PENAPISAN ZAT WARNA ALAM GOLONGAN ANTHOCYANIN DARI TANAMAN SEKITAR SEBAGAI INDIKATOR ASAM BASA

Budi Santoso, Edi Wahyu SM.,
Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Bandung,
e-mail : busantprofesi@gmail.com

ABSTRAK

Ekstraksi zat warna alami dari beberapa macam bunga, antara lain bunga Tapak dara (*Catharanthus roseus* L.), Mawar merah (*Rosa* L.), Alamanda kuning (*Allamanda canthartica*), bunga rambat ungu (*Ipomoea cairica*), dan bunga saputangan (*Maniltoa grandiflora*) memiliki potensi untuk digunakan sebagai indikator asam basa. Demikian pula dengan ekstrak zat warna alami dari biji beras hitam (*Oryza sativa* L.) daun bayam merah (*Celosia argentea*), kubis ungu/merah (*Brassica oleracea* var.) dan umbi bit merah (*Beta vulgaris*). Hampir keseluruhan bagian tanaman tersebut mengandung zat warna alam yang dapat digunakan sebagai indikator alami, yakni memiliki perubahan warna yang jelas pada pH tertentu. Zat warna alam ini pada umumnya tersusun oleh senyawa antosianin. Ekstrak kubis ungu diduga mengandung kadar antosianin yang paling tinggi dan menunjukkan perubahan warna yang paling lengkap pada semua perubahan nilai pH. Persen berat hasil ekstraksi senyawa golongan Antosianin dari kubis ungu dengan menggunakan pelarut air adalah 0,22 % b/b sedangkan dengan HCl 0,1 N dalam metanol 0,36 % b/b. Konsentrasi total anthocyanidin dihitung berdasarkan Cyanidin 3-glucosida dengan absorptivitas molar 26,900 L mol⁻¹ cm⁻¹.

ABSTRACT

Extraction of natural dyes from several kinds of flowers, including Vinca flower (*Catharanthus roseus* L.), Red rose (*Rosa* L.), Yellow Alamanda (*Allamanda canthartica*), purple flower vine (*Ipomoea cairica*), and floral handkerchiefs (*Maniltoa grandiflora*) has the potential to be used as an acid-base indicator. Similarly properties of riced based indicator from extract black rice seeds (*Oryza sativa* L.) are shown, leaves red spinach (*Celosia argentea*), purple / red cabbage (*Brassica oleracea* var.) and red beet (*Beta vulgaris*). Almost all parts of the plant contain natural dyes that can be used as a natural indicator, which has a clear color change at a certain pH. These natural dyes are generally composed of anthocyanin compounds. purple cabbage extract indicated to contain the highest levels of anthocyanin and showing the most complete color change on all the pH values ? Using water as solvent for extracting cabbage purple showed weight percent of Anthocyanins 0.22 % w/w, while the 0.1N HCl in methanol solvent was 0,36 % w / w. Total anthocyanidin concentration was calculated based on Cyanidin 3-glucoside molar absorptivity 26.900 L mol⁻¹ cm⁻¹.

Kata kunci : Indikator asam basa , Zat Warna Alam , Anthocyanin, Cyanidin 3-glucosida, absorptivitas molar 26,900 L mol⁻¹ cm⁻¹

PENDAHULUAN

Banyak senyawa asam atau basa organik yang bentuk ion dan bentuk tak-terdisosiasinya menunjukkan warna yang berlainan. Adanya sifat semacam ini melandasi digunakannya senyawa-senyawa tersebut sebagai indikator dalam proses penentuan kadar secara titrimetri. Jika indikator dalam suasana asam dilambangkan sebagai HIn, dan dalam suasana basa sebagai

InOH, maka berlaku persamaan sebagai berikut:

Dalam praktiknya, yang sering dipergunakan sebagai indikator adalah senyawa berwarna yang mampu berubah warna bila kondisi pH larutannya berbeda (Oxtoby et al., 2008). Sebagai contoh, jika suatu senyawa indikator HIn berwarna merah dan saat berbentuk ion In⁻ berwarna

kuning. Warna yang dapat dilihat oleh mata manusia akan bergantung pada kuantitas relatif di antara kedua bentuk tersebut. Dalam larutan dengan pH rendah, atau dalam suasana asam, maka bentuk HIn-nya akan lebih melimpah. Oleh karena itu, kita melihatnya sebagai berwarna merah. Sebaliknya, dalam larutan dengan pH tinggi, kuantitas In⁻ akan jauh lebih banyak sehingga warna larutannya akan terlihat kuning. Pada nilai-nilai pH di antara rentang keduanya, atau pada saat kedua bentuk HIn dan In⁻ berada dalam konsentrasi yang relatif sama, warna yang teramati pun akan merupakan warna campuran dari merah dan kuning, atau akan tampak sebagai warna jingga (Day, R.A and A.L Underwood, 1989).

Anthocyanin yang berasal dari kata anthocyanos bahasa dari bahasa Yunani (anthos = bunga dan kyanos = biru) adalah pigmen vacuolar yang larut dalam air, dengan warna yang tampak merah, ungu, atau biru tergantung pada pH larutan dimana senyawa tersebut berada. Antosianin termasuk ke dalam kelompok molekul yang disebut flavonoid disintesis melalui jalur fenilpropanoid, tidak berbau, hambar dan memberikan pengaruh sensasi astringent bila dicicipi. Anthocyanin terdapat hampir pada semua jaringan tanaman yang tingkat tinggi, termasuk daun, batang, akar, bunga, dan buah-buahan.

Kubis merah/ungu dan tanaman lainnya seperti bit, blueberry, lobak serta banyak lagi yang lainnya mengandung senyawa yang disebut antosianin tersebut. Antosianin dapat memiliki warna yang berbeda-beda, tergantung pada jumlah proton dilepas yang tetap melekat pada molekulnya. Antosianin merupakan asam organik lemah, sesuai dengan teori asam-basa Lewis, asam adalah senyawa yang bertindak sebagai donor proton, dan bila telah melepaskan protonnya maka akan menjadi basa konjugasi. Antosianin adalah senyawa yang dapat menyerap dan memantulkan cahaya, karena antosianin juga merupakan bagian dari senyawa gula pada tanaman golongan glukosida. Berdasarkan wujud asam – basa

konjugatnya tersebut maka antosianin akan menyerap dan memantulkan berbagai cahaya dengan panjang gelombang yang berbeda, sebagai akibatnya menyebabkan penampakan warna yang berbeda-beda pula. Hal tersebut dapat dijelaskan berdasarkan perubahan berbagai wujud molekul antosianin sebagai berikut:

Gambar 1. Perubahan Molekul Antosianin menjada asam-basa konjugatnya

Pada gambar molekul 1 (neutral form) menunjukkan antosianin dengan 2 proton (H⁺) yang masih terikat pada atom Nitrogen pada masing-masing cincin, pada kondisi seperti ini maka larutan antosianin akan memantulkan cahaya warna merah. Pada Gambar molekul 2 (acid form) satu proton (H⁺) dari antosianin dilepaskan sehingga menjadi basa konjugat dari molekul 1. Pada wujud molekul 2 maka antosianin akan memantulkan cahaya warna biru, namun bila menerima proton maka akan kembali berubah memantulkan cahaya warna merah. Apabila molekul 2 mendonasikan 1 proton (H⁺) yang tersisa maka akan berubah wujud menjadi molekul 3 (basic form) yang memantulkan cahaya warna hijau kekuningan.

Semakin tinggi konsentrasi ion hidrogen [H⁺] dalam larutan, maka Antosianin akan banyak berwujud dalam bentuk senyawa aslinya (molekul 1), hal ini dikarenakan sebagai asam lemah antosianin akan semakin sedikit menyumbangkan

protonnya. Akan tetapi sebaliknya makin rendah konsentrasi ion hidrogen $[H^+]$ dalam larutan, maka Antosianin akan semakin banyak yang berubah dari senyawa aslinya (molekul 1), semakin banyak molekul antosianin menyumbangkan protonnya, sehingga berubah wujud menjadi molekul 2 ataupun 3. Bergantung pada banyaknya molekul 1, 2 dan 3 dari antosianin tersebut maka warna larutan antosianin berbeda-beda pada masing-masing Ph (Baublis, 2006).

METODE PENELITIAN

Pada dasarnya senyawa yang dipilih adalah senyawa yang berasal dari bahan alam yang terdapat di sekitar kita. Jadi, dalam tahap ini dibuat sejumlah ekstrak dari tanaman. Ekstrak-ekstrak tersebut kemudian diujicobakan pada sejumlah seri larutan yang sudah disiapkan dengan nilai pH yang diketahui. Adapun larutan yang dibuat mulai dari pH 1 yang bersifat sangat asam (asam kuat) sampai larutan dengan pH 14 yang bersifat sangat basa (basa kuat). Selain itu, disiapkan pula sejumlah larutan dapar yang dipakai untuk menguji kesetimbangan sistem asam-basa dengan adanya ekstrak dari tanaman-tanaman tersebut. Bagian tanaman yang diekstraksi mewakili wujud bunga, buah, biji, daun, dan umbi. Jenis-jenis tanaman yang dipilih untuk diteliti diarahkan pada keterwakilan berbagai bagian tanaman yang memiliki warna-warna mencolok, antara lain adalah bunga warna merah, kuning dan ungu. Disamping itu juga telah dilakukan ekstraksi zat warna alami dari kulit buah warna merah, biji dengan warna ungu /hitam, daun warna merah dan ungu serta umbi dengan warna merah.

Gambar 2: Diagram Alir Penentuan Indikator Alam sebagai Indikator Asam Basa

Kegiatan ekstraksi zat warna alam dalam hal ini dilakukan dengan dua tahapan, yakni ekstraksi secara sederhana dengan merendam bagian tanaman yang dipilih, yang sedikit digerus terlebih dulu dalam aquades dan larutan metanol yang diasamkan (HCl 1%). Bila hasil pengujian warnanya menunjukkan hasil yang nyata pada berbagai pH maka dilanjutkan ekstraksi tahap selanjutnya dengan bantuan alat soxhlet. Jenis-jenis tanaman tersebut antara lain adalah bunga Tapak dara (*Catharanthus roseus* L.), Mawar merah (*Rosa* L.), Alamanda kuning (*Allamanda canthartica*), bunga rambat ungu (*Ipomoea cairica*) dan bunga saputangan (*Maniltoa grandiflora*). Disamping itu juga telah dilakukan ekstraksi zat warna alami dari kulit buah manggis

(*Garcinia mangostana* L.) , biji beras hitam (*Oryza sativa* L.), daun bayam merah (*Celosia argentea*) , kubis ungu/merah (*Brassica oleracea* var.) dan umbi bit merah (*Beta vulgaris*). Adapun wujud dari bagian tanaman tersebut dapat dilihat pada gambar dibagian bawah.

Setelah tahapan ekstraksi pertama maka dilakukan pengujian perubahan warna hasil ekstrak tanaman tersebut pada berbagai larutan pH yang ditempatkan pada botol kecil transparan. Pengujian ini dimaksudkan untuk mengamati pada pH berapakah perbedaan warna yang mencolok terjadi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian dari berbagai ekstrak tanaman tersebut dapat dilihat pada gambar berikut:

Gambar 3 : Bunga Tapak Dara dan hasil uji ekstrak zat warnanya

Gambar 4 : Bunga saputangan kuning dan hasil uji ekstrak zat warnanya

Gambar 5 : Bunga Alamanda kuning dan hasil uji ekstrak zat warnanya

Gambar 6 : Bunga mawar merah dan hasil uji ekstrak zat warnanya

Gambar 7 : Bunga rambut ungu dan hasil uji ekstrak zat warnanya

Gambar 8 : Beras hitam dan hasil uji ekstrak zat warnanya

Gambar 9 : Bayam merah dan hasil uji ekstrak zat warnanya

Gambar 10 : Umbi bit merah dan hasil uji ekstrak zat warnanya

Gambar 11 : Kubis ungu dan hasil uji ekstrak zat warnanya

Berdasarkan pada hasil pengujian yang diperoleh tampak bahwa hampir semua bagian tanaman yang diekstraksi mengandung zat warna yang menunjukkan perubahan warna masing-masing pada pH tertentu. Namun secara umum perubahan warna secara menyolok terjadi pada saat pH bergeser dari 10 – 12, hampir semua ekstrak tanaman tersebut menunjukkan hal tersebut. Dengan demikian zat-zat warna hasil ekstrak tersebut memiliki peluang untuk digunakan sebagai indikator titrasi yang memiliki titik akhir pada rentang pH 10-12, seperti titrasi asam lemah oleh basa kuat.

Hal yang menarik adalah ekstrak dari kubis ungu yang memiliki perubahan warna hampir bersifat universal, artinya lengkap pada setiap rentang perubahan pH yakni mulai dari merah, ungu, biru hingga hijau dan kuning. Pergeseran perubahan warna ini dapat dijelaskan dengan mengacu pada teori warna Brewster, yakni seorang fisikawan Inggris yang memperkenalkan warna sebagai roda yang berurutan dan warna yang berhadapan merupakan warna komplementer. Hasil percobaan dari kubis ungu menunjukkan hasil yang selaras dengan teori tersebut, yakni warna yang tampak oleh mata kita adalah warna yang dipantulkan oleh larutan tersebut sedangkan warna yang diserap adalah warna komplementernya, dan pada suasana asam senyawa-senyawa kimia cenderung menyerap cahaya-cahaya dengan tingkat energi yang lebih tinggi. Sebagaimana diketahui bahwa energi cahaya akan bergerak semakin rendah bila bergeser dari warna biru ke hijau, kuning dan seterusnya hingga warna merah.

Dari hasil penelitian ini diperoleh sumber-sumber zat warna alami yang memiliki potensi untuk digunakan dalam pembelajaran kimia yang berkaitan dengan prinsip dasar asam basa. Beberapa indikator alam yang memiliki warna cukup pekat pada konsentrasi yang cukup encer dapat digunakan sebagai indikator dalam melakukan titrasi asam basa. Sebagai contoh ekstrak sputangan kuning memiliki perubahan warna yang cukup mencolok dari

hijau ke kuning pada rentang pH 10-12. Ekstrak tersebut dapat digunakan untuk indikator titik akhir titrasi, sebagai pengganti indikator standar yang umumnya merupakan senyawa kimia sintetik seperti timolftalein, perbandingan ini juga merupakan langkah standarisasi. Struktur senyawa golongan Antosianin dapat dilihat pada Gambar 12.

Gambar 12: Struktur Senyawa golongan Antosianin dalam Ekstrak Kubis Ungu

Merujuk pada hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Alan Baublis, Art Spomer dan M.D Berber-Jimenez (2006), menyatakan bahwa senyawa antosianin dari tanaman dapat memiliki derajat asilasi yang berbeda-beda tergantung pada jenis tanamannya. Demikian juga dengan kelengkapan senyawa antosianin beserta dengan ko-pigmen yang dikandungnya. Berdasarkan pada hasil analisisnya menggunakan HPLC maka diketahui ekstrak dari kubis ungu mengandung kurang lebih 15 sampai dengan 20 senyawa golongan antosianin, dengan komponen utama adalah Cyanidin 3 glukosida yang mengalami asilasi satu mol asam sinapic, ferulat dan p-kumarat; 4-6 Cyanidin 3-sambubiosa yang juga mengalami asilasi satu mol asam sinapic, ferulat dan p-kumarat. Banyaknya senyawa golongan antosianin dalam ekstrak kubis ungu dan juga terdapatnya asilasi pada beberapa senyawa tersebut menjelaskan lengkapnya perubahan warna yang terjadi

pada ekstrak kubis ungu pada berbagai larutan pH. Struktur dari senyawa golongan antosianin yang terkandung dalam ekstrak kubis ungu diperkirakan sebagaimana pada Gambar 12. Pada struktur ini diduga terjadi asilasi pada cincin aromatik B yang meningkatkan stabilitas dari senyawa antosianin yang terkandung dalam ekstrak kubis. Sedang substitusi yang mungkin terjadi pada gugus ko-pigmennya diduga sebagaimana pada Tabel 1 :

Tabel 1: Substitusi pada gugus ko-pigmen senyawa Antosianin ekstrak kubis Ungu

No.	R ₁	R ₂	R ₃
1.	OCH ₃	OCH ₃	H
2.	OCH ₃	H	H
3.	H	H	H
4.	OCH ₃	OCH ₃	<i>Sinapyl</i>
5.	OCH ₃	H	<i>Sinapyl</i>
6.	H	H	<i>Sinapyl</i>

Berdasarkan pada hasil penelitian Alan Baublis dkk. kurva serapan senyawa antosianin pada panjang gelombang sinar tampak akan menunjukkan karakteristik yang berbeda antara ekstrak tanaman dengan kandungan senyawa antosianin yang telah mengalami asilasi dengan yang tidak, senyawa yang mengalami asilasi akan lebih stabil. Perbedaan kurva spektrum serapan antara senyawa antosianin yang telah mengalami asilasi dengan yang belum dapat dilihat pada Gambar 13 dan 14. Dalam penelitiannya Alan Baublis dkk. menggunakan ekstrak daun *Tradescantia pallida* V. (hati ungu) sebagai sumber antosianin yang memiliki gugus terasilasi dan ekstrak daun *Ajuga* L. untuk sumber antosianin yang tidak memiliki gugus terasilasi. Karakteristik kurva serapan dari ekstrak kubis ungu memiliki kemiripan dengan ekstrak daun *Tradescantia pallida* V.

Kurva spektrum ekstrak Kubis Ungu sebagaimana terlihat pada Gambar 13 terlihat adanya beberapa puncak. Hal ini

menunjukkan bahwa senyawa antosianin yang terkandung didalamnya tidak merupakan senyawa tunggal saja, tetapi terdiri dari kumpulan beberapa senyawa, hal tersebut menjelaskan kelengkapan perubahan warna dari ekstrak kubis ungu pada berbagai larutan pH. Muncul dugaan bahwa adanya substitusi pada cincin B pada senyawa antosianin menyebabkan secara instan perubahan kation menjadi basis quinonoidal pada saat larutan berubah menjadi asam (Brouillard, 1981). Pada Ph mendekati 5,5 perubahan menjadi bentuk basis quinonoidal terjadi secara sempurna yang ditunjukkan dengan sifat adanya panjang gelombang serapan maksimum (λ_{maks}) pada 508, 545 dan 585 nm. Spektrum serapan yang ditampilkan tampak berbeda dengan ekstrak dari umbi bit merah sebagaimana ditunjukkan dalam Gambar 14. Terlihat bahwa spektrum serapan dari ekstrak umbi bit merah menyerupai dengan ekstrak dari tanaman *Ajuga* L. yang memperlihatkan ciri golongan senyawa antosianin tanpa adanya gugus asilasi.

Gambar 13: Kurva serapan senyawa golongan Antosianin dari Ekstrak Kubis Ungu

Gambar 14: Kurva serapan dari Ekstrak Umbi bit merah

Terkait dengan kandungan antosianin dalam kubis ungu maka telah dilakukan pengujian untuk melakukan ekstraksi dengan menggunakan pelarut air dan HCl 0,1 dalam pelarut methanol. Keberhasilan hasil ekstraksi ditentukan dengan mengukur persentase kadar antosianin yang diperoleh terhadap lamanya waktu ekstraksi. Penentuan kadar total antosianin dilakukan dengan mengukur serapan hasil ekstraknya pada panjang gelombang 525 nm. Sebagai rujukan perhitungannya adalah senyawa Cyanidin 3-glukosida yang dalam hal ini memiliki nilai absorbtivitas molar 26.900 L/mol.cm. dan berat molekul 484.83 gram/mol.

Tabel 2: Persen berat hasil ekstraksi senyawa golongan Antosianin dari Kubis Ungu

No.	Pelarut	% Berat Hasil Ekstraksi
1.	Aquades (100°C)	0,22
2.	HCl 0,1 dlm metanol (75°C)	0,36

DAFTAR PUSTAKA

- Baublis, A., Spomer. A., and Berber-Jimenez. M.D., "Anthocyanin Pigment: C o m p a r i s o n o f Stability" *Journal of Food Science*, Vol. 59, November, 2006.
- Bernasconi, G., et al., (1995). "Teknologi Kimia, Bag.2" Pradnya Paramita, Jakarta.
- Day, R.A and A.L Underwood, (1989) *Analisis Kimia Kuantitatif*, Erlangga, Jakarta.
- Dintzner, R.M., et al., (2011). "SIPCAN (Separation, Isolation, Purification, Characterization, and Analysis): A One-Term, Integrated Project f o r t h e Undergraduate Organic Laboratory", *J. Chem. Educ.*, 88: 1434–1436
5. Götz, W., et. al., (1980). *Thin Layer*

Berdasarkan pada Tabel 2 terlihat bahwa hasil ekstraksi terhadap senyawa golongan antosianin memberikan persen perolehan yang cukup baik. Dalam hal ini pelarut HCl 0,1 N dalam metanol menunjukkan hasil yang lebih baik daripada aquades. Beberapa hasil penelitian lain menyatakan bahwa kandungan senyawa golongan antosianin pada kubis ungu dapat berkisar antara 0,08 % hingga 0,4 % terhadap berat sampel.

SIMPULAN

Kesimpulan dari hasil kegiatan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Berbagai bagian tanaman (bunga, kulit buah, biji, daun dan umbi) yang memiliki zat warna antosianin dapat berfungsi sebagai indikator asam basa, dengan perubahan warna yang mencolok pada rentang perubahan pH 9-11, yakni menuju ke warna kuning.
2. Kandungan antosianin dari kubis ungu adalah yang paling lengkap, sehingga memiliki perubahan warna hampir pada semua rentang pH
3. Persen berat perolehan hasil ekstraksi dengan pelarut HCl 0,1 N dalam metanol sebesar 0,36 %.

Chromatography, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Khopkar, S.M., (1990). *Konsep Dasar Kimia Analitik*, UI Press, Jakarta.

Lech, J. and V. Dounin (2011), "JCE Classroom Activity #110: Artistic Anthocyanins and Acid_Base Chemistry", *J. Chem. Educ.*, 88: 1684–1686

Miller, J.H., (2004). *Chromatography: Concepts and Contrasts*, Wiley, New Jersey.

Silva, C.R, et al., (2001)., "Color Changes in Indicator Solutions: An Intriguing and Elucidative General Chemistry Experiment", *J. Chem. Educ.*, 78: 939-940.

Wigman, L.S. and C.T. Kelsch (1992), "S e p a r a t i o n S c i e n c e a n d

- Chromatography: A Colorful Introduction“, J. Chem. Educ., 69: 991-2.
- Wixom, R.L. and C.W. Gehrke, (2010). Chromatograph: A Science of Discovery, Wiley, New Jersey.
- Youngmok, Kim and Wampler, D.J., “Anthocyanin Content in various Anthocyanin rich fruits and Vegetables, Sensus Technical Note, Hamilton, 2009.