



**IDENTIFIKASI DAN UJI ANTIOKSIDAN SENYAWA
BETASIANIN DARI EKSTRAK BUAH BIT MERAH (*Beta
vulgaris L*)**

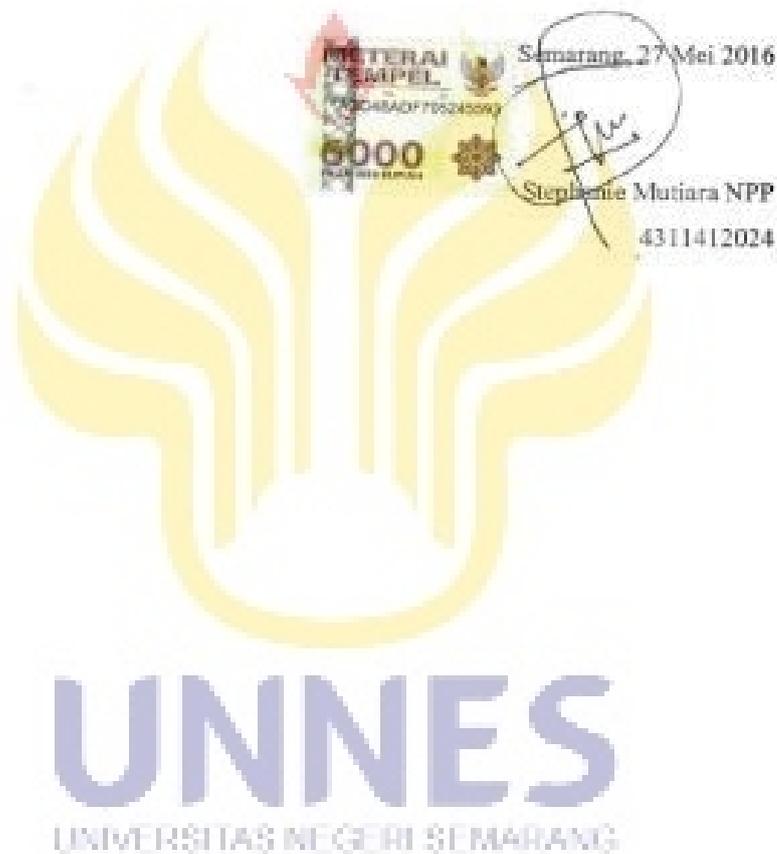
**Skripsi
disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia**

oleh :
Stephanie Mutiara Novatama Purwanto Putri
UNIVERSITAS 4311412024 SEMARANG

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2016**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan



PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul :

Identifikasi dan Uji Antioksidan Senyawa Betasianin dari Ekstrak Buah Bit Merah (*Beta vulgaris L.*)

Disusun oleh :

Nama : Stephanie Mutiara Novatama Purwanto Putri

NIM : 4311412024

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi FMIPA Unnes pada tanggal 27 Mei 2016

Panitia :

Ketua Penguji

Dr. Supatri, S.E, M.Si, Akt
NIP. 196412231988031001

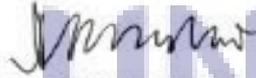
Sekretaris Penguji

Dr. Nanik Wajayati, M.Si
NIP. 196910231996032002

Penguji 1


Dr. Sri Mursiti, M.Si
NIP. 196709131999032001

Penguji 2


Prof. Dr. Supartono, M.S.
NIP. 19541228198031003

Penguji 3


Drs. Ersanghono Kusuma, M.S.
NIP. 195405101980121002

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto

Mistakes teach how to get the key

Persembahan

Karya tulis ini saya persembahkan kepada:

- Orang tua dan keluarga dengan segala kasih sayang, keikhlasan, doa dan pengorbanan serta kerja kerasnya untukku semoga Tuhan selalu memberkati mereka.
- Sahabat-sahabat terbaikku yang selalu memberi dukungan dan semangat serta doa.



PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan tuntunanNya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul; "Identifikasi dan Uji Antioksidan Senyawa Betasianin dari Ekstrak Buah Bit Merah (*Beta vulgaris* L).

Penyelesaian skripsi ini, banyak sekali pihak yang sudah membantu penulis. Penulis mengucapkan terima kasih banyak kepada berbagai pihak yang sudah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Ucapan terimakasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang
2. Dekan Fakultas Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang
3. Ketua Jurusan Kimia Universitas Negeri Semarang
4. Prof. Dr. Supartono, M.Si dan Drs. Ersanghono Kusuma, M.Sc selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan saran kepada penulis selama penyusunan skripsi.
5. Dra. Sri Mursiti, M.Si selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan masukan dan saran kepada penulis selama penyusunan skripsi.
6. Kepala Laboratorium Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan ijin penelitian.
7. Seluruh teknisi dan laboran di FMIPA Jurusan Kimia Universitas Negeri Semarang yang telah bersedia membantu dalam penelitian.
8. Bapak dan Ibu dosen serta staf Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang.
9. Sahabat-sahabat terbaikku Dewangga Arif Pratama, Wiwik Wahyu Lestari, Sukron Makhmun, Lusi Andriyani, Benita Indrayani, Margiana

Octavia, Arina Shofa, Febri Siti Romdhonah, Novia Tina Anjani, Anggy Rinela, Agnes Juniarti Chastelyna, dan Nur Rachmi Idzati.

10. Kekasihku Dewangga Arif Pratama yang selalu memberikan semangat dan membantu dalam penyelesaian skripsi.
11. Teman-teman Kimia 2012 yang telah memberikan doa dan motivasi hingga terselesaikannya skripsi ini.
12. Orang tua tercinta yang selalu memberikan semangat, doa, dan kerja kerasnya hingga terselesaikannya skripsi ini.
13. Keluarga tercinta yang telah memberikan doa dan semangatnya hingga terselesaikan skripsi ini.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menjadi berkat bagi pembaca.

Semarang, 27 Mei 2016.

Penulis



ABSTRAK

Putri, S.M.N.P. 2016. Identifikasi dan Uji Antioksidan Senyawa Betasianin dari Ekstrak Buah Bit Merah (*Beta vulgaris L*). Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Drs. Ersanghono Kusuma, MS dan Pembimbing Pendamping Prof. Dr. Supartono MS.

Bit merah merupakan salah satu bahan pangan yang bermanfaat. Salah satu manfaatnya yaitu sebagai antioksidan. Pigmen yang berperan sebagai antioksidan di dalam buah bit merah adalah betasianin. Dalam penelitian diuji adanya pigmen betasianin dalam sampel, uji golongan flavanoid dan diuji aktivitasnya sebagai antioksidan sehingga dapat bermanfaat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pigmen betasianin di dalam buah bit merah yang bermanfaat sebagai antioksidan. Tahap pertama adalah preparasi sampel kemudian ekstraksi betasianin yang menggunakan pelarut etanol 70 % destilasi. Tahap kedua yaitu menguji sampel ekstrak etanol buah bit merah dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer IR, HPLC dan uji kandungan senyawa metabolit sekundernya. Tahap ketiga yaitu menghitung aktivitasnya sebagai antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat pigmen betasianin dalam buah bit merah yang termasuk flavanoid golongan khalkon dengan aktivitas antioksidan sebesar 79,73 bpj. Dapat disimpulkan bahwa buah bit merah mengandung betasianin dan memiliki antioksidan yang kuat.

Kata kunci : buah bit merah, betasianin, antioksidan.



ABSTRACT

Putri, S.M.N.P. 2016. Identification and Antioxidant Activity of Betacyanin from Red Beet (*Beta vulgaris L*) Extracts. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Drs. Ersanghono Kusumo, MS dan Pembimbing Pendamping Prof. Dr. Supartono, MS.

Red Beet is one of food that are beneficial. One of its benefits as an antioxidant. This study aims tested the existence of betacyanin in the sample, test the flavanoid and tested its activity as antioxidant, so useful. In this study aims to know existence of betacyanin pigment in the red beet that are useful as antioxidant. Phase I is a sample preparation and extraction of betacyanin with destilation ethanol 70 % solvent. Phase II is to test the samples of ethanol extract of red beet with spektrofotometri UV-Vis, spektrofotometri IR, HPLC and secondary metabolite compound test. Phase III is calculation of the antioxidant activity of betacyanin. The results of the study showed that there is a betacyanin pigment in red beet that includes the flavanoid khalkon with antioxidant activity is 79,73 bpj. It can be concluded that in the beet there are betacyanin and its has a strong antioxidant activity.

Keyword : red beet, betacyanin, antioxidant.



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian	6
1.4. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Buah Bit Merah (<i>Beta vulgaris L</i>).....	7
2.1.1. Daerah Asal dan Penyebaran Buah Bit.....	7
2.1.2. Klasifikasi Buah Bit (<i>Beta vulgaris L</i>)	8
2.1.3. Kandungan Gizi dan Manfaat Buah Bit (<i>Beta vulgaris L</i>)	9
2.2. Betasianin.....	10
2.3. Antioksidan	12
2.3.1. Fungsi Antioksidan.....	13
2.4. Metode	14
2.4.1. Ekstraksi	14

2.4.2. Spektrofotometer FTIR.....	18
2.4.3. Spektrofotometer UV-Vis.....	19
2.4.4. HPLC (High performance liquid Chromatography).....	21
2.4.5. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Bit (<i>Beta vulgaris L</i>)	22
2.4.6. Persen Inhibisi dan IC50.....	24
BAB III METODE PENELITIAN	26
3.1. Sampel Penelitian.....	26
3.2. Variabel Penelitian.....	26
3.3. Alat dan Bahan.....	26
3.4. Langkah Penelitian.....	27
3.4.1. Persiapan Sampel	27
3.4.2. Ekstraksi Pigmen.....	27
3.4.3. Analisis Skrinning Fitokimia	28
3.4.4. Uji Aktivitas Antioksidan	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	33
4.1. Persiapan Sampel	33
4.2. Ekstraksi Sampel.....	34
4.3. Kadar Betasianin dalam Ekstrak Etanol Buah Bit Merah.....	34
4.4 Analisis Skrinning Fitokimia	36
4.5. Analisis Spektrofotometer UV-Vis.....	37
4.6. Analisis Spektrofotometer FTIR	38
4.7 Analisis HPLC	40
4.8. Uji Aktivitas Antioksidan	44
BAB V PENUTUP.....	49
5.1. Simpulan	49
5.2. Saran.....	49

DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	xiv



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Rentangan Serapan Spektrum UV- Tampak Flavanoid	20
2.2. Klasifikasi Antioksidan.....	25
4.1. Data Absorbansi Perhitungan Kadar	35
4.2. Hasil Uji Skrinning Fitokimia.....	36
4.3. Interpretasi Spektrum FTIR.....	38
4.4. Waktu Retensi & Persen Luas Area Pigmen Betasianin Sampel Ekstrak Etanol Buah Bit Merah.....	41
4.5. Waktu Retensi & Persen Luas Area Pigmen Betanin Standar (<i>Anni, Farida et.al., 2014</i>)	42
4.6. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Bit Merah	45
4.7. Aktivitas Antioksidan Vitamin C	47



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1.1. Rumus Struktur	3
2.1. Buah Bit Merah	9
2.2. Struktur Betasianin.....	11
2.3. Spektrum UV-Tampak Jenis Flavanoid.....	20
2.4. Struktur DPPH	23
2.5. Reaksi DPPH dengan Senyawa Antioksidan	23
4.1. Spektra Analisis Spektrofotometer UV-Vis.....	37
4.2. Spektra Analisis Spektrofotometer FTIR.....	38
4.3. Profil HPLC Sampel Ekstrak Etanol Buah Bit Merah	40
4.4. Profil HPLC Standar Betanin (<i>Anni Farida et.al., 2014</i>)	42
4.5. Kurva Regresi Linier Aktivitas Antioksidasi Sampel Ekstrak Etanol Buah Bit Merah	46
4.6. Kurva Regresi Linier Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja	56
2. Pembuatan Larutan Uji Aktivitas Antioksidan	58
3. Analisis Skrinning Fitokimia	62
4. Dokumentasi Penelitian	66



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bit merah merupakan salah satu bahan pangan yang sangat bermanfaat. Salah satu manfaatnya adalah memberikan warna alami dalam pembuatan produk pangan. Pigmen yang terdapat pada bit merah adalah betalain. Betalain merupakan golongan antioksidan. Pigmen betalain sangat jarang digunakan dalam produk pangan dibandingkan dengan antosianin dan betakaroten (Wirakusumah, 2007). Kandungan vitamin dan mineral yang ada dalam bit merah seperti vitamin B dan kalsium, fosfor, nutrisi, besi merupakan nilai lebih dari penggunaan bit merah.

Pigmen merah keunguan ini dijumpai pada beberapa jenis tanaman seperti buah naga dan umbi bit merah (*Beta vulgaris* L). Pigmen utama yang ada di dalam umbi bit merah (*Beta vulgaris* L) adalah betasianin (mengandung 75 %-95 % betanin), sedangkan betaxantin berada dalam jumlah yang lebih sedikit. Betaxantin yang dominan di dalam bit merah yaitu Vulgaxantin I, sekitar 95 % (Stintzing, et al., 2008).

Betalain merupakan pewarna alami yang banyak digunakan pada produk pangan. Pigmen ini banyak dimanfaatkan karena kegunaannya selain sebagai pewarna juga sebagai antioksidan dan radical scavenging sebagai perlindungan terhadap gangguan akibat stres oksidatif. Sumber betalain yang paling banyak adalah

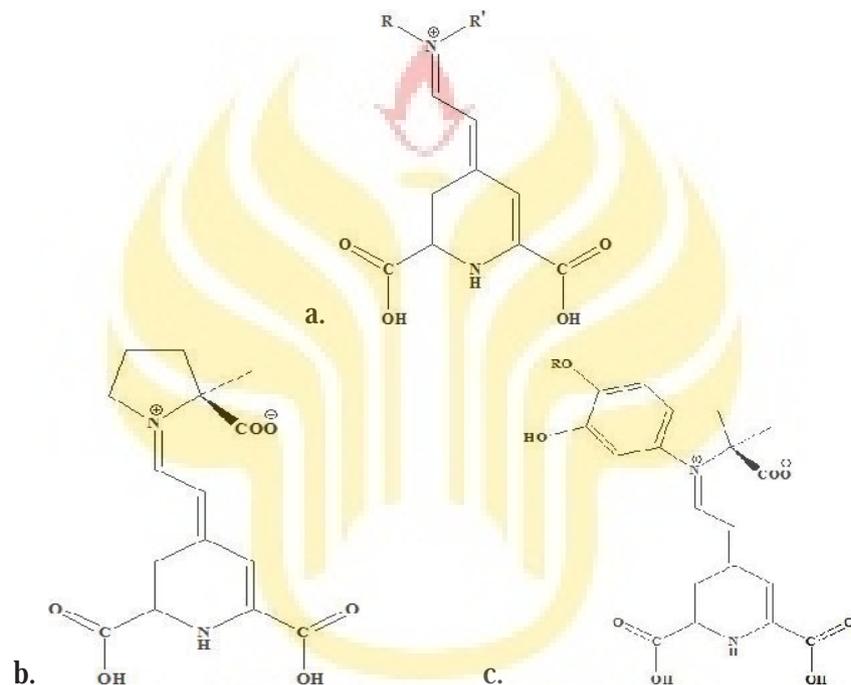
akar bit (*Beta vulgaris*). Perkembangan antosianin sebagai pewarna makanan lebih berkembang dibandingkan dengan betalain, karena terbatasnya tanaman yang mengandung betalain (Mareno, et al., 2008).

Betasianin merupakan pigmen berwarna merah atau merah-violet dalam buah bit merah merupakan turunan dari betalain (Andersen dan Markham, 2006). Hingga saat ini pigmen betasianin yang telah diproduksi dalam skala besar hanya berasal dari buah bit (*Beta vulgaris* L). Betasianin dari buah bit (*Beta vulgaris* L) telah diketahui memiliki efek antiradikal dan aktivitas antioksidan yang tinggi (Mastuti, 2010). Warna merah bit segar disebabkan oleh pigmen betasianin, suatu senyawa yang mengandung nitrogen.

Bit juga mengandung betaxantin, suatu pigmen berwarna kuning. Kedua pigmen ini beragam dan dapat berubah karena kondisi lingkungan. Tingkat warna merah menunjukkan bahwa kandungan betaxantinnya sedikit, warna kuning menunjukkan bahwa tidak terdapat betasianin, dan warna putih menunjukkan tidak terdapatnya kedua pigmen tersebut (Rubatzky, 1998). Menurut Girod and Zyrd (1991) 21.187 $\mu\text{mol g}^{-1}$ DW betasianin yang didapatkan dari buah bit.

Betasianin memiliki sifat mudah larut dalam pelarut air, sehingga betasianin sangat baik dikembangkan sebagai pewarna alami. Pada tumbuh-tumbuhan, betasianin terdapat pada bagian bunga, buah, dan daun yang memiliki warna merah keunguan (Strack, et al., 2003). Betasianin sangat sensitif terhadap beberapa faktor. Adapun faktor yang mempengaruhi kestabilan senyawa betasianin, yaitu suhu, pH, cahaya, oksigen dan ion logam (Herbach, et al., 2006).

Betalain, betaxantine dan betasianin ditemukan secara bersamaan dalam satu tanaman, karena betasianin merupakan turunan dari betalain yang juga berfungsi sebagai antioksidan. Berikut merupakan struktur dari betalain, betaxantine dan betasianin (Andersen dan Markham, 2006).



Gambar 1.1. Rumus Struktur a) struktur umum Betalain; b) betaxantin;
c) betasianin.

Rata-rata bit mengandung betalain sebesar 1.000 mg/100 gram berat kering atau 120 mg/100 g berat basah. Rasio konsentrasi antara betasianin dan betaxantin biasanya ada pada kisaran 1 : 3. Rasio ini beragam tergantung dari varietas bit. Perbedaan rasio kedua pigmen tersebut menimbulkan variasi warna pada bit dan ekstrak bit. Kelompok betalain terdiri dari sekitar 50 pigmen merah betasianin dan 20

pigmen kuning betaxantin. Lima jenis bit yang berbeda teridentifikasi empat jenis betasianin dominan, yaitu betanin, isobetanin, betanidin, dan isobetanidin serta dua jenis betaxantin dominan, yaitu vulgaxantin I dan vulgaxantin II. Secara umum betanin merupakan jenis betasianin utama pada semua varietas. Pigmen betanin yang terdapat pada bit berbentuk 5-O-beta-glukosa (Gastonyi, et al., 2001).

Menurut penelitian Cai, et al., (2001) dalam Ahmad Dhianul et al., (2007) ekstraksi betasianin dari suku *Amarantaceae* menggunakan pelarut metanol 80 % dihasilkan kisaran kadar betasianin sebesar 8 – 136 mg/100 gram.

Betasianin dapat digunakan sebagai pewarna alami. Ekstraksi betasianin dapat menggunakan pelarut akuades, etanol dan metanol (Azeredo, 2009). Adapun penelitian yang telah dilakukan oleh Castellar, et al., (2006) yaitu mengekstraksi betasianin dari buah *Opuntia* dengan menggunakan pelarut akuades dan campuran akuades : etanol hasilnya menunjukkan bahwa pelarut akuades memberikan total betasianin yang lebih tinggi daripada pelarut akuades : etanol.

Ekstraksi betalain dengan menggunakan pelarut etanol - asam klorida (9 : 1) menurut Maria mampu memberikan total betasianin yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut akuades (Azeredo, 2009). Selain itu menurut Strack, et al., (2003) ekstraksi betasianin dengan menggunakan pelarut akuades dan kondisi yang sedikit asam akan memberi kestabilan pada senyawa betasianin.

Betasianin telah diketahui mempunyai banyak manfaat dan bernilai taksonomi yang signifikan maka banyak teknik yang telah digunakan untuk mengkarakterisasi senyawa ini. Identifikasi betasianin banyak dilakukan dengan perbandingan

spektroskopi, kromatografi, sifat elektroforesis dengan standar otentik atau data sekunder dan menggunakan teknik analisis tradisional dan modern (Stintzing, et al., 2004; Cai, Sun dan Corke. 2001, Schleimann, Cai, et al., 2001) seperti kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, elektroforesis kertas, High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Liquid Chromatography - Mass Spectrometry (LC-MS), Liquid Chromatography - Mass Spectrometry (LC-MS), Electrospray Ionization tandem Mass Spectrometry (ESI-MS/MS), Nuclear Magnetic Resonance (NMR), dan LC-NMR.

Antioksidan adalah zat penghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran dinding sel, pembuluh darah, basa DNA, dan jaringan lipid sehingga menimbulkan penyakit. Antioksidan dapat menunda dan menghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan juga merusak biomolekul, seperti DNA, protein, dan lipoprotein di dalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadinya penyakit dan penyakit degenerative (Devasagayam, et al., 2004). Untuk menghindari hal tersebut, dibutuhkan antioksidan dan tambahan dari luar atau antioksidan eksogen, seperti vitamin E, vitamin C maupun berbagai jenis sayuran dan buah-buahan. Antioksidan akan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Antioksidan banyak terdapat pada buah-buahan dan sayur-sayuran. Nilai pH untuk betalain adalah pH 4 - 6 (Stinzing dan Carle, 2007). Antioksidan dari bit merah juga dipengaruhi oleh suhu dan pH (Stinzing dan Carke, 2007).

Penelitian ini, dilakukan ekstraksi betasianin dari buah bit merah. Ekstrak betasianin yang diperoleh diuji aktivitasnya sebagai antioksidan. Sedangkan untuk identifikasi jenis betasianin yang terdapat pada buah bit merah digunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR, dan HPLC.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat senyawa betasianin di dalam buah bit merah?
2. Bagaimana aktivitasnya sebagai antioksidan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui adanya senyawa betasianin di dalam buah bit merah.
2. Mengetahui aktivitasnya sebagai antioksidan.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Dapat mengetahui terdapatnya senyawa betasianin yang berpotensi sebagai antioksidan..
2. Dapat mengetahui aktivitasnya sebagai antioksidan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Bit Merah (*Beta vulgaris L*)

Bit merupakan tanaman semusim yang berbentuk rumput. Batang bit sangat pendek, hampir tidak terlihat. Akar tunggangnya tumbuh menjadi umbi. Daunnya tumbuh terkumpul pada leher akar tunggal (pangkal umbi) dan berwarna kemerahan (Steenis, 2005). Umbi berbentuk bulat atau menyerupai gasing. Akan tetapi, ada pula umbi bit berbentuk lonjong. Ujung umbi bit terdapat akar. Bunganya tersusun dalam rangkaian bunga yang bertangkai panjang banyak (racemus). Tanaman ini sulit berbunga di Indonesia. Bit banyak digemari karena rasanya enak, sedikit manis dan lunak (Sunarjono, 2004).

Bit merupakan sumber vitamin C. selain itu, bit juga banyak mengandung vitamin B dan sedikit vitamin A sehingga baik untuk kesehatan tubuh. Oleh karena itu, bit pun dianjurkan dimakan dalam jumlah yang banyak bagi penderita darah rendah. Kegunaan lain dari bit, terutama umbinya, yaitu dapat dijadikan campuran salad atau di rebus (Splittstoesser, 1984).

2.1.1 Daerah Asal dan Penyebaran dari Buah Bit

Spesies liar bit berasal dari wilayah Mediterania dan Afrika Utara dengan penyebaran ke arah timur hingga wilayah barat India dan ke arah barat sampai Kepulauan Kanari dan pantai barat Eropa yang meliputi Kepulauan Inggris dan

Denmark. Teori yang ada sekarang menunjukkan bahwa bit segar mungkin berasal dari persilangan *B. vulgaris* var. *maritime* (bit laut) dengan *B. patula*. Spesies liar sekerabatnya adalah *B. atriplicifolia* dan *B. macrocarpa*. Awalnya, bit merah mungkin adalah jenis yang terutama digunakan sebagai sayuran daun dan ketertarikan menggunakan umbinya terjadi kemudian, mungkin setelah tahun 1500.

Bit pakan ternak mungkin mulai dibudidayakan sekitar tahun 1800, dan bit gula tampaknya berasal dari populasi bit pakan ternak (Rubatzky, 1998).

2.1.2 Klasifikasi Buah Bit (*Beta vulgaris* L)

Taksonomi tumbuhan, *Beta vulgaris* L diklasifikasikan sebagai berikut (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.



Gambar 2.1 Buah Bit Merah (*Beta vulgaris L*)

2.1.3 Kandungan Gizi Buah Bit (*Beta vulgaris L*)

Buah bit memiliki kandungan yaitu :

1. Asam Folat sebesar 34 %, berfungsi untuk menumbuhkan dan mengganti sel-sel yang rusak
2. Kalium sebesar 14,8 %, berfungsi untuk memperlancar keseimbangan cairan dalam tubuh
3. Serat sebesar 13,6 %
4. Vitamin C sebesar 10,2 %, berfungsi untuk menumbuhkan jaringan dan menormalkan saluran darah
5. Magnesium sebesar 9,8 %, berfungsi untuk menjaga fungsi otot
6. Triptofan sebesar 1,4 %
7. Zat besi sebesar 7,4 %, berfungsi untuk metabolisme energi dan sistem kekebalan tubuh
8. Tembaga sebesar 6,5 %, berfungsi untuk membentuk sel darah merah
9. Fosfor sebesar 6,5 %, berfungsi untuk memperkuat tulang
10. Caumarin, berfungsi untuk mencegah tumor

11. Betasianin, berfungsi untuk mencegah kanker

Study yang dilakukan oleh peneliti dari University of Exeter's School of Sport and Health Sciences, menunjukkan bahwa segelas jus buah bit dapat membantu meningkatkan kembali stamina tubuh sebesar 16 %. Bahkan, kandungan nitrat dalam jus buah bit dapat membantu tubuh mengembalikan cadangan oksigen, karena kekurangan oksigen inilah yang membuat tubuh merasa lelah dan tidak bertenaga (Splittstoesser, 1984).

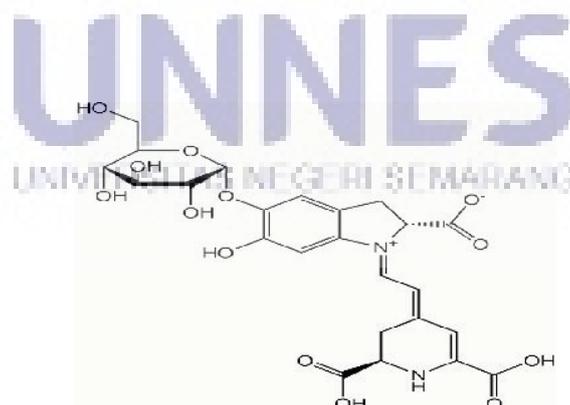
Manfaat dari jus buah bit, yaitu mampu menghancurkan sel tumor dan sel kanker, mencegah penyakit stroke dan jantung. mampu berfungsi sebagai obat hati dan kantong empedu, dan mampu menurunkan kolesterol. Membersihkan dan menetralkan racun dalam tubuh, memperkuat fungsi darah dan mengatasi anemia, memproduksi sel-sel darah merah, memperkuat sistem peredaran darah dan sistem kekebalan tubuh, mengobati infeksi dan radang, menghasilkan energi dan menyeimbangkan tubuh.

2.2. Betasianin

Betasianin merupakan turunan dari Betalain. Betalain merupakan pigmen berwarna merah-violet dan kuning-orange yang banyak terdapat pada buah, bunga, dan jaringan vegetatif (Strack, *et al.*, 2003). Betasianin adalah pigmen kelompok flavanoid yang terikat dengan gula sehingga bersifat polar, pigmen bernitrogen, dan merupakan pengganti anthocyanin pada sebagian besar family tanaman ordo

Caryophyllales, termasuk Amaranthaceae, dan bersifat mutual eksklusif dengan pigmen antosianin tidak pernah dijumpai bersama-sama pada satu tanaman (Andersen and Markham, 2006).

Betasianin adalah salah satu pewarna alami yang banyak digunakan dalam sistem pangan. Hingga saat ini pigmen betasianin yang telah diproduksi dalam skala besar hanya berasal dari buah bit (*Beta vulgaris L*). Betasianin dari buah bit (*Beta vulgaris L*) telah diketahui memiliki efek antiradikal dan aktivitas antioksidan yang tinggi (Mastuti, 2010). Warna merah buah bit segar disebabkan oleh pigmen betasianin yang mengandung nitrogen. Bit juga mengandung betaxantin, suatu pigmen berwarna kuning. Kedua pigmen ini beragam dan dapat berubah karena kondisi lingkungan. Tingkat warna merah menunjukkan bahwa kandungan betaxantinnya sedikit, warna kuning menunjukkan tidak terdapat betasianin, dan warna putih menunjukkan tidak terdapatnya kedua pigmen tersebut (Rubatzky, 1998). Menurut Girod dan Zyrd (1991) 21.187 $\mu\text{mol.g}^{-1}\text{DW}$ betasianin yang didapatkan dari buah bit.



Gambar 2.2 Struktur Betasianin secara umum

2.3 Antioksidan

Senyawa yang terdapat dalam tubuh kita disebut antioksidan yaitu senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas, seperti enzim SOD (Superoksida Dismutase), glutathione, dan katalase. Antioksidan juga dapat diperoleh dari asupan makanan yang banyak mengandung vitamin C, vitamin E dan betakaroten serta senyawa fenolik. Bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami, seperti rempah-rempah, coklat, biji-bijian, buah-buahan, sayur-sayuran seperti buah tomat, pepaya, jeruk, dan sebagainya (Prakash, 2001).

Antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas. Antioksidan akan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Antioksidan banyak terdapat pada buah - buahan dan sayur - sayuran. Nilai pH untuk betalain adalah pH 4-6 (Stinzing dan Carle, 2007). Antioksidan dari bit merah juga dipengaruhi oleh suhu dan pH (Stinzing dan Carle, 2007).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron dengan tujuan untuk mencapai kestabilan atom atau molekul. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan

berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, dan penyakit degeneratif lainnya.

Persyaratan (sesuai peraturan/undang-undang) : Antioksidan sebagai bahan tambahan pangan batas maksimum penggunaannya telah diatur oleh Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor : 772/Menkes/Per/IX/88 tertulis dalam Lampiran I, antioksidan yang diizinkan penggunaannya antara lain sama askorbat, asam eritrobat, askorbil palmitat, askrobil stearat, butil hidroksilanisol (BHA), butil hidrokinin tersier, butil hidroksitoluen, dilauril tioldipropionat, propil gallat, timah (II) klorida, alpha tokoferol, tokoferol (Wisnu Cahyadi, 2008).

2.3.1 Fungsi Antioksidan

Berkaitan dengan fungsinya, senyawa antioksidan diklasifikasikan dalam lima tipe antioksidan, yaitu:

1. *Primary antioxidants*, yaitu senyawa-senyawa fenol yang mampu memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas asam lemak. Dalam hal ini memberikan atom hidrogen yang berasal dari gugus hidroksi senyawa fenol sehingga terbentuk senyawa yang stabil. Senyawa antioksidan yang termasuk kelompok ini, misalnya BHA, BHT, PG, TBHQ, dan tokoferol.
2. *Oxygen scavengers*, yaitu senyawa-senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Dalam hal ini, senyawa tersebut akan mengadakan reaksi dengan oksigen yang berada dalam sistem sehingga jumlah

oksigen akan berkurang. Contoh dari senyawa-senyawa kelompok ini adalah vitamin C (asam askorbat), askorbilpaltinat, asam eritorbat, dan sulfit.

3. *Secondary antioxidants I*, yaitu senyawa-senyawa yang mempunyai kemampuan untuk berdekomposisi hidroperoksida menjadi produk akhir yang stabil. Tipe antioksidan ini pada umumnya digunakan untuk menstabilkan poliolefin resin. Contohnya, asam tioidipropionat dan dilauriltiopropionat.

4. *Antioxidative Enzyme I*, yaitu enzim yang berperan mencegah terbentuknya radikal bebas. Contohnya glukose oksidase, superoksidase dismutase(SOD), glutathion peroksidase, dan kalalase.

5. *Chelators sequestrants*. yaitu senyawa-senyawa yang mampu mengikat logam seperti besi dan tembaga yang mampu mengkatalis reaksi oksidasi lemak. Senyawa yang termasuk didalamnya adalah asam sitrat, asam amino, ethylenediaminetetraacetid acid (EDTA), dan fosfolipid.

2.4 Metode

2.4.1 Esktraksi

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan dua atau lebih komponen dengan menambahkan suatu pelarut yang tepat. Ekstraksi meliputi distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umum dipakai

adalah air dan pelarut organik lain seperti kloroform, eter, dan alkohol (Sudjadi, 1988).

Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi adalah:

1. Tipe persiapan sampel,
2. Waktu ekstraksi,
3. Kuantitas pelarut,
4. Suhu pelarut, dan
5. Tipe pelarut (Utami, 2009).

Ekstraksi pelarut atau disebut juga ekstraksi air merupakan metode pemisahan yang paling baik dan populer. Alasan utamanya adalah bahwa pemisahan ini dapat dilakukan baik dalam tingkat makro ataupun mikro. Seseorang tidak memerlukan alat yang khusus atau canggih kecuali corong pemisah. Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Teknik ini dapat dipergunakan untuk kegunaan preparatif, pemurnian, memperkaya, pemisahan serta analisis pada semua skala kerja (Khopkar, 2003).

Teknik ini dapat dipergunakan untuk kegunaan preparatif, pemurnian, memperkaya, pemisahan serta analisis pada semua skala kerja (Khopkar, 2003). Suatu proses ekstraksi biasanya melibatkan tahap-tahap berikut :

1. Mencampur bahan ekstraksi dengan pelarut dan membiarkannya saling berkontak, dalam hal ini terjadi perpindahan massa dengan cara difusi pada bidang antarmuka

bahan ekstraksi dan pelarut. Dengan demikian terjadi ekstraksi yang sebenarnya, yaitu pelarutan ekstrak.

2. Memisahkan larutan ekstraksi dari rafinat, kebanyakan dengan cara penjernihan atau filtrasi.

3. Mengisolasi ekstrak dari larutan ekstrak dan mendapatkan kembali pelarut, umumnya dilakukan dengan menguapkan pelarut. Dalam hal-hal tertentu larutan ekstrak dapat langsung diolah lebih lanjut atau diolah setelah dipekatkan (Hardoyo, 1995).

Metode ekstraksi padar cair, satu atau beberapa komponen yang dapat larut dipisahkan dari bahan padat dengan bantuan pelarut. Proses ini digunakan secara teknis dalam skala besar terutama dibidang industri bahan alami dan makanan, misalnya untuk memperoleh bahan-bahan aktif dari tumbuhan atau organ-organ binatang untuk keperluan farmasi, selain itu untuk memperoleh gula dari umbi, minyak dari biji-bijian dan kopi (Hardoyo, 1995).

Menurut Djarwis (2004) metode ekstraksi yang digunakan untuk mengisolasi suatu senyawa dari bahan alam tergantung pada tekstur, kandungan senyawa, dan sifat senyawa yang diisolasi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu dengan sokletasi, maserasi, dan perkolasi. Pada penelitian ini metode yang digunakan yaitu metode maserasi. Teknik ini digunakan karena kandungan senyawa organik yang ada dalam bahan cukup tinggi dan telah diketahui jenis pelarut yang dapat melarutkan senyawa yang diisolasi. Metode maserasi dapat menghindari pengaruh suhu, dimana pengaruh suhu yang tinggi memungkinkan terdegradasinya senyawa

metabolit sekunder. Sehingga metode maserasi ini sangat menguntungkan. Pemilihan pelarut yang digunakan untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut akibat kontak langsung dan waktu yang cukup lama dengan sampel.

Solven

Kriteria Solven

Kriteria solven untuk memperoleh hasil sebaik – baiknya dalam ekstraksi, kita tidak dapat menggunakan sembarang solven. Namun solven tersebut harus dipilih dengan pertimbangan sebagai berikut :

1. Mempunyai kemampuan melarutkan solute tetapi sedikit atau tidak sama sekali melarutkan diluent.
2. Mempunyai perbedaan titik didih yang cukup besar dengan solute.
3. Tidak bereaksi dengan solute maupun diluent.
4. Mempunyai kemurnian tinggi.
5. Tidak beracun.
6. Tidak meninggalkan bau.
7. Mudah direcovery.
8. Mempunyai perbedaan densitas yang tinggi dengan diluen.

Solven yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol. Etanol (disebut juga etil-alkohol atau alkohol saja), adalah alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Karena sifatnya yang tidak beracun bahan ini banyak

dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan dan minuman.

Etanol merupakan jenis pelarut polar.

- Karakteristik etanol :

1. Rumus Molekul : C_2H_5OH
2. Berat Molekul : 46,07 kg/mol
3. Grafitasi Spesifik : 0,789
4. Titik Lebur : $-112^{\circ}C$
5. Titik Didih : $78,4^{\circ}C$
6. Larut dalam air : Larut
7. Densitas : 0,7991 gram/cc
8. Temperatur Kritis : $243,1^{\circ}C$
9. Tekanan kritis : 63,1 atm

Etanol dapat digunakan untuk mengekstraksi minyak laka (CSNL) dari kulit biji jambu mete (Sudarwanto, *et al.*, 2004). Selain itu etanol juga dapat digunakan dalam alkoholisis minyak dari biji kapuk (Utami, F. N., Dewi, S. P., 1997).

2.4.2 Spektrofotometer FTIR

Senyawa organik maupun anorganik dapat dianalisis gugus fungsionalnya dengan menggunakan spektrofotometer FTIR. Analisis spektrum infra merah dapat dibagi menjadi 2 yaitu :

- a. Identifikasi dengan sidik jari

Membandingkan spektrum dengan sederet spektrum standar yang dibuat pada kondisi yang sama merupakan cara untuk membandingkan senyawa yang tidak dikenal. Senyawa-senyawa yang identik dapat memberikan spektrum yang sama. Daerah sidik jari berkisar antara $900\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$, daerah tersebut merupakan daerah yang mengandung vibrasi tertentu dan tidak dapat ditelaah (Astuti, Widi 2007).

b. Identifikasi gugus fungsional

Cara mengidentifikasi senyawa yang belum diketahui gugus fungsionalnya yaitu dengan membandingkan hasil yang diperoleh dengan tabel data korelasi spektra infra merah (Astuti, Widi 2007).

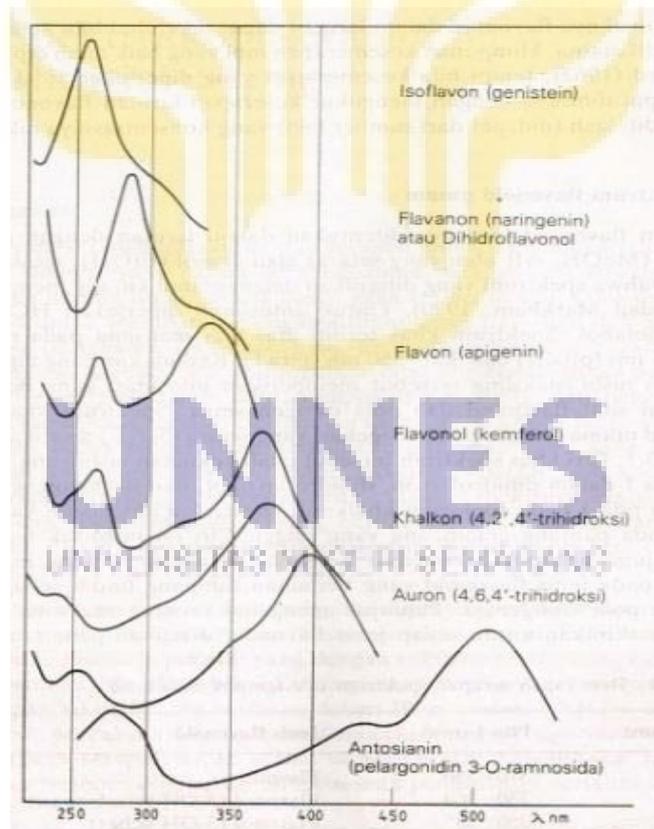
2.4.3 Spektrofotometer UV-Vis

Menurut Hendayana, sebagaimana dikutip oleh Tri Hidayah (2013), spektrofotometer digunakan untuk mengukur absorbansi suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, metode ini merupakan metode spektrofotometri. Prinsip kerja dari spektrofotometer yaitu menyerap gelombang cahaya yang dilewatkan pada suatu larutan. Spektrofotometer yang digunakan adalah visibel atau menggunakan cahaya tampak, dengan panjang gelombang berkisar antara $340\text{ nm} - 1000\text{ nm}$.

Spektroskopi serapan ultraviolet dan serapan tampak mungkin merupakan cara tunggal untuk menganalisis jenis flavanoid. Sangat sedikitnya jumlah flavanoid yang diperlukan untuk analisis lengkap merupakan keuntungan utama dari cara ini. Adapun petunjuk mengenai rentang maksima utama untuk setiap jenis flavanoid pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Rentangan serapan spektrum UV-tampak flavanoid

Pita II (nm)	Pita I (nm)	Jenis Flavanoid
250 – 280	310 – 350	Flavon
250 – 280	330 – 360	Flavonol (3-OH tersubstitusi)
250 – 280	350 – 385	Flavonol (3-OH bebas)
245 – 275	310 – 330 bahu kira-kira 320 puncak	Isoflavonol Isoflavonol (5-deoksi-6,7- dioksigenasi)
275 – 295	300 – 330 bahu	Flavonol dan dihidroflavonol
230 – 270 (Kekuatan rendah)	340 – 390	Khalkon
230 – 270 (Kekuatan rendah)	380 – 430	Auron
270 – 280	465 – 560	Antosianidin dan Antosianin



Gambar 2.3 Spektrum UV-tampak jenis flavanoid

2.4.4 HPLC

High performance liquid Chromatography (HPLC) dapat disebut juga dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). KCKT merupakan suatu metode pemisahan berdasarkan sifat fisika yang dapat digunakan sebagai uji identitas, uji kemurnian, dan penetapan kadar. Titik beratnya adalah untuk analisis suatu senyawa yang tidak mudah menguap dan tidak stabil pada suhu tinggi yang tidak dapat dianalisis dengan kromatografi gas.

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi adalah kromatografi yang dikembangkan menggunakan cairan sebagai fase fase gerak baik cairan polar ataupun non polar, dan bekerja pada tekanan tinggi. Dalam kromatografi partisi cair baik fase diam maupun fase gerak berupa cairan, pelarut yang digunakan harus tidak bercampur. Pelarut yang lebih polar biasanya digunakan dalam fasa diam, oleh karena itu sistem ini dinamakan kromatografi fase normal. Bila fase diam yang dipakai senyawa non polar, sedangkan fase geraknya polar atau terbalik dengan sistem fase normal, maka sistemnya disebut kromatografi fase.

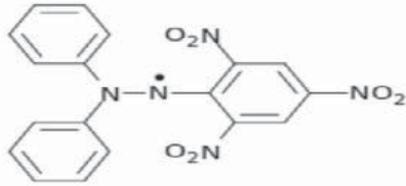
KCKT memperbolehkan penggunaan partikel yang berukuran sangat kecil untuk material terpadatkan dalam kolom yang mana akan memberi luas permukaan yang lebih besar berinteraksi antara fase diam dan molekul-molekul yang melintasinya. Hal ini memungkinkan pemisahan yang lebih baik dari komponen-komponen dalam campuran. Sampel yang akan dianalisis dijadikan dalam volume yang kecil dari fase gerak dan diubah melalui reaksi kimia oleh fase diam ketika sampel melalui kolom.

2.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Bit Merah

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul yang kecil, tetapi mampu menghambat berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi. Aktivitas antioksidan tidak dapat diukur secara langsung, melainkan melalui efek antioksidan dalam mengontrol proses oksidasi.

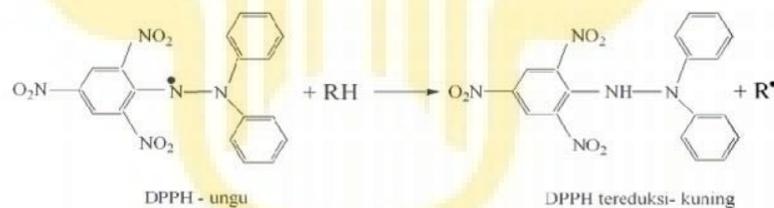
Banyak metode yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan. Namun pada penelitian ini, digunakan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Metode uji DPPH merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan untuk memperkirakan efektivitas kinerja dari substansi yang berperan sebagai antioksidan (Molyneux, 2004).

Radikal bebas yang digunakan adalah 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Radikal bebas DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan larut dalam pelarut polar yaitu metanol dan etanol. Sifat stabil radikal bebas tersebut disebabkan radikal bebas ini memiliki satu molekul yang didelokalisir dari molekul utuhnya. Delokalisasi ini akan memberikan warna gelap dengan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 517 nm. Metode DPPH ini dipilih karena metode ini sederhana, mudah, cepat peka, dan hanya memerlukan sedikit sampel (Molyneux, 2004).



Gambar 2.3 Struktur DPPH

Metode DPPH yaitu metode sederhana yang telah ditentukan untuk menentukan aktivitas antioksidan pada makanan dengan menggunakan radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazyl (DPPH). Uji DPPH adalah suatu metode kolorimetri yang cepat dan efektif untuk memperkirakan aktivitas antiradikal, selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis. Reaksi dari suatu radikal bebas (DPPH) dengan antioksidan adalah sebagai berikut :



Gambar 2.4 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan

Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas DPPH. Hal ini ditandai dengan terjadinya perubahan warna ungu menjadi kuning pucat. Hasil reaksi antara DPPH dari ungu pekat menjadi kuning akibat terjadinya resonansi struktur DPPH.

Uji aktivitas antioksidan dalam penelitian menggunakan asam askorbat sebagai kontrol positif yang telah diketahui manfaatnya sebagai antioksidan yang

sangat kuat. Menurut fungsi antioksidan, asam askorbat termasuk dalam senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi (Ery Al Ridho, 2013).

2.4.6 Persen Inhibisi dan IC₅₀

Persen inhibisi adalah perbandingan antara selisih dari absorbansi blanko dan absorbansi sampel dengan absorbansi blanko. Persen inhibisi digunakan untuk menentukan persentase hambatan dari suatu bahan yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas. Persen inhibisi dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$Pi = \frac{Ab - As}{Ab} \times 100\%$$

Keterangan :

Pi : Persen inhibisi

Ab : Absorbansi Blanko

As : Absorbansi Sampel

Nilai persen inhibisi yang telah dihitung dari setiap konsentrasi digunakan untuk perhitungan IC₅₀. IC₅₀ atau Inhibitor Concentration 50% adalah nilai konsentrasi suatu bahan untuk menghambat aktivitas DPPH sebesar 50% (Zou, *et al.*, 2004). Nilai IC₅₀ diperoleh dari suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi ekstrak uji dengan persen penangkapan radikal bebas.

Tabel 2.2 Klasifikasi Antioksidan (Molyneux, 2004).

No	IC ₅₀ (bpj)	Antioksidan
1	< 50	Sangat Kuat
2	50 – 100	Kuat
3	101 – 150	Sedang
4	151 – 200	Lemah



BAB V

PENUTUP

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa betasianin yang berpotensi sebagai antioksidan terdapat di dalam buah bit merah
2. Ekstrak etanol buah bit merah memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai.

5.2 Saran

Adapun saran yang didapat dari hasil penelitian, pembahasan, dan kesimpulan adalah sebagai berikut:

1. Ekstraksi sebaiknya dilakukan di tempat yang tidak terdapat cahaya agar pigmen tidak mudah mengalami kerusakan.
2. Pelarut yang mengandung sedikit air lebih baik digunakan untuk maserasi senyawa betasianin.
3. Sebaiknya setelah dilakukannya metode ekstraksi perlu dilakukan metode Kromatografi Kolom sebelum diuji menggunakan instrumen.

4. Perlu tersedianya senyawa standar betasianin untuk uji LC-MS untuk dapat mengetahui konsentrasi dan kadar yang lebih akurat.



Daftar Pustaka

- Andersen, Q.M., and Markham, K.R., 2006, Flavanoid; Chemistry, Biochemsitry and Application, CRC Press, USA, 2-11.
- Azeredo, H.M.C. 2009. Betalains : Properties, Sources, Application, and Stability- A Review. *International Journal of Food Science and Technology*, 44:2365-2376
- Astuti, Rosiana Widi. 2007. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid dalam Daun Kepel. Skripsi. Semarang : FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Cahyadi, Wisnu. 2008. *Analisis dan Aspek Bahan Tambahan Pangan Edisi Ke-2*. Jakarta : PT. Bumi Aksara
- Cai, Y., M. Sun and H. Corke. 2001. Identification and distribution of simple and acylated betacyanins in the Amaranaceae. *J. Agric. Food Chem*, 49: 1971-1978.
- Castellar, R., J.M. Obon, M. Alacid and J.A.F. Lopes. 2006. Color properties and stability of betacyanin from Oputia fruits. *H. Agric. Food Chem*. 51 : 2772-2776
- Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Bolor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S. & Lele, R.D., 2004, Free radicals and antioxidants in human health : current status and future prospects, *Review Article, J. Assoc. Physicians India*, 52, 794-804.

- Dhialul, Ahmad Khuluq., Simon Bambang Wijanarko., Erni Sofia Murtini. Ekstraksi dan Stabilitas Betasianin Daun Darah (*Alternanthera dentata*) (Kajian Perbandingan Pelarut Air : Etanol dan Suhu Ekstraksi). *Fakultas Teknologi Pertanian*, 8 (3): 172-181
- Djarwis, D. 2004. Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam. Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan. Kelompok Kimia Organik Bahan Alam FMIPA Andalas Padang kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia Dijen Dikti Depdiknas Jakarta.
- Farida, Anni., Rahmi Holinesti., Daimon Syukri. Identifikasi Pigmen Betasianin dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Pholyrhizus*). *Fakultas Teknik Pertanian, Universitas Andalas Padang* 147-154
- Nurhaen, Farisya, *et al.* 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Berbagai Jenis Sayuran serta Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavanoid Totalnya. *Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada* 11 (2) : 167 – 178
- Girod, P. dan J. Zryd. 1991. *Secondary metabolism in cultured red beet (Beta vulgaris l) cells : Differential regulation of betaxanthin and betacyanin biosynthesis.* *Plant Cell Tiss. Org. Cult*, 25 : 1-22
- Hardjojo, L. 1995. *Teknologi Kimia Bagian II.* Jakarta : PT. Prandnya Paramitha.

- Hidayah Tri., 2013. *Uji Stabilitas dan Antioksidan Hasil Ekstraksi Zat Warna Alami dari Kulit Buah Naga (Hylocereus undatus)*, 70:30-31
- Hendayana, Sumar. 1994. *Kimia Analitik Instrumen*. Semarang : IKIP Semarang Press
- Herbach, K.M.,F.C. Stinizing and R. Carle. 2006. Betalain stability and degradation structural and chromatic aspects. *J. Sci. of food*. Vol, 71.Nr.4.
- Mastuti., Yizhong Cai., Harold Corke. 2010. Identifikasi Pigmen Betasianin Pada Beberapa Jenis Inflorescence Celosia, *Jurnal Biologi UGM*, 669:667
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavanoid*. Bandung : ITB.
- Molyneux, P. 2004. The use of stable free radikaldiphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal Science of Technologi*, 26 (2):211-219
- Moreno, D.A., C. Garcia-Viguera, J.I. Gil and A. Gil-Izquierdo. 2008. *Betasianins in the era of global agri-food science, technology and nutritional health*. *Phytochem. Rev*, 7(2):261-280.
- Prakash A., 2001. Antioxidant Activity, *Medaltion Laboratories Analytical Progres*, Vol. 19 (2).
- Rubatzky, Vincent E., (1998), *Sayuran Dunia 2*, Penerbit ITB, Bandung.
- S. M. Khopkar. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisius

- Setyowati, Eko., et.al. 2014. *Skrinning Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (Durio zibethinus Murr.) Varietas Petruk*. Makalah dipresentasikan pada Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI, Universitas Sebelas Maret Surakarta, 21 Juni.
- Sudarwanto, H., Napitulu, P., dan Bakti, J. 2004. *Ekstraksi Minyak Laka (CSNL) dari Kulit Biji Jambu Mete dengan Solvent Ethanol*. Semarang : Universitas Diponegoro.
- Sukadana, I.M. 2010. *Aktivitas Senyawa Flavanoid dari Kulit Akar Awar-Awar*. 4 (1) : 63-67
- Sunarjono H.Hendro., (2004), *Bertanam 30 Jenis Sayur*, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- Schleimann, W., Y. Cai., T. Degenkolb, J. Schmidt dan H. Corke. 2001. *Betalains of Celosia argentea*. *Phytochem*, 58:159-165.
- Splittstoesser, W. E., 1984. *Vegetable Growing Handbook*. Van Nostrand Reinhold Company. New York
- Steenis. 2005. *Buah bit (Beta vulgaris L)*, Penerbit PT Gramedia Pustaka Umum, Jakarta.
- Stintzing, F.C., J. Conrad, I. Klaiber, U. Beifuss, R. Carle. 2004. *Structural investigation on betacyanin pigments by LC NMR and 2D spectroscopy*. *Phytochem*, 65:415-422.

Stintzing, F.C., Herbach, M. R. Mosshammer, F. Kugler, and R. Carle. 2008.

Betalain Pigments and Color Quality.

Stinzing. F. C. dan Carle. 2007. *Betalains – emerging prospects for food scientists.*

Tends Food Sci. Techno., 18 : 514-525

Strack, D., Vogt, T.,and Schliemann, W. 2003. *Recent advances in betalain*

research. Phytochemistry, 62 : 247–269.

Tim KBK Bioorganik. 2014. *Petunjuk Praktikum Kimia Organik. Semarang :*

UNNES Press

Underwood, A. L. dan R.A. Day Jr. 1989. *Analisis Kimia Kuantitatif*

(Diterjemahkan oleh R. Soendoro). Jakarta

Utami, F. N. dan Dewi, S. P. 1997. *Alkoholisis Minyak Biji Kapuk dengan*

Etanol. Laporan Penelitian Universitas Diponegoro Semarang.

Wirakusumah, Emma. 2007. *Cantik Awet Muda Dengan Buah Sayur dan Herbal.*

Jakarta: Penebar Swadaya

Zou,Y., Lu,Y. and Wei,D., 2004, *Antioxidant Activity of Flavonoid Rich Extract of*

Hypericum perforatum L. in Vitro, J.Agric.Food Chem., 52, 5032-

5039

UNNES
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG