

Ekstraksi Pigmen Biksin dari Biji Kesumba (*Bixa orellana* L.) dengan Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dan Karakterisasinya

Yuni Astuti

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Negeri Jakarta, Jl. Pemuda No 10, Rawamangun 13220, Jakarta,
Indonesia

Penulis korespondensi: astuti.yunni26@yahoo.co.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengekstraksi pigmen biksin dari biji kesumba dan mengetahui pengaruh waktu ekstraksi (5,10,15 menit) dan rasio pelarut akuades:etil asetat (1:6.5, 1:7, 1:8 v/v) terhadap perolehan pigmen biksin. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah MAE (Microwave Assisted Extraction). Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kondisi optimum dari dua variabel pada rasio pelarut akuades:etil asetat (1:7 v/v) dengan waktu ekstraksi selama 15 menit yang menghasilkan perolehan pigmen biksin maksimum sebesar 0,469 %. Dilakukan uji kemurnian dengan titik leleh dan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan campuran eluen aseton:n-heksana (1:2 v/v) dan etil asetat:kloroform (1:3 v/v). Senyawa hasil ekstraksi dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer Infra Merah, spektrometer massa, dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menunjukkan bahwa hasil ekstraksi merupakan pigmen biksin yang memiliki berat molekul sebesar 394.2 g/mol dengan bilangan gelombang untuk regangan gugus OH karboksilat yang tidak berikatan hidrogen, ikatan C-H, C=O karboksilat, ikatan rangkap C=C, dan ikatan C-O ester. Serta menunjukkan waktu retensi komponen pigmen biksin pada menit ke 12.849.

Kata kunci

Bixa orellana L., Biksin, *Microwave Assisted Extraction* (MAE), Spektrofotometer Infra Merah, Spektrometer Massa, Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).

Abstract

This study aimed to extract pigment bixin from annatto seeds and to know the effects of extraction time (5, 10, 15 minutes) and solvent ratio of distilled water:ethyl acetate (1:6.5, 1:7, 1:8 v/v) to pigment bixin yield. Extraction methods used in this study is MAE (Microwave Assisted Extraction). Based on research result obtained the optimum condition of two variables at solvent ratio of distilled water:ethyl acetate (1:7 v/v) with extraction time for 15 minutes which result pigment bixin yield maximum of 0.469%. Purity test by melting point and thin layer chromatography (TLC) using an eluent mixtures of acetone:hexane (1:2 v/v) and ethyl acetate:chloroform (1:3 v/v). The compounds of extraction results are analyzed using infrared spectrophotometer, mass spectrometer, and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) shows that the results of the extraction is pigment bixin which has a molecular weight of 394.2 g/mol with wavenumbers for a stretch of OH carboxylate group that doesn't have hydrogen bonding, C-H bond, C=O carboxylates, C=C double bond, and C-O bond of ester. And show the retention time of pigment bixin components on minutes of 12.849.

Keywords

Bixa orellana L., Bixin, *Microwave Assisted Extraction* (MAE), Infrared Spectrophotometer, Mass Spectrometer, High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

1. Pendahuluan

Warna merupakan suatu pelengkap daya tarik pada makanan dan minuman. Penambahan zat warna dalam makanan dan minuman mempunyai pengaruh yang sangat besar terhadap selera dan daya tarik konsumen. Zat pewarna secara luas digunakan di seluruh dunia, baik pewarna sintetis maupun pewarna alami. Saat ini, lebih dari 100.000 pewarna tersedia secara komersial. Di seluruh dunia, hampir 1 juta ton pewarna sintetis diproduksi setiap tahunnya [1]. Namun, bahaya yang ditimbulkan oleh pewarna sintesis terhadap tubuh menyebabkan pemakaiannya di dalam makanan dan minuman diawasi ketat oleh suatu institusi dalam suatu negara, seperti Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM) dan *Food and Drug Administration* (FDA).

Berdasarkan permasalahan tersebut, banyak penelitian yang berupaya menemukan zat warna alami. Salah satu tanaman yang memiliki zat warna alami adalah kesumba (*Bixa orellana* L.). Tanaman kesumba (*Bixa orellana* L.) adalah pohon kecil yang memiliki tinggi 3-9 m dan berasal dari daerah tropis di Amerika Selatan. Tanaman ini banyak dibudidayakan di Afrika, Brazil, India, dan negara-negara tropis lainnya termasuk Indonesia. Tanaman ini di Indonesia dikenal dengan nama yang berbeda-beda di antaranya: kesumba keling (Jawa), galinggem (Sunda), taluka (Ambon), parada (Bugis), dan kasumbo (Nias). Bagian tanaman yang mengandung zat warna alami terdapat pada bagian bijinya. Biji kesumba mengandung pigmen kuning hingga merah yang merupakan campuran pigmen karotenoid seperti biksin dan norbiksin.

Berbagai metode telah dikembangkan untuk mengekstraksi pewarna alami dari berbagai tumbuhan, seperti maserasi, soklet, ekstraksi cair-cair, dan hidrodestilasi. Namun, metode-metode tersebut menggunakan pelarut dengan jumlah yang banyak dan waktu ekstraksi yang lama. Oleh karena itu dibutuhkan teknik baru untuk meningkatkan mekanisme ekstraksi pewarna alami seperti pecahnya dinding sel, pelepasan pewarna alami, dan perpindahan zat pewarna ke dalam pelarut.

Salah satu metode ekstraksi yang sedang berkembang pesat adalah metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Proses ekstraksi pada metode MAE menggunakan gelombang mikro yang memiliki kelebihan diantaranya: mengurangi konsumsi energi, pelarut yang sedikit, waktu ekstraksi yang singkat, dan jumlah limbah yang sedikit. Pada penelitian sebelumnya, Vasu *et al.* (2010) telah menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) untuk mengekstraksi biksin dari *Bixa orellana* dan aktivitas antioksidan *in-vitro* [2]. Hasil penelitiannya menunjukkan pemanasan gelombang mikro pada 210 W selama 18 menit menghasilkan rendemen sebesar 16.281 % dan pemanasan konvensional menghasilkan rendemen sebesar 8.231 % selama 90 menit. Hasil ini menunjukkan bahwa dengan metode MAE waktu ekstraksi 72 menit lebih cepat dan rendemen yang besar dibandingkan dengan metode soklet. Sedangkan penelitian Mosquera *et al.* (2013) tentang aplikasi teknologi gelombang mikro terhadap ekstraksi bahan alam dari buah Amazonian menunjukkan bahwa metode MAE dapat digunakan untuk ekstraksi pigmen seperti untuk tanaman carayuru (*Arrabidaea chica*) dan achiote (*Bixa*

orellana) yang menghasilkan rendemen masing-masing sebesar 19 % dan 11,4 % pada 50 % daya maksimum selama 15 menit [3].

Berdasarkan kelebihan dari metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) maka penelitian ini menggunakan metode tersebut untuk mengekstraksi pigmen biksin dari biji kesumba (*Bixa orellana*) dengan perolehan pigmen biksin yang besar.

2. Metodologi Penelitian

Alat dan Bahan

Alat-alat gelas yang digunakan, gelas kimia, gelas ukur, spatula, batang pengaduk, pipet, erlenmeyer, kaca arloji, cawan porselen, corong, pendingin liebig, labu bulat, corong pisah, Peralatan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), neraca analitik, kertas saring, pipa kapiler, plat KLT Silika Gel 60 F₂₅₄ Merck, alat pengukur titik leleh Melting Point Stuart smp10, dan Rotary Evaporator Eyela.

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu biji kesumba yang diperoleh dari Sleman, Yogyakarta. Bahan lain yang digunakan pada penelitian ini yaitu biksin standar, akuades, berbagai pelarut kualifikasi teknis yang sudah didestilasi (etil asetat dan diklorometana), padatan natrium sulfat anhidrat, pelarut dengan kualifikasi p.a seperti metanol, aseton, n-heksana, kloroform, asetonitril, diklorometana, asam format 0.1% dan asam asetat 2%.

Alat utama penelitian ini adalah alat ekstraksi berupa oven gelombang mikro merk Panasonic NN-ST342M dengan maksimum daya sebesar 800 W yang telah dimodifikasi dengan dilengkapi labu bulat, termokopel, pendingin liebig, dan pengontrol suhu. Di dalam oven juga dimodifikasi agar baki kaca tidak berputar.



Gambar 1. Oven gelombang mikro yang telah dimodifikasi

Prosedur Penelitian

Ekstraksi Biksin dengan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE)

- Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Rasio Pelarut terhadap Perolehan Pigmen Biksin

Biji kesumba dimasukkan ke dalam labu bulat. Menambahkan 75 mL etil asetat dan 10 mL akuades. Kemudian alat disusun sesuai dengan Gambar 1. Menyalakan oven gelombang mikro dengan mengeset daya yang rendah dan waktu ekstraksi selama 5, 10, dan 15 menit. Setelah ekstraksi selesai, fasa air dan fasa organik dipisahkan. Kemudian fasa organik etil asetat ditambahkan dengan natrium sulfat anhidrat. Fasa etil asetat diuapkan dengan rotary evaporator. Kemudian konsentrat biksin dikristalisasi. Kristal yang terbentuk kemudian disaring dan dikeringkan. Kristal yang telah kering dikristalisasi dengan menambahkan diklorometana dan metanol (1:4 v/v) [2]. Kristal yang terbentuk di dasar wadah kemudian disaring, dibilas dengan metanol dan dikeringkan.

Setelah diketahui waktu optimum, kemudian dilakukan ekstraksi dengan variasi rasio pelarut akuades:etil asetat (1:6.5, 1:7, 1:8 v/v) dengan prosedur yang sama. Setiap kristal biksin dihitung perolehannya dengan perhitungan persen massa dan didapatkan waktu ekstraksi dan rasio pelarut yang optimum.

Perolehan kristal biksin dihitung menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Perolehan Biksin (\%)} = \frac{m \text{ biksin}}{m \text{ biji kesumba}} \times 100$$

Kristal biksin yang diperoleh dari kondisi optimum dilakukan uji kemurnian dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan titik leleh (Lit. 198°C). Kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan dengan menggunakan fasa gerak aseton:n-heksana (1:2 v/v) dan etil asetat:kloroform (1:3 v/v).

Identifikasi Struktur Molekul Pigmen Biksin

Untuk mengidentifikasi struktur molekul dari senyawa hasil ekstraksi dilakukan menggunakan spektrometer massa dan spektrofotometer Infra Merah (IR) dengan menganalisis spektrum yang dihasilkan. Spektrum infra merah pigmen biksin dilihat pada bilangan gelombang 4000 - 400 cm^{-1} . Sedangkan spektrum massa pigmen biksin dideteksi pada mode ion positif dan ion negatif.

Identifikasi Komponen Pigmen Biksin dengan KCKT

Proses identifikasi komponen pigmen biksin menggunakan KCKT adalah sebagai berikut, mula-mula sampel pigmen biksin dan biksin standar dilarutkan dalam asetonitril. Kemudian larutan disaring dan diinjeksi ke dalam injektor KCKT. Kolom yang digunakan pada proses pemisahan yaitu kolom fasa balik C_{18} (150x4.6 mm, ukuran partikel 5 μm). Fasa gerak yang digunakan yaitu campuran antara asetonitril:asam asetat 2%:diklorometana (65:35:2 v/v) [4].

3. Hasil dan Pembahasan

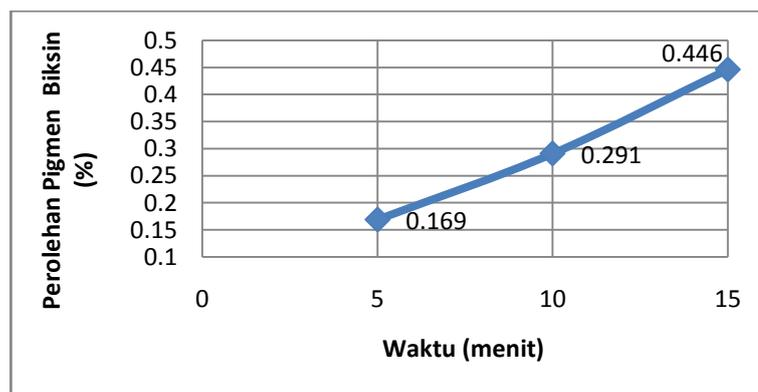
Ekstraksi Pigmen Biksin dengan Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE)

Metode ekstraksi berbantu gelombang mikro (MAE) yang digunakan pada penelitian ini berdasarkan penelitian Vasu *et al.* (2010) yang telah dimodifikasi dengan menambahkan padatan natrium sulfat anhidrat pada fasa etil asetat. Pada proses ekstraksi ini menggunakan pelarut etil asetat dan akuades. Kedua pelarut ini dipilih sebagai pelarut dalam ekstraksi karena memiliki fungsi khusus yaitu pelarut etil asetat digunakan karena dapat melarutkan pigmen biksin dari biji kesumba dengan baik. Hal ini telah diteliti oleh cardarelli *et al.* (2008) bahwa pelarut yang baik untuk ekstraksi biksin adalah etil asetat dengan perolehan biksin sebesar 4.92 mg biksin/g biji kesumba kering [5]. Sementara akuades yang merupakan pelarut polar berfungsi sebagai pelarut tambahan yang dapat menimbulkan panas akibat pergerakan molekul-molekul dengan migrasi ion dan rotasi kedua kutubnya. Hal ini dikarenakan akuades dapat berinteraksi dengan gelombang mikro.

Biji kesumba yang diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dan akuades dengan metode MAE menghasilkan larutan ekstrak berwarna merah kecoklatan. Kemudian larutan ekstrak ini dipisahkan, dan ke dalam fasa etil asetat ditambahkan dengan natrium sulfat anhidrat yang berfungsi untuk mengikat air. Setelah disaring, diuapkan sehingga diperoleh konsentrat biksin. Kemudian konsentrat biksin dikristalisasi. Kristal yang terbentuk disaring dan dikeringkan. Selanjutnya direkristalisasi menggunakan pelarut diklorometana dan metanol dengan perbandingan (1:4 v/v) sehingga diperoleh kristal biksin yang bebas dari dari zat pengotor.

1. Pengaruh Waktu Ekstraksi pada Metode MAE terhadap Perolehan Pigmen Biksin

Parameter yang diuji pada penelitian ini adalah waktu ekstraksi terhadap perolehan pigmen biksin dari biji kesumba. Perhitungan perolehan pigmen biksin dilakukan dari perbandingan massa biksin dengan massa sampel biji kesumba dalam persen. Berikut ini hasil penelitian pengaruh waktu ekstraksi pada metode MAE terhadap perolehan pigmen biksin.



Gambar 2. Grafik Waktu Ekstraksi terhadap Perolehan Pigmen Biksin

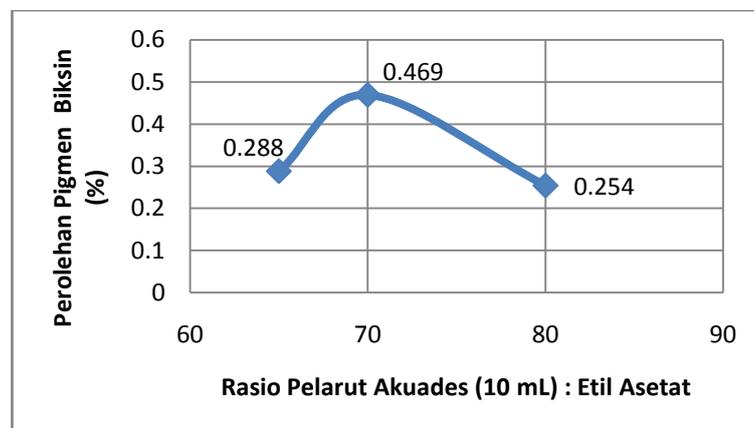
Gambar 2 menunjukkan bahwa perolehan pigmen biksin semakin besar seiring dengan semakin lamanya waktu ekstraksi. Hasil ini dipengaruhi oleh adanya sifat dielektrik dari air. Sifat dielektrik air yang besar mempengaruhi proses pemanasan pada ekstraksi berbantu gelombang mikro (MAE). Air merupakan pelarut polar yang dapat berinteraksi dengan gelombang mikro sehingga semakin lama waktu radiasi gelombang mikro, air semakin cepat panas.

Panas yang dihasilkan oleh interaksi gelombang mikro dengan pelarut polar kemudian meningkatkan difusi pelarut dan analit. Pelarut mampu berdifusi ke matriks dan mengekstrak analit kemudian berdifusi keluar dari matriks membawa komponen yang larut. Oleh karena itu, naiknya suhu akan meningkatkan efisiensi dari proses ekstraksi karena desorpsi zat yang diinginkan dari matriks akan meningkat.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perolehan pigmen biksin maksimum diperoleh sebesar 0.446% dengan waktu ekstraksi selama 15 menit. Sehingga dapat diketahui waktu ekstraksi optimum dengan metode MAE pada penelitian ini adalah 15 menit. Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan rasio pelarut yang berbeda.

2. Pengaruh Rasio Pelarut pada Metode MAE terhadap Perolehan Pigmen Biksin

Parameter yang diuji pada penelitian ini adalah rasio pelarut akuades dan etil asetat terhadap perolehan pigmen biksin dari biji kesumba. Rasio pelarut akuades dan etil asetat yang digunakan adalah 1:6,5, 1:7, dan 1:8 v/v dengan waktu ekstraksi optimum yaitu selama 15 menit. Perhitungan perolehan pigmen biksin dilakukan dari perbandingan massa biksin dengan massa sampel biji kesumba dalam persen. Berikut ini hasil penelitian pengaruh rasio pelarut pada metode MAE terhadap perolehan pigmen biksin.



Gambar 3. Grafik Rasio Pelarut terhadap Perolehan Pigmen Biksin

Gambar 3 menunjukkan bahwa bertambahnya volume etil asetat menyebabkan perolehan pigmen biksin meningkat pada rasio pelarut 10 mL akuades dan 70 mL etil asetat (1:7 v/v) dengan perolehan pigmen biksin maksimum sebesar 0.469 %. Namun pada volume etil asetat 80 mL (1:8 v/v) perolehan pigmen biksin menurun menjadi 0.254%. Umumnya

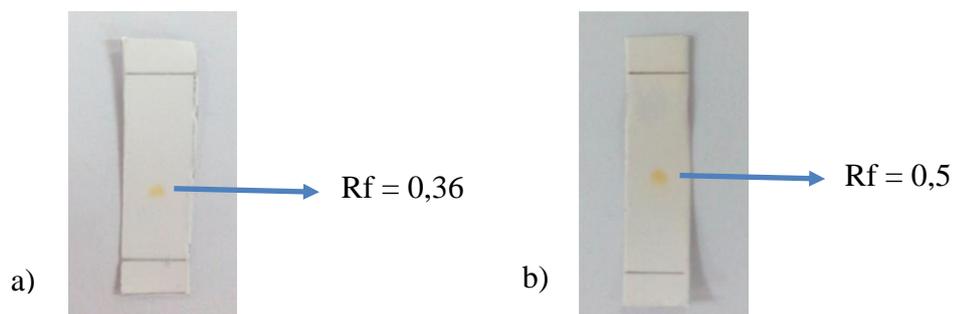
dalam teknik ekstraksi konvensional semakin banyak volume pelarut maka kontak sampel dengan pelarut akan semakin besar sehingga meningkatkan perolehan ekstrak. Namun dalam ekstraksi berbantu gelombang mikro (MAE) volume pelarut yang lebih besar dapat pula mengakibatkan menurunnya perolehan ekstrak.

Bertambahnya volume pelarut menyebabkan interaksi permukaan sampel dengan pelarut menjadi lebih besar [7]. Namun volume pelarut yang besar dan adanya kandungan air pada biji kesumba dapat menyebabkan pemanasan yang berlebih atau super heating. Pemanasan berlebih menyebabkan suhu campuran menjadi lebih tinggi dari titik didihnya. Pemanasan berlebih memiliki pengaruh terhadap senyawa dalam material dimana senyawa dapat mengalami termal stress akibat panas yang cepat pada campuran. Selain itu, dapat terjadi penguapan pelarut yang menyebabkan volume pelarut berkurang. Oleh karena itu, pada penelitian ini mengalami penurunan perolehan pigmen biksin karena terjadinya pemanasan berlebih atau super heating pada campuran.

Berdasarkan hasil dari kedua parameter yang telah dilakukan, diperoleh kondisi optimum pada ekstraksi berbantu gelombang mikro (MAE) yaitu rasio pelarut akuades:etil asetat (1:7 v/v) waktu ekstraksi selama 15 menit dengan perolehan pigmen biksin sebesar 0.469 % .

Uji Kemurnian Pigmen Biksin

Untuk mengetahui kemurnian dari kristal biksin yang diperoleh maka dilakukan uji kualitatif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan melarutkan kristal biksin kemudian ditotolkan ke plat silika. Fasa gerak yang digunakan adalah aseton:n-heksana (1:2 v/v) dan etil asetat:kloroform (1:3 v/v). Berdasarkan hasil kromatogram KLT pada gambar 4 menunjukkan noda kuning bulat dan tidak berekor.



Gambar 4. Kromatogram KLT dengan fase gerak a). aseton:n-heksana (1:2 v/v), b). etil asetat:kloroform (1:3 v/v)

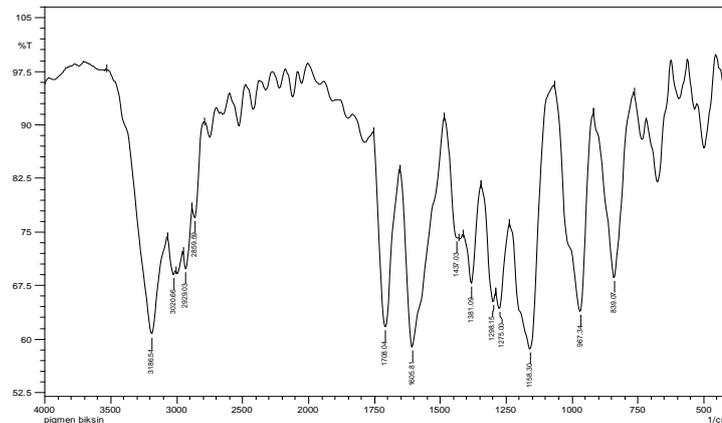
Kedua hasil tersebut menunjukkan bahwa hasil elusi tetap menampilkan satu noda dengan campuran pelarut yang berbeda, sehingga dapat dikatakan bahwa sampel yang ditotolkan telah murni. Selain itu, dilakukan juga uji titik leleh untuk mengetahui kemurnian kristal biksin yang diperoleh dari ekstraksi dengan metode MAE. Suhu pada saat mula-mula zat meleleh sampai meleleh sempurna seluruhnya dicatat sebagai jarak leleh. Jarak titik leleh kristal biksin didapatkan sekitar 196^o-198^oC. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa kristal biksin cukup murni.

Identifikasi Struktur Molekul Pigmen Biksin

1. Spektrofotometer Infra Merah

Kristal biksin hasil ekstraksi dengan metode MAE diidentifikasi struktur molekulnya menggunakan spektrofotometer Infra Merah (IR). Analisis spektrum infra merah bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada senyawa hasil ekstraksi.

Berikut ini hasil spektrum infra merah dari kristal biksin dalam persentase transmitasi.



Gambar 5 . Spektrum IR Kristal Biksin

Pada gambar 5, spektrum Infra Merah dari pigmen biksin ditunjukkan dengan perluasan daerah dari 4000-400 cm^{-1} . Puncak pada bilangan gelombang 3186.54 cm^{-1} menunjukkan adanya regangan dari gugus O-H karboksilat yang tidak berikatan hidrogen, kemudian pada bilangan gelombang 3020.66 cm^{-1} menunjukkan adanya regangan dari C-H sp^2 (=C-H), pada bilangan gelombang 2929.03 cm^{-1} dan 2859.59 cm^{-1} menunjukkan adanya regangan C-H dari gugus metil, pada bilangan gelombang 1708.04 cm^{-1} menunjukkan adanya regangan C=O karboksilat, pada bilangan gelombang 1605.81 cm^{-1} menunjukkan adanya regangan C=C alkena, pada bilangan gelombang 1437.03 cm^{-1} dan 1381.09 cm^{-1} menunjukkan adanya tekukan C-H dari gugus metil, pada bilangan gelombang 1298.15 cm^{-1} , 1275 cm^{-1} dan 1158.30 cm^{-1} menunjukkan adanya regangan C-O dari ester, dan pada bilangan gelombang 967.34 cm^{-1} dan 839.07 cm^{-1} menunjukkan adanya tekukan CH dari =C-H. Kemudian hasil spektrum Infra Merah pigmen biksin dibandingkan dengan spektrum infra merah biksin dari literatur, hasil yang didapatkan ini sesuai dengan gugus fungsi penyusun biksin dan memiliki bilangan gelombang yang hampir sama dengan yang dipaparkan oleh Oskam *et al.* (2010) [8].

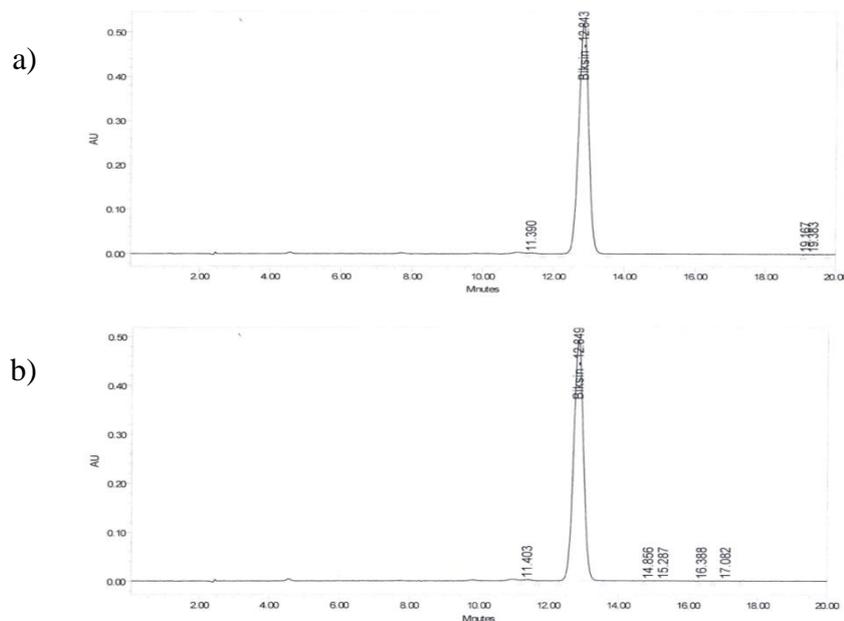
2. Spektrometer Massa

Identifikasi kristal biksin hasil ekstraksi dengan metode MAE juga dilakukan dengan menggunakan spektrometer massa. Hal ini bertujuan untuk mengetahui massa molekul dari pigmen biksin. Pengukuran kristal biksin dengan spektrometer massa dilakukan dengan mode deteksi ion

positif dan ion negatif. Berdasarkan hasil spektrum massa, diketahui terdapat puncak dengan massa ion molekul $[M+H]^+$ sebesar 395.2 m/z dan massa ion molekul $[M-H]^-$ sebesar 393.2 m/z. Massa molekul yang terdeteksi oleh kedua mode tersebut adalah massa molekul pigmen biksin sebesar 394.2 g/mol. Berdasarkan hasil yang didapatkan dari pengukuran sampel dengan spektrometer massa, dapat diketahui bahwa kristal hasil ekstraksi dengan metode MAE merupakan pigmen biksin yang memiliki massa molekul sebesar 394.2 g/mol.

Identifikasi Komponen Pigmen Biksin dengan KCKT

Tahap selanjutnya yaitu identifikasi pigmen biksin dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. Penggunaan KCKT pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komponen pigmen biksin dengan membandingkan waktu retensi sampel biksin yang diperoleh dari ekstraksi berbantu gelombang mikro (MAE) dengan biksin standar. Dibawah ini adalah kromatogram KCKT dari biksin standar dan sampel biksin:



Gambar 6. a) Kromatogram Biksin standar, b) Kromatogram Sampel biksin yang diukur pada panjang gelombang 450 nm.

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari pengukuran KCKT pada panjang gelombang 450 nm, terdapat puncak biksin standar yang muncul pada menit ke 12,843 dengan luas area sebesar 10098841, sedangkan puncak sampel biksin muncul pada menit ke 12,849 dengan luas area sebesar 9559317. Hasil ini menunjukkan bahwa sampel biksin yang diperoleh dari ekstraksi berbantu gelombang mikro (MAE) memiliki waktu retensi yang hampir sama dengan waktu retensi standar. Pengukuran KCKT ini juga dilengkapi dengan detektor UV-Vis. Berdasarkan spektrum UV-Vis, keduanya memiliki tiga puncak dengan panjang gelombang maksimum yang sama. Berdasarkan hasil pengamatan pada kromatogram KCKT, dapat diketahui bahwa identifikasi komponen pigmen biksin yang diperoleh dengan metode MAE memiliki waktu retensi yang hampir sama dengan biksin standar dan

waktu retensi komponen biksin yang dipaparkan oleh Montenegro *et al.* (2004).

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa hasil ekstraksi dari biji kesumba (*Bixa orellana L.*) dengan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) diperoleh kondisi optimum pada rasio pelarut akuades dan etil asetat (1:7 v/v) waktu ekstraksi selama 15 menit dengan perolehan pigmen biksin sebesar 0.469%. Kristal biksin yang diperoleh dari ekstraksi biji kesumba dengan metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) ditunjukkan oleh spektrum IR dengan adanya puncak pada bilangan gelombang 3186.54, 3020.66, 2929.03, 2859.59, 1708.04, 1605.81, 1298.15, 1275, 967.34 & 839.07 cm^{-1} yang mewakili regangan dari gugus O-H karboksilat yang tidak berikatan hidrogen, CH alkena, CH metil, C=O karboksilat, C=C alkena, C-O ester, dan tekukan CH alkena dari senyawa biksin. Hasil yang didapatkan dari spektrum massa menunjukkan bahwa pigmen biksin memiliki berat molekul sebesar 394.2 g/mol. Berdasarkan kromatogram kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) diperoleh puncak komponen pigmen biksin pada menit ke 12,849.

Daftar Pustaka

- [1] Sinha, K., Chowdhury, S., Saha, P.D., Datta, S. 2013. Modeling of microwave-assisted extraction of natural dye from seeds of *Bixa orellana* (Annatto) using response surface methodology (RSM) and artificial neural network (ANN). *Industrial Crops and Products*, 41.165– 171.
- [2] Vasu S., Palaniyappan, V., Kothandam, H.P., Badami S. 2010. Microwave facilitated extraction of Biksin from *Bixa orellana* and it's *in-vitro* antioxidant activity. *Der Pharmacia Lettre*. 2 (2) : 479-485.
- [3] Mosquera, D.M., Carrillo, M.P., Gutierrez, R.H., Diaz, O.R., Hernandez, M.S., Fernandez, J.P. 2013. Microwave technology applied to natural ingredient extraction from Amazonian fruits. *Foods*. 1.
- [4] Montenegro, M.A., Rios, A.O., Mercadante, A.Z., Nazareno, M.A., Borsarelli, C.D. 2004. Model Studies on the Photosensitized Isomerization of Bixin. *J. Agric. Food Chem.* 52. 367-373.
- [5] Cardarelli, R.C., Benassi, M.T., Mercadante, A.Z. 2008. Characterization of different annatto extracts based on antioxidant and colour properties. *LWT-Food Science and Technology*. 41. 1689-1693.
- [6] Bittencourt, C., Felicissimo, M.P., Pireaux, J.J., Houssiau, L. 2005. ToF-SIMS Characterization of Thermal Modifications of Bixin from *Bixa orellana* Fruit. *J. Agric. Food Chem.* 53. 6195-6200.
- [7] Spigno G., De Faveri D.M. 2009. Microwave-assisted extraction of tea phenols: a phenomenological study. *J Food Eng.* 93. 210-217.
- [8] Oskam, G., Gomez-Ortiz, N.M., Va'zquez-Maldonado, I.A., Pe' rez-Espadas, A.R. 2010. Dye-sensitized solar cells with natural dyes extracted from Achioté seeds. *Solar Energy Materials & Solar Cells*, 94. 40–44.