

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Jati muda

Tanaman jati yang tumbuh di Indonesia berasal dari India. Tanaman yang mempunyai nama ilmiah *Tectona grandis* linn. F. secara historis, nama *tectona* berasal dari bahasa portugis (*tekon*) yang berarti tumbuhan yang memiliki kualitas tinggi. Di Negara asalnya, tanaman jati ini dikenal dengan banyak nama daerah, seperti *ching-jagu* (di wilayah Asam), *saigun* (Bengali), *tekku* (Bombay), dan *kyun* (Burma). Tanaman ini dalam bahasa jerman dikenal dengan nama *teck* atau *teakbun*, sedangkan di Inggris dikenal dengan nama *teak*.

Secara morfologis, tanaman jati memiliki tinggi yang dapat mencapai sekitar 30-45 m dengan pemangkasan, batang yg bebas cabang dapat mencapai antara 15–20 cm. Diameter batang dapat mencapai 220 cm. Kulit kayu berwarna kecoklatan atau abu-abu yang mudah terkelupas. Pangkal batang berakar papan pendek dan bercabang sekitar 4. Daun berbentuk jantung membulat dengan ujung meruncing, berukuran panjang 20-50 cm dan lebar 15–40 cm, permukaannya berbulu. Daun muda (petiola) berwarna hijau kecoklatan, sedangkan daun tua berwarna hijau tua keabu-abuan.

Tanaman jati tergolong tanaman yang menggugurkan daun pada saat musim kemarau, antara bulan nopember hingga januari. Setelah gugur, daun akan tumbuh lagi pada bulan januari atau maret. Tumbuhnya daun ini juga secara umum ditentukan oleh kondisi musim.

Daun jati muda telah sejak lama dimanfaatkan secara tradisional oleh sebagian masyarakat Indonesia (khususnya di pulau Jawa) sebagai obat penawar rasa sakit dan sebagai pewarna pada kain, aneka kerajinan tangan, dan bahkan beberapa makanan daerah seperti gudeg.

Daun jati muda telah terbukti berkhasiat sebagai obat dan berpotensi sebagai pewarna alami. Dari sebuah penelitian, ekstrak daun jati muda dapat menghambat kinerja bakteri tuberkulosis penyebab penyakit TBC.⁷ Sedangkan pemanfaatan daun jati muda sebagai pewarna alami yang memberikan warna merah ternyata karena daun jati muda memiliki kandungan pigmen alami antosianin.⁸



Gambar II.1 Daun jati muda

⁷ Yana Sumarna, *Budidaya Jati*, Penebar Swadaya, Jakarta, 2006, h. 8.

⁸ Nonie Erinda, *Loc. Cit*

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, sampel daun jati muda memiliki klasifikasi ilmiah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Angiospermae
Sub-kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Verbenales
Famili	: Verbenaceae
Genus	: Tectona
Spesies	: <i>Tectona grandis</i> Linn. f.

B. Zat Warna

Zat warna merupakan suatu bahan kimia baik alami maupun sintetik yang dapat memberikan warna. Zat warna makanan dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu pewarna alami dan zat pewarna sintetik.

Pewarna telah lama digunakan pada makanan untuk meningkatkan cita rasanya. Pada mulanya zat warna yang digunakan adalah zat warna alami dari tumbuhan dan hewan. Namun dengan berkembangnya teknologi, kini zat warna sintetik lebih banyak digunakan. Hal ini disebabkan bahwa zat warna sintetik lebih murah dan memberikan warna yang lebih stabil dibanding pewarna alami.

Penggunaan pewarna sintetik makanan sebenarnya bukanlah hal yang dilarang (meskipun beberapa pewarna sintetik diketahui berefek tidak baik namun masih diijinkan karena sifatnya yang masih kasus per kasus dan belum

bersifat umum). Namun demikian, ketika harga pewarna sintetis tersebut dianggap mahal bagi produsen kecil, maka mereka beralih ke pewarna tekstil yang lebih murah dan lebih cerah warnanya. Contoh pewarna tekstil yang digunakan untuk makanan antara lain Rhodamin B untuk warna merah dan Metanil Yellow untuk warna kuning. Kedua zat warna ini sering digunakan untuk mewarnai kerupuk, terasi, permen, sirup, biskuit, sosis, cendol dan ikan asap.⁹ Penggunaan zat warna tersebut dilarang karena bersifat karsinogenik.

Pewarna makanan harus memiliki syarat aman dikonsumsi, artinya kandungan bahan pada pewarna tersebut tidak mengakibatkan gangguan pencernaan maupun kesehatan saat dikonsumsi dalam jumlah yang sedikit ataupun banyak serta tidak menunjukkan bahaya apabila dikonsumsi secara terus menerus. Oleh sebab itu, kadang suatu bahan pewarna sintetis diperbolehkan dipakai, tetapi dikemudian hari tidak diperkenankan. Berikut contoh pewarna alami dan produk pewarna sintetis untuk makanan.

1. Pewarna alami

- a. *Karoten*, menghasilkan warna jingga sampai merah. Biasanya digunakan untuk mewarnai produk-produk minyak dan lemak seperti minyak goreng dan margarin. Dapat diperoleh dari wortel, pepaya, dan sebagainya.
- b. *Biksin*, memberikan warna kuning seperti mentega. Biksin diperoleh dari biji pohon *Bixa orellana* yang terdapat di daerah tropis dan sering

⁹ Nur Hidayat dan Elfi Anis Saati, *Membuat Pewarna Alami*, Trubus Agrisarana, Surabaya, 2006, h. 5

digunakan untuk mewarnai mentega, margarin, minyak jagung, dan *salad dressing*.

- c. *Karamel*, berwarna coklat gelap dan merupakan hasil dari hidrolisis karbohidrat, gula pasir, laktosa, dan sirup malt.
- d. *Klorofil*, menghasilkan warna hijau, diperoleh dari daun. Pigmen klorofil banyak terdapat pada daun suji, pandan, katuk, dan lain-lain. Klorofil selain menghasilkan warna hijau yang cantik, juga memiliki harum yang khas.
- e. *Antosianin*, penyebab warna merah, oranye, ungu, dan biru banyak terdapat pada bunga dan buah-buahan.
- f. *Kurkumin*, berasal dari kunyit sebagai salah satu bumbu dapur sekaligus pemberi warna kuning pada masakan.

2. Pewarna sintetik

- a. *Brilliant Blue FCF*, menghasilkan warna kebiruan. Pewarna ini sering digunakan pada berbagai jenis snack, permen, sirup dan hiasan untuk kue.
- b. *Carmoisine*, menghasilkan warna merah marun.
- c. *FC & C BLUE No 2*, menghasilkan warna biru. Biasanya digunakan untuk produk sereal, snack, dan es krim.
- d. *FD & C Green No 3*, menghasilkan warna kehijauan. Digunakan untuk minuman, puding, es krim, dan permen.
- e. *FD & C Red No 3*, menghasilkan warna merah cherry. Biasanya digunakan untuk mewarnai snack, permen, dan coklat.

- f. *FD & C Red No 40*, menghasilkan warna oranye kemerah-merahan. Sering digunakan untuk puding, permen, dan produk minuman.
- g. *FD & C Yellow No 5*, menghasilkan warna kuning lemon. Digunakan untuk mewarnai produk mie, sereal, minuman, es krim, dan permen.
- h. *FD & C Yellow No 6*, menghasilkan warna warna oranye. Sering diaplikasikan pada produk sereal, snack, es krim, dan minuma ringan.
- i. *Ponceau 4R*, menghasilkan warna kemerahan.¹⁰

C. Antosianin

Kata antosianin berasal dari bahasa Inggris *anthocyanin*, dari gabungan kata Yunani: *anthos* (bunga) dan *cyanos* (biru), adalah pigmen berwarna kuat dan larut air yang menyebabkan hampir semua warna merah jambu, merah marak, merah, merah senduduk, ungu, dan biru.¹¹ Kandungan antosianin dapat mencapai hingga 30 % bobot kering dalam beberapa bunga dan terdapat juga pada bagian lain tumbuhan (seperti daun, batang dan buah) diseluruh dunia tumbuhan kecuali fungus.¹² Antosianin telah banyak digunakan sebagai pewarna alami pada makanan dan berbagai aplikasi lainnya.

Secara kimia semua antosianin merupakan turunan suatu struktur aromatik tunggal, yaitu sianidin, dan semuanya terbentuk dari pigmen sianidin ini dengan penambahan atau pengurangan gugus hidroksil atau dengan metilisasi atau glikosilasi. Antosianidin adalah aglikon antosianin yang terbentuk bila antosianin dihidrolisis dengan asam. Antosianidin yang

¹⁰ *Ibid*, h. 8-10.

¹¹ J. B. Harborn, *Metode Fitokimia*, ITB, Bandung, 2006, h. 76.

¹² Travor Robinson, *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*, ITB, Bandung, 1995, h.

paling umum sampai saat ini ialah sianidin yang berwarna merah lembayung. Warna jingga disebabkan oleh pelargonidin yang gugus hidroksilnya kurang satu dibandingkan sianidin, sedangkan warna merah senduduk, lembayung dan biru umumnya disebabkan oleh delphinidin yang gugus hidroksilnya lebih satu dibandingkan sianidin.

Antosianin terdapat dalam semua tumbuhan tingkat tinggi, banyak ditemukan dalam bunga dan buah, tetapi ada juga yang ditemukan dalam daun, batang, dan akar. Antosianin sebagian besar ditemukan di luar lapisan sel. Bagi tumbuhan, antosianin memiliki banyak fungsi yang berbeda, misalnya sebagai antioksidan, pelindung untuk melawan sinar UV, sebagai mekanisme pertahanan terhadap serangga, dan penting pada proses penyerbukan dan reproduksi.

Antosianin telah digunakan untuk mewarnai makanan sejak zaman dahulu. Warna antosianin bergantung pada struktur dan keasaman. Sebagian besar antosianin berwarna merah pada kondisi asam dan berubah menjadi biru pada kondisi asam yang kurang. Selain itu, warna antosianin juga terpengaruh oleh suhu, oksigen dan sinar UV.

Warna diberikan oleh antosianin berkat susunan ikatan rangkap terkonjugasinya yang panjang, sehingga mampu menyerap cahaya pada rentang cahaya tampak. Sistem ikatan rangkap terkonjugasi ini juga yang mampu menjadikan antosianin sebagai antioksidan dengan mekanisme penangkapan radikal. Antosianin merupakan sub-tipe senyawa dari keluarga flavonoid, dan merupakan anggota kelompok senyawa yang lebih

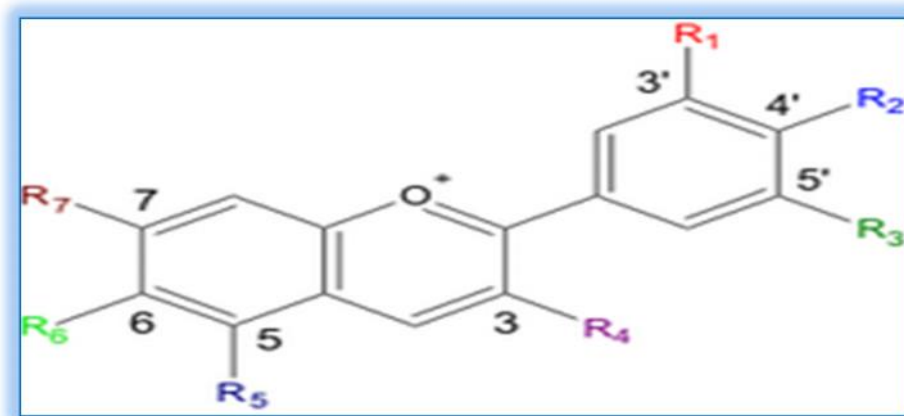
besar yaitu polifenol. Beberapa senyawa antosianin yang paling banyak ditemukan adalah pelargonidin, peonidin, sianidin, malvidin, petunidin, dan delphinidin.¹³



Gambar II.2 Tanaman yang mengandung antosianin

1. Struktur dan jenis antosianin

Zat pewarna alami antosianin tergolong ke dalam turunan benzopiran. Struktur utama turunan benzopiran ditandai dengan adanya dua cincin aromatik benzena (C_6H_6) yang dihubungkan dengan tiga atom karbon yang membentuk cincin.¹⁴



Gambar II.3 Struktur umum antosianin

¹³Widya Istiani, *Antosianin*, <http://widyaistianichem.blogspot.com/2012/12/antosianin.html>. 20.50 tanggal 7 April 2013.

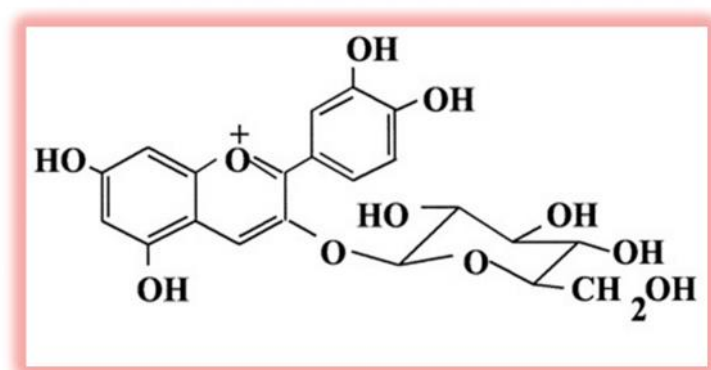
¹⁴Tri Eko Nanda Lindy, *Aplikasi Ekstrak Antosianin Buah Duwet (Syzigium Cumini) pada Produk Jelly, Yogurt dan Minuman Berkarbonasi*, Skripsi, ITB, Bandung, 2008, h. 7.

Dua puluh jenis senyawa antosianin telah ditemukan, tetapi hanya enam jenis yang memegang peranan penting didalam bahan pangan yang sering ditemukan yaitu pelargonidin, sianidin, peonidin, delphinidin, petunidin dan malvidin.¹⁵

Tabel II.1 Beberapa Jenis Antosianin, Gugus Substitusi, dan Warnanya¹⁶

ANTOSIANIN	R ₁	R ₂	R ₃	WARNA
Cyanidin	OH	OH	H	Orange-Merah
Delphinidin	OH	OH	OH	Biru-Merah
Malvidin	OCH ₃	OH	OCH ₃	Biru-Merah
Pelargonidin	H	OH	H	Orange
Peonidin	OCH ₃	OH	H	Orange-Merah
Petunidin	OCH ₃	OH	OH	Biru-Merah

Dalam penelitian ini, antosianin yang ditentukan sebagai sianidin-3-glikosida, yaitu sianidin yang berikatan dengan glukosa. Struktur dari sianidin-3-glikosida terlihat pada gambar di bawah ini.



Gambar II.4 Struktur Cyanidin 3-O-β-D-glikosida

¹⁵ *Ibid.*

¹⁶ Lydia Melawaty, *Loc. Cit.*

Antosianin adalah salah satu senyawa yang reaktif. Sifat reaktif ini disebabkan oleh inti kation flavium dari pigmen antosianin yang kekurangan elektron. Reaksi-reaksi yang terjadi pada antosianin umumnya menyebabkan terjadinya kerusakan warna. Kerusakan pigmen warna antosianin disebabkan oleh berubahnya kation flavium yang berwarna merah menjadi basa karbinol yang tidak berwarna.¹⁷

2. Faktor-faktor yang mempengaruhi kestabilan antosianin

Beberapa faktor yang mempengaruhi kestabilan antosianin antara lain:

a. *pH*

Warna yang ditimbulkan oleh antosianin tergantung dari tingkat keasaman (*pH*) lingkungan sekitar, sehingga pigmen ini dapat dijadikan sebagai indikator *pH*. Warna yang ditimbulkan adalah merah (*pH* 1), biru kemerahan (*pH* 4), ungu (*pH* 6), biru (*pH* 8), hijau (*pH* 12), dan kuning (*pH* 13). Untuk mendapatkan warna yang diinginkan, antosianin harus disimpan menggunakan larutan *buffer* dengan *pH* yang sesuai.

b. *Kation*

Sebagian kation, terutama kation divalen dan trivalen harus dihindari karena dapat menyebabkan perubahan warna antosianin menjadi biru hingga terjadi pengendapan pigmen. Selain itu, permukaan tembaga, baja ringan, dan besi juga sebaiknya dihindari.

¹⁷ Tri Eko Nanda Lindy, *Op. Cit.*, h. 10.

c. *Oksigen*

Saat terlarut di dalam suatu larutan campuran, antosianin akan teroksidasi perlahan-lahan.

d. *Sulfur dioksida (SO₂)*

Apabila sulfur dioksida bereaksi dengan antosianin maka akan terbentuk produk yang tidak berwarna. Reaksi perubahan warna tersebut bersifat *reversible* sehingga hanya dengan memanaskan SO₂ maka warna akan kembali seperti semula.

e. *Protein*

Apabila sumber antosianin bereaksi dengan protein maka akan terbentuk uap atau endapan. Peristiwa ini lebih dipengaruhi oleh pigmen non fenolik yang bereaksi dengan protein seperti gelatin.

f. *Enzim*

Penggunaan beberapa enzim dalam pengolahan makanan yang mengandung antosianin dapat mengakibatkan kandungan antosianin di dalamnya hilang atau berkurang. Hal ini sebagian disebabkan oleh enzim glukosidase yang ada pada tahap preparasi enzim.¹⁸

3. Manfaat antosianin bagi kesehatan

Salah satu fungsi antosianin bagi kesehatan adalah sebagai antioksidan di dalam tubuh sehingga dapat mencegah terjadinya penyakit penyumbatan pembuluh darah (aterosklerosis). Selain itu, manfaat antosianin bagi kesehatan adalah untuk melindungi perut dari kerusakan,

¹⁸ Anonim, antosianin, <http://id.wikipedia.org/wiki/Antosianin>, diakses pukul 23.14 tanggal 7 April 2013.

menghambat sel tumor, meningkatkan kemampuan penglihatan mata, serta berfungsi sebagai senyawa antinflamasi yang melindungi otak dari kerusakan.¹⁹

Antosianin yang diekstrak dari buah, bunga, maupun daun tumbuhan semakin banyak dimanfaatkan untuk makanan dan minuman. Hal ini karena antosianin merupakan alternatif yang tepat untuk menggantikan zat warna sintetis yang berbahaya bagi kesehatan tubuh.

4. Isolasi antosianin

Flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetil formamida (DMF), air, dan lain-lain.²⁰ Jadi, karena antosianin termasuk dalam golongan flavonoid, maka antosianin dapat diisolasi dengan pelarut yang bersifat polar.

Antosianin tidak mantap dalam larutan netral atau basa, dan bahkan dalam larutan asam warnanya dapat memudar perlahan-lahan akibat terkena cahaya. Karena itu, antosianin harus diekstraksi dari tumbuhan dengan pelarut yang mengandung asam (misalnya metanol yang mengandung HCl pekat 1%) dan larutannya harus disimpan ditempat gelap

¹⁹ Meiti Erni, *Studi Pemanfaatan Antosianin Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*) untuk Pewarna Makanan dan Antioksidan pada Agar-agar*, Skripsi, UIN SUSKA Riau, Pekanbaru, 2012, h. 18.

²⁰ K. R. Markham, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, ITB, Bandung, h. 15.

serta sebaiknya didinginkan.²¹ Hal ini karena kestabilan warna antosianin sangat dipengaruhi oleh cahaya dan suhu.

Ekstraksi antosianin berbeda dengan senyawa flavonoid lainnya. Untuk antosianin, daun segar atau daun bunga jangan dikeringkan, tetapi langsung dihaluskan. Ekstraksi hampir segera terjadi seperti terbukti dari warna larutan, dan kromatografi atau analisis spektroskopi ekstrak harus dilakukan segera setelah ekstraksi, yaitu untuk memperkecil kemungkinan terjadinya glikolisis glikosida.²²

D. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pengambilan atau pemisahan suatu zat dari bahan alam (tumbuhan ataupun hewan) dengan menggunakan suatu pelarut yang sesuai.²³ Dapat juga diartikan sebagai suatu proses pemisahan suatu bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut.²⁴ Pemisahan yang terjadi atas dasar kemampuan larutan yang berbeda dari komponen-komponen tersebut. Ekstraksi biasa digunakan untuk memisahkan dua zat berdasarkan perbedaan kelarutan. Hasil dari ekstraksi adalah *ekstrak*, yaitu sediaan kering, kental, atau cair dibuat dengan menyaring simplisia.

Ekstraksi antosianin dari tumbuhan segar adalah dengan menghancurkan bagian tumbuhan tersebut dalam tabung menggunakan sesedikit mungkin metanol yang mengandung HCl pekat 1%. Cara lain, jaringan tumbuhan yang jumlahnya lebih banyak dapat dimaserasi dalam

²¹ J. B. Harborn, *Op. Cit*, h. 78

²² K. R. Markham, *Op. Cit*, h. 16.

²³ Rusjdi Djamal, *Prinsip-prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi*, Universitas Baiturrahmah, Padang, h.31.

²⁴ A. Hendayana Pudjaatmaka, *Kamus Kimia*, Balai Pustaka, Jakarta, 2002.

pelarut yang mengandung asam, lalu maserat disaring. Ekstrak kemudian dipekatan pada tekanan rendah dan suhu 35o - 40oC sampai volumenya menjadi kira-kira seperlima volume ekstrak asal.

Proses pembuatan ekstrak meliputi tahapan berikut:

1. Penghalusan/pembubukan/penggilingan
2. Ekstraksi
3. Pemurnian *micellae* (larutan yang mengandung bahan hasil ekstraksi)
4. Pemekatan *micellae* /pemekatan ekstrak

Secara umum proses ekstraksi perlu memperhatikan hal-hal berikut:

1. Sebelum simplisia diproses harus diyakini betul bahwa simplisia yang akan diekstraksi adalah simplisia yang benar dan sesuai (mengandung zat yang akan diekstrak)
2. Selanjutnya simplisia dihaluskan ukurannya
3. Dalam ekstraksi ada tiga kelompok serbuk, yaitu serbuk berukuran kasar, serbuk berukuran sedang dan serbuk berukuran kecil
4. Persiapan ekstraksi, biasanya simplisia direndam dengan pelarut yang akan digunakan untuk penyarian 8-48 jam. Semakin keras simplisia, semakin lama waktu yang diperlukan.²⁵

Ekstraksi sederhana tanpa melibatkan suhu tinggi (memakai suhu ruangan) dalam proses pencarian simplisia. Cara ini dilakukan ketika simplisia tergolong mudah untuk ditarik dari jaringan atau harga D cukup tinggi ($D > 1000$). Sedangkan untuk yang susah untuk ditarik dari jaringan (D

²⁵ Goeswin Agoes, *Teknologi Bahan Alam*, ITB, Bandung, 2007, h. 26.

< 1) harus menggunakan cara panas yaitu teknik ekstraksi yang melibatkan suhu yang relatif tinggi sesuai dengan titik didih pelarut yang dipakai.

Pada prinsipnya, ekstraksi cara panas terjadi aliran pelarut secara terus-menerus melalui zat yang akan diekstrak. Pelarut yang telah membawa zat yang terekstrak diuapkan, kemudian didinginkan, sehingga dapat digunakan lagi. Jika perlu, pelarut yang lebih segar dapat ditambahkan terus-menerus.²⁶

Ekstraksi cara dingin dapat dilakukan dengan maserasi dan perkolasi. Sedangkan cara panas dapat dilakukan dengan refluks, digesti, infus, dekok dan sokhletasi.²⁷ Pada penelitian ini menggunakan teknik maserasi.

Maserasi adalah proses penyarian sederhana dengan jalan merendam bahan alam atau tumbuhan dalam pelarut dalam waktu tertentu, sehingga bahan akan jadi lunak dan larut. Maserasi bertujuan untuk menarik zat-zat berkasiat dari simplisia yang tidak tahan dengan pemanasan. Alat untuk maserasi ini sangat sederhana digunakan botol gelap yang besar atau erlemeyer yang sesuai, yang penting tertutup rapat untuk menghindari penguapan pelarut.²⁸ Dari pernyataan tersebut, dapat disimpulkan bahwa keuntungan dari maserasi adalah menggunakan peralatan yang sederhana dan biayanya murah. Sedangkan kerugiannya, waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan banyak,

²⁶ Rasmiwetti dan Rozalinda, *Kimia Analitik II*, Pusat Pengembangan Pendidikan Universitas Riau, Pekanbaru, 2006, h.32.

²⁷ Megawati Simanjuntak, *Ekstraksi dan Fraksinasi Komponen Ekstrak Daun Tumbuhan Senduduk (Melastoma malabathricum.L) serta Pengujian Efek Sediaan Krim Terhadap Penyembuhan Luka Bakar*, Skripsi, USU, Medan, 2008.

²⁸ Rusjdi Djamal, *Op. Cit*, h. 43.

serta tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras.

Prinsip dasar dalam maserasi adalah penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai pada temperatur kamar, terlindung dari cahaya. Cairan penyari akan masuk kedalam sel. Isi sel akan terlarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan didalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Maserasi dapat dilakukan modifikasi, antara lain:

1. Maserasi dengan mesin pengaduk

Maserasi dengan mesin pengaduk adalah maserasi yang menggunakan mesin pengaduk yang berputar terus-menerus. Waktu maserasi dapat dipersingkat menjadi 6 sampai 24 jam.

2. Remaserasi

Seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama. Setelah diendapkan, tuangkan dan diperas. Ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua.

3. Maserasi melingkar

Maserasi dapat diperbaiki dengan mengusahakan agar cairan penyari selalu bergerak dan menyebar. Dengan cara ini penyari selalu mengalir

kembali secara berkesinambungan melalui serbuk simplisia dan melarutkan zat aktifnya.

4. Maserasi melingkar bertingkat

Pada maserasi melingkar, penyarian tidak dapat dilaksanakan secara sempurna, karena pemindahan massa akan berhenti bila keseimbangan ini telah terjadi. Masalah ini dapat diatasi dengan maserasi melingkar bertingkat. Serbuk simplisia mengalami proses penyarian beberapa kali, sesuai dengan bejana penampung. Setelah itu, jumlah serbuk simplisia diperbanyak sesuai keperluan dan penyarian terus dilakukan dengan menambah penyari baru. Dengan ini diharapkan agar memberikan penyarian hasil yang maksimal.²⁹

E. Spektrofotometer Ultra Violet-Visibel (UV-Vis)

1. Pengertian spektrofotometer

Spektrofotometer adalah suatu instrumen untuk mengukur transmitans atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Pengukuran terhadap sederetan sampel pada suatu panjang gelombang tunggal dapat pula dilakukan. Instrumen semacam ini dapat dikelompokkan secara manual atau merekam atau sebagai: berkas tunggal atau berkas rangkap. Dalam praktik, instrumen berkas-tunggal biasanya dijalankan secara manual, dan instrumen berkas rangkap umumnya mencirikan perekaman otomatis terhadap spektra absorpsi, namun dimungkinkan untuk merekam suatu spektrum dengan instrumen berkas

²⁹ Meiti Erni, *Op. Cit*, h. 22.

tunggal. Pengelompokan cara lain didasarkan pada daerah spektral dan kita menyebut spektrofotometer inframerah, ultraviolet, dan sebagainya.³⁰

2. Spektrofotometer UV-VIS

Spektrofotometer UV-VIS merupakan gabungan spektrofotometer UV dan spektrofotometer visibel. Spektrofotometer UV, cahaya yang diserap adalah cahaya ultra ungu (ultra violet = UV) yaitu pada $\lambda = 100 - 400$ nm. Dengan cara ini larutan tak berwarna dapat diukur, contoh aseton, asetaldehid. Sedangkan spektrofotometer visibel (cahaya tampak), cahaya yang diserap adalah cahaya pada panjang gelombang $\lambda = 400 - 750$ nm. Zat yang dapat dianalisis menggunakan spektrofotometer ini adalah larutan yang berwarna.

Dalam spektrofotometer ultra violet dan spektrofotometer sinar tampak, energi cahaya terserap digunakan untuk transisi elektron (*electronic transition*). Sehingga, sampel yang disinari cahaya UV atau Visibel akan mengalami transisi elektron yaitu pada ikatan σ atau π .³¹

Prinsip dasar dari spektrofotometer UV-Vis adalah interaksi antara sinar UV atau Visibel dengan ion atau molekul (senyawa organik), dimana ketika sinar UV atau Visibel sama dengan energi dari molekul atau ion maka sinar akan diserap molekul atau ion tersebut. Penyerapan ini ditandai dengan eksitasi elektron dan perpindahannya disebut transisi elektronik (perpindahan elektron ke tingkat energi yang lebih tinggi).

³⁰ R. A. Day dan A. L. Underwood, *Kimia Analisa Kualitatif (edisi ke-6)*, Erlangga, Jakarta, 2001, h. 396.

³¹ Sumar Hendayana, *Kimia Analisa Instrumen Edisi Ke Satu*, IKIP Semarang Press, Semarang, 1994, h. 156.

Hukum yang mendasari penyerapan sinar UV/Vis oleh senyawa organik dikenal dengan Hukum Dasar Absorbansi, yaitu:

- a. Sinar datang dengan daya I_0 dilewatkan melalui cuplikan yang tebalnya: b cm.
- b. Sinar diteruskan dengan daya I
- c. Sebagian sinar diserap oleh cuplikan, besarnya serapan sinar dinyatakan dengan absorbansi.

Menurut Lambert, fraksi penyerapan sinar tidak tergantung pada intensitas cahaya, sedangkan Beer menyatakan bahwa serapan sebanding dengan jumlah molekul yang menyerap.³² Pernyataan dari Lambert dan Beer tersebut dijadikan hukum dasar absorbansi yang disebut dengan “Hukum Lambert-Beer”. Penjabaran hukum Lambert-Beer menghasilkan persamaan:

$$A = a \cdot b \cdot c \text{ (c dalam g/l)} \quad \text{atau} \quad A = \epsilon \cdot b \cdot c \text{ (c dalam mol/l)}$$

Keterangan:

A = absorbansi

a = absorbtivitas per satuan konsentrasi

ϵ = absorbtivitas molar/serapan persatuan konsentrasi

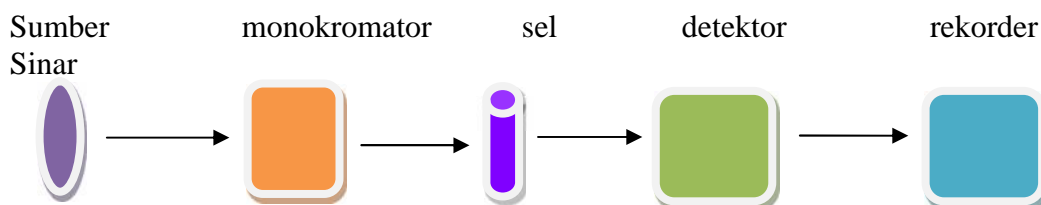
c = konsentrasi

³² Tri Panji, *Teknik Spektroskopi untuk Elusidasi Struktur Molekul*, Graha Ilmu, Yogyakarta, 2012, h. 6.

Gambar II.5 Spektrofotometer UV-Vis RS UV 2500



3. Instrumentasi spektrofotometer UV-Vis



Gambar II.6 Bagan alat spektrofotometer UV-VIS

Secara umum, komponen-komponen spektrofotometer adalah sebagai berikut.

a. Sumber sinar

Sumber untuk sinar UV yang digunakan adalah lampu Deuterium (160-360nm) dan sumber untuk sinar tampak yang biasa digunakan adalah lampu Tungsten (350-800nm).

b. Monokromator

Seperti kita ketahui bahwa sumber radiasi yang umum digunakan menghasilkan radiasi kontinu dalam radiasi panjang gelombang yang lebar. Dalam spektrometer, radiasi yang polikromatik ini harus diubah menjadi radiasi monokromatik. Ada dua jenis alat yang digunakan untuk mengurai radiasi polikromatik menjadi monokromatik, yaitu penyaring dan monokromator. Penyaring dibuat dari benda khusus yang hanya meneruskan radiasi pada daerah panjang gelombang tertentu dan menyerap radiasi panjang gelombang yang lain. Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang menguraikan radiasi polikromatik menjadi jalur-jalur yang efektif panjang gelombang-gelombang tunggalnya dan memisahkan panjang gelombang-gelombang tersebut menjadi jalur-jalur yang sangat sempit.³³

c. Sel

Sampel yang akan dimasukkan ke dalam berkas cahaya spektrofotometer UV-VIS harus dalam bentuk larutan, karenanya membutuhkan wadah sampel yang disebut dengan sel untuk menaruh cairan tersebut. Sel harus dapat meneruskan energi radiasi dalam daerah spektra yang diinginkan. Jadi, sel yang cocok adalah sel kuarsa atau kaca silika.

Suatu sel bukan hanya sebagai wadah untuk sampel, tetapi juga menjadi bagian dari lintasan optis dalam spektrofotometer. Oleh sebab

³³ Hardjono Sastrohamidjojo, *Spektroskopi*, Liberty, Yogyakarta, 2001, h. 40.

itu, sifat-sifat optisnya menjadi sangat penting, diantaranya sel yang baik adalah sel yang memiliki permukaan optis yang datar, komponen-komponennya harus sedemikian rupa hingga berkas cahaya menembus larutan.

Sel yang khas dari spektrofotometer UV-VIS mempunyai panjang lintasan 1 cm. Namun tersedia sel dengan ketebalan yang sangat beraneka, mulai dari lintasan yang sangat pendek, kurang dari 1 mm sampai 10 cm atau bahkan lebih.³⁴

d. Detektor

Detektor berfungsi untuk mengubah tenaga radiasi menjadi arus listrik atau peubah panas lainnya dan biasanya terintegrasi dengan pencatat (printer). Tenaga cahaya diubah menjadi tenaga listrik akan mencatat secara kuantitatif tenaga cahaya tersebut. Persyaratan detektor yang baik adalah:

- 1) Sensitivitas tinggi,
- 2) Respon pendek,
- 3) Stabilitas lama,
- 4) Sinyal elektronik mudah diperjelas.³⁵

e. Rekorder

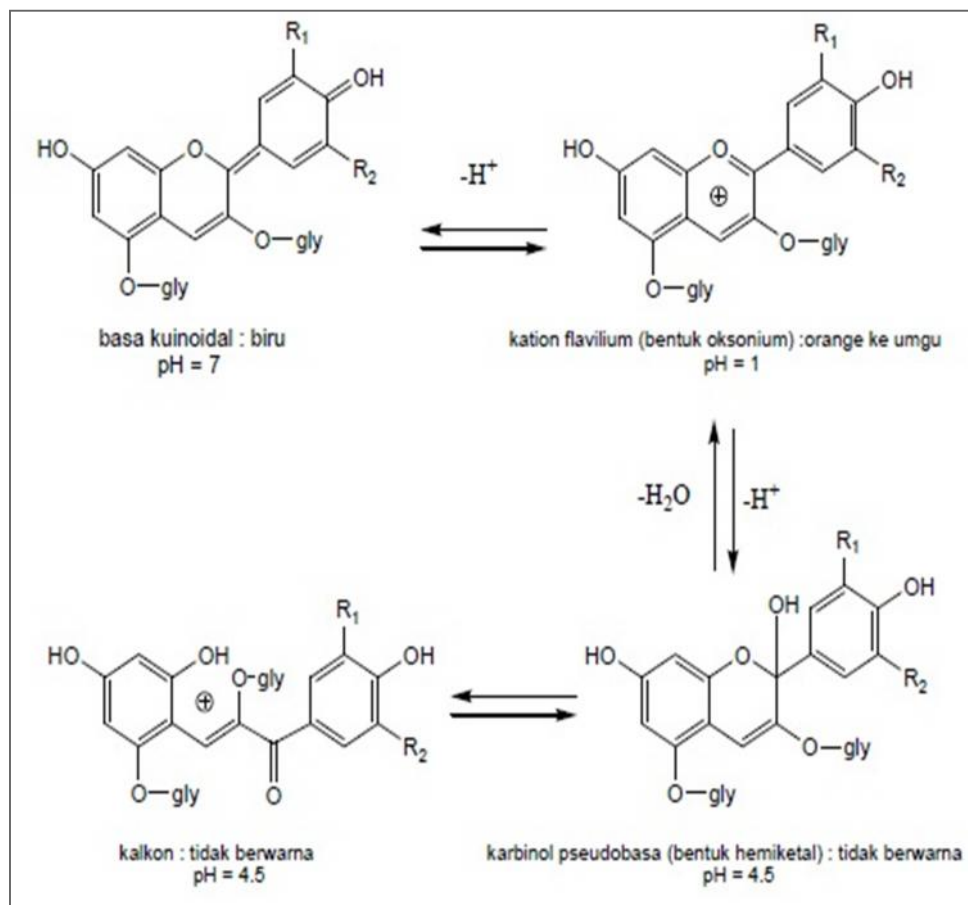
Sinyal listrik dari detektor diperkuat dan direkam sebagai spektrum yang berbentuk puncak-puncak.

³⁴ R. A. Day dan A. L. Underwood, *Op. Cit.*, h. 402.

³⁵ Marham Sitorus, *Spektroskopi Elusidasi Struktur Molekul Organik*, Graha Ilmu, Medan, 2009, h. 27.

F. Metode pH Differensial

Metode pH differensial adalah suatu metode untuk menentukan total ekstrak antosianin. Penetapan konsentrasi senyawa antosianin dalam metode ini adalah pH 1,0 dan 4,5. Alasan pemilihan pH tersebut karena pada pH 1,0 antosianin membentuk senyawa oxonium (kation flavilium) yang berwarna dan pada pH 4,5 berbentuk karbinol/hemiketal tak berwarna. Kondisi inilah yang akan dijadikan acuan untuk menentukan absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dari ekstrak yang dihasilkan, dengan cara membuat suatu alikuot larutan yang pH-nya 1,0 dan 4,5 dan kemudian diukur absorbansinya. Perubahan warna pada antosianin dalam tingkat pH tertentu disebabkan sifat antosianin yang memiliki tingkat kestabilan yang berbeda. Misalnya, pada pH 1,0 antosianin lebih stabil dan warna lebih merah dibandingkan pH 4,5 yang kurang stabil dan tidak berwarna. Adapun struktur dan perubahan warna pada antosianin karena perbedaan pH terlihat pada gambar dibawah ini.



Gambar II.7 Struktur antosianin pada pH yang berbeda

Berdasarkan gambar di atas, menjelaskan bahwa dalam media air asam, antosianin berada dalam empat jenis kesetimbangan, yaitu basa kuinoidal, kation flavilium atau bentuk oxonium, karbinol atau pseudobasa dan kalkon.³⁶

Dalam keadaan asam, struktur dominan antosianin berada dalam bentuk inti kation flavium (aglikon antosianidin) terprotonisasi dan kekurangan elektron (Jackman dan Smith, 1996). Peningkatan nilai pH menyebabkan kation flavilium (antosianidin) menjadi tidak stabil dan mudah mengalami transformasi struktural menjadi senyawa tidak berwarna (kalkon). Apabila

³⁶ R. Hermawan, E.K. Hayati, U.S. Budi, dan A. Baziri, "Effect of Temperature pH On Total Concentration and Color Stability of Anthocyanin Compound Extract Roselle Calyx (*Hibiscus Sabradiffa L.*)", Vol. 2 No.1, Oktober 2010, h. 107.

semakin rendah nilai pH maka warna konsentrat makin merah dan stabil atau jika pH semakin mendekati angka 1 (satu) maka warna semakin stabil. Hal ini disebabkan bentuk pigmen antosianin pada kondisi asam adalah kation flavium dan inti kation flavium, dimana jumlah elektron pada inti kation flavium sedikit sehingga sangat reaktif. Oleh karena itu, penggunaan ekstrak pigmen bunga rosella pada produk pangan diterapkan untuk produk yang memiliki pH rendah.