

**ANALISIS KADAR ANTOSIANIN TOTAL HASIL
EKSTRAKSI BUAH BIT (*Beta vulgaris*) DENGAN METODE pH
DIFERENSIAL**

SKRIPSI



Oleh :

Nabilla Hermawanti Kartika Sari

NIM. 17040075

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS dr.SOE BANDI JEMBER

2020

**ANALISIS KADAR ANTOSIANIN TOTAL HASIL
EKSTRAKSI BUAH BIT (*Beta vulgaris*) DENGAN METODE pH
DIFERENSIAL**

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi



Oleh :

Nabilla Hermawanti Kartika Sari

NIM. 17040075

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI

FAKULTAS ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS dr. SOEBANDI JEMBER

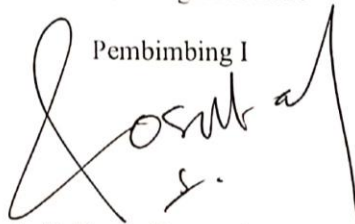
2020

LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember

Jember, 24 Agustus 2021

Pembimbing I



Dr. Apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm

NIDN. 0001028102

Pembimbing II



apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm

NIDN. 0703068903

HALAMAN PENGESAHAN

Tugas Akhir yang berjudul “*Analisis Kadar Antosianin Total Hasil Ekstraksi Buah Bit (Beta vulgaris) Dengan Metode pH Diferensial*” telah diuji dan disahkan oleh Program Studi Sarjana Farmasi pada :

Hari : Selasa

Tanggal : 24 Agustus 2021

Tempat : Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi Jember

Tim Penguji

Ketua,

Drs. Hendro Prasetyo , S.Kep., Ns., M.Kes
NIDN. 4027035901

Penguji II

Dr. apt. Ayik Rosita P., M.Farm
NIDN. 0001028102

Penguji III

apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm
NIDN. 0703068903

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan



Henna Melda Parsina, S.Kep., Ns., M.Kep

NIDN.0706109104

TUGAS AKHIR

ANALISIS KADAR ANTOSIANIN TOTAL HASIL EKSTRAKSI BUAH BIT (*Beta vulgaris*) DENGAN METODE PH DIFERENSIAL

oleh :

Nabilla Hermawanti Kartika Sari

NIM. 17040075

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. apt. Ayik Rosita P., M.Farm

Dosen Pembimbing Anggota : apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Nabilla Hermawanti Kartika Sari

Tempat, Tanggal Lahir : Jember, 18 September 1998

NIM : 17040075

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa penulisan skripsi yang berjudul “*Analisis Kadar Antosianin Total Hasil Ekstraksi Buah Bit (Beta vulgaris) Dengan Metode pH Diferensial*” adalah asli dan belum diajukan sebagai syarat penelitian, baik di Universitas dr. Soebandi Jember maupun di perguruan tinggi lain. Skripsi ini murni gagasan dan rumusan saya sendiri tanpa ada bantuan pihak lain, kecuali arahan dari Tim Pembimbing. Dalam perumusan skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat orang lain yang telah ditulis serta dipublikasikan, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan dalam daftar pustaka, apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dan atau sanksi lainnya, sesuai dengan norma yang berlaku dalam perguruan tinggi lain



yang menyatakan

Nabilla Hermawanti Kartika Sari

NIM.17040075

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji dan syukur kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penyusunan Tugas Akhir ini dapat terselesaikan. Tugas Akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan menyelesaikan pendidikan Program Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi dengan judul "Analisis Kadar Antosianin Total Hasil Ekstraksi Buah Bit (*Beta Vulgaris*) Dengan Metode pH Diferensial ".

Penyusunan dapat terlaksana dengan baik berkat dukungan dan bimbingan dari banyak pihak. Untuk itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu Hella Meldy Tursina, S.Kep., Ns., M.Kep selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi
2. Ibu Dhina Ayu, S.Farm.,M.Kes.,Apt. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi
3. Ibu Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm. selaku pembimbing 1
4. Ibu apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm. selaku pembimbing 2
5. Bapak Hendro Prasetyo, S.Kep., Ns., M.Kes selaku dosen penguji
6. Seluruh ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember yang telah memberikan ilmu dan arahan untuk menyelesaikan skripsi dengan baik.

7. Almarhum Ibu Novita Taurusia selaku ibu tercinta yang selalu memberikan semangat serta doa tulus agar skripsi ini bisa selesai dengan baik.

8. Bapak Iswanto dan keluarga yang selalu memberikan semangat, dukungan, perhatian dan doa setiap hari.
9. Teman-teman terdekat dan teman seperjuangan farmasi yang telah memberikan semangat.
10. Para pihak yang tidak bias disebutkan satu persatu, terimakasih atas semua dukungan dan bantuannya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan. Penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya sehingga laporan proposal skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan di lapangan serta bisa dikembangkan lagi lebih lanjut.

Jember , 25 Oktober 2020

Penulis

ABSTRAK

Hermawanti, Nabilla.*, Puspaningtyas Ayik R. **, Setyaningrum Lindawati. ***.
2021. Analisis Kadar Antosianin Total Hasil Ekstraksi Buah Bit (*Beta vulgaris*) Dengan Metode pH Diferensial. Skripsi. Program Studi Fakultas Ilmu Kesehatan Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember.

Buah bit (*Beta vulgaris*) merupakan salah satu jenis umbi-umbian yang didalamnya mengandung banyak manfaat untuk kesehatan. Manfaat buah bit antara lain adalah sebagai pembersih darah yang ampuh, melegakan pernafasan, memaksimalkan perkembangan otak bayi, mengatasi anemia, sebagai anti kanker dan antioksidan yang tinggi. Manfaat dalam buah bit tersebut didapat karena adanya kandungan suatu senyawa dari buah bit (*Beta vulgaris*) yakni senyawa antosianin yang sering juga digunakan sebagai pewarna alami. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis kadar antosianin total hasil ekstraksi buah bit (*Beta vulgaris*) dengan metode pH diferensial. Desain penelitian ini adalah menentukan kadar total antosianin konten, berdasarkan perubahan struktur antosianin yang kromofor antara pH1, pH2, pH3, pH4, pH5, pH6. Dimana pada pH1 sampai pH3 antosianin secara keseluruhan pada bentuk kation flavillum atau oxonium yang berwarna, sedangkan pada pH4 sampai pH6 antosianin terdapat pada bentuk karbinol atau hemikal yang tidak berwarna. Prinsip ini menyebabkan pH diferensial memberikan pengukuran total antosianin yang cukup akurat dan cepat. Pada penelitian ini analisis kadar antosianin menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. Hasil yang diperoleh bahwa kadar antosianin total yang terdapat dalam 400 gram sampel buah bit sebesar 31,22 mg, dengan nilai absorbansi tertinggi berada pada pH 1 yakni 0,776. Hal ini dikarenakan kondisi yang semakin asam akan menyebabkan senyawa antosianin semakin banyak dihasilkan. Maka dari itu disarankan untuk penelitian selanjutnya dapat menindak lanjuti lebih jauh seperti pengaruh jenis pelarut yang berbeda dalam suasana asam menggunakan metode pH diferensial. Kesimpulan pada penelitian ini adalah panjang gelombang yang diperoleh dari pengukuran adalah 510 nm, dengan nilai absorbansi 0,8209 dan rentang pH 1 yang memiliki nilai absorbansi paling tinggi sebesar 0,776 dengan kadar total antosianin 0,6245 mg dalam 400 gram sampel.

Kata kunci: Antosianin, buah bit, metode pH diferensial

* Peneliti

** Pembimbing 1

*** Pembimbing 2

ABSTRACT

Hermawanti, Nabilla. *, Puspaningtyas Ayik R. **, Setyaningrum Lindawati. ***.
2021. Analysis of Total Anthocyanin Levels Extracted by Bit (Beta vulgaris) Using Differential pH Method. Undergraduate Thesis. Study Program Faculty of Pharmacy Bachelor, University of Health Sciences, Jember.

Beetroot (Beta vulgaris) is one type of tuber which contains many health benefits. The benefits of beets include being a powerful blood purifier, relieving breathing, maximizing baby brain development, overcoming anemia, as an anti-cancer and high antioxidant. The benefits in beets are obtained because of the content of a compound from beetroot (Beta vulgaris), namely anthocyanin compounds which are often also used as natural dyes. The purpose of this study was to analyze the total anthocyanin content extracted from beetroot (Beta vulgaris) using the differential pH method. The design of this study was to determine the total anthocyanin content, based on changes in the anthocyanin structure of the chromophore between pH1, pH2, pH3, pH4, pH5, pH6. Where at pH1 to pH3 anthocyanins are generally in the form of colored flavillum or oxonium cations, while at pH4 to pH6 anthocyanins are in the form of colorless carbinol or hemical. This principle causes the differential pH to provide a fairly accurate and fast measurement of total anthocyanins. In this study, anthocyanin levels were analyzed using a UV-Vis Spectrophotometer. The results obtained that the total anthocyanin content contained in 400 grams of beetroot sample was 31.22 mg, with the highest absorbance value being at pH 1, which was 0.776. This is because the more acidic conditions will cause more anthocyanin compounds to be produced. Therefore, it is recommended for further research to be able to follow up further such as the effect of different types of solvents in acidic conditions using the differential pH method. The conclusion of this study is that the wavelength obtained from the measurement is 510 nm, with an absorbance value of 0.8209 and a pH range of 1 which has the highest absorbance value of 0.776 with a total anthocyanin content of 0.6245 mg in 400 grams of sample.

Keywords: Anthocyanin, beetroot, differential pH method

* Author

** Advisor 1

*** Advisor 2

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN JUDUL DALAM.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBING.....	v
HALAMAN ORISINALITAS.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tinjauan Tumbuhan Buah Bit	6
2.1.1 Klasifikasi Buah Bit.....	6
2.1.2 Morfologi Buah Bit.....	6
2.1.3 Kandungan Buah Bit.....	8
2.1.4 Manfaat Buah Bit	9
2.2 Ekstraksi.....	11
2.2.1 Metode Ekstraksi	12
2.3 Antosianin	15

2.4	Spektrofotometri	18
2.4.1	Teori Spektrofotometri Ultraviolet	18
2.4.2	Hukum Lambert Beer	21
2.4.3	Penggunaan Spektrofotometri Ultraviolet	22
2.4.4	Analisis Kuantitatif	23
2.4.5	Peralatan Untuk Spektrofotometri	24
2.4.6	Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis	26
2.4.7	Metode pH differensial	30
BAB III.	KERANGKA KONSEPTUAL	32
3.1	Bagan Kerangka Konseptual	32
BAB IV.	METODE PENELITIAN.....	33
4.1	Desain Penelitian	33
4.2	Populasi dan Sampel	33
4.2.1	Populasi.....	33
4.2.2	Sampel penelitian	33
4.3	Tempat dan Waktu Penelitian	33
4.4	Definisi Operasional	34
4.5	Pengolahan dan Analisa Data	35
4.5.1	Teknik pengolahan.....	35
BAB V.	HASIL DAN ANALISIS.....	40
5.1	Rendemen Sampel	40
5.2	Skrinning Fitokimia Senyawa Antosianin.....	40
5.3	Panjang Gelombang.....	42
BAB VI.	PEMBAHASAN	46
6.1	Pembahasan.....	46
BAB 7.	KESIMPULAN DAN SARAN	51
7.1	Kesimpulan.....	51
7.2	Saran	51
DAFTAR PUSTAKA		52
LAMPIRAN		55

DAFTAR TABEL

1. Perbedaan Letak Gugus Tersubstitusi dari Enam Antosianidin	18
2. Definisi Operasional	37
3. Hasil Identifikasi Senyawa Antosianin	44
4. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum	46
5. Perbandingan Panjang Gelombang Maksimum Antosianin dari Berbagai Tumbuhan.....	47
6. Hasil Nilai Absorbansi Sampel Buah Bit Terhadap Pengaruh pH	50

DAFTAR GAMBAR

1. Buah Bit (<i>Beta vulgaris</i>)	6
2. Struktur Kimia Antosianin	17
3. Spektrofotometer	27
4. Proses Dispersi Cahaya	31
5. Kerangka Konsep.....	35
6. Hasil Skrinning Fitokimia Buah Bit (<i>Beta vulgaris</i>).....	45
7. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum	48
8. Struktur Antosianin Sianidin-3-Glikosida.....	49
9. Diagram Batang Rerata Absorbansi pH Diferensial	51

DAFTAR LAMPIRAN

1. Lampiran 1. Bagan Kerja Preparasi dan Ekstraksi	63
2. Lampiran 2. Bagan Kerja Identifikasi Senyawa Pigmen Antosianin	64
3. Lampiran 3. Bagan Kerja Analisis Kadar dengan Metode pH Differensial.....	66
4. Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak Buah Bit	67
5. Lampiran 5. Perhitungan Rumus Metode pH Diferensial.....	68
6. Lampiran 6. Tabel dan Gambar	70

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan wilayah yang beriklim tropis dan berada di daerah khatulistiwa. Indonesia memungkinkan tumbuhnya berbagai macam tumbuhan dengan subur seperti sayuran, umbi-umbian, dan buah-buahan. Salah satu tanaman yang termasuk umbi-umbian adalah buah bit (Putri dan Setiawati, 2015). Buah bit (*Beta vulgaris*) merupakan salah satu tanaman umbi-umbian yang banyak tumbuh di Indonesia terutama di daerah dataran tinggi dengan udara yang dingin. (Mutiara dan Heni,2013).

Buah bit memiliki banyak manfaat untuk kesehatan. Manfaat buah bit antara lain adalah pembersih darah yang ampuh, melegakan pernafasan, memaksimalkan perkembangan otak bayi, mengatasi anemia, sebagai anti kanker, dan antioksidan. Selain itu, buah bit juga memiliki manfaat sebagai pewarna alami pada produk pangan dan kosmetik, dimana hal tersebut ditunjukkan dengan adanya kandungan senyawa antosianin. Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan.

Antosianin adalah metabolit sekunder dari senyawa flavonoid yang secara luas terbagi dalam polifenol tumbuhan. Flavonol, flavan-3-ol, flavon, flavanon, dan flavanonol adalah kelas tambahan flavonoid yang berbeda dalam oksidasi dari antosianin. Antosianin adalah pigmen yang larut dalam

air bertanggung jawab terhadap warna biru, ungu, violet, magenta, merah, dan orange (Hardoko et al., 2010).

Kadar antosianin dikatakan aman untuk dikonsumsi sebesar 2,5mg/kg berat badan. Sedangkan untuk pewarna makanan dan kosmetik kadar antosianin yang aman digunakan sebesar 3 gram/kg adonan dengan toleransi maksimal 7gram/kg adonan (BPOM RI, 2012).

Ekstraksi adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan senyawa organik dari campuran senyawa. Teknik ini secara selektif melarutkan satu atau lebih senyawa pada pelarut yang sesuai. Larutan dari senyawa terlarut ini disebut sebagai ekstrak (Aniket Chaugule, dkk., 2019). Teknik untuk memperoleh senyawa antosianin pada buah bit yang pernah dilakukan sebelumnya antara lain dengan tehnik *supercritical fluid*, ekstraksi air, ekstraksi pelarut organik, dan lain-lain. Teknik tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing, *supercritical fluid* diketahui ramah lingkungan, selektif, dan cepat dalam proses ekstraksi tetapi membutuhkan tekanan yang tinggi sehingga biaya ekstraksi lebih mahal jika dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut biasa.

Oleh karena itu untuk mendapatkan senyawa antosianin pada penelitian ini dilakukan dengan cara yang sederhana dan efektif yaitu langsung pada penyarian sari buah bit dengan menggunakan pelarut etanol, karena senyawa antosianin akan terekstrak lebih banyak jika dilarutkan dengan pelarut yang bersifat polar, tanpa melalui proses ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak kental pada umumnya seperti maserasi, *soxhletasi*, perkolasi, dan lain-lain.

Dilakukan dengan cara menghaluskan buah bit dengan pelarut, kemudian sari buah di saring untuk dipisahkan dari ampasnya setelah itu sampel ekstrak di analisis lebih lanjut (Meiny et al., 2010).

Struktur kimia antosianin cenderung kurang stabil dan mudah mengalami degradasi. Dimana stabilitas tersebut dipengaruhi oleh pH dan temperatur. Antosianin lebih stabil pada larutan asam dengan nilai pH yang rendah dibanding larutan basa dengan pH yang tinggi. Selain itu laju degradasi antosianin akan meningkat selama proses ekstraksi seiring dengan meningkatnya temperatur. Kondisi asam akan mempengaruhi hasil ekstraksi. Keadaan yang semakin asam apalagi mendekati pH 1 akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavilium atau oxonium yang berwarna dan pengukuran absorbansi akan menunjukkan jumlah antosianin yang semakin besar (Heinrich et al. 2004). Disamping itu keadaan yang semakin asam menyebabkan semakin banyak dinding sel vakuola yang pecah sehingga pigmen antosianin semakin banyak yang terekstrak (Satyatama, 2008).

Untuk menganalisis kadar senyawa antosianin peneliti lain biasa menggunakan metode KCKT dan Densitometri. Namun terdapat kelemahan pada metode tersebut yaitu memerlukan bahan dan pelarut yang murni, waktu dan proses optimasi instrument yang lama serta biaya yang mahal. Pada penelitian ini dilakukan uji analisis kadar antosianin metode pH differensial menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 510-700 nm. Metode pH differensial menggunakan spektrofotometri digunakan untuk

mengukur energi relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang (Gandjar & Rohman 2007). Kelebihan metode ini adalah memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil kadar antosianin total yang diperoleh cukup tinggi karena didukung oleh penggunaan pelarut polar dan pemilihan kondisi rentang pH yang asam (Kurnia, dkk 2018).

Hingga saat ini, penelitian analisis kadar total antosianin dengan metode pH differensial menggunakan spektrofotometri belum pernah dilaporkan. Mengacu pada uraian diatas, hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan dalam penemuan hasil ekstraksi antosianin pada buah bit (*Beta vulgaris*) pada berbagai pH dalam usaha untuk mendapatkan kadar antosianin total paling tinggi dan optimal.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana kondisi analisis dari hasil ekstrak buah bit dengan metode pH differensial menggunakan spektrofotometer UV-Vis ?
2. Berapakah kadar total antosianin yang diperoleh dengan metode pH diferensial menggunakan spektrofotometer UV-Vis?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi analisis hasil ekstraksi buah bit (*Beta vulgaris*) dengan metode pH diferensial menggunakan spektrofotometer.

2. Tujuan Khusus

Untuk menentukan panjang gelombang maksimum, penentuan rentang pH, serta kadar total antosianin yang terkandung dalam hasil ekstraksi buah bit dengan metode pH diferensial menggunakan spektrofotometer.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Sumber informasi kepada peneliti tentang kondisi analisis hasil ekstraksi buah bit dan kadar total antosianin pada hasil ekstraksi buah bit (*Beta vulgaris*) dengan metode pH diferensial menggunakan spektrofotometer.
2. Sebagai sumber data ilmiah atau rujukan bagi peneliti lanjutan, penelitian lainnya dan mahasiswa tentang kadar antosianin total pada buah bit (*Beta vulgaris*) dengan metode pH differensial menggunakan spektrofotometer.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tumbuhan Buah Bit

2.1.1 Klasifikasi Buah Bit

Dalam taksonomi tumbuhan, *Beta vulgaris* L diklasifikasikan sebagaiberikut (Splittstoesser, 1984) :

- Kingdom : *Plantae* (Tumbuhan)
- Subkingdom : *Tracheobionta* (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : *Spermatophyta* (Menghasilkan biji)
- Divisi : *Magnoliophyta* (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : *Magnoliopsida* (Berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : *Hamamelidae*
- Ordo : *Caryophyllales*
- Famili : *Chenopodiaceae*
- Genus : *Beta*
- Spesies : *Beta vulgaris* L.

2.1.2 Morfologi Buah Bit



Gambar 2.1.2 Buah Bit (*Beta vulgaris*)

Buah bit merupakan tanaman semusim yang batangnya sangat pendek, akar tunggangnya tumbuh menjadi umbi, daunnya tumbuh terkumpul pada leher akar tunggal (pangkal umbi) dan berwarna kemerahan. Secara anatomis, buah bit terdiri atas sumbu akar-hipokotil yang membesar yang terbentuk dekat tanah dan bagian akar sejati yang meruncing menyempit. Ukuran buah berkisar dari sekecil-kecilnya berdiameter 2 cm hingga lebih dari 15 cm. Bentuk bit beragam, yaitu bundar silinder, lir-atap (kerucut), atau rata. Bit terdiri daripada pelbagai jenis rupa bentuk dan ukuran yang berlainan (Hardani, 2013).

Bit segar adalah salah satu tanaman musim dingin wilayah iklim sedang yang agak popular, yang ditanam untuk diambil akar tunggang berdaging dan tajuk daunnya yang dapat dimakan. Kandungan gula kultivar bit gula yang ada sekarang mendekati 20% bobot segar, sedangkan pada bit segar sekitar 6% atau kurang (Nugraheni, 2014). Bit putih memiliki ciri-ciri bertulang daun berwarna putih dan berwarna merah keputih-putihan. Bit merah berciri daging yang merah tua dan umbi jenis ini merupakan tanaman bit yang sudah banyak ditanam di beberapa daerah dataran tinggi di Indonesia. Bit yang baik sebaiknya memiliki ukuran yang kecil, agar pada waktu dimasak tidak banyak yang terbuang karena bit yang berukuran kecil hampir tidak memiliki bagian yang mengayu. Buah bit yang baik dapat dilihat dari bentuk umbi yang masih berbentuk utuh, tidak terlihat bercak-bercak berair atau bagian yang telah lunak, serta masih memiliki tangkai yang menjaga sari bit tidak merembes keluar. Masyarakat pada umumnya mengonsumsi daun bit sebagai lalapan. Sama seperti dengan lainnya, bit dipanen terpisah dengan daunnya. Daun bit dan bit yang masih segar dapat bertahan selama

10-14 hari dalam kondisi baik pada suhu 00 c dan kelembaban 95%. Dalam kondisi yang sama, bit yang telah dibuang daunnya dapat disimpan selama 4-6 bulan. Buah bit dimakan langsung ketika sudah matang, dan sebagian besar diolah menjadi acar melalui proses pengalengan, sebagian juga dikeringkan (Nugraheni, 2014).

Buah bit merupakan salah satu buah yang sering digunakan sebagai pewarna alami untuk berbagai jenis makanan. Warna ungu ataupun merah keunguan yang dihasilkan oleh bit sangat bagus digunakan sebagai pewarna makanan ataupun minuman. Warna ungu yang khas menandakan tingginya kandungan betakaroten dan bersifat antioksidan tinggi (Hardani, 2013). Bit yang matang dan siap dipanen berdiameter 4,5-6,5 cm. Warna daging bit dipengaruhi oleh cuaca atau musim penanaman, tahap pematangan dan varietas. Warna merah bit segar disebabkan oleh pigmen betasianin suatu senyawa yang mengandung nitrogen dengan sifat kimia sama dengan antosianin, 70-90% betasianin adalah betanin (Winanti, 2013).

Menurut Nottingham (2004) yang dikutip oleh Mastuti (2010), pigmen warna merah-ungu pada bit merupakan turunan dari betasianin yang disebut betanin. Buah bit memiliki kandungan betanin mencapai 200 mg/100g. Pigmen bit berwarna merah yang diketahui sebagai betalain diklasifikasikan sebagai antosianin seperti pada kebanyakan pigmen pada tumbuhan berbunga namun memiliki perbedaan yaitu pigmen tersebut mengandung nitrogen.

2.1.3 Kandungan Buah Bit

Bit termasuk tanaman umbi-umbian, mengandung zat-zat yang sangat diperlukan kesehatan, di antaranya zat besi, vitamin C, kalium, fosfor, magnesium,

asam folat dan serat. Menurut Wirakusumah yang dikutip oleh Lenni (2015), beberapa nutrisi yang terkandung dalam umbi bit yaitu, karbohidrat, protein, serat, berbagai mineral serta kadar air yang tinggi. Umbi bit mengandung sebagian besar vitamin A dan vitamin C, kalsium zat besi, fosfor, protein dan karbohidrat. Buah bit juga tinggi folat dan betasianin (Mulyani, 2015).

Umbi bit (*Beta vulgaris*) memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi hambat minimum 5 mg/ml terhadap *Bacillus subtilis*, *Pseudoma aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak buah bit mengandung senyawa flavonoid, sterol, triterpen, saponin dan tannin (Rao, 2014).

2.1.4 Manfaat Buah Bit

Menurut Lingga (2010), bit memiliki beberapa manfaat, yaitu :

a. Memperkuat Susunan Tulang

Bit mengandung banyak kalium. Kadarnya sebesar 58,6 mg/cup dan masuk dalam kategori unggul. Keberadaan kalium dalam bit dapat memperkokoh matrik tulang. Tanpa kalium yang cukup, tulang yang terbentuk tidak dapat tumbuh sempurna karena ikatan antar selnya longgar.

b. Pembersih Darah yang Ampuh

Umbi bit mampu membersihkan darah dari racun, seperti logam berat, alkohol, dan zat kimia beracun. Sejak lama, masyarakat Eropa menggunakannya sebagai obat anti mabuk bagi pecandu minuman keras. Tak hanya membersihkan darah secara keseluruhan, bit juga mampu melakukan detoksifikasi hati yang tercemar oleh obat beracun, yakni berbagai macam obat terlarang, obat yang tidak diresepkan oleh dokter, alkohol, zat aditif

makanan yang berbahaya, dan obat yang salah minum. Bit memiliki efek mengatur sistem pencernaan dan merangsang serta menguatkan usus besar, mengeluarkan toksin dari dalam sistem. Fungsi lever dan ginjal bisa meningkat dan darah menjadi lebih bersih serta lebih kaya dengan mengonsumsi bit secara teratur (Cross, 2008).

c. Menurunkan Tekanan Darah

Berdasarkan hasil penelitian Asosiasi Jantung Amerika, mengonsumsi 500 ml jus bit merah setiap hari dapat mengurangi tekanan darah tinggi (Nurwijaya, 2008).

d. Memaksimalkan Perkembangan Otak Bayi

Bit mengandung folat dalam jumlah cukup banyak sehingga berguna bagi perkembangan janin. Folat diperlukan pada minggu-minggu awal kehamilan dalam jumlah memadai agar perkembangan otak bayi normal. Tak hanya bayi, para manula pun perlu kecukupan folat agar mereka terhindar dari penyakit Alzheimer, yakni penyakit yang ditandai dengan kepikunan atau penurunan daya ingat (Lingga, 2010).

e. Mengatasi Anemia

Dr Frotz Keitel, seorang hematologi dari Jerman, menyatakan bahwa tak ada obat mujarab untuk menaikkan kadar darah merah selain bit. Ia mengatakan bit merupakan obat alami yang ampuh untuk anemia dan memperkuat daya tahan tubuh (Lingga, 2010).

f. Anti kanker

Bit mengandung betasianin yang dikenal sebagai fitokimia antikanker. Banyak penelitian menyimpulkan tentang kemampuan betasianin sebagai antikanker. Dalam menghambat kanker, betasianin bekerja sama dengan beberapa mineral dan fitokimia yang berperan sebagai antikanker. Ada beberapa macam fitokimia pada umbi bit, yakni betain, betalain, allatine, famesol, asam salisilat, dan saponin. Berdasarkan uji ilmiah yang ada, diketahui bahwa mekanisme antikanker yang dilakukan oleh fitokimia pada umbi bit sangatlah kompleks. Mekanisme tersebut sebagai berikut:

- 1) Mencegah pembentukan nitrosamine dari nitrat.
- 2) Mencegah terjadinya mutasi sel sehat agar tidak berubah menjadi sel yang abnormal.
- 3) Meningkatkan imunitas tubuh dengan jalan meningkatkan killer sel pada butir darah putih (Lingga, 2010).

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan perpindahan zat aktif di dalam sel ditarik oleh pelarut sehingga zat aktif akan larut dalam pelarut. Pada umumnya ekstraksi akan menghasilkan rendemen yang lebih banyak ketika permukaan simplisia kontak dengan pelarut semakin luas (Harborne, 1987). Selama ekstraksi pelarut akan berdifusi ke dalam serbuk simplisia. Hal ini disebabkan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan cairan ekstraksi yang berada di luar sel. Pelarut mengalir masuk ke dalam ruang sel, sehingga menyebabkan protoplasma membengkak dan kandungan bahan aktif di dalam sel akan terlarut

sesuai sifat fisika kimianya (Ncube *et al.*, 2008). Adapun kriteria pemilihan pelarut sebagai berikut :

- a. Murah dan mudah diperoleh
- b. Stabil secara fisika dan kimia
- c. Bereaksi netral
- d. Tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar
- e. Selektif
- f. Tidak mempengaruhi zat berkhasiat
- g. Diperbolehkan oleh peraturan yang berlaku

Simplisia yang akan diekstraksi mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa aktif yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain (DirJen POM, 2000). Ada tiga tahapan proses pada waktu ekstraksi yaitu:

- a. Penetrasi pelarut kedalam sel tanaman dan pengembangan sel.
- b. Disolusi pelarut ke dalam sel tanaman dan pengembangan sel.
- c. Difusi bahan yang terekstraksi ke luar sel.

Dalam pemilihan metode ekstraksi tergantung dengan wujud dan kandungan zat dari bahan yang diekstrak. Cara ekstraksi dapat dibedakan menjadi infundasi, maserasi, perkolasi, dan penyarian berkesinambungan (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI, 1986).

2.2.1 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses yang dilakukan untuk memperoleh kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan maupun hewan (Depkes RI, 1979). Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan suatu campuran menggunakan jenis

pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Ekstraksi akan lebih cepat dilakukan pada suhu tinggi tetapi menyebabkan kerusakan pada komponen yang diekstraksi (Kholifah, 2014). Metode ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan secara dingin yaitu maserasi dan perkolasi, dan secara panas yaitu refluks, *soxhlet*, *digesti*, infus, dan dekok (Dirjen POM, 2000).

a. Cara dingin

1) Maserasi

Maserasi adalah proses perendaman sampel dalam pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang akan diekstraksi (Guether, 1987). Maserasi merupakan cara ekstraksi sederhana. Metode ini dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dengan pelarut sehingga pelarut akan menembus dinding sel akibatnya larutan dalam sel akan terdesak untuk keluar. Proses tersebut terjadi berulang hingga konsentrasi didalam dan diluar sel seimbang. Dapat dilakukan modifikasi pada metode maserasi, misalnya teknik remaserasi. Pada metode ini, cairan dibagi menjadi dua kemudian seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah dienaptuangkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari kedua (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI, 1986).

Proses maserasi menggabungkan bahan ekstraksi dengan bahan yang telah dihaluskan. Pengekstraksian simplisia memanfaatkan suatu pelarut tertentu dilanjutkan dengan pengadukan pada suhu ruangan sekitar 40-50 °C (Simanjuntak, 2008).

2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Metode perkolasi mempunyai kelebihan yaitu sampel tetap dialiri oleh pelarut baru, sedangkan kerugian perkolasi yaitu pelarut akan sulit menjangkau seluruh area jika sampel tidak homogen terlebih dahulu, perkolasi membutuhkan banyak pelarut dan waktu yang lama (Mukhriani, 2014).

b. Cara panas

1) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2) Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3) Digesti,

Adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50o C.

4) Infus,

Adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96- 98° C)

selama waktu tertentu (15-20 menit)

5) Dekok,

Adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air (Direktorat Jendral Pengawas Obat dan Makanan Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.3 Antosianin

Antosianin merupakan salah satu pewarna alami karena merupakan zat berwarna merah, jingga, ungu, ataupun biru yang banyak terdapat pada bunga dan buah-buahan (Hidayat dan Saati, 2006). Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Antosianin dalam bentuk aglikon lebih aktif daripada bentuk glikosidanya (Santoso, 2006). Zat pewarna alami antosianin tergolong kedalam turunan benzopiran. Struktur utama turunan benzopiran ditandai dengan adanya cincin aromatik benzena (C_6H_6) yang dihubungkan dengan tiga atom karbon yang membentuk cincin (Moss, 2002).

Menurut Rein (2005) beberapa enzim dapat berperan dalam proses degradasi antosianin misalnya glukosidase dan PPO (Polipenol Oksidase). Enzim glukosidase mampu menstimulasi terjadinya hidrolisis pada ikatan gula antara gugus aglikon dengan gugus glikon. Hidrolisis tersebut menyebabkan terbentuknya cincin aromatik yang membentuk senyawa kalkon. Jumlah antosianin di alam yang berhasil diisolasi sebanyak 539 jenis tetapi hanya 6 yang ada di bahan pangan seperti pelargonidin, cyanidin, peonidin, delphinidin, petunidin, dan malvidin (Mateus dan Freitas, 2009). Pigmen antosianin adalah pigmen yang bersifat larut air, terdapat dalam bentuk aglikon sebagai antosianidin

dan glikon sebagai gula yang diikat secara glikosidik. Bersifat stabil pada pH asam, yaitu sekitar 1-4, dan menampilkan warna oranye, merah muda, merah, ungu hingga biru (Lewis et al., 1997; Li, 2009).

Antosianin adalah zat warna yang bersifat polar dan akan larut pada pelarut polar (Samsudin dan Khoirudin, 2011). Antosianin lebih larut dalam air daripada dalam pelarut non polar dan karakteristik ini membantu proses ekstraksi dan pemisahan (Xavier et al., 2008).

Antosianin adalah senyawa satu kelas dari senyawa flavonoid yang secara luas terbagi dalam polifenol tumbuhan. Flavonoid-3-ol, flavon, flavanon, dan flavanonol adalah kelas tambahan flavonoid yang berbeda dalam oksidasi dari antosianin.

Jumlah antosianin di alam yang berhasil diisolasi sebanyak 539 jenis tetapi hanya 6 yang ada di bahan pangan seperti pelargonidin, cyanidin, peonidin, dephinidin, petunidin dan malvidi (Mateus dan Freitas, 2009). Pengaruh perbedaan letak dan jumlah gugus tersubstitusi pada antosianidin terhadap warna antosianin dapat dilihat pada Tabel 2.3

Tabel 2.3 Perbedaan Letak Gugus Tersubstitusi dari Enam Antosianidin

Antosianidin	Gugus yang tersubstitusi						Warna
	3	5	6	7	3'	5'	
Pelargonidin	OH	OH	H	OH	H	H	Orange
Cyanidin	OH	OH	H	OH	OH	H	Merah
Delphinidin	OH	OH	H	OH	OH	OH	Orange Merah- Biru
Peonidin	OH	OH	H	OH	OMe	H	Merah- Orange
Petunidin	OH	OH	H	OH	OMe	OH	Merah- Biru
Malvidin	OH	OH	H	OH	Ome	Ome	Merah- Biru

Degradasi antosianin dapat terjadi selama proses ekstraksi, pengolahan makanan, dan penyimpanan. Faktor-faktor yang mempengaruhi stabilitas antosianin tersebut yaitu adanya modifikasi pada struktur spesifik antosianin (glikosilasi, asilasi dengan asam alifatik atau aromatik) pH, temperatur, cahaya, keberadaan ion logam, oksigen, kadar gula, enzim dan pengaruh sulfur oksida (Misra, 2008). Antosianin umumnya lebih stabil pada larutan asam apabila dibandingkan dengan larutan netral atau alkali. Antosianin memiliki struktur kimia yang berbeda tergantung dari pH larutan. Pada pH 1 antosianin berbentuk kation flavinium yang memberikan warna merah. Pada pH 2-4 antosianin berbentuk campuran kation flavinium dan quinoidal. Pada pH yang lebih tinggi yaitu 5-6 terdapat dua senyawa yang tidak berwarna yaitu karbinol pseudobasa dan kalkon (Ovando et al., 2009).

Kestabilan antosianin juga dipengaruhi oleh suhu. Laju kerusakan (degradasi) antosianin cenderung meningkat selama proses penyimpanan yang diiringi dengan kenaikan suhu. Degradasi termal menyebabkan hilangnya warna

pada antosianin yang akhirnya terjadi pencoklatan. Kenaikan suhu bersamaan dengan pH menyebabkan degradasi antosianin pada buah bit (Rein, 2005). Proses pemanasan terbaik untuk mencegah kerusakan antosianin adalah pemanasan pada suhu tinggi dalam jangka waktu pendek (High Temperature Short Time), (Rahmawati, 2011).

Paparan cahaya juga dapat memperbesar degradasi pada molekul antosianin. Penyebab utama kehilangan pigmen warna berhubungan dengan hidrolisis antosianin. 7 Antosianin berpotensi sebagai pewarna makanan alami karena keanekaragaman warna yang dimilikinya. Namun, mempunyai kelemahan dalam stabilitas warnanya. Intensitas suatu stabilitas pigmen antosianin tergantung pada berbagai faktor termasuk struktur dan konsentrasi dari pigmen, pH, suhu, intensitas cahaya, kualitas dan kehadiran pigmen lain bersama-sama, ion logam, enzim, oksigen, asam askorbat, gula dan gula metabolit, belerang oksida dan lainlain (Tanaka et al., 2008).

2.4 Spektrofotometri

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan, dan diemisikan sebagai fungsi dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu, dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang di absorpsi (Khopkar, 2008: 184).

2.4.1 Teori Spektrofotometri Ultraviolet

Spektrofotometri serapan merupakan pengukuran suatu interaksi antara radiasi elektromagnetik dan molekul atau atom dari suatu zat kimia. Teknik yang

sering digunakan dalam analisis farmasi meliputi spektrofotometri ultraviolet, cahaya tampak, inframerah dan serapan atom. Jangkauan panjang gelombang untuk daerah ultraviolet adalah 190-380 nm, daerah cahaya tampak 380-780 nm, daerah infra merah dekat 780-3000 nm, dan daerah infra merah 2,5-40 μm atau 4000-250 cm^{-1} (Ditjen POM, 1995).

Radiasi ultraviolet dan sinar tampak diabsorpsi oleh molekul organik aromatik, molekul yang mengandung elektron- π terkonjugasi dan atau atom yang mengandung elektron-n, menyebabkan transisi elektron di orbital terluarnya dari tingkat energi elektron dasar ke tingkat energi elektron tereksitasi lebih tinggi. Besarnya serapan radiasi tersebut sebanding dengan banyaknya molekul analit yang mengabsorpsi sehingga dapat digunakan untuk analisis kuantitatif (Satiadarma, 2004).

Gugus fungsi yang menyerap radiasi di daerah ultraviolet dekat dan daerah tampak disebut khromofor dan hampir semua khromofor mempunyai ikatan tak jenuh. Pada khromofor jenis ini transisi terjadi dari $\pi \rightarrow \pi^*$, yang menyerap pada λ_{max} kecil dari 200 nm (tidak terkonyugasi), misalnya pada $>\text{C}=\text{C}<$ dan $-\text{C}\equiv\text{C}-$. Khromofor ini merupakan tipe transisi dari sistem yang mengandung elektron π pada orbital molekulnya. Untuk senyawa yang mempunyai sistem konyugasi, perbedaan energi antara keadaan dasar dan keadaan tereksitasi menjadi lebih kecil sehingga penyerapan terjadi pada panjang gelombang yang lebih besar (Dachriyanus, 2004).

Gugus fungsi seperti $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ dan $-\text{Cl}$ yang mempunyai elektronelektron valensi bukan ikatan disebut auksokhrom yang tidak menyerap radiasi pada

panjang gelombang lebih besar dari 200 nm, tetapi menyerap kuat pada daerah ultraviolet jauh. Bila suatu auktokrom terikat pada suatu khromofor, maka pita serapan khromofor bergeser ke panjang gelombang yang lebih panjang (efek batokrom) dengan intensitas yang lebih kuat. Efek hipsokrom adalah suatu pergeseran pita serapan ke panjang gelombang lebih pendek, yang sering kali terjadi bila muatan positif dimasukkan ke dalam molekul dan bila pelarut berubah dari non polar ke pelarut polar (Dachriyanus, 2004).

Secara eksperimental, sangat mudah untuk mengukur banyaknya radiasi yang diserap oleh suatu molekul sebagai fungsi frekuensi radiasi. Suatu grafik yang menghubungkan antara banyaknya sinar yang diserap dengan frekuensi (atau panjang gelombang) sinar merupakan spectrum absorpsi. Transisi yang dibolehkan (allowed transition) untuk suatu molekul dengan struktur kimia yang berbeda adalah tidak sama sehingga spectra absorpsinya juga berbeda. Dengan demikian, spectra dapat digunakan sebagai bahan informasi yang bermanfaat untuk analisis kualitatif. Banyaknya sinar yang diabsorpsi pada panjang gelombang tertentu sebanding dengan banyaknya molekul yang menyerap radiasi, sehingga spectra absorpsi juga dapat digunakan untuk analisis kuantitatif (Gandjar dan Rohman, 2007).

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam analisis spektrofotometri ultraviolet:

a. Pemilihan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum. Untuk memperoleh panjang gelombang serapan maksimum, dilakukan dengan membuat kurva

hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu (Gandjar dan Rohman, 2007).

b. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva kalibrasi berupa garis lurus (Gandjar dan Rohman, 2007).

c. Pembacaan Absorbansi Sampel atau Cuplikan

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,6. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa pada kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal (Gandjar dan Rohman, 2007).

2.4.2 Hukum Lambert Beer

Menurut Hukum Lambert, serapan berbanding lurus terhadap ketebalan sel yang disinari. Menurut Hukum Beer, yang hanya berlaku untuk cahaya monokromatik dan larutan yang sangat encer, serapan berbanding lurus dengan konsentrasi (banyak molekul zat). Kedua pernyataan ini dapat dijadikan satu dalam Hukum Lambert-Beer, sehingga diperoleh bahwa serapan berbanding lurus terhadap konsentrasi dan ketebalan sel, yang dapat ditulis dalam persamaan:

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ g/liter atau, } A = \epsilon \cdot b \cdot C \text{ mol/liter}$$

Dimana:

- A = serapan (tanpa dimensi)
 a = absorptivitas ($\text{g}^{-1} \text{cm}^{-1}$)
 b = ketebalan sel (cm)
 C = konsentrasi (g. l^{-1})
 ϵ = absorptivitas molar ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)

Jadi dengan Hukum Lambert-Beer konsentrasi dapat dihitung dari ketebalan sel dan serapan. Absorptivitas merupakan suatu tetapan dan spesifik untuk setiap molekul pada panjang gelombang dan pelarut tertentu. Menurut Roth dan Blaschke (1981), absorptivitas spesifik juga sering digunakan sebagai ganti absorptivitas. Harga ini memberikan serapan larutan 1% (b/v) dengan ketebalan sel 1 cm, sehingga dapat diperoleh persamaan:

$$A = A_1^1 \cdot b \cdot C$$

Dimana:

- A_1^1 = absorptivitas spesifik ($\text{ml g}^{-1} \text{cm}^{-1}$)
 b = ketebalan sel (cm)
 C = konsentrasi senyawa terlarut ($\text{g}/100 \text{ ml}$ larutan)

2.4.3 Penggunaan Spektrofotometri Ultraviolet

Pada umumnya spektrofotometri ultraviolet dalam analisis senyawa organik digunakan untuk:

- Menentukan jenis khromofor, ikatan rangkap yang terkonjugasi dan auksokhrom dari suatu senyawa organik.
- Menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang

serapan maksimum suatu senyawa.

- c. Mampu menganalisis senyawa organik secara kuantitatif dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Dachriyanus, 2004).

Analisis kualitatif Kegunaan spektrofotometri ultraviolet dalam analisis kualitatif sangat terbatas, karena rentang daerah radiasi yang relatif sempit hanya dapat 34 mengakomodasi sedikit sekali puncak absorpsi maksimum dan minimum, karena itu identifikasi senyawa yang tidak diketahui, tidak memungkinkan. Penggunaannya terbatas pada konfirmasi identitas dengan menggunakan parameter panjang gelombang puncak absorpsi maksimum, λ_{max} , nilai absorptivitas, a , nilai absorptivitas molar, ϵ , atau nilai ekstingsi, $A1\%$, 1cm , yang spesifik untuk suatu senyawa yang dilarutkan dalam suatu pelarut dan pH tertentu (Satiadarma, 2002).

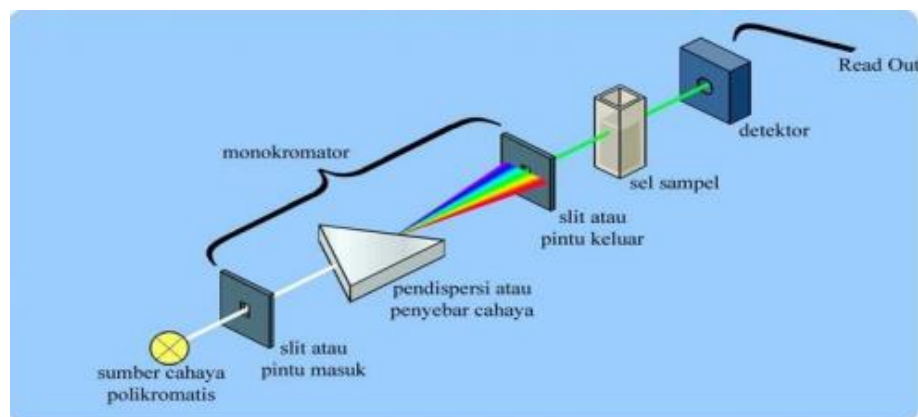
2.4.4 Analisis Kuantitatif

Penggunaan utama spektrofotometri ultraviolet adalah dalam analisis kuantitatif. Apabila dalam alur spektrofotometer terdapat senyawa yang mengabsorpsi radiasi, akan terjadi pengurangan kekuatan radiasi yang mencapai detektor. Parameter kekuatan energi radiasi khas yang diabsorpsi oleh molekul adalah absorban (A) yang dalam batas konsentrasi rendah nilainya sebanding dengan banyaknya molekul yang mengabsorpsi radiasi dan merupakan dasar analisis kuantitatif. Penentuan kadar senyawa organik yang mempunyai gugus khromofor dan mengabsorpsi radiasi ultraviolet-sinar tampak, penggunaannya cukup luas. Konsentrasi kerja larutan analit umumnya 10 sampai 20 $\mu\text{g/ml}$, tetapi untuk senyawa yang nilai absorptivitasnya besar dapat diukur pada konsentrasi

yang lebih rendah. Senyawa yang tidak mengabsorpsi radiasi ultraviolet-sinar tampak dapat juga ditentukan dengan spektrofotometri ultraviolet-sinar tampak, apabila ada reaksi kimia yang dapat mengubahnya menjadi khromofor atau dapat disambungkan dengan suatu pereaksi khromofor (Satiadarma, 2004).

2.4.5 Peralatan Untuk Spektrofotometri

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmitans atau serapan suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Alat ini terdiri dari spektrometer yang menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer sebagai alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi (Khopkar, 1990; Day and Underwood, 1981).



Gambar 2.3 Spektrofotometer

Berikut ini adalah uraian bagian-bagian spektrofotometer:

- a. Sumber-sumber lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada panjang gelombang dari 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau

lampu tungsten digunakan untuk daerah visibel (pada panjang gelombang antara 350-900 nm).

- b. Monokromator digunakan untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis. Alatnya dapat berupa prisma ataupun grating. Untuk mengarahkan sinar monokromatis yang diinginkan dari hasil penguraian.

- c. Celah (Slit)

Celah monokromator adalah bagian yang pertama dan terakhir dari suatu sistem optik monokromator pada spektrofotometer. Celah monokromator berperan penting dalam hal terbentuknya radiasi monokromator dan resolusi panjang gelombang.

- d. Filter Optik

Cahaya tampak yang merupakan radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang 380-780 nm merupakan cahaya putih yang merupakan campuran cahaya dengan berbagai macam panjang gelombang. Filter optik berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya tampak yang diteruskan merupakan cahaya yang berwarna sesuai dengan warna filter optik yang dipakai.

- e. Prisma dan Kisi (grating)

Prisma dan kisi merupakan bagian monokromator yang terpenting. Prisma dan kisi pada prinsipnya mendispersi radiasi elektromagnetik sebesar mungkin supaya didapatkan revolusi yang baik dari radiasi polikromatis.

f. Kuvet

Pada pengukuran didaerah tampak, kuvet kaca atau kuvet kaca corex dapat digunakan, tetapi untuk pengukuran pada daerah UV kita harus menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini. Umumnya tebal kuvet adalah 10 mm, tetapi yang lebih kecil ataupun yang lebih besar dapat digunakan. Sel yang biasa digunakan berbentuk persegi, tetapi bentuk silinder dapat juga digunakan. Kuvet yang bertutup digunakan untuk pelarut organik. Sel yang baik adalah kuarsa atau gelas hasil leburan yang homogen.

g. Detektor.

Detektor merupakan salah satu bagian dari spektrofotometer yang penting oleh sebab itu detektr akan menemukan kualitas dari spektrofotometer adalah mengubah signal elektronik. Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang.

h. Amplifier. Suatu amplifier (penguat) dan rangkaian yang berkaitan yang membuat isyarat listrik dapat untuk diamati. Sistem pembacaan yang memperlihatkan besarnya isyarat listrik (Khopkar, 1990; Rohman, 2007; Day and Underwood, 1981).

2.4.6 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorbsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorbsi dapat menunjukan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar

gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Marzuki Asnah 2012).

Spektrofotometer UV-Vis adalah teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet (190-380 nm) dan sinar tampak (380- 780 nm) dengan memakai instrument spektrofotometer. Spektrofotometer UV-Vis merupakan metode analisa yang penggunaannya cukup luas, baik untu analisa kualitatif maupun kuantitatif. Untuk analisa kuantitatif yang diperhatikan adalah :

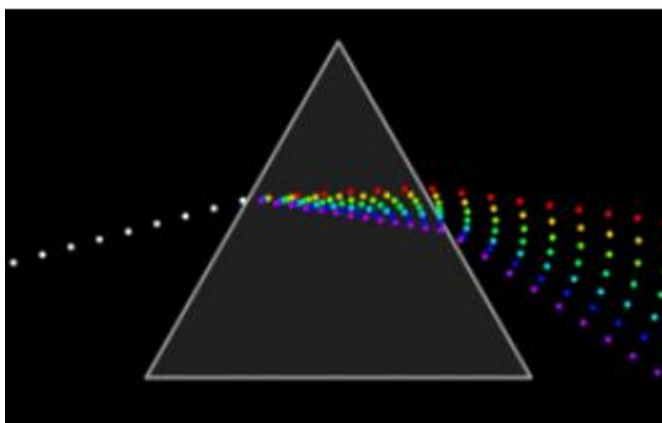
- 1) Membandingkan λ maksimum.
- 2) Membandingkan serapan (A), daya serap (a), $E \frac{1\%}{1\text{ cm}}$
- 3) Membandingkan spektrum serapannya.

Prinsip dari spektrofotometri Uv-Vis adalah mengukur jumlah cahaya yang diabsorbsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul di dalam larutan. Ketika panjang gelombang cahaya ditransmisikan melalui larutan, sebagian energi cahaya tersebut akan diserap (diabsorpsi). Besarnya kemampuan molekul-molekul zat terlarut untuk mengabsorbsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dikenal dengan istilah absorbansi (A), yang setara dengan nilai konsentrasi larutan tersebut dan panjang berkas cahaya yang dilalui (biasanya 1 cm dalam spektrofotometri) ke suatu point dimana persentase jumlah cahaya yang ditransmisikan atau diabsorbsi diukur dengan phototube (Susanti, 2010).

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah sinar tampak tergantung pada energi elektronik molekul. Penyerapan sejumlah energi menghasilkan transisi elektron dari orbital tingkat dasar ke orbital yang berenergi lebih tinggi dalam

keadaan tereksitasi yang dikenal sebagai orbital elektron anti bonding (Mulja & Suharman, 1995). Secara sederhana instrument spektrofotometri yang disebut spektrofotometer terdiri dari : Sumber cahaya – monokromatis – sel sampel – detector- read out. Komponen-komponen pokok dan fungsi dari spektrofotometer pada masing-masing bagian, antara lain :

- 1) Sumber sinar polikromatis berfungsi sebagai sumber sinar polikromatis dengan berbagai macam rentang panjang gelombang.
- 2) Monokromator berfungsi sebagai penyeleksi panjang gelombang yaitu mengubah cahaya yang berasal dari sumber sinar polikromatis menjadi cahaya monokromatis. Pada gambar di atas disebut sebagai pendispersi atau penyebar cahaya. dengan adanya pendispersi hanya satu jenis cahaya atau cahaya dengan panjang gelombang tunggal yang mengenai sel sampel. Pada gambar di atas hanya cahaya hijau yang melewati pintu keluar. Proses dispersi atau penyebaran cahaya seperti yang tertera pada gambar.



Gambar 2.4 Proses dispersi cahaya

3) Sel sampel berfungsi sebagai tempat meletakkan sampel UV, VIS dan UV-VIS menggunakan kuvet sebagai tempat sampel. Kuvet biasanya terbuat dari kuarsa atau gelas, namun kuvet dari kuarsa yang terbuat dari silika memiliki kualitas yang lebih baik. Hal ini disebabkan yang terbuat dari kaca dan plastik dapat menyerap UV sehingga penggunaannya hanya pada spektrofotometer sinar tampak (VIS). Kuvet biasanya berbentuk persegi panjang dengan lebar 1 cm.

4) Detektor berfungsi menangkap cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik. Macam-macam detector yaitu Detektor foto (*Photo detector*), *Photocell*, misalnya CdS, *Phototube*, Hantaran foto, Dioda foto, Detektor panas.

- a. Pada saat pengenceran alat alat pengenceran harus betul-betul bersih tanpa adanya zat pengotor.
- b. Dalam penggunaan alat-alat harus betul-betul steril.
- c. Jumlah zat yang dipakai harus sesuai dengan yang telah ditentukan
- d. Dalam penggunaan spektrofotometri uv, sampel harus jernih dan tidak keruh.
- e. Dalam penggunaan spektrofotometri uv-vis, sampel harus berwarna. Serapan dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya.
- f. Read out merupakan suatu sistem baca yang menangkap besarnya isyarat listrik yang berasal dari detector (Hariadi Arsyad,2013).

2.4.7 Metode pH differensial

Metode pH differensial telah digunakan secara luas oleh teknologi makanan dan hortikultural untuk menilai kualitas buah-buahan dan sayuran segar dan olahan. Metode ini dapat digunakan untuk penentuan total antosianin monomer konten (Tensiska, 2008). Penetapan konsentrasi senyawa antosianin dilakukan dengan metode pH perbandingan (pH differensial) yaitu pH1; pH2; pH; pH4; pH5 ; pH6. Penetapan konsentrasi antosianin dengan metode ini dikarenakan pada kondisi pH 1 antosianin berbentuk senyawa oxonium (kation flavilium) yang berwarna pada pH 2-4 berbentuk campuran kation flavinium dan quinoidal. Dan pada pH 5-6 terdapat dua senyawa yang tidak berwarna yaitu karbinol pseudobasa dan kalkon (Ovando et al., 2009).

PLE (Pressurized-Liquid Extraction), yang juga dikenal sebagai ASE (Accelerated Solvent Extraction), penggunaan tekanan dan suhu tinggi dengan pelarut cair untuk mencapai ekstraksi cepat dan efisien. PLE telah digunakan sebagai inovasi teknik dalam ekstraksi antosianin dari buah dan sayuran seperti bayam, dan buah golongan berry (Strawberry, bluberry, dan blackberry) dan anggur. PLE juga bisa digunakan untuk ekstraksi antosianin dalam bentuk bubuk baku-kering dalam PSFP untuk kuantifikasi, untuk pengujian aktifitas antioksidan dan profil KCKT. Selain itu untuk menentukan kuantifikasi dan total monomerik antosianin dapat digunakan metode *pH differensial*, (Truong dkk 2012 : Barnes dkk, 2005).

Dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 A &= (A_{\lambda_{\text{vis-max}} A_{700}})_{\text{PH1}} - (A_{\lambda_{\text{vis-max}} A_{700}})_{\text{PH6}} \\
 &= (A_{\lambda_{\text{vis-max}} A_{700}})_{\text{PH2}} - (A_{\lambda_{\text{vis-max}} A_{700}})_{\text{PH5}} \\
 &= (A_{\lambda_{\text{vis-max}} A_{700}})_{\text{PH3}} - (A_{\lambda_{\text{vis-max}} A_{700}})_{\text{PH4}} \\
 \text{Kadar Antosianin} &= (A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000)
 \end{aligned}$$

$$\varepsilon \times 1$$

Dimana,

A = Absorbansi dari sampel yang telah dilarutkan

ε = Absorptivitas molar antosianin = 26.900 L / (mol.cm)

DF = Faktor Pengenceran

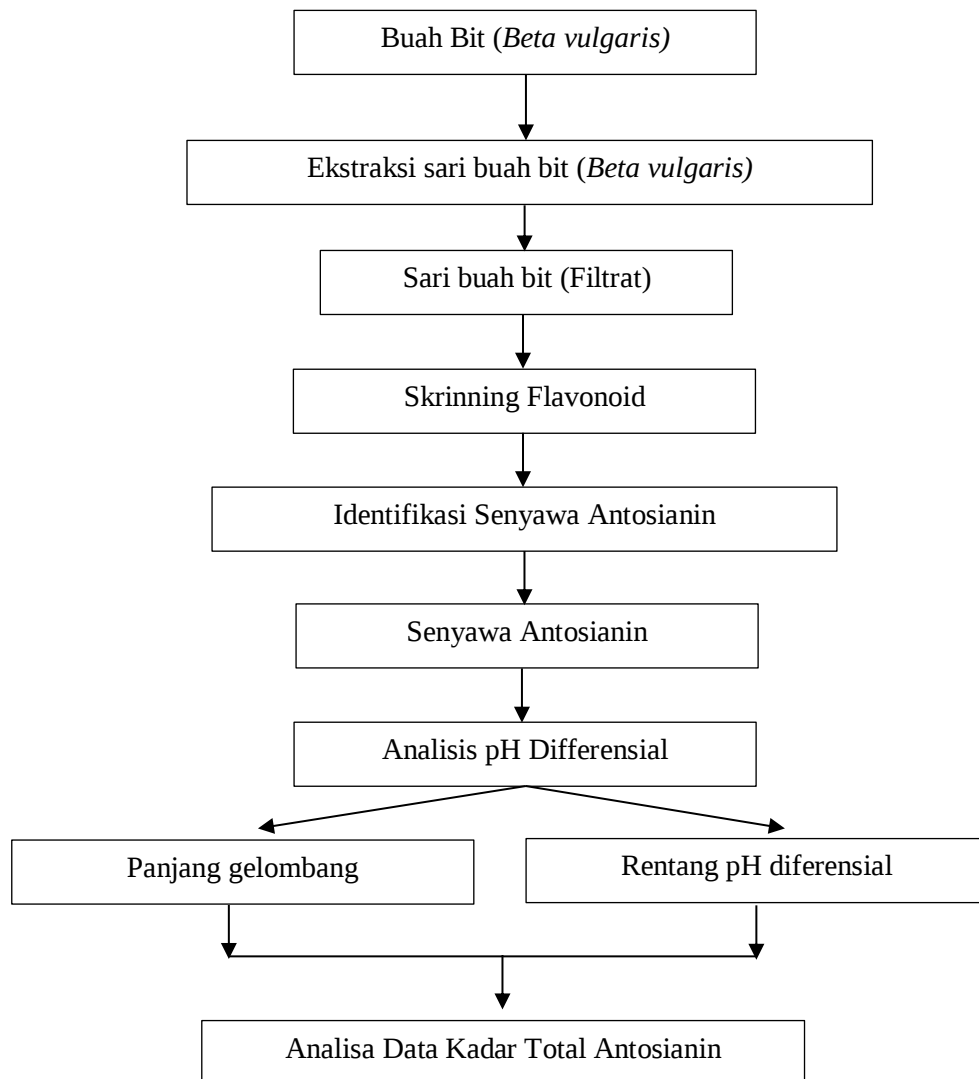
I = Lebar Kuvet = 1 cm

MW = Berat molekul Sianidin-3-glukosida = 449,2 g/mol

1000 = Faktor g ke mg.

BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

BAB IV. METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk desain penelitian eksperimental kuantitatif. Desain penelitian yang dilakukan oleh penulis memiliki tujuan untuk mendeskripsikan suatu hasil data dari penelitian yang telah dikumpulkan

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dalam suatu penelitian merupakan kumpulan individu atau obyek yang merupakan sifat-sifat umum. Pengertian populasi adalah keseluruhan subjek penelitian (Arikunto, 2010). Populasi pada penelitian ini adalah tanaman buah bit (*Beta vulgaris*) yang berada di daerah Pasar Tanjung Kabupaten Jember.

4.2.2 Sampel penelitian

Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Sugiyono, 2010). Sampel pada penelitian ini adalah buah bit yang dihaluskan atau jus (filtrat dan residu) sebanyak 400 gram buah bit (*Beta vulgaris*) segar.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember untuk melaksanakan proses pengolahan sampel buah bit (*Beta vulgaris*), dan dilanjutkan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember mulai bulan Februari sampai Juli 2021.

4.4 Definisi Operasional

No.	Nama Variabel	Definisi	Alat Ukur	Satuan Ukur	Skala Ukur
1.	Ekstrak Antosianin buah bit (<i>Beta vulgaris</i>)	Suatu zat yang diperoleh dari pengolahan buah bit yang dihaluskan menjadi jus atau sari buah bit bagian larutan (filtrate) dan ampasnya (residu), lalu dipanaskan sampai didapat ekstrak kental dengan proses pengolahan mekanik dan kimiawi	Sput	Gram dan Mililiter	Nominal
2.	Antosianin Total	Jumlah kandungan total senyawa antosianin yang berasal dari sari buah bit (<i>Beta vulgaris</i>) dengan metode analisis kuantitatif menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis.	Sput	Mililiter	Nominal
3.	Uji Skinning	Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder suatu bahan alam.			
4.	Optimasi	Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mencapai hasil sesuatu yang optimal			
5.	pH differensial	Metode yang digunakan untuk mengetahui kondisi senyawa antosianin dengan			

		perbandingan pH yang nanti akan dijadikan acuan untuk menentukan absorbansi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dari masing-masing ekstrak yang dihasilkan			
6.	Spektrofotometri UV-Vis	Metode yang digunakan untuk menguji sejumlah cahaya yang diabsorbansi pada setiap panjang gelombang di daerah ultraviolet dan tampak menggunakan standar asam askorbat (Dedi et al,2014)			

4.5 Pengolahan dan Analisa Data

4.5.1 Teknik pengolahan

a. Pengambilan Sampel

Pengambilan buah bit di daerah Pasar Tanjung di Kabupaten Jember. Buah bit yang dipilih yang masih segar dan mempunyai warna yang pekat.

b. Pengolahan sampel

Pengolahan sampel meliputi pengupasan kulit buah, pencucian, pemotongan. Pengupasan kulit dan pencucian dilakukan agar sampel bebas dari bahan asing yang dapat mengganggu proses ekstraksi sari buah bit (*Beta vulgaris*), pencucian dilakukan di bawah air yang mengalir, dan pemotongan dilakukan

untuk memudahkan saat proses penghalusan bahan sampel , selanjutnya dilakukan proses ekstraksi (Nabilla, 2020).

c. Ekstraksi Sampel

Ekstraksi buah bit (*Beta vulgaris*) dilakukan dengan cara menghaluskan sebanyak 400 gram buah bit segar dengan 200 ml etanol 70% yang diasamkan dengan HCL 1%. Kemudian disaring untuk diambil sari buah bebas ampas dan didiamkan selama 3 jam (Nabilla, 2020).

d. Skrinning Fitokimia

Uji antosianin dapat dilakukan dengan cara yang sederhana, yaitu reaksi warna. Cara yang pertama sampel dipanaskan dengan HCl 2M selama 5 menit pada suhu 100 °C, kemudian diamati warna sampel. Apabila warna merah pada sampel tidak berubah (mantap), maka menunjukkan adanya antosianin. (Lestario et al., 2011). Cara yang kedua, reaksi warna dengan NaOH. Sampel ditambahkan dengan NaOH 2M tetes demi tetes. Hasil positif akan menunjukkan warna merah berubah menjadi hijau kebiruan dan memudar perlahan-lahan.

e. Penentuan Panjang Gelombang

Analisis kadar antosianin total dengan metode spektrofotometri metode pH diferensial dilakukan dengan cara :

- 1) Mengukur suatu sampel untuk mengetahui panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer dengan rentang panjang gelombang 475 – 550 nm yang merupakan area untuk antosianin.

f. Penentuan Rentang pH

Pembuatan Larutan pH 1,0; pH 2,0; pH 3,0; pH 4,0; pH 5,0; pH 6,0. Untuk pembuatan larutan dengan berbagai pH dibuat dengan cara :

- 1) Pembuatan larutan pH 1 dibuat dari 75 ml larutan HCL pekat 11 M dengan aquadest kedalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas. Kemudian di kocok sampai homogen dan diukur menggunakan pH meter sampai pH menjadi $1,0 \pm 0,1$.
- 2) Pembuatan larutan pH 2 dibuat dengan mengencerkan larutan pH 1 sebanyak 1 ml dengan aquadest kedalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas, kemudian dikocok sampai homogen lalu diukur pH nya menggunakan pH meter sampai didapat pH 2,0.
- 3) Pembuatan larutan pH 3 dibuat dengan mengencerkan larutan pH 2 sebanyak 1 ml dengan aquadest kedalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas, kemudian dikocok sampai homogen lalu diukur pH nya menggunakan pH meter sampai didapat pH 3,0.
- 4) Pembuatan larutan pH 4 dibuat dengan mengencerkan larutan pH 3 sebanyak 1 ml dengan aquadest kedalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas, kemudian dikocok sampai homogen lalu diukur pH nya menggunakan pH meter sampai didapat pH 4,0.
- 5) Pembuatan larutan pH 5 dibuat dengan mengencerkan larutan pH 4 sebanyak 1 ml dengan aquadest kedalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas, kemudian dikocok sampai homogen lalu diukur pH nya menggunakan pH meter sampai didapat pH 5,0.

6) Pembuatan larutan pH 6 dibuat dengan mengencerkan larutan pH 5 sebanyak 1 ml dengan aquadest kedalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas, kemudian dikocok sampai homogen lalu diukur pH nya menggunakan pH meter sampai didapat pH 6,0.

g. Analisis Kadar Total Antosianin

Sebanyak 1 gram sampel buah bit dilarutkan dengan etanol 70% ke dalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas. Kemudian dikocok sampai homogen, diamkan selama 30 menit. Kemudian diambil masing-masing sebanyak 2 ml sampel buah bit, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan larutan pH 1,0 ; pH 2,0 ; pH 3,0 ; pH 4,0 ; pH 5,0 ; pH6,0, kocok homogen kemudian di diamkan selama 15 menit. Kemudian diambil sebanyak 5 ml dari masing-masing sampel dan diukur serapannya dengan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 510 nm dan 700 nm. Setelah diketahui absorbansinya dari masing-masing sampel, kemudian dihitung menggunakan rumus seperti berikut :

$$A = (A_{\lambda_{vis-max} A_{700}})_{PH1} + (A_{\lambda_{vis-max} A_{700}})_{PH2} + (A_{\lambda_{vis-max} A_{700}})_{PH3} + (A_{\lambda_{vis-max} A_{700}})_{PH4} + (A_{\lambda_{vis-max} A_{700}})_{PH5} + (A_{\lambda_{vis-max} A_{700}})_{PH6}$$

Kandungan pigmen antosianin pada sampel dihitung dengan rumus :

$$\text{Total Antosianin} \left(\frac{\text{ml}}{\text{liter}} \right) = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{(\epsilon \times l)}$$

Keterangan :

A	= Absorbansi dari sampel yang telah dilarutkan
ϵ	= Absorptivitas molar antosianin = 26.900 L / (mol.cm)
DF	= Faktor Pengenceran
I	= Lebar Kuvet = 1 cm
MW	= Berat molekul Sianidin-3-glukosida = 449,2 g/mol
1001	= Faktor g ke mg.

BAB V. HASIL DAN ANALISIS

5.1 Rendemen Sampel

Rendemen adalah perbandingan jumlah ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi suatu tanaman, rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Pada penelitian ini dilakukan perlakuan pada sampel sebanyak satu kali selama 3 jam sembari di aduk sesekali. Hasil analisa rendemen pada sampel, sebanyak 400 gram buah bit (*Beta vulgaris*) yang ditambahkan dengan 200 ml pelarut menunjukkan hasil sebesar 41,6% yang diperoleh dari perhitungan seperti berikut :

$$\begin{aligned}\text{Nilai rendemen} &= \frac{\text{Bobot ekstrak akhir}}{\text{Bobot ekstrak awal}} \times 100\% \\ &= \frac{250}{600} \times 100\% \\ &= 41,6\%\end{aligned}$$

Dari hasil diatas dapat diketahui bahwa semakin banyak pelarut (etanol 70%) yang digunakan maka akan mengekstrak senyawa organik pada buah bit (*Beta vulgaris*) lebih banyak. Karena, semakin banyak pelarut yang digunakan maka akan semakin banyak pula komponen yang terekstrak dan dapat terlarut bersama dengan pelarutnya (Said dkk, 2014).

5.2 Skrinning Fitokimia Senyawa Antosianin

Analisis skrinning fitokimia merupakan salah satu metode uji yang bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu tanaman. Sehingga skrinning fitokimia ini menjadi tahap awal atau pendahuluan untuk memberikan gambaran tentang metabolit sekunder dalam

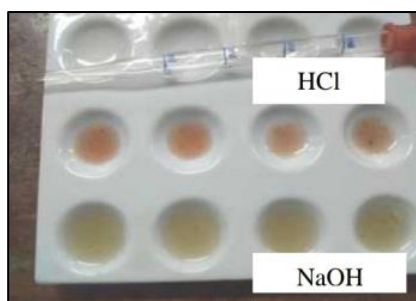
tanaman yang sedang diteliti. Berdasarkan hasil penelitian uji skrinning fitokimia pada sampel buah bit (*Beta vulgaris*) dapat dibuktikan adanya senyawa antosianin yang termasuk kedalam senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid. Hasil identifikasi senyawa antosianin dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Uji Skrinning Fitokimia Buah Bit (*Beta vulgaris*)

Uji Fitokimia	Hasil Menurut Pustaka	Hasil
Antosianin	Sampel + HCl 2M = Merah mantap	Merah mantap ++
	Sampel + NaOH = Hijau kebiruan kemudian memudar	Hijau kebiruan kemudian memudar +

Keterangan : tanda ++ terkandung senyawa lebih banyak/warna pekat.

Hasil analisis kualitatif melalui uji skrinning fitokimia yang dilakukan oleh Nabilla (2021), terhadap sampel buah bit (*Beta vulgaris*) menggunakan pelarut etanol menunjukkan bahwa sampel tersebut positif memiliki kandungan antosianin. Warna merah tersebut terbentuk karena antosianin pada pH rendah (asam) pigmen ini berwarna merah (Francis, 1982). Jumlah gugus metoksi yang dominan dibandingkan gugus hidroksi pada struktur antosianidin menyebabkan warna cenderung merah (Wijaya, dkk., 2009).



Gambar 5.2 Hasil Skrinning Fitokimia Buah Bit (*Beta vulgaris*).

5.3 Panjang Gelombang

Uji kualitatif menggunakan analisis dengan spektrofometer, pada penelitian ini dilakukan pada spektrum sinar tampak. Dimana antosianin memiliki range spektrum pada 475-550 nm, karena pada rentang panjang gelombang tersebut mengandung gugus kromofor, yaitu gugus fungsi yang menyerap radiasi pada daerah visibel karena mempunyai ikatan tak jenuh. Uji kualitatif ini dilakukan untuk mencari panjang gelombang maksimum dari sampel buah bit (*Beta vulgaris*). Dari hasil pengukuran diperoleh panjang gelombang maksimum antosianin adalah 510 nm. Berikut data absorbansi ekstrak buah bit disajikan pada tabel 5.3 dibawah ini :

Tabel 5.3 Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
475	0,5848
480	0,6198
485	0,6463
490	0,7058
495	0,7455
500	0,7612
510	0,8209
515	0,8105
520	0,8050
525	0,7691
530	0,7244
535	0,6768
540	0,6455
545	0,5812
550	0,5240

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa panjang gelombang maksimum yang digunakan untuk mengidentifikasi ekstrak sampel dan menduga jenis antosianin yang terdapat dalam sampel buah bit (*Beta vulgaris*). Senyawa antosianin

mempunyai karakteristik dua daerah serapan pada panjang gelombang yaitu Uv (2780-280 nm) dan Visibel (465-550 nm) (Markham, 1998). Pada pengukuran menggunakan spektrofotometer Uv-Vis diperoleh puncak pada panjang gelombang 510 nm. Dimana puncak pada panjang gelombang tersebut merupakan ciri dari adanya senyawa antosianin.

Analisis kuantitatif dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metode pH diferensial. Metode perbedaan pH ini digunakan untuk melihat perbandingan kadar senyawa antosianin yang dihasilkan pada pH yang berbeda, yakni pH1, pH2, pH3, pH4, pH5, pH6. Digunakan pH 1 sampai pH 4 karena antosianin stabil pada pH dibawah 4, dan kurang stabil pada pH 4 sampai pH 6. Masing-masing sampel ditambahkan dengan larutan pH yang sudah dibuat, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510 dan 700 nm. Dimana pada panjang gelombang 510 nm merupakan panjang gelombang maksimum untuk sianidin-3-glikosida sedangkan panjang gelombang 700 nm untuk mengoreksi endapan yang masih terdapat dalam sampel. Jika sampel benar-benar jernih, maka nilai absorbansinya sama dengan 0.

Tabel 5.4 Hasil Nilai Absorbansi Sampel Buah Bit Terhadap Pengaruh pH

Rentang pH	Rata-rata Absorbansi ($\lambda = 510$ nm)
pH 1	0,776
pH 2	0,736
pH 3	0,647
pH 4	0,553
pH 5	0,436
pH 6	0,378

Hasil penelitian pada tabel diatas dapat diketahui bahwa sampel buah bit (*Beta vulgaris*) lebih stabil pada pH asam dibandingkan pada pH basa. Menurut Markakis (1982) pada pH 5 keatas mengakibatkan kerusakan pigmen antosianin yang warnanya berubah menjadi tidak berwarna (terjadi pemucatan warna). Pada penelitian ini dilakukan dengan total antosianin dalam sampel buah bit (*Beta vulgaris*) dengan metode pH diferensial pada panjang gelombang 510 nm dan konten dinyatakan sebagai setara dengan sianidin-3-glukosida. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nabilla (2021) menunjukkan bukti bahwa analisis kuantitatif menggunakan metode pH diferensial memiliki nilai rata-rata pada rentang pH 1 sampai pH 6 dengan replikasi sebanyak 3 kali secara berturut-turut adalah 0,776, 0,736, 0,647, 0,543, 0,436, 0,378.

5.5 Penetapan kadar total antosianin secara Spektrofotometer UV-Vis

Hasil yang diperoleh dari perhitungan penetapan kadar total antosianin hasil ekstraksi buah bit (*Beta vulgaris*) dapat dilihat pada tabel 5.5 sebagai berikut :

Tabel 5.5 Hasil penetapan kadar total Antosianin secara Spektrofotometer UV-Vis

NO.	Sampel	Absorbansi	Konsentrasi (ppm)	Kadar (%)
1	pH 1	0,776	80	20%
2	pH 2	0,736	70	20%
3	pH 3	0,647	60	20%
4	pH 4	0,543	50	20%
5	pH 5	0,436	40	20%
6	pH 6	0,378	30	20%
Rata-rata		0,586		
SD		0,161		
RSD		0,275		

Dari hasil perhitungan penetapan kadar total antosianin didapat nilai rerata sampel sebesar 0,586 dengan nilai SD (Standar Deviasi) sebesar 0,161 dan nilai RSD sebesar 0,275. Dimana dari 6 sampel yang digunakan juga diketahui kadar total antosianin yang diperoleh sebesar 0,6245mg dalam 400gram sampel buah bit.

BAB VI. PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan

Telah dilakukan sebuah penelitian analisis kadar antosianin total yang dilakukan pada sampel buah bit (*Beta vulgaris*) dengan metode pH diferensial. Dari hasil penelitian dan analisa data yang telah diuraikan pada bab sebelumnya, peneliti akan melakukan pembahasan yang bertujuan untuk menganalisis data hasil penelitian dengan teori konsep yang telah disajikan sebelumnya.

Pada analisis kadar antosianin total hasil ekstraksi buah bit (*Beta vulgaris*) dengan metode pH diferensial ini, sampel diperoleh dari daerah Pasar Tanjung Kabupaten Jember, lalu dibawa ke Laboratorium Biologi Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember untuk dilakukan proses pengolahan sampel buah bit (*Beta vulgaris*) hingga didapat ekstrak sampel dan dilanjutkan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas dr. Soebandi Jember untuk dilakukan uji analisa. Dimana sampel buah yang sudah dikupas kemudian dicuci dan dipotong kecil-kecil kemudian di blender bersama pelarut etanol kemudian didiamkan selama 3 jam dan disaring hingga didapat filtrat atau sari buah bit tanpa ampas.

Tahap selanjutnya dilakukan uji skrinning fitokimia pada sampel dengan HCl 2M selama 5 menit pada suhu 100 °C, kemudian diamati perubahan warnanya, pada sampel dengan HCl 2M warna yang dihasilkan adalah merah mantap atau tidak berubah maka menunjukkan adanya senyawa antosianin. (Lestario et al., 2011). Cara yang kedua, reaksi warna dengan NaOH. Sampel ditambahkan dengan NaOH 2M tetes demi tetes. Hasil pengujian positif

menunjukkan warna merah berubah menjadi hijau kebiruan dan memudar perlahan-lahan. Artinya, teori dan hasil analisis sudah sesuai.

Setelah dilakukan uji skrining, kemudian dilakukan analisis kualitatif dengan mengukur panjang gelombang maksimum antosianin. Dimana antosianin memiliki range panjang gelombang antara 475 – 550 nm. Pada pengukuran menggunakan spektrofotometer Uv-Vis diperoleh puncak pada panjang gelombang 510 nm. Dimana puncak pada panjang gelombang tersebut merupakan ciri dari adanya senyawa antosianin. Adapun absorpsi panjang gelombang dari ekstrak dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yaitu didukung oleh penelitian Lestario,dkk., (2014), yang telah mengukur spektrum senyawa antosianin pada kulit jantung pisang kepok dan mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 515 nm. Anggraeni, V.J., et al (2018), telah mengisolasi antosianin pada biji beras merah dan mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 510 nm. Dan Meiny Suzery,dkk (2014) juga melaporkan bahwa absorbansi maksimum pada kulit manggis terjadi pada panjang gelombang 515 nm.

Puncak pada panjang gelombang yang diperoleh menunjukkan ciri dari senyawa antosianin. Adapun sedikit perbedaan panjang gelombang dari penelitian sebelumnya bisa disebabkan karena perbedaan sumber antosianin dan perbedaan pelarut yang digunakan. Berdasarkan penelitian terdahulu pengukuran spektrum antosianin buah bit (*Beta vulgaris*) menggunakan pelarut HCl 1% pada panjang gelombang 200-600 nm dihasilkan puncak panjang gelombang 279 nm dan 510 nm menunjukkan ciri khas dari senyawa antosianin jenis sianidin-3-glikosida

yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Wijaya, dkk., 2009). Artinya pada hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa senyawa antosianin yang dihasilkan merupakan senyawa antosianin jenis sianidin-3-glikosida.

Tahap selanjutnya yaitu uji kuantitatif pada sampel yang dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan metode pH diferensial untuk melihat perbandingan kadar senyawa antosianin yang dihasilkan pada pH yang berbeda, yakni pH1, pH2, pH3, pH4, pH5, pH6. Berdasarkan teori pada pH 1 sampai pH 4 senyawa antosianin akan tetap stabil dan kurang stabil pada pH 4 sampai pH 6. Dimana masing-masing sampel ditambahkan dengan larutan pH yang sudah dibuat, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510 dan 700 nm dengan replikasi sebanyak tiga kali. Dimana pada panjang gelombang 510 nm merupakan panjang gelombang maksimum untuk sianidin-3-glikosida sedangkan panjang gelombang 700 nm untuk mengoreksi endapan yang masih terdapat dalam sampel. Jika sampel benar-benar jernih, maka nilai absorbansinya sama dengan 0.

Berdasarkan hasil pengukuran pada tabel 5.4 diketahui bahwa nilai rata-rata tertinggi nilai absorbansi berada pada rentang pH 1 dengan nilai absorbansi secara berturut-turut yaitu 0,770 ; 0,793 ; 0,767 , sedangkan pada pH 2 memiliki nilai absorbansi 0,74 ;0,738;0,731. Hal ini dikarenakan antosianin stabil pada kondisi pH asam atau dibawah pH 4 dan suhu yang rendah. Sedangkan nilai rata-rata absorbansi paling rendah terdapat pada pH 6 yakni 0,391; 0,387; 0,357, karena menurut Markakis (1982) pada pH 5 keatas mengakibatkan kerusakan pigmen

antosianin. Faktor penting agar kestabilan antosianin tetap terjaga salah satunya ialah kondisi pH yang asam, serta suhu rendah. Sehingga kesetimbangan antosianin tidak mudah bergeser dan pada akhirnya mengalami degradasi. Dimana ketidaksetimbangan inilah yang menyebabkan senyawa ini mudah mengalami hidrolisis pada ikatan glikosidik dan cincin aglikon menjadi terbuka, sehingga membentuk berbagai aglikon yang labil, serta gugus karbinol dan kalkon yang tidak berwarna (mulai memudar dan pucat). Sehingga mempengaruhi pula pada pengukuran dan hasil nilai absorbansi yang didapat juga tidak besar atau baik.

Untuk hasil analisis kuantitatif, sampel memiliki nilai rata-rata pada rentang pH 1 sampai pH 6 dengan replikasi sebanyak 3 kali secara berturut-turut adalah 0,776, 0,736, 0,647, 0,543, 0,436, 0,378. Dengan nilai SD (Standar Deviasi) sebesar 0,161. Menurut Rizka (2020), apabila semakin rendah nilai standar deviasinya, maka semakin mendekati nilai rata-rata, sedangkan jika semakin tinggi maka semakin lebar rentang variasi datanya. Sehingga dapat diartikan, standar deviasi merupakan besar perbedaan dari nilai sampel terhadap rata-rata.

Sedangkan untuk nilai %RSD pada rentang pH 1 sampai pH 6 sebesar 0,275%. Dimana, menurut Vander-wielen,dkk menyatakan bahwa selisih kadar pada berbagai penentuan harus kurang atau harus 5% setiap analit pada prosedur yang dilakukan. Artinya, berdasarkan nilai %RSD pada rentang pH 1 sampai pH 6 dinyatakan memenuhi persyaratan atau bagus. Untuk kadar antosianin total pada buah bit (*Beta vulgaris*) berdasarkan rumus pH diferensial sebesar 0,6245 mg/400 gram. Hasil menunjukkan bahwa kandungan antosianin yang diperoleh dari setiap penelitian tergantung pada banyaknya sampel, jenis pelarut yang digunakan dan

juga perlakuan ekstraksi. Dimana jika nilai absorbansi yang didapatkan bernilai besar, maka semakin besar pula kadar total antosianin yang dihasilkan.

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Panjang gelombang maksimum yang didapatkan pada kondisi analisis hasil ekstraksi buah bit (*Beta vulgaris*) sebesar 510 nm dengan rentang yang digunakan yaitu pH 1 sampai pH 6.
2. Buah bit (*Beta vulgaris*) segar mengandung kadar senyawa antosianin total sebanyak 0,6245mg/400 gram sampel.

7.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut tentang kondisi analisis hasil ekstraksi buah bit (*Beta vulgaris*) dengan metode pH diferensial menggunakan spektrofotometer.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang analisis kadar total antosianin pada buah bit (*Beta vulgaris*) menggunakan pelarut dan konsentrasi yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

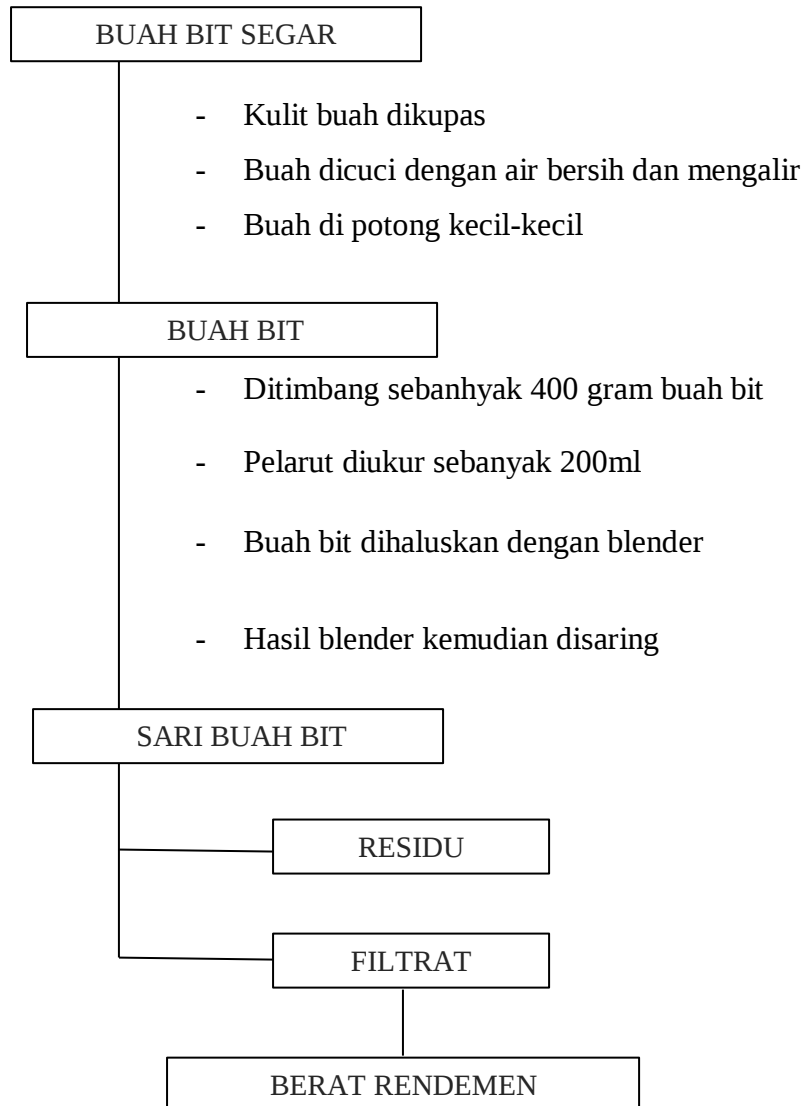
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta : Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Dirjen POM. (1995). *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 103-113.
- Dirjen POM. (1999). *Farmakope Indonesia, Edisi ke-4*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 7-8.
- Fathoni, Ahmad. (2015). *Analisa Secara Kualitatif Dan Kuantitatif Dalam Kopi Bubuk Lokal Yang Beredar Di Kota Palembang Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis*. Penelitian mandiri. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang.
- Gandjar, Gholib Ibnu & Abdul Rohman. (2012). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Giwang Petriana.(2012). *Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Degradasi Warna Sirup yang Diwarnai Umbi Bit Merah (Beta Vulgaris L. var. Rubra L.)*. Fakultas Sains dan Matematika.
- Hambali, M., Mayasari, F., & Noermansyah, F. (2014). *Ekstraksi Antosianin dari Ubi Jalar dengan Variasi Konsentrasi Solven, dan Lama Waktu Ekstraksi*. Teknik Kimia 20 (2): 25 – 35.
- Hendrawan, I., (2011), *Identifikasi dan Pengujian Stabilitas Pigmen Antosianin pada Ubi Jalar Ungu (Ipomoea Batatas) dengan Metode Spektrofotometri*, Laporan Tugas Akhir, Bandung, STABA.
- Lestario,L, N, Rahayuni, E, Timotius, K, H. (2011). *Kandungan antosianin dan identifikasi antosianidin dari kulit buah jenitri (Elaeocarpus angustifolius blume)*. AGRITECH. 31(2):93-101
- Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavanoid*. Bandung : ITB.
- Menteri Perdagangan RI, (2014), *Obat Herbal Tradisional*, Warta Ekspor; 2.
- Miguel, M. G., (2011), *Anthocyanins: Antioxidant and or Anti-Inflammatory Activities*, Journal of Applied Pharmaceutical Science, 1(6): 7-15.

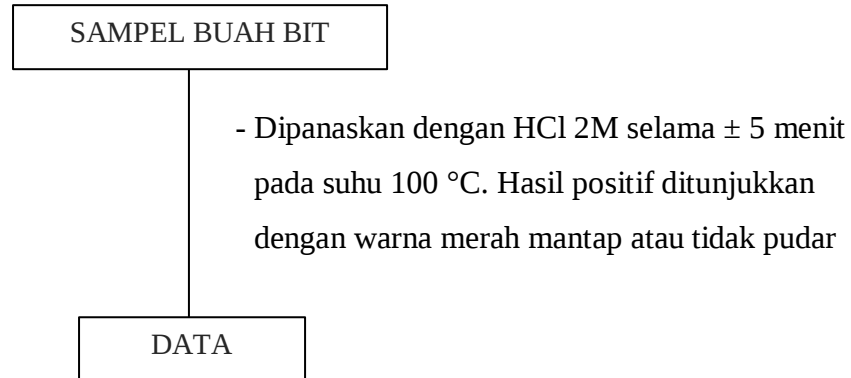
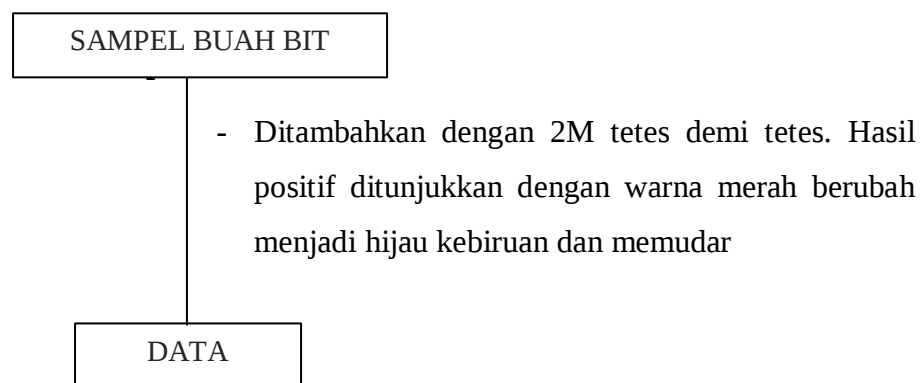
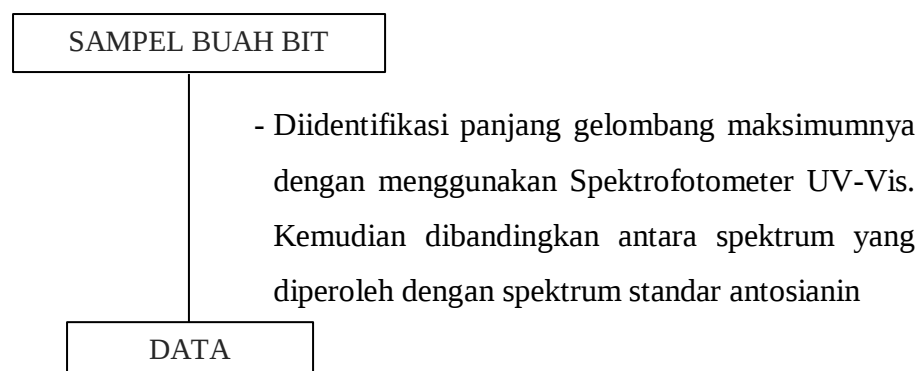
- Molyneux, P., (2004), *The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*, Songklanakarian J SciTechnol, 26(2): 211-219.
- Monica., (2014). *Kinetika Degradasi Antioksidan Serbuk Bit Merah (Beta vulgaris) Selama Proses Pemanasan dan Perubahan pH*. Fakultas Teknologi Pertanian. Semarang.
- Muchtadi, D., (2013), *Antioksidan & Kiat Sehat di Usia Produktif*, Penerbit Alfabeta, Surakarta. Muharni, M., Elfita, E., dan Amanda, A., 2013, *Aktivitas Antioksidan Senyawa (+) Gmorelloflavon dari Kulit Batang Tumbuhan Gamboge (Garcinia xanthochymus)*, Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung.
- Novitasari, A., Ambarwati, A., Lusia, A. W., Purnamasari, D., Hapsari, E., dan Ardiyani, N. D., (2013), *Inovasi dari Jantung Pisang (Musa spp.)*, Jurnal Kesmadaska, 96-99.
- Nugraha, K. A., (2013), *Antosianin Jantung Pisang (Musa X paradisiaca) Sebagai Pewarna Sirup (Kajian berdasarkan Stabilitas Terhadap Cahaya dan Uji Organoleptik)*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga.
- Nugrahan, W., (2007), *Ekstraksi Antosianin dari Buah Kiara Payung (Filicum decipiens) dengan Menggunakan Pelarut yang diasamkan (Kajian Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi)*, Skripsi tidak diterbitkan, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Unibraw, Malang.
- Samber, L. N., Semangun, H., dan Prasetyo, B., (2013), *Karakteristik Antosianin sebagai Pewarna Alami*, Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UN, Program Studi Magister Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana.
- Simanjuntak, L., Sinaga, C., dan Fatimah., (2014), *Ekstraksi Pigmen Antosianin Dari Kulit Buah Naga Merah (Hylocereus polyhizus)*, Jurnal Teknik Kimia, 3(2): 25-29.
- Steenis. (2005). *Buah bit (Beta vulgaris L)*, Penerbit PT Gramedia Pustaka Umum, Jakarta.
- Stuart, B., (2004), *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, Ltd, Kanada.
- Sudjadi. (1988). *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisius.

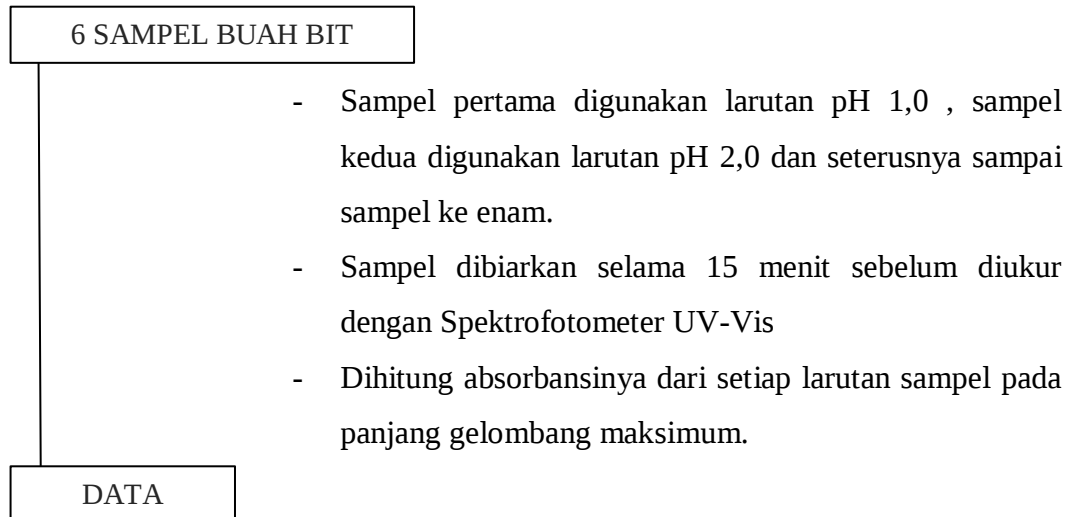
- Supiyanti, W., Wulansari, E. D., dan Kusmita, L., (2010), *UJI Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kandungan Antosianin Total Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L)*, Majalah Obat Tradisional, 15(2): 64-70.
- Suranto, A., (2011), *Terbukti Pome Tumpas Penyakit*, Puspa Swara, Bandung.
- Suzery, M, Lestari, S & Cahyono, B. (2010), *Penentuan Total Antosianin Dari Kelopak Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L) Dengan Metode Maserasi dan Sokshletasi*, Jurnal Sains & Matematika, Vol. 18, No. 1, hh. 1-6.
- Suzery, M., Lestari, S., dan Cahyono, B., (2010), *Penentuan Total Antosianin dari Kelopak Bunga Rosela (Hibiscus sabdariffa L) dengan Metode Maserasi dan Sokshletasi*, Jurnal Sains dan Matematika, 18(1): 1-6.
- Suzery, Meiny., Lestari, Sri., Cahyano, Bambang., (2010), *Jurnal Sains dan Matematika (JSM)* Vol.18 no.1, Januari 2010 hal: 1-6
- Takeda, K., (2006), *Blue Metal Complex Pigments Involved in Blue Flower Color*, Japan Acad Ser B Physical Biological Science, 82(4): 142-154.
- Tjitrosoepomo, G., (2011), *Taksonomi Spermatophyta*, UGM Press, Yogyakarta.
- Vankar, P. S., dan Shukla, D., (2011), *Natural Dyeing with Anthocyanins from Hibiscusrosa sinensis Flowers*, Journal of Applied Polymer Science: 1-8.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Kerja Preparasi dan Ekstraksi



Lampiran 2. Bagan Kerja Identifikasi Senyawa Pigmen Antosianin**1. Reaksi warna dengan HCl****2. Reaksi warna dengan NaOH****3. Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis**

Lampiran 3. Bagan Kerja Analisis Kadar dengan Metode pH Differensial

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak Buah Bit

$$\begin{aligned}\text{Rendemen Ekstrak} &= \frac{\text{Bobot total ekstrak}}{\text{Bobot sampel segar}} \times 100\% \\ &= \frac{250}{600} \times 100\% \\ &= 41,6\%\end{aligned}$$

Lampiran 5. Perhitungan Rumus Metode pH Diferensial

1. Larutan pH 1
Replikasi 1 : 0,770
Replikasi 2 : 0,793
Replikasi 3 : 0,767
Rata-rata absorbansi : 0,776
Abs 700 : 0,018
2. Larutan pH 2
Replikasi 1 : 0,740
Replikasi 2 : 0,738
Replikasi 3 : 0,731
Rata-rata absorbansi : 0,736
Abs 700 : 0,015
3. Larutan pH 3
Replikasi 1 : 0,640
Replikasi 2 : 0,655
Replikasi 3 : 0,648
Rata-rata absorbansi : 0,647
Abs 700 : 0,013
4. Larutan pH 4
Replikasi 1 : 0,560
Replikasi 2 : 0,552
Replikasi 3 : 0,547
Rata-rata absorbansi : 0,553
Abs 700 : 0,013
5. Larutan pH 5
Replikasi 1 : 0,439
Replikasi 2 : 0,441
Replikasi 3 : 0,428
Rata-rata absorbansi : 0,436
Abs 700 : 0,015
6. Larutan pH 6
Replikasi 1 : 0,391
Replikasi 2 : 0,387
Replikasi 3 : 0,357
Rata-rata absorbansi : 0,378
Abs 700 : 0,013

Nilai A, =

1. $(0,776 - 0,018)_{pH\ 1} - (0,736 - 0,015)_{pH\ 2} = 0,037$
 2. $(0,647 - 0,013)_{pH\ 3} - (0,553 - 0,013)_{pH\ 4} = 0,094$
 3. $(0,436 - 0,015)_{pH\ 5} - (0,378 - 0,013)_{pH\ 6} = 0,056$
- Nilai A = 0,187

Kandungan total Antosianin

$$\begin{aligned}
 \text{Total Antosianin (ml/ liter)} &= A \times MW \times DF \times 1000 \\
 &\quad (26900 \times 1) \\
 &= 0,187 \times 449,2 \times 0,2 \times 1000 \\
 &\quad (26900 \times 1) \\
 &= 0,6245 \text{ mg/400 gram sampel}
 \end{aligned}$$

Lampiran 6. Tabel dan Gambar

Tabel 5.2 Hasil Uji Skrinning Fitokimia Buah Bit (*Beta Vulgaris*)

Uji Fitokimia	Hasil Menurut Pustaka	Hasil
Antosianin	Sampel + HCl 2M = Merah mantap	Merah mantap ++
	Sampel + NaOH = Hijau kebiruan kemudian memudar	Hijau kebiruan kemudian memudar +
Keterangan : tanda ++ terkandung senyawa lebih banyak/warna pekat		

Tabel 5.3.1 Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

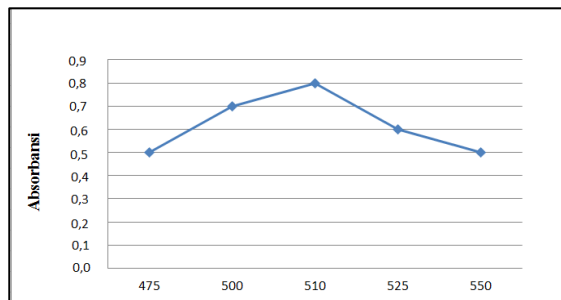
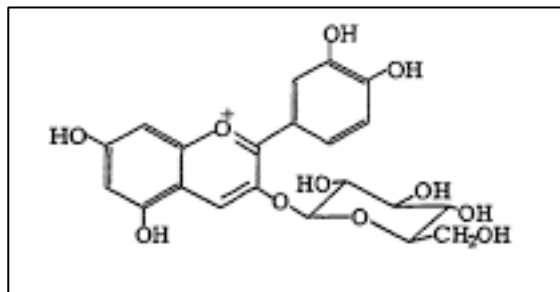
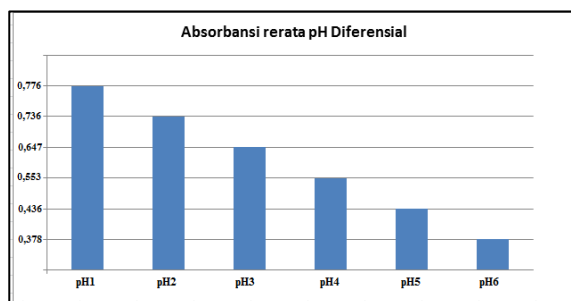
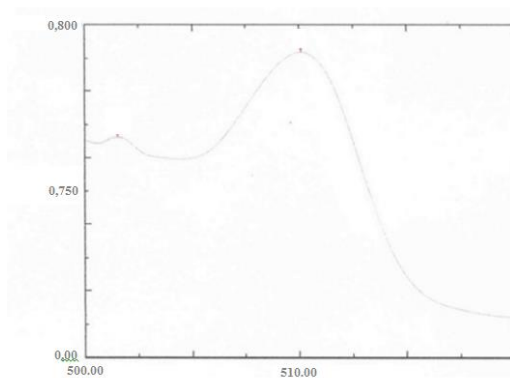
Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
475	0,5848
480	0,6198
485	0,6463
490	0,7058
495	0,7455
500	0,7612
510	0,8209
515	0,8105
520	0,8050
525	0,7691
530	0,7244
535	0,6768
540	0,6455
545	0,5812
550	0,5240

Tabel 5.3 Perbandingan Panjang Gelombang Maksimum Antosianin Dari Berbagai Tumbuhan

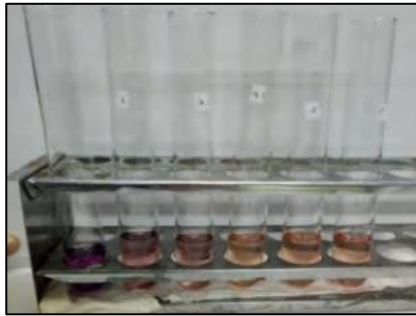
ANTOSIANIN	λ
Buah Bit	510 nm
Kulit Jantung Pisang Kepok (Lestario,dkk., 2014)	515 nm
Beras Merah (Anggraeni, V.J., et al 2018)	510 nm
Kulit Manggis (Meiny Suzery,dkk., 2014)	510 nm

Tabel 5.4 Hasil Nilai Absorbansi Sampel Buah Bit Terhadap Pengaruh pH

	Sample ID	Type	Ex	Conc	WL510,0	Comments
1	SAMPEL1	Unknown			0,793	
2	SAMPEL2	Unknown			0,740	
3	SAMPEL3	Unknown			0,655	
4	SAMPEL4	Unknown			0,560	
5	SAMPEL5	Unknown			0,428	
6	SAMPEL6	Unknown			0,391	

Gambar 5.3 Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum**Gambar 5.3.1** Struktur Antosianin Sianidin-3-Glikosida**Gambar 5.4** Diagram Batang Rerata Absorbansi pH Diferensial**Gambar 5.5** Panjang Gelombang pH Diferensial (pH 1)

Gambar 5.6 Sampel Pada Berbagai Rentan pH



Analisis warna sampel pada rentan pH 1 – pH 6

Gambar 5.7 Pengolahan Sampel Buah Bit



Buah bit segar.



Buah bit segar ditimbang sebanyak 400 gram.



Buah bit yang sudah dipotong.



Buah bit dihaluskan.



Buah bit yang sudah dihaluskan, dari 400 gram buah segar diperoleh. Kemudian disaring untuk diambil 300 ml sampel sari buah bit segar. Filtratnya / sari buahnya.



Sampel buah bit 1 dan sampel buah bit setelah disaring berkali-kali.

CURICULUM VITAE



Nama	: Nabilla Hermawanti Kartika Sari
Tempat, Tanggal Lahir	: Jember, 18 September 1998
Jenis Kelamin	: Perempuan
Kewarganegaraan	: Indonesia
Agama	: Islam
Status	: Belum Kawin
Alamat	: Jl. Kp. Tendean VI no 51 Jember
No. Telp	: 0822-3226-4955
Email	: Nabillaks18@gmail.com

DATA PENDIDIKAN

2004-2006	Pernah bersekolah di TK CANDRASARI Jember Kidul
2006-2012	Pernah bersekolah di SDN Jember Kidul 02
2012-2015	Pernah bersekolah di SMPN 01 Jember
2015-2017	Pernah bersekolah di SMK Farmasi Jember
2017-Sekarang	Menempuh S1 Farmasi di Universitas dr. Soebandi Jember