



PENENTUAN JENIS SOLVEN DAN PH OPTIMUM PADA ANALISIS SENYAWA DELPHINIDIN DALAM KELOPAK BUNGA ROSELA DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

MONICA SETIONO H. (21030110151065) dan AVRILIANA DEWI A. (21030110151066)

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro
Jln. Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang, 50239, Telp/Fax: (024)7460058
Pembimbing: Dr. Andri Cahyo Kumoro, S.T, M.T

Abstrak

Rosela merupakan tanaman yang telah diketahui banyak mengandung senyawa antosianin sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang banyak terbentuk dalam tubuh. Antosianin pada kelopak bunga rosela berada dalam bentuk glukosida yang salah satunya adalah senyawa delphinidin. Kandungan senyawa delphinidin yang terkandung dalam kelopak bunga rosela dapat dianalisis kadarnya menggunakan metode Spektrofotometri UV-Vis. Prinsip dasar Spektrofotometri UV-Vis adalah analisis yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu laju larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube. Kelarutan dari delphinidin antara lain larut dalam akuades, metanol dan etanol pada berbagai suhu berkisar antara (298 sampai 343) K di bawah tekanan atmosfer. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis solven yang paling sesuai sebagai pelarut delphinidin dan pH yang paling optimum. Pada penelitian ini digunakan variabel tetap yaitu bunga rosela dan suhu percobaan : 30°C. Sedangkan variabel berubahnya yaitu jenis solven (akuades, metanol, dan etanol) serta pH dengan variasi pH 4; 4,5; 5; 5,5; 6. Hasil percobaan, menunjukkan bahwa metanol merupakan solven yang paling sesuai untuk melarutkan senyawa delphinidin, sedangkan pH yang paling optimum untuk analisis senyawa delphinidin dengan metode Spektrofotometri UV-Vis adalah 4,5.

Kata Kunci : rosela, antosianin, delphinidin, spektrofotometri uv-vis

Abstract

Rosella is a plant that has been known to contain many anthocyanins compounds as antioxidants. Antioxidants are compounds important in maintaining a body health because it serves as a scavenger a lot of free radicals formed in the body. Anthocyanins in rosella calyx be in the form of glucoside one of which is a delphinidin. Delphinidin contained in rosella calyx can be analyzed levels using Spektrofotometre UV-Vis method. The basic principle of Spektrofotometre UV-Vis is analysis based on the measurement of monochromatic light absorption by a colored solution rate at specific wavelengths using a prism or diffraction grating monochromator with a fototube detector. The solubility of delphinidin in water, methanol and ethanol at various temperatures ranging from (298 to 343) K under atmospheric pressure. The purpose of this study was to determine the most appropriate solvent as to dissolve delphinidin and the optimum pH. This research used the fixed variables the rosella calyx and experimental temperature: 30°C. While studied variables change the type of solvent (aquadest, methanol, and ethanol) as well as variations in pH with pH 4, 4.5, 5; 5.5, 6. The experimental results show that methanol is the most suitable solvent for dissolving the compounds delphinidin while the optimum pH for analysis delphinidin compounds with Spektrofotometry UV-Vis method was 4.5.

Keywords: rosela, antosianin, delphinidin, spektrofotometri uv-vis

1. Pendahuluan

Antioksidan merupakan senyawa penting dalam menjaga kesehatan tubuh karena berfungsi sebagai penangkap radikal bebas yang banyak terbentuk dalam tubuh. Fungsi antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, serta memperpanjang masa pemakaian bahan dalam industri makanan. Lipid peroksidase merupakan salah satu faktor yang cukup berperan dalam kerusakan selama dalam penyimpanan dan pengolahan makanan (Raharjo, dkk., 2005). Banyak faktor yang menyebabkan timbulnya radikal bebas dalam tubuh antara lain radiasi baik sinar matahari (UV) atau sinar X, polusi lingkungan, asap rokok maupun asap mobil, bahan kimia dalam makanan (pengawet, pewarna sintetik, residu pestisida, dan bahan tambahan makanan lainnya), bahan kimia termasuk obat-obatan.

Rosela sangat potensial untuk dikembangkan sebagai bahan baku makanan dan minuman karena nilai nutrisi

yang terkandung dalam buah rosela. Kandungan penting yang terdapat pada kelopak bunga rosela adalah pigmen antosianin yang membentuk flavonoid yang berperan sebagai antioksidan. Flavonoid rosela terdiri dari flavonols dan pigmen antosianin. Pigmen antosianin ini yang membentuk warna ungu kemerahan menarik di kelopak bunga maupun teh hasil seduhan rosela.

Antosianin tergolong pigmen yang disebut flavonoid yang pada umumnya larut dalam air. Warna pigmen antosianin merah, biru, violet dan biasanya dijumpai pada bunga, buah-buahan dan sayur-sayuran (Winarno, 2002). Antosianin berfungsi sebagai antioksidan yang diyakini dapat menyembuhkan penyakit degeneratif. Antosianin pada rosela berada dalam bentuk glukosida yang terdiri dari *cyandin-3-sambubioside*, *delphinidin-3-glucose*, dan *delphinidin-3-sambubioside*. Sementara itu, flavonols terdiri dari *gossypetin*, *hibiscetine*, dan *quercetia*.

Menurut Andayani,dkk (2008), senyawa antosianin *delphinidin-3-sambubioside* pada rosella ampuh mengatasi penyakit kanker darah atau leukemia. Senyawa ini bekerja dengan menghambat terjadinya kehilangan membran mitokondrial dan pelepasan sitokrom dari mitokondria ke sitosol.

Kandungan senyawa delphinidin yang terkandung dalam rosela dapat dianalisis kadarnya menggunakan metode titrasi, spektrofotometri UV-Vis, KLT (Kromatografi Lapis Tipis), dan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Dalam penelitian ini analisis kandungan delphinidin dilakukan dengan menggunakan metode Spektrofotometri, namun ketelitian hasil analisis dipengaruhi oleh solven yang digunakan dan pH yang dipilih.

2. Bahan dan Metode Penelitian

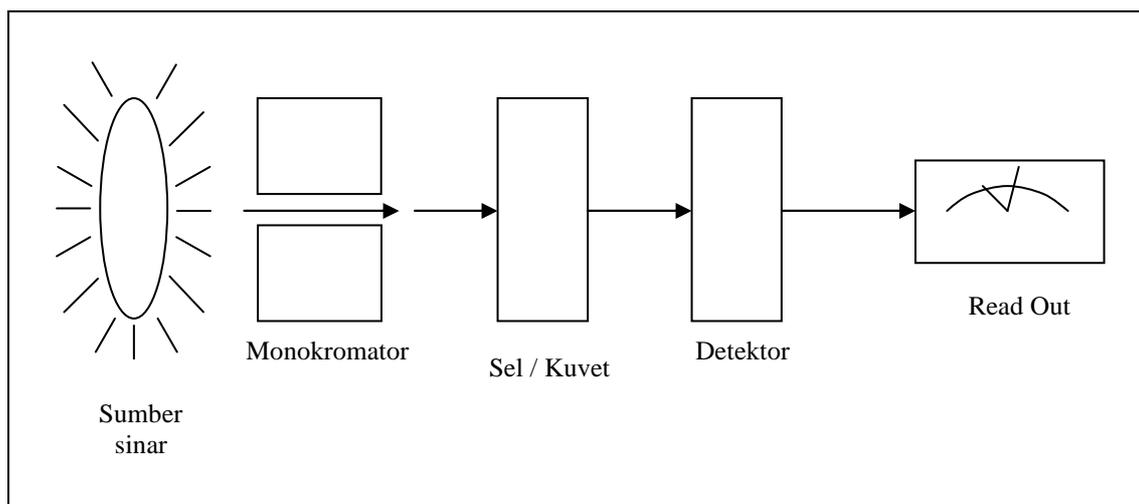
Pada penelitian ini digunakan variabel tetap, yaitu suhu pada suhu kamar, tekanan atmosfer, delphinidin standar (sigma aldrich), ekstrak bunga rosella, dan panjang gelombang 520 nm dan 700 nm, . Sedangkan variabel berubah yang digunakan adalah variasi solven akuades, methanol, etanol; dan pH 4; 4,5; 5; 5,5; 6.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometri uv-vis dan peralatan gelas. Sedangkan bahan yang digunakan adalah jus bunga rosela, akuades, HCl, KCl, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$, metanol, etanol.

Penanganan awal bunga rosela meliputi analisis ekstrak rosela kering dengan menggunakan spektrofotometri uv-vis. Analisa pendahuluan ini dilakukan untuk mengetahui kadar delphinidin yang terkandung didalam kelopak bunga rosela.

Pembuatan larutan standar delpinidin dilakukan dengan membuat larutan standar delphinidin 100 ppm sebanyak 100 ml. Kemudian membuat seri larutan standar dengan masing-masing konsentersasi 1 ppm; 1,5 ppm; 2 ppm; 2,5 ppm dan 3 ppm. Selanjutnya mengukur λ maksimum dengan metode spektrofotometri uv-vis dan mengukur absorbansinya pada λ maksimum. Sehingga dapat diplotkan pada kurva kalibrasi absorbansi vs konsentersasi. Dan akhirnya dapat diperoleh persamaan regresi linier $Y=a+bx$.

Proses analisis kadar delphinidin dilakukan dengan tahapan sebagai berikut, pertama-tama ekstrak kelopak bunga rosela kering ditambahkan pelarut akuades, metanol dan etanol. Dari masing-masing pelarut ditambahkan larutan buffer dengan pH 4; 4,5; 5; 5,5; 6. Kemudian larutan yang diperoleh diukur absorbansinya dengan spektrofotometer uv-vis.



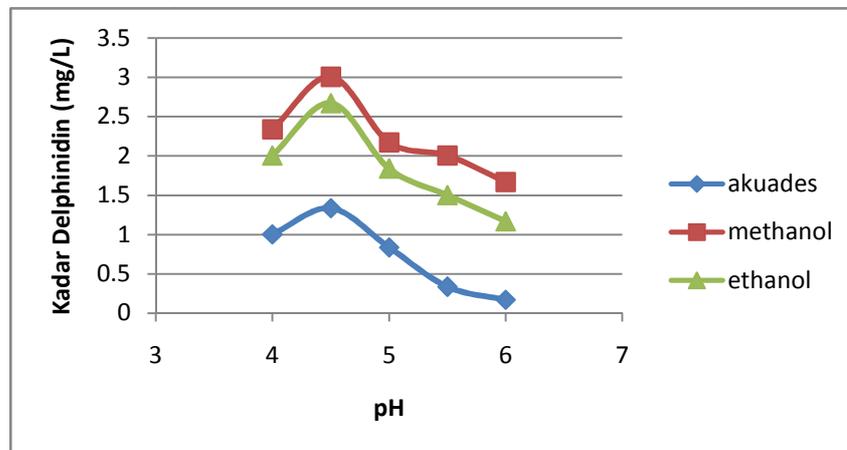
Gambar 1. Rangkaian Alat Spektrofotometri UV-Vis

3. Hasil dan Pembahasan

Data hasil dari penelitian dapat dilihat pada tabel 1. dan grafik 1. di bawah ini :

Tabel 1. Kadar Delphinidin dalam Bunga Rosella (mg/L)

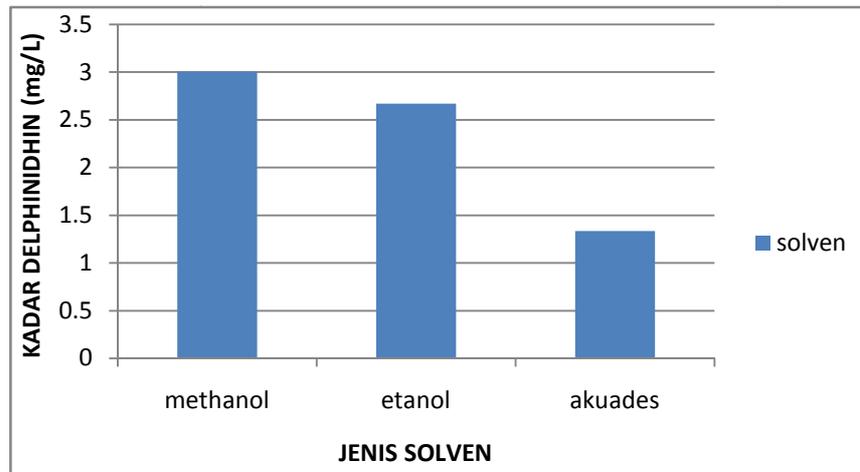
| pH | Pelarut | | |
|-----|---------|----------|---------|
| | akuades | methanol | Ethanol |
| 4 | 1.0032 | 2.3378 | 2.0039 |
| 4.5 | 1.3359 | 3.0057 | 2.6718 |
| 5 | 0.8349 | 2.1708 | 1.8369 |
| 5.5 | 0.3344 | 2.0038 | 1.5029 |
| 6 | 0.1699 | 1.667 | 1.1689 |



Gambar 1 Grafik Pengaruh pH dan Solven terhadap Kadar Delphinidin

Analisis kadar senyawa Delphinidin yang terkandung dalam bunga rosella dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan variasi pelarut dan pH memperoleh hasil sebagaimana di tampilkan dalam tabel 1. Dimana secara teoritis kadar senyawa delphinidhin yang terkandung dalam kelopak bunga rosella adalah sebesar 3.1120 mg/L.

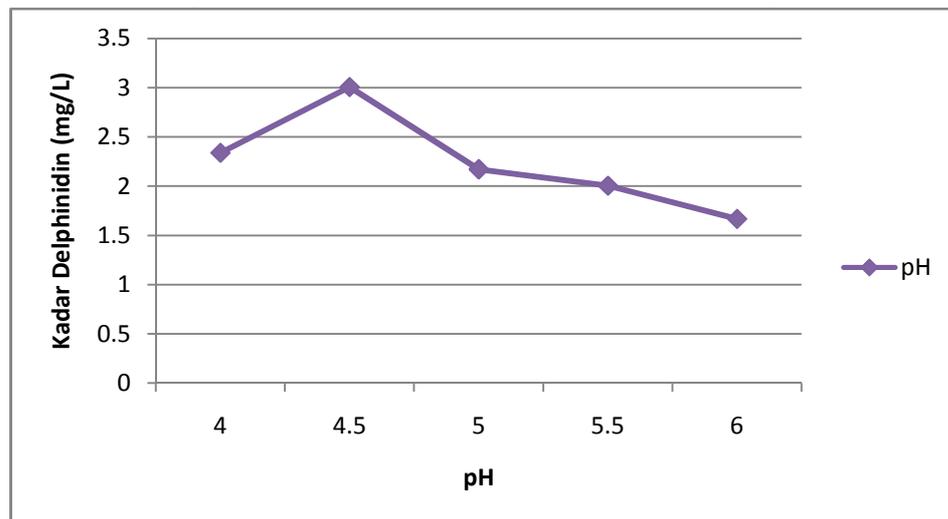
3.1. Pengaruh Solven Terhadap Kadar Senyawa Delphinidin



Gambar 2. Grafik Pengaruh Solven terhadap Kadar Delphinidin

Dari hasil penelitian diketahui bahwa diantara ketiga ekstrak tersebut ekstrak metanol dan etanol yang berwarna merah pekat, sedangkan ekstrak air berwarna merah terang. Adanya perbedaan warna dari filtrat yang diperoleh disebabkan karena metanol dan etanol terdapat delphinidin terekstrak lebih banyak. Hal ini dibuktikan dengan menggunakan analisis spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm dimana diperoleh hasil pembacaan nilai absorbansi yang semakin besar. Hal ini dapat terjadi karena dalam molekul yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi, yaitu mengalami delokalisasi atau perpindahan tempat di dalam molekul. Dimana pada sistem terkonjugasi ini mengakibatkan penyerapan sinar UV-Vis terjadi pada panjang gelombang yang lebih panjang dari yang dialami sistem tak terkonjugasi. Makin banyak ikatan rangkap terkonjugasi, makin kecil energi yang diperlukan untuk mengalami transisi, sehingga absorpsi akan semakin bergeser ke panjang gelombang yang lebih besar.

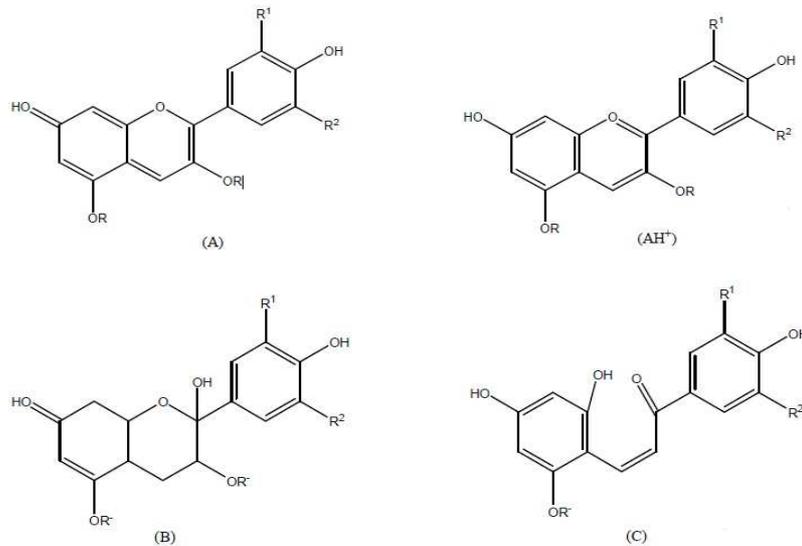
3.2. Pengaruh pH Terhadap Kadar Senyawa Delphinidin



Gambar 3. Grafik Pengaruh pH terhadap Kadar Delphinidin

Senyawa delphinidin dapat larut dalam asam dan tidak stabil dalam larutan netral atau basa, dan biasanya menggunakan pelarut asam, sehingga dalam penelitian ini juga dilakukan variasi pH antara pH 4-6 untuk mengetahui pH optimum dalam mengisolasi senyawa delphinidin. Dimana menurut Markakis (1992) faktor pH ternyata tidak hanya mempengaruhi warna senyawa delphinidin tetapi juga mempengaruhi stabilitasnya. Senyawa delphinidin lebih stabil dalam larutan asam (pH 1-5) dibanding dalam larutan alkali (pH 8-14). Pada saat diisolasi dalam medium cair kemungkinan senyawa delphinidin berada dalam empat bentuk struktur yang tergantung pada

pH. Struktur tersebut adalah basa quinoidal (A), kation flavilium (AH⁺), basa karbinol yang tidak berwarna (B), dan khalkon tidak berwarna (C).



Gambar 4. Keempat Struktur Senyawa Delphinidin Dalam Medium Cair

Dari grafik diatas dapat diketahui bahwa pH 4,5 merupakan pH optimum untuk mengisolasi senyawa delphinidin dalam bunga rosela. Hal ini dikarenakan senyawa delphinidin lebih stabil dalam larutan asam dibanding dalam larutan alkali (Markakis, 1992). Dimana pada pH 4,5 senyawa delphinidin akan membentuk struktur kation flavilium (AH⁺) secara sempurna terekstrak dalam senyawa polar. Sedangkan pada pH dibawah 4,5 pembentukan senyawa tersebut belum sempurna dan pada pH diatas 4,5 senyawa delphinidin akan membentuk struktur khalkon (C) yang tidak berwarna sehingga senyawa delphinidin tidak dapat terekstrak dalam pelarut polar (Hrazdina, 1970).

4. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini diperoleh kesimpulan bahwa Methanol merupakan solven yang paling sesuai digunakan dalam mengisolasi senyawa delphinidin dalam bunga rosella. pH paling optimum untuk mengisolasi senyawa delphinidin dalam bunga rosella adalah pH 4.5 dalam pelarut metanol.

Ucapan Terima Kasih

Dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada bapak Dr. Andri Cahyo Kumoro,S.T, M.T selaku dosen pembimbing dan semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian artikel ini.

Daftar Pustaka

- Anonim, 2006. "*Hibiscus sabdariffa* L.". <http://www.floridata.com> (Mei 2011).
- Anonim. 2008. "Manfaat Rosela Bagi Kesehatan". [http:// info@infogate.com](http://info@infogate.com). (Mei 2011)
- Anonim, 2008. "Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L)". <http://www.floridata.com> (Mei 2011)
- Andayani, R., Lisawati, Y., dan Maimunah., "Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total Dan Likopen Pada Buah Tomat". Universitas Andalas, Padang. 2008. <http://rohaendi.blogspot.com/2008/02/hipertensi-dan-rosella.html>.(Mei 2011)
- Devi, M., 2009. "Dahsyatnya Khasiat Rosella". Cemerlang Publishing, Yogyakarta.
- Hrazdina, J. 1970. "Column Chromatographic isolation of the anthocyanidin-3,5-diglucosides from grapes". *J.Ag.Food Chem.* 18:243-245.
- Hendayana, S., (2009). "Penuntun Praktikum Kimia Analitik Instrumen". Bandung:Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA UPI.
- Kumoro, A.C., Retnowati, D.S., Budiyati, C.S., 2010. "Solubility of Delphinidin in Water and Various Organic Solvents between (298.15 and 343.15) K". *Journal of Chemical & Engineering Data*, Vol. 55, No. 7, 2010.
- Mardiah, Arifah R., Reki W.A., dan Sawarni., 2005. "Budidaya dan Pengolahan Rosela Si Merah Segudang Manfaat". PT AgroMedia Pustaka, Jakarta.
- Markakis. 2006. "Stabilization of anthocyanines". *Compartement de couleur dans les vins rouge*. *Ann Technol.Agr* 12:247-257.



- Maryani, H., dan Kristiana L., 2005. "Khasiat dan Manfaat Rosela". AgroMedia Pustaka, Jakarta.
- Nargas, Lopez. 2003. "*Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solution*". Departement of Chemistry. Norway.
- Raharjo, M., Suhardi, dan Rahayu, S., 2005. "Tanaman Berkhasiat Antioksidan". Penebar Suradaya. Jakarta. .
- Underwood , 1986, "Analisa Kimia Kuantitas ", Erlangga : Jakarta.
- Winarno, F.G., dan Laksmi, S., 1986. "Pigmen dalam Pengolahan Pangan Departemen Teknologi Hasil Pertanian", FATAMETA – IPB Bogor.
- Winarno, F.G., 2002. "Kimia Pangan dan Gizi". PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Yakarta, Yamauchi, R., Noro, H., Shimoyamada, M., dan Kato, K., 2002. "*Analysis of vitamin E and its oxidation products by Spectrofotometre UV-Vis with electrochemical detection*". Lipids 37: 515-522.