

PENGARUH PELARUT DALAM BERBAGAI pH PADA PENENTUAN KADAR TOTAL ANTOSIANIN DARI UBI JALAR UNGU DENGAN METODE pH DIFERENSIAL SPEKTROFOTOMETRI

Sani Widyastuti Pratiwi¹, Anggit Ayu Priyani²

^{1,2}Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih Bandung, Jalan Padasuka Atas No. 233, Bandung 40192, Indonesia

*E-mail: sani.widyastuti@gmail.com

**E-mail: anggitayupriyani@gmail.com

Diterima: 29 Oktober 2018. Disetujui: 17 Januari 2019. Dipublikasikan: 30 Januari 2019

DOI: 10.30870/educhemia.v4i1.4080

Abstract: Purple sweet potato has the potential as a natural antioxidant based on the high levels of anthocyanin contained therein. Anthocyanin is polar compounds that are more easily extracted in acidic conditions. Antosianin has benefits as an antioxidant and antidote to free radicals, so it plays a role in preventing the occurrence of aging, cancer, and degenerative diseases and others. The purpose of this study was to determine the appropriate solvent and pH to extract the purple sweet potato anthocyanin by the method of differential pH spectrophotometry. Samples were added 96% ethanol and the aquades were acidified with 1% HCl so the pH of the solvent was 1, 1.5, 2, and 2.5. The extracts obtained were diluted with pH 1 and pH 4.5 solvents and then determined their anthocyanin levels based on the spectrophotometric differential pH method. The results showed that solvent and pH had an effect on total anthocyanin content. The ethanol and pH 1,5 solvents gave the highest total anthocyanin content and the highest purple sweet potato absorbance of 5.9558 mg / L.

Keywords: Anthocyanin, Differential pH Spectrophotometry, pH, Purple Sweet Potato, Solvent.

Abstrak: Ubi jalar ungu berpotensi sebagai antioksidan alami berdasarkan tingginya kadar antosianin yang terkandung didalamnya. Antosianin adalah senyawa polar yang lebih mudah diekstrak dalam suasana asam. Antosianin memiliki manfaat sebagai antioksidan dan penangkal radikal bebas, sehingga berperan dalam mencegah terjadinya penuaan, kanker, dan penyakit degeneratif dan lain-lain. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pelarut dan pH yang tepat untuk mengekstrak antosianin ubi jalar ungu dengan metode pH diferensial spektrofotometri. Sampel ditambahkan etanol 96% dan aquades yang telah diasamkan dengan HCl 1% sehingga pH pelarut menjadi 1, 1,5, 2, dan 2,5. Ekstrak yang didapat diencerkan dengan pelarut pH 1 dan pH 4,5 dan kemudian ditentukan kadar antosianinnya berdasarkan metode pH diferensial spektrofotometri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut dan pH berpengaruh terhadap kadar total antosianin. Pelarut etanol dan pH 1,5 memberikan kadar total antosianin dan absorbansi ubi jalar ungu tertinggi yaitu sebesar 5,9558 mg/L.

Kata kunci: Antosianin, pelarut, pH, spektrofotometri pH diferensial, ubi jalar ungu

PENDAHULUAN

Ubi jalar ungu merupakan salah satu jenis ubi jalar yang banyak ditemui di Indonesia selain yang berwarna putih, kuning dan merah (Harborne 1987). Ubi jalar ungu memiliki warna ungu yang cukup pekat pada daging ubinya, sehingga banyak menarik perhatian. Warna ungu pada ubi jalar disebabkan oleh adanya pigmen ungu antosianin yang menyebar dari bagian kulit sampai dengan daging ubinya.

Antosianin adalah kelompok pigmen yang menyebabkan warna kemerah-merahan, letaknya di dalam cairan sel yang bersifat larut dalam air (Jaya 2013). Senyawa antosianin berfungsi sebagai antioksidan dan penangkap radikal bebas, sehingga berperan untuk mencegah terjadi penuaan, kanker, dan penyakit degeneratif. Selain berfungsi sebagai antioksidan, antosianin memiliki kegunaan lain diantaranya sebagai indikator alami, dan sebagai pewarna pada industri tekstil maupun pangan (Hendrawan 2011). Total kandungan antosianin ubi jalar ungu adalah 11,051 mg/100 gram (Nollet 1996).

Antosianin tergolong pigmen yang disebut flavonoid (Hanum 2010). Senyawa golongan flavonoid termasuk senyawa polar dan dapat diekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar pula. Beberapa pelarut yang bersifat polar

diantaranya etanol, air, asam sitrat dan etil asetat. Penambahan asam klorida atau asam format (asam organik) dalam jumlah yang sedikit juga dilakukan untuk mencegah terjadinya degradasi. Metode ekstraksi maserasi tidak dipanaskan sehingga bahan tidak menjadi terurai dan keuntungan metode ini yaitu prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana (Hendrawan 2011).

Kondisi asam akan mempengaruhi hasil ekstraksi. Keadaan yang semakin asam apalagi mendekati pH 1 akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavilium atau oksonium yang berwarna dan pengukuran absorbansi akan menunjukkan jumlah antosianin yang semakin besar (Heinrich *et al.* 2004). Disamping itu keadaan yang semakin asam menyebabkan semakin banyak dinding sel vakuola yang pecah sehingga pigmen antosianin semakin banyak yang terekstrak (Satyatama 2008).

Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang (Gandjar & Rohman 2007). Keuntungan utama metode ini adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana

angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan. Selain itu juga penggunaan spektrofotometri ini menggunakan alat dan bahan yang sederhana (Kurnia dkk 2018).

Penelitian sebelumnya telah melakukan pengujian stabilitas pigmen antosianin pada ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas*) dan antosianin stabil pada pH 2 (Hendrawan 2011). Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti tertarik untuk mengangkat masalah dengan ini untuk mengetahui pelarut dan pH yang tepat untuk mengekstrak antosianin ubi jalar ungu dengan metode pH diferensial spektrofotometri.

METODE

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* (L.) Lamk) yang berasal dari Sumedang, Indonesia. Aquades dan Etanol 96% digunakan untuk mengekstrak ubi jalar ungu. Dietil eter digunakan sebagai larutan untuk partisi. Larutan pH 1 dan pH 4,5 digunakan sebagai pengatur pH. Natrium hidroksida 2M dan asam klorida 2M digunakan sebagai pereaksi. Asam klorida 1% digunakan sebagai pengasam.

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya adalah Seperangkat alat gelas, Lumpang alu digunakan untuk

menumbuk ubi jalar ungu, Spektrofotometer UV-VIS T80 untuk mengukur konsentrasi antosianin dalam ekstrak ubi jalar ungu, pH-meter Mettler Toledo mengatur pH dalam proses maserasi ubi jalar ungu.

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah ekstraksi ubi jalar ungu dengan aquades atau etanol 96% yang telah diasamkan dengan asam klorida 1% (pH 1, 1,5, 2, dan 2,5), filtrat yang dihasilkan kemudian dipartisi dengan dietil eter dan diuji fitokimia antosianin dengan asam klorida 2M dan natrium hidroksida 2M. Kemudian ekstrak diukur kadarnya dengan spektrofotometer UV-VIS T80 pada panjang gelombang 505nm dan 700nm dengan menambahkan larutan pH 1 dan pH 4,5. Data yang dihasilkan dihitung dengan menggunakan rumus untuk mendapatkan kadar total antosianin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan ubi jalar ungu sebagai sampel dalam penelitian ini karena mempunyai kadar total antosianin yang lebih besar dari pada varietas ubi jalar yang lainnya juga dengan tanaman berwarna lainnya yaitu sebesar 11,051 mg/100 gram (Pakorny *et al.* 2001).

Senyawa antosianin diekstrak dengan etanol dan aquades yang diasamkan dengan HCl 1% (pH 1, 1,5, 2, dan 2,5). Etanol dan aquades adalah pelarut yang

memiliki sifat polar dan mempunyai tingkat kepolaran yang hampir sama dengan antosianin, selain itu juga etanol dan aquades relatif murah harganya dan mudah untuk mendapatkannya. Pada beberapa penelitian, HCl 1% menunjukkan jenis pengasam paling efektif karena dapat mendenaturasi membran sel tanaman dan melarutkan senyawa antosianin keluar dari sel (Gao & Mazza 1996).

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk dalam cairan pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif (Giusti & Worlsta 2001). Maserasi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat pada ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Proses pengekstraksian komponen kimia dalam tanaman yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi kesetimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan diluar sel

(Hambali dkk 2014). Proses ekstraksi dilakukan selama 24 jam, hal ini agar lebih menghasilkan ekstrak yang maksimal dan waktu kontak antar pelarut untuk berinteraksi dengan zat yang akan diekstrak lebih lama. Pada saat proses ekstraksi dilakukan suhu ruang dan dilakukan dengan keadaan gelap dimana digunakan aluminium foil untuk menutupnya, hal disebabkan karena antosianin mudah teroksidasi oleh pengaruh suhu dan cahaya. Setelah didapatkan ekstrak ubi jalar ungu, lalu dipartisi dengan corong pisah dengan penambahan dietil eter yang berfungsi untuk memisahkan komponen non-antosianin, sebab dietil eter merupakan pelarut yang memiliki sifat non polar sedangkan antosianin memiliki sifat polar, sehingga antosianin akan berada dalam pelarut yang bersifat polar (aquades).

Dalam menentukan keberadaan antosianin di dalam ekstrak ubi jalar tersebut maka dilakukan uji fitokimia. Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa antosianin berupa uji warna yang menggunakan NaOH 2M dan HCl 2M. hasil dari uji fitokimia antosianin dapat dilihat pada Tabel 1.

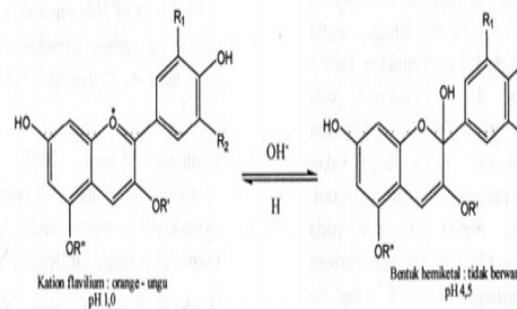
Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Antosianin dalam Ubi Jalar Ungu dengan menggunakan Larutan Asam, Larutan Basa dan Analisis Panjang Gelombang Dengan Spektrofotometri

No.	Uji	Hasil	Ket
1.	Dipanaskan dengan HCl 2M selama 5 menit pada suhu 100°C	Warna tetap (merah)	
2.	Ditambahkan dengan NaOH 2M tetes demi tetes	Warna berubah menjadi hijau biru dan memudar perlahan-lahan	Positif Antosianin (+)
3.	Spektrum dalam pelarut etanol-HCl 1% dan aquades-HCl 1%	Panjang gelombang maksimal 505 nm	

Pada saat penentuan panjang gelombang maksimum dari larutan yang terdapat pada ubi jalar didapatkan panjang gelombang maksimum sebesar 505 nm yang merupakan panjang gelombang dari Antosianin sehingga berdasarkan uji kualitatif dapat ditentukan terdapat antosianin di Ubi jalar tersebut. Selain pH, antosianin juga dipengaruhi oleh jumlah gugus hidroksi dan metoksi. Gugus hidroksi yang dominan akan menyebabkan warna cenderung biru dan relatif tidak stabil sedangkan, gugus metoksi yang dominan menyebabkan warna merah dan relatif lebih stabil.

Pengukuran kadar total antosianin dilakukan dengan menggunakan metode pH diferensial spektrofotometri (Giusti &

Worlsta 2001). Metode pH diferensial spektrofotometri merupakan perhitungan melalui perbedaan absorbansi sinar tampak pada pH yang berbeda, yaitu pada pH 1 dan pH 4,5. Pada pH 1 antosianin berbentuk kation flavilium yang berwarna merah, sedangkan pada pH 4,5 antosianin berbentuk hemiketal yang tak berwarna, dapat dilihat pada Gambar 1.



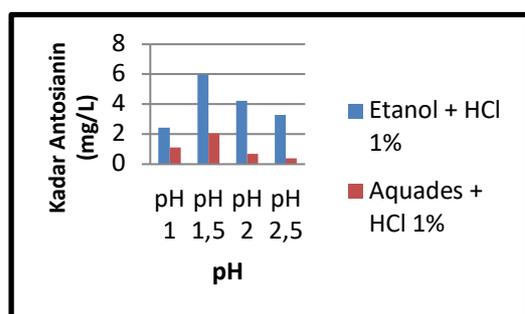
Gambar 1. Struktur kation flavilium berwarna merah yang terbentuk pada pH 1 dan hemiketa tak berwarna yang terbentuk pada pH 4,5

Panjang gelombang 505 nm adalah panjang gelombang maksimal antosianin dan panjang gelombang 700 nm adalah panjang gelombang untuk mengoreksi endapan yang masih terdapat dalam sampel. Jika sampel benar-benar jernih maka absorbansi pada 700 nm adalah 0 (Suzery dkk. 2010). Tetapi, pada penelitian absorbansi pada panjang gelombang 700 nm ada yang tidak memberikan nilai 0, hal ini disebabkan masih adanya partikel-partikel kecil dalam sampel.

Berdasarkan metode pH diferensial maka didapat rata-rata kadar total antosianin dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Kadar Total Antosianin

Pelarut	pH 1	pH 1,5	pH 2	pH 2,5
Etanol + HCl 1%	2,4491 mg/L	5,9558 mg/L	4,2303 mg/L	3,2840 mg/L
Aquades + HCl 1%	1,1132 mg/L	2,0594 mg/L	0,6679 mg/L	0,3895 mg/L



Gambar 2. Diagram Kadar Total Antosianin pada pH 1 - 2,5 dengan Pelarut Etanol + HCl 1% dan Aquades + HCl 1%.

Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 2 diketahui bahwa pelarut etanol memberikan kadar antosianin yang lebih besar dibandingkan dengan pelarut aquades, hal ini disebabkan karena pemilihan pelarut pada proses ekstraksi berpengaruh terhadap kadar antosianin, hal ini diduga polaritas senyawa tersebut lebih rendah dibandingkan air sehingga pelarut yang baik untuk ekstraksi adalah solven yang kurang polar. Sebagai glikosida, antosianin larut dalam air tetapi setelah mengalami hidrolisis, maka bentuk non-glikosidanya (antosianidin) bersifat kurang larut dalam air. Dari hasil diatas juga bahwa pH 1,5 adalah pH yang

baik untuk mengekstrak antosianin pada ubi jalar ungu karena menghasilkan kadar antosianin dan absorbansi yang tertinggi dibanding dengan pH yang lainnya, karena absorbansi sebanding dengan kadar suatu sampel dan kondisi pelarut semakin asam apalagi mendekati pH 1 akan menghasilkan kadar total antosianin besar, karena antosianin lebih stabil pada pH asam, selain itu keadaan yang semakin asam juga menyebabkan semakin banyak dinding sel vakuola yang pecah sehingga pigmen antosianin semakin banyak yang terekstrak (Tersiska *dkk.* 2006). Namun jika melebihi kesetimbangan antara senyawa antosianin dengan pelarut pH 1 atau lebih rendah, maka senyawa antosianin akan terdegradasi sehingga warnanya menjadi agak pucat dan absorbansi menurun. Begitu pula pada pH 2 dan pH 2,5 menunjukkan kadar antosianinnya berkurang, hal tersebut disebabkan semakin meningkat nilai pH maka kadarnya semakin menurun. Warna ekstrak juga tampak semakin pudar dengan meningkatnya nilai pH, selain itu menurut (Winarti & Firdaus 2010) menyatakan bahwa stabilitas warna yang ditunjukkan oleh nilai absorbansi sangat dipengaruhi oleh nilai pH. Kadar antosianin dipengaruhi beberapa faktor antara lain suhu, perubahan pH, sinar dan oksigen, selain itu pula proses preparasi

sampel, kondisi sampel dan masa penyimpanan sampel berpengaruh terhadap kadar antosianin. Proses analisis pada sampel yang tidak langsung dilakukan setelah preparasi sampel maupun ekstrak siap, akan menyebabkan senyawa antosianin mengalami degradasi.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa Pelarut etanol yang digunakan untuk mengekstrak ubi jalar ungu dapat memberikan pengaruh terhadap kadar total antosianin dimana etanol memiliki kepolaran yang relatif sama dengan antosianin dibandingkan

dengan pelarut aquades. Penggunaan pelarut etanol dalam keadaan asam yaitu 1,5 akan memberikan kadar yang lebih besar dibandingkan dengan keadaan basa. Pelarut etanol dan pH 1,5 memberikan kadar total antosianin sebesar 5,9558 mg/L dengan menggunakan metode spektrofotometri pH diferensial. Penggunaan metode ini dapat membantu para peneliti yang tidak memiliki standar untuk antosianin. Hasil Penelitian ini dapat digunakan sebagai keadaan standar pengukuran kadar Total Antosianin dengan menggunakan metode spektrofotometri pH diferensial.

DAFTAR RUJUKAN

- Gandjar, I.G., & Rohman, A. 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta, Pustaka Pelajar
- Gao, L. & Mazza, G. 1996. Ekstraksi Antosianin Pewarna Merah Alami dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L): Kajian Konsentrasi HCl dan Aplikasinya pada Yoghurt, Skripsi, Malang, Universitas Brawijaya.
- Giusti, M. M. & Worlsta, R. E. 2001 *Charecterirization and Measurement of Anthocyanin by UV-Visible Spectroscopy*, Oregon, Oregon Dtate University.
- Hambali, M., Mayasari, F. & Noermansyah, F. 2014, Ekstraksi Antosianin Dari Ubi Jalar Dengan Variasi Konsentrasi Solven dan Lama Waktu Ekstraksi, *Jurnal Teknik Kimia Universitas Sriwijaya*, Vol. 20, No. 2, hh 25-35.
- Hanum, M. 2010, *Tumbuh Kembang, Status Gizi dan Imunisasi Dasar Pada Balita*, Yogyakarta, Nuha Medika
- Harborne, J. B. 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terjemahan Kosasih P dan Iwang S.J., Bandung: ITB.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S. & Williamso, E.M. 2004, *Fundamental of*

- Pharmacognosy and Phytotherapi, Hungary, Elsevier.
- Hendrawan, I., 2011, Identifikasi dan Pengujian Stabilitas Pigmen Antosianin pada Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas*) dengan Metode Spektrofotometri, Laporan Tugas Akhir, Bandung, STABA.
- Jaya, E.F.P. 2013, Pemanfaatan Antioksidan Dan Betakaroten Ubi Jalar Ungu Pada Pembuatan Minuman Non-Beralkohol. *Media Gizi Masyarakat Indonesia*, Vol. 2, No. 2, hh. 54-57.
- Kurnia, D., Yuliantini, A. & Faizal, D. 2018, Pengembangan Metode Penentuan Kadar Neotam Dalam Sediaan Obat Dengan Spektrofotometri UV, *EduChemia (Jurnal Kimia dan Pendidikan)*, Vol 3, No. 1, hh. 66-76.
- Nollet, L.M.L. 1996, *Handbook of Food Analysis: Physical Characterization and Nutrient Analysis*, New York, Marcell Dekker.
- Pakorny, J., Yanishlieva, N. & Gordon, M., 2001, *Antioxidant in Food: Practical and Application*, New York, *CRC Press*.
- Satyatama, D. I. 2008, Pengaruh Kopigmentasi Terhadap Stabilitas Warna Antosianin Buah Duwet (*Syzygium cumini*), Tesis, Bogor, IPB.
- Suzery, M, Lestari, S & Cahyono, B. 2010, Penentuan Total Antosianin Dari Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa L*) Dengan Metode Maserasi dan Sokshletasi, *Jurnal Sains & Matematika*, Vol. 18, No. 1, hh. 1-6.
- Tersiska, E., Sukarminah & Natalia D. 2006, Ekstraksi Pewarna Alami dari Buah Arben (*Rubus idaeus (Linn.)*) dan Aplikasinya pada Sistem Pangan, dilihat 28 September 2017. <http://digilib.umm.ac.id>.
- Winarti S. & Firdaus A. 2010, Stabilitas Warna Merah Ekstrak Bunga Rosela Untuk Pewarna Makanan Dan Minuman, *Jurnal Teknologi Pertanian*, Vol. 11, hh. 87 – 93.