

EKSTRAKSI PIGMEN DARI BIJI ANNATTO (*Bixa orellana* Linn) MENGGUNAKAN PELARUT ORGANIK: PENGARUH POLARITAS PELARUT DAN SUHU EKSTRAKSI

Pigment Extraction from Annatto Bixa orellana Linn Seed using Organic Solvents: The Effect of Solvents Polarity and Extraction Temperature

Ardiyanto Pranata¹, Murdijati Gardjito², dan Pudji Hastuti²

*Program Studi Teknologi Hasil Perkebunan
Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada*

ABSTRACT

This experiment was designed to study the different effect of the various solvents and extraction temperature against yield as well as total pigment collected and the total extracted bixin from annatto seed. Pigment extraction was done utilizing chloroform, acetone and ethanol as solvents, at temperature of 30°C, 40°C, and 50°C on local annatto seed, which were dried by cabinet dryer and freeze dryer and on untreated imported annatto seed. The resulted extraction substance, which was dried by rotary vacuum evaporator, was then analysed for its yield, total pigment and total bixin.

In this experiment, variation in solvent and temperature had no notable effect on the yield of imported annatto seed. However, cabinet dried local annatto (LCD) seed and freeze-dried local annatto (LFD) seed yield increased as temperature raised and solvent polarity reduced. On all three LCD, LFD, and imported annatto seed, the varieties in solvent and temperature, was affecting total pigment and total bixin of the seed dried weight. When utilizing the same solvent, it was observed that as extraction temperature raised, yield was increasing. However, total pigment and total bixin was increased, was depending upon the solvent and the type of annatto seed (local or import), but not on the rising temperature. At the same temperature, as the solvent polarity increased, the less total pigment and total bixin recovered.

From this experiment, it was concluded that the best organic solvent was chloroform. The best yield (14,22%) was of imported annatto seed treated at 50°C. The highest recovered total pigment (4,53 g/100g) was found on freeze-dried local annatto seed treated at 50°C. And the highest acquired total bixin (2,49g/100g) was found on freeze-dried local annatto seed treated at 30°C. Thus, extraction of freeze-dried local annatto seed was obtained the highest recovered total pigment and total bixin, but had the lowest yield.

Keywords: *Annatto (Bixa orellana) – extraction – yield – total pigment – total bixin.*

1) "Ardiyanto Batik", Jalan Magelang Km 5.8 Yogyakarta

2) Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

PENGANTAR

Komponen utama pigmen annatto adalah biksin yang merupakan tipe karotenoid, mempunyai sifat peka terhadap cahaya, tidak stabil terhadap lingkungan asam, basa dan panas, serta larut dalam pelarut organik (de Man, 1989). Biksin tidak larut dalam air, larut dalam etanol dan aseton serta agak larut dalam eter. Karena itu pemilihan pelarut sangat menentukan hasil ekstraksi serta kualitas zat pewarna yang diperoleh. Menurut Hallagan *et al.*, (1995) *cit. National Toxicology Program Summary of Data for Chemical Selection Bixin*, (Anonim, 1997b), pigmen annatto berwarna merah-oranye yang dihasilkan dari ekstraksi biji *Bixa orellana*.

Studi mengenai mekanisme degradasi biksin karena pemanasan dilakukan oleh Scotter 1995, hasilnya menunjukkan bahwa kemungkinan terbentuknya polyene type C₁₇ mirip dengan degradasi menjadi rantai yang lebih pendek disertai dengan timbulnya m-xylene atau toluene. Senyawa hidrokarbon aromatik sederhana seperti benzene, toluene, etil benzene, dan xylene bersifat kontaminan lingkungan. Data-data hasil penelitian tertentu menunjukkan bahwa benzene bersifat genotoksik dan dapat menyebabkan leukimia pada manusia. Oleh karena itu pada proses ekstraksi dianjurkan penggunaan suhu dibawah 70°C.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dalam beberapa formulasi annatto terdapat m-xylene sampai 200 mg/kg. Jika kandungan annatto dalam formulasi pangan 2500 mg/kg, maka konsentrasi m-xylene dalam produk pangan adalah $200/2500 = 0,08$ milligram, yang artinya setiap milligram annatto yang ditambahkan pada tiap kilogram bahan makanan mengandung 0.08 mg m-xylene. Apabila dikaitkan dengan batas toleransi konsumsi per hari yang diperbolehkan berdasarkan MAFF, 1999 (Scotter *et al.*, 2000), yaitu sebesar 5 mikrogram/orang/hari, maka konsumsi produk makanan yang mengandung annatto dalam jumlah wajar bisa dianggap aman.

Ekstraksi annatto dengan pelarut air telah dilakukan. Penelitian oleh Pranata (2000) dengan menggunakan pelarut air pada biji annatto dengan perbandingan bahan:air = 1:10 yang digunakan sebagai pewarna kain katun dan sutera menunjukkan hasil pewarnaan tidak luntur pada kain sutera. Ekstraksi menggunakan pelarut organik juga telah dilakukan oleh Reith dan Giellen (1971), namun sampai saat ini belum ada data yang disusun secara sistematis mengenai kaitan antara jenis pelarut organik dengan hasil ekstraksi baik kuantitas maupun kualitasnya dari berbagai jenis biji annatto. Jenis pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloroform, aseton dan etanol. Ketiga jenis pelarut

tersebut mempunyai titik didih dan polaritas yang berbeda-beda. Tingkat polaritas pelarut tersebut berturut-turut mulai dari etanol, aseton dan kloroform (Adnan, 1997), sedangkan titik didihnya menurun berturut-turut dari etano, kloroform dan aseton (Paquet, 1997). Sedangkan jenis biji annatto yang digunakan adalah biji annatto lokal dan impor. Sejauh ini belum ada penelitian yang mengungkapkan ekstraksi pigmen dan kandungan biksin biji annatto lokal yang dibandingkan dengan biji impor.

Perlu dilakukan penelitian cara ekstraksi pigmen agar diperoleh jumlah dan sifat ekstrak yang sesuai dengan penggunaannya. Bentuk bubuk lebih mudah digunakan dan kualitas warnanya tidak jauh berbeda dari yang segar. Untuk keperluan penyediaan zat warna dalam bentuk bubuk tersebut perlu diketahui pula cara-cara ekstraksi dan sifat-sifat ekstraknya. Pembuatan produk annatto dalam bentuk bubuk pada prinsipnya terdiri atas tiga tahap yaitu perlakuan pendahuluan, ekstraksi dengan pelarut kemudian dilakukan pengeringan (Anonim, 1997c)

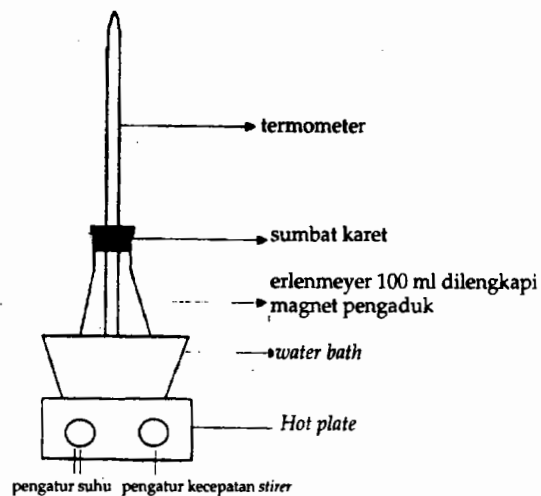
Pada dasarnya penelitian ini untuk menentukan cara ekstraksi pigmen biji annatto guna pembuatan sediaan zat warna dalam bentuk serbuk. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut dan suhu ekstraksi terhadap jumlah bahan terekstrak, total pigmen dan total biksin serta menentukan cara preparasi serbuk pewarna annatto dari biji. Dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi pengembangan ekstraksi zat warna yang menghasilkan kualitas dan kuantitas tertentu serta memperluas dan melengkapi informasi tentang cara-cara ekstraksi pewarna dari biji annatto.

CARA PENELITIAN

Biji annatto kering (import) diperoleh dari *General Bailey Homestead Farm, 340 Spier Falls Road, Greenfield Center, NY 12833-2005*, biji annatto basah lokal diperoleh dari kebun di Tridadi Sleman dan selanjutnya dikeringkan dengan *freeze dryer* dan *cabinet dryer*. Tidak dilakukan preparasi terhadap biji annatto impor karena kondisinya sudah kering bersih dan seragam. Bahan kimia untuk analisa dan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah kloroform, aseton dan etanol, asam asetat, sikloheksan kualitas p.a. standar dengan merek dagang Merck dan larutan standar annatto A-4000-OSS dari Chr Hansen, 10-12 Boge Alle., DK-2970 Horsholm, Denmark.

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan seperangkat alat seperti terlihat pada Gambar 1. Hasil ekstraksi dikeringkan menggunakan

rotary vacuum evaporator pada suhu 40°C dan tekanan 474 mmHg untuk kloroform, 556 mmHg untuk aseton dan 175 mmHg untuk etanol.



Gambar 1. Skema alat ekstraksi

Preparasi ekstrak pigmen annatto. Dalam penelitian ini digunakan tiga macam biji annatto. Biji annatto import tidak dilakukan preparasi karena kondisinya sudah kering, seragam dan bersih. Biji annatto lokal dilakukan preparasi yaitu pembersihan, sortasi dan pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan cabinet dryer dengan suhu 50°C selama 3 hari dan dengan freeze dryer selama 24 jam, pada suhu -40°C dengan tekanan 1/10 atm.

Ekstraksi. Pada penelitian ini biji annatto diekstraksi menurut diagram alir penelitian pada Gambar 2.

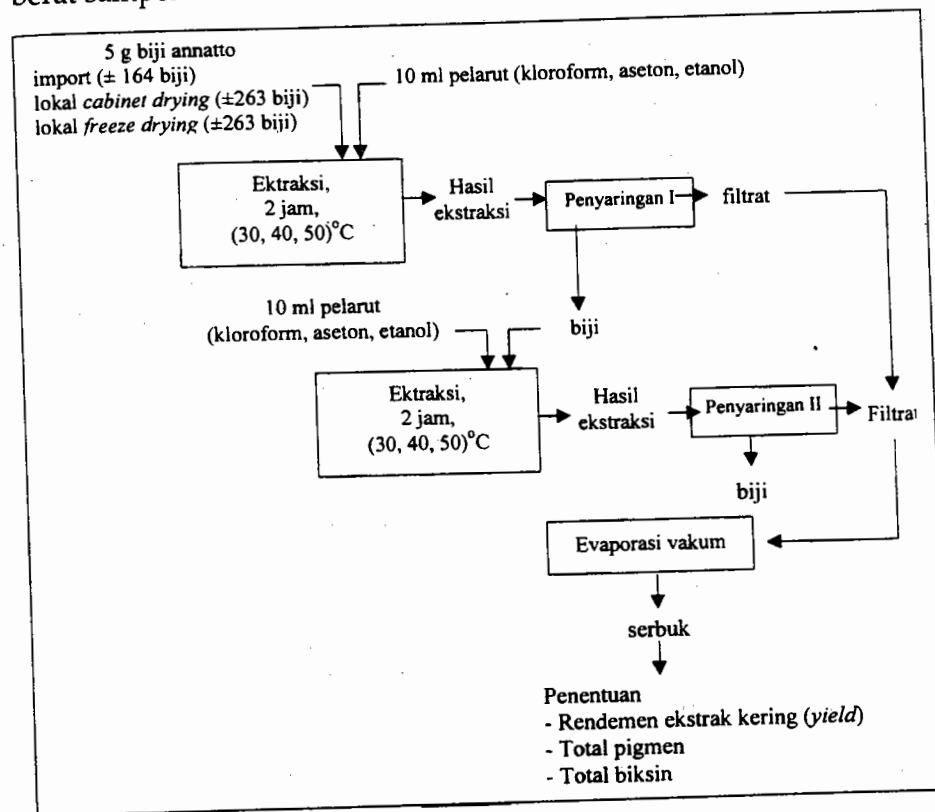
Penentuan rendemen ekstrak annatto. Rendemen ekstrak annatto merupakan perbandingan berat ekstrak kering annatto dengan berat biji kering annatto dalam g/100 g biji (DB).

Penentuan total pigmen (modifikasi Mc Keown dan Mark, 1962) dilakukan sesuai Gambar 3. Perhitungan total pigmen menggunakan rumus :

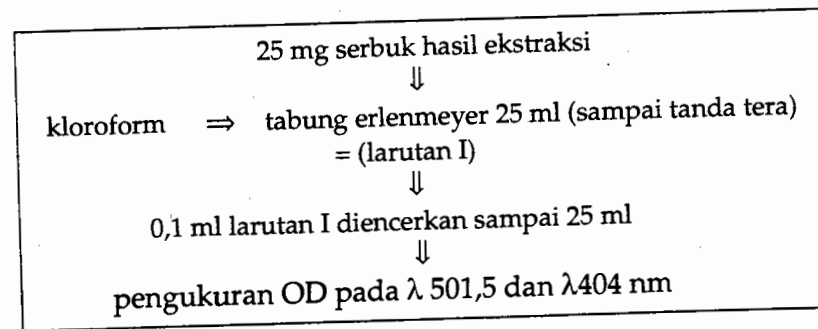
$$[A_{501,5 \max} + A_{404} - 0,256 (A_{501,5})] / 282,6 \times \text{vol} / 1000 \times (100 / \text{berat sampel}) \text{ g} / 100 \text{g}$$

- Keterangan:
- $A_{501,5}$ = absorbansi pada (maksimum hasil scanning
 - A_{404} = absorbansi pada $\lambda = 404 \text{ nm}$
 - $0,256$ = konstanta absortifitas pada $\lambda 404 /$ absortifitas pada $\lambda 501$

282,6 = absortifitas molar biksin pada $\lambda 501$
 vol = volume larutan pigmen yang akan diukur
 berat sampel = berat serbuk



Gambar 2. Diagram alir penelitian



Gambar 3. Diagram alir penentuan total pigmen

Penentuan Biksin (modifikasi Metode Reith dan Geilen, 1971). Biksin diisolasi menggunakan kromatografi kertas dengan kertas kromatografi

Whatman no. 1 ukuran (20x20) cm, eluen sikloheksan: kloroform: asam astetat (65:5:1) dan bejana pengembang (28x10x24) cm selama 100 menit sesuai diagram alir pada Gambar 4. Kandungan biksin dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$(A_{504,5 \text{ max}} / 282,6) \times (\text{vol pelarut} / \text{vol. spot}) \times (\text{vol. akhir} / 1000) \times (100 / \text{berat sampel}) \text{ g} / 100\text{g}$$

Keterangan:

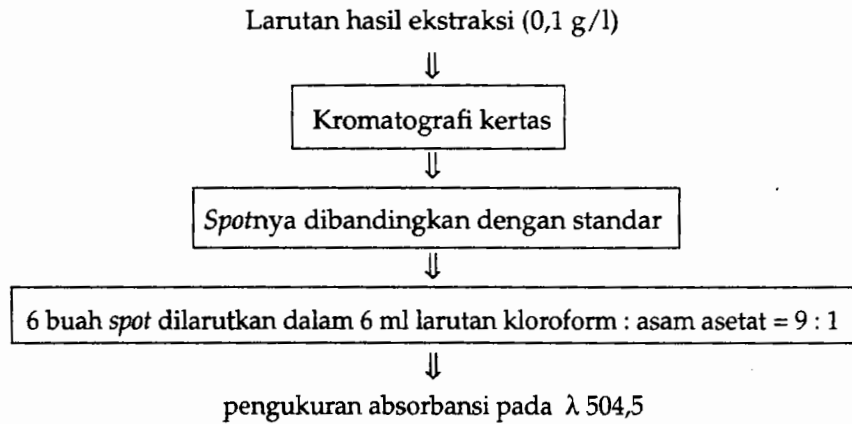
$A_{504,5}$ = absorbansi pada λ 504,5

282,6 = absortivitas molar biksin pada λ 501

vol. pelarut = volume pelarut untuk melarutkan serbuk (10 ml)

vol. spot = 6 spot @ 10 μ l = 60 μ l = 0,06 ml

vol. akhir = 6 spot hasil pengembangan dilarutkan dalam 6 ml campuran kloroform, asam asetat (9:1)



Gambar 4. Diagram alir penentuan biksin

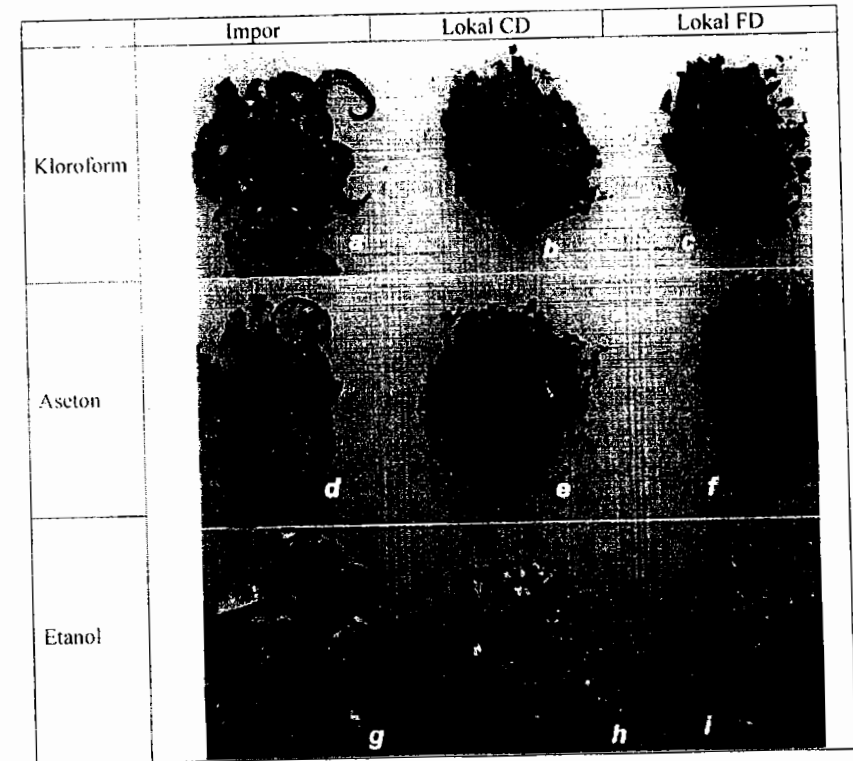
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan visual hasil ekstraksi pigmen annatto

Secara visual, hasil ekstraksi sebelum dievaporasi menunjukkan perbedaan warna untuk setiap pelarut yang berbeda. Hasil ekstraksi dengan pelarut kloroform menghasilkan penampakan warna merah gelap, hasil ekstraksi dengan pelarut aseton warnanya lebih terang, sedangkan hasil ekstraksi dengan etanol warnanya cenderung merah oranye. Namun pada perlakuan suhu yang berbeda, memberikan penampakan warna yang relatif sama.

Proses evaporasi ekstrak bertujuan untuk menguapkan pelarut

yang digunakan pada tahap ekstraksi. Proses evaporasi dilakukan pada kondisi vakum. Hasilnya terlihat pada Gambar 5. Pada pengamatan ekstrak kering annatto lokal diperoleh hasil evaporasi berbentuk granula, sedangkan pada annatto impor diperoleh hasil evaporasi yang kenampakannya berbeda yaitu berbentuk serutan seperti terlihat pada Gambar 5 (a, d, g). Perbedaan ini, kemungkinan disebabkan adanya tambahan zat perekat dan penstabil pada biji annatto impor sehingga antara partikel satu dengan yang lain pada ekstrak annatto import saling bergandengan yang mengakibatkan berbentuk serutan dengan kadar air rata-rata=6,89% wb.



Gambar 5. Pengamatan Visual Ekstrak Pigmen Annatto

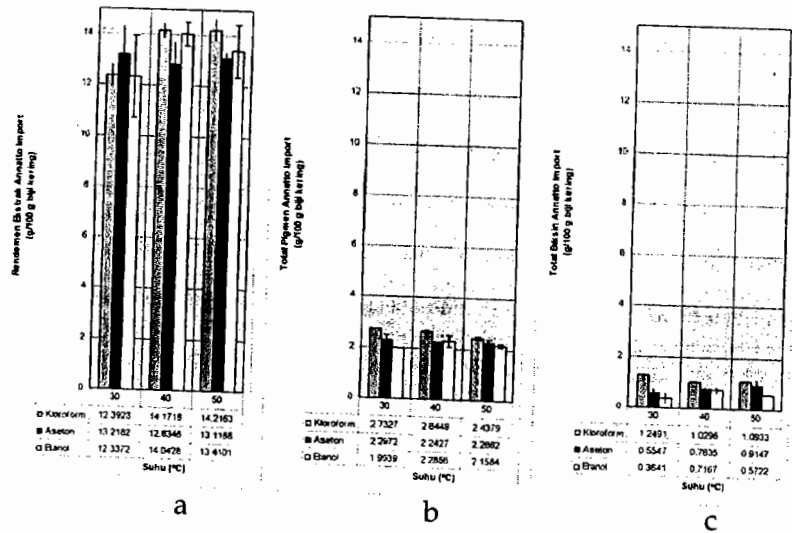
Nilai L ekstrak biji annatto impor berkisar 41,31-46,20, ekstrak biji annatto lokal CD 43,01-47,07, dan ekstrak biji annatto lokal FD 40,39-46,15, makin besar nilai L menunjukkan warna merah yang makin cerah.

Ekstrak Biji Annatto Impor

Rendemen ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi biji annatto impor dengan menggunakan pelarut kloroform, aseton dan etanol pada suhu

Gambar 6a. Dari gambar tersebut nampak bahwa rendemen ekstrak pigmen annatto impor memiliki nilai yang hampir sama. Hal ini dibuktikan dari hasil analisa statistik yang menunjukkan bahwa perlakuan suhu dan pelarut tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen ekstrak pigmen annatto impor. Hal ini kemungkinan disebabkan adanya lapisan pelindung/penstabil pada annatto impor, sehingga tidak berpengaruh terhadap hasil ekstraksi dengan berbagai pelarut tersebut.

Total pigmen annatto adalah jumlah seluruh pigmen yang ada dalam selaput yang menyelubungi biji annatto. Pigmen ini adalah bagian dari *crude product* ekstrak biji annatto dan terdiri dari biksin dan isomernya serta pigmen kuning (Torreblanca, 1983, Anonim, 2002). Total pigmen annatto impor hasil ekstraksi dengan kloroform, aseton dan etanol pada suhu 30, 40 dan 50°C ditampilkan pada Gambar 6b, yang memperlihatkan bahwa total pigmen annatto impor jumlahnya berbeda antara perlakuan yang satu dengan lainnya. Hal ini diperkuat dengan hasil analisa statistik yang menunjukkan bahwa perlakuan suhu dan jenis pelarut berpengaruh terhadap total pigmen. Pada suhu yang sama, makin polar pelarut yang digunakan makin sedikit total pigmen yang diperoleh, karena sebagian besar dari pigmen yang ada dalam annatto bersifat nonpolar (Anonim, 1997b). Pada jenis pelarut yang sama, makin tinggi suhu ekstraksi makin sedikit total pigmen yang dihasilkan, karena makin tinggi suhu, kemungkinan makin banyak pigmen yang mengalami degradasi termal. (Preston dan Rickard, 1980, Ahmed, *et al.*, 2002).



Gambar 6. Hasil ekstraksi biji annatto import menggunakan kloroform, aseton, etanol pada suhu 30, 40, 50°C. (a). Rendemen, (b). Total pigmen dan (c). Total biksin.

Dari hasil penelitian ini, total pigmen annatto impor terbanyak diperoleh dengan pelarut kloroform pada suhu 30°C dan paling sedikit diperoleh dengan pelarut etanol pada suhu 30°C. Hal ini sesuai dengan teori: *like dissolves like* yang menyatakan bahwa pelarut non-polar akan melarutkan senyawa yang non-polar (Adnan, 1997).

Kandungan biksin berkisar 2,5-3% dari berat biji annatto (Anonim, 1997b). Pada penelitian ini diperoleh total biksin biji annatto impor berkisar 0,36-1,25% (db) (Gambar 6c). Pada suhu yang sama, makin polar pelarut yang digunakan, total biksin yang diperoleh makin sedikit. Menurut Cusvinera *et al.*, (2002), biksin yang merupakan bagian terbesar pigmen annatto diklasifikasikan sebagai karotenoid yang bersifat larut dalam lemak (bersifat non polar). Kloroform termasuk golongan pelarut non-polar, aseton termasuk pelarut semi-polar dan etanol termasuk pelarut polar (Sastrohamidjojo, 2001), sehingga kloroform menghasilkan total biksin paling banyak

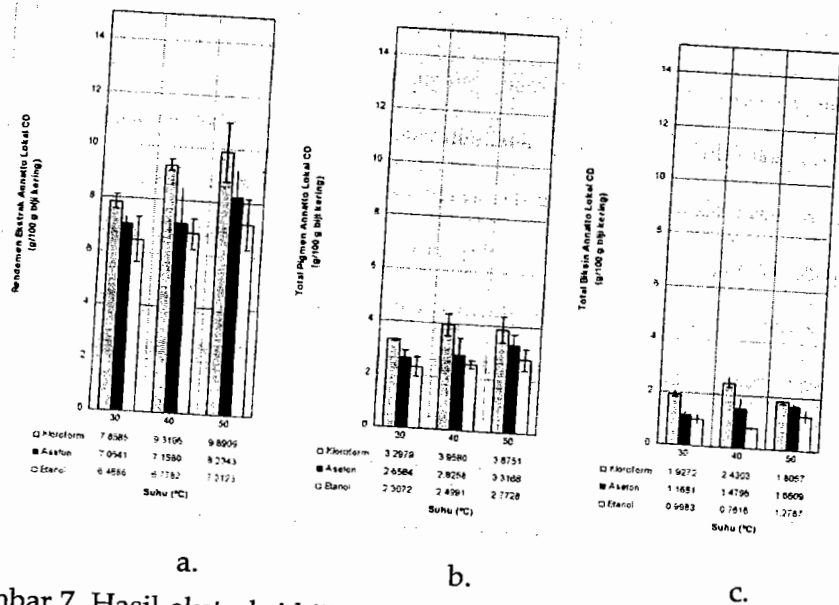
Pada pelarut yang sama, makin tinggi suhu ekstraksi, total biksin yang diperoleh makin rendah. Khususnya nampak pada hasil ekstraksi dengan kloroform. Hal ini karena makin tinggi suhu kemungkinan kerusakan biksin makin besar (Preston dan Rickard, 1980, Ahmed, *et al.*, 2002).

Ekstrak Biji Annatto Lokal CD

Rendemen ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi biji annatto lokal CD menggunakan kloroform, aseton dan etanol pada suhu 30, 40 dan 50°C, berkisar antara 6,5-9,9 g/100 g biji kering, seperti terlihat pada Gambar 7a.

Pada annatto lokal CD, jenis pelarut dan perlakuan suhu ekstraksi berpengaruh terhadap rendemen ekstrak. Pada suhu yang sama, makin polar pelarut yang digunakan menghasilkan rendemen yang makin kecil, hal ini disebabkan sifat biksin yang lebih mudah larut dalam pelarut yang non polar. Tingkat polaritas pelarut yang digunakan dalam penelitian ini berturut-turut dari yang paling polar adalah etanol, aseton dan kloroform dengan konstanta dielektrika berturut-turut 24,3, 20,7 dan 4,806 (Adnan, 1997).

Pada jenis pelarut yang sama, makin tinggi suhu menghasilkan rendemen yang makin banyak. Hal ini disebabkan makin tinggi suhu kemampuan pelarut mengekstraksi makin meningkat, dengan batasan suhu dibawah titik didih pelarut. Menurut Earle (1983) dan Brady dan Humiston (1986) tingkat kelarutan suatu senyawa akan meningkat sesuai dengan kenaikan suhu.



Gambar 7. Hasil ekstraksi biji annatto lokal CD menggunakan kloroform, aseton, etanol pada suhu 30, 40, 50°C. (a). rendemen, (b). total pigmen dan (c). total biksin.

Dari Gambar 7b terlihat bahwa total pigmen annatto lokal CD jumlahnya berbeda antara perlakuan yang satu dengan lainnya. Hal ini diperkuat dengan hasil analisa statistik yang menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut berpengaruh terhadap total pigmen biji annatto lokal CD.

Seperti halnya annatto impor, pada suhu yang sama, makin polar pelarut yang digunakan makin sedikit total pigmen yang diperoleh, sedangkan pada jenis pelarut yang sama, perlakuan suhu tidak berpengaruh terhadap total pigmen, karena pada penelitian kami, pengeringan menggunakan cabinet dryer membutuhkan waktu yang lebih lama dan dalam kondisi yang tertutup tetapi dialiri udara sehingga pigmen banyak mengalami oksidasi dan kerusakan. Selain itu kemungkinan disebabkan pengeringan dilakukan pada suhu 50°C, sehingga ekstraksi pigmen yang dilakukan pada suhu yang berbeda dibawah 50°C tidak berpengaruh, menghasilkan total pigmen yang hampir sama. Menurut Isaac dan Pettenden (1989), untuk mempertahankan warna pada pigmen annatto harus menghindari cahaya, panas, asam, basa, oksigen dan peroksida selama penanganan zat warna tersebut.

Total pigmen annatto lokal CD terbanyak diperoleh dengan pelarut kloroform seperti pada annatto impor namun pada suhu yang berbeda. Sedangkan total pigmen yang paling sedikit diperoleh dengan pelarut etanol.

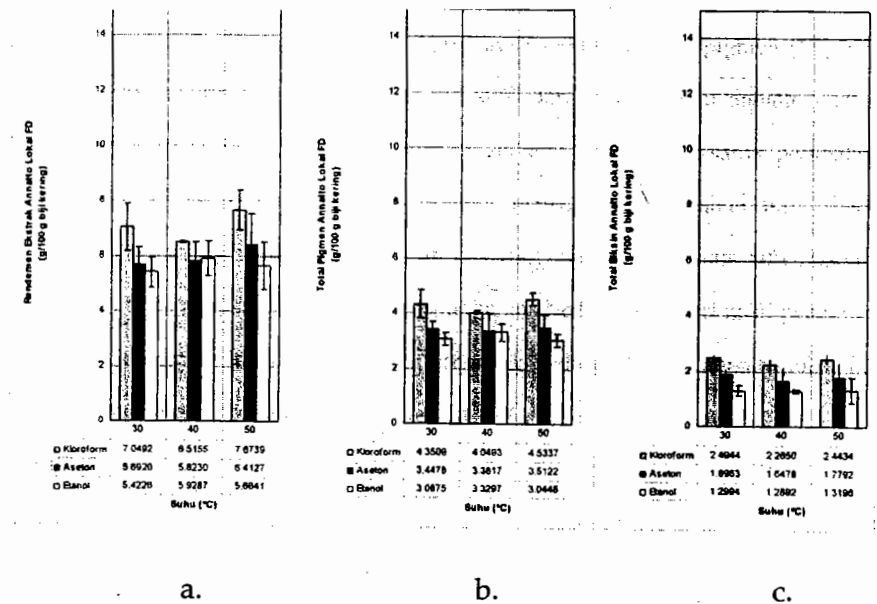
Total biksin

Dari Gambar 7c. terlihat bahwa total biksin annatto lokal CD jumlahnya berbeda antara perlakuan yang satu dengan lainnya. Hal ini diperkuat dengan hasil analisa statistik yang menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut berpengaruh terhadap total biksin biji annatto lokal CD.

Seperti annatto impor, pada suhu yang sama, makin polar pelarut yang digunakan, total biksin yang diperoleh makin rendah. Sedangkan pada pelarut yang sama, perlakuan suhu ekstraksi tidak berpengaruh terhadap total biksin seperti halnya pada pengamatan total pigmen biji annatto lokal CD. Total biksin yang terbanyak diperoleh dengan pelarut kloroform pada suhu 40°C.

Ekstrak Biji Annatto Lokal FD

Rendemen ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi biji annatto lokal FD dengan menggunakan kloroform, aseton dan etanol pada suhu 30, 40, 50°C, berkisar antara 5,5-7,5 g/100 g biji kering, seperti terlihat pada Gambar 8a.



Gambar 8. Hasil ekstraksi biji annatto lokal FD menggunakan kloroform, aseton, etanol pada suhu 30, 40, 50°C. (a). rendemen, (b). total pigmen dan (c). total biksin.

Analisa statistik menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut dan suhu ekstraksi berpengaruh terhadap rendemen. Seperti halnya annatto lokal CD, pada suhu yang sama, makin polar pelarut yang digunakan menghasilkan rendemen yang makin kecil. Demikian juga pada jenis pelarut yang sama, makin tinggi suhu menghasilkan rendemen yang makin banyak.

Dari Gambar 8b. terlihat bahwa total pigmen annatto lokal FD jumlahnya berbeda antara perlakuan yang satu dengan lainnya. Hal ini diperkuat oleh hasil analisa statistik yang menunjukkan bahwa perlakuan suhu dan jenis pelarut memberikan hasil yang berbeda nyata.

Pada suhu yang sama, makin polar pelarut yang digunakan makin sedikit total pigmen yang diperoleh, karena sebagian besar pigmen yang ada dalam annatto bersifat nonpolar (70-80% dari total pigmen annatto adalah biksin. (Anonim, 1997b)) Sedangkan pada jenis pelarut yang sama, perubahan suhu ekstraksi berakibat total pigmen mengalami perubahan juga. Total pigmen paling sedikit pada suhu 40°C, paling banyak pada suhu 50°C, namun dari hasil analisa statistik tidak menunjukkan beda nyata. Dari hasil penelitian ini, diperoleh hasil total pigmen terbanyak pada perlakuan annatto lokal FD menggunakan pelarut kloroform, suhu 50°C.

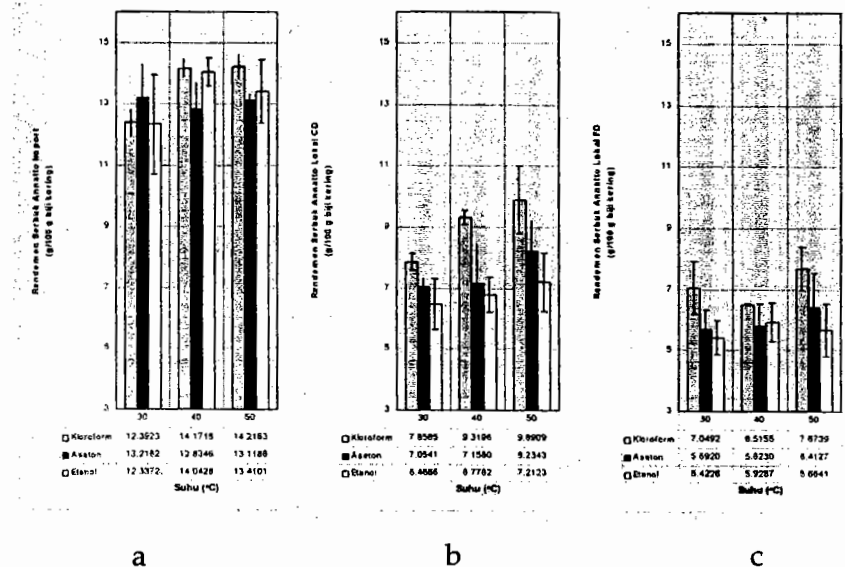
Dari Gambar 8c. terlihat bahwa total biksin annatto lokal FD jumlahnya berbeda antara perlakuan yang satu dengan lainnya. Hal ini diperkuat oleh hasil analisa statistik yang menunjukkan bahwa perlakuan jenis pelarut berpengaruh terhadap total biksin.

Pada suhu yang sama, semakin polar pelarut yang digunakan, total biksin yang diperoleh semakin rendah. Sedangkan pada pelarut yang sama, semakin tinggi suhu ekstraksi mengakibatkan penurunan total biksin namun tidak terdapat perbedaan yang nyata. Total biksin yang terbanyak diperoleh dengan pelarut kloroform pada suhu 30°C.

Perbandingan Ekstrak Annatto Impor, Lokal CD dan Lokal FD

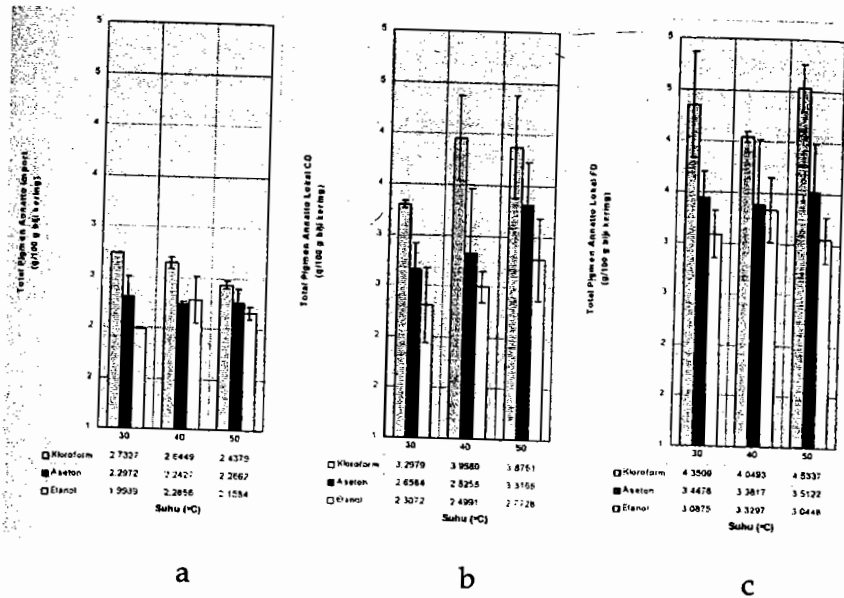
Pada penelitian ini diperoleh rendemen ekstrak annatto impor berkisar antara 12,34 - 14,22 g/100 g biji kering, yang merupakan rendemen tertinggi dibanding dengan annatto lokal CD dan annatto lokal FD. Hal ini disebabkan pada ekstrak biji annatto impor kemungkinan terikut komponen lain selain pigmen, sehingga memberikan kenampakan seperti serutan (pasta). Pada annatto lokal CD rendemen ekstrak berkisar 6,47 - 9,89 g/100 g biji kering, dan pada annatto lokal FD berkisar 5,42 - 7,67 g/100 g biji kering.

Dari Gambar 9b. terlihat bahwa total pigmen yang terekstrak paling banyak berturut-turut mulai dari annatto lokal FD, annatto lokal CD dan annatto impor. Total pigmen annatto lokal FD lebih banyak dari pada annatto lokal CD karena pengeringan menggunakan *freeze dryer* bisa mencegah terjadinya oksidasi dan kontaminasi yang mengakibatkan kerusakan pigmen seperti yang terjadi pada pengeringan dengan *cabinet dryer*. Hal ini didukung oleh penelitian Britton et al. (1995) yang menyatakan bahwa *freeze drying* merupakan metode penghilangan air yang sesuai karena dapat mempertahankan sifat kimia karotenoid pada bahan sehingga kerusakan dapat dicegah.

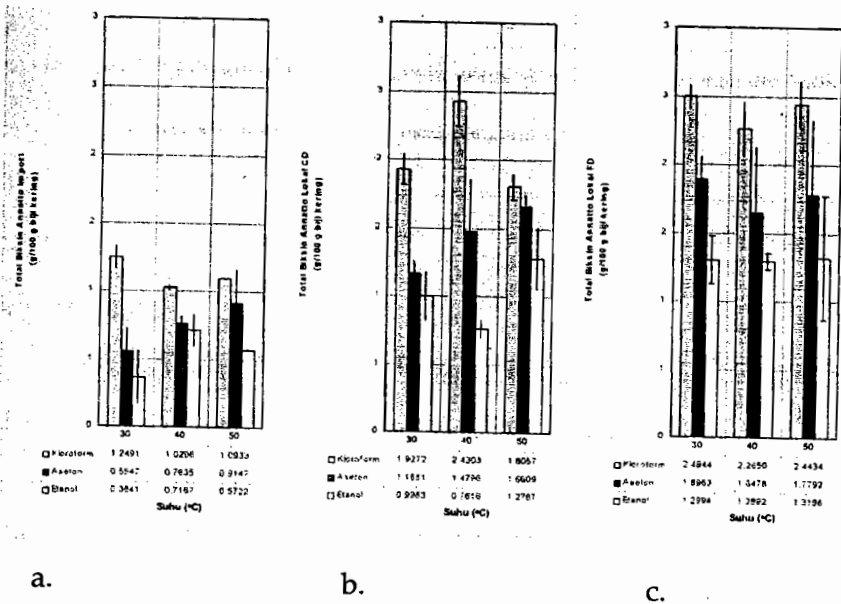


Gambar 9. Rendemen ekstrak biji annatto menggunakan kloroform, aseton, etanol pada suhu 30, 40, 50°C. (a).biji impor (b). biji lokal CD (c). biji lokal FD.

Hasil ekstraksi annatto impor berbentuk serutan (pasta) mungkin disebabkan adanya zat perekat sehingga massanya lebih berat dibandingkan dengan hasil ekstraksi annatto lokal yang berbentuk serbuk. Pada annatto impor, total pigmen yang diperoleh paling sedikit karena annatto ini didatangkan dari New York dengan lama waktu pengiriman lebih dari 3 bulan sehingga kemungkinan banyak pigmen yang mengalami kerusakan, seperti pada pengamatan total pigmen annatto impor.



Gambar 10. Total pigmen ekstrak biji annatto menggunakan kloroform, aseton, etanol pada suhu 30, 40, 50°C. (a). biji impor (b). biji lokal CD (c). biji lokal FD.



Gambar 11. Total bixin ekstrak biji annatto menggunakan kloroform, aseton, etanol pada suhu 30, 40, 50°C. (a). biji impor (b). biji lokal CD (c). biji lokal FD.

Dari Gambar 11 terlihat bahwa total bixin yang terekstrak paling banyak berturut-turut mulai dari annatto lokal FD, annatto lokal CD dan annatto impor. Total bixin annatto lokal FD lebih banyak dari pada annatto lokal CD karena pada *freeze drying* tidak terjadi kerusakan pigmen, seperti halnya pada pengamatan total pigmen.

Disamping itu suhu pengeringan dengan *freeze dryer* relatif lebih rendah dibanding dengan *cabinet dryer*, sehingga kerusakan bixin akibat pemanasan menjadi lebih kecil.

Kadar bixin yang diperoleh pada penelitian ini berkisar 18,2-45,7% dari total pigmen pada annatto impor. Sedangkan pada annatto lokal CD, kadar bixinnya berkisar 30,6-61,4% dari total pigmen dan pada annatto lokal FD kadar bixinnya berkisar 38,8-57,8% dari total pigmen. Menurut Mercadante *et al.* (1997a dan b) dan Anonim, (1997c), kadar bixin berkisar antara 70-80% dari total pigmen annatto. Sedangkan menurut Reith dan Giellen (1971), kadar bixin antara 16-78% dari total pigmen.

Berdasarkan hasil penelitian ini ternyata kadar bixin biji annatto lokal dua kali lebih besar dibandingkan biji impor sehingga apabila akan diproduksi ekstrak pigmen annatto dari biji lokal, sangat menguntungkan.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa jenis pelarut dan suhu ekstraksi berpengaruh terhadap rendemen ekstrak (kecuali pada annatto impor), total pigmen dan total bixin. Pada suhu yang sama, makin polar pelarut yang digunakan makin sedikit rendemen ekstrak, total pigmen serta total bixin yang diperoleh. Pada jenis pelarut yang sama, makin tinggi suhu ekstraksi, makin banyak rendemen yang diperoleh, sedangkan pada total pigmen dan total bixin, makin tinggi suhu tidak selalu meningkatkan total pigmen dan total bixin, tergantung jenis pelarut dan jenis biji annatto.

Rendemen ekstrak terbanyak diperoleh dari ekstraksi biji annatto dengan menggunakan kloroform pada suhu 50°C, baik dari biji impor, biji annatto lokal CD maupun biji annatto lokal FD. Total pigmen terbanyak diperoleh pada ekstraksi dengan kloroform pada suhu yang berbeda-beda. Pada biji annatto impor, suhu 30°C; biji lokal CD, suhu 40°C; biji lokal FD, suhu 50°C. Total bixin paling banyak diperoleh dari ekstraksi menggunakan kloroform pada suhu yang berbeda. Pada biji

Secara keseluruhan, dari hasil penelitian ini diketahui bahwa total pigmen dan total biksin paling banyak diperoleh dari ekstraksi biji annatto lokal FD namun rendemen ekstraknya paling rendah. Kadar biksin biji annatto lokal dua kali lebih besar dibandingkan biji impor sehingga apabila akan diproduksi ekstrak pigmen annatto, sangat menguntungkan jika digunakan biji annatto lokal. Jadi untuk memproduksi serbuk pewarna dari biji annatto maka sebaiknya digunakan biji annatto lokal yang dikeringkan dengan menggunakan *freeze dryer* selama 24 jam dan kemudian diekstraksi dengan menggunakan kloroform pada suhu 30°C.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M., 1997. *Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan*, Penerbit Andi, Yogyakarta.
- Ahmed J., U.S. Shivhare, K.S. Sandhu., 2002. Thermal Degradation Kinetics of Carotenoids and Visual Color of Papaya Puree, *Journal of Food Science* Vol. 67, Nr.7, 2002
- Anonim 1986. *Toxicity Profile : Annatto*, British Industrial Biological Research Association, Carshalton, Surrey, UK, 5 pp.
- Anonim 1997a. Annatto. The Raintree Group (HYPERLINK " <http://rain-tree.com/annato.htm>" <http://rain-tree.com/annato.htm>)
- Anonim, 1997b. Summary of Data for Chemical Selection Biksin (annatto) (HYPERLINK " http://ntpserver.niehs.nih.gov/htdocs/chem_background/" http://ntpserver.niehs.nih.gov/htdocs/chem_background/execsumm/biksin.html)
- Anonim, 1997c. Annatto. TJP Market Development (<http://www.tjpd.com/annatto.htm>)
- Anonim, 2002. Annatto, <http://www.searsphytochem.com/product/10.htm>
- Brady, J. E. and Humiston, G. E. 1986. *General Chemistry 4/E. Principles and Structure SI Version*. John Wiley & Sons, Inc.
- Britton, G., Liaaen, S., Pfander, H. 1995. *Carotenoids Isolation and Analysis*, Vol.1A, Birkhauser verlag, Basel, Switzerland
- Cusvinera, VG., Lubran, M.B., Rankin, S.A., 2002. Comparison of Volatile Compound in Water- and Oil-Soluble Annatto (*Bixa Orellana L.*) Extracts, *J. Agric. Food Chem.*, 50, 2010-2015
- de Man, J.M., 1989. *Principles of Food Chemistry*. terjemahan Kosasih Padmawinata, edisi kedua 1997, ITB, Bandung, .
- Earle, R.L., 1983. *Unit Operations in Food Processing*, Wheaton & Co., Ltd., Exeter, Great Britain.
- Issac, J.O.J and Pattenden G. 1989. *Terpenoids and Apocarotenoids*
- Ardiyanto Pranata et al., *Ekstraksi Pigmen Biji Annatto (Bixa orellana Linn)* 305
- Mc. Keown G.G. and Mark E. 1962. The Composition of Oil Soluble Annatto Food Colors. *Journal of the AOAC* Vo 45 no. 3 : 761 - 766
- Mercadante, A.Z, A. Steck. H. Pfander 1997a. Isolation and Identification of New Apocarotenoids From Annatto (*Bixa orellana*) Seeds. *J. Agric food Chem.* (45) : 1050 - 1054.
- Mercadante, A.Z, A. Steck., H. Pfander 1997b. Isolation and Structure Elucidation of Minor Carotenoids from Annatto (*Bixa orellana*) Seed. *Phytochemistry* Vol 46 (8) : 1379 - 1383.
- Paquette, L.A. (editor). 1999. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthetis*. John Wiley and sons. Chichester. New york. Brisbane. Toronto. Singapore.
- Pranata, A. 2000. Penggunaan Ekstrak Kesumba (*Bixa orellana Linn*) untuk Pewarnaan Kain Kelompok Katun dan Kelompok Sutera. *Skripsi Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Yogyakarta*
- Preston, H.D., dan Rickard, M.D., 1980. Extraction and Chemistry of Annatto, *J. Food Chemistry* 5 (47-56)
- Reith J.F dan Geilen, J W. 1971. Properties of Biksin and Norbiksin and The Composition of Annatto Extract, *J. Food Science* : (36) : 861 - 864
- Sastrohamidjojo, H., 2001. *Kromatografi*. Edisi 2. Liberty, Yogyakarta.
- Scooter, M.J., 1995. Characterisation of The Coloured Thermal Degradation Products of Bixin from Annatto and A Revised Mechanism for Their Formation, *Journal of Food Chemistry* 53 (177-185)
- Scooter, M.J., Lesley A.W., Graeme P.A., Laurence C., 2000. Analysis of Annatto (*Bixa orellana*) Food Coloring Formulations. 2. Determination of Aromatic Hydrocarbon Thermal Degradation Products by Gas Chromatography, *Journal of Agric. Food Chem.* 2000, 48, 484-488
- Scooter, M.J., Scotter, Castle, L., Honeybone C.A. dan Nelson, C., 2002. Method development and analysis of retail foods for annatto food colouring material, *Journal of Food Additives and Contaminants*, Vol. 19, No. 3, 205 n 222
- Torreblanca, RA. 1983, Analysis of *Bixa orellana L.* (annatto) and The Waste Generated in The Extraction of Its Pigmen, *J. Food Science*.