

## ANALISIS TOTAL ANTOSIANIN DARI DAUN BAYAM MERAH (*Alternanthera Amoena Voss.*) BERDASARKAN PENGARUH PENAMBAHAN JENIS ASAM

DINI HARIYATI ADAM

Program Studi Pendidikan Biologi STKIP Labuhan Batu, Jalan SM Raja No 126 A, Aek Tapa, Rantauprapat  
\*Email : dini\_adam89@yahoo.com

Diterima April 2015 dan Disetujui Juni 2015

### ABSTRAK

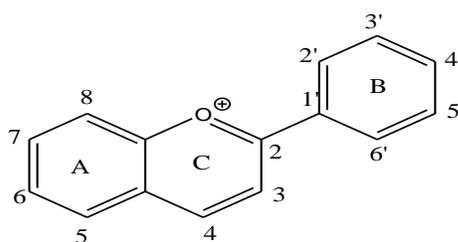
Bayam Merah (*Alternanthera Amoena Voss.*) merupakan salah satu jenis tanaman yang mengandung zat warna antosianin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui total antosianin dari daun bayam merah (*Alternanthera Amoena Voss.*) terhadap pengaruh penggunaan jenis asam. Daun bayam merah yang segar diekstraksi dengan pelarut etanol/HCl 0,1 M (A), etanol/asam sitrat 3% (B), etanol/CH<sub>3</sub>COOH 25 % (v/v) (C) dan pelarut etanol (D), ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dalam keadaan gelap selama 24 jam. Kemudian diidentifikasi dengan spektroskopi UV-Vis dan KLT. Dari analisis data spektroskopi didapatkan jenis antosianin yang terdapat pada bayam merah yaitu sianidin yang menyerap pada  $\lambda$  maksimum sebesar 290 nm (UV) dan 536 (tampak) yang sesuai dengan literatur. Kadar total antosianin ekstrak A, B, C, dan D berturut-turut 132,76 mg/L ; 121,56 mg/L ; 107,21 mg/L ; 76,98 mg/L. Berdasarkan hasil Uji KLT didapatkan nilai Rf sebesar 0,38. Hasil menunjukkan jenis asam yang paling efektif untuk mengekstraksi pigmen antosianin dari daun bayam merah yaitu dengan menggunakan jenis asam HCl karena memberikan hasil total antosianin paling tinggi.

**Kata kunci :** antosianin, zat warna, spektroskopi UV-Vis, bayam merah

### PENDAHULUAN

Antosianin merupakan senyawa kimia yang tersebar luas di alam sebagai zat warna dalam tumbuhan. Pigmen antosianin larut

dalam air dan memiliki warna muda, merah, ungu, biru, dan kuning. Kerangka dasar antosianin berasal dari kation flavilium<sup>1,2</sup>



Kation flavilium

**Gambar 1.** Kerangka dasar Antosianin<sup>1</sup>

Substituen gula pada antosianin biasanya adalah heksosa (galaktosa dan glukosa), pentosa (arabinosa) dan diglikosida (rutinosida). Gugus asil pada antosianin misalnya asam kumarat, asam ferulik, asam asetat, asam malonat, asam kafeit, asam

sinapit, asam propionat, dan asam suksinat. Struktur dasar dari antosianin adalah C6-C3-C6, dan untuk membentuk antosianin disebabkan karena perbedaan struktur kimia pada berbagai tingkatan pH, antosianin (*anthos* = bunga, *kyanos* = biru ) berubah

warna dari merah dalam asam ke biru dalam basa.<sup>3</sup>

Isolasi pigmen dilakukan dengan cara mengekstrak bahan dengan menggunakan pelarut yang sesuai kepolarannya dengan zat yang akan diekstrak. Ekstraksi senyawa golongan flavonoid dianjurkan dilakukan pada suasana asam karena asam berfungsi mendenaturasi membran sel tanaman, kemudian melarutkan pigmen antosianin sehingga dapat keluar dari sel, serta mencegah oksidasi flavonoid.<sup>4</sup>

Senyawa golongan flavonoid termasuk senyawa polar dan dapat diekstraksi dengan pelarut yang bersifat polar pula. Beberapa pelarut yang bersifat polar diantaranya etanol, air, dan etil asetat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui total antosianin dari daun bayam merah (*Alternanthera Amoena* Voss.) terhadap pengaruh penggunaan jenis asam.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah rotary evaporator Heidolph WB 2000, plat KLT, spektrofotometer UV-Vis (UV-1700 Series) Shimadzu, kertas saring Whatman No 1, aluminium foil, pH meter, termometer, serangkaian alat vakum, aluminium foil, lampu UV, serta peralatan gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam merah segar, dan bahan-bahan kimia berupa pelarut organik seperti CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH, akuades, asam sitrat, CH<sub>3</sub>COOH pekat, HCl pekat, CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>, KCl, I<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, dan NH<sub>4</sub>OH.

### Ekstraksi

Ekstraksi dimulai dengan menimbang daun bayam merah sebanyak 100 gram lalu sampel dipotong kecil-kecil. Sampel yang telah halus dipindahkan ke dalam botol gelap, lalu ditambahkan pelarut etanol yang dibuat dalam suasana asam hingga pH 3 menggunakan jenis asam yaitu HCl 0,1 M, asam sitrat 3%, asam asetat 25% (v/v) serta tanpa menggunakan asam. Kemudian dilakukan proses ekstraksi secara maserasi pada temperatur kamar (±

30°C) selama 24 jam dalam keadaan gelap. kemudian disaring sehingga didapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak pekat lalu dianalisis spektroskopi UV-Vis pada panjang gelombang 250 – 700 nm.

### Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan antosianin pada daun bayam merah dilakukan dengan metode KLT. Antosianin dipisahkan dengan cara menotolkan ekstrak daun bayam merah pada plat KLT kemudian dielusi menggunakan eluen n-Heksan 100 %, n-Heksan : etil asetat (8 : 2), n-Heksan : etil asetat (6 : 4), n-Heksan : etil asetat (4 : 6), n-Heksan : etil asetat (2 : 8), Etil asetat 100 %, Etil asetat : etanol (8 : 2), Etil asetat : etanol (6 : 4), Etil asetat : etanol (4 : 6), Etil asetat : etanol (2 : 8), etanol 100 %. Warna dilihat di bawah lampu UV dan nilai R<sub>f</sub> dari masing-masing spot yang muncul dicatat.

### Penentuan Kadar Total Antosianin

Kadar total monomer antosianin dan kadar total antosianin dalam sampel dapat dihitung dengan menggunakan rumus<sup>5,6</sup>:

$$A = (A_{536} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{536} - A_{700})_{\text{pH } 5,0}$$

Konsentrasi monomer antosianin (mg/L) =

$$\frac{A' \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Dimana :

$$A' = (A_{536} - A_{700})_{\text{pH } 1,0}$$

$$\epsilon = \text{absorbsivitas molar sianidin-3-glukosida} = 26900 \text{ L/mol.cm}$$

$$l = \text{lebar cuvet (1 cm)}$$

$$MW = \text{BM sianidin-3-glukosida} = 449,2 \text{ g/mol}$$

$$DF = \text{faktor pengenceran}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan total antosianin dari daun bayam merah berdasarkan jenis asam dapat dilihat pada tabel 1, menunjukkan bahwa penggunaan asam klorida menghasilkan konsentrasi monomer antosianin dan total antosianin tertinggi dibandingkan dengan asam asetat, asam sitrat dan tanpa menggunakan asam.

**Tabel 1.** Konsentrasi Monomer dan Total Antosianin Daun Bayam Merah dengan Variasi Jenis Asam

Jenis Asam	Konsentrasi monomer antosianin (mg/L)	Total Antosianin (mg/L)
Tanpa asam	15,69	76,98
Etanol + CH <sub>3</sub> COOH 25%	30,73	107,21
Etanol + asam sitrat 3%	34,39	121,56
Etanol + HCl 0,1 M	43,08	132,76

Perbedaan konsentrasi monomer antosianin dan total antosianin yang dihasilkan untuk setiap jenis asam berkaitan erat dengan perbedaan tetapan disosiasi dari masing-masing jenis asam. HCl memiliki tetapan disosiasi yang lebih besar dibandingkan CH<sub>3</sub>COOH. Tetapan disosiasi untuk HCl  $10^7$  dan CH<sub>3</sub>COOH  $1,75 \times 10^{-5}$ . Semakin besar tetapan disosiasi semakin kuat suatu asam karena semakin besar jumlah ion hidrogen yang dilepaskan ke dalam larutan.<sup>7</sup>

Keadaan yang semakin asam akan menyebabkan semakin banyaknya pigmen antosianin berada dalam bentuk kation flavilium yang berwarna hal ini disebabkan karena

terjadinya denaturasi membran sel tanaman yang kemudian melarutkan pigmen antosianin dan dapat keluar dari sel sehingga pengukuran absorbansi akan meningkat.

Antosianin memiliki nilai  $\lambda_{maks}$  yaitu 270-290 nm untuk daerah UV dan untuk di daerah tampak yaitu 465-560 nm. Dari spektrum di atas didapatkan nilai  $\lambda$  maksimum yaitu pada daerah UV 290 nm dan pada daerah Vis yaitu 536 nm yang merupakan senyawa antosianin berjenis sianidin dimana untuk antosianin berjenis sianidin memiliki puncak serapan pada  $\lambda$  290 nm untuk UV dan  $\lambda$  536 nm untuk daerah tampak.<sup>8,9</sup>

### Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

**Tabel 2.** Hasil Uji KLT dengan berbagai komposisi eluen.

Eluen	Noda yang muncul		Rf dengan I <sub>2</sub>
	Dengan NH <sub>3</sub>	Dengan I <sub>2</sub>	
n-Heksan 100 %	Tidak ada noda	Tidak ada noda	-
n-Heksan : etil asetat (8 : 2)	Tidak ada noda	Tidak ada noda	-
n-Heksan : etil asetat (6 : 4)	1 noda tailing	1 noda tailing	0,04
n-Heksan : etil asetat (4 : 6)	1 noda tailing	1 noda tailing	0,06
n-Heksan : etil asetat (2 : 8)	2 noda tailing	2 noda tailing	0,04; 0,06
Etil asetat 100 %	2 noda tailing	2 noda tailing	0,11; 0,06
Etil asetat : etanol (8 : 2)	1 noda tailing	2 noda tailing	0,13; 0,06
Etil asetat : etanol (6 : 4)	1 noda tailing	1 noda naik 2 noda tailing	0,17; 0,06 ; 0,06
Etil asetat : etanol (4 : 6)	1 noda naik 1 noda tailing	1 noda naik 2 noda tailing	0,42 0,33; 0,06
Etil asetat : etanol (2 : 8)	2 noda naik	2 noda naik 1 noda tailing	0,47; 0,34 0,06
Etano 100%	2 noda naik	3 noda naik	0,49; 0,38 0,06

Dari KLT awal, diketahui bahwa pada eluen n-heksan 100% dan n-heksan (8 : 2) tidak ada noda yang terelusi. Noda mulai naik pada eluen n-heksan : etil asetat (6 : 4). Noda yang muncul dilihat dengan menggunakan 2 reagen penampak noda yaitu NH<sub>3</sub> dan I<sub>2</sub>, penggunaan kedua reagen ini memberikan hasil yang berbeda, pada reagen NH<sub>3</sub> hanya senyawa yang memberikan fluoresensi yang dapat dilihat di bawah lampu UV sedangkan senyawa yang tidak memberikan noda yang berfluoresensi dapat dilihat menggunakan I<sub>2</sub>, karena senyawa yang tidak memiliki noda yang berfluoresensi diduga bukan golongan antosianin, karena tidak memiliki ikatan rangkap yang berkonjugasi sehingga tidak dapat dilihat di bawah lampu UV.

KLT ini bertujuan untuk menentukan jenis pelarut yang baik sehingga dapat memisahkan senyawa yang terkandung dalam sampel. Dan pelarut yang sesuai yaitu etil asetat : etanol (8 : 2). Berdasarkan literatur R<sub>f</sub> untuk golongan antosianin yaitu 0,36 – 0,38.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Z, Nazulis, dkk. 2002. *Kimia Bahan Alam*. Reviewer : Nurhasnah Aliunir. Penerbit UNP. Padang.
2. Shi, Z. Lin, M. And Francis. F.J 1992. *Stability of Anthosianins from Tradescania pallida*. *Jurnal of Food Science* 57 (3): 758-760.
3. Santoni, A, Djaswir Darwis, Sukmaning Syahri. 2013. *Isolasi Antosianin dari Buah Pucuk Merah (syzygium campanulatum korth.) Serta Pengujian Antioksidan dan Aplikasi sebagai Pewarna Alami*. Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung.
4. Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Edisi ke-6. Penerjemah : Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung
5. Wrolstada, Ronald, Robert W. Dursta and Jungmin Leeb.2005. *Tracking color and pigment changes in anthocyanin products*. Department of Food Science and Technology,Wiegand Hall, Oregon State University.
6. Giusti, M. M. dan R. E. Worlstad.. 2001. *Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy*. Oregon State University.
7. Anis, Elfi. *Identifikasi dan Uji Kualitas Pigmen Kulit Buah Naga Merah (Hylocareus costaricensis) pada Beberapa Umur Simpan dengan Perbedaan Jenis Pelarut*.
8. Qin, Cuanguang. 2010. *Analysis and Characterisation of Anthocyanins in Mulberry Fruit*. Vol 28. No.2, 117-126.
9. Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerjemah : Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung.