menit menghasilkan total antosianin tertinggi. Hal ini karena peningkatan suhu akan diduga menyebabkan penurunan dielektrik konstan air sehingga berakibat penurunan polaritas air. Perubahan polaritas air ini akan mempengaruhi kemampuan air sebagai pelarut. Menurut Pitipanapong *et al.* (2005) meningkatnya suhu menyebabkan interaksi *intramolekuler* (*dipole-dipole* dan ikatan hidrogen) dari pelarut turun, hal ini menyebabkan gerakan molekulnya menjadi lebih tinggi sehingga zat terlarut (*solute*) lebih mudah larut dalam pelarut (*solvent*). Berkurangnya gaya polar (*dipole-dipole*) dan putusya ikatan hidrogen dalam pelarut

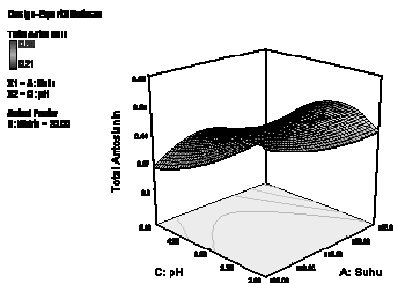


mengakibatkan turunnya polaritasnya.

Namun setelah suhu 115 °C total antosianin mengalami penurunan dan titik terendah terjadi pada suhu 125°C dengan total antosianin terendah, meskipun secara teoritis seharusnya polaritasnya paling rendah. Hal ini bisa terjadi pada suhu yang terlalu tinggi kemungkinan berdampak terhadap kerusakan antosianin, disamping juga akan mengakibatkan terjadinya gelatinisasi pati untuk produk dengan pati tinggi seperti ubi jalar, gelatinisasi akan meningkatkan viskositas larutan yang akhirnya akan menurunkan difusitas pelarut kedalam jaringan sehingga antosianin terekstrak rendah. Hal ini dapat dihubungkan dengan hasil percobaan viskositas. Dari Gambar 10 terlihat bahwa semakin lama waktu ekstraksi akan meningkatkan jumlah antosianin terekstrak dan waktu ekstraksi optimum dicapai antara 20 sampai 25 menit dengan total antosianin tertinggi. Dengan semakin lama waktu ekstraksi maka interaksi antara pelarut (air) dengan zat terlarut (antosianin dalam jaringan) semakin lama, sehingga proses pelarutan maksimal dan akhirnya zat yang terekstrak juga besar. Namun setelah waktu ekstraksi sekitar 25

menit total antosianin mengalami penurunan dan paling rendah pada waktu 30 menit. Karena bila terlalu lamanya proses ekstraksi akan berdampak negatif yaitu kemungkinan kerusakan zat yang dilarutkan (antosianin). Menurut Adam (1973) dalam Jian He (2004) bahwa menggunakan temperatur tinggi antosianin akan membentuk *khalkone* yang cincinnya terbuka (sifatnya labil) dan bila pemanasan diteruskan serta dengan adanya O₂ maka akan membentuk produk berwarna coklat.

Untuk faktor suhu dan pH ekstraksi berlawanan respon total antosianinnya, artinya meningkatnya suhu akan meningkatkan total antosianin, namun meningkatnya pH akan menurunkan total antosianin. Grafik bidang permukaan respon hubungan antara suhu ekstraksi (°C) dan pH terhadap total antosianin seperti disajikan pada Grafik 11.



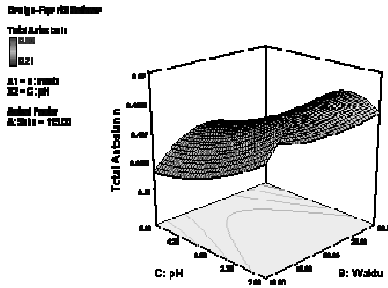
Gambar 11. Grafik Bidang Permukaan Respon Hubungan Antara Suhu Ekstraksi ($^{\circ}\text{C}$) dan pH Terhadap Total Antosianin (mg/g) Ubi Jalar Ayamurasaki

Pada Gambar 11 terlihat pada suhu ekstraksi 115°C sampai dengan 120°C dan pada pH semakin rendah (pH 2 dan 3) mengarah pada total antosianin yang maksimum. Suhu ekstraksi menunjukkan pengaruh kuadratik negatif sedang pH menunjukkan pengaruh kuadratik positif yang signifikan pada total antosianin. Gradien kontur pada pH arah koordinatnya melengkung kebawah sedang suhu ekstraksi melengkung keatas, yang direfleksikan dengan koefisien kuadratik negatif untuk suhu ($\beta_{11} = -0,000769$) dan koefisien kuadratik positif untuk pH ($\beta_{23} = +0,01$). Pada pH sangat asam akan mengakibatkan rusaknya dinding sel

dan plasma sel sehingga antosianin yang telah terlarut akan mudah keluar dari sel, dilain pihak kecepatan keluarnya antosianin semakin meningkat dengan semakin rendahnya viskositas larutan akibat hidrolisis komponen penyusun pati (amilosa) yang telah keluar dari granula. Sebaliknya pada pH pelarut mendekati netral total antosianin terendah karena gelatinisasi maksimal dan amilosa dalam granula mengalami *leaching* kemudian mengikat/memperangkap air (amilosa bersifat hidrofilik dengan adanya gugus hidroksil). Menurut Laleh *et al.*, (2006) bahwa penambahan sejumlah kecil sumber asam justru mendorong keluarnya amilosa dan amilopektin yang ditunjukkan dengan peningkatan viskositas. Dalam kondisi demikian sistem larutan semakin kental akibatnya pelarut sulit masuk ke jaringan matrik bahan dan proses pelarutan zat terlarut (antosianin) akan lambat dan sedikit.

Untuk faktor waktu dan pH ekstraksi berlawanan respon total antosianinnya, artinya semakin lama ekstraksi akan meningkatkan total antosianin, namun meningkatnya pH akan menurunkan total antosianin. Grafik bidang permukaan respon hubungan antara waktu ekstraksi (mnt.) dan pH terhadap total

antosianin ubi (mg/g) seperti disajikan pada Gambar 12.



Gambar 12. Grafik Bidang Permukaan Respon Hubungan Antara Waktu Ekstraksi (mnt.) dan pH Terhadap Total Antosianin Ubi (mg/g) Jalar Ayamurasaki

Pada Gambar 12 menunjukkan pada lama waktu ekstraksi sekitar 20 menit dan pH dibawah 3 mengarah pada total antosianin yang maksimum. Nilai maksimum antosianin adalah 0.59 mg/g bahan. Nilai maksimum akibat pengaruh faktor gabungan ini (*simultation effect*) hasilnya lebih tinggi dibanding nilai maksimum pengaruh faktor tunggal suhu atau pH pada percobaan sebelumnya yaitu sebesar 0,474 mg/g dan 0,475 mg/g. Waktu ekstraksi menunjukkan pengaruh kuadratik negatif sedang pH menunjukkan pengaruh kuadratik positif yang signifikan pada total

antosianin. Gradien kontur pada pH arah koordinatnya melengkung kebawah sedang waktu ekstraksi melengkung keatas, yang direfleksikan dengan koefisien kuadratik negatif untuk waktu ekstraksi ($\beta_{12} = - 0,000988$) dan koefisien kuadratik positif untuk pH ($\beta_{23} = +0,01$).

Analisis Ketepatan Model Ordo II

Untuk melihat ketepatan fungsi respon dari data percobaan, pengaruh kuadratik dan linier pada variabel bebas, interaksinya dan koefisien regresi pada variabel respon dievaluasi dengan analisis varian /Anova (Lampiran 10). Berdasarkan analisis varian tersebut bahwa model regresi kuadratik tersebut sangat signifikan karena nilai p (probabilitas) sangat rendah ($p < 0,0001$). Untuk menentukan ketepatan dan kecocokan model adalah dengan melihat nilai R^2 , $R^2_{adjusted}$, signifikansi *Lack-of-fit*, dan standar deviasi. Dari analisis varian nilai R^2 adalah 0,955 (tertinggi), nilai $R^2_{adjusted} = 0,915$ (mendekati nilai R^2), $R^2_{pred} = 0,867$ dan standar deviasi adalah 0,035(terendah). Uji *lack of fit* semua model persamaan nilai p-nya $> 0,005$ (*non significant*) artinya simpangan model yang dihasilkan pada percobaan tidak berpengaruh nyata. Gasperz (1992) menyatakan

bahwa criteria ketepatan model dapat dilihat dilihat berdasar uji simpangan model, dimana suatu model dianggap tepat/cocok dengan permasalahan apabila uji simpangan dari model tidak nyata secara statistik. Sehingga dengan demikian dapat disimpulkan bahwa

model/persamaan regresi ordo II tersebut sangat tepat dan handal. Berdasarkan model optimasi diatas , selanjutnya dapat ditentukan kondisi optimum dari faktor-faktor yang signifikan.

Tabel 1. Hasil Optimasi Model Kwadratik pada Percobaan III

Kondisi Optimum			Antosianin	<i>Desirability</i>
Suhu ekstraksi (°C)	Waktu ekstraksi (menit)	pH	Prediksi hasil (mg/g)	
112	20	2	0,563	0,929
112	20	3	0,491	0,860

Hasil optimasi ini masih lebih tinggi dari total antosianin maksimal percobaan aktual secara individual (perlakuan suhu atau pH) meskipun lebih rendah dari hasil tertinggi pada percobaan simultansi 3 faktor (suhu, waktu, dan pH), artinya kondisi optimum dari hasil percobaan masih dimungkinkan ditingkatkan hasil antosianin terekstrak. Dalam Tabel tersebut terlihat hasil optimasi mempunyai *desirability*=0,860-0,929. Artinya hasil prediksi solusi optimum baik pada pH target 2 dan pH 3 mempunyai derajat ketepatan tinggi. Menurut Montgomery (2001) bahwa fungsi *desirability* tersebut adalah untuk menentukan derajat

ketepatan hasil optimal. Semakin mendekati satu, maka semakin tinggi ketepatannya.

Berdasarkan hasil percobaan dapat disimpulkan bahwa pengaruh simultan terbaik adalah pada suhu 115°C, Waktu 20 menit, dan pH 2 dengan hasil total antosianin aktual sebesar 0,59 mg/g bahan basah. Sedangkan hasil solusi optimum terpilih adalah pada suhu 112°C, waktu 20 menit, dan pH 3 dengan hasil total antosianin prediksi 0,491 mg/g.

Percobaan IV: Analisis Kuantitas dan Kualitas Antosianin pada Pembesaran Skala

Analisis Total Antosianin

Ekstraksi antosianin dengan *subcritical water* skala ganda merupakan pembesaran kapasitas peralatan ekstraksi dan volume bahan dari ukuran kerja skala laboratorium 200 ml x 10 ditingkatkan menjadi 2000 ml x 10. Hasil variabel pengamatan kimia (total antosianin) pada skala ganda seperti disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki (mg/g) hasil ekstraksi *subcritical water* pada Skala Laboratorium dan Skala besar (ganda)

Ulangan	Kandungan Antosianin (mg/g)	
	Skala Laboratorium	Skala besar (ganda)
1	0,433	0,398
2	0,429	0,419
3	0,432	0,421
4	0,424	0,397
5	0,431	0,429
Mean	0,4298	0,4128
Signifikansi =0,057 (p>0,05)		

Keterangan : masing-masing perlakuan dilakukan ekstraksi sebanyak 3 kali

Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Casas *et. al.*,(2007), ekstraksi senyawa bioaktif dari daun bunga matahari dengan *Supercritical fluid extraction* (dengan gas CO₂ sebagai pelarut) tidak ada perbedaan hasil antara skala laboratorium

(kapasitas 10 ml) dan skala *pilot plant* (kapasitas 2 L).

Dari data Tabel 2 pada skala ganda diperoleh hasil 0,4128/0,4298 x 100% = 96,04%. Hasil skala ganda dianggap sempurna jika hasil yang diperoleh sama dengan skala laboratorium atau mencapai 100%. Dengan hasil 96,04%, ekstraksi pada skala ganda dapat direkomendasikan untuk ekstraksi antosianin ubi jalar Ayamurasaki pada suhu *subcritical water*.

Analisis Kualitas (Aktifitas Antioksidan) Antosianin

Aktifitas antioksidan adalah kemampuan senyawa antiradikal untuk menangkap radikal bebas. Dalam analisis aktivitas antioksidan digunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Antosianin mempunyai fungsi fisiologis yaitu sebagai antioksidan.

Tabel 3. Aktifitas Antioksidan antosianin (%) Ubi Jalar Ayamurasaki hasil ekstraksi *subcritical water* pada Skala Laboratorium dan Skala besar (ganda)

Ulangan	Aktifitas Antioksidan antosianin (%)	
	Skala Laboratorium	Skala besar (ganda)
1	71,52	70,95
2	72,13	71,94
3	72,52	73,21
4	73,11	72,98
5	72,90	72,78
<i>Mean</i>	72,64	72,37
Signifikansi =0,899 ($p > 0,05$)		

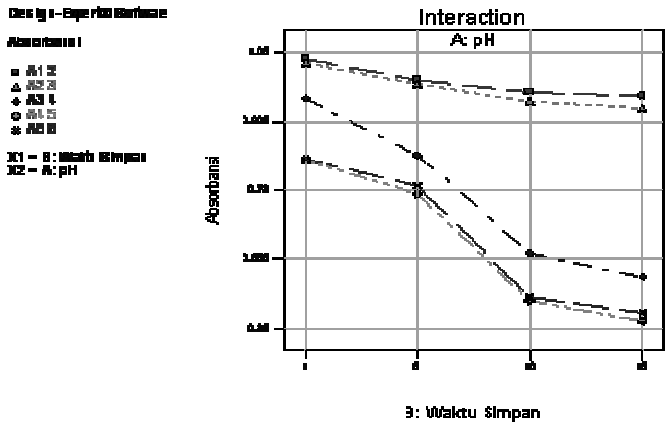
Reduksi terhadap DPPH oleh antioksidan (antosianin) akan menghasilkan penurunan absorbansi pada panjang gelombang 500- 530 nm, semakin banyak DPPH yang tereduksi oleh antioksidan (antosianin) maka hasil analisis aktifitas antioksidan berdasarkan rumus akan semakin besar .

Hasil uji t ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan antara perlakuan skala ganda dan skala laboratorium tidak terjadi perbedaan yang nyata. Hasil ini sejalan dengan penelitian Steed dan Truong (2008), aktifitas antioksidan ubi jalar dengan pemanasan 100°C pada skala laboratorium didapat 75,5% dan

pada skala ganda didapat 70,8% analisis statistik tidak berbeda.

Dari data Tabel 3 pada skala ganda diperoleh hasil $72,37/72,64 \times 100\% = 99,63\%$. Dengan hasil 99,63%, maka ekstraksi pada skala ganda dapat direkomendasikan untuk ekstraksi antosianin ubi jalar Ayamurasaki pada suhu *subcritical water* karena kualitasnya (aktifitas antioksidannya) tidak mengalami perubahan yang berarti.

Percobaan V: Stabilitas Antosianin dalam berbagai pH larutan



Gambar 13. Grafik Hubungan pH Pelarut dan Waktu Simpan Terhadap Perubahan Absorbansi Ekstrak Antosianin

Prubahan Absorbansi

Pada Gambar 13 terlihat bahwa pada pH 2 dan 3 menghasilkan absorbansi tertinggi dan paling stabil selama waktu simpan 15 hari, sedang pH>4-6 terutama pada pH=5 absorbansi antosianin terekstrak paling rendah dan paling tidak stabil dan penurunan absorbansi yang paling tajam adalah setelah penyimpanan hari ke-5. Hal ini disebabkan oleh perubahan struktur kimia antosianin, karena senyawa antosianin merupakan senyawa turunan dari kation flavilium dan inti kation flavilium ini kekurangan elektron (Gambar 3) sehingga sangat

reaktif termasuk akibat perubahan pH.

Pada pH rendah (2 dan 3) antosianin terekstrak tinggi, karena antosianin mayoritas dalam bentuk kation flavilium yang berwarna merah. Kation flavilium pada cincin C (cincin tengah) bermuatan positif dan mempunyai ikatan rangkap yang terkonjugasi antara cincin A dan cincin B, sehingga mempunyai kemampuan mengabsorpsi sinar tampak dan hal ini akan menghasilkan absorbansi tinggi (pada panjang gelombang maks) dengan spectrometer U-Vis

Sebaliknya pada peningkatan pH (4-6) terjadi perubahan bentuk

pada cincin C dari kation flavilium sehingga absorpsi pada sinar tampak berkurang bahkan tidak terjadi.

Adapun perubahan pada cincin C adalah : a) terbentuknya karbinol yang telah kehilangan ikatan rangkap terkonjugasi, b)

terbentuknya quinonoidal yaitu hilangnya proton pada kation flavilium, c) terbentuknya kalkon tak berwarna karena pada cincin C terbuka.

Kecepatan Degradasi

Tabel 4. Rerata Konstanta Degradasi (k) dan *Half-Life Time* ($t_{1/2}$) Antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki dalam Berbagai pH

pH	Waktu Simpan Hari ke-	Rerata Konstanta degradasi (k) (hari ⁻¹)	Rerata <i>Half-life time</i> ($t_{1/2}$) (hari)
2	1, 5, 10, 15	$2,9 \times 10^{-2}$	23,44
3	1, 5, 10, 15	3.6×10^{-2}	18,79
4	1, 5, 10, 15	$2,1 \times 10^{-1}$	3,28
5	1, 5, 10, 15	$2,3 \times 10^{-1}$	2,94
6	1, 5, 10, 15	$2,2 \times 10^{-1}$	3,16

Dari Tabel 4 terlihat bahwa antosianin setelah disimpan selama disimpan 15 hari pada pH 2 dan 3 relatif stabil dibanding perlakuan lain dan yang paling stabil pada pH 2 dengan nilai rerata konstanta degradasi (k) sebesar $2,9 \times 10^{-2}$ hari⁻¹ (terendah) dan nilai *half-life time* ($t_{1/2}$) sebesar 23,44 hari (tertinggi). Sedang pada pH 4-6 tidak stabil dan yang paling stabil pada pH 5

dengan nilai rerata konstanta degradasi (k) sebesar $2,3 \times 10^{-1}$ hari⁻¹ (tertinggi) dengan *half-life time* ($t_{1/2}$) sebesar 2,94 hari (terendah).

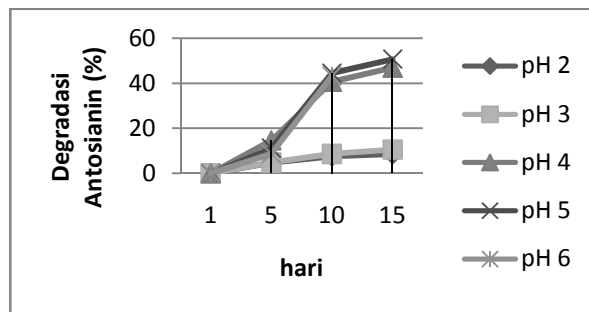
Persentase Degradasi dan Retensi warna

Tabel 5. Rerata Persentase Degradasi (%) dan Persentase Retensi (%) Warna Antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki dalam Berbagai pH

pH	Waktu Simpan Hari ke-	Rerata Degradasi Warna (%)	Rerata Retensi Warna (%)
2	1, 5, 10, 15	8,49	91,51
3	1, 5, 10, 15	10,47	89,52
4	1, 5, 10, 15	46,87	53,12
5	1, 5, 10, 15	50,62	49,38
6	1, 5, 10, 15	48,15	51,85

Berdasarkan Tabel 5 terlihat bahwa degradasi warna terendah (8,49%) atau retensi warna tertinggi (91,51%) selama 15 hari adalah pada perlakuan pH 2. Artinya perlakuan pH 2 adalah yang paling

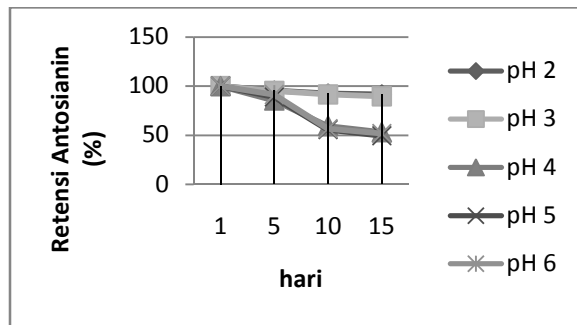
stabil. Sebaliknya degradasi warna tertinggi (50,62%) atau retensi warna terendah (49,38%) selama 15 hari adalah pada perlakuan pH 5. Artinya perlakuan pH 5 adalah yang paling tidak stabil.



Gambar 14. Pengaruh pH larutan terhadap % degradasi warna ekstrak antosianin ubi jalar Ayamurasaki selama waktu simpan

Dari Gambar 14 terlihat bahwa persentase degradasi warna ekstrak antosianin tertinggi (paling labil) adalah pada perlakuan pH 5, sedang perlakuan pH 2 dan 3 adalah paling rendah (paling stabil). Pada periode hari ke 5 sampai hari ke 10 terlihat

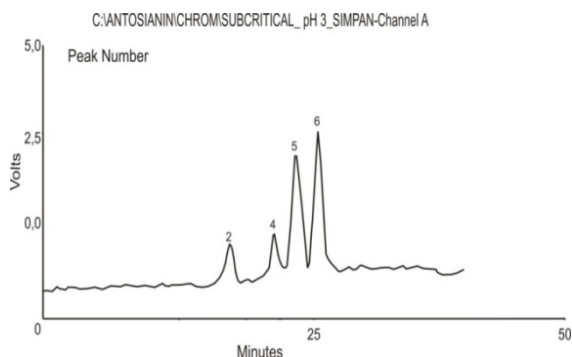
pada semua perlakuan pH jumlah kerusakan warnanya paling besar. Hal ini diduga aktifitas enzim perusak pigmen antosianin dalam kondisi paling aktif. Enzim paling umum mendegradasi antosianin adalah dari golongan *glikosidase*.



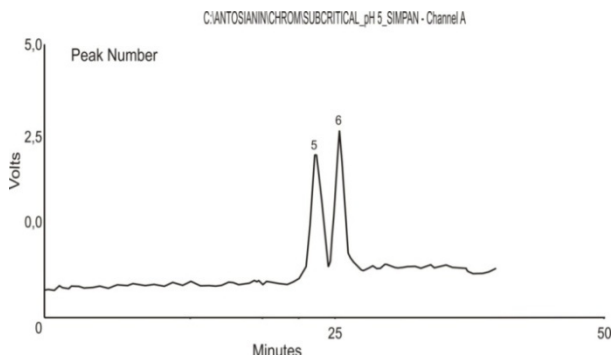
Gambar 15. Pengaruh pH larutan terhadap % retensi warna ekstrak antosianin ubi jalar Ayamurasaki selama waktu simpan

Antosianin adalah senyawa yang bersifat amfoter (hal ini ditunjukkan dengan adanya gugus H^+ dan OH^- pada , sehingga memiliki kemampuan untuk bereaksi, baik dengan asam maupun basa. Adanya ion $+$ (pada cincin ditengah) menyebabkan antosianin rentan terhadap serangan senyawa-senyawa asing dan perubahan faktor lingkungan (pH, suhu) dan hal ini akan berpengaruh terhadap

stabilitasnya. Brouillard (1982) dalam Jian Hie (2004) menyatakan bahwa dalam bentuk karbinol (akibat naiknya pH dari 3 sampai 6) warna antosianin mengalami pemucatan karena pada cincin tengah telah kehilangan ikatan rangkap yang terkonjugasi, sehingga tidak dapat mengabsorpsi sinar tampak. Karakterisasi Antosianin dengan HPLC Selama Penyimpanan.



Gambar 16. Kromatogram HPLC Antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki pada pH larutan 3 (*Subcritical Water*) setelah disimpan 60 hari



Gambar 17. Kromatogram HPLC Antosianin Ubi Jalar Ayamurasaki pada pH larutan 5 (*Subcritical Water*) setelah disimpan 60 hari

Pada Gambar 17 disajikan kromatogram sampel ekstrak pada pH larutan 3 setelah disimpan 60 hari, dari kromatogram tersebut terlihat jumlah *peak* yang muncul

adalah 4 *peak* yaitu *peak* 2, 4, 5 dan 6, sedang perlakuan pH larutan 5 *peak* yang muncul tinggal 2 *peak* yaitu *peak* 5 dan 6, artinya jumlah *peak* antosianin yang tersisa dalam

ekstrak selama penyimpanan semakin banyak maka antosianinnya lebih stabil. *Peak* 2, 4, 5 dan 6 berdasarkan urutan elusi dari aglikon diperkirakan berturut-turut adalah cyanidin, pelargonidin, peonidin dan malvidin (Durst dan Worlstad, 2001).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan viskositas larutan dan total antosianin terekstrak antara ekstraksi dalam kondisi *non-subcritical* dengan *subcritical*. Secara umum kondisi ekstraksi *subcritical* didapat viskositas larutan lebih rendah dengan total antosianin lebih tinggi. Total antosianin tertinggi dicapai pada suhu 115°C yaitu sebesar 0,474 mg/g bahan basah. Hasil uji HPLC *retention time* (Rt) antosianin hasil ekstraksi *subcritical* (115° C) dibanding *non-subcritical* (75°C) pada pH 3 tidak mengalami perubahan, yaitu antara 12-25 menit. Ketinggian *peak* kromatogram *subcritical* pH 3 paling tinggi dibanding *subcritical* pH 5 dan *non-subcritical* pH 3.
2. Ekstraksi *subcritical* suhu 115° C pada pH pelarut 2 dan 3 menghasilkan viskositas terendah (2,86 mPas), dengan total

antosianin tertinggi pada pH pelarut 2 yaitu sebesar 0,475 mg/g bahan basah tetapi tidak berbeda nyata dengan pH 3 yaitu sebesar 0,473 mg/g bahan basah.

3. Kondisi Optimum proses ekstraksi dengan metode *Subcritical Water* dicapai pada suhu 112°C, waktu 20 menit, dan pH 2 yang secara simultan dapat mengekstraksi antosianin sebesar 0,563 mg/g.
4. Total antosianin dan aktivitas antioksidan ekstrak antosianin pada skala besar dengan skala laboratorium dengan metode *Subcritical Water* pada kondisi optimum tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.
5. Stabilitas antosianin selama penyimpanan pada perlakuan pH larutan 2 dan 3 menunjukkan paling stabil, sebaliknya pada pH 5 paling labil.

Saran

1. Ekstraksi antosianin menggunakan suhu tinggi (*subcritical*) kemungkinan juga berdampak terlarutnya/terikutnya senyawa organik seperti : karbohidrat, protein, dan lemak. Tercampurnya senyawa ini dalam ekstrak antosianin diduga akan berpengaruh terhadap stabilitas antosianin selama penyimpanan, disamping ekstraknya nampak

agak keruh. Untuk itu perlu penelitian lanjutan untuk memisahkan senyawa tersebut sehingga didapat hasil ekstraksi lebih stabil dan penampakan larutan yang lebih jernih.

2. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi umumnya bukan spesifik (tidak selektif) dalam ekstraksi antosianin, termasuk penggunaan pelarut air. Hal ini dimungkinkan bahan-bahan lain seperti: gula, asam-asam organik, senyawa fenolik lain (*procyanidins*) ikut terekstraksi. Untuk itu perlu penelitian lanjutan tentang pemurnian ekstrak antosianin, sehingga didapat antosianin dengan kualitas tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

Anonymous, 2004. Effect of pH Anthocyanin Structure. http://www.wrintek-progresio.or.id/pertanian/terungip_g.htm. tanggal akses 17 Oktober 2008.

Anonymous, 2009. Superheated water. Wikipedia, the free encyclopedia

http://en.wikipedia.org/wiki/Superheated_water"

Category: Water

Casas, L., C. Mantell, M. Rodríguez, A. Torres, F. A. Macías, E. J. Martínez de la Ossa, 2007. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds from sunflower leaves: comparison of analytical and pilot-scale extraction. Proceedings of European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6)

Copenhagen.

Chan, S.W., C.Y. Lee, C.F. Yap, W.M. Wan Aida, and C.W. Ho, 2009. Optimisation of Extraction Condition for Phenolic Compounds from Limau Purut (*Citrus hystrix*) Peels. International Food Research Journal 16: 203-213

Durst, R. W., & Wrolstad, R. E., 2005. Unit F1.2: Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-visible Spectroscopy. In R. E. Wrolstad (Ed.), Handbook of analytical food chemistry (pp. 33-45). New York: John Wiley & Sons.

Gao, L. and G. Mazza, 1996. Extraction of Anthocyanin Pigment from Purple Sunflower

- Hulls. J. Food Sci. 61 (3). P. 600-603
- Giusti, M.M. and R.E. Wrolstad, 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanin by UV-Visible Spectroscopy. John Wiley and Sons. Inc. <http://Ipi.oregonstate.edu/ss01/anthocyanin.html>. Tanggal akses Oktober 2008
- Ghoreishi, S.M.; R. Gholami Shahrestani and S.H. Ghaziaskar, 2008. Subcritical Water Extraction of Mannitol from Olive Leaves. Proceedings of World Academy of Science. Engineering and Technology. Vol. 33.
- Hatano T., H. Kagawa, Yasuhara, and T. Okuda. 1998. Two New Flavonoids and Other Constituents in Licorice Root : Their Relative Astringency and Radical Scavenging Effects. *Chem Pharm Bull* 36 : 2090-7.
- Hegenbart, S., 2004. Sifting Through Starcher Maximize Performance. <http://www.foodproductdesign.com/archive/1996/0196CS>. diakses tanggal 3 Februari 2010
- Jian Hie, 2004. Absorption, Excretion, and Transformation of Individual Anthocyanins in Rats. Thesis. Faculty of Graduate School of The University of Maryland.
- Joshita, D., Juheini, 2009. Teknologi Kosmetik. Farmasi Universitas Indonesia. <Http://www.Google.co.id/Diakse> November 2010
- King, J.W., R.D. Gabriel and J.D. Wightman, 2009. Subcritical Water Extraction of Anthocyanins from Fruit Berry Substrates. Supercritical Fluid Facility. Los Alamos National Laboratory C.ACT Group Chemistry Division. Los Alamos. USA.
- Kivilompolo, Maarit, 2009. Development of Sample Pretreatment and Liquid Chromatographic Techniques for Antioxidative Compounds. Academic Dissertation. Faculty of Science of the University of Helsinki.
- Laleh, G.H., H. Frydoonfar, R. Heidary, R. Jameei and S. Zare. 2006. The Effect of Light, Temperature, pH and Species on

- Stability of Anthocyanin Pigments in Four *Berberis* Species. *Pakistan Journal of Nutrition* 5 (1): 90-92, ISSN 1680-5194
- Linda McGraw, 2001. Using hot water as a solvent to analyze atrazine in meat. *Agricultural Research*. Washington:. Vol. 49, Iss. 10; pg. 22, 1 pgs
- Li, Paul CH , Michael CK Wong, Hans Adomat and Emma S Tomlinson Guns, 2009. Blueberry Anthocyanins Analyzed by Absorption Spectroscopy and HPLC-UV-MS. *Canadian Journal pure & applied science*. SENRA Academic Publishers, Burnaby, British Columbia. Vol. 3, No. 2, pp. 765-772.
- Martinez *at all*. 2002. **Antioxidants Technology**. 4th ed. Vol 3. John Willey and Sons. New York.pp. 424-447 of 1121 pp.58
- Montgomery,D.C., 2001. Design Analysis of Experiment. 5th edition
- John Willey and Sons. Inc. New York.
- Pokorný J, Korczak J. 2001. Preparation of natural antioxidants. In: Pokorný J, Yanishlieva N, Gordon M, editors. *Antioxidants in food: practical application*. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited. P311-41.
- Reyes, L. Fernando, L. Cisneros-Zevallos, 2007. Degradation Kinetics and Colour of Anthocyanins in Aqueous Extracts of Purple- and Red-flesh Potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *J. Food Chemistry* 100 (2007) 885–894.
- Ricter, P., M.I. Toral, and C. Toledo, 2006. Subcritical Water Extraction and Determination of Nifedipine in Pharmaceutical Formulation. *Drugs, Cosmetics, Forensic Sciences. J. of AOAC International*. Vol. 89, No.2.
- Roudsari, Majid Hassas, 2007. Subcritical Water Extraction of Antioxidant Compound From Canola Meal. Thesis. Departement of Foos and Bioproduct Science. University of Saskatchewan. Saskatoon. Saskatchewan. Canada.

- Saona, Luis E. Rodriguez and Ronald E. Wrolstad, 2001. Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. F1.1.1- F1.1.11. John Wiley & Sons, Inc.
- Stanciu, Gabriela, Simona Lupsor, Constanta Sava and Sabina Zagan, 2010. Spectrophotometric study on stability of anthocyanins extracts from black grapes skins. *Ovidius University Annals of Chemistry Volume 21, Number 1*, pp. 101-104.
- Steed, L.E. And V.-D. Truong, 2008. Anthocyanin Content, Antioxidant Activity, and Selected Physical Properties of Flowable Purple-Fleshed Sweetpotato Purees. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE—Vol. 73, Nr. 5*
- Suda, I., Oki, Tomoyuki, Masuda, Miami, Kobayaki, Mio, Nishiba, Yoichi, Furata, Shu, 2003. Physiological Functionality of Purple-Fleshed Sweet Potatoes Containing Anthocyanin and Utilization in Foods. *Japan Agricultural Research Quarterly (JARQ) 37(3): 167-173.*
- Sun, Y. and J.J.Cheng, 2005. Dilute Acid Pretreatment of Rye Straw and Bermudagrass for Ethanol Production. *Bioresource Technology* 96(14), 1599-1606.
- Tako, Masakuni, 2000. Gelatinization Characteristics of Rice Starch (Yukihikari). *Departement of Bioscience and Biotechnology. Faculty of Agriculture. University of the Ryukyus. Japan. J. Appl. Glycoscy. Vol.47(2). P.187-192.*
- Teow, Choong C., Van-Den Truong, Roger F.Mc.Feters, Roger L.Thompson, Kenneth V.Pecota, G.Craig Yencho, 2007. Antioxidant Activity, Phenolic and β -Carotene Contents of Sweet Potatoes Genotypes with Varying Flesh Colours. *ScienceDirect. Food Chemistry* 103, 829-838.
- Terahara, N., I. Konczak, H. Ono, M. Yoshimoto and O. Yamakawa, 2004. Characterization of Acylated Anthocyanins in Callus Induced from Storage Root of Purple-Fleshed Sweet Potato. *Ipomoea batatas L. J.of Biomedicine and Biotechnology* 5:279-286. <http://www.hindawi.co.uk/open-access/jbb/volume2004/s1110724304406056.pdf>.

- Vanini, Lucimara Salvat, Talita Akemi Hirata, Angela Kwiatkowski, Edmar Clemente, 2009. Extraction and stability of anthocyanins from the Benitaka grape cultivar (*Vitis vinifera* L.). *Braz. J. Food Technol.*, v. 12, n. 3, p. 213-219, jul./set.
- Wiboonsirikul, Jintana , Yukitaka Kimura, Megumi Kadota, Hisahiro Morita, TakuoTsuno, and Shuji Adachi, 2007. Properties of Extracts from Defatted Rice Bran by Its Subcritical Water Treatment. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 8759–8765
- Wrolstad, Ronald E., Robert W. Dursta and Jungmin Lee, 2005. Tracking Color and pigment Changes in Anthocyanin Products. *Trends in Food Science & Technology* 16: 423–428.