

LAPORAN AKHIR



**ANALISIS PEKTIN DAN VITAMIN C PADA GENERASI KEDUA (F2) GALUR
CABAI TAHAN SIMPAN**

Hermawan Seftiono, S.Si, M.Si [0319098605]

UNIVERSITAS TRILOGI

2023

DAFTAR ISI

ABSTRAK	iv
ABSTRACK	v
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	x
PENDAHULUAN	1
Latar belakang	1
Tujuan	2
TINJAUAN PUSTAKA	3
Cabai (<i>Capsicum annum L</i>)	3
Sifat dan struktur pektin	4
Penurunan kualitas cabai	5
Vitamin C	6
METODOLOGI	8
Waktu dan tempat	8
Bahan dan alat	8
Metode penelitian	8
Prosedur percobaan kadar pektin	9
Prosedur percobaan kadar vitamin C	12
HASIL DAN PEMBAHASAN	15
Analisis pektin	15

Optimasi analisis pektin sesuai protokol dan modifikasi protokol	17
Analisis pektin dengan purifikasi dan pemisahan beta karoten	19
Analisis vitamin C	22
Optimasi panjang gelombang serapan maksimum	23
Analisis kandungan vitamin C pada cabai merah keriting	24
KESIMPULAN DAN SARAN	27
Kesimpulan	27
Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	31
RIWAYAT HIDUP	36

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Komposisi reagen untuk sampel reaksi dan blanko pada analisis pektin	11
Tabel 2 Optimasi konsentrasi pektin hasil pengukuran sesuai protokol (metode 1) dan sesuai protokol dengan modifikasi (metode 2)	18
Tabel 3 Konsentrasi pektin purifikasi protokol dan beta karoten	20
Tabel 4 Hasil pengukuran serapan larutan standar asam askorbat	23
Tabel 5 Kandungan vitamin C cabai merah keriting	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Cabai merah keriting	3
Gambar 2 Struktur molekul pektin	4
Gambar 3 Struktur vitamin C (<i>L-Ascorbic Acid</i>)	7
Gambar 4 Tahapan purifikasi pektin dan pemisahan beta karoten	19
Gambar 5 Grafik kurva standar asam askorbat	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil uji ANOVA pektin	31
Lampiran 2 Hasil uji ANOVA vitamin C	32
Lampiran 3 Grafik serapan maksimum asam askorbat	33
Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian	34

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Cabai merah (*Capsicum annuum* L) merupakan salah satu komoditas sayuran utama yang strategis di Indonesia dan mancanegara, selain kentang dan tomat (Andy *et al.* 2015). Luas tanah pertanian cabai keriting pada tahun 2021 sebesar 82.804 hektare dengan hasil produktivitas sebesar 8.601.851 kwintal (Irfayanti *et al.* 2022). Meskipun produksi dalam negeri sudah mampu memenuhi permintaan nasional per tahunnya, permintaan cabai merah keriting setiap tahunnya meningkat untuk kebutuhan industri dan juga kebutuhan rumah tangga (Andy *et al.* 2015).

Buah cabai memiliki masa simpan yang singkat, sehingga nilai ekonomisnya cepat turun dan merugikan petani maupun penjual. Melihat permasalahan tersebut, Pusat Rekayasa Genetika, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) mengembangkan galur cabai tahan simpan melalui metode persilangan antara varietas cabai tahan simpan SSP sebagai tetua jantan dengan varietas cabai komersial Laris sebagai tetua betina. Kedua cabai tersebut termasuk ke dalam jenis cabai merah keriting. Persilangan tersebut telah menghasilkan galur cabai generasi pertama (F1) yang diberi kode LB. Biji cabai LB tersebut kemudian ditanam hingga didapatkan buah cabai generasi kedua (F2). Uji daya simpan telah dilakukan terhadap buah cabai F2 tersebut. Hasilnya didapatkan 46 tanaman yang menghasilkan buah cabai dengan daya simpan hingga 20 hari setelah panen pada suhu ruang (Wahyuni 2021). Cabai umumnya bertahan selama 5 hari dan penyimpanan yang dilakukan suhu $\leq 10^{\circ}\text{C}$ dengan kelembaban relatif 85%-90%, umur simpan cabai hanya dapat bertahan 10 hari (Yani & Ratriningsih 2006).

Penelitian lanjutan ini merumuskan salah satu faktor yang mempengaruhi ketahanan daya simpan pada buah cabai LB. Untuk itu, buah cabai LB yang tahan simpan akan dianalisis kadar pektinnya dan dibandingkan dengan buah cabai LB yang tidak tahan simpan dan juga kedua tetuanya (SSP dan laris). Pektin menjadi komponen utama yang diteliti pada penelitian ini karena secara umum, saat terjadi degradasi pektin, integritas dinding sel akan rusak, dan proses pembusukan buah dimulai (Rao & Paran 2003). Belum diketahui berapa kadar pektin yang terdapat pada cabai merah keriting, belum ditemukan penelitian yang membahas korelasi pektin dengan

ketahanan simpannya, penelitian ini dilakukan atas dasar hipotesis dan tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pektin dan ketahanan simpan nya. Sebagai uji tambahan, kadar vitamin C sebagai salah satu nutrisi utama pada cabai, juga turut dianalisis. Analisis dilakukan untuk membandingkan kandungan vitamin C buah cabai galur LB F2 tahan simpan dengan kedua tetuanya dan melihat apakah ada perbedaan kadar yang signifikan antara tetua dan turunan hasil persilangannya. Informasi yang didapat dari penelitian ini akan bermanfaat untuk proses pemuliaan cabai selanjutnya baik melalui pemuliaan konvensional maupun pendekatan transgenesis.

Tujuan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya korelasi antara kandungan pektin pada buah cabai dengan ketahanan daya simpannya serta melihat sejauh mana perbedaan kandungan vitamin C antara cabai LB hasil persilangan dengan kedua tetuanya (SSP dan laris).

TINJAUAN PUSTAKA

Cabai (*Capsicum annuum L*)

Cabai merah (*Capsicum Annuum L*), termasuk di dalamnya cabai merah keriting, adalah tanaman hortikultura yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Tanaman cabai ini banyak dibudidayakan dan dikembangkan di Indonesia. Cabai merah keriting umumnya dikonsumsi dalam bentuk olahan dan juga bisa dikonsumsi tanpa diolah. Rasa pedas pada cabai berasal dari senyawa kapsaisin. Kapsaisin pada buah cabai merupakan metabolit sekunder yang menjadi parameter tingkat kepedasan. Buah cabai juga mengandung nutrisi lainnya, seperti vitamin C, vitamin E, provitamin A, karotenoid, dan flavonoid, yang bermanfaat jika dikonsumsi manusia sebagai antioksidan dan antikanker (Sutrisno 2015). Kadar vitamin C yang terdapat pada cabai merah keriting cukup tinggi yaitu 28,57 mg/5 g (Legowo & Ajis 2020). Kandungan vitamin C cabai cukup tinggi, walaupun menurut (WHO 2007) kebutuhan yang dibutuhkan manusia hanya 45 mg/hari.

Cabai merah keriting dapat ditanam di dataran rendah dan di dataran tinggi. Gambar 1 merupakan cabai merah keriting generasi kedua (F2) hasil persilangan cabai SSP dan laris. Penanaman cabai di dataran rendah umumnya dapat dipanen pada saat berumur 70-75 hari, sementara untuk di dataran tinggi (pegunungan) dapat dipanen ketika tanaman berumur 120-150 hari. Panen di dataran rendah dapat dilakukan 3-4 hari sekali sedangkan di dataran tinggi, panen dapat dilakukan 5-7 hari sekali (Rukmana & Yuniarsih 2005).

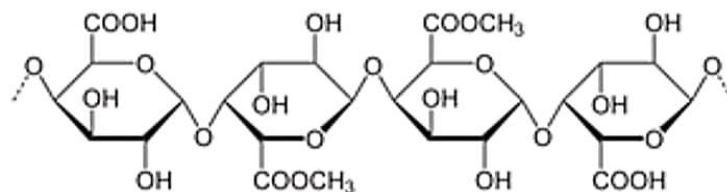


Gambar 1 Cabai merah keriting (Wahyuni. 2021)

Komoditas cabai ini memiliki permasalahan utama yaitu harga yang naik turun setiap tahunnya, sehingga seringkali menjadi faktor terjadinya inflasi ekonomi (Kemendag 2016). Hasil produksi cabai per bulannya cenderung fluktuatif sehingga mempengaruhi harga cabai (Malahayati & Fadli 2018). Harga cabai mengalami kenaikan harga pada bulan-bulan tertentu, umumnya terkait musim, permintaan yang naik pada saat perayaan nasional dan masa panen yang serentak namun cabai tidak memiliki ketahanan simpan yang lama, sehingga menyebabkan cabai menjadi busuk, stok menjadi sedikit, sehingga terjadi kelangkaan (Wahyuni 2021). Musim berpengaruh pada produksi cabai karena serangan hama atau penyakit tanaman tertentu berkaitan erat dengan musim. Selain itu, pada musim hujan, kelembapan meningkat yang akan mempercepat proses pembusukan buah cabai saat penyimpanan pascapanen. Ketika terjadi masa panen yang serentak, persediaan cabai melimpah, namun tidak dapat disimpan lama sehingga setelahnya, persediaan cabai menurun dan harganya kembali naik (Malahayati & Fadli 2018).

Sifat dan Struktur Pektin

Pektin adalah asam poligalakturonat, merupakan polimer yang terbentuk dari monomer asam D-galakturonat yang berikatan dengan 1,4- α -glikosidik (Gambar 2). Asam galakturonat adalah turunan hasil dari galaktosa. Asam D-galakturonat merupakan komponen utama, selain itu pektin juga memiliki D-galaktosa, L-rhamnosa dan L-arabinosa dengan jumlah yang bervariasi. Pektin juga memiliki kandungan metil ester. Pektin tergolong juga ke dalam polisakarida yang memiliki sifat larut dalam air (Aziz *et al*, 2018).



Gambar 2 Struktur molekul pektin

Senyawa pektin umumnya diklasifikasikan menjadi 3 kelompok senyawa yaitu asam pektat, asam pektinat dan protopektin (Winarno 2002)

1. Asam Pektat merupakan senyawa asam galakturonat yang memiliki sifat koloid dan tidak terdapat kandungan metil ester.
2. Asam pektinat merupakan asam poligalakturonat yang memiliki sifat koloid dan mengandung beberapa metil ester. Pektin adalah asam pektinat yang memiliki kandungan metil ester dan derajat netralisasi yang berbeda-beda.
3. Protopektin merupakan substansi pektat yang tidak dapat larut didalam air, ada didalam tanaman, jika dihidrolisis akan dihasilkan asam pektinat.

Komposisi kandungan yang ada protopektin, asam pektat dan pektin dalam buah beragam dan dilihat berdasarkan derajat kematangan buah. Protopektin secara umum tidak dapat larut dalam air dan banyak terlihat pada buah-buahan belum matang pada buah-buahan yang belum matang, sel-sel masih berikatan kuat dengan sel yang lain menggunakan protopektin. Perubahan akan terjadi saat buah sudah memiliki umur simpan yang cukup lama, karena sebagian dari protopektin akan mengalami penguraian menjadi senyawa pektin karena dibantu dengan enzim protopektinase. Sehingga menyebabkan terlepasnya sel-sel yang berikatan kuat, dan menyebabkan buah memiliki tekstur yang lunak. Enzim pektinase selanjutnya mengubah pektin menjadi asam pektat, proses enzim pektinase ini yang membuat buah cabai menjadi matang dan mulai terjadi pembusukan jika disimpan dalam waktu yang lama (Winarno 2002), kerusakan cabai yang terjadi karena tingginya kelembaban diatas 90%, sehingga menyebabkan pembusukan, karena air yang ada pada cabai akan keluar merusak stabilitas keutuhan jaringan dan sel yang sebelumnya telah terlindungi, berikatan kuat oleh pektin didinding sel, jika kelembaban dibawah 90% atau lebih rendah sekitar 80% persen buah cabai akan menyusut atau keriput, karena air yang ada berikatan dengan pektin menguap, selain itu umur simpan cabai merah keriting juga disebabkan oleh suhu penyimpanannya (John 20220) (Herbstreith & Fox. 2005).

Penurunan Kualitas Cabai

Penanganan buah cabai pascapanen diperlukan untuk menjaga kualitas dan memperpanjang umur simpannya, kerusakan cabai disebabkan karena terjadi penurunan komposisi senyawa metabolit buah yaitu nutrisi dan senyawa polimer penyusun dinding sel, seperti pektin. Degradasi pektin disebabkan oleh enzim

Polygalacturonase (PG) sehingga membuat buah menjadi lunak (*fruit softening*), dari dalam sel air akan keluar dan proses pembusukan dimulai (Rao & Paran 2003).

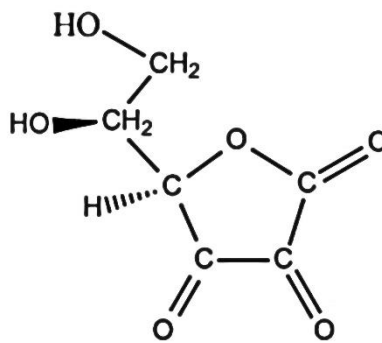
Mutu cabai menurun pascapanen disebabkan karena terjadi proses respirasi, yang membuat cabai menjadi busuk, layu atau kering. Produk hortikultura umumnya mempunyai karakteristik mudah rusak, seperti cabai. Kerusakan pada cabai, disebabkan oleh pengaruh kimiawi, mikrobiologi, fisiologis dan fisik. Jenis kerusakan yang biasa terjadi pada buah cabai yaitu :

- a. Kerusakan mekanis, kerusakan yang terjadi pada proses pengangkutan, karena terjadi kelebihan muatan atau benturan pada saat proses transportasi.
- b. Kerusakan fisik, kerusakan yang terjadi karena tingginya kelembaban diatas 90%, dan suhu penyimpanan berada disuhu ruangan sehingga menyebabkan pembusukan. Bila kelembaban dibawah 90% atau lebih rendah sekitar 80% persen buah cabai akan menyusut atau keriput. Suhu optimal agar tidak terjadi proses pembusukan yaitu -80 °C
- c. Kerusakan fisiologis, kerusakan yang disebabkan oleh proses penyimpanan cabai setelah panen. Setiap kenaikan suhu ≥ 1 °C buah cabai akan mempengaruhi laju penguapan (respirasi) 2-3 kali dari awal dan cabai akan cepat mengalami pematangan, sehingga pembusukan buah cabai juga cepat terjadi (Jhon 2020)

Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat adalah salah satu vitamin yang dibutuhkan tubuh yaitu berfungsi untuk membantu proses metabolisme pada tubuh. Vitamin C juga berperan pada proses pembentukan kolagen interseluler (Badriah & Manggara 2015). Vitamin C sebagai antioksidan pada buah cabai juga dapat menetralkan radikal bebas yang bisa menyebabkan berbagai macam penyakit, sehingga tubuh terhindar dari beberapa penyakit sistem biologi. Vitamin C juga memiliki manfaat sebagai antioksidan kuat, melindungi sel dari agen-agen yang menyebabkan kanker, dan mampu meningkatkan daya serap tubuh terhadap kalsium, serta zat besi pada makanan yang lain (Rohmatussolihat 2009).

Asam askorbat merupakan vitamin yang larut dalam air, jika terkena cahaya mudah teroksidasi, selain itu asam askorbat memiliki bentuk utama yaitu *L-ascorbic*, *dehydroascorbic acid* (Naidu 2003). Struktur vitamin C terdapat pada Gambar 3. Vitamin C dalam bahan makanan yang dipanaskan akan sangat mudah larut, selain itu memiliki kadar vitamin C yang kecil akibat proses pemanasan. Vitamin C sangat rentan terhadap pengurangan kandungan vitaminnya, sehingga perlu dilakukan penanganan yang tepat saat pascapanen dan juga pada proses pencucian, pemotongan, perebusan atau penggorengan, kandungan vitamin C akan mengalami penurunan kadar vitamin C. (Oktoviana *et al.* 2012). Kandungan vitamin C dan aktivitas antioksidan pada cabai, dapat menurun selama proses penyimpanan yaitu dimulai pada hari pertama, hari ketiga dan hari ketujuh penyimpanan, semakin lama disimpan membuat kandungan vitamin C pada cabai akan semakin berkurang (Budiarti & Kurnianingrum 2015).



Gambar 3 Struktur vitamin C (*L-Ascorbic Acid*)

METODOLOGI

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli hingga Oktober 2022 di Laboratorium Pusat Riset Rekayasa Genetika BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional) yang berlokasi di Cibinong Kabupaten Bogor, Jawa Barat.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah galur cabai merah keriting sebanyak 3 LB tahan simpan (LBT) dan 3 LB tidak tahan simpan (LBTT) yang sebelumnya kedua galur ini telah diuji umur simpannya dan dikelompokkan berdasarkan ketahanan simpannya, kemudian ada kedua tetuanya yaitu 3 cabai varietas laris, dan 3 cabai varietas SSP sehingga totalnya ada 12 cabai yang di uji. Masing-masing cabai dilakukan 3 kali ulangan pada penentuan kadar pektin dan Penentuan kadar vitamin C. Semua cabai didapatkan dari Pusat Riset Rekayasa Genetika, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong.

Bahan kimia yang digunakan adalah larutan buffer Tris-HCl 50 mM pH 8.0 dengan 1 mM CaCl_2 , NaOH 0.5 M, HCl 0.5 M, HCl 1 M, asam askorbat, enzim pektat liase dari *Aspergillus niger* 1400 U/mL (*Pectin Identification Kit, Megazyme*), metanol, etanol absolut, kloroform, larutan asam sitrat 10%, akuades, *deionized water* dan akuades bebas CO_2 . Sedangkan untuk alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-1800, *water bath*, *hot plate*, pH meter, neraca analitik, corong, spatula, tabung falcon 15 dan 50 mL, kertas saring, labu ukur, gelas ukur, gelas beaker, Erlenmeyer, batang pengaduk, botol Duran, pipet mikro.

Metode Penelitian

1. Analisis pektin diukur menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Prinsip analisis pektin adalah kenaikan absorbansi pada panjang gelombang 235 nm akibat pemotongan asam poligalakturonat oleh enzim pektat liase menjadi asam oligosakarida tidak jenuh yang menyerap cahaya dengan panjang gelombang 235 nm (*Megazyme Booklet* 2020).

2. Analisis vitamin C juga menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Prinsipnya adalah penyerapan cahaya oleh molekul asam askorbat (Budiarti & Kurnianingrum 2015). Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang hasil optimasi.

Prosedur Percobaan Kadar Pektin

1. Persiapan Larutan Buffer dan Reagen

Larutan buffer dibuat dengan melarutkan 3.028 gram Tris base dan 0.074 gram kalsium klorida dihidrat dalam 450 mL *deionised water*. Kemudian pH diatur menjadi 8.0 dengan penambahan HCl 1 M lalu disesuaikan volumenya menjadi 500 mL dalam labu ukur dengan penambahan *deionised water* (Megazyme Booklet 2020). Larutan 0.5 M NaOH dibuat dengan melarutkan 2 gram NaOH dengan *deionised water* hingga 100 mL. Larutan 1 M HCl dibuat dengan mengencerkan 20 mL HCl 12 M dengan 240 mL *deionised water*. Larutan 0.5 M HCl dibuat dengan menambahkan 50 mL *deionised water* ke dalam 50 mL larutan HCl 1 M.

2. Ekstraksi Pektin dari Buah Cabai

Proses ekstraksi ini terdapat tiga metode yaitu, yang pertama sesuai dengan protokol *megazyme booklet* (2020), kemudian yang kedua dilakukan modifikasi protokol, dan yang ketiga dilakukan purifikasi pektin terlebih dahulu, kemudian dilanjutkan dengan ekstraksi sesuai protokol awal. Ekstraksi yang pertama dilakukan sesuai dengan protokol *megazyme booklet* (2020). Buah cabai dibekukan dengan nitrogen cair, kemudian dihancurkan dengan grinder hingga menjadi bubuk halus, setelah cabai menjadi bubuk halus, kemudian ditimbang sebanyak 50 mg lalu dibasahi dengan dua tetes 2-propanol (sekitar 20 μ L). Sampel kemudian ditambahkan 50 mL *deionised water* dan diaduk perlahan dengan batang pengaduk selama 30 menit. Selanjutnya pH larutan dinaikkan menjadi 12 dengan menambahkan 0.5 M NaOH lalu dibiarkan selama 15 menit. Setelah 15 menit, pH larutan diturunkan dengan ditetesi HCl 1 M. Saat pH mendekati 8, larutan ditetesi dengan 0.5 M HCl hingga pH tepat menjadi 8. Larutan kemudian ditambahkan *deionised water* hingga 100 mL menggunakan labu ukur.

Ekstraksi yang kedua dilakukan modifikasi protokol pertama, yaitu bobot sampel yang ditimbang dan volume 2-propanol yang ditambah menjadi 10 kalinya. Sebanyak 0.5 g bubuk cabai beku ditimbang lalu dibasahi dengan 200 μ L 2-propanol. Tahapan selanjutnya hingga selesai dilakukan persis seperti pada protokol pertama.

Ekstraksi cara ketiga dilakukan dengan menambahkan dua tahapan pendahuluan, yaitu purifikasi pektin mengikuti metode Fazio *et al.* (2020) dan pemisahan beta karoten (Wahyuni 2021), kemudian barulah dilakukan analisis sesuai protokol *Megazyme booklet* (2020). Tahap awal purifikasi pektin dilakukan dengan menimbang 5 gram bubuk cabai beku lalu dikering-bekukan (*freeze dry*) selama 48 jam. Bubuk cabai yang sudah di kering-beku tersebut lalu ditimbang sebanyak 2 gram dan ditambahkan 40 mL larutan asam sitrat 10% dalam botol Duran. Selanjutnya dilakukan pemanasan selama 1 jam pada suhu 90 °C sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*, dengan keadaan botol ditutup dengan *aluminium foil*. Setelah pemanasan 90 °C selama 1 jam, campuran didiamkan sampai dingin, lalu dimasukkan kedalam tabung falcon 50 mL untuk disentrifus pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Supernatan ($\pm$ 40 mL) diambil dengan pipet Pasteur lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 40 mL etanol absolut (1:1). Pada tahap ini, dalam larutan akan terbentuk dan terlihat gel pektin berwarna merah. Campuran kemudian diinkubasi pada kulkas 4 °C selama minimal 16 jam.

Keesokan harinya, campuran dikeluarkan dari kulkas lalu sebanyak $\frac{1}{2}$ volume dituang kedalam *falcon* 50 mL untuk disentrifus pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifus supernatan dibuang, setelah itu dimasukkan lagi $\frac{1}{2}$ volume yang tersisa dan disentrifus kembali pada kecepatan dan waktu yang sama. Setelah sentrifus selesai, supernatan dibuang kemudian ditambahkan *deionized water* 10 mL dan aseton 10 mL (1 : 1) kemudian diinkubasi pada kulkas 4 °C selama minimal 12 jam. Setelah proses inkubasi kedua selesai, larutan disentrifus pada 5000 rpm selama 15 menit, kemudian supernatan dibuang hingga hanya tersisa endapan gel pektin berwarna merah.

Tahap selanjutnya adalah pemisahan beta karoten dari endapan gel (Wahyuni, 2021). Hal ini dilakukan untuk menghilangkan warna merah pada endapan gel pektin yang dapat mengganggu pembacaan absorbansi saat dilakukan

spektrofotometri. Sebanyak 18 mL larutan methanol : kloroform (5:4 v/v) ditambahkan ke dalam tabung berisi endapan pektin lalu divorteks hingga homogen dan diinkubasi selama 10 menit dalam es. Setelah 10 menit inkubasi, ditambahkan 10 mL larutan (Tris 50mM; NaCl 1M) kemudian divorteks hingga homogen dan diinkubasi lagi 10 menit dalam es. Kemudian campuran disentrifus pada 7000 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifus, akan terbentuk endapan pektin di antara 2 fase larutan. Fase larutan di bawah endapan yang berwarna merah (mengandung beta karoten) dipipet dan dibuang hingga habis menggunakan pipet Pasteur. Setelah itu, ditambahkan kloroform 10 mL kemudian divorteks hingga homogen dan diinkubasi kembali selama 10 menit dalam es. Setelah inkubasi, larutan disentrifus pada 7000 rpm selama 10 menit. Fase larutan bawah dibuang terlebih dulu diikuti pembuangan fase larutan atas. Endapan pektin yang tersisa kemudian di *freeze dry* selama 24 jam. Setelah di *freeze dry*, sampel pektin kering ditimbang 50 mg untuk selanjutnya diproses sesuai protokol pertama (*Megazyme booklet*, 2020).

3. Penentuan kandungan pektin pada buah cabai

Sebelum dilakukan pengukuran absorbansi, dilakukan inkubasi terlebih dulu dengan enzim pektat liase. Sebanyak 0.5 mL enzim pektat liase (*Megazyme*) diencerkan dengan 49.5 mL buffer Tris-HCl (pH 8.0). Selanjutnya, ke dalam kuvet kuarsa dimasukkan 0.5 mL larutan buffer Tris-HCl (pH 8.0), 1 mL larutan sampel, 0.5 mL *deionised water*, dan 0.5 mL enzim pektat liase yang telah diencerkan. Campuran diaduk rata dan diinkubasi selama 30 menit pada 40 °C agar reaksi enzimatik berlangsung optimal. Sebagai kontrol, disiapkan juga dua larutan blanko, yaitu larutan blanko tanpa enzim dan larutan blanko tanpa sampel dengan komposisi seperti tertera pada Tabel 1.

Tabel 1 Komposisi reagen untuk sampel reaksi dan blanko pada analisis pektin

	Tris-HCl buffer (pH 8.0)	Sampel	Deionised Water	Enzim
Blanko enzim	0.5 Ml	1.0 mL	1.0 Ml	-
Blanko sampel	0.5 Ml	-	1.5 Ml	0.5 mL
Reaksi	0.5 mL	1.0 mL	0.5 mL	0.5 mL

Setelah masa 30 menit inkubasi selesai, absorbansi kedua larutan blanko dan sampel (reaksi) segera diukur pada panjang gelombang 235 nm. (*Megazyme Booklet* 2020). Tahapan inkubasi ini dilakukan pada semua sampel cabai yang didapat dari tiga metode yang berbeda. Setelah nilai absorbansi didapat, dilakukan perhitungan konsentrasi pektin didapat dengan memasukkan nilai ΔA ke dalam persamaan di bawah ini:

$$\text{Konsentrasi Pektin (Molar)} = \Delta A / L \times \epsilon$$

Keterangan :

ΔA^* = Absorbansi reaksi – Absorbansi (blanko enzim + blanko sampel)

L = Panjang jalur kuvet (= 1 cm)

ϵ = Koefisien absorptivitas molar dari produk reaksi ($4600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

*Diukur setelah 30 menit inkubasi pada 40°C

Uji Anova dilakukan untuk melihat apakah ada perbedaan kadar pektin antargalur menggunakan Microsoft Excel 2010.

Prosedur Percobaan Kadar Vitamin C

1. Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimal

Penentuan panjang gelombang serapan maksimal dilakukan dengan mengukur serapan larutan standar asam askorbat pada berbagai konsentrasi, yaitu 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2, 2, 3, 4, 5, 6, 8, dan 10 ppm. Serapan larutan standar diukur pada panjang gelombang 245-280 nm dengan interval 5 nm. Panjang gelombang yang menghasilkan nilai serapan tertinggi akan dipilih dan digunakan untuk mengukur absorbansi larutan sampel cabai (Budiarti & Kurnianingrum 2015). Serapan maksimum asam askorbat umumnya adalah pada 265 nm, namun Budiarti dan Kurnianingrum (2015) mendapatkan panjang gelombang maksimum pada 255 nm sedangkan Badriah & Manggara (2015) menemukan panjang gelombang maksimum pada 260 nm, sehingga pada penelitian ini dilakukan

pengukuran pada panjang gelombang 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, dan 280 nm.

2. Pembuatan Kurva Standar Vitamin C

Pelarut asam askorbat menggunakan akuabides bebas CO₂ yang dibuat dengan cara memanaskan akuabides hingga mendidih selama 15 menit kemudian didiamkan hingga suhu ruang dalam wadah tertutup. Sebanyak 10 mg asam askorbat dilarutkan dengan akuabides bebas CO₂ hingga 100 mL dalam labu ukur (100 ppm). Selanjutnya, dari larutan asam askorbat 100 ppm tersebut, dibuat seri larutan standar (0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 1.2, 2, 3, 4, 5, 6, 8, dan 10 ppm) dengan pengenceran menggunakan akuabides bebas CO₂. Pengukuran dilakukan dengan tiga kali ulangan. Nilai absorbansi yang didapat dianalisis menggunakan *Microsoft Excel* dan diubah ke dalam bentuk kurva standar untuk mendapatkan persamaan. Persamaan yang dihasilkan dari kurva standar akan digunakan untuk menentukan konsentrasi vitamin C (dalam ppm) pada sampel cabai.

3. Ekstraksi Sampel dan Pengukuran Konsentrasi Vitamin C

Ekstraksi dilakukan berdasarkan metode Badriyah & Manggara (2015) dengan modifikasi. Bubuk cabai beku ditimbang sebanyak 50 mg dalam *beaker glass* lalu ditambahkan sekitar 20 mL akuabides bebas CO₂ kemudian diaduk sekitar 30 detik. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL lalu ditera dengan akuabides bebas CO₂ hingga tanda batas. Larutan kemudian disaring dengan kertas Whatman hingga didapatkan sekitar 5-10 mL filtrat. Filtrat kemudian dipipet sebanyak 2.5 mL ke dalam kuvet kuarsa dan diukur serapannya pada panjang gelombang hasil optimasi. Nilai serapan yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam persamaan kurva standar untuk mendapatkan nilai konsentrasi vitamin C (ppm) pada sampel (Budiarti & Kurnianingrum 2015; Badriyah & Manggara 2015).

4. Penentuan konsentrasi Vitamin C

Penelitian konsentrasi Vitamin C ini ditentukan menggunakan persamaan polinomial ($y = ax^2 + bx + c$.) yang dihasilkan dari kurva standar. Hal ini dilakukan

untuk mendapatkan nilai konsentrasi vitamin C yang lebih akurat dan lebih mendekati nilai sebenarnya.

Keterangan :

y = konsentrasi vitamin C (ppm)

a, b, c = konstanta kurva standar

x = nilai absorbansi larutan

Uji Anova kemudian dilakukan untuk melihat apakah ada perbedaan kadar vitamin C antargalur menggunakan *Microsoft Excel* 2010.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Pektin

LBT (LB Tahan simpan) adalah galur cabai merah keriting yang memiliki umur simpan sekitar 20 hari pada suhu ruang dan LBTT (LB Tidak Tahan simpan) merupakan galur cabai merah keriting yang memiliki umur simpan kurang dari 20 hari (Wahyuni 2021). LBT dan LBTT merupakan hasil persilangan dari varietas SSP dan varietas Laris. SSP adalah varietas cabai yang memiliki keunggulan umur simpannya yang panjang, kemudian disilangkan dengan Laris, varietas komersial yang memiliki keunggulan produktivitas yang tinggi. Dari persilangan kedua tetua tersebut dipilih galur cabai yang memiliki keunggulan tahan simpan dan produktivitas yang tinggi. Kemudian dianalisis perbandingan antara galur LBT, galur LBTT, varietas SSP dan varietas Laris untuk mengetahui perbedaan kandungan pektin, korelasi kadar pektin dengan ketahanan simpannya dan kemudian juga ingin melihat perbedaan kandungan vitamin C yang ada pada 4 jenis cabai tersebut, berbeda atau tidak antara galur dan tetuanya.

Pektin adalah komponen umum yang terdapat pada bagian tanaman, sebagai elemen struktural yang bermanfaat pada pertumbuhan jaringan dan juga komponen utama lamela tengah jaringan tanaman. Pektin memiliki fungsi sebagai perekat dan untuk menjaga stabilitas keutuhan jaringan dan sel tanaman (Herbstreith & Fox. 2005). Karena fungsinya tersebut, maka penelitian ini dilakukan atas dasar hipotesis bahwa semakin tinggi kandungan pektin pada buah cabai, semakin stabil struktur fisik buah cabai sehingga semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk terjadinya pembusukan (semakin tahan simpan). Sebagai acuan, kandungan pektin *Capsicum annum* cabai Peru *Carezo redondo* yaitu 11 % dan *Cerezo triangular* 18 % . (Arroyo *et al*, 2012). Namun, belum ditemukan ada penelitian spesifik mengenai kandungan pektin pada cabai merah keriting (*Capsicum annum* L).

Cabai merupakan produk pertanian yang mudah mengalami penurunan mutu. Syahri dan Renny Utami Somantri (2015) menyatakan mutu cabai menurun karena disebabkan sifat fisiologi yang mudah rusak, kandungan air tinggi 90% sehingga menyebabkan *evapotranspirasi* yang berlangsung tetap, dan kulit cabai tipis membuat mikroba mudah merusaknya, lebih cepat matang (*ripening*) dan

segera diikuti oleh proses pembusukan. Kerusakan yang disebabkan oleh kurang hati-hatinya manusia pada proses pascapanen, kerusakan mekanis pada proses pengangkutan, karena terjadi kelebihan muatan atau benturan pada saat proses transportasi sehingga menyebabkan luka dan cabai menjadi busuk.

Pada penelitian ini dilakukan analisis kandungan pektin ini menggunakan *Pectin Identification Kit (Megazyme)*. Sesuai yang tertulis pada *Megazyme Booklet* (2020), pengukuran ini bersifat semikuantitatif, artinya hasil pengukuran bukanlah nilai sebenarnya, melainkan berupa skala dari nilai sebenarnya yang dapat digunakan sebagai nilai perbandingan. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan nilai perbandingan (komparatif), sehingga data semikuantitatif sudah cukup untuk mendapatkan gambaran yang sesuai mengenai perbandingan kadar pektin antara sampel cabai.

Prinsip kerja penentuan kadar pektin ini adalah kenaikan absorbansi larutan pektin pada panjang gelombang 235 nm UV-Visible akibat aktivitas enzim pektat liase yang memotong asam poligalakturonat menjadi asam-asam oligosakarida tidak jenuh (*Megazyme Booklet* 2020). Nilai absorbansi larutan pektin sampel dinormalkan dengan cara dikurangi dengan nilai absorbansi blanko tanpa enzim dan blanko tanpa sampel. Pemisahan dua blanko ini dilakukan untuk menghindari terjadinya reaksi enzimatik yang dapat mengubah nilai absorbansi jika enzim dan sampel disatukan (*Megazyme Booklet* 2020). Penentuan konsentrasi pektin dilakukan mengikuti rumus yang ada di dalam *Megazyme Booklet*, absorbansi yang telah dinormalkan dibagi dengan tebal kuvet (1 cm) dan koefisien absorptivitas molar. Koefisien absorptivitas molar adalah nilai yang menyatakan kekuatan suatu molekul kimia untuk menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Nilai koefisien absorptivitas pektin pada panjang gelombang 235 nm adalah $4600/M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (*Megazyme Booklet* 2020).

Pada tahap persiapan larutan untuk pengukuran kandungan pektin, bubuk cabai dilarutkan dengan *deionized water* selama 30 menit untuk melarutkan komponen pektin dari dinding sel tanaman. Kemudian pH dinaikkan menjadi 12 dan didiamkan selama 15 menit yang keduanya bertujuan untuk mengubah pektin menjadi asam pektat. Setelah 15 menit, pH diturunkan menjadi 8 yang merupakan pH maksimal untuk kerja enzim pektat liase (*Megazyme Booklet* 2020).

Optimasi Analisis Pektin Sesuai Protokol dan Modifikasi Protokol

Analisis pektin pada awalnya dilakukan persis mengikuti protokol uji dari produsen *Pectin Identification Kit* (Megazyme Booklet 2020). Namun, hasil yang didapatkan adalah nilai ΔA yang negatif pada semua sampel seperti yang terlihat pada tabel 2. Pelaksanaan analisis sesuai protokol menghasilkan nilai cabai LBT negatif, LBTT negatif, Laris negatif dan SSP juga negatif. Hal ini terjadi karena nilai absorbansi total kedua blanko (blanko enzim dan blanko sampel) lebih tinggi dibandingkan nilai absorbansi sampel. Kenaikan nilai absorbansi sampel yang sangat kecil (lebih kecil dari kedua blanko) menimbulkan dugaan bahwa kemungkinan sampel awal yang digunakan kurang banyak sehingga pektin yang terukur pun sangat sedikit.

Tabel 2 Optimasi konsentrasi pektin hasil pengukuran sesuai protokol (metode 1) dan sesuai protokol dengan modifikasi (metode 2)

Sampel Cabai	Konsentrasi Pektin (Molar)	
	Metode 1 (10^{-5})	Metode 2 (10^{-5})
SSP	-1.15 ± 0.10	-1.21 ± 0.68
Laris	-1.32 ± 0.06	-0.15 ± 1.06
LBT	-1.11 ± 0.08	3.09 ± 1.24
LBTT	-1.09 ± 0.23	0.56 ± 0.61

Keterangan : SSP (cabai merah keriting SSP), Laris (cabai merah keriting Laris), LBT (cabai merah keriting LB Tahan simpan), LBTT (cabai merah keriting LB tidak tahan simpan). Nilai konsentrasi adalah rata-rata dari sembilan ulangan (tiga ulangan biologis dikali tiga ulangan teknis).

Karenanya, dilakukan uji kedua dengan menambah jumlah sampel bubuk cabai dan 2-propanol menjadi 10 kalinya. Hasil yang didapatkan ada di Tabel 2 yaitu nilai ΔA positif untuk sampel LBT dan LBTT, namun negatif untuk SSP dan Laris. Berbeda dengan metode pertama, hasil pengukuran dengan metode kedua ini tidak konsisten, bahkan antar ulangan pada sampel yang sama. Terdapat nilai ΔA negatif dan positif dalam ulangan dari satu sampel yang sama. Hal ini menyebabkan besarnya rentang standard deviasi pengukuran. Selain itu, dengan jumlah sampel

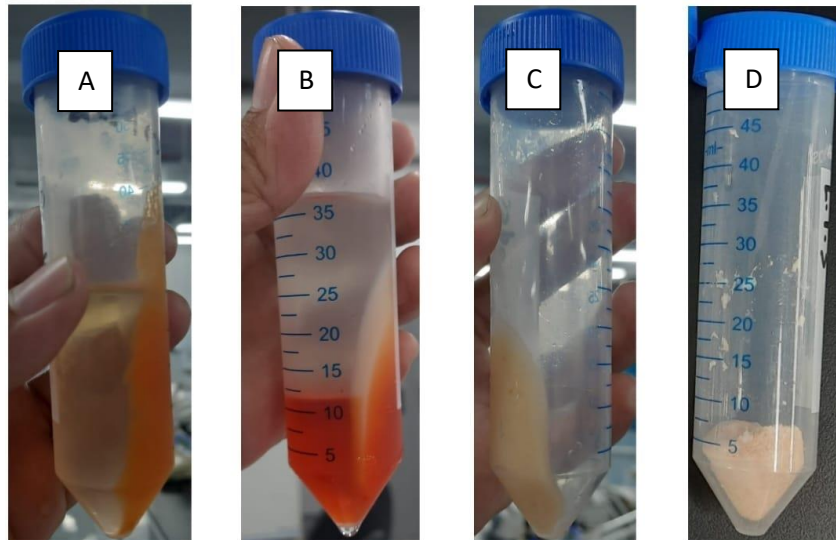
yang 10 kali lebih banyak (0.5 gram), konsentrasi pektin yang dihasilkan 10 kali lebih kecil dari metode pertama. Sehingga hasil kandungan pektin kedua metode ini tidak bisa dijadikan untuk hasil penelitian, melainkan hanya optimasi.

Metode yang kedua ini, dapat disimpulkan hasilnya tidak lebih baik dari metode pertama dan kemungkinan bahwa jumlah sampel bukanlah penyebab nilai absorbansi yang negatif, melainkan dikarenakan pada sampel cabai masih banyak zat pengotornya sehingga penyerapan absorbansi larutan tidak maksimal. Gandjar & Rohman (2012) menjelaskan syarat yang harus dipenuhi pada metode spektrofotometri agar hasil analisis kandungan pada bahan makanan maksimal adalah radiasi yang digunakan harus monokromatik, tidak ada molekul lain ketika sinar radiasi diserap oleh larutan, tidak terjadi reaksi kimia ketika radiasi mengalami penyerapan oleh larutan sampel, larutan harus dalam kondisi jernih agar tidak terjadi hamburan cahaya oleh partikel koloid dalam larutan, dan konsentrasi analit rendah, karena jika konsentrasi analit tinggi, kelinearan akan terganggu, yang disebabkan oleh grafis absorbansi yang bertabrakan dengan konsentrasi larutan yang tinggi. Beberapa parameter tersebut tidak terpenuhi pada pengujian dengan metode pertama dan kedua, terutama warna larutan cabai yang tidak jernih (sedikit merah). Karenanya, pada metode selanjutnya dilakukan pemurnian pektin dari sampel cabai dilanjutkan dengan pemisahan beta karoten untuk menjernihkan larutan yang akan diuji.

Analisis Pektin dengan Purifikasi dan Pemisahan Beta Karoten

Dua metode yang dilakukan sebelumnya gagal untuk menghasilkan nilai ΔA yang memuaskan. Melalui metode kedua juga dibuktikan bahwa nilai ΔA yang negatif bukan disebabkan karena kurangnya jumlah sampel yang dianalisis, namun disebabkan karena larutan pada cabai memiliki zat warna. Cabai merah merupakan buah yang kaya akan zat warna. Warna merah pada cabai dihasilkan terutama oleh senyawa beta karoten, beta karoten adalah salah satu produk yang dihasilkan dari karotenoid (Badarinath *et al.* 2010). Metode ekstraksi pertama dan kedua, beta karoten cabai ikut dalam pengujian sehingga warna larutan menjadi kemerahan. Warna larutan yang tidak jernih akan mengakibatkan terjadinya hamburan cahaya oleh partikel koloid dalam larutan (Gandjar & Rohman 2012). Hal inilah yang

diduga mengakibatkan total absorbansi blanko lebih tinggi dibandingkan absorbansi reaksi. Metode ekstraksi cara ketiga ini, dilakukan purifikasi pektin dan pemisahan beta karoten dari sampel pektin. Tujuannya adalah agar warna larutan yang dihasilkan menjadi jernih



Gambar 4 Tahapan purifikasi pektin dan pemisahan beta karoten

Keterangan : A (Pektin adalah pelet yang menempel). B (Karotenoid cairan berwarna oren).

C (Hasil ekstraksi pektin atau pelet). D (Pektin setelah di *freeze-dry, overnight*)

Perubahan warna pada sampel cabai merah keriting dapat dilihat pada Gambar 4, yang menunjukkan perbedaan warna sampel dari jingga berubah menjadi putih, yang disebabkan karena proses purifikasi pektin, dengan menggunakan metode ekstraksi pektin Fazio *et al.* (2020). Ekstraksi dijelaskan oleh Ryan (2011) adalah proses memisahkan bahan cair atau bahan padat dengan bantuan pelarut, dan tujuan dilakukan ekstraksi ini untuk memisahkan pektin yang terdapat di jaringan tanaman (Nurhikmat. 2003). Pektin dapat dilarutkan dengan menggunakan beberapa pelarut seperti air, senyawa organik, dan asam. Saat dilakukan ekstraksi pektin, senyawa pektin akan berubah karena terjadi proses hidrolisis protopektin menjadi pektinat (pektin), perubahan senyawa pektin tersebut disebabkan karena adanya pemanasan dalam asam pada suhu yang tinggi dan dengan lama ekstraksi tertentu. Jika dilakukan pemanasan yang cukup lama, pektinat akan berubah menjadi asam pektat (Antika & Kurniawati. 2017). Sedangkan purifikasi yang kedua yaitu dengan menghilangkan zat beta karoten pada cabai dilakukan berdasarkan metode Wahyuni *et al.* (2011). Setelah selesai

kedua tahapan tersebut, barulah sampel pektin yang dihasilkan dianalisis sesuai dengan protokol *Megazyme Booklet* (2020).

Tabel 3 Konsentrasi pektin purifikasi protokol dan beta karoten

Sampel Cabai	Konsentrasi Pektin (Molar)	Umur Simpan (suhu ruang)
	Metode 3 (10^{-4})	
SSP	1.35 ± 0.09	20 hari
Laris	1.25 ± 0.16	12 - 14 hari
LBT	1.26 ± 0.12	20 hari
LBTT	1.16 ± 0.13	12-14 hari

Keterangan : SSP (cabai merah keriting SSP), Laris (cabai merah keriting Laris), LBT (cabai merah keriting LB Tahan simpan), LBTT (cabai merah keriting LB Tidak Tahan simpan). Nilai konsentrasi adalah rata-rata dari sembilan ulangan (tiga ulangan biologis dikali tiga ulangan teknis).

Hasil penelitian menggunakan metode ketiga ini dapat dilihat pada Tabel 3 yaitu nilai ΔA yang dihasilkan positif pada semua sampel dengan nilai standard deviasi yang cukup konsisten berkisar 10% dari nilai rata-rata. Konsentrasi yang didapat pun lebih besar sekitar 10 kali lipat dibandingkan dengan pengukuran pada metode pertama. Penggunaan *Pectin Identification Kit (Megazyme)* untuk mengukur dan membandingkan konsentrasi pektin pada buah cabai baru dilakukan pada studi ini dan menjadi yang pertama di Indonesia. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa analisis menggunakan *Pectin Identification Kit (Megazyme)* untuk sampel makanan yang berwarna tidak dapat langsung dilakukan sesuai protokol yang diberikan. Penemuan ini dapat menjadi acuan bagi penelitian lainnya yang serupa agar terlebih dahulu mengidentifikasi dan menghilangkan zat warna yang ada pada sampel makanan agar pengukurannya akurat.

Nilai konsentrasi pada Tabel 3 didapatkan konsentrasi pektin tertinggi yang diperoleh dengan metode ketiga ini ada pada cabai SSP sebesar 1.35×10^{-4} M dan nilai konsentrasi pektin terendah adalah cabai LBTT, yaitu 1.16×10^{-4} M, dari tabel tersebut didapatkan perbedaan nilai konsentrasi pektin yang tidak berbeda jauh, cabai SSP paling tinggi kandungan pektinnya, cabai LBT berada di urutan kedua kandungan pektinnya, kemudian cabai laris berada di urutan ketiga kandungan pektinnya dan di urutan terakhir cabai LBTT kandungan pektinnya paling rendah,

namun hasil konsentrasi pektin tersebut, belum bisa menjadi hasil akhir dari penelitian ini, perlu dilakukan analisis statistik ANOVA.

Uji ANOVA dilakukan menggunakan *Microsoft Excel* untuk mendapatkan nilai signifikan (P) dan menentukan apakah ada perbedaan konsentrasi pektin yang signifikan pada sampel yang diuji. Nilai P yang lebih kecil dari 0.05 menunjukkan setidaknya ada salah satu sampel dengan konsentrasi pektin yang berbeda signifikan. Penelitian ini, menghasilkan nilai P 0.446 (lebih besar dari 0.05) yang mengindikasikan bahwa tidak ada sampel yang memiliki konsentrasi pektin yang berbeda signifikan. Secara statistik konsentrasi pektin pada semua sampel bisa dianggap sama dan bisa diambil kesimpulan, ketahanan daya simpan pada sampel cabai yang diuji tidak bergantung pada banyak sedikitnya kandungan pektin.

Pada penelitian ini didapatkan hasil, bahwa kandungan pektin bukanlah faktor yang mempengaruhi daya tahan simpan cabai merah keriting yang diuji. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Pratiwi (2022), pada cabai tahan simpan aktivitas enzim pendegradasi pektin lebih rendah dibandingkan pada cabai yang tidak tahan simpan. Cabai merupakan buah klimaterik, yang berarti proses fisiologis termasuk kerja enzim masih berjalan setelah proses panen (Zulkarnaen 2009). Faktor aktivitas enzimatis inilah yang mungkin menjadi penyebab perbedaan sifat ketahanan simpan cabai.

Analisis Vitamin C

Analisis vitamin C pada penelitian ini dilakukan dengan metode spektroskopi yang mengacu pada prosedur dari Budiarti dan Kurnianingrum (2015), dan Badriah & Manggara (2015). Prinsip penentuan konsentrasi vitamin C adalah dengan memasukkan nilai absorbansi sampel ke dalam persamaan yang didapat dari kurva standar. Kurva standar dibuat dengan cara menyiapkan larutan standar asam askorbat pada berbagai konsentrasi lalu diukur pada panjang gelombang 265 nm yang merupakan panjang gelombang serapan maksimum asam askorbat secara umum. Pengukuran larutan standar pada penelitian ini dilakukan pada λ 245-280 nm dengan interval 5 nm. Setelah didapatkan persamaannya, larutan cabai merah keriting kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang maksimum hasil optimasi

dan nilainya dimasukkan ke dalam persamaan hingga didapatkan konsentrasi vitamin C (Badriah & Manggara. 2015) Metode ini merupakan cara cepat untuk penentuan konsentrasi vitamin C pada sampel uji terutama untuk analisis perbandingan yang tidak memerlukan konsentrasi akurat.

Optimasi Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Panjang gelombang serapan maksimum asam askorbat yang didapat dari penelitian ini yaitu 265 nm, yang dapat dilihat pada Tabel 4. Nilai absorban naik mulai 245 nm hingga 265 nm dan pada panjang gelombang 270 nm absorbansi larutan asam askorbat baru mengalami penurunan. Nilai serapan maksimum larutan standar tersebut, kemudian diplot ke dalam grafik sebar untuk didapatkan persamaan kurva standar.

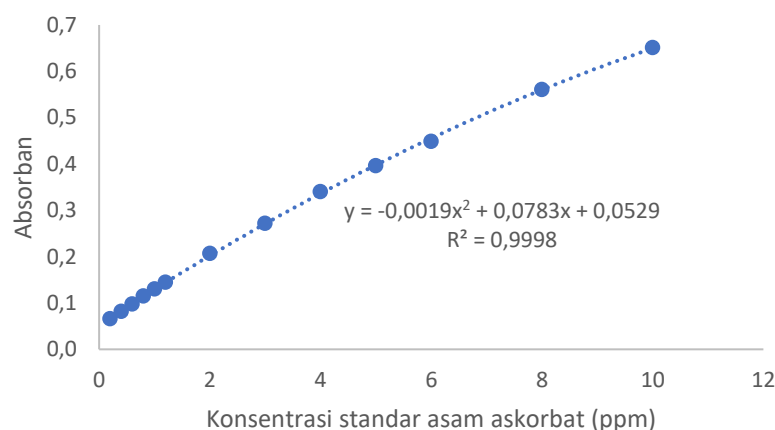
Tabel 4. Hasil pengukuran serapan larutan standar asam askorbat.

Konsentrasi (ppm)	Panjang gelombang							
	245	250	255	260	265	270	275	280
0,1	0,048	0,051	0,053	0,055	0,056	0,055	0,054	0,052
0,2	0,053	0,058	0,061	0,064	0,066	0,065	0,062	0,058
0,4	0,059	0,067	0,073	0,079	0,082	0,08	0,075	0,068
0,6	0,066	0,076	0,086	0,094	0,098	0,096	0,088	0,077
0,8	0,074	0,086	0,099	0,11	0,115	0,112	0,101	0,087
1	0,081	0,096	0,111	0,124	0,13	0,126	0,113	0,095
1,2	0,088	0,106	0,123	0,138	0,145	0,14	0,125	0,104
2	0,121	0,147	0,173	0,197	0,207	0,198	0,173	0,138
3	0,16	0,194	0,229	0,259	0,272	0,258	0,223	0,175
4	0,205	0,247	0,29	0,326	0,34	0,32	0,274	0,211
5	0,246	0,294	0,343	0,383	0,396	0,371	0,315	0,24
6	0,288	0,342	0,395	0,437	0,449	0,419	0,354	0,269
8	0,381	0,446	0,506	0,552	0,561	0,519	0,435	0,326
10	0,468	0,539	0,602	0,648	0,651	0,597	0,479	0,37

Keterangan : Nilai serapan maksimum ditandai dengan huruf tebal.

Persamaan kurva standar yang dipilih pada penelitian ini adalah persamaan polinomial derajat 2. Hal ini dilakukan untuk mendapatkan perhitungan konsentrasi vitamin C seakurat mungkin. Hasil analisis menggunakan *Microsoft Excel*

mendapatkan persamaan kurva standar $y = -0.0019x^2 + 0.0783x + 0.0529$ dengan R^2 sebesar 0.9998. Koefisien korelasi (R) yang didapat sebesar 0.9999. Koefisien korelasi menunjukkan seberapa kuat hubungan antara dua variabel yang diuji (pada penelitian ini konsentrasi dan absorbansi) Semakin mendekati 1, maka semakin kuat hubungannya. Nilai koefisien korelasi yang didapat adalah 0.9999 yang menunjukkan bahwa konsentrasi dan absorbansi memiliki hubungan yang sangat kuat.



Gambar 5. Grafik Kurva Standar Asam Askorbat

Persamaan kurva standar dapat dilihat di atas yaitu pada Gambar 5, y merupakan nilai absorbansi larutan, sehingga diperlukan konversi untuk menghasilkan persamaan y konsentrasi larutan. Menggunakan fungsi analisis regresi pada *Microsoft Excel*, nilai serapan larutan standar pada panjang gelombang 265 nm diolah hingga menghasilkan persamaan $y = 8.626x^2 + 10.488x - 0.5167$ dengan y adalah konsentrasi vitamin C (ppm). Persamaan inilah yang digunakan untuk menghitung konsentrasi vitamin C pada sampel.

Analisis Kandungan Vitamin C Pada Cabai Merah Keriting

Pengukuran absorbansi pada larutan sampel cabai menggunakan panjang gelombang hasil optimasi, yaitu 265 nm. Konsentrasi vitamin C dapat dilihat pada Tabel 5, tertinggi ada pada cabai LBT yaitu sebanyak 2.56 ppm dan konsentrasi terendah ada pada cabai laris yaitu sebanyak 1.66 ppm. Nilai ini lebih kecil dibandingkan konsentrasi vitamin C pada cabai merah yang didapatkan Badriah &

Manggara (2015), yaitu sebanyak 4.46 ppm. Namun, Budiarti dan Kurnianingrum (2015) hanya mendapat konsentrasi vitamin C pada cabai merah sebanyak 0.24 ppm. Penelitian Budiarti dan Kurnianingrum (2015) menghitung konsentrasi vitamin C dengan cara tidak langsung, yaitu dengan menghitung presentasi inhibisi serapan larutan DPPH 0.05 mM. Hal ini yang mungkin menjadi penyebab kecilnya konsentrasi vitamin C yang didapatkan.

Tabel 5 Kandungan Vitamin C Cabai Merah Keriting

Sampel Cabai	Konsentrasi vit. C ppm
SSP	2,08 ± 0.12
Laris	1,66 ± 0.48
LBT	2,56 ± 0.69
LBTT	1,87 ± 0.66

Keterangan : SSP (cabai merah keriting SSP), Laris (cabai merah keriting Laris), LBT (cabai merah keriting kode LB Tahan), LBTT (cabai merah keriting kode LB tidak tahan). Nilai konsentrasi merupakan rata-rata dari tiga ulangan.

Penelitian Badriah dan Manggara (2015) dilakukan dengan metode yang sama (spektroskopi) dan perhitungan yang sama seperti pada penelitian ini namun kadar vitamin C yang mereka dapatkan lebih tinggi. Menurut Budiarti dan Kurnianingrum (2015), lama waktu penyimpanan mempengaruhi kadar vitamin C pada cabai. Cabai yang lama disimpan akan memiliki kandungan vitamin C lebih rendah dibandingkan dengan cabai segar. Sampel cabai yang digunakan pada penelitian ini adalah bubuk cabai beku yang sudah lama disimpan pada suhu -80 °C sedangkan Badriah dan Manggara (2015) menggunakan cabai segar yang baru dipetik. Hal inilah yang diduga menyebabkan kadar vitamin C yang didapat pada penelitian ini lebih rendah dari hasil yang didapat Badriah dan Manggara (2015).

Terdapat perbedaan konsentrasi vitamin C pada Tabel 5, namun untuk mengambil kesimpulan perlu dilakukan analisis ANOVA. Berdasarkan hasil uji ANOVA, didapatkan nilai P sebesar 0.2764 (lebih besar dari 0.05). Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi vitamin C yang didapat tidak ada yang berbeda signifikan antarsampel atau sama saja.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kadar pektin pada cabai LB tahan (LBT), LB tidak tahan (LBTT), SSP, dan laris tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa kadar pektin bukanlah faktor yang mempengaruhi daya tahan simpan pada cabai yang diuji. Kadar vitamin C pada keempat galur cabai yang diuji juga tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini menjadi indikasi yang baik karena kadar vitamin C tetap sama, tidak berubah karena pengaruh karakter fisiknya. Sebagai tambahan, dapat disimpulkan juga bahwa untuk menggunakan *Pectin Identification Kit (Megazyme)*, diperlukan identifikasi dan pemisahan senyawa berwarna dari sampel uji agar hasilnya maksimal.

Saran

Diperlukan studi lebih lanjut untuk mendapatkan jawaban mengenai faktor yang mempengaruhi ketahanan daya simpan cabai. Studi lanjutan yang dapat dilakukan di antaranya analisis komponen struktural dinding sel yang lain selain pektin, seperti selulosa dan lignin atau mengukur aktivitas enzim-enzim pemecah komponen dinding sel misalnya poligalakturonase. Agar kadar vitamin C pada cabai dapat diukur dengan lebih akurat, disarankan pengukuran dilakukan pada saat cabai masih segar (baru dipetik) tanpa mengalami penyimpanan terlebih dahulu.

DAFTAR PUSTAKA

- Andy, S. Mukhammad, R. & Nur, B. 2015. Keragaman fenotip generasi F2 empat cabai hibrida pada lahan organik (*Capsicum annuum L.*). *Jurnal Produksi Tanaman*. 3 (4) : 259 – 268
- Antika, R.S. & Kurniawati, P. 2017. Isolasi dan Karakterisasi Pektin dari Kulit Nanas. *Surabaya : Prosiding Seminar Nasional Kimia FMIPA UNESA*. ISBN : 978-602-0951-15-7
- Aziz, T. Johan, M.E.G., & Sri, D. 2018. Pengaruh jenis pelarut, temperatur dan waktu terhadap karakterisasi pektin hasil ekstraksi dari kulit buah naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Teknik Kimia*. 24 (1) : 17-27.
- Badarinath, A.V., Mallikarjuna, A., Chetty, C.M.S., Ramkanth, S., Rajan, T.V.S., & Gnanaprakash, K. 2010. A Review on In-vitro Antioxidant Methode Comparisions, Correlations and Consideration. *Jurnal Internasional PharmTech* 2 (2) : 1276-1285.
- Badriah, L. & Manggara, B. A. 2015. Penetapan kadar vitamin C pada cabai merah (*Capsicum annum L.*) Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Wiyata*. 2 (1) : 2355 – 6498
- Budiarti. A., & Kurnianingrum. E.A.D. 2015. Pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kandungan vitamin C dalam cabai merah (*Capsicum annum. L*) dan aktivitas antioksidannya [Karya Tulis Ilmiah]. Jawa Tengah (ID): Universitas Wahid Hasyim
- Fazio A. Torre L. C., Dalena. F. Plastina. P. 2020. Screening of glucan and pectin contents in broad bean (*Vicia faba L.*) pods during maturation. *Journal European Food Research and Technology*. 246 : 333 – 347
- Gandjar, I.G. & Rohman, A. 2012. *Analisis Obat Secara Spektroskopi dan Kromatografi*. Yogyakarta (ID) : Pustaka Pelajar
- Hansen, K. M., Thuesen, A. B. & Soderberg, J. R. 2001. Enzyme assay for identification of pectin and pectin derivatives, based on recombinant pectate lyase. *Jurnal AOAC Internasional*. 84 (2) : 1851-1854.
- Herbstreith, K. & Fox, G. 2005. Pectin [Internet]. [diakses 2022 Mei 15]. Tersedia Pada:<http://www.herbstreithfox.de/pektin/forschungundentwicklung/forschungentwicklung04a.htm>
- Irjayanti DA, Wibowo SA, Sumartani PN, Nurfalah Z, Adani DA, Sijabat SM, Sitomerang N, Iman Q, Damayanti RS, Putra RY. 2022. *Statistik Hortikultura 2021*. Setiawati R, Marpaung HT, editor. Jakarta (ID) : BPS RI
- Injilauddin, A.S., Lutfi, M. & Nughroho, A. 2015. Pengaruh suhu dan waktu pada proses ekstraksi pektin dari kulit buah nangka (*Artocarpus heterophyllus*). *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*. 3 (3) : 280-286.
- Johnson, C. S., Steinberg, F. M., Rucker, R.B. 1998. *Hand book of Vitamins*. New York [US] : Marcel Dekker
- John. D. 2020. Pengelolaan cabai untuk memperpanjang masa simpan. *Jurnal Pertanian Agros*. 22 (2) : 290 - 298
- Kementerian Perdagangan Republik Indonesia. 2016. Perkembangan kontribusi cabai terhadap inflasi setiap bulan pada tahun 2015-2016 [Internet]. [diakses 2022 Mei 27]. Tersedia Pada : <https://www.kemendag.go.id/id>

- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2019. Data produksi, ekspor, impor dan konsumsi cabai nasional 2015-2018 [Internet]. [diakses 2022 Mei 27]. Tersedia Pada : <https://www.pertanian.go.id/id>
- Legowo, B.D. & Ajis, P.B.N. 2020. Penetapan kadar vitamin C pada beberapa jenis cabai (*Capsicum sp*) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Indonesia AFAMEDIS* 1 (1) : 64 - 71
- Lilis. R., Widia. N., Ayu. P. N., Haula. N. 2018. Penentuan kadar vitamin C beberapa jenis cabai (*Capsicum sp.*) dengan spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Kimia Riset*. 3 (1) : 1 - 5
- Malahayati N. & Fadli M. 2018. *Distribusi Perdagangan Komoditas Cabai Merah Indonesia Tahun 2018*. Karmiati M, editor. Jakarta (ID) : BPS RI
- Megazyme Booklet. 2020. *Pectin Identification Kit*. Ireland : Bray Business Park, Bray, Co. Wicklow, A98 YV29
- Naidu, A.K. 2003. Vitamin C in human health and disease is still a mystery. *Nutrition BioMed Journal* . 7 (2) : 1 – 10
- Nagy, Z., Daood, H., Ambrózy, Z., & Helyes, L. 2015. Determination of polyphenols, capsaicinoids, and vitamin C in new hybrids of chili peppers. *Journal of analytical methods in chemistry*, 2015.
- Nurhikmat, A. (2003). Ekstraksi Pektin dari Apel Lokal: Optimalisasi pH dan Waktu Hidrolisis. Balai Pengembangan Proses dan Teknologi Kimia–LIPI: Yogyakarta.
- Oktoviana. Yanti. Aminah. S., & Sakung. J. 2012. Pengaruh lama penyimpanan dan konsentrasi natrium benzoat terhadap kadar vitamin C cabai merah (*Capsicum annuum L.*). *Jurnal Akademika Kimia*. 4 (1) : 193 - 199
- Pratiwi, D. F. 2022. Analisis ekspresi kandidat gen penyandi enzim pendegradasi pektin pada proses pematangan buah cabai (*Capsicum annuum L.*) [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Rao, G.U. & Paran, I. 2003. Polygalacturonase: A candidate gene for the soft flesh and deciduous fruit mutation in Capsicum. [Artikel] *Plant Molecular Biology* 51 (1) : 135 –141. [diakses 2022 Mei 27]. Tersedia Pada : Polygalacturonase: a candidate gene for the soft flesh and deciduous fruit mutation in Capsicum - PubMed (nih.gov)
- Rukmana, R. & Yuniarsih, Y. 2005. *Penanganan Pascapanen Cabai Merah*. Yogyakarta (ID) : Kanisius.
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan penyelamat sel-sel tubuh manusia. *Jurnal Biotrend*. 4 (1) : 5 – 9
- Ryan. N. 2011. *Proses Ekstraksi*. <http://scribd.com/doc/71155560/proses-ekstraksi>
- Syahri & Renny, U.S. 2015. *Penanganan Segar Untuk Mempertahankan Mutu dan Menekan Susut Bobot Cabai Selama Penyimpanan*. [Karya Tulis Ilmiah]. Sumatera Selatan (ID) : Balai Pengkajian Teknologi Pertanian.
- Sutrisno. 2015. Ketersediaan cabai merah (*Capsicum annuum L.*) dalam menopang ketahanan pangan di kabupaten pati. *Jurnal Litbang*. 9 (1) : 38 – 45
- World Health Organization. 2007. Dietary intake Vitamins C Recommendation [Internet]. [diakses 2022 Mei 15]. Tersedia Pada : <https://www.who.int>
- Winarno, F. G. 2002. *Fisiologi Lepas Panen Produk Hortikultura*. Bogor (ID) : M-Brio Press.
- Wahyuni. 2021. *Laporan LPDP PRN Cabai Tahan Simpan*. Bogor (ID) : BRIN

- Wahyuni Y. Ballester A. R., Sudarmonowati E. Bino R. J., Bovy A.G. 2011. Metabolite biodiversity in pepper (*Capsicum*) fruits of thirty-two diverse accessions: Variation in health-related compounds and implications for breeding. *Journal Phytochemistry*. 72 (11–12) : 1358 – 1370
- Yani S & Ratriningsih A, D. 2006. *Pengeringan Cabai*. Jakarta (ID) : Penebar Swadaya
- Zulkarnain. 2009. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Jakarta (ID) : Bumi Aksara.