

KONSENTRASI TOTAL SENYAWA ANTOSIANIN EKSTRAK KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L.) : PENGARUH TEMPERATUR DAN pH

Hayati, E.K.¹⁾, Budi, U.S.²⁾, Hermawan, R.¹⁾

¹⁾*Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang*
²⁾*BALITTAS*

ABSTRAK

Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), dikenal masyarakat sebagai tanaman yang dimanfaatkan untuk teh dan berpotensi sebagai pewarna alami. Tujuan dari penelitian ini adalah: (1) untuk mengetahui laju degradasi antosianin akibat pengaruh pemanasan dengan variasi suhu terhadap konsentrasi total dan kestabilan warna senyawa antosianin ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), (2) untuk mengetahui kestabilan antosianin akibat pengaruh pH terhadap konsentrasi total senyawa antosianin ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.).

Penelitian ini dilakukan dengan mengekstraksi sampel dengan pelarut asam sitrat 2%. Ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk uji stabilitas warna terhadap suhu pemanasan dan pH selama proses penyimpanan selama ± 30 hari dan perubahan warna.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) mengalami penurunan konsentrasi pada suhu 80°C. Laju degradasi konsentrasi antosianin adalah mengikuti persamaan $r = 0,014T - 1,169$ dengan nilai konsentrasi terendah 32,916 mg/L.

Kata Kunci : Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), antosianin, degradasi, suhu, pH

ABSTRACT

Recently, Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) has been used for tea. Based on this background, research was conducted with the aims: (1) To determine the rate of anthocyanin degradation heating of the roselle calyx extract (*Hibiscus sabdariffa* L.), (2) To determine the effects of changes during storage on the stability and total concentration of anthocyanin.

This research was conducted by extracting the sample with 2% citric acid. Concentrated extract was used to test the stability upon heating temperature, pH during the storage process for ± 30 days.

The results of this study indicate that extracts of roselle calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.) experienced a decrease in concentration at 80°C. The anthocyanin degradation rate followed the equation of $r = 0.014T - 1.169$ with the lowest concentration of 32.916 mg / L.

Keywords : Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), anthocyanins, degradation, temperature, pH

PENDAHULUAN

Penentuan bahan makanan pada umumnya sangat bergantung pada beberapa faktor antara lain cita rasa, warna, tekstur, dan nilai gizi dan mikrobiologis. Tetapi, faktor yang paling mudah diamati secara visual dan kadang-kadang sangat menentukan adalah warna

(Winarno, 2004). Hampir semua bahan makanan olahan saat ini menggunakan pewarna, yang tanpa kita sadari pewarna tersebut banyak berasal dari bahan-bahan kimia dan menimbulkan dampak negatif terhadap tubuh.

Pada dasarnya, banyak tanaman ataupun tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami, salah satunya adalah bunga

rosella. Senyawa antosianin merupakan sumber pewarna alami yang terdapat pada kelopak bunga rosella dan hampir pada semua tumbuhan yang memberikan pigmen berwarna kuat dan apabila dilarutkan dalam air akan menimbulkan warna merah, jingga, ungu, dan biru (Nollet, 1996).

Antosianin merupakan salah satu senyawa yang terkandung pada kelopak bunga rosella dan perlu dikaji lebih mendalam baik fungsi dan kegunaannya bagi tubuh ataupun zat-zat makanan. Kestabilan warna senyawa antosianin dipengaruhi oleh pH atau tingkat keasaman, dan akan lebih stabil apabila dalam suasana asam atau pH yang rendah (Belitz and Grosch, 1999).

Kestabilan antosianin juga dipengaruhi oleh suhu. Laju kerusakan (degradasi) antosianin cenderung meningkat selama proses penyimpanan yang diiringi dengan kenaikan suhu. Degradasi termal menyebabkan hilangnya warna pada antosianin yang akhirnya terjadi pencoklatan. Laju termal degradasi mengikuti kinetika orde pertama. Kenaikan suhu bersamaan dengan pH menyebabkan degradasi antosianin pada buah cherri (Rein, 2005).

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti melakukan penelitian tentang analisis konsentrasi dan kestabilan warna antosianin yang terdapat pada ekstrak bunga rosella. Penelitian ini terfokus pada pengaruh temperatur dan pH terhadap total konsentrasi dan kestabilan warna senyawa antosianin ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.).

MATERI DAN METODE

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus sampai November tahun 2010 di Laboratorium Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim, BALITTAS, dan THP Brawijaya.

Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dari perkebunan BALITTAS, Karang Ploso yang sudah dikeringkan.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah aquadest, asam sitrat, HCl, KCl, Na-Sitrat, Na-Asetat anhidrat, Na₂HPO₄.2H₂O dan Asam Sitrat.

Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, seperangkat alat gelas, pisau atau alat pemotong, blender, timbangan analitik, kertas saring, sentrifuge, shaker, oven, waterbath, Spektrofotometer UV-Vis Varian Cary 50, dan Color reader Minolta CR 10, pH meter.

Cara Kerja

Preparasi Sampel

Sampel kelopak bunga rosella yang akan dianalisis sebelumnya dilakukan sortasi atau pemilihan. Kelopak bunga rosella yang masih baik selanjutnya dicuci pada air yang mengalir hingga diperkirakan kotoran (tanah, debu dan sebagainya) sudah hilang. Selanjutnya ditiriskan dan dikeringkan pada suhu 50°C selama 36 jam.

Ekstraksi Sampel Kelopak Bunga Rosella Menggunakan Metode Maserasi (Saona dan Wrolstad, 2001)

Sampel kering diblender selama 5 menit dan ditimbang sebanyak 50 g. Dilakukan maserasi dalam beaker gelas 500 mL dengan pelarut asam sitrat 2%. Pengocokan dilakukan pada kecepatan 200 rpm dan dibiarkan selama 10 jam pada ruang gelap dan suhu ruangan memucat. Sebelum dan setelah penambahan sampel, pelarut diukur keasamannya dengan pH meter. Sampel selanjutnya disaring dengan corong Buchner. Ekstrak yang diperoleh disentrifuges dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit. Residu yang tersisa dimaserasi kembali dengan perlakuan yang sama sampai benar-benar pucat dan warnanya memudar. Ekstrak maserasi pertama yang telah disentrifugasi dapat dicampurkan dengan ekstrak maserasi kedua yang telah disentrifuge.

Pengukuran Total Antosianin Ekstrak Bunga Rosela dengan Spektrofotometri UV-Visible (Guisti dan Wrolstad, 2001 dan Hosseinian, 2008)

Pengukuran total konsentrasi antosianin ekstrak kelopak bunga rosella diambil dari sampel larutan hasil ekstraksi 50 g rosella dalam 500 mL pelarut dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 500-700 nm.

Disiapkan 2 sampel larutan, larutan pertama adalah larutan untuk pH 1,0 menggunakan buffer KCl dan larutan kedua untuk pH 4,5 menggunakan buffer Na-Asetat. Diambil masing-masing 1 mL ekstrak kelopak bunga rosella dan diencerkan menggunakan larutan buffer masing-masing sampai volume 10 mL (Faktor pengenceran = 10). Sampel hasil pengenceran masing-masing dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 500-700 nm dan 700 nm. Untuk menentukan nilai absorbansinya menggunakan persamaan berikut:

$$A = (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\lambda \text{ vis max}} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

dan untuk menentukan total konsentrasinya dapat menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Total Antosianin (mg/L)} = \frac{\text{Absorbansi} \times \text{DF} \times 1000}{55,9 \times 1}$$

Uji Stabilitas Terhadap Suhu Pemanasan (Nugrahan, 2007)

Mula-mula diambil 5 mL ekstrak hasil maserasi dan diencerkan dengan aquades dalam labu ukur 250 mL hingga tanda batas. Hasil pengenceran diambil 10 mL dan dimasukkan dalam tiga tabung reaksi, masing –masing dengan volume yang sama yaitu 10 mL dan ditutup dengan alumunium foil. Proses pemanasan dilakukan dengan menggunakan waterbath pada suhu bervariasi yaitu 30, 40, 50, 60, 70 dan 80°C dengan waktu pemanasan selama 30 menit dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimal dan 700 nm dengan cara berikut, diambil masing-masing 1 mL sampel yang telah dipanaskan dan diencerkan menggunakan larutan buffer yaitu, pH 1 dan pH 4,5 sampai volume 10 mL (Faktor pengenceran = 50). Berikutnya dilakukan penentuan kecerahan warna dengan

color reader. Data absorbansi yang diperoleh selanjutnya dikonversi mengikuti rumus berikut,

$$\text{Total Antosianin (mg/L)} = \frac{\text{Absorbansi} \times \text{DF} \times 1000}{55,9 \times 1}$$

Hasil total konsentrasi terendah pada salah satu suhu tersebut (30-80°C), selanjutnya diulangi dengan variasi lama pemanasan kelipatan 5 menit selama 30 menit mulai dari 0 menit. Selanjutnya, diukur absorbansi dan dikonversi menjadi konsentrasi. Untuk mengetahui laju degradasi antosianin, maka dilakukan perhitungan dengan dicoba pada 3 tingkatan orde, yaitu orde 0, 1, dan 2.

Uji Stabilitas Terhadap Perlakuan Buffer pH (Nugrahan, 2007)

Proses pelaksanaan uji stabilitas terhadap buffer pH sebagai berikut, mula-mula disiapkan ekstrak hasil maserasi. Disiapkan larutan buffer dengan pH yang bervariasi, yaitu pH 1 sampai 7. Masing-masing diambil sebanyak 10 mL, dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditutup dengan aluminium foil.

Ekstrak antosianin sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tujuh tabung reaksi yang telah berisi larutan buffer, ditutup dengan aluminium foil dan dikocok-kocok hingga benar-benar homogen. Ketujuh tabung reaksi tersebut disimpan pada suhu ruang $\pm 27^\circ\text{C}$ kedap cahaya.

Penentuan total antosianin dilakukan dengan cara pengukuran absorbansi, diambil masing-masing ± 5 mL ekstrak kelopak rosella. Sampel hasil pengenceran masing-masing dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimal dan 700 nm serta dilakukan penentuan kecerahan warna dengan *color reader*. Kedua perlakuan tersebut dilakukan setiap 3 hari, yaitu mulai hari ke-0 sampai hari ke-30.

Analisis Hasil

Analisa meliputi total konsentrasi antosianin, pH, suhu dan intensitas cahaya. Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara deskriptif menggunakan analisa statistik rancangan acak lengkap satu arah (*one way*

ANOVA) menggunakan aplikasi MINITAB 14 dan Microsoft Excel 2007.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Kelopak bunga rosella yang masih segar disortasi dan dipisahkan dari bijinya. selanjutnya dicuci dengan sedikit air untuk menghilangkan kotoran dan ditiriskan. Sampel yang diinginkan dalam penelitian ini adalah kelopak rosella yang kering. Selanjutnya dilakukan proses pengeringan yaitu di oven selama kurang lebih 36 jam pada suhu 50°C untuk menghilangkan sebagian kadar air yang terkandung dan diharapkan tidak merusak kandungan senyawanya pada suhu tersebut.

Pengeringan dimaksudkan untuk mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatik, mencegah tumbuhnya jamur sehingga dapat disimpan lebih lama dan tidak mudah rusak serta komposisi kimianya tidak mengalami perubahan. Kemudian dihaluskan menggunakan blender.

Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi maserasi, karena sampel yang digunakan tidak tahan panas dan pengerjaannya cukup sederhana. Metode maserasi bertujuan untuk mengambil zat atau senyawa aktif yang terdapat pada suatu bahan menggunakan pelarut tertentu. Menurut Rukmana (1997), dalam mengekstrak zat warna diperlukan metode yang sesuai dengan sifat bahan (sumber pigmen), agar dihasilkan rendemen dan stabilitas pigmen yang tinggi. Metode ini (maserasi) digunakan dengan mempertimbangkan sifat senyawa (antosianin) yang relatif rentan terhadap panas sehingga dikhawatirkan akan merusak bahkan menghilangkan senyawa yang akan dianalisa.

Perbandingan jumlah sampel dan pelarut pada proses maserasi sampel ini adalah 1 : 5, yaitu 50 g sampel dalam 250 mL pelarut asam sitrat 2%.

Penggunaan asam sitrat sebagai pelarut karena kondisi pelarut yang semakin asam dapat menyebabkan banyaknya dinding sel vakuola

yang pecah sehingga pigmen antosianin yang terekstrak semakin banyak.

Sebelum proses perendaman, hal yang perlu dilakukan adalah mengukur pH untuk mengetahui kondisi pH pelarut sebelum dan pada saat diinteraksikan dengan sampel rosella. Adapun nilai pH yang diperoleh dari hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Kondisi pH pelarut yang digunakan sebelum dan saat ekstraksi

Ulangan	Volume (mL)	Warna Ekstrak	pH	
			Sebelum	Sesudah
1	250	Merah hati pekat	2,24	2,51
2	250	Merah	2,24	2,48

Setelah pengocokan, sampel disaring dengan penyaring vakum, ekstrak yang dihasilkan ditampung (ekstrak 1), sedangkan residu hasil penyaringan dimaserasi/direndam kembali dengan pelarut asam sitrat 2%. Ekstrak dari hasil maserasi pertama disentrifuge untuk mengendapkan partikel-partikel koloid dan pengotor dengan kecepatan sentrifuge 2000 rpm selama 10 menit. Hal serupa juga dilakukan pada ekstrak hasil maserasi yang kedua, kemudian ekstrak 1 dan 2 digabung.

Uji Stabilitas Terhadap Pemanasan

Suhu memiliki peranan dan pengaruh yang sangat penting terhadap kestabilan antosianin. Menurut Hendry dan Houghton (1996), suhu penyimpanan maupun suhu proses pengolahan mempengaruhi degradasi antosianin. Jadi, pada suhu pengolahan yang tinggi dan selama penyimpanan akan menyebabkan degradasi antosianin.

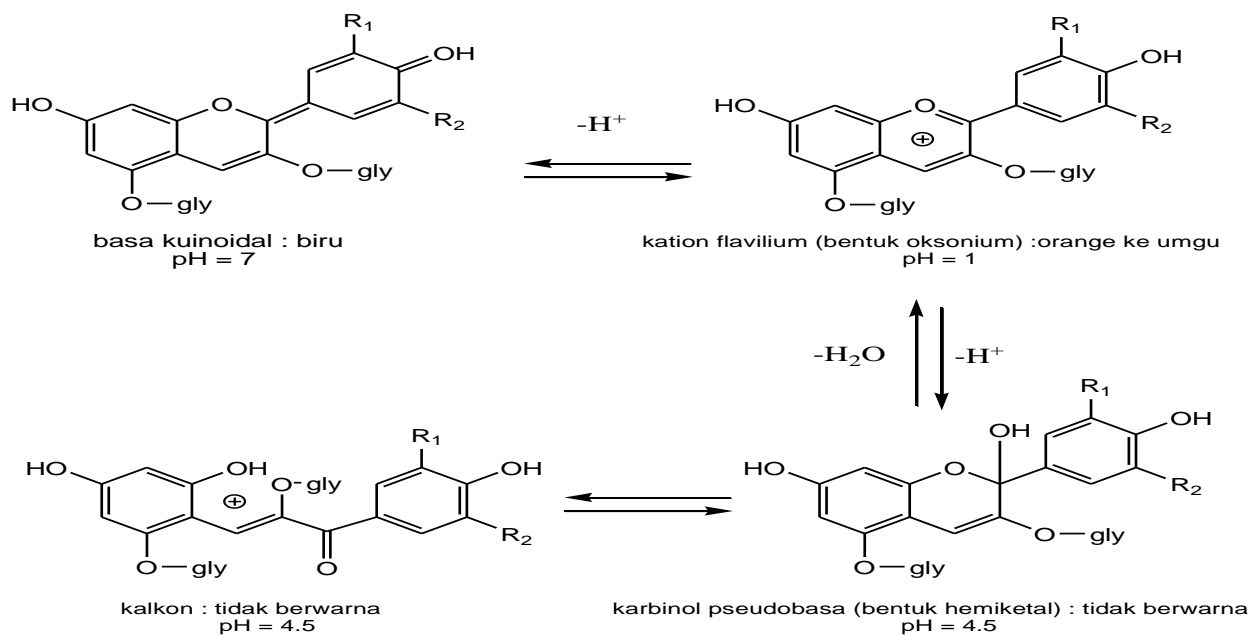
Penetapan konsentrasi senyawa antosianin dilakukan dengan metode perbedaan pH (*pH Differential*) yaitu pH 1,0 dan pH 4,5.

Penetapan konsentrasi antosianin dengan metode ini dikarenakan pada pH 1,0 antosianin membentuk senyawa oxonium (kation flavilium) yang berwarna dan pada pH 4,5 berbentuk karbinol/hemiketal tak berwarna (Giusti M. M. and Wrolstad R. E., 2001). Kondisi inilah yang akan dijadikan acuan untuk menentukan absorbansi dengan menggunakan

spektrofotometer Uv-Vis dari masing-masing ekstrak yang dihasilkan. Perubahan warna pada antosianin dalam tingkatan 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 hampir tidak berwarna.

Adapun struktur dan perubahan warna pada antosianin karena perbedaan tingkatan pH dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini.



Gambar 1. Struktur antosianin pada kondisi pH yang berbeda (Wrolstad dan Giusti, 2001)

Berdasarkan Gambar di atas, menjelaskan bahwa dalam media air asam, antosianin berada dalam empat jenis kesetimbangan, yaitu base kuinonoidal, kation flavilium atau bentuk oxonium, karbinol atau pseudobase, dan kalkon. Menurut Francis *et al*, (1985) bentuk pigmen antosianin pada kondisi asam adalah kation flavilium, sementara inti kation flavilium dari pigmen antosianin kekurangan elektron sehingga sangat reaktif.

Dari hasil penetapan senyawa antosianin dengan metode perbedaan pH (*pH Differential*) spektroskopi UV-Vis, maka diperoleh data sebagaimana tertera pada Tabel 2.

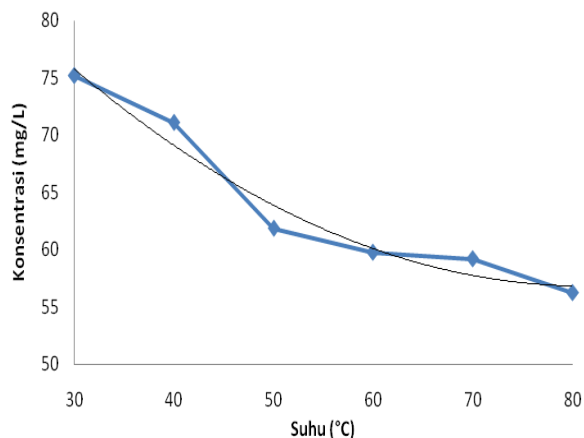
Suhu berpengaruh terhadap kestabilan warna ekstrak rosella. Semakin meningkatnya suhu pemanasan dapat menyebabkan hilangnya glikosil pada antosianin dengan hidrolisis ikatan

glikosidik. Aglikon yang dihasilkan kurang stabil dan menyebabkan hilangnya warna pada antosianin.

Tabel 2. Konsentrasi senyawa antosianin setiap suhu pemanasan selama 30 menit

No	Suhu (°C)	Konsentrasi (mg/L) Rata-rata
1	30	75,164
2	40	71,079
3	50	61,866
4	60	59,749
5	70	59,183
6	80	56,231

Berdasarkan Tabel 2 tampak bahwa terjadi penurunan nilai konsentrasi. Laju degradasi penurunan konsentrasi tersebut mengikuti persamaan $r = d[\text{antosianin}]/dt = 0,014T - 1,169$. Dimana r adalah konsentrasi dan T adalah suhu. Grafik degradasi konsentarsi sebagaimana pada Gambar 2.



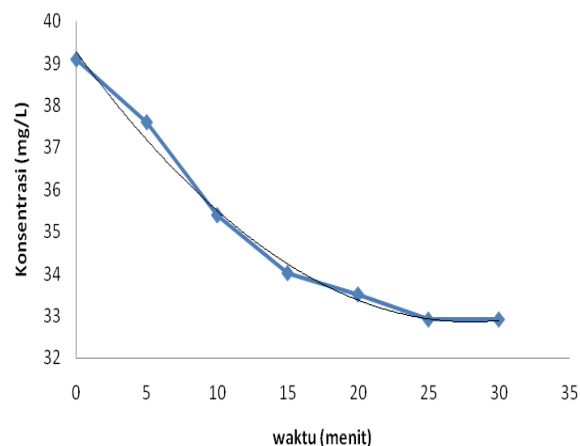
Gambar 2. Grafik degradasi konsentrasi antosianin pada berbagai suhu

Berdasarkan nilai konsentrasi rata-rata pada Tabel 2, suhu 80°C memiliki konsentarsi yang terendah 56,231 mg/L. Oleh karena itu, nilai konsentrasi terendah pada suhu 80°C dijadikan acuan uji selanjutnya. Uji selanjutnya tahap *kedua* dilakukan untuk mengetahui laju degradasi senyawa antosianin akibat pemanasan persatuan menit. Pemanasan dilakukan suhu tetap yaitu 80 °C dengan waktu pemanasan yang bervariasi yaitu, 0, 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 menit. Proses percobaan ini dilakukan dengan memipet 10 mL larutan stok ekstrak rosella, dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi, selanjutnya dipanaskan pada suhu 80°C dengan waktu pemanasan yang bervariasi. Setiap perlakuan dilakukan ulangan sebanyak tiga kali. Hasil pemanasan tersebut selanjutnya ditentukan nilai konsentrasinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan diperoleh data pada Tabel 3 sebagai berikut.

Tabel 3. Konsentrasi senyawa antosianin setiap waktu dengan suhu pemanasan 80 °C

No	Waktu (menit)	Konsentrasi (mg/L) Rata-rata
1	0	39,088
2	5	37,597
3	10	35,391
4	15	34,019
5	20	33,512
6	25	33,453
7	30	32,916

Berdasarkan Tabel 3, tampak bahwa terjadi penurunan nilai konsentrasi setiap 5 menit. Laju degradasi penurunan konsentrasi tersebut mengikuti persamaan $r = d[\text{antosianin}]/dt = 0,016t - 0,458$. Dimana r adalah konsentrasi dan t adalah waktu. Grafik degradasi konsentarsi sebagaimana pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik degradasi konsentrasi antosianin setiap waktu pada suhu pemanasan 80°C

Kebergantungan laju degradasi penurunan konsentrasi terhadap konsentrasi spesies dalam reaksi juga dapat ditentukan melalui orde reaksinya dengan menggunakan metode grafik yang dicoba pada 3 tingkatan orde mulai dari 0, 1, dan 2. Penentuan orde reaksi dilakukan dengan membandingkan nilai R^2 nya.

Nilai R^2 yang tertinggi merupakan orde yang sesuai dengan data konsentrasinya.

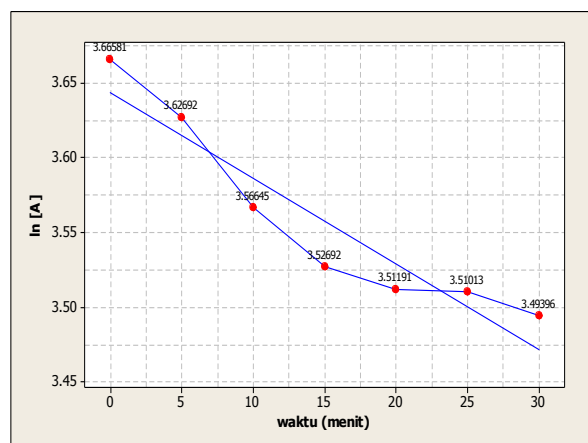
Berdasarkan hasil penelitian, laju degradasi penurunan total antosianin pada kelopak bunga rosella mengikuti orde reaksi ke-1 dengan menggunakan persamaan berikut.

$$\ln[A] = \ln[A_0] - kt$$

Tabel 4. Data konsentrasi pada orde ke-1

t	ln[A]
0	3,666
5	3,627
10	3,566
15	3,527
20	3,512
25	3,510
30	3,494

Berdasarkan uji terhadap orde ke-1, maka diperoleh nilai koefisien determinan (R^2) sebesar 0,89 dengan grafik kelinieran data sebagai berikut.



Gambar 4. Grafik uji kelinieran data konsentrasi dengan orde ke-1

Setelah melakukan uji terhadap orde 0, 1, dan 2, maka diperoleh nilai koefisien determinan dari masing-masing tingkatan orde sebagai berikut.

Tabel 5. Perbandingan tingkatan orde dengan nilai R^2

Orde	R^2
0	0,88
1	0,89
2	0,899

Berdasarkan Tabel 5, diketahui bahwa orde ke-2 memiliki nilai koefisien determinan lebih besar dimana orde ke-2 > orde ke-1 > orde ke-0, yaitu 0,899; 0,89; dan 0,88. Perbedaan nilai R^2 yang tidak terlalu signifikan antara orde 1 dan 2, dapat diasumsikan bahwa laju reaksi mengikuti orde 1.

Uji Stabilitas Terhadap Buffer pH

Salah satu faktor yang sangat berpengaruh terhadap kestabilan antosianin adalah pH dari pelarut antosianin. Untuk mengetahui stabilitas antosianin terhadap pH, maka pada penelitian ini dilakukan perlakuan dengan variasi pH yaitu 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7. Mula-mula dipipet 1 mL ekstrak rosella (larutan stok) dimasukkan dalam 7 tabung reaksi dan ditambah 10 mL larutan buffer masing-masing. Ditutup dan dikocok-kocok hingga benar-benar homogen, selanjutnya disimpan pada suhu ruang \pm selama 30 hari dan diukur absorbansi pada panjang gelombang maksimal dan 700 nm. Proses pengukuran dilakukan setiap 3 hari sekali selama \pm 30 hari, yaitu mulai dari hari ke- 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, dan 21. Setiap perlakuan pada penelitian ini dilakukan dengan ulangan sebanyak tiga kali.

Ekstrak rosella yang telah ditambahkan masing-masing buffer ternyata memberikan intensitas warna ekstrak yang berbeda, seperti pada Tabel 6.

Penetapan senyawa antosianin pada uji stabilitas buffer ini dilakukan dengan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal dan panjang gelombang 700 nm. Pengukuran pada daerah panjang gelombang dilakukan karena aglikon pada antosianin (kation flavilium) mengandung ikatan rangkap terkonjugasi sehingga dapat diserap pada daerah panjang gelombang 500 nm.

Tabel 6. Warna Ekstrak Rosella setelah ditambahkan buffer pada hari ke- 0

No.	Buffer pH	Warna Ekstrak
1	Kontrol	Merah pekat keunguan
2	1	Merah bening keunguan
3	2	Merah muda terang
4	3	Merah muda terang
5	4	Merah bening kekuningan
6	5	Merah kecoklatan
7	6	Kuning kecoklatan
8	7	Coklat

Transisi elektron yang paling mungkin terjadi pada molekul senyawa antosianin adalah $\pi \rightarrow \pi^*$ dan $n \rightarrow \pi$. Jenis transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ terjadi pada molekul yang memiliki gugus fungsional yang tidak jenuh sehingga ikatan rangkap pada dalam gugus tersebut memberikan orbital π yang diperlukan

dengan panjang gelombang antara 200 – 700 nm. Dalam orbital molekul, elektron-elektron π mengalami delokalisasi yang disebabkan oleh adanya ikatan terkonjugasi atau ikatan rangkap berselang-seling dengan satu ikatan tunggal. Adanya efek delokalisasi dari ikatan terkonjugasi tersebut dapat menyebabkan penurunan tingkat energi π^* , sebagai konsekuensinya penjang gelombang akan mengalami pergeseran batokromik (pergeseran ke panjang gelombang yang lebih besar).

Jenis transisi $n \rightarrow \pi$ pada molekul senyawa antosianin terjadi akibat adanya aoksokrom yang terikat pada molekul. Aoksokrom merupakan gugus fungsional yang mempunyai elektron bebas, seperti $-\text{OH}$; $-\text{O}$; dan $-\text{OCH}_3$. Terikatnya gugus aoksokrom pada gugus kromofor akan mengakibatkan pergeseran pita absorpsi ke panjang gelombang yang lebih besar atau batokromik.

Tabel 7. Hasil pembacaan panjang gelombang dan absorpsi rata-rata

pH	Panjang Gelombang dan Absorbansi			
	Hari ke-0		Hari ke-21	
	Panjang Gelombang	Absorbansi	Panjang Gelombang	Absorbansi
1	516	0,181	514	0,190
2	514	0,157	512	1,155
3	506	0,359	505	0,246
4	500,3	0,410	500,3	0,238
5	500,3	0,287	500,3	0,222
6	500,3	0,311	500,3	0,324
7	500,3	0,318	500,3	0,494

Sebagaimana hasil penelitian pada tabel di atas, diketahui bahwa seiring lamanya waktu penyimpanan, hasil pembacaan pada absorbansi untuk semua sampel (sampel dengan pH 1 sampai 7) mengalami pergeseran hipokromik hal ini disebabkan oleh banyaknya non-asilasi antosianin yang dibuktikan dengan struktur yang tidak berwarna sebagaimana pada Gambar 4.

Secara umum, dibawah pH 2 antosianin berada pada bentuk sebagai kation flavilium merah. Pada $\text{pH} > 2$, terjadi pengurangan proton dengan cepat berwarna merah atau quinonoidal biru. Selanjutnya, katio flavilium menjadi terhidrasi menghasilkan karbinol tidak berwarna atau pseudobasa yang berkeselimbangan untuk

menjadi bentuk kalkon yang tidak berwarna (Mazza dan Minati, 1993).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, perubahan yang terjadi setelah penambahan larutan buffer 1 sampai 7 pada larutan sampel menunjukkan warna yang berbeda-beda sebagaimana pada Tabel 8. Perubahan warna dari merah pekat bergeser ke merah bening kecoklatan hingga warna coklat, hal ini disebabkan oleh tingkat keasaman pelarut yang menurun.

Perubahan panjang gelombang dan nilai absorbansi sangat berpengaruh juga terhadap nilai konsentrasi antosianin yang terkandung pada sampel. Pengaruh perlakuan buffer pH 1-

7 terhadap konsentrasi senyawa antosianin pada sampel juga diperkuat oleh analisis statistik dengan metode *One-Way ANOVA (analysis of variance)* menggunakan aplikasi MINITAB 14. Menurut hasil percobaan yang telah dilakukan menunjukkan pengaruh yang signifikan selama selama ± 30 hari penyimpanan, hal ini dibuktikan dengan nilai R^2 pada $P < 0,05$ sebagai berikut

Tabel 8. Signifikansi pengaruh perlakuan buffer terhadap konsentrasi antosianin setiap pH

pH	R^2	Signifikansi ($\sqrt{R^2}$)	P hitung
1	93,46 %	96,67 %	0,000
2	74,19 %	86,13 %	0,001
3	98,50 %	99,25 %	0,000
4	97,70 %	98,84 %	0,000
5	56,81 %	98,52 %	0,032
6	94,41 %	75,37 %	0,000
7	98,80 %	99,06 %	0,000

Menurut analisa statistik apabila nilai $P \leq \alpha$, maka data tersebut memiliki pengaruh dan perbedaan yang nyata. Derajat kepercayaan (α) yang digunakan adalah 5%. Hal ini juga dibuktikan dengan tingginya nilai koefisien determinannya ($R^2 \geq 50\%$).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Laju degradasi senyawa antosianin ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) akibat pemanasan dengan variasi suhu terhadap total mengikuti persamaan $r = d[\text{antosianin}]/dt = 0,014T - 1,169$ dengan konsentrasi terendah terdapat pada pemanasan dengan suhu 80 °C, yaitu 56,231 mg/L dan memiliki pengaruh yang sangat signifikan dengan R^2 56,81 - 98,80 %.
2. Kestabilan senyawa antosianin akibat pengaruh pH terhadap total dan warna ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L)

selama proses penyimpanan mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya lama penyimpanan dan berkurangnya tingkat keasaman sampel

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, pemanasan ekstrak kelopak bunga rosella baik dilakukan pada suhu $< 60^\circ\text{C}$ dan pada pH < 3 .

Diperlukan penelitian lanjutan mengenai suhu yang cocok untuk penyimpanan, pengaruh cahaya terhadap kestabilan senyawa antosianin, dan aplikasi pemanfaatan senyawa antosianin yang terdapat pada rosella bahan pewarna pada makanan dan minuman.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam penyusunan tulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, J. B and Ongley, M. H., 1972, *Food Preservation*, Research Association Technology, USA
- Anonymous, 2008, CIE L*a*b* Color Scale, *Insight on Color: Application Note*, 8 (7)
- Arthey, D. and Ashurst, P. R., 2001, *Fruit Processing, Nutrition Product, and Quality Management*, 2nd Edition, An Aspen Publication Maryland
- Belitz, H. D. and Grosch, W., 1999, *Food Chemistry*, 2nd Edition, Springer, Germany
- Casals and Zevallos, 2004, Stability of Anthocyanin-based Aqueous Extracts of Alean Purple Corn and Red-flesh Sweet Potato Compare to Synthetic and Natural Colorants, Elsevier, *Food Chemistry*, 86 : 69-77
- Charley, H., 1970, *Food Science*, John Wiley and Sons Inc., New York
- Cisse, M., Vaillant, F., Acosta, O., Mayer, C.D., and Dornier, M., 2009, Thermal Degradation Kinetik of Anthocyanins from Blood Orange, Blackberry, and

- Roselle Using the Arrhenius, Eyring, and Ball Model, *Journal of Agricultural and Food Chemistry, American Chemical Society*, 57 : 6285-6291
- Dowhan, A. and Paul, C. 2000, Colouring Our Food in The Last dan Next Millenium, Blackwell Science Ltd., London, *International Journal of Food Science and Technology*, 35 : 5-22
- Duangmal, *et al.*, 2004, Roselle Anthocyanin As a Natural Food Colorant and Improvement of its Colour Stability, Chulalongkorn University, Thailand, *International Color Association Proceeding*, 155-158
- Elbe, V. and Schwartz, 1996, *Food Chemistry*, Marcel Dekker Inc., New York
- Eskin, N. A. M., 1979, *Plant, Pigment, Flavour, and Texture*, Academic Press, New York
- Falcao, L. D., Falcao, A. P., and Gris, E. F., 2008, Spectrophotometric Study of the Stability of Anthocyanins from Cabernet Sauvignon Grape Skins in a Model System, *Brazilian Journal of Food Technology*, 11 : 63-69
- Fennema, O. R., 1996, *Food Chemistry 3th Edition*, Marcel Dekker Inc., New York
- Francis, 1989, Food Colorants: *Anthocyanin. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28: 273-314
- Giusti, M. M. dan Wrolstad R. E., 2001, Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy, *Journal of Current Protocols in Food Analytical*
- Hendry, G. A. F. and Houghton, J. D., 1996, *Natural Food Colorant*, 2nd Edition, Blackie Academic and Professional, London
- Heath, and Reinessius, G., 1987, *Flavor Chemistry and Technology*, Van Norstand Reindhold Co., New York
- Hosseinan, F. S., Li, W., and Beta, T., 2008, *Measurement of Anthocyanin and Other Phytochemical in Purpel Wheat*, *Food Chemistry*, 109: 916-924
- Khalil, K. E., Selim, K. A., Abdel-Bary, M. S., and Abdel-Azeim, N. A., 2008, Extraction, Encapsulation and Utilization of Red Pigment from Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) as Natural Food Colorants, *Alex Journal Food, Science and Technology*, Special Volume Conferense, p. 7-20
- Ketmaro, P., Muangsiri, W., and Werawatganone, P., 2010, UV Spectroscopy Characterization and Stabilities of Natural Colorants from Rosella Calyx, Lac Resin and Gardenia Fruit, *Journal Health Res*, 24 (1) : 7-13
- Maga, J. A. and Tu, A. T., 1994, *Food Additive Toxicology*, Mancel Dekker Inc., New York
- Markakis, P., 1982, *Food Chemistry*, editor oleh Fennema, 1996, Marcel Dekker Inc., New York
- Markham, 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB, Bandung
- Maryani dan Kristiana, 2005, *Khasiat dan Manfaat Rosela*, Agro Media Pustaka, Jakarta
- Mazza dan Miniati, 1993, *Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains*, CRC Press, Boca Raton
- Nollet, 1996, Dalam Efektivitas Jenis Pelarut dan Bentuk Pigmen Antosianin Bunga Kana (*canna coccinea* mill.) Serta Aplikasinya pada Produk Pangan, *Skripsi*
- Niendyah, H., 2004. Universitas Brawijaya Malang, <http://digilib.ti.itb.ac.id/go.php?id=jiptumm-gdl-s1-2004-niendyaha1533> Diakses tanggal 27 Juni 2008
- Rein, M., 2005, *Copigmentation Reactions and Color Stability of Berry Anthocyanin*, Academic Dissertation, Helsinki: University of Heslinki
- Wrolstad, R. E. and Giusti, M. M., 2001, *Characterization and Measurement of Anthocyanin by UV-Visible Spectroscopy: Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley and Son, New York