

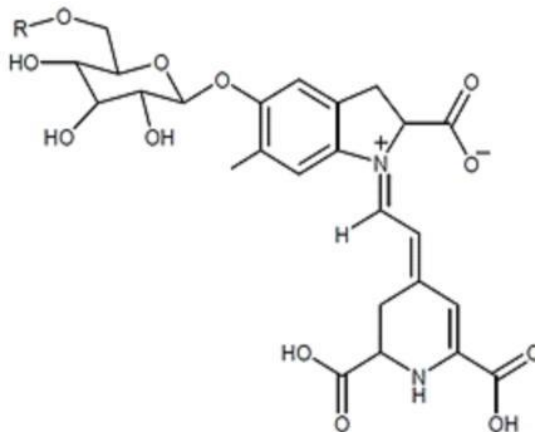
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Betasianin

Betasianin adalah zat warna yang berfungsi memberikan warna merah dan berpotensi menjadi pewarna alami untuk bahan pangan yang lebih aman bagi kesehatan dibanding pewarna sintetik. Betasianin merupakan senyawa antioksidan yang termasuk dalam golongan senyawa fenolik. Betasianin ini banyak dimanfaatkan karena kegunaannya selain sebagai pewarna juga sebagai antioksidan sebagai perlindungan terhadap gangguan akibat stres oksidatif (Setiawan, dkk, 2015). Betasianin merupakan golongan betalain yang memiliki pigmen warna merah keunguan dengan panjang gelombang khas pada 534-555 nm (λ_{max}). Stabilitas betasianin akan semakin menurun pada pemanasan suhu 70 dan 80°C (Setiawan, dkk, 2015).

Betasianin memiliki sifat yang lebih hidrofilik jika dibandingkan dengan antosianin. Pelarut yang dapat digunakan dalam mengekstrak betasianin yaitu air, etanol, dan metanol (Naderi, dkk, 2012). Betasianin memiliki tingkat kestabilan yang tinggi pada pH 5, sedangkan kerusakan betasianin meningkat tajam di bawah pH 4, serta nilai pH netral menyebabkan kerusakan betasianin dan berubah menjadi berwarna coklat (Setiawan, dkk, 2015).



Gambar 2.1 Struktur betasianin

Struktur betasianin terdiri dari betanidin, glikon yang bervariasi dengan substitusi gugus asil dan gugus gula.. Betalain adalah pigmen alami yang mengandung asam betalainat sebagai kromofor dalam strukturnya. Konjugat asam betalainat berikatan dengan siklo-3,4-dihidroksifenilalanin (DOPA) untuk menghasilkan betasianin yang berwarna merah-violet (Tiwari & Cullen, 2013).

2.2. Tumbuhan Sumber Betasianin

Terdapat beberapa famili tumbuhan penghasil betalain yang telah diidentifikasi yaitu *Aizoaceae*, *Amaranthaceae*, *Basellaceae*, *Cactaceae*, *Chenopodaceae*, *Didiereaceae*, *Holophytaceae*, *Nyctaginaceae*, *Phytolaccaceae* (termasuk *Stegnospermaceae*) dan *Portulacae* (Jackman & Smith, 1996). Betasianin ditemukan di vakuola berbagai jenis tanaman seperti buah bit merah (*Beta vulgaris* L.), buah kaktus, dedaunan bit, bunga tanaman bugenvil dan tanaman *Amaranthus* (Tiwari & Cullen, 2013).

Buah bit (*Beta vulgaris* L.) merupakan tanaman sumber utama dari pigmen berwarna merah yaitu betalain, yang terdiri dari betasianin dan betasantin (Tanabtabzadeh, dkk, 2019). Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) adalah buah berkulit merah dengan daging merah-ungu dan biji hitam, dan kaya akan pigmen warna merah keunguan yang dikenal sebagai betasianin (Leong, Ooi, Law, & Julkifle, 2018). *Hylocereus polyrhizus* mengandung betalain dengan konsentrasi berkisar 0,23- 0,39 mg/g dengan dominasi betasianin (Tiwari & Cullen, 2013).

Bougainvillea glabra merupakan tanaman dengan bunga berwarna merah muda, magenta, merah, oranye, putih atau kuning yang termasuk dalam famili *Nyctaginaceae*. Bunga tanaman *Bougainvillea glabra* memiliki pigmen warna larut air yang berpotensi sebagai pewarna alami. Tanaman *Bougainvillea glabra* mengandung betasianin sekitar 1,76 mg/g dan betasantin sekitar 5,81 mg/g (Maran, dkk, 2015). *Basella rubra* L. adalah tanaman yang memiliki buah berwarna hitam atau ungu gelap yang memiliki pigmen warna larut dalam air. *Basella rubra* L. diperkirakan mengandung betasianin 1,43 mg/g dan betasantin adalah 5,37 mg/g (Maran & Priya, 2015).

2.3. Ekstraksi

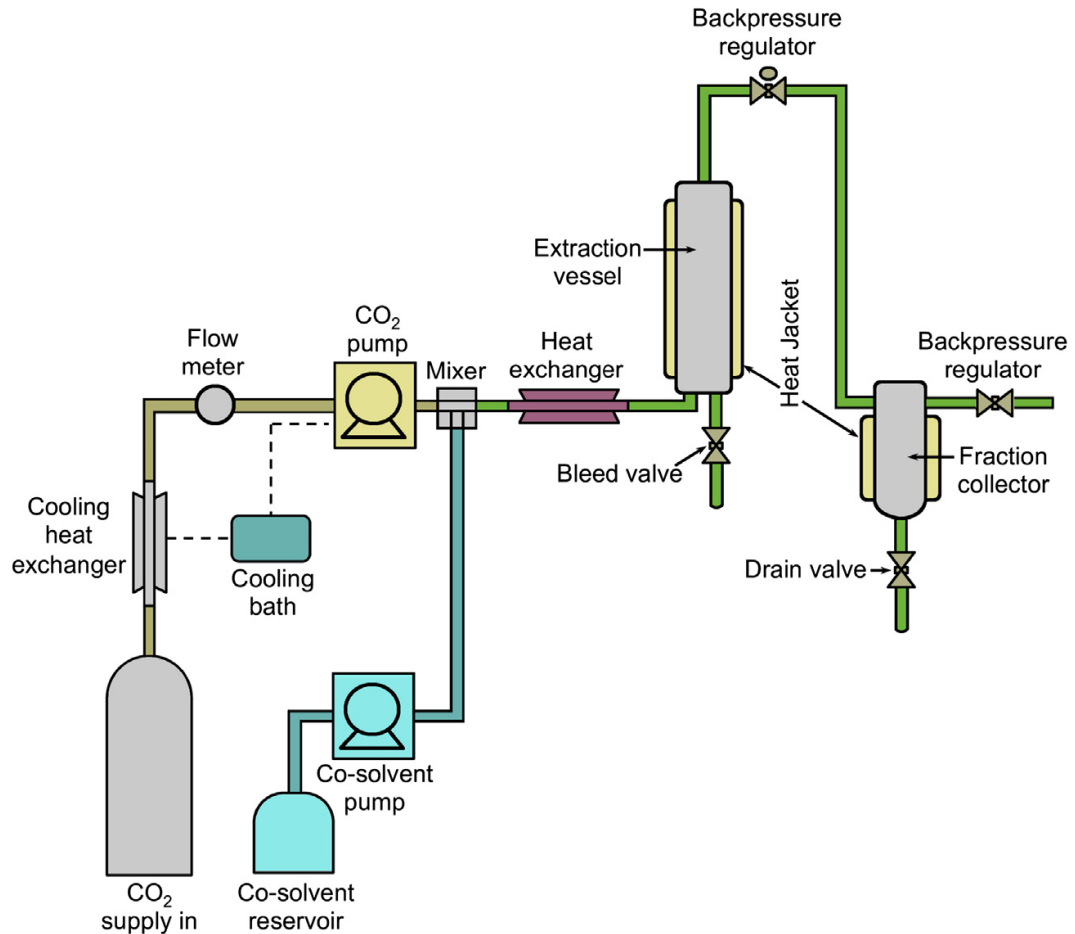
Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Pada ekstraksi betasianin metode ekstraksi secara konvensional yang cukup efektif adalah maserasi. Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007).

Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani, 2014).

Secara modern ekstraksi dapat dilakukan menggunakan beberapa metode, antara lain pemrosesan bertekanan tinggi (*high-pressure processing*), ultrasonik (sonikasi), medan listrik berdenyut (*pulsed electric field*), serta *Microwave-Assisted Extraction* (Tiwari & Cullen, 2013).

Supercritical Extraction merupakan ekstraksi yang menggunakan pelarut bertekanan yang telah mendapat perlakuan untuk ekstraksi senyawa dari bahan biologis. Metode ini dapat menerapkan kondisi tekanan dan suhu tertentu, sifat fisikokimia pelarut, termasuk densitas, difusivitas, viskositas, dan konstanta dielektrik, dapat dikendalikan. Pada metode ini aplikasi tekanan tinggi dan suhu dapat meningkatkan ekstraksi dengan meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam matriks seluler dan efisiensi komponen seluler ke bagian luar sel (Tiwari & Cullen, 2013). Teknik *Supercritical Extraction* didasarkan pada penggunaan pelarut pada suhu dan tekanan di atas titik kritisnya. Titik di mana suhu kritis (T_c) dan tekanan kritis (P_c) bertemu disebut titik kritis zat (Ibáñez, dkk, 2016). Saat suatu zat berada pada keadaan

temperatur dan tekanan diatas titik kritisnya sendiri, maka zat tersebut menjadi *Supercritical Fluids* yang memiliki sifat gas serta sifat cair (Mandal, dkk, 2015). *Supercritical Fluids* memiliki sifat secara fisik yaitu massa jenisnya mendekati cairan, akan tetapi viskositas dan tegangan permukaannya mendekati gas (Ibáñez, dkk, 2016).



Gambar 2.2 Skema instrumen sistem *Supercritical Extraction*

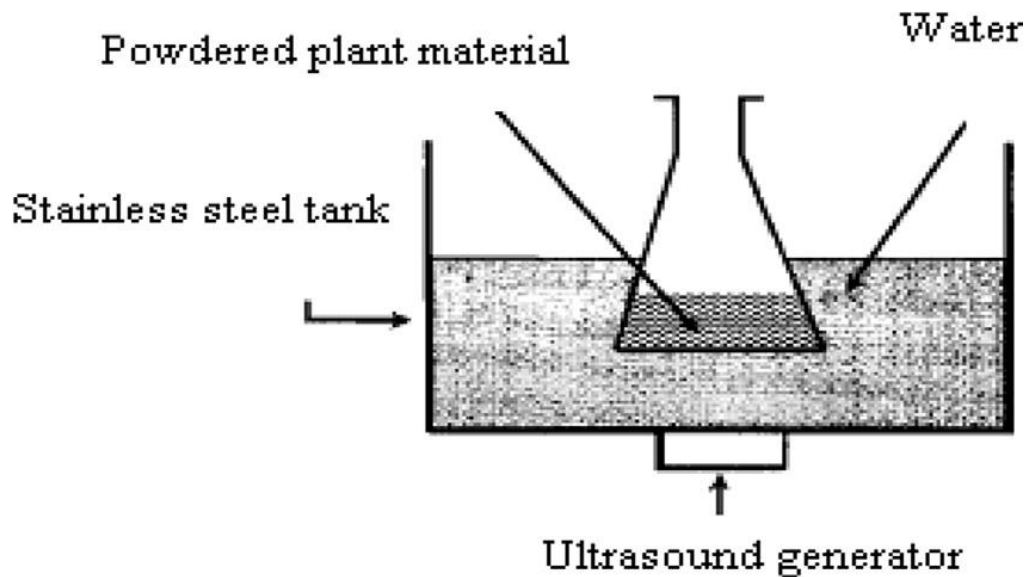
Gambaran instrumentasi ekstraksi dengan metode *Supercritical Fluid* dapat dilihat pada Gambar 2.2 (Roohinejad, dkk, 2017). *Supercritical Fluid* diproduksi dengan memanaskan gas di atas suhu kritisnya atau mengompresi cairan di atas tekanan kritisnya (Mandal, dkk, 2015). Di antara berbagai pelarut yang dapat digunakan sebagai *Supercritical Fluid*, karbon dioksida (CO_2) adalah pelarut yang paling umum digunakan. Hal ini dikarenakan, tidak berbahaya bagi manusia dan lingkungan, sesuai untuk komponen yang peka terhadap suhu, dan dapat mencegah terjadinya oksidasi pada ekstrak. Karbon dioksida (CO_2) memiliki potensi besar untuk melarutkan zat yang

relatif nonpolar, sehingga untuk meningkatkan kemampuannya dalam melarutkan zat yang relatif polar dapat dilakukan penambahan sejumlah kecil *cosolvent* (seperti metanol, etanol, dan air) yang sesuai dengan kepolaran analit yang akan diekstrak (Roohinejad, dkk, 2017).

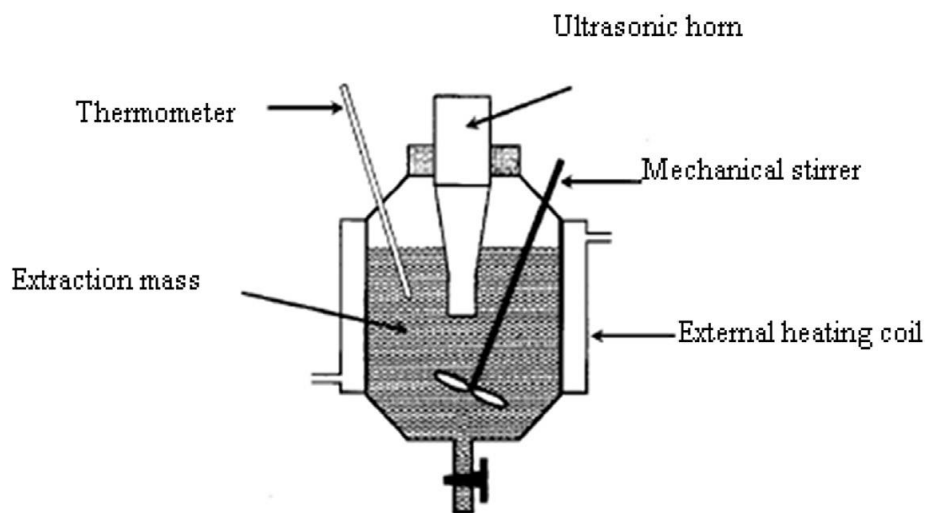
Secara umum proses ekstraksi *Supercritical Fluid* terdiri dari dua langkah yaitu ekstraksi komponen yang larut dalam pelarut superkritis dan pemisahan zat terlarut yang diekstraksi dari pelarut. Ekstraksi ini dapat diterapkan pada sampel dengan matriks padat, cair atau kental (Mandal, dkk, 2015).

Ultrasound-Assisted Extraction merupakan teknik ekstraksi yang menawarkan alternatif yang murah, ramah lingkungan, cepat dan efisien daripada teknik ekstraksi konvensional. Peningkatan ekstraksi yang diperoleh dengan menggunakan *ultrasound* terutama disebabkan oleh efek kavitasi akustik yang dihasilkan dalam pelarut. Metode ini juga memberikan efek mekanis, yang memungkinkan penetrasi pelarut menjadi lebih besar ke dalam matriks sampel, meningkatkan area permukaan kontak antara fase padat dan cair, dan sebagai hasilnya, zat terlarut lebih cepat berdifusi dari fase padat ke dalam pelarut (Tiwari & Cullen, 2013).

Pada proses *Ultrasound-Assisted Extraction* digunakan energi akustik (energi mekanik yang tidak diserap oleh molekul tetapi ditransmisikan ke seluruh media) dan pelarut untuk mengekstraksi senyawa target dari berbagai matriks tanaman. Gelombang ultrasonik ditransmisikan melalui media melalui gelombang tekanan dengan menginduksi getaran molekul yang secara bergantian menekan dan meregangkan struktur molekul medium (Mandal, dkk, 2015).



Gambar 2.3 Instrumentasi ultrasonik dengan sistem rendaman



Gambar 2.4 Instrumentasi ultrasonik sistem *probe*

Ekstraktor ultrasonik selalu terdiri dari dua bagian yaitu generator dan transduser. Generator adalah osilator elektronik atau mekanik yang harus kokoh, kuat, dapat beroperasi dengan dan tanpa beban. Transduser adalah perangkat untuk mengubah energi mekanik atau listrik menjadi energi suara pada frekuensi ultrasonik. Terdapat dua jenis sistem instrumen ultrasonik yang biasa digunakan di laboratorium yaitu menggunakan sistem rendaman/*ultrasonic bath* (Gambar 2.3) dan sistem *probe* (Gambar 2.4). Sistem *probe* cenderung jauh lebih kuat karena intensitas ultrasonik dikirim

pada permukaan kecil (ujung *probe*) dibandingkan dengan sistem rendaman (Mandal, dkk, 2015).

Microwave-assisted extraction (MAE) adalah salah satu alternatif metode ekstraksi pigmen tanaman. Dibandingkan dengan ekstraksi konvensional, MAE membutuhkan waktu yang relatif singkat, pelarut yang lebih sedikit, energi yang rendah, dan menghasilkan hasil ekstraksi yang lebih tinggi. Radiasi gelombang mikro menghasilkan pecahnya sel dan pelepasan senyawa intraseluler karena peningkatan suhu dan tekanan internal (Bastos & Gonçalves, 2017). Radiasi gelombang mikro adalah gelombang elektromagnetik yang merambat dalam ruang hampa dengan kecepatan cahaya yang frekuensinya berkisar antara 300 MHz-300 GHz. Pada spektrum elektromagnetik, gelombang mikro terletak di antara frekuensi radio dan inframerah (Roohinejad, dkk, 2017).

Pada ekstraksi dengan gelombang mikro digunakan sampel yang masih mengandung sedikit air atau kelembaban yang berfungsi sebagai target untuk pemanasan gelombang mikro. Karena ketika kelembaban di dalam sel tanaman dipanaskan, air akan menguap dan menghasilkan tekanan pada dinding sel dari dalam. Tekanan mendorong dinding sel dari dalam, meregang dan akhirnya memecah sel tanaman, yang membantu dalam pelepasan analit dari sel-sel yang pecah ke pelarut sekitarnya. Terdapat dua jenis sistem MAE yang tersedia secara komersial yaitu bejana ekstraksi tertutup dan oven microwave terfokus (Mandal, dkk, 2015).