

**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI KULIT BATANG  
BAKAU DENGAN METODE *MICROWAVE ASSISTED  
EXTRACTION* TERHADAP KADAR ANTOSIANIN  
TOTAL MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI  
UV-VIS**

**OPTIMATION PROCESS EXTRACTION MANGROVE  
BARK WITH METHODS MICROWAVE ASSISTED  
EXTRACTION ON ANTHOCYANIN TOTAL CONTENT  
USING UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY**

**HAS JUNITA  
N011 18 1302**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI KULIT BATANG BAKAU DENGAN  
METODE *MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION* TERHADAP KADAR  
ANTOSIANIN TOTAL MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

**OPTIMATION PROCESS EXTRACTION MANGROVE BARK WITH  
METHODS MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION ON  
ANTHOCYANIN TOTAL CONTENT USING UV-VIS  
SPECTROPHOTOMETRY**

**SKRIPSI**

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

**HAS JUNITA  
N011 18 1302**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**


**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI KULIT BATANG BAKAU DENGAN  
METODE *Microwave Assisted Extraction* TERHADAP KADAR  
ANTOSIANIN TOTAL MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS**

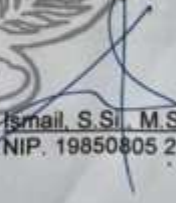
HAS JUNITA  
N011181302



Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

  
Prof. Subehart, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19750925 200112 1 002

  
Ismail, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19850805 201404 1 001

Pada Tanggal, 8 Agustus 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI KULIT BATANG BAKAU DENGAN  
METODE *Microwave Assisted Extraction* TERHADAP KADAR  
ANTOSIANIN TOTAL MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI UV-VIS

OPTIMIZATION PROCESS EXTRACTION MANGROVE BARK WITH  
METHODS MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION ON  
ANTHOCYANIN TOTAL CONTENT USING UV-VIS  
SPECTROPHOTOMETRY

Disusun dan diajukan oleh:


HAS JUNITA  
N011 18 1302


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam  
rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 1 Agustus 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

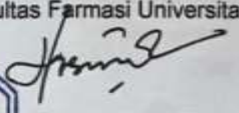
Pembimbing Pendamping,

  
Prof. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19750925 200112 1 002

  
Ismail, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19850805 201404 1 001

Ketua Program Studi S1 Farmasi,  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



  
Hasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860116 201012 2 009

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Has Junita

NIM : N011 18 1302

Judul Skripsi : "Optimasi Proses Ekstraksi Kulit Batang Bakau  
Dengan Metode *Microwave Assisted Extraction*  
Terhadap Kadar Antosianin Total Menggunakan  
Spektrofotometri UV-Vis"

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 08 Agustus 2022

Yang menyatakan,



Has Junita

## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas berkat rahmat dan hidayahNya, penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Optimasi Proses Ekstraksi Kulit Batang Bakau Dengan Metode *Microwave Assisted Extraction* Terhadap Kadar Antosianin Total Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis” ini sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi program S1 pada program studi S1 Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari berbagai pihak yang terlibat memberikan doa dan dukungan, bantuan bahkan nasehat yang tiada hentinya. Pada kesempatan ini, izinkan penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dosen Pembimbing penulis, Prof. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. sebagai Pembimbing Utama dan Bapak Ismail, S.Si., M.Si., Apt. sebagai Pembimbing Pendamping sekaligus penasehat akademik yang penulis anggap sebagai orangtua dikampus yang senantiasa memberikan bimbingan dan nasehat dari awal perkuliahan hingga penyelesaian tugas akhir. Terimakasih telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan ilmunya untuk membimbing penulis menyelesaikan skripsi ini.
2. Tim Penguji, Bapak Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt dan Dr. Aliyah, M.Si., Apt. yang telah memberikan kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini.

3. Dekan dan Wakil Dekan Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kontribusi dalam pengembangan mutu dan kualitas dari Fakultas Farmasi sehingga kami dapat menikmati hasil dari apa yang telah dikerjakan.
4. Kedua orangtua tersayang, Ayahanda Muh.Tahir dan Ibunda Hatira yang senantiasa memberikan dukungan dan memotivasi, baik itu materi maupun doa yang tak henti-hentinya di haturkan kepada penulis hingga bisa menyelesaikan tiap tahap dengan mudah. Terima kasih telah memberikan cinta dan kasih sayang yang tulus dan selalu ada dalam setiap kondisi baik suka dan duka yang dihadapi penulis selama perkuliahan sampai menyusun skripsi ini.
5. Orang yang paling istimewa, suami tercinta Firdianto Marking terima kasih untuk setiap doa, pengertian, dukungan setiap suka dan duka. Terimakasih telah mau berjuang oleh jarak dan selalu memberikan cinta dan kasih sayang yang tulus serta waktunya dan pendengar setia penulis dalam mencurahkan isi hati terkait masalah yang dihadapi selama perkuliahan hingga menyusun skripsi ini.
6. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Farmasi yang telah memberikan ilmu, nasehat, dan pengalaman selama penulis menjalani perkuliahan, juga kepada pegawai staf yang telah membantu penulis.
7. Laboran Ibu Dewi yang telah membantu penulis dalam proses penelitian hingga selesai.

8. Teman-teman angkatan 2018 “GEMFIBROZIL” telah bersama-sama dengan penulis berjuang untuk meraih mimpi di Fakultas Farmasi.
9. Teman penelitian dan teman sejawat, Hermayana yang telah membantu dan mendoakan penulis hingga bisa menyelesaikan skripsi ini hingga akhir, yang selalu menyediakan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk sama-sama berjuang selama perkuliahan hingga dalam proses penelitian.
10. Teman-teman seperjuangan Zalfa, Fitrah, Rizqi, Kiki, Adillah, dan saudara-saudariku yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu terima kasih telah membantu dan memberikan semangat serta kenangan semasa perkuliahan, semoga amal baik kembali kepada kalian.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan ada banyak kekurangan, oleh karena itu penulis perlu saran dan kritik dari semua pihak. Semoga skripsi ini dapat memberi manfaat untuk kita semua.

Makassar, 8 Agustus 2022.

Has Junita



## ABSTRAK

**Has Junita.** *Optimasi Proses Ekstraksi Kulit Batang Bakau Dengan Metode Microwave Assisted Extraction Terhadap Kadar Antosianin Total Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis (dibimbing oleh Subehan dan Ismail)*

Tumbuhan bakau mengandung beberapa senyawa yakni antosianin, tannin, steroid dan antosianidin. Antosianin adalah metabolit sekunder golongan flavonoid yang larut dalam air dan menampilkan warna oranye, merah, merah muda, ungu hingga biru. Tujuan penelitian untuk mengetahui parameter optimum rasio simplisia terhadap pelarut dan lama ekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi *Microwave Assisted Extraction*, dan pengukuran total antosianin menggunakan metode pH differensial dengan instrumen spektrofotometri UV-Vis. Parameter rasio simplisia terhadap pelarut yang diuji yaitu 1:10, 1:15 dan 1:20, dengan waktu ekstraksi 80 detik, 120 detik dan 160 detik. Diperoleh hasil persen rendemen paling optimum yakni rasio 1:15 dan 1:20 dengan waktu 80 sampai 120 detik. Pada pengukuran kadar antosianin terhadap total *Cyanidin 3-glucoside* diperoleh hasil terbesar dari parameter paling optimum yakni rasio simplisia terhadap pelarut 1:10 dengan waktu 160 detik yaitu sebesar 17,84 mg/100 g.

Kata kunci: Kulit Bakau, *Rhizophora sp*, Antosianin, *Microwave Assisted Extraction*, pH Differensial, Spektrofotometri UV-Vis

## ABSTRACT

**Has Junita.** *Optimization Process Extraction Mangrove Bark With Methods Microwave Assisted Extraction On Anthocyanin Total Content Using Uv-Vis Spectrophotometry* (Supervised by Subehan and Ismail)

Mangroves contain several compounds, namely anthocyanins, tannins, steroids and anthocyanidins. Anthocyanins are secondary metabolites of the water-soluble flavonoid group and have orange, red, pink, purple to blue colors. The purpose of this study was to determine the optimum parameters the ratio of simplicia to solvent and extraction time using the Microwave Assisted Extraction method, and the measurement of total anthocyanins using the differential pH method with UV-Vis spectrophotometric instruments. The parameters of the ratio of simplicia to solvent tested were 1:10, 1:15 and 1:20, with extraction times of 80 seconds, 120 seconds and 160 seconds. The most optimum yield percent results were the ratio of 1:15 and 1:20 with a time of 80 to 120 seconds. In the measurement of total anthocyanin levels against *Cyanidin 3-glucoside* the largest results were obtained from the most optimum parameter, namely the ratio of simplicia to solvent 1:10 with a time of 160 seconds namely 17,84 mg/100 g.

Keywords: Mangrove peel, *Rhizophora sp*, Anthocyanin, Microwave Assisted Extraction, Differential pH, UV-Vis spectrophotometry

## DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMAKASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiiiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	2
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakau	4
II.1.1 Klasifikasi Bakau	4
II.1.2 Morfologi Bakau	4
II.1.3 Kandungan Kimia	5
II.2 Ekstraksi	5
II.2.1 Pengertian Ekstraksi	5
II.2.2 Metode Ekstraksi	6
II.2.2.1 MAE ( <i>Microwave Assisted Ekstraction</i> )	6
II.3 Antosianin	7
II.4 Spektrofotometri Ultraviolet dan Tampak (Visibel)	10
II.4.1 Pengertian	11

II.4.2	Instrumentasi	10
II.5	Verifikasi Metode Analisis	12
II.5.1	Akurasi	12
II.5.2	Presisi	13
BAB III METODE PENELITIAN		15
III.1	Alat dan Bahan	15
III.2	Metode Kerja	15
III.2.1	Penyiapan Sampel	15
III.2.2	Susut Pengeringan	16
III.2.3	Ekstraksi Sampel	23
III.2.4	Analisis Kualitatif	23
III.2.4.1	Uji Warna	25
III.2.5	Analisis Kuantitatif	17
III.2.5.1	Pembuatan Buffer Kalium Klorida pH 1,0	17
III.2.5.2	Pembuatan Buffer Natrium Asetat pH 4,5	17
III.2.5.3	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	17
III.2.5.4	Verifikasi Metode	18
III.2.5.4.1	Akurasi	18
III.2.5.4.2	Presisi	18
III.2.5.5	Pengukuran Kadar Antosianin Total	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		21
IV.1	Susut Penengringan	21
IV.2	Ekstraksi	21
IV.3	Uji Kualitatif	23

IV.4 Verifikasi Metode	23
IV.4.1 Akurasi	23
IV.4.2 Presisi	24
IV.5 Penentuan Kadar Antosianin Total	25
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	28
V.1. KESIMPULAN	28
V.2. SARAN	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	33

## DAFTAR TABEL

TABEL	Halaman
1. Persen rendemen ekstrak kulit batang bakau	22
2. Hasil Perhitungan Akurasi	24
3. Hasil Perhitungan Presisi	25
4. Kandungan antosianin total kulit batang bakau	26

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Gambar bakau	4
2. Struktur antosianin	8
3. Alat spektrofotometer UV-Vis <i>double beam</i>	11
4. Gambar uji kualitatif	23

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Ekstraksi	33
2. Skema Kerja Uji Analisis Kualitatif	34
3. Skema Kerja Akurasi	34
4. Skema Kerja Presisi	35
5. Skema Kerja Analisis Kuantitatif	36
6. Data Pengukuran dan Perhitungan	37
7. Pembuatan Reagen	44
8. Gambar Proses Penelitian	45



# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Wilayah pesisir merupakan suatu daerah yang memiliki produktivitas hayati tinggi karena peralihan antara ekosistem daratan dan lautan, sehingga banyak ditumbuhi berbagai ekosistem alami seperti hutan mangrove. Mangrove sebagai tumbuhan pantai, tumbuhan pasang surut dan berfungsi sebagai habitat dan daerah mencari makan berbagai jenis biota laut. Kayunya digunakan sebagai bahan bakar, serta bahan tekstil, obat-obatan dan makanan (Rahmawaty, 2006).

Secara empiris tumbuhan bakau telah lama dimanfaatkan oleh penduduk yang tinggal di sekitar hutan mangrove seperti Muara Angke Jakarta dan teluk Balikpapan telah mengolah dan mengkonsumsi buah mangrove sebagai sayuran (Sukirman & Dewi, 2017).

Tumbuhan bakau (*Rhizophora* sp.) mengandung senyawa seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, steroid dan saponin. Tumbuhan bakau memiliki potensi yang sangat besar untuk dimanfaatkan dalam fitofarmaka terutama batang bakau, flavonoid merupakan senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman yang dapat berperan sebagai antioksidan (H.Kordi, 2012). Pada penapisan fitokimia ekstrak kulit batang mangrove jenis *Rhizophora conjugate* menunjukkan adanya antosianin, steroid, tannin dan triterpenoid. Sedangkan pada mangrove jenis

*Rhizopora gymnorhiza* menunjukkan adanya antosianin, antosianidin, tannin dan steroid (Bandaranayake, 2002).

Antosianin merupakan pigmen golongan senyawa flavonoid yang bersifat larut dalam air, terdapat dalam bentuk aglikon sebagai antosianidin dan glikon sebagai gula yang diikat secara glikosidik. Pigmen ini stabil dalam pH asam yakni 1-4 , dan menampakkan warna oranye, merah, merah muda, ungu hingga biru (saati, *et al.*, 2016). Senyawa ini memiliki manfaat sebagai pewarna alami dan juga bermanfaat dalam pengobatan seperti disfungsi hati, hipertensi, gangguan penglihatan, infeksi mikroba dan diare (Yang, Z dan Weiwei, Z., 2010).

Ekstraksi antosianin dengan bantuan gelombang mikro adalah proses yang menggunakan microwave untuk memanaskan pelarut dengan cepat, efisien dan merata (Silva, *et al.*, 2015). Kelebihan dari metode MAE, yaitu waktu ekstraksi lebih singkat, dan pelarut yang digunakan lebih sedikit sehingga memberikan proses ekstraksi yang efisien (Ingrath, *et al.*, 2015). Metode MAE juga menunjukkan kualitas rendemen dan hasil ekstrak 50 % lebih banyak dibandingkan dengan menggunakan metode maserasi (Handaratri & Yuniati, 2019).

Lama ekstraksi dan rasio simplisia dengan pelarut merupakan faktor yang cukup penting karena waktu ekstraksi akan berkaitan dengan kecepatan proses ekstraksi sehingga kegiatan analisis bisa dilakukan lebih cepat, sedangkan rasio simplisia dengan pelarut berkaitan dengan efisiensi penggunaan pelarut, semakin banyak pelarut yang digunakan

maka pada saat proses pemekatan dengan evaporator semakin lama dan mengakibatkan terjadinya degradasi antosianin (Kusnadi *et al.*, 2017). Selain itu penggunaan pelarut yang berlebih pada metode MAE mengakibatkan penurunan kadar senyawa yang diinginkan karena pelarut tersebut menyerap energi gelombang mikro sebelum masuk pada bahan, sehingga proses ekstraksi berjalan kurang optimal (Chan *et al.*, 2011).

Untuk mengetahui kadar antosianin total dari ekstrak kulit batang bakau yakni menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis dengan metode pH differensial menggunakan dua nilai pH yang berbeda yakni pH 1 dan pH 4,5. Pada pH 1 antosianin akan menjadi bentuk kation flavylium dan berwarna sedangkan pada pH 4,5 antosianin akan menjadi bentuk hemiketal yang tidak berwarna. Berdasarkan latar belakang maka dilakukan penelitian optimasi proses ekstraksi kulit batang bakau dengan metode MAE terhadap kadar antosianin total menggunakan spektrofotometri uv-vis.

## **I.2. Rumusan Masalah**

Bagaimana pengaruh lama waktu ekstraksi dan rasio simplisia dengan pelarut terhadap kadar antosianin total pada kulit batang bakau dengan menggunakan metode ekstraksi MAE ?

## **I.3. Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui parameter optimum lama waktu ekstraksi dan rasio simplisia dengan pelarut terhadap kadar antosianin total pada kulit batang bakau menggunakan metode ekstraksi MAE.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Klasifikasi dan Morfologi Bakau

##### II.1.1 Klasifikasi Bakau

Bakau merupakan tumbuhan yang dapat hidup dan berkembang dengan optimal di daerah pasang surut pantai yang berlumpur, berpasir serta pesisir yang mempunyai muara sungai besar, sedangkan di daerah pesisir yang tidak memiliki muara sungai pertumbuhannya tidak optimal. (Sukirman Rahim dan Baderan Dewi W.K, 2016).

Kingdom : *Plantae*  
Divisi : *Magnoliophyta*  
Class : *Magnoliopsida*  
Ordo : *Mytales*  
Famili : *Rhizophoraceae*  
Genus : *Rhizophora*  
Spesies : *Rhizophora* sp.



**Gambar 1. Pohon Bakau dan Kulit Batang Bakau**  
(sumber : dokumentasi penulis)

##### II.1.2 Morfologi Bakau

Pohon tinggi dapat mencapai 20 m dengan kulit batang yang kasar berwarna abu-abu gelap, daun bersebrangan berwarna hijau muda atau hijau gelap. Tumbuh di tanah berlumpur dan berpasir dengan akar tunjang yang kokoh di atas permukaan tanah dengan kedalaman 1-2 m memiliki

fungsi sebagai penyangga dan penyerap oksigen dari udara secara langsung (Duke, 2006).

### **II.1.3 Kandungan Kimia**

Tumbuhan bakau kaya akan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dan saponin. Adapun senyawa lain yang juga terkandung dalam bakau yakni derivat benzoquinone, naphthoquinone, limonoid, minyak esensial, karbohidrat, asam amino bebas, senyawa sulfur, hidrokarbon dan asam lemak jenuh (Purnobasuki, 2004).

## **II.2 Ekstraksi**

### **II.2.1 Pengertian Ekstraksi**

Ekstraksi adalah suatu proses penyarian zat berkhasiat atau zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis biota laut. Ekstraksi dilakukan dengan tujuan untuk menarik komponen kimia dari dalam tanaman. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik yang sesuai karena adanya perbedaan konsentrasi diluar dan didalam sel, sehingga mengakibatkan terjadinya difusi. Proses difusi ini akan terus berlangsung hingga tercapai keseimbangan konsentrasi zat aktif diluar dan dalam sel (Ditjen POM, 1986).

Ekstraksi juga memiliki peran penting pada analisis fitokimia karena pada proses analisis selalu diawali dengan ekstraksi sampai pada tahap akhir analisis. Adapun faktor-faktor yang perlu dipertimbangkan saat memilih pelarut dan metode ekstraksi yaitu, kelarutan senyawa,

kemudahan bekerja dengan pelarut, keamanan, kemurniaan pelarut dan ketersediaan alat (Hanani., 2005).

## **II.2.2 Metode Ekstraksi**

### **II.2.2.1 Gelombang Mikro (*Microwave Assisted Ekstraktion, MAE*)**

Ekstraksi dengan gelombang mikro merupakan salah satu metode ekstraksi selektif dan digunakan untuk senyawa yang mempunyai dipol polar. Metode ini dapat menghemat waktu ekstraksi sehingga lebih singkat, dan pelarut yang digunakan lebih sedikit sehingga memberikan proses ekstraksi yang efisien dan dianggap lebih ramah lingkungan, dibanding dengan menggunakan metode ekstraksi konvensional. Rasio perbandingan sampel : pelarut dan waktu ekstraksi merupakan parameter penting yang dapat mempengaruhi ekstraksi dengan metode MAE (Ingrath, *et al.*, 2015) (Hanani., 2015).

Pemanasan gelombang mikro berbeda dengan pemanasan yang dilakukan pada proses ekstraksi lain, hal ini disebabkan karena adanya konversi energi. Konversi energi adalah energi listrik menjadi energi elektromagnetik, kemudian energi elektromagnetik menjadi kinetik dan kemudian energi kinetik menjadi panas. Pemanasan terjadi melalui interaksi langsung dengan senyawa target serta selektif sehingga tidak akan ada panas yang hilang ke lingkungan. Secara signifikan mekanisme pemanasan inilah yang dapat mengurangi waktu ekstraksi (Manda *et al.*, 2007).

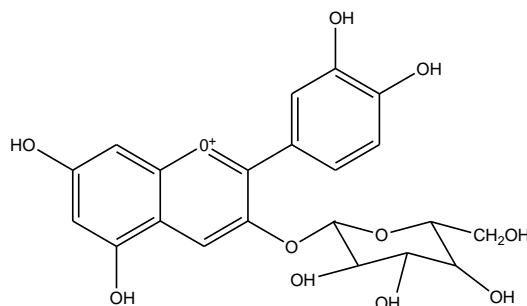
Prinsip metode ekstraksi dengan gelombang mikro yakni sampel di rendam dalam pelarut pada wadah gelas selanjutnya di panaskan dengan bantuan gelombang mikro sehingga panas secara langsung didalam material (pemanasan volumetrik). Radiasi gelombang mikro akan diubah menjadi panas melalui konduksi ionik atau rotasi dipol, sehingga senyawa non polar tidak dipanaskan (Morais., 2013). Konduksi ionik mengacu dalam pengaruh perubahan medan listrik yang dihasilkan gelombang mikro sehingga dapat memanaskan larutan sedangkan rotasi dipol merupakan pengaturan dipol-dipol molekul akibat medan listrik yang terus berubah dengan cepat dan kemudian mengarah pada tabrakan antar molekul dipol dan molekul sekitarnya, sehingga akan menciptakan panas (Vinatoru., 2017).

### **II.3 Antosianin**

Antosianin merupakan pewarna yang tersebar luas dalam tumbuhan, yang dapat menghasilkan warna biru, ungu, violet dan kuning dan larut dalam air. Antosianin terdapat dalam vakuola sel bagian tanaman, vakuola adalah organel sitoplasmik yang berisikan air, serta dibatasi oleh membrane yang identik dengan membrane tanaman (Saati *et al.*, 2016).

Antosianin merupakan pigmen golongan senyawa flavonoid yang mengandung dua cincin benzen ( $C_6H_6$ ) dihubungkan oleh tiga atom karbon dan dirapatkan satu atom oksigen sehingga terbentuk cincin di

antara dua benzen. Senyawa antosianin merupakan senyawa kation flavium yang tergolong dalam turunan benzopiran (Moss., 2002).



**Gambar 2. Struktur antosianin (Harborne, 1987).**

Pigmen antosianin dibagi menjadi dua yaitu bentuk aglikon sebagai antosianidin dan glikon sebagai gula yang diikat secara glikosidik. Pigmen ini stabil pada pH asam sekitar 1-4 dan akan berubah warna dengan berubahnya pH, pada pH tinggi senyawa antosianin akan berwarna biru dan relatif tidak stabil karena disebabkan oleh jumlah gugus hidroksi yang dominan. Sedangkan pada pH rendah jumlah gugus metoksi yang dominan dibandingkan gugus hidroksi pada struktur antosianidin, menyebabkan warna cenderung merah dan relatif lebih stabil (Saati *et al.*, 2007).

Pigmen antosianin dapat ditemukan pada mahkota bunga yang menunjukkan adanya warna merah muda-tua, keunguan hingga biru contohnya pada bunga mawar, kembang sepatu, gladiol dan lain-lain. Pigmen ini juga terdapat pada beberapa organ tanaman seperti ubi jalar ungu, kol merah/ungu, daun bayam merah, buah anggur, stroberry, dan



kulit buah naga (Saati *et al.*, 2016). Konsentrasi pigmen yang tinggi di dalam jaringan akan menyebabkan warna merah, konsentrasi sedang menyebabkan warna jingga hingga ungu, sedangkan konsentrasi rendah menyebabkan warna biru (Winarno., 2002).

Pigmen antosianin akan mengalami transformasi struktural yang dapat dibalik dengan perubahan pH dan ditandai bentuk serapan spektra sangat berbeda, maka digunakan metode pH differensial dalam pengukuran total antosianin yang terdapat pada sampel menggunakan dua nilai pH berbeda. Pada pH 1 senyawa antosianin akan menjadi bentuk kation flavylium dan berwarna sedangkan, pada pH 4,5 senyawa antosianin akan menjadi bentuk hemiketal yang tidak memiliki warna. Metode ini memungkinkan pengukuran yang akurat serta cepat untuk pengukuran total antosianin (Wrolstad *et al.*, 2005).

Pigmen antosianin memiliki nilai absorbansi maksimal yakni pada kisaran panjang gelombang 480-528 nm. Antosianin ditampakkan pada panjang gelombang 525 nm (Henry.,1996). Setiap jenis antosianin memiliki absorbansi maksimal pada panjang gelombang tertentu, dengan pelarut etanol jenis pelargonidin berkisar antara 498-513 nm, sianidin pada 514-523 nm, malvidin 543 nm, dan delfinidin 534 nm. Senyawa antosianin larut dalam air sehingga antosianin dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut polar yaitu metanol, etanol atau aseton (Saati, dkk, 2007). Adapun sifat dan warna dari pigmen antosianin dalam jaringan tanaman dipengaruhi beberapa faktor : jumlah pigmen, letak dan jumlah

gugus hidroksi dan metoksi, kopigmentasi, dan sebagainya (Markakis, 1982).

## **II.4. Spektrofotometri Ultraviolet dan Tampak (Visibel)**

### **II.4.1 Pengertian**

Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu tehnik analisis dengan pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang di absorpsi oleh sampel. Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, semakin longgar elektron tersebut di tahan didalam ikatan molekul maka semakin panjang gelombang (energi lebih rendah) radiasi yang di serap. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm dan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus., 2004).

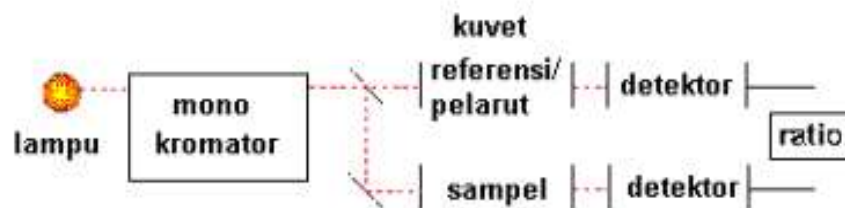
### **II.4.2 Instrumentasi**

Spektrofotometri UV-Vis menggunakan sumber cahaya berupa lampu deuterium untuk pengukuran UV dan lampu tungsten digunakan untuk pengukuran cahaya tampak (visible). Panjang gelombang yang dihasilkan dari sumber cahaya akan di bagi oleh pemisah panjang gelombang yang berbentuk seperti prisma (monokromator). Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu. Adapun komponen-komponen spektrofotometer tersusun meliputi sumber cahaya/spektrum, monokromator, kuvet dan detektor (Dachriyanus., 2004).

Spektrofotometer untuk serapan molekuler terdiri atas dua jenis yakni sumber cahaya tunggal (*single beam*) dan sumber cahaya ganda (*double beam*). Pada spektrofotometer cahaya ganda, instrument menghasilkan sinar radiasi UV-Vis yang akan terbagi menjadi dua dan pada alat ini larutan sampel dimasukkan bersama-sama dengan pelarut yang tidak mengandung sampel (Dachriyanus., 2004).



**Gambar 3. Alat spektrofotometer UV-Vis *double beam***  
(Sumber : Dokumentasi Penulis)



**Gambar 3. Skema alat spektrofotometer UV-Vis *double beam*** (Dachriyanus., 2004).

Spektrofotometri didasarkan pada Hukum Lambert-Beer yaitu hubungan linearitas antara absorban dengan konsentrasi larutan analit. Biasanya hukum Lambert-beer dituliskan dengan (Dachriyanus., 2004) :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Dimana :

A = absorban

$\epsilon$  = koefisien ekstingsi molar ( $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

b = tebal kuvet (cm)

C = konsentrasi (M)

### **II.5 Verifikasi Metode Analisis**

Verifikasi metode analisis adalah suatu tindakan validasi metode tetapi hanya pada beberapa karakteristik pengujian. Verifikasi metode dilakukan untuk metode yang telah terstandar, spesifikasi analisis dapat menjadi acuan dalam merancang proses verifikasi. Rancangan yang baik akan menghasilkan informasi yang dibutuhkan serta meminimalisir tenaga, waktu, serta biaya. Verifikasi dilakukan untuk suatu metode baku sebelum digunakan dengan tujuan untuk membuktikan bahwa alat yang digunakan dapat menganalisis dengan metode tersebut dengan hasil yang valid. Dalam verifikasi metode, kinerja yang diuji adalah selektivitas, yakni uji akurasi (ketepatan) dan presisi (kecermatan). Uji tersebut merupakan hal paling minimal yang harus dilakukan dalam verifikasi sebuah metode (Gandjar dan Rohman., 2015).

#### **II.5.1 Akurasi**

Akurasi merupakan suatu parameter untuk menunjukkan derajat kedekatan antara nilai hasil analisis dengan kadar analit sebenarnya atau

nilai rujukan yang dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) (Gandjar dan Abdul., 2015).

Terdapat dua cara dalam penentuan akurasi metode analisis yaitu metode simulasi (*Spiked-placebo Recovery*) dan metode penambahan baku (*Standard Addition Method*). Metode simulasi adalah penentuan akurasi dimana sejumlah bahan murni (senyawa pembanding) ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan (plasebo), kemudian dianalisis dan hasil yang di peroleh dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan. Sedangkan metode penambahan baku, sampel dianalisis lalu sejumlah analit yang hendak diperiksa ditambahkan ke dalam sampel kemudian dianalisis kembali. Pada kedua metode tersebut, persen perolehan kembali dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya (Harmita.,2004).

### **II.5.2 Presisi**

Presisi adalah ukuran keterulangan metode analisis, yang menunjukkan kedekatan hasil uji pengukuran. Presisi dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek (Harmita., 2004). Berdasarkan ICH uji presisi terbagi menjadi tiga, yakni (Gandjar dan Abdul., 2015) :

- a. Keterulangan (*repeatability*) atau ketepatan pada kondisi percobaan yang sama (berulang) baik pada analis, peralatan, maupun waktu.

b. Presisi antara, yaitu keterulangan pada kondisi percobaan berbeda, baik analisis, waktu, maupun peralatan.

c. Ketertiruan dilakukan dengan percobaan dari laboratorium lainnya.

Dokumentasi presisi harusnya mencakup : simpangan baku, simpangan baku relatif atau koefisien variasi, dan kisaran kepercayaan. Presisi biasanya dilakukan dengan replikasi 6-15 kali pada sampel tunggal untuk setiap konsentrasi (Gandjar dan Abdul., 2015).