UJI STABILITAS WARNA ANTOSIANIN EKSTRAK BUNGA TELANG PADA BERBAGAI PH DAN UJI POTENSI ANTIBAKTERI

Dewi Fitriani Puspitasari*, Aprilia Donna Novitasari, Lilies Wahyu Ariani

STIFAR Yayasan Pharmasi, Semarang, Indonesia

*Penulis Korespondensi: fitriandewi2019@gmail.com

ABSTRAK

Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang dapat ditemukan pada tanaman berwarna merah, orange, ungu, dan biru. Stabilitas warna senyawa ini umumnya dipengaruhi oleh suhu, pH dan pelarut. Antosianin cenderung stabil pada pH asam dan tidak stabil pada pH basa. Bunga telang merupakan tanaman yang memiliki kandungan antosianin. Kandungan antosianin ini memberikan banyak manfaat baik bidang kesehatan maupun pangan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh variasi pH pelarut pada ekstraksi, bunga telang terhadap hasil rendemen, pH ekstrak, stabilitas warna serta untuk menguji aktivitas antibakteri pada ekstraksi yang menggunakan pelarut basa. Metode penelitian ini yakni mengekstraksi antosianin pada bunga telang, menggunakan variasi pH pelarut, selanjutnya dihitung hasil rendemen, pH ekstrak, stabilitas warna yang terbentuk. Penelitian ini juga menguji potensi aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada ekstrak yang diekstraksi menggunakan pelarut pada suasana basa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan pH pelarut meningkatkan persen rendemen, diperoleh pH ekstrak pada rentang pH 4-8, dengan kandungan antosianin semakin menurun. Ekstrak yang diperoleh memiliki spektrum warna yang berbeda pada setiap kondisi pH dan ekstrak yang dikondisikan pada pH basa memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci : bunga telang, rendemen, variasi pH, staphylococcus

ABSTRACT

Anthocyanins are flavonoid compounds that can be found in red, orange, purple, and blue coloured plants. The colour stability of these compounds is generally affected by temperature, pH and solvents. Anthocyanins tend to be stable at acidic pH and unstable at alkaline pH. Telang flower is a plant that has anthocyanin content. This anthocyanin content provides many benefits both in the health and food fields. The purpose of this study was to determine the effect of variations in solvent pH on the extraction of telang flowers on yield, extract pH, colour stability and to test antibacterial activity in extractions using alkaline solvents. This research method is to extract anthocyanins in telang flowers, using variations in solvent pH, then calculate the yield, pH of the extract, colour stability formed. This study also tested the potential antibacterial activity of extracts extracted using solvents in an alkaline atmosphere. The results showed that increasing the pH of the solvent increased the percent yield, the pH of the extract was obtained in the pH range of 4-8, with the anthocyanin content decreasing. The extract obtained has a different colour spectrum at each pH condition and the extract conditioned at alkaline pH has inhibitory activity against Staphylococcus aureus bacteria.

Keywords: bay flower, yield, pH variation, staphylococcus

PENDAHULUAN

Antosianin merupakan senyawa flavonoid yang berperan dalam memberikan warna merah, orange, ungu, biru, kuning pada bunga dan buah, seperti bunga rosella, buah manggis, pacar air dan bunga telang (Rifqi, 2021). Antosianin termasuk senyawa polar, dalam tumbuhan berada dalam bentuk aglikon yang diikat secara glikosidik

membentuk ester dengan monosakarida (Zahroh and Agustini, 2021). Bunga telang merupakan bunga yang mengandung banyak senyawa antosianin. Kandungan antosianin bunga telang banyak diteliti, karena memberikan banyak manfaat. Beberapa manfaatnya yakni sebagai antioksidan, pewarna alami, antiinflamasi, anti bakteri dan anti kanker (Enaru *et al.*, 2021).

Beberapa metode digunakan untuk mendapatkan senyawa antosianin yang stabil (Octariani, Mayasari and Ramadhan, 2021). Untuk mendapatkan antosianin pada bunga telang, umumnya menggunakan metode ekstraksi tanpa pemanasan seperti maserasi, karena senyawa ini rentan dipengaruhi suhu (Nalawati and Wardhana, 2022). Faktor lain yang mempengaruhi stabilitas antosianin adalah pH dan pelarut (Unawahi *et al.*, 2022). Penelitian menemukan bahwa antosianin stabil pada pH asam dan menjadi tidak stabil pada pH basa. Antosianin memiliki beberapa varian warna bergantung pada kondisi pH. Pada penelitian yang dilakukan oleh Fitri (2021), menguji kelayakan antosianin bunga telang sebagai indikator reaksi. Kelayakan dilihat pada stabilitas fisik selama masa simpan antosianin selama lebih dari 2 bulan, bersuhu sejuk dan pada ruang gelap. Ditemukan adanya perubahan fisik antosianin setelah disimpan pada kondisi tersebut (Fitri* and Fikroh, 2021). Pada penelitian ini akan dilakukan penarikan senyawa antosianin, dengan mengekstraksi bunga telang menggunakan metode maserasi (tanpa pemanasan) dimana pelarut ekstraksi dikondisikan pada berbagai pH. tujuannya untuk mengetahui pengaruh pH terhadap hasil rendemen dan stabilitas antosianin. Selanjutnya akan diuji pula potensi antibakteri pada ekstrak yang diekstraksi pada pelarut dengan kondisi pH basa sebelum dan setelah ekstrak disimpan dalam jangka waktu >2bulan.

METODE PENELITIAN

Bahan :

Bunga telang (B2P2TO), serbuk Mg (Smart lab®), amyl alkohol (Merck®), larutan HCl 1%, amoniak (Smart lab®), kloroform (Smart lab®),

pereaksi Dragendrof, pereaksi Mayer, asam asetat glasial (Merck®), aquadest.

Alat-alat :

Timbangan digital analitik (Sartorius), *rotary evaporator* (IKA lab), pH meter, blender (PHILIPS), *water bath* (Faithful), alat gelas (Herma dan Pyrex), Spketrofotometer uv vis (Shimadzu)

Preparasi Sampel Bunga Telang

Bunga telang segar dibeli di B2P2TO. Kondisi bunga bersih, selanjutnya diblender, diayak menggunakan mesh 18.

Ekstraksi Bunga Telang dengan berbagai pH pelarut

Ekstraksi bunga telang dilakukan dengan metode maserasi selama 3x24 jam. Perbandingan serbuk dan pelarut sebesar (1:10) menggunakan etanol 70% serta penambahan NaOH (0,17% & 0,42%) untuk mengkondisikan ekstraksi pada pH basa atau asam sitrat pada konsentrasi (0,25%, 0,5% dan 1,25%) untuk mengkondisikan ekstraksi pada pH asam. Perbandingan etanol dengan agen asam/basa adalah (6:4). Hasil maserasi diuapkan dengan *rotary evaporator* dan dikentalkan.

Uji pH Ekstrak dan Stabilitas Warna

Uji ini dilakukan dengan mengukur pH ekstrak menggunakan pH meter dan mengetahui stabilitas warna yang terbentuk pada setiap pH.

Skrining Fitokimia Ekstrak

Skrining fitokimia meliputi uji senyawa flavonoid, tannin, saponin, alkaloid dan juga antosianin. Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk Mg, HCL dan amil alkohol. Jika positif mengandung flavonoid, akan terbentuk cincin warna merah (Hidayah, Amananti and Febriyanti, 2020). Identifikasi tanin dengan penambahan larutan FeCl₃ 1%. Jika positif mengandung tannin, maka

ditunjukkan adanya warna hitam kehijauan. Saponin diidentifikasi dengan penambahan HCL 2N, senyawa positif akan menunjukkan terbentuknya busa stabil. Pengujian alkaloid dilakukan penambahan HCL 2N dan larutan pereaksi, senyawa positif akan terbentuk endapan coklat dengan penambahan pereaksi wagner, terbentuk endapan merah atau jingga dengan penambahan dragendroff, dan terbentuk endapan kuning atau putih dengan penambahan pereaksi mayer.

Uji Kandungan Antosianin

Sejumlah 0,01 gram ekstrak dilarutkan dalam 10 mL buffer dan dibaca absorbansinya, pada λ 535 nm dan 700 nm (Ramdan and Alviansyah, 2024). Buffer yang digunakan menyesuaikan pH ekstrak. Buffer pH 4 – 5 : dibuat dengan mencampur 50,0 mL kalium biftalat 0,2M dengan sejumlah natrium hidroksida 0,2N yang tertera pada tabel 1 dan diencerkan dengan air bebas CO₂ hingga 200mL.

Tabel 1. Komposisi Buffer pH asam

pH	Milliliter asam klorida 0,2N (dalam 50mL)	Kalium biftalat 0,2M
4,6	2,77	12,5mL
5,2	7,10	

Buffer pH 6,4 - 8,0 dibuat dengan mencampur 50,0mL kalium dihidrogenfosfat 0,2M dengan sejumlah natrium hidroksida 0,2N yang tertera pada Tabel 2 dan diencerkan dengan air bebas CO₂ hingga 200mL.

Tabel 2. Komposisi buffer pH basa

pH	mL NaOH 0,2 N (dalam 50 mL)	KH ₂ PO ₄ 0,2 M (mL)
6,4	2,9	12,5
6,6	8,14	
7,6	10,45	
8,0	11,53	

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang

Uji aktifitas ekstrak bunga telang dilakukan dengan menggunakan metode sumuran. Media MSA sebanyak 10 mL ke dalam cawan petri dan biarkan memadat. Berikan *cylinder cup* di atas media yang memadat. Sebanyak 10µl suspense bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasikan ke dalam 10mL media kemudian homogenkan suspensi bakteri dengan media. Tuangkan media berisi bakteri ke dalam cawan petri berisi media agar padat dan *cylinder cup* secara aseptis. *Cylinder cup* diambil setelah memadat hingga membentuk lubang sumuran. Sampel ekstrak bunga telang dimasukkan ke dalam lubang sumuran sebanyak 15µl. Kontrol positif yang di gunakan yaitu kloramfenikol (0,05%) dan DMSO sebagai kontrol negatif. Inkubasi media selama 1x24 jam dengan suhu 37°C. Ukur zona bening dengan menggunakan jangka sorong.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi bunga telang pada berbagai pH

Ekstraksi bunga telang telah dilakukan pada berbagai pH pelarut. Setiap hasil ekstraksi selanjutnya diukur pH menggunakan pH meter. Hasil pengukuran pH ekstrak dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. pH Ekstrak Bunga telang

Etanol 70%	pH ekstrak
(+) asam sitrat 3%	1,20
(+)Asam sitrat 1,25%	4,59
(+)Asam sitrat 0,5%	5,13
(+)Asam sitrat 0,25%	6,49
(+)NaOH 0,17%	7,05
(+)NaOH 0,42%	8,02

Diperoleh hasil bahwa semakin tinggi pH ekstraksi, persen rendemen semakin meningkat. Hal ini sesuai temuan (Unawahi, 2022). Hasil perolehan rendemen pada setiap pH dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Rendemen Ekstrak

pH ekstrak	% Rendemen
4,59	40,90±4,81
5,13	40,91 ± 4,8
6,49	40,06±6,49
7,05	43,54±4,21
8,02	45,42±1,14

Tabel 5. Hasil Uji pH dan warna Ekstrak

pH Ekstrak	Warna
3,95	Ungu
4,84	Ungu
6,49	<i>Admiral blue</i>
7,05	<i>Blue gray</i>
8,02	<i>Teal blue</i>

Hasil pengukuran pH ekstrak dan stabilitas warna ekstrak di setiap perbedaan pH ditunjukkan pada tabel 5.

Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak

Hasil skrining fitokimia ekstrak bunga telang disajikan pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Skrining Fitokimia

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	HCl 2N + pereaksi <i>Wagner</i>	(+)
	HCl 2N + pereaksi <i>Dragendorff</i>	(+)
	HCl 2N + pereaksi <i>Mayer</i>	(+)
Flavonoid	Serbuk Mg (+) HCl (p) + Amil alkohol	(+)
Tanin	FeCl ₃ 1%	(+)
Saponin	Aquadest → digojog kuat + HCl 2N	(+)

Hasil skrining fitokimia ekstrak pada salah satu pH ekstrak (pH 6), menunjukkan bahwa bunga telang mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, antosianin.

Hasil identifikasi Antosianin pada kondisi asam dan basa

Tabel 7. Hasil Identifikasi antosianin

Reagen		Hasil
HCl	2M	Positif
dipanaskan		
NaOH 2 M		Positif

Hasil Perhitungan Kandungan Antosianin

Dilakukan pembacaan skrining absorbansi pada panjang gelombang 535 nm dan 700 nm, dilakukan untuk menghitung kandungan antosianin. Panjang gelombang maksimum antosianin secara teoritis yaitu pada rentang panjang gelombang 505-545 nm, merupakan panjang gelombang dari senyawa antosianin jenis sianidin-3 glukosidase, panjang gelombang tersebut mampu mengidentifikasi senyawa antosianin secara optimum dalam bentuk kation flavilium, karena serapan cahaya tampak berada dalam rentang warna merah-oranye. Salah satu faktor yang mempengaruhi kandungan antosianin adalah perubahan pH, konsentrasi pigmen, jumlah gugus hidroksi dan metoksi. Pigmen antosianin berwarna merah karena sifat larutan yang asam ($\text{pH} < 7$) dan gugus metoksi yang lebih dominan sehingga relatif lebih stabil, sedang pigmen antosianin yang berwarna biru karena sifat larutan basa ($\text{pH} > 7$), dan gugus hidroksi yang lebih dominan sehingga relatif tidak stabil. Antosianin mudah terdegradasi selang kenaikan pH, seiring dengan perubahan pH, maka antosianin mengalami perubahan warna secara reversible (Purwaniati, Arif and Yuliantini, 2020). Pada pH 1 antosianin berbentuk kation flavilium berwarna merah, sedangkan pH 4,5 antosianin berbentuk hemiketal tidak berwarna. Hasil

perhitungan kandungan total antosianin, ditunjukkan tabel 8.

Tabel 8. Hasil Uji Kandungan Antosianin berbagai pH Ekstrak

pH ekstrak	Kandungan antosianin (mg/100g)
4,49	213,74
5,13	208,73
6,49	150,28
7,05	132,75

Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Terhadap *Staphylococcus aureus*

Formula sediaan sabun memiliki pH 8-11, sehingga pengujian aktivitas antibakteri dilakukan pada ekstrak yang diekstraksi pada pH 8, untuk mengetahui apakah pada pH tersebut ekstrak memiliki aktivitas penghambatan. Hasil uji dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji aktivitas antibakteri

Diameter zona Hambat (cm)				
Ekstrak bunga telang (%)				
10	15	20	K+	K-
0,742±0,08	1,072±0,08	1,17±0,08	2,7±0,01

Gambar 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Telang pH 8 Terhadap *Staphylococcus aureus*

Hasil uji aktivitas antibakteri setelah penyimpanan selama >2 bulan

Pengujian ini dilakukan pada konsentrasi ekstrak 10%, pada penelitian sebelumnya menyebutkan pada konsentrasi tersebut sudah menunjukkan aktivitas terhadap bakteri

Staphylococcus aureus (Jati, 2021). Hasil menunjukkan bahwa ekstrak tidak lagi menunjukkan aktivitas penghambatan setelah disimpan lebih dari 2 bulan pada suhu 2°C di tempat gelap.

Gambar 2. Hasil uji aktivitas antibakteri konsentrasi 10% pada penyimpanan lebih 2 bulan.

PENUTUP

Ekstraksi bunga telang pada variasi pH yang berbeda, menghasilkan rendemen yang berbeda, semakin naik pH semakin banyak rendemen yang dihasilkan. Hasil uji aktivitas antibakteri, menunjukkan bahwa ekstrak yang memiliki pH basa mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*, namun pada penyimpanan ekstrak lebih dari 2 bulan pada suhu sejuk tetap tidak bisa menjaga stabilitas dan berpengaruh pada potensi yang dimiliki.

DAFTAR PUSTAKA

Enaru, B. *et al.* (2021). Anthocyanins: Factors affecting their stability and degradation. *Antioxidants*, 10(12). Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox10121967>.

Fitri, C.B.S. and Fikroh, R.A. (2021). The Potential of *Clitoria ternatea* L. Extracts as an Alternative Indicator in Acid-Base Titration. *Jurnal IPA & Pembelajaran IPA*, 5(4); 340–352. Available at: <https://doi.org/10.24815/jipi.v5i4.23183>.

Hidayah, A.N., Amananti, W. and Febriyanti, R.

(2020). Skrining Fitokimia Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus*) di Kawasan Brebes, Tegal dan Pemalang. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 1–7.

Jati, S.M.W.H.S. (2021). Uji Antibakteri Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Duta Gama*, 4; 94–97. Available at: <http://www.proseanet.org>.

Nalawati, A.N. and Wardhana, D.I. (2022). Pengaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan Terhadap Stabilitas Antosianin Ekstrak Kulit Kopi Robusta. *Jurnal Pendidikan Teknologi Pertanian*, 8(1); 19. Available at: <https://doi.org/10.26858/jptp.v8i1.22539>.

Octariani, S., Mayasari, D. and Ramadhan, A.M. (2021). Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 135–138. Available at: <http://prosiding.farmasi.unmul.ac.id/index.php/mpc/article/view/416/399>.

Purwaniati, P., Arif, A.R. and Yuliantini, A. (2020). Analisis Kadar Antosianin Total Pada Sediaan Bunga Telang (*Clitoria Ternatea*) Dengan Metode Ph Diferensial Menggunakan Spektrofotometri Visible. *Jurnal Farmagazine*, 7(1); 18. Available at: <https://doi.org/10.47653/farm.v7i1.157>.

Ramdan, S.R.K. and Alviansyah, A. (2024). Penetapan Kadar Antosianin Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dengan Metode Differensial pH. *Pharmacy Genius*, 3(01); 1–6. Available at: <https://doi.org/10.56359/pharmgen.v3i01.30>.

- Rifqi, M. (2021). Ekstraksi Antosianin Pada Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.). *Pasundan Food Technology Journal*, 8(2); 45–50. Available at:
<https://core.ac.uk/download/pdf/511489848.pdf>.
- Unawahi, S., Widyasanti, A. and Rahimah, S. (2022). Ekstraksi Antosianin Bunga Telang (*Clitoria ternatea* Linn) dengan Metode Ultrasonik Menggunakan Pelarut Aquades dan Asam Asetat. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, 10(1), pp. 1–9. Available at:
<https://doi.org/10.21776/ub.jkptb.2022.010.01.01>.
- Zahroh, F. and Agustini, R. (2021) ‘Penentuan Kandungan Total Antosianin Yeast Beras Hitam (*Oryza Sativa* L. Indica) Menggunakan Metode Ph Differensial. *Unesa Journal of Chemistry*, 10(2); 200–208. Available at:
<https://doi.org/10.26740/ujc.v10n2.p200-208>.