

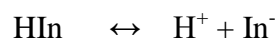
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Indikator Asam Basa

Indikator adalah zat yang dapat memberi tanda (sinyal) yang biasanya merupakan perubahan warna untuk keadaan tertentu. Ada banyak zat yang warnanya dalam larutan bergantung pada Ph. Menurut Petrucci (2007) indikator adalah zat yang warnanya bergantung pada pH larutan yang ditambahinya. Indikator biasanya ialah suatu asam atau basa organik lemah yang menunjukkan warna yang sangat berbeda antara bentuk tidak terionisasi dan bentuk terionisasinya (Chang, 2005). Indikator buatan telah lama digunakan sebagai indikator pada titrasi asam basa. Akan tetapi, jika dibandingkan dengan pencemaran lingkungan yang dihasilkan, ketersediaan dan biaya yang harus dikeluarkan, indikator alami merupakan indikator alternatif yang lebih baik (Saputro dkk. 2014). Indikator adalah zat yang ketika berada dalam medium asam atau basa memiliki perbedaan warna mencolok (Chang, 2005).

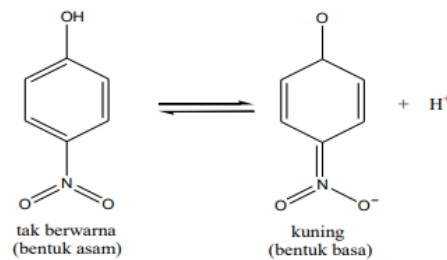
Indikator asam-basa adalah zat yang berubah warnanya atau membentuk fluoresen atau kekeruhan pada suatu range (trayek) pH tertentu.. Perubahan warna disebabkan oleh resonansi isomer elektron. Berbagai indikator mempunyai tetapan ionisasi yang berbeda dan mengakibatkan warna pada range pH yang berbeda (Khopkar, 1990). Reaksinya dapat dilihat sebagai berikut; (Harjono, 1990)



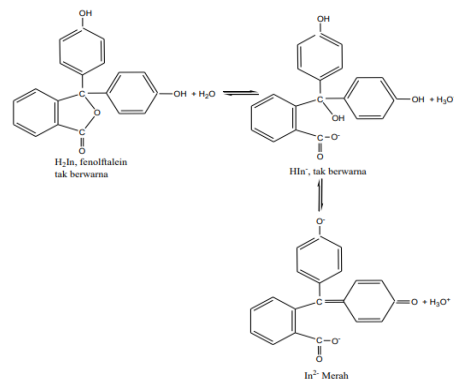
$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{In}^-]}{[\text{HIn}]}$$

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \text{p} \{ [\text{HIn}] : [\text{In}^-] \}$$

Indikator asam basa paling sedikit mempunyai dua bentuk struktur yang masing-masing mempunyai warna absorpsi yang berbeda. Perubahan bentuk satu ke bentuk lain merupakan reaksi setimbang dan dipengaruhi oleh konsentrasi ion H^+ dalam larutan. p-nitrofenol adalah asam lemah mempunyai harga $pK_a=6$ dengan struktur dan ion seperti pada gambar 2.5 (Harjono, 1990). Perbedaan struktur bentuk asam dan bentuk basa, bahwa bentuk yang berwarna mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi yaitu ikatan rangkap yang berseling dengan ikatan tunggal. Contoh yang lain adalah fenolftalein yang dalam asam tidak berwarna dan dalam basa berwarna merah (Sukardjo, 1985).



Gambar 2.1 Struktur indikator p-nitrofenol (Harjono, 1990)



Gambar 2.2 Struktur indikator fenolftalein

(Day & Underwood, 1986)

Para nitrofenol padat tidak berwarna, zat ini dalam larutan setimbang dengan bentuk ionogen yang sebagian besar terion. Dalam larutan basa diperoleh bentuk (III) yang berwarna kuning dan dalam asam diperoleh bentuk (I) yang tidak berwarna. Metil orange berwarna merah

dalam asam dan kuning dalam basa, indikator ini disebut indikator dua warna (Sukardjo, 1985). Indikator asam-basa secara garis besar dapat diklasifikasikan dalam tiga golongan:

a. Indikator Ftalein dan Indikator Sulfoftalein.

Indikator ftalein dibuat dengan kondensasi anhidrida ftalein dengan fenol, yaitu fenolftalein. Pada pH 8,0-9,8 berubah warnanya menjadi merah. Indikator sulfoftalein dibuat dari kondensasi anhidrida ftalein dan sulfonat. Yang termasuk anggota ini yaitu, thymol blue, m-cresolpurple, chlorofenolred, bromofenolred, bromofenolblue.

b. Indikator Azo

Indikator ini diperoleh dari reaksi amina aromatik dengan garam dizonium, misal: methyl yellow, atau p-dimetil amino azo benzena. Perubahan warna terjadi pada larutan asam kuat, methyorange tidak larut dalam air. Indikator azo menunjukkan kenaikan disosiasi bila temperatur naik.

c. Indikator Fluoresen

Indikator asam-basa tidak dapat digunakan pada larutan yang warnanya pekat atau larutan yang keruh. Untuk larutan tersebut biasanya digunakan indikator yang menunjukkan pendar-fluor (fluorescence), misal α -naftilamin. Indikator ini menunjukkan pendar-fluor biru pada sinar ultraviolet. Kelebihan indikator ini adalah pengamatan titik akhir titrasi sangat mudah meskipun warnanya titrannya sendiri cukup kuat, bahkan seorang buta warna dapat mengamati proses pendar-fluor ini (Khopkar, 1990)

Tabel 1.1 Beberapa indikator asam-basa (Day & Underwood, 1986)

Indikator	Perubahan warna dengan naiknya pH	Jangka pH
Asam pikrat	Tak-berwarna ke kuning	0,1-0,8
Biru timol	Merah ke kuning	1,2-2,8
2,6-Dinitrofenol	Tak-berwarna ke kuning	2,0-4,0
Kuning metil	Merah ke kuning	2,9-4,0
Biru bromotimol	Kuning ke biru	3,0-4,6
Jingga metil	Merah ke kuning	3,1-4,4
Hijau bromkresol	Kuning ke biru	3,8-5,4
Merah metil	Merah ke kuning	4,2-6,2
Lakmus	Merah ke biru	5,0-8,0
Ungu metil	Ungu ke hijau	4,8-5,4
p-nitrofenol	Tak-berwarna ke kuning	5,6-7,6
Ungu bromkresol	kuning ke ungu	5,2-6,8
Biru bromtimol	Kuning ke biru	6,0-7,6
Merah netral	Merah ke kuning	6,8-8,0
Merah fenol	kuning ke merah	6,8-8,4
ρ - α -naftolfalein	Kuning ke merah	7,0-9,0
Fenolfalein	Tak-berwarna ke merah	8,0-9,6
Timolfalein	Tak-berwarna ke biru	9,3-10,6
Kuning R Alizarin	Kuning ke lembayung	10,1-12,0
1,3,5-trinitobenzene	Tak-berwarna ke jingga	12,0-14,0

d. Indikator Alami

Indikator alam merupakan indikator yang dibuat dari bagian tumbuhan yang berwarna dan dapat berubah warna ketika dalam suasana asam atau basa. Menurut Nuryanti dkk (2010) warna yang dihasilkan adalah warna yang terkandung dalam tumbuhan itu sendiri dan bergantung pada jenis tanamannya. Hampir semua tumbuhan yang berwarna dapat digunakan sebagai indikator alam walaupun kadang-kadang warna yang dihasilkan itu kurang begitu jelas. Indikator alam ini dapat diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa yang berasal dari tumbuhan penghasil zat warna. Senyawa ini diantaranya antosianin, betalin, biksin dan brazilin (Marwati, 2010).

Cara pembuatan indikator alam tidaklah terlalu sulit. Menurut Afandy dkk (2017) dalam penelitiannya dikemukakan bahwa pengekstraksian bahan alam dengan menggunakan etanol 70% akan menghasilkan ekstrak dengan zat warna yang bisa menjadi indikator asam basa. Pada pengujian nilai pH, digunakan indikator universal dengan cara membandingkan warna yang didapat dengan warna standar yang terdapat pada indikator

universal. Warna standar tersebut memiliki trayek pH dari 1 sampai 14 (Maulika dkk., 2019). Indikator alam yaitu indikator yang dibuat dari bagian tumbuhan yang berwarna dan dapat berubah warna ketika dalam suasana asam atau basa. Menurut (Marwati, 2010) warna yang dihasilkan adalah warna yang terkandung dalam tumbuhan itu sendiri dan bergantung pada jenis tanamannya. Perubahan warna dari indikator alam sesuai dengan perubahan keasaman suatu larutan.

Selain sebagai penentu sifat larutan, indikator alam ini juga dapat digunakan sebagai indikator universal yaitu untuk menentukan nilai pH larutan. Komposisi masa daun dan volume pelarut dapat mempengaruhi trayek pH suatu indikator yang menyatakan ekstrak zat warna tersebut. Mulawarman (2018) berpendapat bahwa cara pembuatan indikator universal dari bahan alam adalah dengan merendam kertas saring ke dalam ekstrak kemudian dikeringkan. Berdasarkan cara tersebut maka indikator alam dapat digunakan sebagai indikator universal. Penggunaannya cukup dengan mencelupkan pada larutan yang akan diuji pH-nya, kemudian dengan warna standar indikator alam yang telah diketahui sebelumnya. pH larutan dapat diukur dengan menggunakan indikator asam basa, yaitu zat yang dapat berubah warna pada pH tertentu. Indikator umumnya merupakan asam atau basa organik lemah yang akan berubah warna pada pH tertentu (Brady, 2008). Indikator asam basa diantaranya pH meter, kertas lakmus, indikator universal. Selain pH meter dan indikator universal yang lazim digunakan, beberapa indikator yang umum beserta perubahan warna dan daerah pH dimana terjadi. Berdasarkan uraian di atas, indikator dari bahan alam adalah indikator yang dibuat dari bagian tumbuhan yang berwarna dan dapat berubah warna ketika dalam suasana asam atau basa.

2.2 Bunga Mawar

Menurut Hidayat (2006), dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, kedudukan tanaman mawar diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (tumbuh-tumbuhan)
 Divisi : Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
 Sub Divisi : Angiospermae (berbiji tertutup)
 Kelas : Dicotylodena (biji berkeping dua)
 Ordo : Rosanales
 Famili : Rosaceae
 Genus : *Rosa*
 Species : *Rosa damascena* Mill.

Tanaman bunga mawar (Rosaceae) yang kini dikenal dengan sebutan “Ratu Bunga” memiliki latar belakang sejarah yang sangat menarik untuk dicermati oleh kalangan masyarakat luas, bunga sudah merupakan simbol atau lambang kehidupan religi dalam peradaban manusia (Rukmana, 2005).

Komponen terbanyak dalam mahkota bunga mawar segar antara lain air (83-85%), vitamin, β -karoten, cyanins (antosianin), total gula 8-12%, minyak atsiri sekitar 0,01-1,00% (citronellol, eugenol, asam galat dan linalool) (Sari dan Saati, 2003). Pigmen antosianin bunga mawar merah mempunyai sifat sinergis dengan asam sitrat, yang terbukti berfungsi sebagai antioksidan (Saati dkk, 2011). Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam bunga mawar di antaranya tannin, geraniol, nerol, citronellol, asam geranik, terpene, flavonoid, pektin polyphenol, vanillin, karotenoid, stearopten, farnesol, eugenol, feniletilakohol, vitamin B, C, E, dan K. Dengan banyaknya kandungan yang terdapat dalam bunga mawar merah, maka bunga mawar merah tersebut dapat dijadikan sebagai bahan baku obat, antara lain sebagai pengobatan aromaterapi, anti kejang, pengatur haid, menyembuhkan infeksi, menyembuhkan sekresi empedu, dan menurunkan panas badan (daun dan kelopak bunga mawar) (Rukmana, 2005). Antosianin yang terdapat pada bunga, khususnya pada mahkota bunga kebanyakan ditemukan pada bunga dengan konsentrasi

antosianin yang bervariasi: mawar (0,925%/10 g), kembang sepatu (0,739%/10 g), rosela (0,795%/10 g berat bunga segar, 44,856%/100 g berat kering), pukul empat (0,977%/10 gr), dan lain-lain (Sangadji, dkk. 2017)

2.3 Ekstraksi Antosianin

Ekstraksi merupakan metode untuk memisahkan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan atau hewan menggunakan pelarut tertentu. Prinsip metode ekstraksi adalah difusi massa komponen zat padat ke dalam pelarut. Faktor-faktor yang mampu mempengaruhi laju ekstraksi yaitu preparasi sampel, lama ekstraksi, jenis, konsentrasi, dan suhu pelarut (Dany Eka, dkk. 2012). Ekstraksi antosianin dapat dilakukan dengan beberapa jenis pelarut, seperti akuades, etanol, dan metanol. Antosianin dapat terekstrak dengan maksimal menggunakan larutan metanol yang diasamkan dengan HCl. Hal tersebut berdasar pada kestabilan antosianin yang stabil pada pH yang cenderung asam. Pemilihan pelarut yang baik harus disesuaikan dengan beberapa faktor berikut:

a. Selektivitas pelarut

Dalam hal ini pelarut yang digunakan hanya boleh melarutkan senyawa atau ekstrak yang diinginkan. Pada proses ekstraksi bahan alami, sering kali lemak, resin, maupun senyawa lain ikut terbebas bersama dengan ekstrak yang diinginkan. Oleh sebab itu, larutan ekstrak harus dibersihkan dengan mengekstrak kembali menggunakan pelarut yang lain.

b. Kelarutan pelarut

Pelarut yang digunakan untuk proses ekstraksi harus memiliki kepolaran yang hampir sama dengan komponen yang akan diekstrak. Hal tersebut bertujuan agar ekstrak dapat terekstrak sempurna.

c. Reaktivitas Pelarut

Pelarut tidak boleh menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen bahan ekstrak. Namun, dalam hal-hal tertentu reaksi kimia

diperlukan, seperti pembentukan garam agar mendapatkan selektivitas yang tinggi.

d. Titik Didih

Proses penguapan mengharuskan pelarut yang digunakan harus memiliki titik didih yang tidak terlalu dekat dengan titik didih dari ekstrak. Hal tersebut ditujukan agar ekstrak dapat dipisahkan dengan mudah.

e. Kriteria lain

- 1) Murah
- 2) Mudah ditemukan
- 3) Tidak korosif
- 4) Memiliki viskositas yang rendah
- 5) Stabil secara kimia dan teknis

Pemilihan jenis pelarut juga disesuaikan dengan senyawa yang akan diekstrak dari suatu sampel. Terdapat beberapa jenis senyawa ekstrak, seperti (Sarker SD, dkk., 2006):

- Senyawa bioaktif yang tidak diketahui
- Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme Sekelompok
- Senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural

Setelah jenis senyawa dan pelarut yang sesuai sudah diketahui, berikutnya adalah pemilihan metode ekstraksi yang tepat agar senyawa yang terkstrak tidak rusak. Berikut beberapa jenis metode ekstraksi:

1. Maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan sampel seperti tanaman yang berupa serbuk dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar agar tidak terdestruksi (Departemen Kesehatan RI, 2006). Proses ekstraksi dapat diakhiri dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi

senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi yang terdapat dalam sel tanaman. Agar ekstrak yang didapat bersih, setelah proses maserasi pelarut dipisahkan dari sampel dengan menggunakan alat penyaring. Kelemahan dari penggunaan metode ini adalah banyak menggunakan pelarut, namun kelebihan dari metode ini adalah dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

2. Perkolasi

Metode ini dilakukan dengan membasahi sampel yang berupa serbuk secara perlahan dalam sebuah perkolator, kemudian pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel akan selalu dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kelemahannya adalah apabila sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit untuk menjangkau seluruh area sampel dan metode ini membutuhkan pelarut dalam jumlah besar dan proses yang lama.

3. Soxlet

Serbuk sampel yang dibungkus dengan kertas saring atau sarung selulosa ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang akan digunakan kemudian dimasukkan ke dalam labu dan mengatur suhu penangas di bawah suhu refluks. Kelebihan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang berkelanjutan dalam artian sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi yang mengakibatkan pelarut yang digunakan tidak terlalu dalam jumlah besar dan tidak memerlukan waktu yang lama. Kelemahan dari metode ini adalah apabila senyawa yang akan diekstrak memiliki sifat termolabil akan

mengakibatkan terjadinya degradasi yang disebabkan ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.

4. Refluks

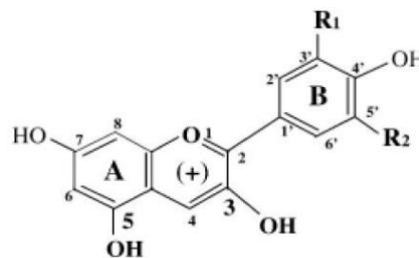
Metode refluks diawali dengan memasukkan sampel dan pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut kemudian dipanaskan hingga titik didih larutan pelarut tercapai. Uap yang dihasilkan lalu terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Kerugian dari kedua metode refluks adalah senyawa yang memiliki sifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel V 2006).

5. Infusa

Infusa merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut air pada suhu penangas air 96-980C selama 15-20 menit. (Departemen Kesehatan RI, 2006).

6. Dekok

Dekok merupakan infus dengan rentang waktu yang lebih lama yaitu 30 menit dan suhu pemanasan mencapai 90-100oC sesuai dengan titik didih air (Departemen Kesehatan RI, 2006).



Gambar 1.3 Struktur kimia antosianidin (Giusti dan Wrolstad, 2003)

Secara fisik, antosianin berperan terhadap timbulnya warna merah hingga biru pada beberapa bunga, buah, dan daun (Saati dkk., 2012). Pigmen antosianin larut dalam air dan memberikan kenampakan warna jingga, merah, dan biru. Biasanya buah-buahan dan sayuran yang warnanya tidak hanya ditimbulkan oleh satu jenis pigmen antosianin saja, tetapi terkadang terdapat hingga 15 jenis pigmen yang tergolong dalam glikosida-glikosida antosianin (Koswara, 2009). Antosianin memiliki panjang gelombang maksimum 515–700 nm (Zussiva dan Laurent, 2012). Masing-masing jenis antosianin memiliki puncak (peak) yang berbeda tergantung jenis antosianin yang menjadi kecenderungan pada suatu bahan. Sebagian besar antosianin dapat mengalami perubahan selama proses penyimpanan dan pengolahan.

Tabel 1.2 Jenis Antosianin beserta gugus substitusinya. (Houghton dan Hendry. 1995)

Antosianidin	R1	R2	R3	R4	R5	R6	R7	Λ (nm)
Aurantidin	-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-OH	-
Cyanidin	-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH	514- 523
Delphinidin	-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H	-OH	534
Europinidin	-OCH ₃	-OH	-OH	-OH	- OCH ₃	-H	-OH	-
Luteolinidin	-OH	-OH	-H	-H	-OH	-H	-OH	-
Pelargonidin	H	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH	498- 513
Malvidin	-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH	543
Peonidin	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OCH ₃	-
Petunidin	-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH	-
Rosinidin	-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OCH ₃	-

Pigmen antosianin mempunyai absorbansi maksimal pada kisaran panjang gelombang 480-528 nm, dan menurut Henry (1996), antosianin ditampakan oleh panjang gelombang dari absorpsi maksimal spektrum

pada 525 nm. Masing-masing jenis antosianin memiliki absorbansi maksimal pada panjang gelombang tertentu. Dengan pelarut etanol, jenis pelargonidin berkisar antara 498-513 nm, sianidin pada 514-523 nm, delphinidin 534 nm, dan malvidin 543 nm.

2.5 Adobe Photoshop CS2

Adobe Photoshop CS2 adalah program aplikasi pengolah gambar bitmap. Gambar bitmap tersebut merupakan gambar yang dibentuk dari grid-grid warna. Photoshop CS2 memiliki tiga mode warna yang bisa digunakan yaitu RGB, CYMX, dan Index Color. Layar komputer atau monitor memiliki elemen pembentukan warna Red, Green, dan Blue (RGB). Mode warna tersebut dapat digunakan untuk menentukan intensitas warna pada gambar. Teknik tersebut dinamakan teknik pencitraan digital. Nilai intensitas yang diperoleh kemudian dikonversi menggunakan hukum Lambert-Beer sehingga didapatkan nilai absorbansi (Soldat, 2009). Pada penelitian ini nilai absorbansi digunakan untuk mengetahui kadar antosianin dalam suatu larutan. Adapun persamaan Lambert-Beer yang digunakan adalah sebagai berikut.

$$\text{Absorbansi} = -\log \frac{I}{I_0}$$

Keterangan =

I = nilai intensitas larutan uji (255 cm)

I₀ = nilai intensitas larutan standar (blanko) (cm)

2.6 Kerangka Konsep

